

UNIVERSITE MOHAMED KHIDER – BISKRA –

Faculté des Sciences Exactes, des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Agronomiques

N° d'ordre :

Série :



MEMOIRE DE MAGISTER

Spécialité : Sciences Agronomiques

Option : *Agriculture et environnement dans les régions arides*

Présenté par :

MOUAFEK Ahlem

THEME

**La symbiose à rhizobia chez la fève (*Vicia faba* L.) et
La luzerne (*Medicago sativa* L.) dans la région de Biskra**

Soutenu le :/...../2010

Devant le jury

Président	Mr BENZAOUZ M. T	Professeur	Université de Constantine
Examineur	Mr OKID M. E	Maître de Conférences A	Université de Annaba
Examineur	Mr CHABAH M	Maître de Conférences A	Université de Mila
Rapporteur	Mr BELHAMRA M	Maître de Conférences A	Université de Biskra
Invité	Mme LAKHDARI F	Directrice générale	C.R.S.T.R.A Biskra

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, je tiens à remercier les éventuels oubliés de cette page de ne pas (trop) m'en tenir rigueur, la mémoire étant une chose capricieuse. Et la mienne encore plus.

Au terme de ce travail, je me fait un agréable devoir de remercier vivement mon promoteur Monsieur BELHAMRA M. Maître de conférence à l'université de Biskra pour tous ses encouragements, son aide, ses conseils précieux et surtout pour la confiance, qu'il ma donné pendant la réalisation de ce travail, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Mes remerciements s'adressent aussi à Mr BENAZZOUZ M T. Professeur à l'université de Constantine, pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury de soutenance.

Je remercie également Mr CHABAH M. Maître de conférences à l'université de Mila et Mr OKID M E. Maître de conférence à l'université de Annaba qui me fait l'honneur de juger ce travail.

Un grand merci général à tous les membres de l'S.R.P.V de Biskra pour avoir toléré ma présence dans leurs laboratoires avec une sympathie qui force l'admiration, et en particulier : KARDI K pour sa précieuse aide.

Mes sincères remerciements s'adressent à Ibtissam Magister en statistique pour sa précieuse aide.

Mes sincères remerciements à Hanan, Halima, Fadila pour ses encouragements.

Mes sincères remerciements aux enseignants du département d'Agronomie de l'université de Biskra.

Je remercie également tous les membres des laboratoire de la département d'agronomie Biskra; Mr Hakim, M^{elle} Fatima, M^{elle} Linda, M^{elle} Hayat.

Sans oublier de remercier M^{elle} Dalila responsable de la bibliothèque de la département d'Agronomie Biskra pour ses encouragements.

Je n'ai pas de mots pour remercier tous mes amis, en particulier : Faiza, Nabila, Wafa, Souad, Halima, Khalila, Dalila, Manal, Milade.

Je ne saurais comment remercier ma famille qui était patient avec moi durant toute la période de préparation de ce travail. Elle a grondement contribué à l'aboutissement de ce mémoire, et surtout ma chère sœur Fiaza.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	4
1- La fixation biologique de l'azote atmosphérique	4
1-1 Place de la fixation biologique dans le cycle de l'azote	4
1-2 Les organismes et les systèmes fixateurs de l'azote	6
1-3 Importance des différents systèmes fixateurs de l'azote	7
2- La fixation symbiotique de l'azote chez les légumineuses	8
2-1 Le marosymbionte: les légumineuses	8
2-1-1 La fève (<i>Vicia faba</i> L.)	8
2-1-1-1 Origines et caractéristiques de la plante	8
2-1-1-2 Intérêt de la fève	9
2-1-2 La luzerne (<i>Medicago sativa</i> L.)	10
2-1-2-1 Origines et caractéristiques de la plante	10
2-1-2-2 Intérêt de la luzerne	10
2-2 Le microsymbionte: les rhizobia	11
2-2-1 Caractéristiques des rhizobia	11
2-2-2 Diversité et classification des rhizobia	11
3- L'établissement de la symbiose rhizobienne	14
3-1 Formation des nodules	14
3-2 Structure et morphologie des nodules	16
4- Le fonctionnement de la symbiose rhizobienne	17
5- L'inoculation	17
6- Principales contraintes environnementales limitant la fixation symbiotique de l'azote	18
6-1 Effet de la température, l'eau et la lumière sur la symbiose	18
6-2 Effet de l'acidité et de la toxicité sur la symbiose	19
6-3 Effet des carences en nutriment sur la symbiose	19
6-4 Effet de la salinité sur la symbiose	20
6-5 Effet de l'azote disponible sur la symbiose	20
6-6 Effet des facteurs biologiques sur la symbiose	21
7- Moyens d'élimination ou de réduction des contraintes du milieu	21

CHAPITRE II : PRESENTATION DE LA REGION D'ETUDE BISKRA	23
1- Situation géographique	23
2- Topographie	23
3- Pédologie	24
4- Pédoclimat	24
5- Géologie	24
6- Hydrogéologie	25
7- Réseau hydrographique	25
8- Données climatiques	25
8-1 Températures	25
8-2 Pluviométrie	26
8-3 Vents	27
8-4 Humidité relative de l'air	27
8-5 Insolation	27
9- Synthèse climatique de la région de Biskra	28
9-1 Diagramme ombrothermique	28
9-2 Climagramme d'Emberger	29
10- Végétation	31
CHAPITRE III : MATERIELS ET METHODES	32
1- Matériels d'étude	32
1-1 Echantillons de sols	32
1-2 Matériel végétal	32
1-3 Les pots de végétation	32
1-4 Les micro- organismes	32
1-5 Milieu de culture	33
2- Méthodes d'étude	35
2-1 Evaluation du potentiel rhizobien des sols de la région de Biskra vis-à-vis les deux légumineuses (Technique de piégeage)	35
2-1-1 Installation de la culture	35
2-1-2 Prélèvements de plantes	35
2-2 Protocole de conservation de nodules	35
2-3 Conditionnement du milieu de culture	36
2-4 Extraction, isolement et purification des souches	36
2-4-1 Extraction	36

2-4-2 Isolement et purification	36
2-5 Conservation des souches de rhizobia	37
2-6 Détermination des quelques caractéristiques des souches de rhizobia isolées	37
2-6-1 Caractérisation morphologique des souches isolées	37
2-6-2 Caractérisation biochimique des souches isolées	37
2-6-3 Caractérisation physiologique des souches isolées	38
2-6-3-1 Sensibilité des souches isolées au stress salin	38
2-6-3-2 Sensibilité des souches isolées au pH	38
2-6-3-3 Sensibilité des souches isolées à la température	38
2-6-3-4 Mesure de la croissance bactérienne	38
3- Paramètres mesurés	39
4- Méthodes d'analyses	39
4-1 Méthode d'analyse du végétal	39
4-2 Méthodes d'analyse du sol	39
4-3 Traitements statistiques	40
CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION	41
1-Evaluation du potentiel symbiotique des sols testés vis-à-vis la fève	41
1-1 La nodulation	41
1-1-1 Variation de nombre des nodules	43
1-1-2 Variation de la matière sèche nodulaire	44
1-1-3 Effet variétale	46
1-2 La croissance végétale	47
1-2-1 Variation de la biomasse sèche aérienne	47
1-2-2 Variation de la biomasse sèche racinaire	48
1-2-3 Variation du taux de l'azote total dans la partie aérienne	48
1-2-4 Variation de la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne	49
2-Evaluation du potentiel symbiotique des sols testés vis-à-vis la luzerne	51
2-1 La nodulation	51
2-1-1 Variation de nombre des nodules	53
2-1-2 Variation de la matière sèche nodulaire	53
2-1-3 Effet variétale	55
2-2 La croissance végétale	55
2-2-1 Variation de la biomasse sèche aérienne	55

2-2-2 Variation de la biomasse sèche racinaire	56
2-2-3 Variation du taux de l'azote total dans la partie aérienne	57
2-2-4 Variation de la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne	58
3-Variabilité de la fixation symbiotique de l'azote chez les deux légumineuses	60
3-1 La variabilité en fonction des variétés et des populations testées	60
3-2 La variabilité en fonction des localités étudiées	61
4-Efficacité de la symbiose rhizobienne chez les deux légumineuses	64
4-1 Corrélation entre la nodulation et la croissance végétale	64
4-2 Corrélation entre la nodulation et la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne	67
5- Corrélation entre la fixation symbiotique de l'azote et les propriétés physico-chimiques des sols testés	70
6- Caractérisation microbiologique des souches de rhizobia isolées	78
6-1 Caractéristiques coloniales (morphologiques)	78
6-2 Caractéristiques cellulaires (biochimiques)	80
6-3 Caractéristiques physiologiques des souches isolées au laboratoire (Profil de réponse aux conditions physiologiques)	80
6-3-1 Effet de la température sur la croissance des souches isolées	80
6-3-2 Effet des pH sur la croissance des souches isolées	81
6-3-3 Effet du stress salin sur la croissance des souches isolées	82
CONCLUSION	85
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	87
ANNEXES	

LISTE DES ABREVIATIONS

%	: Pourcentage
°	: Degré
A	: Argiles
ACP	: Analyse en composantes principales
BSA	: Biomasse sèche aérienne
BSN	: Biomasse sèche nodulaire
C°	: Degré celsuse
Ca	: Calcium
CE	: Conductivité électrique
CL	: Chlore
cm	: Centimètre
ds	: Décisiemens
g	: Gramme
h	: Heure
H	: Humidité
HCO₃	: Bicarbonate
K	: Potassium
Kg	: Kilogramme
L	: Limons
L	: Litre
Mg	: Magnésium
mg	: Milligramme
min	: Minute
mL	: Millilitre
N	: Azote
N₂	: Azote gazeux
Na	: Sodium
NN	: Nombre des nodules
P	: Pluviométrie
P₂O₅	: Phosphore
PB	: Population Baldia
pH	: Potentiel hydrogène
PM	: Population M'zeraa
ppm	: Partie par million
Q	: Quotient d'Emberger
QAPA	: Quantité de l'azote accumulée dans la partie
RF	: Rhizobia fève
RL	: Rhizobia luzerne
SF	: Sables fins
SG	: Sables grossiers
SO₄	: Sulfate
T°	: Température
UF	: Unité fourragère
V	: Vent
VD	: Variété Dista
VLO	: Variété Luze de otono
YEM	: Yeast Exctrat Mannitol
YEMA	: Yeast Exctrat Mannitol Agar

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I	Estimation des quantités d'azote fixé par différentes légumineuses cultivées	7
Tableau II	Composition chimique moyenne pour 100 g net de fève	9
Tableau III	Classification des rhizobia	12
Tableau IV	Approche pour éliminer ou réduire les contraintes environnementales limitant la fixation de N ₂	22
Tableau V	Températures moyennes mensuelles, maximales et minimales enregistrées au cours de la période	26
Tableau VI	Données pluviométriques mensuelles moyennes à Biskra pour la période 1995- 2009.	26
Tableau VII	La vitesse des vents (m/s) à Biskra pour la période 1995- 2009	27
Tableau VIII	Humidité relative moyenne pendant la période 1995- 2009.	27
Tableau IX	Nombre d'heures d'insolation pour la période 2002- 2008	27
Tableau X	Variétés et origine de légumineuses étudiées	32
Tableau XI	Composition du milieu YEM	33
Tableau XII	Caractéristiques morphologiques des colonies des souches de rhizobia étudiées.	79
Tableau XIII	Caractéristiques biochimiques des souches de rhizobia testées	80
Tableau XIV	Effet de la température sur la croissance des souches de rhizobia isolées	81
Tableau XV	Effet du pH sur la croissance des souches étudiées	82
Tableau XVI	Comparaison des effets de différents sels sur la croissance des souches de rhizobia isolées	84

LISTE DES FIGURES

Figure 1	Cycle de l'azote	5
Figure 2	Etapes de la formation d'un nodule racinaire chez une légumineuse infectée par rhizobia.	15
Figure 3	Représentation schématique d'une coupe longitudinale dans un nodule.	16
Figure 4	Diagramme ombrothermique de Gaussen de la région de Biskra pour la période 1995-2009	28
Figure 5	Localisation de la région de Biskra sur le climagramme d'Emberger	30
Figure 6	Localisation des localités de prélèvement des échantillons de sols	34
Figure 7	Nodules des plants de la fève	42
Figure 8	Le nombre des nodules par plante de la fève sur des sols provenant des différentes localités	43
Figure 9	Biomasse sèche nodulaire en mg/plante de la fève sur des sols provenant des différentes localités.	44
Figure 10 :	Biomasse sèche aérienne en g/plante de la fève sur des sols provenant des différentes localités.	47
Figure 11	Biomasse sèche racinaire en g/plante de la fève sur des sols provenant des différentes localités	48
Figure 12	le taux de l'azote dans la partie aérienne en % des plantes de la fève sur des sols provenant des différentes localités	49
Figure 13	la quantité de l'azote accumulé dans la partie aérienne en mg/plante de la fève sur des sols provenant des différentes localités.	50
Figure 14	Nodules des plants de la luzerne	52
Figure 15	Le nombre des nodules par plante de la luzerne sur des sols provenant des différentes localités	53
Figure 16	Biomasse sèche nodulaire en mg/plante de la luzerne sur des sols provenant des différentes localités	54
Figure 17	Biomasse sèche aérienne en g/plante de la luzerne sur des sols provenant des différentes localités	56
Figure 18	Biomasse sèche racinaire en g/plante de la luzerne sur des sols provenant des différentes localités.	57
Figure 19	Le taux de l'azote dans la partie aérienne en % des plantes de la luzerne sur des sols provenant des différentes localités.	58
Figure 20	La quantité de l'azote accumulé dans la partie aérienne en mg/plante de la luzerne sur des sols provenant des différentes localités.	59
Figure 21	Des boîtes à Moustaches de l'analyse de variance en fonction des variété et des populations testées.	60
Figure 23	Classification des sols de la région de Biskra en fonction de l'importance de la fixation symbiotique de l'azote chez la fève et la luzerne	62
Figure 24	Corrélation entre la croissance de la fève chez la variété Luze de otono en fonction de la croissance nodulaire	63
Figure 25	Corrélation entre la croissance de la fève chez la population M'zeraa en fonction de la croissance nodulaire	65

Figure 26	Corrélation entre la croissance de la luzerne chez la variété Dista en fonction de la croissance nodulaire	66
Figure 27	Corrélation entre la croissance de la luzerne chez la population Baldia en fonction de la croissance nodulaire	66
Figure 28	Corrélation entre la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne de la fève chez la variété Luze de otono en fonction de la croissance nodulaire	68
Figure 29	Corrélation entre la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne de la fève chez la population M'zeraa en fonction de la croissance nodulaire	68
Figure 30	Corrélation entre la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne de la luzerne chez la variété Dista en fonction de la croissance nodulaire	69
Figure 31	Corrélation entre la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne de la luzerne chez la population Baldia en fonction de la croissance nodulaire	69
Figure 32	ACP sur la fixation symbiotique de l'azote chez la fève et la luzerne dans la région de Biskra : graphe des variables	73
Figure 33	ACP sur la fixation symbiotique de l'azote chez la fève et la luzerne dans la région de Biskra : graphe des individus.	73
Figure 34	Dendrogramme représentant la distribution des sols des différentes localités en tenant compte de l'ensemble des caractéristiques physico-chimiques étudiées.	75
Figure 35	Dendrogramme représentant la classification des différentes localités en fonction de la fixation symbiotique chez la fève et la luzerne de l'azote dans la région de Biskra	76

INTRODUCTION

L'azote bien qu'abondant dans l'atmosphère, est le facteur limitant le plus fréquent après l'eau, de la production agricole. Un problème crucial auquel doit faire face l'agriculteur en fournissant à la plante l'azote assimilable lorsqu'elle en a besoin, tout en maintenant le stock du sol (Raven et *al.*, 2003).

Certaines plantes, comme les légumineuses, peuvent cependant puiser et fixer l'azote gazeux présent dans l'atmosphère grâce à une association symbiotique avec des bactéries appelées rhizobia. Cette symbiose se traduit par la formation au niveau des racines des légumineuses de protubérances appelées nodules ou nodosités dans lesquels ces plantes hébergent les rhizobia dans un environnement propice à l'activité fixatrice d'azote.

Au sein de ces nodules, la plante fournit les substrats énergétiques/carbonés nécessaires au rhizobia qui en retour fournissent de l'azote sous forme d'ammoniac directement utilisable dans le flux métabolique de la plante (Sadowsky et Graham, 2006).

Cette symbiose permet aux légumineuses d'être relativement indépendantes vis-à-vis de l'azote du sol, ce qui permet d'assurer leurs besoins.

En outre, avec l'ascension des prix des engrais azotés et au vu des problèmes de pollution par les nitrates, l'importance des légumineuses à forte capacité fixatrice de l'azote devient évidente. Pour les régions où les sols sont généralement pauvres en azote, la fève et la luzerne constituent des cultures stratégiques sur le plan économique et alimentaire.

La fixation symbiotique de l'azote est devenue un élément incontournable des politiques de limitation des apports d'engrais azotés que ce soit pour des raisons économiques, écologiques ou de durabilité de l'activité agricole (Alkama et *al.*, 2002; Jeder et *al.*, 2003).

Il est donc avantageux de cultiver les légumineuses car d'une part, elles fournissent des aliments riches en protéines et d'autre part, ce sont des cultures à faible niveau d'intrants qui ne modifient que très peu les équilibres biologiques naturels (Sprent, 2001).

Cependant ces avantages sont subordonnés à leur capacité de contacter des symbioses fixatrices de l'azote avec des rhizobia des sols destinés à leur culture. Cette capacité ne peut s'exprimer avantagement que si la légumineuse rencontre dans le sol la souche de rhizobia qui est compatible avec elle et qui en même temps présente un pouvoir d'infectivité des racines (une bonne compétitivité vis-à-vis des autres bactéries et une grande efficacité au plan de réduction symbiotique de l'azote atmosphérique) (Graham, 2008).

Dans une symbiose fixatrice de l'azote, la bactérie symbiotique et la plante hôte établissent entre elles un système de partenariat. L'exploitation de cette symbiose dépend de nos

connaissance non seulement sur le couple plante-bactérie mais aussi sur le couple bactérie-sol, le sol étant considéré comme une entité avec toutes ses composantes biologiques et physico-chimiques (Dommergue et *al.*, 1999).

Au champ, la fixation de l'azote potentielle est limitée par des contraintes environnementales (on utilise aussi l'expression de facteurs limitants) dont l'impact est parfois considérable de sorte que la fixation de l'azote réelle peut être beaucoup plus faible que la fixation potentielle. Ces contraintes sont de nature physique, chimique et biologique. Les facteurs limitants agissent à différents niveaux : ils peuvent affecter le microorganisme à l'état libre, le processus d'infection et le développement du nodule et le fonctionnement de la symbiose lorsque cette dernière a été établie. En outre, la plante joue un rôle dominant par rapport à la bactérie, de sorte que tout facteur affectant l'état physiologique de la plante (maladie, déficience nutritionnelle, toxicité, salinité, contraintes hydrique,...) retentit directement sur l'activité fixatrice de l'azote de la bactérie symbiotique (Brockwell et *al.*, 1995).

L'étude de l'effet de toute contrainte environnementale est compliquée par le fait que cet effet dépend non seulement de l'intensité et de la durée de la contrainte considérée, mais aussi de ses interactions avec les autres facteurs du milieu. En outre, il est nécessaire de tenir compte de la variabilité de tolérance intrinsèque des partenaires des symbioses à chaque contrainte (O'hara et *al.*, 2002).

Dans la région de Biskra, les contraintes osmotiques dues au déficit hydrique et/ou à la salinité, les déficiences nutritionnelles liées à la pauvreté des sols ou induites par ses caractéristiques physico-chimiques, sont les facteurs limitants majeurs de la fixation symbiotique de l'azote et de la productivités des légumineuses.

C'est afin d'évaluer le potentiel symbiotique des sols de la région de Biskra, nous avons proposée cette étude au cours de laquelle nous nous efforcerons :

- D'évaluer la susceptibilité de la fève (*Vicia faba* L.) et de la luzerne (*Medicago sativa* L.) au pool rhizobien des sols de la région de Biskra.
- De vérifier si la fixation symbiotique chez les deux légumineuses contribue à l'amélioration des rendements en matière sèche.
- De vérifier si les facteurs édaphiques limitent la fixation symbiotique de l'azote.
- De constituer une collection de souches indigènes associées à ces cultures et de caractériser ces souches.

Notre travail est organisé en plusieurs chapitres. Le premier chapitre est consacré pour une synthèse bibliographique sur la fixation biologique de l'azote atmosphérique. Le deuxième chapitre traite les données de la région d'étude tout en étudiant les caractéristiques pédoclimatiques. Le troisième chapitre est consacré à la partie matériel et méthodes adopté à l'expérimentation et en laboratoire. Les résultats et discussion sont présentés dans le quatrième chapitre. En fin le travail sera achevé par une conclusion générale qui englobe des suggestions et des perspectives.

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1-La fixation biologique de l'azote atmosphérique

La fixation biologique de l'azote atmosphérique est le processus par lequel certains micro-organismes transforment l'azote de l'air (N_2 ou diazote) en ammoniac (Huhevet et *al.*, 1996; Chambenoit, 2002; Hopkins, 2003; Wekeford, 2004, Ricklefs et Miller, 2005; Rose et Mueller, 2006). Elle résulte de l'activité d'une enzyme qui s'appelle **la nitrégénase** (Davet, 1996; Lengenter et *al.*, 1999; Prescott et *al.*, 2003; Maier et *al.*; 2009).

1-1 Place de la fixation biologique dans le cycle de l'azote

Le cycle de l'azote est l'un des cycles biogéochimiques les plus complexes (Bockman et *al.*, 1990; Ramade, 2003). Une représentation simplifiée d'après Tortora et *al.* (2003) est présentée sur la figure 1.

Le principal réservoir d'azote est l'atmosphère; l'azote gazeux (N_2) constitue en fait quelque 78% de l'atmosphère (Robert, 1996; Morot- Gaudry, 1998; Hopkins, 2003; Raven et *al.*, 2003; Pelmont, 2005; Richlefs et Miller, 2005). La plupart des organismes vivants (animaux, végétaux, majorité des micro-organismes) ne peuvent cependant utiliser l'azote atmosphérique pour la synthèse de leurs acides aminés et des autres composés azotés; ils dépendent donc des molécules azotées plus réactives présentes dans le sol; comme l'ammonium et les nitrates. Ces molécules ne sont malheureusement pas aussi abondantes que l'azote gazeux. Il en résulte que l'azote est souvent un facteur limitant dans les écosystèmes naturels ou cultivés (Léveque, 2001; Hopkins, 2003; Raven et *al.*, 2003; Perry et *al.*, 2004).

Un processus essentiel de l'entre d'azote dans le cycle est **la fixation biologique de l'azote atmosphérique** (Doré et *al.*, 2006). C'est une étape très importante du cycle de l'azote, qui fournit de l'azote utilisable pour la nutrition des plantes (Modigan et Martinko, 2007, Pedro, 2007). La fixation biologique de l'azote capable de restituer à la biosphère l'azote combiné perdu par le phénomène de dénitrification (Berner et Berner, 1996; Doré et *al.*, 2006; Rose et Mueller, 2006).

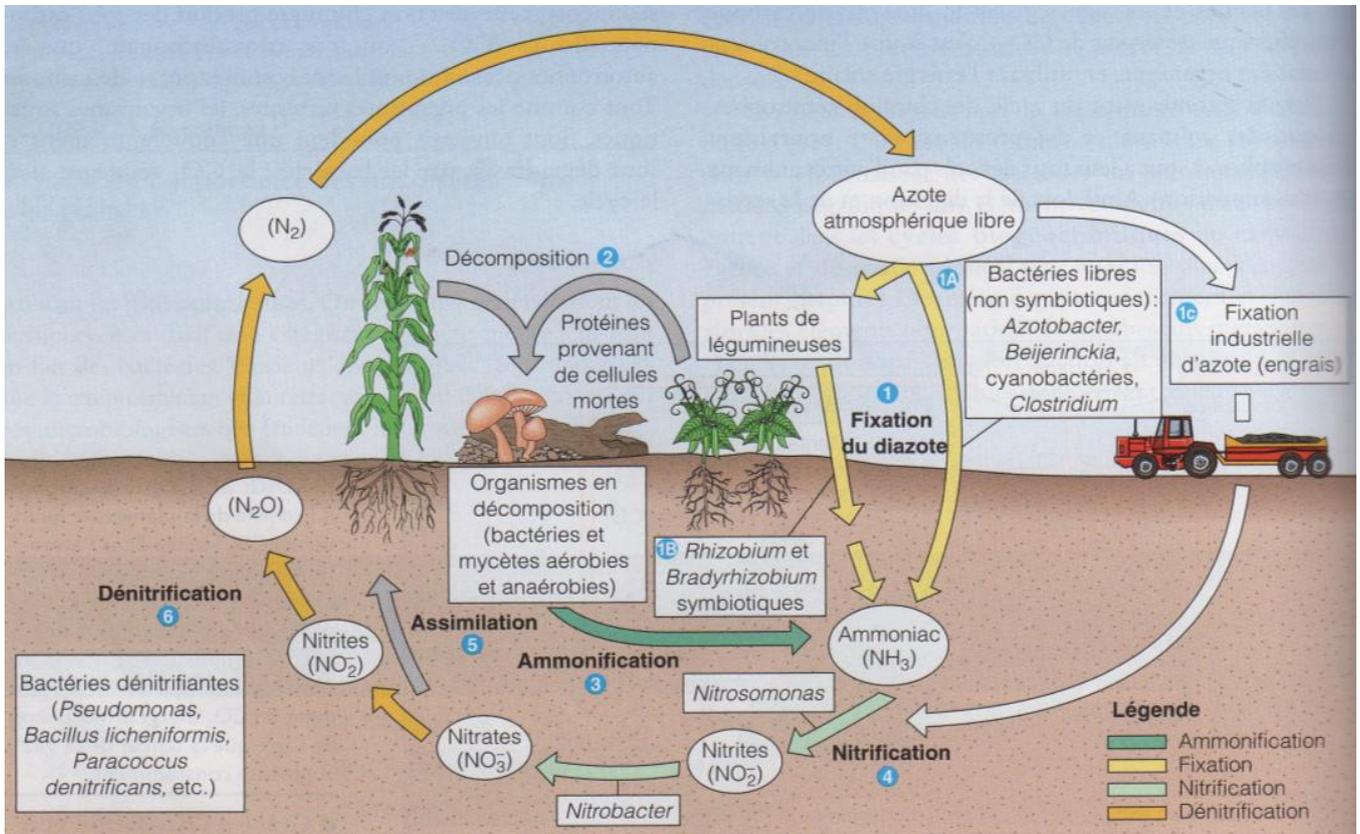


Figure 1 : Cycle de l'azote (Tortora et al., 2003)

1-2- Les organismes et les systèmes fixateurs de l'azote

Les micro-organismes fixateurs d'azote dite diazotrophes remplissent une fonction écologique irremplaçable (Davet, 1996). Ce sont des procaryotes (bactéries et cyanobactéries), qui vivent soit à l'état libre dans le sol, éventuellement en association avec un végétal, soit en symbiose avec un végétal (Luttge et *al.*, 1994, Vilain, 1997).

- **Les fixateurs libres** sont représentés essentiellement par des *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Clostridium*, *Rhodospirillum* (Davet, 1996; Madigan et Martinko; 2007).
- **Les fixateurs associatifs** sont représentés essentiellement par les *Azospirillum* (Luttge et *al.*, 1994, Perry et *al.*, 2004, Pelmont, 2005).
- **Les fixateurs symbiotiques** sont représentés par :
 - Les *Rhizobia*, l'un des principaux groupes et le plus anciennement connu, s'associent aux légumineuses (Davet, 1996; Hopkins, 2003; Perry et *al.*, 2004).
 - Les *Frankia*, bactéries filamenteuses sporulantes (actinomycètes) associées à des arbres et des arbustes comme les Casuarina, les Myrica et les Alnus (Davet, 1996; Lèveque et Mounolou, 2001; Dolery et *al.*, 2003; Tortora et *al.*, 2003; Perry et *al.*, 2004).
 - *Anabaena* (cyanobactérie) vit en symbiose avec *Azolla*, une fougère aquatique importante pour la culture du riz (Moret, 1996. Prescott et *al.*, 2003; Pelmont, 2005).

La fixation de l'azote nécessite beaucoup d'énergie, pour chaque molécule de diazote, au moins 16 ATP sont nécessaires (Postgate, 1982; Streeter, 1993; Morel, 1996; Paul, 1999; Hopkins, 2003; Perry et *al.*, 2004).

Les micro-organismes fixateurs de l'azote adoptent des systèmes fixateurs d'azote, pour assurer les besoins énergétiques de leur nitrogénase. Il existe 3 systèmes de fixation biologique de l'azote :

- **Les systèmes libres** : les micro-organismes fixateurs assurent la couverture de leurs besoins énergétiques à partir des carbohydrates du sol. En raison de la rareté de ces derniers et de la compétition des autres composantes de la microflore tellurique pour leur utilisation, le niveau de fixation de l'azote est faible (Luttge et *al.*, 1994; Vilain, 1997; Raven et *al.*, 2003).
- **Les systèmes associatifs** : les micro-organismes fixateurs colonisent la rhizosphère des plantes et profitent des exsudats racinaires pour assurer la couverture de leurs besoins énergétiques (Luttge et *al.*, 1994; Vilain, 1997).

- **Les systèmes symbiotiques** : l'association entre la plante et les fixateurs est plus étroite et se traduit par la formation de dispositions anatomiques (poches, épiphylls) ou de structures plus élaborées qui sont de véritables organes (nodules, hétérocystes) dédiés à l'interaction entre les deux symbiotes. Les plus évoluées de ces interactions sont en fait des endosymbioses en ce sens que le fixateurs se retrouvent hébergé dans un organe et de surcroît à l'intérieur des cellules de l'hôte comme c'est le cas de la symbiose rhizobia- légumineuses (Luttge et *al.*, 1994). La plante fournit les conditions et les éléments nutritifs nécessaires à la bactérie qui, en retour, fixe l'azote qu'intégreront les protéines végétales (Delory et *al.*, 2003; Tortora et *al.*, 2003).

1-3 Importance des différents systèmes fixateurs de l'azote

Il existe différentes évaluations de la fixation d'azote annuelle globale, les chiffres varient considérablement selon les auteurs. Il est généralement admis que l'ensemble du processus de fixation biologique de l'azote, par les fixateurs libres, associatifs et symbiotique, peut s'élever entre 150 à 200 millions de tonnes par an à l'échelle de planète (Sprent, 2001; Drevon, 1992; Trinchant et *al.*, 1998; Bliefert et Perraud; 2001; Lèveque et Mounolou, 2001). Par rapport à la quantité totale d'azote fixé dans les écosystèmes terrestres, la contribution majeure provient des systèmes symbiotiques. La symbiose fixatrice d'azote la plus importante au niveau de la biosphère est celle qui concerne les légumineuses et les bactéries Rhizobia (près de la moitié de l'azote fixé annuellement) (Drevon, 1992; Trinchant et *al.*, 1998). La fixation d'azote par les légumineuses (Tableau I) présente un intérêt agronomique, écologique et économique considérable (Dommergue et Mongenot, 1970).

Tableau I : Estimation des quantités d'azote fixé par différentes légumineuses cultivées (valeurs extrêmes entre parenthèses) (Vilain, 1997; Soltner, 2005).

Espèces	N fixe Kg/ ha	
Luzerne	200	(56-463)
Trèfle	183	(45-673)
Lupin	176	(145-208)
Fève	210	(45-552)
Pois	65	(52-77)
Lentille	105	(88-114)
Soja	75	(1-168)

Le tableau I montre clairement l'importance de la fixation symbiotique de l'azote chez la fève et la luzerne.

2- La fixation symbiotique de l'azote chez les légumineuses

L'association symbiotique entre Rhizobia; bactérie fixatrice d'azote atmosphérique, et les légumineuses représente l'un des modèles les plus importants d'interactions entre bactéries et plantes (Madigan et Martinko, 2007). Le bon fonctionnement de la symbiose rhizobia-légumineuses nécessite une coordination entre deux partenaires : la plante hôte (légumineuse ou macro-symbionte) et la bactérie (rhizobia ou micro-symbionte).

2-1 Le marosymbionte: les légumineuses

Les légumineuses représentent la troisième plus grande famille de plantes à fleurs (numériquement parlant) qui regroupe trois sous-familles, les Papilionacées (ou Fabacées), les Mimosacées et les Césalpiniacées (Messaili, 1995; Dommergues et *al.*, 1999). Les deux espèces retenues pour notre étude sont : la fève et la luzerne.

2-1-1 La fève (*Vicia faba* L.)

2-1-1-1 Origines et caractéristiques de la plante

Les fèves et fèveroles sont des cultivars d'une même espèce, *Vicia faba* L.. D'après la grosseur de la graine, on peut distinguer les sous-espèces : *Vicia faba major* (la fève proprement dite, à gros grains), *Vicia faba equina* (la fèverole à grains moyens) et *Vicia faba minor* (La fèverole à petits grains) (Leguen et Duc, 1992; Le Clech, 1999).

Les fèveroles à petits et moyens grains sont originaires du sud-ouest de l'Asie (sud de la mer Caspienne) (Boyeldieu, 1991), et la fève provient vraisemblablement d'Afrique (Le Clech, 1999).

L'homme a probablement utilisé *V. faba* dans sa nourriture dès le néolithique (Shuliz *in* Boussalem, 1987; Boyeldieu, 1991). Elle est essentiellement cultivée dans le bassin méditerranéen, en Amérique du sud et en Asie du sud-est, cultivée aussi en Europe occidentale et du nord (Gallais et Bannerol, 1992).

L'espèce *Vicia* appartient à la famille des légumineuses est choisie comme type de la sous-famille des papilionacées, et à la tribu des viciées (Schater et Yamamoto *in* Lawes et *al.*, 1983; Boyeldieu., 1991).

La fève est une plante annuelle herbacée, à tige creuse quadrangulaire, à racines pivotantes parfois, superficielles plus généralement, portant des nodosités renfermant les bactéries spécifiques fixatrices d'azote atmosphérique : *Rhizobium leguminosarum*. Les feuilles comportent deux folioles à la base de la tige puis 3 ou 4 par la suite. Les fleurs blanches avec une tache noire sur les ailes. Elles portent aux aisselles des nœuds reproducteurs en grappes de 2 à 12 selon le type (Leguen et Duc, 1992).

Le fruit est une gousse large peut contenir un nombre assez variable de grains (4 à 9). La graine; large, aplaties, en forme de rognon, de couleur verte ou jaunâtre (Chaux et Foury, 1994).

2-1-1-2 Intérêt de la fève

L'utilité de la fève dans l'alimentation humaine et animale comme source de protéines ainsi que leur effet bénéfique sur la fertilité des sols sont largement reconnus.

L'utilisation de la fève est principalement orientée vers la consommation humaine en gousses fraîche à grande proportion et sous forme de graines secs ou au stade pâteux à faible proportion. Lors d'abondance le surplus des graines de fève incorporé dans la composition d'aliments du bétail (Maatougui, 1997).

La féverole, en revanche, lorsqu'elle est disponible, est strictement utilisée pour l'alimentation du bétail en graines concassées destinées aux bovins surtout pour l'engraissement.

La fève peut être aussi utilisée en engrais vert dans les vergers (Maatougui, 1996).

Pour sa valeur alimentaire; La fève est considérée parmi les cultures les plus riches en matières nutritives. La composition chimique moyenne pour 100 g net est présentée dans le tableau suivant :

Tableau II : Composition chimique moyenne pour 100 g net de fève (Fachmann et Kraut, 2006).

Compositions (g)	Vitamine (mg)
Glucides10,0	Acide ascorbique.....82,00
Protides5,40	Provitamine A(carotène).....0,100
Lipides 0,30	B1 (thiamine).....0,300
Eau82,0	B2 (riboflavine).....0,200
Fibres alimentaire6,50	B3 (nicotamide).....1,800
Minéraux (mg)	Apports énergétiques
Potassium210,0	K calories.....64,00
Phosphore105,0	K joules.....268,0
Calcium24,0	
Magnésium18,00	
Soufre27,00	
Sodium4,00	
Chlore14,00	

2-1-2 La luzerne (*Medicago sativa* L.)

2-1-2-1 Origines et caractéristiques de la plantes

Sous l'appellation luzerne cultivée, on classe deux espèces botaniques et leurs hybrides, *Medicago sativa* L., *Medicago falcata* et *Medicago media* (ou *Medicago varia* Mortyn) hybride entre les deux espèces précédentes (La pevronie, 1982; Mauries, 2003).

La luzerne (*Medicago sativa* L.) est une des plantes fourragères les plus répandues sur tous les continents. Sa culture remonterait à plus de 9000 ans, dans les hauts plateaux du Caucase, L'Iran et Turquie d'où elle se serait répandue dans le monde entier (Mauriès, 2003). Bentvelsen (1980) et Soltner (1999) signalent l'origine de *Medicago sativa* comme étant méditerranéenne.

L'espèce *Medicago sativa* L. appartient à la famille des légumineuses, sous famille des papilionacées et au genre *Medicago*. Ce genre comprend un grand nombre d'espèces, la plus connue parmi ces espèces est la luzerne cultivée (*Medicago sativa* L.) qui constitue un aliment pour le bétail (Prosperi et al., 1995).

Medicago sativa est une plante vivace à systèmes racinaires vipotantes, les racines ont des nodosités, et les bactéries qu'elles contiennent (*Sinorhizobium meliloti*) fixent l'azote de l'atmosphère (Munro et Small, 1997). Le développement des tiges suit un ordre précis, on distingue des tiges primaires, secondaires et tertiaire. Les feuilles sont en général de type trifoliées. Les fleurs sont regroupées en inflorescences, la couleur des fleurs chez *Medicago sativa* est le mauve- violet (Mauriès, 2003).

La fécondation est allogame. Le fruit est une gousse plus ou moins enroulée, en forme spiralée. La graine est plus ou moins réniforme (Camille, 1980).

2-1-2-2 Intérêt de la luzerne

La luzerne est considérée dans tous les pays comme une plante fourragère de première importance et dont la culture est la plus ancienne (La pevronie, 1982; Brumont, 2008).

La luzerne est destinée à l'alimentation des animaux, ruminants et monogastrique, qui se caractérise par une valeur énergétique moyenne (0,7 UF/ Kg de matière sèche) et une teneur en protéines élevée (Génier et al., 1992).

L'intérêt de la luzerne réside également dans le rôle important qu'elle joue dans l'amélioration de la structure des sols liée à son important système racinaire et qui laisse aussi un tonnage important de matière organique humifiable (Adam, 1974; Pousset, 2002).

La luzerne a la capacité d'assurer sa nutrition azotée grâce à la fixation symbiotique et aussi par la voie de l'absorption de l'azote minérale de sol. Son rôle d'espèce épuratrice de nitrates

grâce à ses possibilités de captage d'azote en profondeur est du plus vif intérêt (Muller, 1990 in Génier et *al.*, 1992).

La composition chimique, la régularité du rendement font de la luzerne une espèce industrialisable (luzerne déshydratée et concentré protéique foliaire destinés à l'alimentation animale; protéine blanche Rubisco, bien- tôt utilisées par les industries pharmaceutique et (ou) agro- alimentaires humaines; source envisageable de fibre celluloses) (Génier et *al.*, 1992).

2-2- Le micro- symbiote: les rhizobia

2-2-1 Caractéristiques des rhizobia

On désigne par rhizobia ou bactéries nodulant les légumineuses toute bactérie capable de former une symbiose se traduit, par la formation sur les racines ou plus rarement sur les tiges ou les feuilles d'une légumineuses, d'un organe particulier (le nodule ou nodosité) capable de fixer ou de réduire l'azote moléculaire (Lebbida, 2009).

Les rhizobia sont des bâtonnets mobiles de 0,5 à 0,9 sur 1,2 à 3,0 Mm à Gram négatif aérobies, non sporulantes (Tortora et *al.*, 2003; Saad et *al.*, 2006).

2-2-2 Diversité et classification des rhizobia

Pendant longtemps, les propriétés symbiotiques sont restées la seule base de la caractérisation des rhizobia mais actuellement l'on a complété l'étude classique des caractères phénotypiques par celle de la structure génomique (Krishnan et Bennet, 2007).

Les recherches récentes indiquent que la diversité des rhizobia, comme celle de tous les autres micro-organismes, est extrême (Amarger,2001).

La classification des rhizobia a subi de nombreuses modifications ces dernières années et les propositions de remaniements futurs seront nombreuses.

Le tableau III tente simplement de refléter l'état des connaissances actuelles sur la taxonomie des rhizobia (D'après Gharam, 2008); mais celle- ci est très probablement appelée à être modifiée à l'avenir.

Tableau III: Classification des rhizobia (Graham, 2008)

Genres / espèces	Plantes hôtes
Allorhizobium <i>A. undicola</i>	<i>Neptunia natans, Acacia, Faidherbia, Lotus</i>
Azorhizobium <i>A. caulinodans</i> <i>A. doebereineriae</i>	<i>Sesbania rostrata</i> <i>Sesbania virgata</i>
Blastobacter <i>B. denitrificans</i>	<i>Aeschynomene indica</i>
Bradyrhizobium <i>B. canariense</i> <i>B. elkanii</i> <i>B. japonicum</i> <i>B. liaoningense</i> <i>B. yuanmingense</i>	<i>Chamaecytisus, lupinus</i> <i>Glycine max</i> <i>Glycine max</i> <i>Glycine max</i> <i>Lespedeza, Medicago, Melilotus</i>
Burkholderia <i>B. caribensis</i> <i>B. cepacia</i> <i>B. phymatum</i> <i>B. tuberum</i>	<i>Mimosa diplotricha</i> <i>M. pudica</i> <i>Alysicarpus glumaceus</i> <i>Macherium lunatum, Mimosa</i> <i>Aspalathus spp</i>
Devosia <i>D. neptuniae</i>	<i>Neptunia natans</i>
Mesorhizobium <i>M. amorphae</i> <i>M. chacoense</i> <i>M. ciceri</i> <i>M. huaxuui</i> <i>M. loti</i> <i>M. mediterraneum</i> <i>M. plurifarum</i> <i>M. septentrional</i> <i>M. temperatum</i> <i>M. tianshanense</i>	<i>Amorpha fruticosa</i> <i>Prosopis alba</i> <i>Cicer arietinum</i> <i>Astragalus sinicus, Acacia</i> <i>Lotus corniculatus</i> <i>Cicer arietinum</i> <i>Acacia senegal, Prosopis juliflora, leucaena</i> <i>Astragalus adsurgens</i> <i>Astragalus adsurgens</i> <i>Glycyrrhiza pallidiflora, Glycine, Caragana, Saphora</i>
Ralstonia (cupriavidus) <i>R. taiwanensis</i>	<i>Mimosa</i>
Rhizobium <i>R. etli</i> <i>R. galegae</i>	<i>Phaseolus vulgaris, Mimosa affinis</i> <i>Galega orientalis, Gofficinalis</i>

<i>R. gallicum</i>	<i>Pivulagris leucaena, Macropilium, Onobrychis</i>
<i>R. giardinii</i>	<i>P. vulgare, leucaena, Macroptilium, Desmanthus</i>
<i>R. hainanense</i>	<i>Desmodium sinuatum, Stylosathes, Vigna, Arachis, Desmanthus</i>
<i>R. huautlense</i>	<i>Sesbania herbacea</i>
<i>R. indigoferae</i>	<i>Indigofera</i>
<i>R. leguminosarum</i>	
<i>bv trifolii</i>	<i>Trifolium</i>
<i>bv viciae</i>	<i>La thyrus, Lens, Pisum, Vicia</i>
<i>bv phaseoli</i>	<i>P. vulgaris</i>
<i>R. loessense</i>	<i>Astragalus, Lespedeza</i>
<i>R. mongolense</i>	<i>Medicago ruthenica, Phaseolus vulgaris</i>
<i>R. sullae</i>	<i>Hedysarum coronarium</i>
<i>R. tropici</i>	<i>P. vulgaris, Dalea, Leucaena, Macroptilium, Onobrychis</i>
<i>R. yunglinagense</i>	<i>Amohicarpaea, Coronilla, Gueldenstaedtia</i>
<i>Sinorhizobium</i>	
<i>S. abri</i>	<i>Abrus precatorius</i>
<i>S. americanus</i>	<i>Acacia spp</i>
<i>S. arboris</i>	<i>Acacia senega, Prosopis, Chilensis</i>
<i>S. fredii</i>	<i>Glycine max</i>
<i>S. indiaense</i>	<i>Sesbania rostrata</i>
<i>S. kostiense</i>	<i>Acacia senegal, Prosopis chilensis</i>
<i>S. kummerowiae</i>	<i>Kummerowia stipulacea</i>
<i>S. medicae</i>	<i>Medicago truncatula, M. polymorpha, M. orbicularis</i>
<i>S. meliloti</i>	<i>Medicago, Melilotus, Trigonella</i>
<i>S. morelense</i>	<i>Leucaena leucocephala</i>
<i>S. saheli</i>	<i>Acacia, Sesbania</i>
<i>S. terangaie</i>	<i>Acacia, Sesbania</i>

3- L'établissement de la symbiose rhizobienne

L'établissement de la symbiose entre rhizobia et la plante légumineuses est un phénomène complexe. L'interaction symbiotique entre les bactéries rhizobia et les plantes de la famille des Légumineuses se traduit par la formation d'organes spécifiques, appelés nodules ou nodosités, où les bactéries sous leur forme différenciées, Fixent et réduisent l'azote moléculaire en ammoniac (Perry et *al.*, 2004).

3-1 Formation des nodules

La bactérie et la plante hôte mettent en place un système de dialogue basé sur un échange de molécules chimique. Dans un premier temps, les racines excrètent des flavinoides (Hirsh et *al.*, 2001; Graham, 2007). qui attirent le rhizobia dans le voisinage de la racine et activent les gènes bactériens nod, qui codent pour les facteurs de nodulation Nod (Downie, 1998; Ramos et Bisseling, 2004; Downie, 2005). Ces facteurs, sécrétés par le rhizobia stimulent la division des cellules de la partie corticale des racines conduisant à la formation d'un méristème primaire (cellules en division active) (Heller et *al.*, 2000; Macheix et *al.*, 2005).

Les bactéries s'attachent aux racines par l'intermédiaire d'une molécule d'adhésion spécifique, la rhicadhésine, localisé à la surface des cellules de rhizobia. La rhicadhésine est une protéine liant le calcium. Elle permet l'adhésion en complexant le calcium présent à la surface des racines. D'autres substances comme les lectines, qui sont des glycoprotéines végétales, ainsi que des récepteurs spécifiques présents au niveau de la paroi des cellules végétales jouent également un rôle dans la reconnaissance et l'attachement des bactéries à la plante (Krishnan et Bannett, 2007).

La phase d'adhésion entraîne une rétractation des racines en réponse à une sécrétion de molécules et la bactérie pénètre dans les cellules par un mécanisme d'invagination. La croissance et le déplacement de la bactérie dans la racine entraînent la formation d'une excroissance ou filament infectieux (ou cordon d'infection) (Panagiota et *al.*, 1995; Gage, 2004). L'infection s'étend progressivement aux cellules situées à proximité du site d'infection. La division rapide des cellules corticales infectées entraîne la formation du nodule (Borget., 1989; Madigan et Martinko, 2007) (figure 2).

Les bactéries prolifèrent rapidement à l'intérieur des cellules végétales ou elles prennent des formes plus ou moins globuleuses, boursoufflées parfois branchées, devenant ainsi des bactéroïdes. Les bactéroïdes sont enfermés individuellement ou à plusieurs dans des vésicules limitées par une membrane péribactéroïdienne dérivant de la cellule végétale pour former un ensemble nommé symbiosome (une forme fixatrice d'azote) (Parniske, 2000; Werner, 2007).

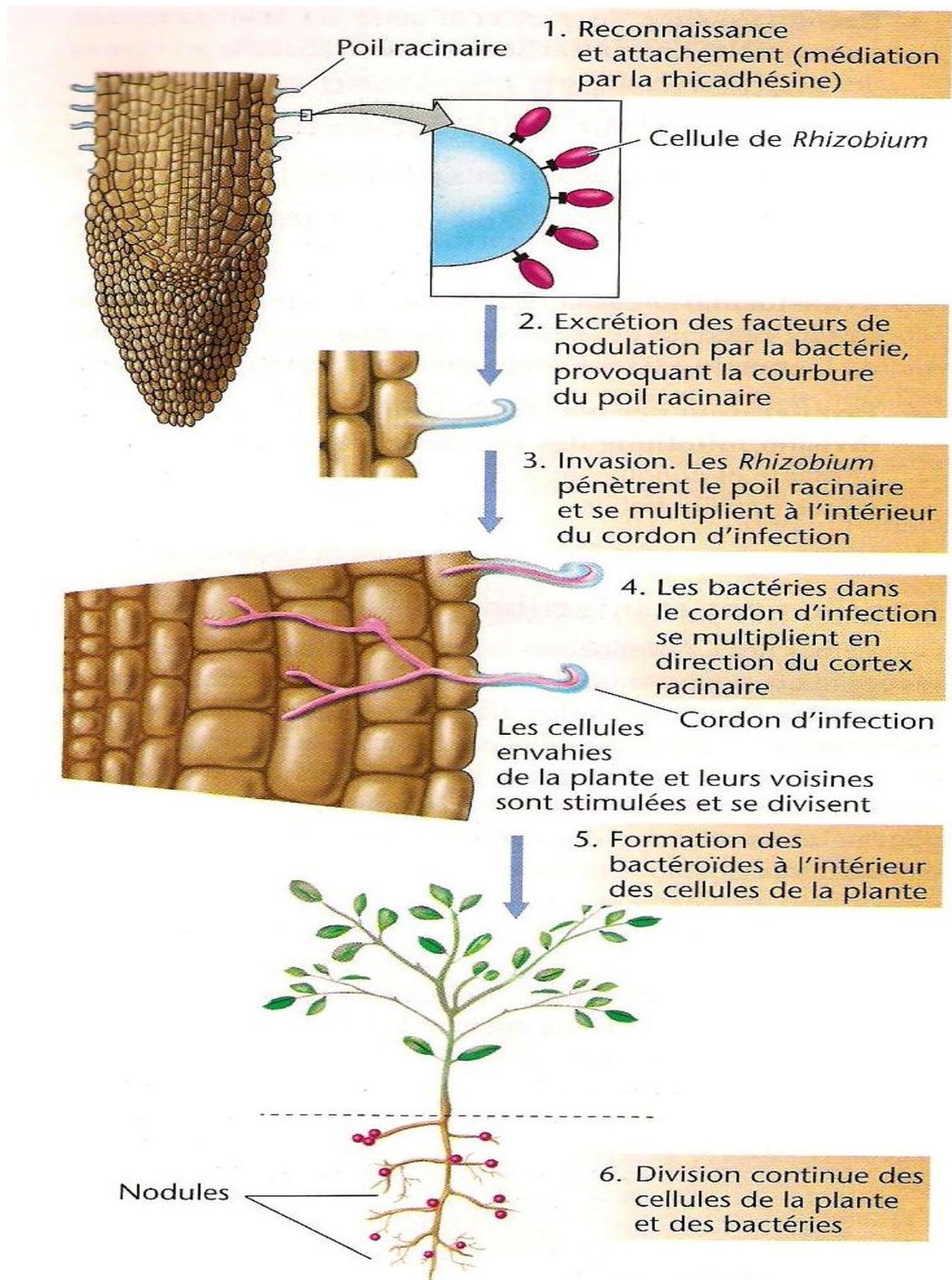


Figure 2 : Etapes de la formation d'un nodule racinaire chez une légumineuse infectée par rhizobia (Madigan et Martinko, 2007).

3-2 Structure et morphologie des nodules

La structure du nodule comporte, en allant du méristème et en se dirigeant vers l'attache du nodule sur la racine on distingue :

- Un méristème, formé de petites cellules non contaminées par les rhizobia et qui assurent la croissance de la nodosité
- La zone de rupture des cordons, dans cette zone, les cellules se multiplient activement et sont contaminées par les rhizobia, mais la fixation n'a pas lieu.
- La zone de fixation, cette zone est le siège de la fixation de N_2 dans les cellules contiennent un très grand nombre de bactéries.
- La zone de dégénérescence, les cellules de la plante hôte dégénèrent
- Les faisceaux libéro- ligneux, irriguent le nodule, apportent les glucides nécessaires pour la réaction de fixation, et exportent vers les feuilles les composés azotés formés (Odaton, 1992; Elmerich, 1997; Trinchant et al., 1998).

Il existe quelques différences dans la morphologie des nodosités qui peuvent, par exemple, entourer complètement le collet comme chez le lupin, ou bien être individualisées sur la racine et prendre des formes arrondies (soja, haricot) ou allongées (luzerne, féverole). L'activité méristématique continue amène à distinguer des nodosités de type indéterminé, qui sont digitées (*Medicago*) ou coralloïdes (*Vicia*), de nodosités de type déterminé chez lesquelles le méristème a une durée d'activité limitée comme chez *Glycine* ou *Phaseolus* (Trinchant et al., 1998).

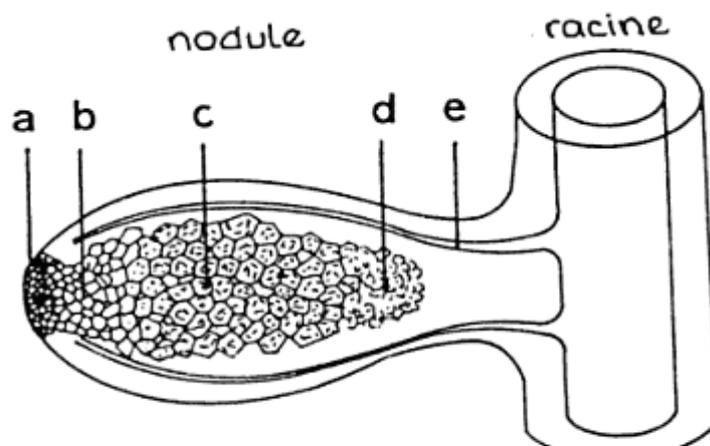


Figure 3: Représentation schématique d'un coupe longitudinal dans un nodule(a: un méristème, b: la zone de rupture des cordons, c: la zone de fixation, d: la zone de dégénérescence, e: Les faisceaux libéro- ligneux)(Odaton, 1992).

fonctionnement de la symbiose rhizobienne

Le processus de fixation biologique de N_2 consiste dans la réduction de l'azote atmosphérique (N_2) sous la forme ammoniacale, forme utilisable par la plante. La fixation de l'azote est réalisée par la nitrogénase, une enzyme constituée par l'assemblage de deux protéines nommées dinitrogénase et dinitrogénase réductase. Les deux composants contiennent du fer, et la dinitrogénase contient également du molybdène. Cette nitrogénase reste localisée à l'intérieur des bactéroïdes et n'est pas exportée vers le cytoplasme des cellules végétales (Madigan et Martinko, 2007; Werner, 2007).

Dans les nodules, les bactéroïdes sont entourés de leghémoglobine. La synthèse de leghémoglobine dépend d'information génétique apportée par la plante et la bactérie (Delory et *al.*, 2003).

La leghémoglobine est un pigment rouge contenant une protéine à fer de type hème. En se liant à l'oxygène contenu dans les nodules, elle maintient une tension d'oxygène suffisante pour permettre la respiration des bactéroïdes aérobies et la synthèse d'ATP mais à un niveau suffisamment faible pour ne pas inactiver le système de la nitrogénase sensible à l'oxygène (Perry et *al.*, 2004; Raven et *al.*, 2003; Dupuy et Nougier, 2005).

Les bactéroïdes dépendent totalement de la plante qui leur fournit les sources d'énergie indispensables pour réaliser la fixation de l'azote. Le produit de la réaction est l'ammoniac qui sera utilisé principalement par la plante pour la synthèse de composés organiques (glutamine, acides aminés,...) (Perry et *al.*, 2004).

C'est la compartimentation de l'activité nitrogénaique des rhizobia au sein d'un organe spécialisé et le couplage de celle-ci avec le pouvoir photosynthétique du macro symbiote qui font de la symbiose rhizobia-légumineuse, le système biologique fixateur d'azote le plus efficace de la biosphère (Streeter, 1991; Skorpil et Broughton, 2005).

5- L'inoculation

L'absence ou la déficience des rhizobia spécifiques dans un sol peut être remédiée par **L'inoculation** (Hall et Clark, 1995; Deaker et *al.*, 2004). L'inoculation est une opération de bactérisation des semences ou du sol, en vue de l'amélioration de la fixation biologique de l'azote chez une légumineuse à faible activité symbiotique ou nouvellement introduite (Gemell et *al.*, 2005).

L'inoculation dans des conditions écologiques données nécessite la sélection préalable d'une ou plusieurs souches présentant les qualités essentielles suivantes: (i) formation des nodules effectives capables de fixer l'azote avec la légumineuse cible; (ii) concurrencer les rhizobia

existants déjà dans le sol pour la formation des nodules; (iii) formation des nodules fixateurs d'azote même en présence de nitrate du sol; (iv) persistance dans le sol, surtout pour les légumineuses pérennes; (v) colonisation du sol même en absence de la plant hôte; (vi) tolérance aux stress environnementaux; (vii) maintenir une stabilité génétique (Brockwell et *al.*, 1995; Herridge., 2008).

6- Principales contraintes environnementales limitant la fixation symbiotique de l'azote

6-1 Effet de la température, l'eau et la lumière sur la symbiose

Aux températures suboptimale (<20°C), la croissance des microorganismes dans la rhizosphère, l'infection et le développement du nodule seraient plus affectés que le fonctionnement même de la symbiose (Reddell, 1993). Der même les fortes températures, dites supra- optimales (>40°C) inhibent la nodulation (Dommergues et *al.*, 1999) et réduisent l'activité fixatrice de N₂ (Mardowich et *al.*, 1986; Dommergues et *al.*, 1999, Kichou et Sahraoui, 2001; Mafongaya, 2004). Il est probable que les réponses à la température varient considérablement suivant les souches impliquées. Lorsque les températures du sol sont élevées en surface, la nodulation a tendance à être localisée dans les horizons plus profonds (Graham, 1992).

En condition de déficit hydrique, la croissance et la survie des rhizobia sont affectées (Van Gestel et *al.*, 1993; Hungria et Vargas, 2000), la nodulation est réduite (Sangakkara et *al.*, 1996) et le fonctionnement de nodules (fixation de N₂) est diminué (Brockwell et *al.*, 1995) (Hungria et Vargas, 2000; Bacha et Ounane, 2003; Ounane et *al.*, 2003; Lazali, 2009). Les deux partenaires et toutes les étapes de l'établissement et de fonctionnement de la symbiose Rhizobia- légumineuse sont sensibles au stress hydrique (Serraj et *al.*, 1999; Reddy et *al.*, 2003). En règle générale, l'excès d'eau est préjudiciable à la fixation de N₂. Ici encore, il existe de très grandes variation entre les espèces et probablement aussi les provenances (Dommergues et *al.*, 1999).

Une intensité lumineuse optimale est nécessaire pour obtenir la nodulation et la fixation de l'azote maximales (Skerman, 1982). Par le biais de la photosynthèse qu'elle régit directement, la lumière intervient indirectement sur la fixation d'azote (Dommergues et Manganot, 1970).

6-2 Effet de l'acidité et de la toxicité sur la symbiose

La sensibilité des rhizobia est variable, la tolérance des bactéries symbiotiques serait liée à leur aptitude à réguler leur pH cytoplasmique (Raddell, 1993). L'acidité est préjudiciables aux plantes hôtes (Giller et Wilson, 1991) mais il existe une énorme variabilité de comportement entre les provenance au sein d'une même espèce (Dommergues et *al.*, 1999).

Les premières étapes de l'infection racinaire sont très sensibles à l'acidité. La réduction de nodulation se manifeste très nettement lorsque le pH du sol est <5.0 (Raddell, 1993). L'acidité du sol provoque des troubles de la nutrition minérale, à la fois chez le rhizobium et chez la plante hôte (Skerman, 1982).

La toxicité du milieu (métal lourd, polluant,...) affecte moins gravement le microorganisme lui-même que la plante hôte ou le processus de fixation de N₂, c'est le niveau de tolérance de la plante hôte à la substance toxique et non celui du microorganisme fixateur de N₂ qui détermine le seuil de fixation de N₂ (Dommergues et *al.*, 1999).

6-3 Effet des carences en nutriment sur la symbiose

Les contraintes nutritionnelles peuvent également limiter la fixation symbiotique de l'azote en affectant la survie et la multiplication des rhizobia, l'initiation, le développement et le fonctionnement nodulaire ainsi que la croissance de la plante hôte (Delgado et *al.*, 1994). La déficience en phosphore affecte la multiplication des rhizobia dans la rhizosphère ayant pour conséquence une réduction de la probabilité d'infection (Ribet, 1995), diminue la croissance des nodosités (Israël, 1987), inhibe l'activité des plantes (Rychter et Rondall, 1994). Le potassium ne favorise apparemment la nodulation qu'en présence de quantités suffisantes de phosphore (Skerman, 1982). La carence en calcium affecte le processus d'infection (Downie et Walker, 1999; Niebel et *al.*, 1999) en réduisant le nombre de bactéries symbiotique dans la rhizosphère, en ne permettant pas leur attachement sur les racines et en handicapant le développement des poils absorbants et du cordon d'infection (Dommergues et *al.*, 1999). Une carence en soufre se traduit par une réduction de la fixation de l'azote ainsi que de l'intensité photosynthétique (Tibaoui et Zouaghi, 2003).

Le magnésium est indispensable à la survie des rhizobia dans le sol et à la fixation symbiotique (Dommergues et Mangenot, 1970). La carence en fer affecte la survie des rhizobia (Elli et *al.*, 2000; Posey et Gherardini, 2000), la nodulation (Fischer, 1994; Chou et *al.*, 1998) et la fixation de N₂ (Caixian et Robson, 1992).

La symbiose légumineuse- rhizobia est sensible aux carences en molybdène (Dilworth et Loneragan, 1991), en zinc (O'Brian, 1995), en cobalt (Delgado et *al.*, 1998) et en bore (Dommergues et *al.*, 1999).

6-4 Effet de la salinité sur la symbiose

La tolérance au sel des rhizobia est très variable et dépend, probablement dans une grande mesure, de l'efficacité de leurs mécanismes d'osmorégulation (Brhada et Le Rudulier, 1995).

L'inhibition de la nodulation et de la fixation de l'azote chez les légumineuses sous stress salin, peut s'expliquer en partie par l'incapacité des rhizobia à survivre dans le milieu salin (Craig *et al.*, 1999).

La salinité affecte l'initiation, ce développement et le fonctionnement des nodules ainsi que la capacité photosynthétique des feuilles. Des études montrent que l'activité nodulaire est moins affectée par la salinité que la nodulation (Bekki *et al.*, 1987; Hafeez *et al.*, 1988). L'infection semble l'étape la plus sensible au sel (Velagaleti *et al.*, 1990). Il semble aussi que la nodulation soit plus sensible que la plante hôte elle-même (Reddell, 1993). Cependant les travaux de Serraj *et al.* (1994, 1995) montrent que NaCl inhibe l'activité de la nitrogénase et la respiration des nodules en diminuant la disponibilité de l'oxygène. La baisse de la conductance nodulaire à la diffusion de l'oxygène est responsable de l'inhibition de l'activité nitrogénasique (Drevon *et al.*, 1995; Irekti et Drevon, 2003). D'autres résultats suggèrent que l'accumulation des ions toxiques (Na^+ et Cl^-) dans la nodosité peut affecter le métabolisme dans ces organes et inhiber leur activité fixatrice de N_2 (Serraj *et al.*, 1998; Khadri *et al.*, 2003; Pliego *et al.*, 2003).

Notons enfin que les plantes nodulées poussent mieux que les mêmes plantes non nodulées lorsqu'on les cultive dans un sol légèrement salin (Dommergues *et al.*, 1999).

6-5 Effet de l'azote disponible sur la symbiose

La formation des nodules ainsi que la fixation de N_2 sont inhibés par l'azote disponible (azote nitrique et azote ammoniacal) (Skerman, 1982; Dommergues, 1999). Cette inhibition s'explique par le fait que la fixation de N_2 exige plus d'énergie que l'assimilation du nitrate ou de l'ammonium. L'azote disponible agit à différents niveaux, correspondant aux différentes étapes de l'infection, il peut y avoir: (i) réduction ou suppression de la production des substances inductrices (flavonoïdes, bétaines). (ii) impossibilité pour la bactérie de se fixer sur les poils absorbants, la quantité de lectines responsables de cette fixation étant réduite. (iii) réduction de l'excrétion des différents facteurs Nod. (iv) non perception par la plante du signal Nod (Mckay et Djordjevic, 1993; Schultze *et al.*, 1994).

6-6 Effet des facteurs biologiques sur la symbiose

Deux facteurs biologiques majeurs peuvent être impliqués. Le premier facteur consiste dans l'inadéquation des populations natives de rhizobia compatibles avec le génotype de légumineuse que l'on souhaite planter. L'établissement de la symbiose est très sensible à de

petites variations de la densité des populations natives compatibles. Le deuxième facteur concerne la présence d'ennemis et maladies. Parmi les ennemis, les nématodes affectent la symbiose fixatrice de N_2 en inhibant la nodulation et en limitant de façon drastique la fixation de N_2 . La compétition des mauvaises herbes ou des rejets de souche peut affecter la légumineuse et, par conséquent leur aptitude de fixer N_2 (Dommergues et *al.*, 1999).

7- Moyens d'élimination ou de réduction des contraintes du milieu

Au tableau on a fait figurer l'ensemble des différentes approches susceptibles d'éliminer ou réduire les contraintes environnementales. Ces approches diffèrent par leurs potentialités, certaines ayant un potentiel élevé, par exemple l'apport d'amendements et la fertilisation, la sélection de la plante hôte pour sa tolérance à la salinité ou l'inoculation avec rhizobia. D'un autre côté, il est clair que d'assez nombreuses approches peuvent être appliquées immédiatement (par ex. fertilisation ou inoculation), alors que d'autres ne pourront être appliquées que dans un avenir plus lointain lorsque les recherches correspondantes auront abouti (par exemple l'obtention, par génie génétique, de plantes hôtes fixant N_2 en présence d'azote minéral ou tolérant la salinité ou la construction de nouvelles souches bactériennes très effectives) (Mafongoya et *al.*, 2004).

L'agronome peut accroître significativement la fixation de N_2 en réduisant l'impact d'un certain nombre de facteurs limitant majeurs. Il dispose à cet effet de toute une panoplie de techniques dont l'irrigation, la fertilisation, l'application d'amendements, et la mise en place des systèmes culturaux appropriés (Amarger, 2001).

Lorsqu'on ne peut modifier le milieu, il est toujours possible de choisir les espèces ou les provenances des légumineuses le mieux adaptées aux conditions édaphiques et climatiques propres à ce milieu (la sélection de la plante hôte). Les critères les plus importants sont la tolérance à la sécheresse, à la salinité, à l'acidité, à l'alcalinité et à l'excès d'azote disponible, l'adaptation aux faibles teneurs du sol en nutriment, le caractère de promiscuité et la résistance aux ennemis et maladies (Dommergues et *al.*, 1999).

Tableau IV : Approche pour éliminer ou réduire les contraintes environnementales limitant la fixation de N₂ (Dommergues et *al.*, 1999).

Contrainte	Action sur le milieu physique et chimique	Sélection de la plante- hôte	Action sur La microflore
Sécheresse	Irrigation	Tolérance à la sécheresse	Mycorhization
Acidité et toxicité	Amendements et chaulage	Tolérance à l'acidité	
Carences en nutriments	Amendements et fertilisation	Tolérance à la pauvreté chimique	Mycorhization
Salinité		Tolérance à la Salinité	
Excès d'azote disponible (minéral)	Cultures associées Rotations Jachères	Tolérance à l'excès d'azote disponible	
Inadéquation de la microflore		Promiscuité ou spécificité	Inoculation avec rhizobia Mycorhization
Ennemis et maladies		Résistance	Stérilisation Lutte biologique

CHAPITRE II : PRESENTATION DE LA REGION D'ETUDE BISKRA

Dans ce chapitre, nous allons traiter les caractéristiques de la région des Ziban, particulièrement sa situation géographique et les facteurs édaphiques, climatiques et biologiques qui caractérisent la région de Biskra.

1- Situation géographique

La wilaya de Biskra est située au sud-est de l'Algérie, au piémont méridional de l'Atlas saharien. Elle s'étend sur une superficie de 21.671,20 Km², son altitude est de 128m au dessus de la mer (Capderon *in* Remini, 1997; A.N.A.T, 2002). Administrativement, elle est limitée au Nord par la wilaya de Batna, à l'Est par la wilaya de Khenchela, au Sud par la wilaya de Ouargla et El- oued et à l'Ouest par la wilaya de M'Sila et Djelfa (A.N.A.T, 2002). La wilaya de Biskra se compose de douze daïrates et trente- trois communes.

Les Ziban se composent de quatre groupes d'oasis :

- La Zab El- Biskra : c'est le centre des Ziban
- Le Zob chergui : Chetma, Sidi Khelil, Droh, Seriana, Garta, Sidi Okba, Ain naga, Sidi salan, Z'ribet el-Oued, Liana, Khanga sidi nadj, Badés, Z'ribet Hamed, El freidh, Sidi mohamed moussa, El-haouch.
- Le Zab Guebli: il renferme Oumach, Mlili, Bigou, Ourlal, Ben Thiou, Saira Lioua, Ouled Djellal et sidi Khaled
- Le Zab Dahraoui: est séparé du Zab Guebli par une bande de sable et de marécages, et comprend: Bouchagroune, Lichana, Farfar, Tolga, El Bordj, Foughala, El Amri.

Durant l'échantillonnage des sols utilisés dans notre expérimentation, nous avons touché les 4 Ziban.

2- Topographie

La wilaya de Biskra constitue une zone charnière entre le sud et le nord algérien. Elle forme une région de transition du point de vue morphologique et bioclimatique. Ce passage se fait subitement au pied de l'Atlas saharien. On passe d'un relief assez élevé et accidenté au nord à une topographie de plateau légèrement inclinée vers le sud (A.N.A.T, 2002).

La topographie de la région de Biskra est constituée de quatre grands ensembles géographiques (A.N.A.T, 2002; I.N.R.A.A, 2006).

- **Les montagnes** : situées au nord de la région, leur superficie est limitée, elles se composent des monts de El gaid, Hamara, Guessoum, Rabaa, Kara, Bourezale, Houja, Ahmar Khedou, Tekiout.

- **Les plateaux** : à l'ouest, ils s'étendent du nord au sud englobant presque toutes les dairates d'Ouled djallal, Sidi khaled et une partie de Tolga.

- **Les plaines** : sur l'axe d'El outaya à Doucen, elle se développent vers l'est en couvrant la quasi-totalité des dairates d'El outaya, Sidi okba et Zeribet El- oued et la commune de Doucen.

- **Les dépressions**: situés au sud-est de la wilaya, ils constituent une assiette où se forment des nappes d'eau très minces, constituant ainsi les chotts dont le plus important est le chott Melghir.

3- Pédologie

Les palmerais des Ziban sont installés sur des sols salins. Au nord, les Monts de Nementcha sont calcico-basiques les sols calcaires s'étendent à l'est. A l'ouest, la ceinture de Djebel Bou Rheel repose sur la roche mère nue. La zone du chott Melghir, au sud, est formée par des sols éoliens d'ablation et d'accumulation (Khechai, 2001).

La wilaya de Biskra est sous l'influence de l'effet configure de l'aridité de climat, de la nappe phréatique et de l'irrigation par les eaux salées. Les études ont fait apparaître les grands traits de la pédogenèse des sols des climats arides; les sols salés, les sols calcaires, les sols gypseux, les sols sableux et les sols peut évoluer (Khechai, 2001).

4- Pédoclimat

Régime hydrique : La détermination exacte du régime hydrique est difficile (SSS,1996). Tavernier et Van Wambeke (1976) donnent pour Biskra un régime hydrique aridic.

Régime thermique : D'après les travaux de Tavernier et van Wambeke (1976), le régime thermique de Biskra est de type hyper thermie- ce type de régime à pour caractéristique une température de sol supérieur à 22°C pour l'été et l'hiver supérieur à 5°C.

5- Géologie

Les formations géologiques qui composent les sols de la wilaya sont des formations d'origine sédimentaire à prédominance de sédiments carbonates. Les affleurement rocheux qui constituent les principaux reliefs de la wilaya en l'occurrence les montagnes situées à la limite nord sont des sédiments en grande majorité datant du secondaire, les grandes plaines du centre sont des sédiments de quaternaire, alors que les plateaux sont en grande partie composés de formations datant du tertiaire (A.N.A.T, 2002).

6- Hydrogéologie

Les 04 principaux aquifères inventoriés dans la wilaya sont les suivants (Ministère de l'hydraulique, 1980):

- la nappe phréatique du quaternaire : Elle est connue au niveau des palmeraies de Tolga et se localise souvent sur des accumulations alluvionnaires. La plus part des eaux de cette nappe entrent dans la catégorie salée ou très salée.

- La nappe des sables du miopiocène: Cette nappe a une extension considérable, elle est capturée par de nombreux forages dans les plaines. Son alimentation est assurée par les pluies exceptionnelles dans les zones d'affleurement. Elle est localisée au sud- ouest de la wilaya.

-La nappe des calcaires

Cette nappe est localisée dans la totalité de la région de Biskra. L'alimentation de cette nappe se fait par deux zones d'affleurement de l'éocène inférieur. La première à l'ouest de Doucen et Oued Djallal, la seconde au nord de Tolga, entre Foughala et Bouchegroune et les versants de la plaine de l'Outaya.

- La nappe profonde

Cette nappe dite albienne, est caractérisée par une température très élevée. Elle est rarement exploitée sauf à Oued Djallal ou Sidi Khaled où les formations gréseuses de l'albien ou de barrémien sont touchées à une profondeur de 1500 à 2500 mètres.

7- Réseau hydrographique

D'après Hannachi et Bekkari (1994), La région de Biskra est drainée par une série d'Oued dont les plus importants sont : Oued Djedi, Oued Biskra, Oued El- Arab, Oued El- Abioud.

8- Données climatiques

Les données climatiques sont non seulement des éléments décisifs du milieu physique mais, elles ont aussi des répercussions profondes sur les êtres vivants animaux, végétaux et micro-organismes (Ramade, 2003).

Les caractéristiques climatiques de la zone d'étude sont obtenues à partir des données de la station météorologique de Biskra.

8-1 Températures

La température semble être un élément majeur affectant la symbiose légumineuses- rhizobia (Kichou et Sahraoui, 2001). La fixation symbiotique d'azote est en général spécifiquement inhibée par les températures extrêmes (Graham, 2008).

Les données thermiques calculées sur une période de 15 ans sont consignées dans la tableau V

Tableau V : Températures moyennes mensuelles, maximales et minimales enregistrées au cours de la période (1995- 2009)

	J	F	M	A	M	J	J	O	S	O	N	D
T°max	16.0	18.1	22.7	26.0	32.6	37.0	40.1	39.3	32.8	28.5	21.0	17.6
	5	0	0	5	5	5	6	5	3	3	1	4
T°min	7.25	8.62	25	16.1	21.2	25.7	29.2	27.7	23.5	18.2	12.3	8.32
				6	3	2	6	7	2	8	3	
T°mo	11.6	13.3	17.4	21.1	26.9	31.3	34.7	33.5	28.1	23.4	16.6	12.9
y	5	6	7	0	4	8	1	6	7	0	7	8

(Office National de la Météorologie de Biskra,

2009)

T°max : température maximale mensuelle moyenne.

T°min : température minimale mensuelle moyenne.

T°moy : température moyenne mensuelle.

La région de Biskra se caractérise par une forte température dont la moyenne annuelle est de 22.61°C, avec de fortes variations saisonnières entre le mois le plus chaud 40.16°C en Juillet et le mois le plus froid 7.25°C en Janvier (Tableau V).

8-2 Pluviométrie

La pluviométrie constitue un facteur écologique d'importance fondamentale (Ramade, 2003). Le déficit hydrique et L'irrégularité des pluies constituent des facteurs limitants essentiels pour la production agricole. Un déficit hydrique affect largement la symbiose légumineuses-rhizobia, en diminuant la croissance et la survie des rhizobia dans le sol, en inhibant totalement ou partiellement le processus d'infection et de développement des nodosités ou encore en affaiblissant l'activité fixatrice de ces dernières (Obaton, 1994; Lazali, 2009).

Tableau VI : Données pluviométriques mensuelles moyennes à Biskra pour la période 1995- 2009.

	J	F	M	A	M	J	J	O	S	O	N	D	Totale
Pmm	23.51	7.06	12.39	16.93	9.18	2.99	0.63	2.77	14.08	9.85	15	13.34	127.96

(Office National de la Météorologie de Biskra,

2009)

Nous remarquons à travers les données de ce tableau que la région à une pluviométrie moyenne annuelle de 127.96 mm avec une moyenne mensuelle de 10.66mm, en enregistrant des variations nettes au cours de l'année. Elle oscillant entre 0.63mm (Juillet) à 23.51mm (Janvier).

8-3 Vents

Les vents sont relativement fréquents dans cette région. En période hivernal ce sont principalement les vents froids et humides venant du Nord- Ouest, en été, ce sont surtout les vents de sable venant du sud. La vitesse maximum du vent a été enregistrée au mois d'Avril avec une moyenne de 5.99 m/s.

Tableau VII : La vitesse des vents (m/s) à Biskra pour la période 1995- 2009

	J	F	M	A	M	J	J	O	S	O	N	D
Vent (m/s)	3.9	4.36	5.14	5.99	4.99	4.66	3.7	3.89	4.07	3.51	3.87	3.34

(Office National de la Météorologie de Biskra, 2009)

8-4 Humidité relative de l'air

L'humidité relative moyenne est faible, elle est plus élevée en hiver qu'en été. Elle varie d'environ 26% en Juillet à 59.45% en décembre. La moyenne annuelle est de 41.76%

Tableau VIII : Humidité relative moyenne pendant la période 1995- 2009

	J	F	M	A	M	J	J	O	S	O	N	D
H	58.8	52.3	43.0	39.3	33.1	26.9	2	28.6	42.5	48.0	42.8	59.4
%	4	5	2	5	1	5	6	6	8	8	5	5

(Office National de la Météorologie de Biskra,

2009)

8-5 Insolation

Par le biais de la photosynthèse qu'elle régit directement, la lumière intervient indirectement sur la fixation d'azote. Une photosynthèse insuffisante entraîne une inhibition de la fixation : inversement, une photosynthèse excessive gêne la fixation (Dommergues et Mangenot, 1970). La radiation solaire est importante dans la région car l'atmosphère présente une grande clarté durant toute l'année.

Le nombre moyen annuel d'heures d'insolation est environ 278.38, la phénomène est régulière passant d'un minimum en décembre de 205.2 heures à un maximum en juillet de 357 heures (tableau IX)

Tableau IX : Nombre d'heures d'insolation pour la période 2002- 2008

Mois	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Insolation (heure)	268	230	275.1	278.2	315.8	344.4	357	330.4	268.4	242.1	226.2	205.2

(Office National de la Météorologie de Biskra,

2009)

9- Synthèse climatique de la région de Biskra

La synthèse des données climatiques est représentée par le diagramme ombrothermique de Gausсен et par le climagramme d'Emberger

9-1 Diagramme ombrothermique

Le diagramme ombrothermique de GAUSSEN est une méthode graphique où sont portés, en abscisse les mois, et en ordonnées les précipitations (P) et les température (T°) avec $P : 2T$.

En effet le climat est sec quand la courbe des températures descend au- dessous de celle des précipitations, il est humide dans le cas contraire.

D'après le diagramme ombrothermique de Gausсен appliqué à la région de Biskra, montre que la période sèche occupe tout l'année (figure 4)

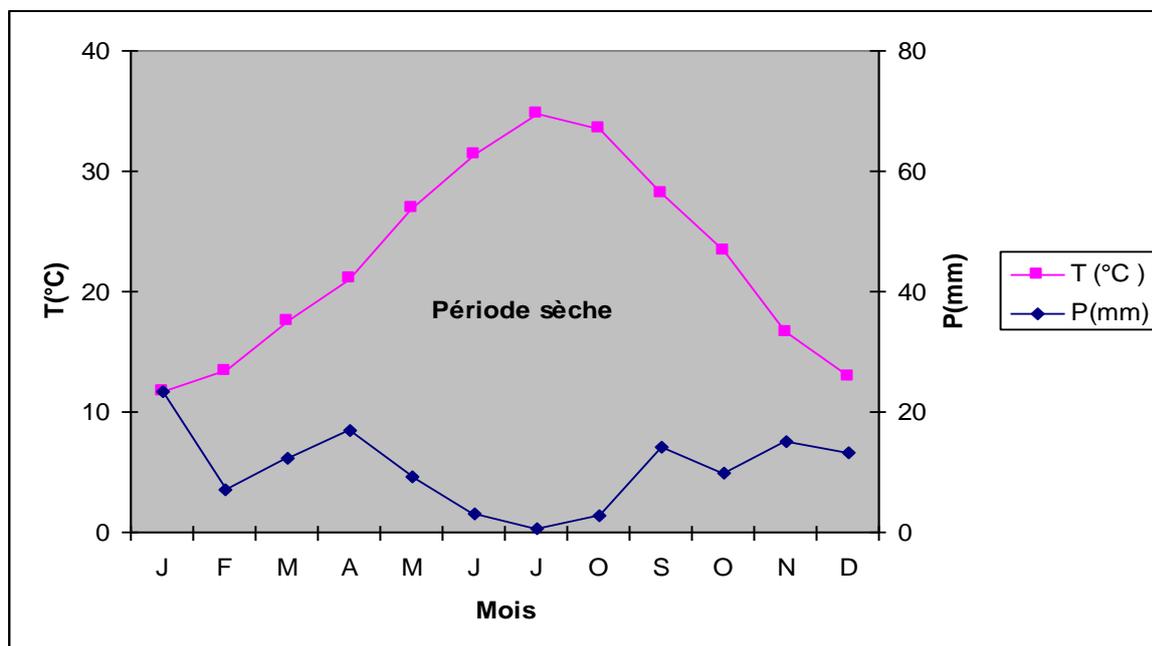


Figure 4 : Diagramme ombrothermique de Gausсен de la région de Biskra pour la période 1995-2009.

9-2 Climagramme d'Emberger

Stewart (1969) a transformé le quotient d'Emberger pour le climat méditerranéen et a adapté pour l'Algérie, une formule qui assimile la moyenne des température $(M+m)/2$, à une constante (K : 3.43)), qui se présent comme suit :

$$Q = 3.43 * P / (M - m)$$

P : Pluie annuelle

M : Le maximum du mois le plus chaud

m : Le minimum du mois le plus froid

D'après les données climatiques de la région de Biskra durant la période 1995- 2009

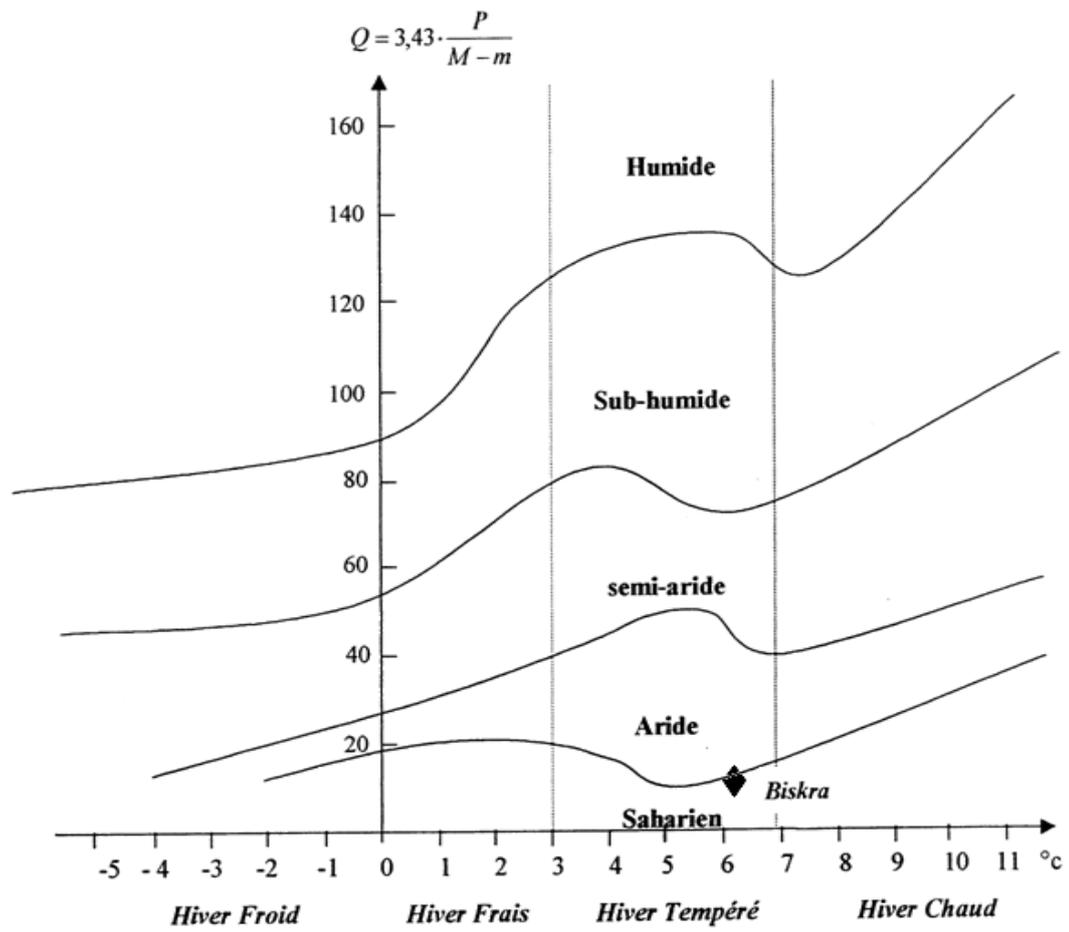
$$P = 127.96$$

$$M = 40.16$$

$$m = 7.25$$

$$Q = 3.43 * 127.96 / (40.16 - 7.25)$$

$$Q = 13.33$$



Figurier 5 : Localisation de la région de Biskra sur le climagramme d'Emberger (1995- 2009)

10- Végétation

La diversité des ressources végétales dans la palmeraie est un facteur écologique très important (Dajoz, 1970).

Une des caractéristiques majeures de l'agriculture dans la région de Biskra, est la culture du palmier dattier. La phoeniciculture par la place qu'elle occupe constitue l'ossature de l'économie de la région. Elle permet non seulement la production dattier mais également elle joue le rôle de couvert végétal pour beaucoup d'espèces cultivées en intercalaires (Kouzmine, 2003).

Le patrimoine phoenicicole de la wilaya de Biskra est composé d'une gamme de 120 cultivars. La région des Zibans est une grande productrice de dattes de l'excellente variété Deglet Nour qui Jouit d'une renommée mondiale.

Depuis presque deux décennies, les cultures légumières ont enregistré un développement considérable dans la région, ce qui a permis à la wilaya de devenir permet les pôles dans le pays en matière de cultures protégées (culture sous serres).

Elle occupe en même temps une place en production de primeurs de plein champ sur tout la fève.

Les arbres fruitiers les plus importantes dans la région sont le figuier, le grenadier et l'abricotier.

Les productions des céréales et des fourrages sont souvent instables d'une année à une autre à cause des calamités naturelles (I.N.R.A.A., 2006).

Parmi les espèces herbacées et arbustives qu'on peut rencontrer dans la région, on cite:

Aristida pungens, *Avena sterlis*, *Bromus rubens*, *Cynodon dactylon*, *Dactyloctenium aegyptiacum*, *Hordeum murinum*, *Imperata cylindrica*, *Koeleria pubescens*, *Lolium multiflorum*, *Polypogon monspeliensis*, *Phalaris brachystachys*, *Phalaris brachystachys*, *Pholiurus incurvus*, *Atriplex halimus*, *Anacylus clavatus*, *Filago spathylata*, *Sonchus oleraceus*, *Zygophyllum album* (Sana, 2003).

CHAPITRE III : MATERIELS ET METHODES

1- Matériels d'étude

1-1 Echantillons de sols

Nous avons utilisé, dans le cadre de cette étude des échantillons de sols recueillis à partir de diverses localités de la région de Biskra (figure6).

Les sols sont prélevés sur une couche de 20cm de profondeur dans laquelle se manifeste généralement une activité biologique élevée.

Le sol est séché à l'aire libre, broyé puis homogénéisé

1-2 Matériel végétal

Le matériel végétal consacré à cette étude est constitué de deux légumineuses : La fève (*Vicia faba* L.) et la luzerne cultivée pérenne (*Mèdicago sativa* L.)(cf p8)

Le tableau indique l'identité et l'origine des semences que nous avons utilisées

Tableau X : Variétés et origines de légumineuses étudiées

Légumineuses	Variétés / populations	Origines
La fève	Variété Luze de otono	Espagne
	Population M'zeraa	Locale
La luzerne	Variété Dista	Italie
	Population Baldia	Locale

Les variétés et les populations testées sont largement cultivées dans la région

Les semences ont été triées, nous avons procédé sur les lots mis à notre disposition à l'élimination des graines endommagées ou présentant un écart de taille, de pigmentation par rapport à la classe la plus représentative.

1-3 Les pots de végétation

Les pots de culture utilisés sont en plastique, ayant un volume de 4.5 l, de section circulaire; d'un diamètre supérieur de 20cm, d'un diamètre inférieur de 13.5cm et de 18cm de profondeur.

1-4 Les micro- organismes

Les souches de rhizobia ont été isolées au laboratoire à partir de nodules de la fève et de la luzerne, cultivés en pots sur des sols provenant de différentes localités.

1-5 Milieu de culture

Pour la culture et la purification de nos souches de rhizobia, nous avons utilisé le milieu Yeast Extract Mannitol (YEM) (Vincent, 1970) qui est un milieu spécifique aux rhizobia.

La composition du milieu YEM est la suivante :

Tableau XI : Composition du milieu YEM (Vincent, 1970)

Composants	Concentration (g par litre d'eau désée)
K_2HPO_4	0.59
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.29
NaCl	0.19
Mannitol	109
Extrait de levure	1
Eau distillée	1000 ml

Pour obtenir un milieu solide, il convient d'ajouter 10 à 15 grammes par litre de gélose (agar-agar)

La stérilisation du milieu de culture se fait à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes

Pour la conservation des souches, nous avons utilisé le glycérol à 50%.

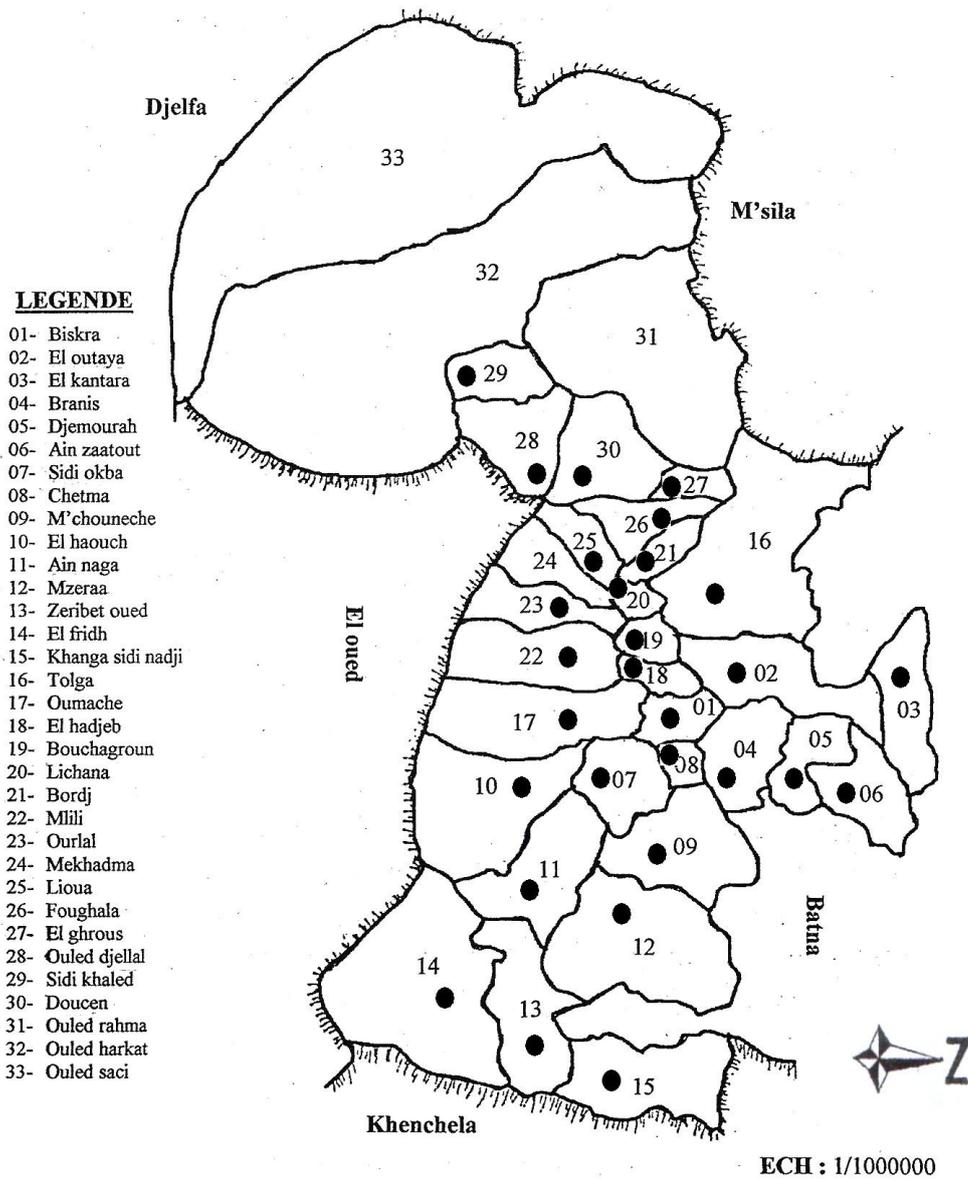


Figure 6 : Localisation des localités de prélèvement des échantillons de sols

2- Méthodes d'étude

2-1 Evaluation du potentiel rhizobien des sols de la région de Biskra vis-à-vis les deux légumineuses (Technique de piégeage)

La test (ou la technique) de piégeage permet de vérifier l'absence ou la présence des rhizobia dans un sol testé, c'est-à-dire permet d'évaluer le potentiel rhizobien d'un sol vis-à-vis d'une légumineuse donnée.

2-1-1 Installation de la culture

Pour chaque localité le sol est homogénéisé, puis réparti dans les pots dont le fond comporte des perforations pour assurer le drainage des eaux excessives. Chaque pot est ensemencé avec 5 graines. A la levée, nous avons réalisé un démariage, en laissant seulement 3 plants par pot. L'expérimentation a été effectuée en 3 répétitions pour chaque cultivars.

L'irrigation a été effectuée manuellement à l'aide d'arrosoir. Pour assurer une bonne uniformité des irrigation, nous avons apporté les quantité d'eau en les répartissent sur toute la surface du pot.

Aucun apport d'engrais ou de produit phytosanitaire n'a été appliqué à la culture.

2-1-2 Prélèvements de plantes

En pleine floraison, les plantes ont été dépotées, des mottes de terre entières furent prélevées puis nettoyées doucement à l'eau afin d'éviter autant que possible d'abîmer le système racinaire. Les racines sont examinées pour détecter la présence de nodules. S'ils sont présents, les nodules sont détachés des racines, comptés à l'état frais et un nodule par plante est coupé transversalement pour déterminer s'il est fixateur d'azote par recherche d'une zone rouge ou rose résultant de la production de légghémoglobine.

Les parties aériennes et racinaires des plantes sont séparées au niveau du nœud cotylédonaire. Chaque partie de la plante mise en sachet et séchée à 70°C pendant 48h.

2-2 Protocole de conservation de nodules

L'utilisation de souches de rhizobia isolées à partir des nodules prélevés sur des légumineuses est la méthode la plus efficace pour constituer une collection. Il n'est toutefois pas toujours possible de pratiquer les techniques d'isolement immédiatement après le prélèvement des nodules. Nous avons utilisé une méthode de conservation de ces nodosités afin que celles-ci ne subissent par de détériorations irréversibles.

Nous avons rempli la moitié inférieure des tubes à essai avec des granulés de chlorure de calcium (qui doit être de couleur blanche pour être actif) le chlorure de calcium est recouvert

avec une couche de 1 cm de coton cardé les nodules sont introduits dans les tubes, le volume occupé par les nodules ne doit pas dépasser 1/4 du volume globale du tube.

Les nodules conditionnés de cette façon pourront être conservés plus d'un an au réfrigérateur (Vincent, 1970; Cleyet- Marel, 1992).

2-3 Conditionnement du milieu de culture

Boîtes de Pétri

Le milieu de culture est stérilisé dans des récipients à col étroit bouchés à raison de 500 ml de milieu pour un volume utile de 1 litre. Afin d'éviter une condensation intense dans les boîtes de Pétri, il est recommandé de laisser refroidir le milieu Jusqu' à 55-60°C avant de couler.

Tubes inclinés pour collection

Il est nécessaire de faire une hydrolyse de la gélose contenue dans le milieu de culture avant de la répartir en tubes (1 heure à 100°C avec des agitations).

Le milieu est réparti dans les tube et autoclave 20 min à 120°C puis incliné à la sortie de l'autoclave.

2-4 Extraction, isolement et purification des souches

Pour l'extraction, l'isolement et la purification des souches, les méthodes adoptées sont celles préconisées par l'International Biological Program (Vincent, 1970).

Nous avons réalisé toutes les opérations microbiologiques sous une hotte d'isolement à flux laminaire.

2-4-1 Extraction

Les nodules ont été lavés à l'eau courante. La surface d'un nodule est stérilisée par immersion dans de l'éthanol à 95° pendant 10 secondes puis dans une solution de chlorure mercurique (HgCl_2) à 0.1% pendant 3 minutes, suivie d'un rinçage dans 8 bains successifs d'eau distillée stérile afin d'éliminer les traces d' HgCl_2 .

Le nodule ainsi traité est écrasé à l'aide d'une tige en verre dans 0.5 ml d'eau physiologique stérile, pour libérer les bactéroïdes qu'il renferme.

2-4-2 Isolement et purification

Le broyat ainsi est ensemencé sur milieu YEM en boîte de Pétri. Après trois à huit jours d'incubation à 28°C. Les colonies bactériennes présumées appartenir aux rhizobia, sont reconnaissables par leur prédominance et leur aspect gommeux et translucide.

Nous avons sélectionné le type colonial le plus représentatif pour procéder à la purification des souches par repiquages successifs sur milieu YEM.

2-5 Conservation des souches de rhizobia

Deux méthodes de conservation des souches de rhizobia ont été mises en œuvre dans le cadre de cette étude :

Conservation à court terme : Les souches pures de rhizobia sont conservées à 4°C dans des tubes à essai contenant le milieu YEM solide incliné.

Cette méthode est utilisée dans le cas des sous collection de travail.

Conservation à long terme; Les souches pures de rhizobia sont conservées à - 20°C dans du glycérol à 50%.

2-6 Détermination des quelques caractéristiques des souches de rhizobia isolées

La détermination des caractères morphologiques, biochimiques et physiologiques des souches que nous avons retenu permet d'aboutir à une meilleure connaissance de celles- ci.

Nous avons utilisé pour la détermination des caractéristiques de nos souches, la méthode préconisée par l'American Society of Microbiology (Smibert et Krieg, 1984; Novikova, 1994).

Cette méthodologie qui insiste sur la qualité de la technique de conservation, le nombre de répétitions et l'importance des témoins.

2-6-1 Caractérisation morphologique des souches isolées

Les souches ont été cultivés sur milieu gélosé stérile YEM en boîtes de Pétri, par la méthode de stries pour obtenir une séparation la plus complète possible des colonies bactériennes. Les boîtes de Pétri incubées à 28°C.

Au bout de trois à sept jours, les cultures sur milieu YEM sont observées pour la vitesse de croissance et la détermination des caractéristiques morphologiques des souches testées.

2-6-2 Caractérisation biochimique des souches isolées

Nous avons réalisé deux tests biochimiques

La coloration de Gram; La préparation de spot est réalisée par collage d'une goutte de la suspension bactérienne sur une lame, sous une plaque chauffante et la fixation du spot se fait par une goutte d'alcool.

La coloration du spot est réalisée par version de :

- Violet de Gentiane et le bicarbonate de soude en quantité égale pendant 10 secondes.
- L'alcool à 95° jusqu'à la disparition de la couleur violet pendant 5 à 10 secondes, suivie d'un rinçage à l'eau distillée.
- Fushine pendant 2 à 3 secondes.

Les cellules colorées en rose sont notées Gram négatif.

Test de la mobilité; La recherche de la mobilité est réalisée en milieu mannitol- mobilité.

2-6-3 Caractérisation physiologique des souches isolées

2-6-3-1 Sensibilité des souches isolées au stress salin

Cinq sels, NaCl, KCl, CaCl₂, N₂SO₄ et K₂SO₄ ont été testés pour déterminer leur effet sur la croissance des souches des rhizobia isolées sur milieu gélosé YEM. Des concentrations allant de 0 à 2% ont été testées. La méthode utilisant le milieu solide en boîtes de Pétri est adoptée dans cette étude les souches des rhizobia sont cultivées sur le milieu YEM sans sel. Ces précultures sont utilisées pour inoculer des boîtes de Pétri contenant le milieu gélosé YEM additionné de sel à des concentration allant de 0 à 2% les boîtes sont retournées et subdivisées en 5 carrés et au moment de l'inoculation, chaque souche est des posé au centre du carré qui lui est réservé. Les boîtes inoculées en trois répétition pour chaque concentration de sel, sont incubées à 28°C. Après sept jours d'incubation, la croissance des colonies est observée et comparée à des témoins sans sels.

Tous les sels, excepté la CaCl₂, sont additionnés séparément au milieu de culture avant l'autoclavage. Pour éviter la précipitation des phosphates contenus dans le milieu, le CaCl₂ est stérilisé à part et ajouté au milieu autoclave Juste avant de couler dans les boîtes.

L'estimation de la survie des bactéries en présence de sel est faite par dénombrement des cellules viable à partir des cultures dans la croissance est inhibée par les fortes concentrations de sel. Les suspensions dilutions ont été préparées dans le milieu YEM sans sel etensemencées sur ce milieu gélosé par étalement.

2-6-3-2 Sensibilité des souches isolées au pH

Les souches isolées ont été cultivées sur milieu YEM ajusté à 6 valeurs de pH (5; 7; 8 et 9) en boîtes de Pétri incubées à 28°C.

2-6-3-3 Sensibilité des souches isolées à la température

Les souches ont été cultivées sur milieu gélose YEM en boîtes de Pétri incubées à différentes températures (5°C, 10°C, 20°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, 50°C).

2-6-3-4 Mesure de la croissance bactérienne

L'évaluation de la croissance de nos souches est faite par dénombrement des cellules viables sur milieu gélosé YEM en boîte de Pétri.

Les suspensions- dilutions ont été préparées sur le même milieu.

3- Paramètres mesurés

Les paramètres que nous avons mesurés au cours de cette étude ont été retenus vue leur importance pour la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique chez les deux légumineuses testées.

Les mesures ont été effectuées en pleine floraison lorsque la nodulation est potentiellement optimale (Drevon *et al.*, 2003).

- **Biomasse sèche des parties aériennes et racinaires;** la matière sèche des deux parties est déterminée après séchage à l'étuve réglée à 70°C. Une fois les échantillons complètement secs (on vérifie cela par une constance du poids), leur poids sec est déterminé à l'aide d'une balance de précision électronique.
- **Le nombre des nodules par plante;** L'évaluation de taux de nodulation consiste à mesurer le nombre des nodules.
- **Le poids de matière sèche nodulaire par plante;** nous avons retenus comme paramètre d'évaluation du taux de nodulation non seulement le nombre de nodules mais aussi leur biomasse sèche (après 48°C de séchage à l'étuve à 70°C) qui est considérée comme le paramètre le plus fiable pour évaluer le taux de nodulation d'une légumineuse.

4- Méthodes d'analyses

4-1 Méthode d'analyse du végétal

Dosage de l'azote

Nous avons utilisé la méthode Kjeldhal (Domenach et neyra, 1992), qui consiste en la destruction de la matière organique à chaud par l'acide sulfurique concentré en présence d'un catalyseur, par entraînement à la vapeur et piégeage par l'acide borique et titrage par l'acide sulfurique.

4-2 Méthodes d'analyse du sol

Pour les méthodes d'analyses des sols, nous avons basé surtout sur les travaux de Mathieu et Pieltain (2003).

Le sol est séché à l'air libre pendant une durée de plusieurs semaines, avant d'être tamisé à la main à 2 mm.

Une partie des échantillon à été envoyée au laboratoire d'Analyses des sols de la département d'Agronomie Biskra, pour des analyses de :

pH : Il est déterminé par la méthode électrométrique (pH mètre), selon un rapport sol / eau (1/2.5).

La conductivité électrique (CE) : déterminé par le conductimètre avec un rapport sol /eau (1/5).

Granulométrie : effectuée par la méthode de tamisage (classe et raille).

Les chlorures : la méthode utilisée est celle de MOHR (Argentimétrie); nitrate d'argent titré en présence de chromate.

Carbonates et bicarbonates : titrage par l'acide sulfurique en présence de phénolphtaleine puis de méthyle d'orange.

Les sulfates : par la méthode turbidimétrique au colorimètre.

Les bases solubles (Na et K) : par photomètre à flamme.

Les bases solubles (Ca et Mg) : titrage par l' EDTA.

Dosage de phosphore assimilable : dosé par spectrophotomètre (méthode de Joret-hebert).

Dosage de l'azote totale : par la méthode de Kjeldahl.

4-3 Traitements statistiques

Pour le traitement statistique de nos résultats (analyse de variance, régression linéaire et corrélation, ACP, classification), nous avons utilisé le fonctionnement des trois logiciels : Minitab, Statistica (version 6), R (version 2.10.1, 2010).

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION

Dans cette partie nous passerons successivement l'essentiel des résultats obtenus ; les analyses, les mesures et les observations sur les structures des nodulations chez les deux espèces appartenant à la famille des légumineuses (la fève et la luzerne) sont abordés pour mettre en évidence la variabilité intra populationnelle. Celle-ci étant le mécanisme par lequel s'exprime le potentiel de production de biomasse. Nous avons retenu les matières sèches aériennes ou racinaires pour une présentation détaillée. Cette approche est consolidée par la mise en évidence des capacités des deux cultures dans des conditions édaphiques et physico-chimiques différentes d'exprimer leur pouvoir de fixation et d'utilisation de l'azote. Aussi, nous exposerons dans cette partie l'effet principalement lié aux facteurs intrinsèques ou effet variétale. Nous procéderons à une classification des sols de la région de Biskra en fonction de l'importance de la fixation symbiotique de l'azote chez la fève et la luzerne

1-Evaluation du potentiel symbiotique des sols testés vis-à-vis la fève

1-1 La nodulation

Les nodules observés sur le système racinaire des plantes examinées se sont tous révélés de type indéterminé et de morphologie coralloïdes selon la classification établie par Corby en 1981.

Ils se présentent sous la forme de lobes beaucoup plus allongés que large. En dehors de ce trait principal, les nodules observés sur les racines de la variété et la population testée ont montré uniquement des variations sur le plan de la taille et de la couleur (Figure 7).

Cette morphologie des nodules observée chez la variété et la population de la fève étudiées est en accord avec les données de la littérature qui rapporte que les représentants de cette espèce produisent tous des nodules de types indéterminés (Hirsch et *al.*, 2001).

Il est important de signaler à ce niveau que le type des nodosités racinaires des légumineuses est déterminée par la plante hôte et non par la souche de rhizobia (Hirsch, 1992; Dommergues et *al.*, 1999). De manière générale, les légumineuses d'origine tropicale comme l'haricot (*Phaseolus vulgaris*) produisent toutes des nodules du type déterminé, généralement non branchés tandis que les légumineuses des régions tempérées comme le pois chiche (*Cicer arietinum*) produisent des nodules de type indéterminé et généralement branchés (Allen et Allen, 1981; Corby, 1988).

L'examen de coupes à la main levée pratiquées sur les nodules présents sur le système racinaire des plantes étudiées nous a permis de vérifier qu'ils sont tous fixateurs de l'azote. En effet, les nodules des plants examinés ont présenté une zone centrale rose, rouge ou rougeâtre

révélatrice de la présence de légghémoglobine, une hémoprotéine produite uniquement par les nodules fixateurs de l'azote (Downie, 2005; Ott et *al.*, 2005).



Figure 7 : Nodules des plants de la fève (photo original)

1-1-1 Variation de nombre des nodules

Lorsque des plantes de la fève sont mises en croissance sur des pots contenant des échantillons des sols testés elles montrent des niveaux de susceptibilité différents à la microflore rhizobienne.

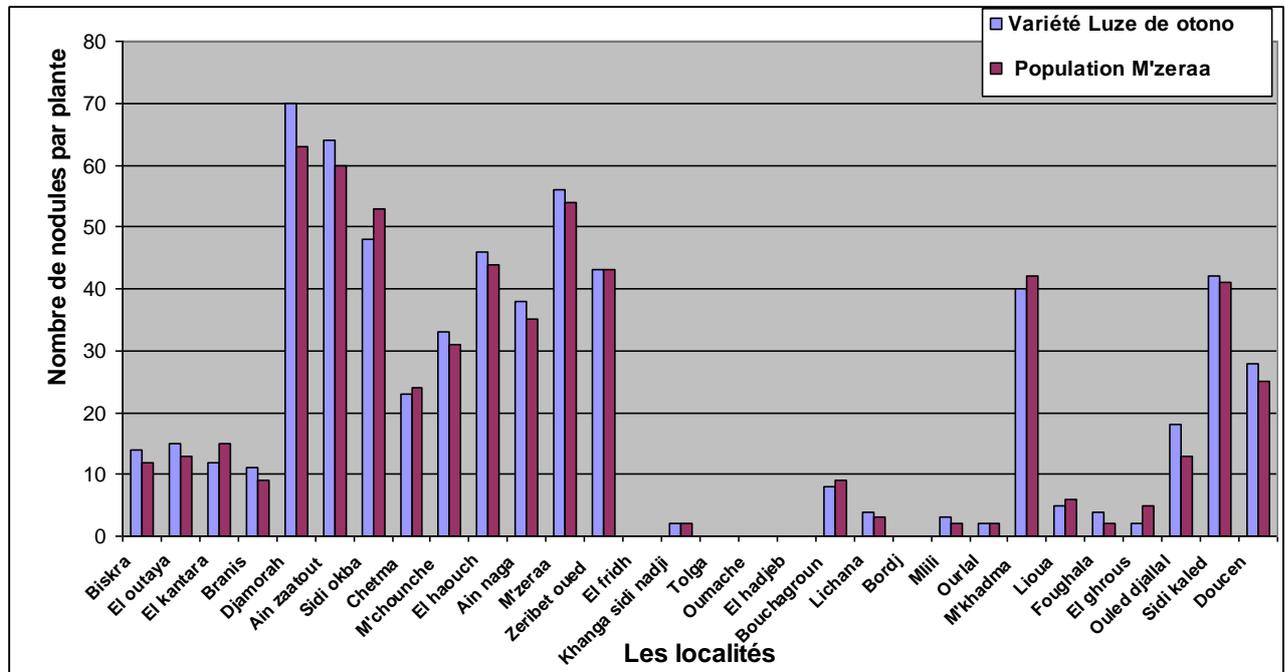


Figure8 : Le nombre des nodules par plante de la fève sur des sols provenant des différentes localités.

Les résultats que nous avons obtenu (figure8) indiquent que le nombre moyen des nodules présent sur le système racinaires des plants varie, selon la variété, la population et les localités, dans une très large gamme s'étalant entre 0 à 70 nodules par plantes, ce qui est considérable.

Le nombre moyen des nodules les plus élevés a été enregistré pour la variété Luze de otono (70 nodules par plante).

Le nombre de nodules enregistrés pour une variété ou une population donnée varie suivant la localité considérée c'est ainsi par exemple que pour la variété Luze de otono, le nombre moyen est de 70 nodules par plantes au niveau de la localités Djmourah et de 0 nodules par plante au niveau des localités El fridh, Tolga, Oumache, El hadjeb et Bordj. Ainsi pour la population M'zeraa, le nombre moyen des nodules par plante est de 63 nodules par plantes au niveau de la localités Djmourh et de 0 nodules par plantes au niveau des localités El fridh, Tolga, Oumache, El hadjeb et Bordj.

Les populations natives semblent différentes en nombre ou en infectivité. Ces résultats sont comparables à celles trouvés par Aouani et *al.*, 2003 chez le pois chiche (*Cicer arietinum*) dans les sols de la Tunisie.

1-1-2 Variation de la matière sèche nodulaire

En raison de la variabilité de la taille des nodules, y compris au niveau du même plant, nous avons retenus comme paramètre d'évaluation du taux de nodulation non seulement le nombre des nodules mais aussi leur biomasse sèche qui est considérée comme le paramètre le plus fiable pour évaluer le taux de nodulation d'un légumineuse.

Les résultats de la biomasse sèche nodulaire de la fève, présentés dans la figure 9 montrent que la biomasse sèche des nodules varie entre 0 et 399.33 mg /plante selon la variété, la population et les localités.

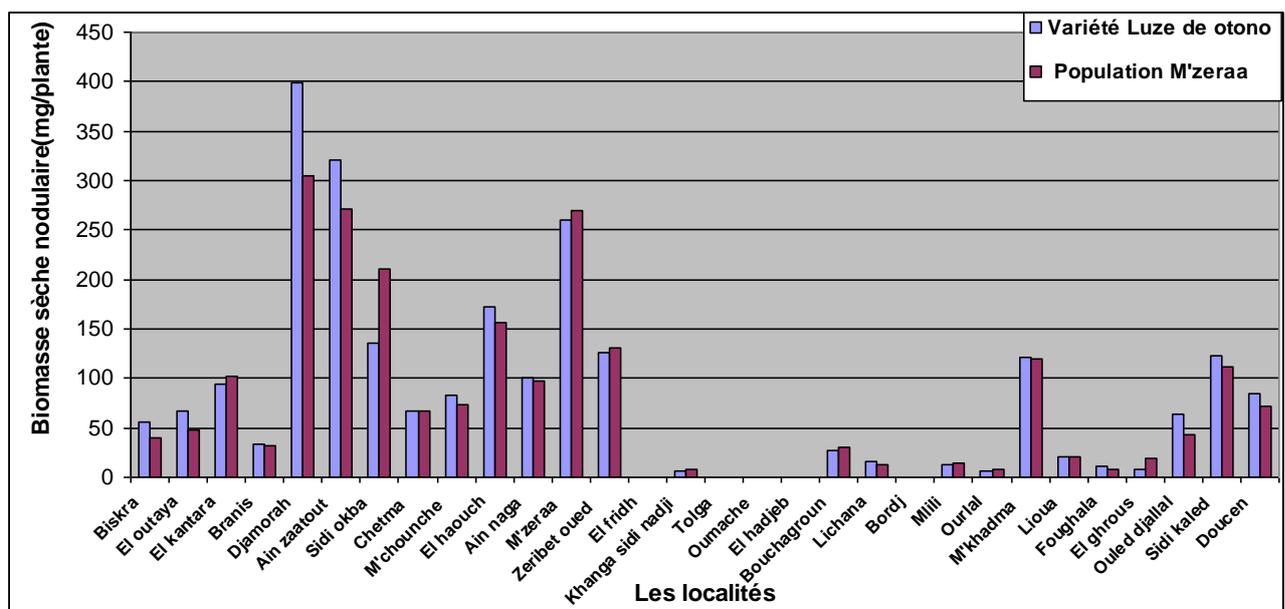


Figure9 : Biomasse sèche nodulaire en mg/plante de la fève sur des sols provenant des différentes localités.

Le taux de nodulation d'une légumineuse dépend de nombreux facteurs dont :

- La magnitude numérique, dans le sol, des souches de rhizobia compétentes vis-à-vis de légumineuse considérée c'est-à-dire des souches capables de l'infecter et de la noduler (Dovel et *al.*, 1993).
- L'effet des conditions physiques, physico-chimiques et microbiologiques sur l'établissement de la symbiose entre ces plantes et les souches de rhizobia

compétentes. Les conditions édaphiques prévalant au niveau du sol peuvent favoriser ou au contraire défavoriser la croissance des rhizobia et par conséquent la nodulation (Mantener, 2000). Même si le rhizobia est présent dans le sol la symbiose peut être freinée par des nombreuses facteurs comme l'acidité, la salinité, l'excès ou le manque d'eau, l'excès ou le déficit en un ou plusieurs éléments nutritifs(Cadenas et *al.*, 2000).

- Le degré de susceptibilité de la légumineuse vis-à-vis des rhizobia présents dans le sol. En effet, au sein d'un même groupe de légumineuse, il peut exister une grande variation de la susceptibilité à la nodulation.

L'effet des conditions du milieu sur l'établissement de la symbiose entre la légumineuse et les souches de rhizobia compétentes. Même si les conditions sont propices à la présence de rhizobia et à leur prolifération, elles peuvent inhiber voire empêcher la nodulation.

- Ainsi par exemple, la présence dans le sol de formes d'azote combiné (ammoniac et nitrates) en quantité appréciable favorise aussi bien la plante que les rhizobia qui trouvent ainsi une source d'azote facilement accessible mais se révèle par contre inhibitrice vis-à-vis de la nodulation (Waterer et *al.*, 1992).

Sur les base de ces données, les variations des taux de nodulation de la fève en fonction de la variété, la population et de la localité considérées peut trouver son explication dans :

- La variété et la population testées de la fève présenteraient une susceptibilité variable vis-à-vis du pool rhizobien des sols utilisés pour leur production. En effet, la biomasse sèche nodulaire moyenne des toutes localités confondues s'est montrée variable d'une variété ou d'une population à l'autre. C'est ainsi que nous avons enregistré le maximum pour Luze de otono(399.33 mg /plante) et le minimum pour la population M'zeraa et la variété Luze de otono (0 mg /plante) .
- Le fait que les sols utilisés pour leur production renfermeraient une microflore rhizobienne très variable sur le plan quantitatif et / ou qualitatif. Comme cela est illustré par la nette supériorité des biomasses sèches nodulaires enregistrés pour la variété Luze de otono, au niveau de la localité Djmourah (399.33mg/plante) comparativement a ceux des plants de la localité Ourlal (7.33mg/plantes), et pour la population M'zeraa, au niveau de la localité Djmourah (304mg/plante) comparativement a ceux des plantes des localités Khanga sidi nadji, Ourlal et Foughala avec un moyen de 7.33mg/plante.
- Le nombre de rhizobia spécifiques est inférieur au seuil d'induction de la nodulation, voire une absence de tels rhizobia, dans les localités El fridh, Tolga, Oumache, El hadjeb et Bordj.

- Les variations observées dans les taux de nodulations des plants de la fève peuvent résulter de l'effet des conditions édaphiques propres à chaque localité. En effet, les caractéristiques physiques, physico-chimiques et chimiques du sol sont de nature à influencer le niveau de nodulation.

Les sols d'une meilleure texture, d'une plus grande richesse en éléments nutritifs et de conditions édaphiques moins contraignantes hébergeraient une microflore rhizobienne nettement plus abondante permettant une meilleure nodulation de plante hôte (Rasanen, 2002 et Gu et *al.*, 2007)

1-1-3 Effet variétale

Le nombre de nodules qui apparaissent sur la racine est variable selon la variété et la population utilisées. La variété Luze de otono est la plus nodulée avec un moyen des nodules de 21.03 nodules/plante et 80.50mg/plantes de biomasse sèche nodulaire. La population M'zeraa présente une différence comparativement à la variété sus-citée. Elle est inférieure avec 20.27 nodules/plante et 75.61mg/plante de biomasse sèche nodulaire. Le fait qu'il y'a une différence de taux de nodulation laisse indiquer qu'il y'a une différence d'affinité entre la variété et la population vis-à-vis des souches de rhizobia. Dans les travaux sur le soja (*Glycine max*), Kvien et *al.*, (1981) ont trouvé que pour la même souche, le taux de nodulation peut varier d'une variété à une autre. Aussi chez deux variétés de haricot (*Phaseolus vulgaris*), Saadallah et *al.*, (2003) ont montré que la variété BAT 477 produit plus de nombres des nodules et de biomasse sèche nodulaire que la variété Coco blanc. Il faut noter qu'il existe une relation gène pour gène entre la plante et la bactérie. Les facteurs nod sont perçus, au niveau de la plante hôte, par des récepteurs spécifiques à haute affinité ce qui peut être lié aux facteurs génétiques de la plante (Downie, 2005). En effet, chez le cultivar de pois (*Pisum sativum*) Afghanistan, la présence d'une mutation dans le gène *sym 2* est responsable de la résistance de ce cultivar à la nodulation par des souches de *R. leguminosarum bv.viciae* des sols Européens, mais n'empêche par la nodulation par des souches de *R.leguminosarum bv. viciae* possèdent le gène supplémentaire *nod X* (Ridge, 1992).

L'analyse des taux de nodulations en fonction du statut autochtone ou introduite indique que la variété introduite est mieux nodulés que la population locale. Cette différence qui peut s'expliquer par la promiscuité symbiotique de la variété introduit qui la rend capable de pouvoir sélectionner les rhizobia sur un large panel et donc d'établir la symbiose avec des souches compétentes.

1-2 La croissance végétale

1-2-1 Variation de la biomasse sèche aérienne

La biomasse sèche aérienne moyenne des plantes de la fève varie selon la variété, la population et le sol de 12.89 à 1.50 g/plante (figure 10). Ces valeurs sont inférieures à celles mesurées par Mouafek (2006) sur les plantes au champ dans la région de Biskra. Une telle différence peut être due aux conditions de culture, la croissance des plantes en pots semble être généralement limitée par le volume réduit exploré par l'appareil racinaire.

Toutefois nos données en pots suggèrent un effet positif de la nodulation sur la croissance. En effet, la comparaison des données de croissance végétale et de nodulation montre que le groupe des sols où la nodulation des plantes est la plus élevée est également celui pour lequel la biomasse aérienne est la plus importante. Par contre, le groupe de nodulation faible ou nulle est celui de plus faible production de biomasse.

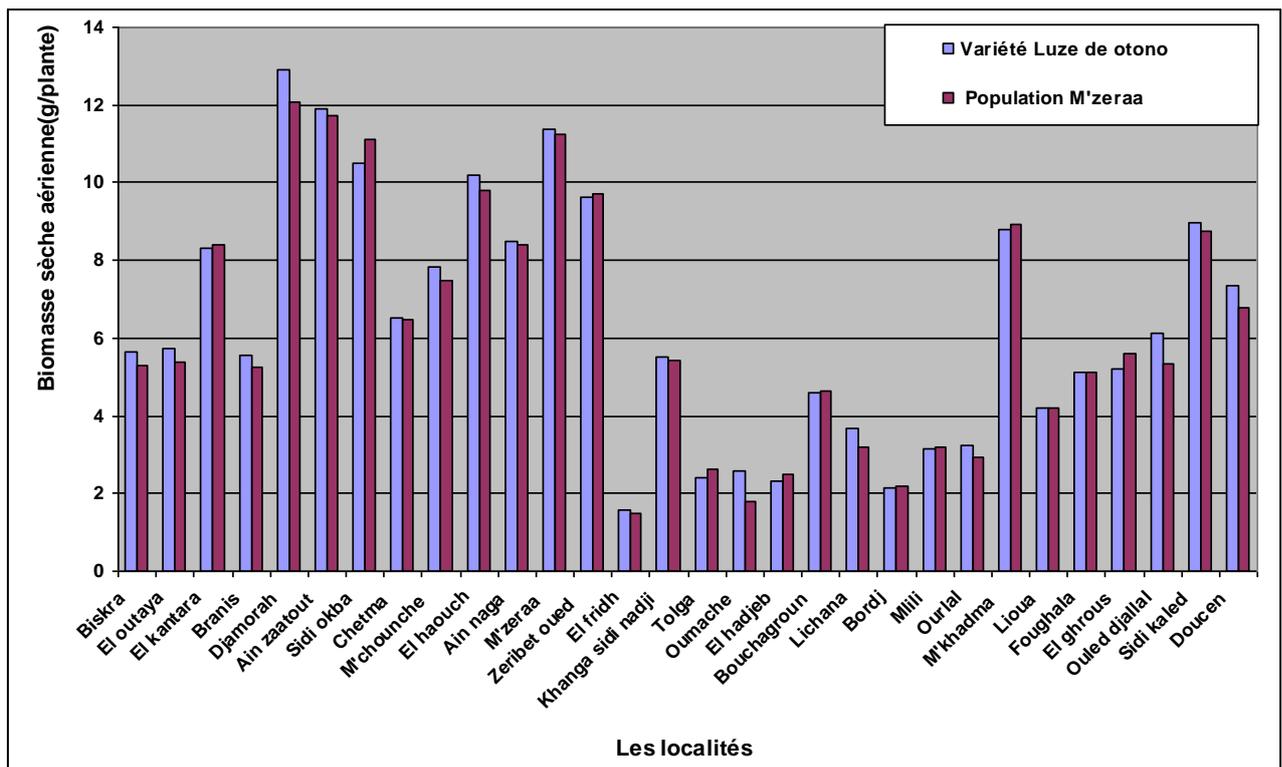


Figure 10 : Biomasse sèche aérienne en g/plante de la fève sur des sols provenant des différentes localités.

1-2-2 Variation de la biomasse sèche racinaire

La biomasse sèche racinaire moyenne des plantes de la fève varie entre selon 2.65 et 0.19 g/plante (figure 11). On observe qu'il y a une différence entre les différentes localités, par exemple la biomasse sèche racinaire peut atteindre 2.63 g/plante chez la variété Luze de otono dans la localité Djmourah et 2.65 g/plante chez la population M'zeraa dans la localité El haouch.

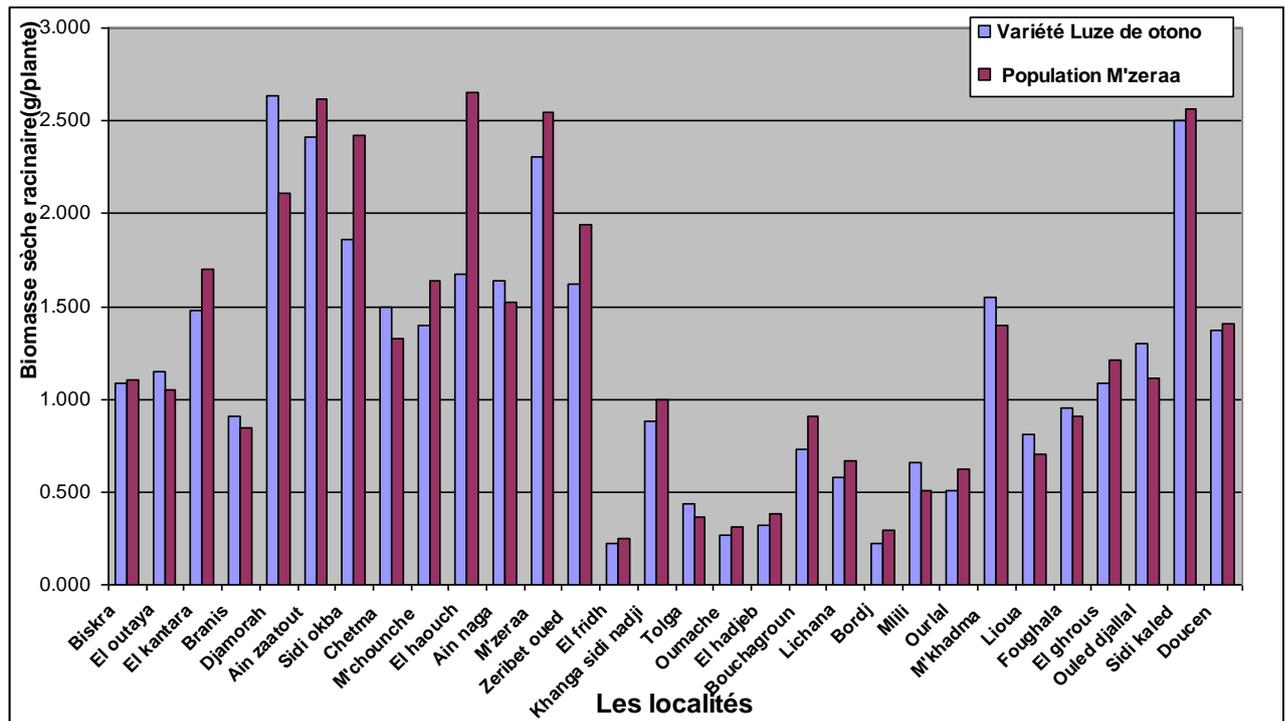


Figure 11 : Biomasse sèche racinaire en g/plante de la fève sur des sols provenant des différentes localités.

1-2-3 Variation du taux de l'azote total dans la partie aérienne

Les variations du taux de l'azote dans la partie aérienne dans les sols des différentes localités sont représentées dans la figure 12.

Le taux de l'azote total dans la partie aérienne varie aussi en fonction de la localité et selon la variété et la population testées. Le taux maximal est enregistré dans la localité Djmourah chez la variété Luze de otono (3.85%), et le taux minimal est enregistré dans la localité El fridh chez la population M'reera (1.1%). Ces résultats sont comparables à celle trouvées par L'taief et al. (2009) chez le pois chiche (*Cicer arietinum*) dans les sols de la Tunisie.

Selon, Domernach et Wery (1992) la concentration total en azote pouvant varier de 1 à 4% d'azote dans les parties aériennes, suivant l'importance de la fixation symbiotique de l'azote.

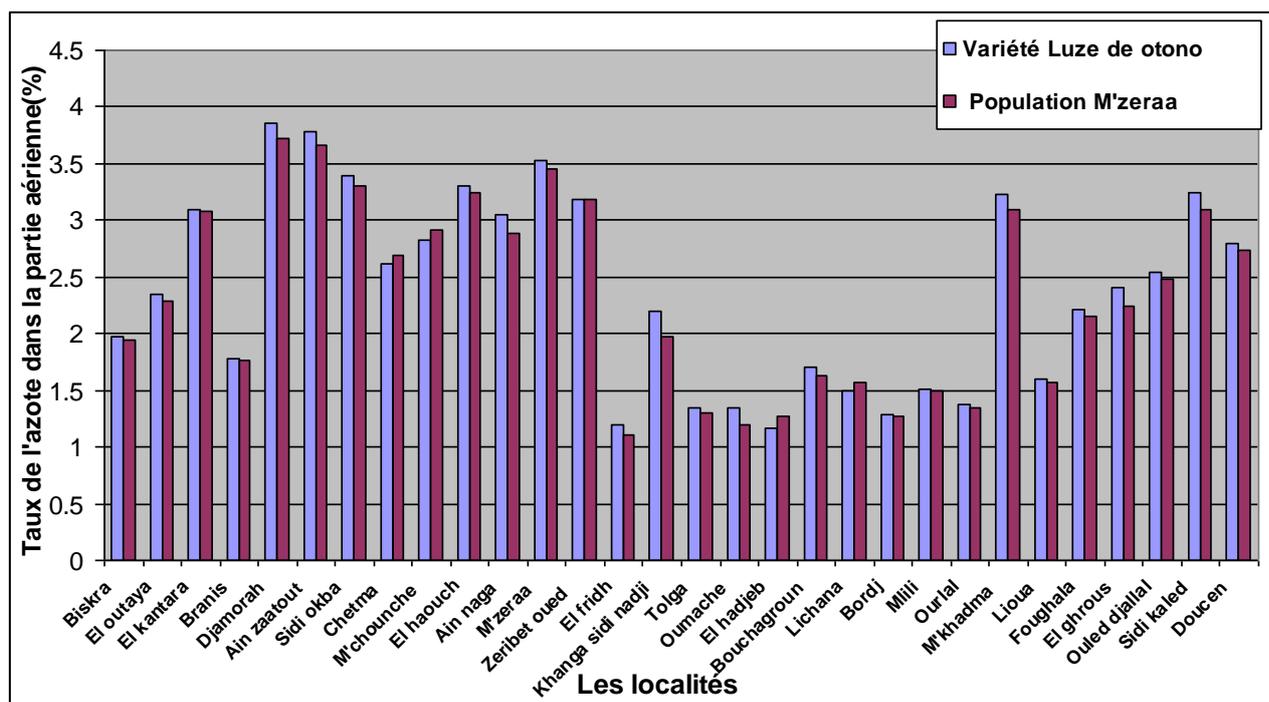


Figure 12 : Le taux de l'azote dans la partie aérienne en% des plantes de la fève sur des sols provenant des différentes localités.

1-2-4 Variation de la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne

Les résultats de variation de l'azote accumulé dans la partie aérienne sont représentés dans la figure 13.

La variation de la quantité de l'azote accumulé dans la partie aérienne est suite la même ordre avec la variation du taux de l'azote. La quantité est exprimée en fonction de la matière sèche aérienne de chaque plante. Les parties aériennes demeurent plus riches en azote dans les plantes cultivées sur de sols provenant de la localité Djmourah (496.52 mg/plante chez la variété Luze de otono et 449.71 mg/plante chez la population M'zeraa). Ceci suggère que les nodules développés dans les sols de cette localité expriment une meilleure capacité fixatrice de l'azote et par conséquent une allocation supplémentaire de l'azote aux parties aériennes. Ces résultats suggèrent que les bactéries symbiotiques dans cette localité ont exprimé leurs potentialités réelles de fixation de l'azote moléculaire. Par contre une baisse des quantités de l'azote dans la parties aériennes est notées chez les plantes cultivées sur de sols provenant de la localité El fridh (16.54 mg/plante chez la population M'zeraa et 18.54 mg/plante chez la variété Luze de otono), ceci peut justifie par l'absence de nodulation sur les systèmes racinaires de ces plantes.

Les variations des quantités de l'azote sont généralement similaires à celles de la croissance et de la nodulation, ce qui permet de suggérer qu'elles soient l'expression d'un effet du taux de nodulation sur la croissance des plantes de la fève.

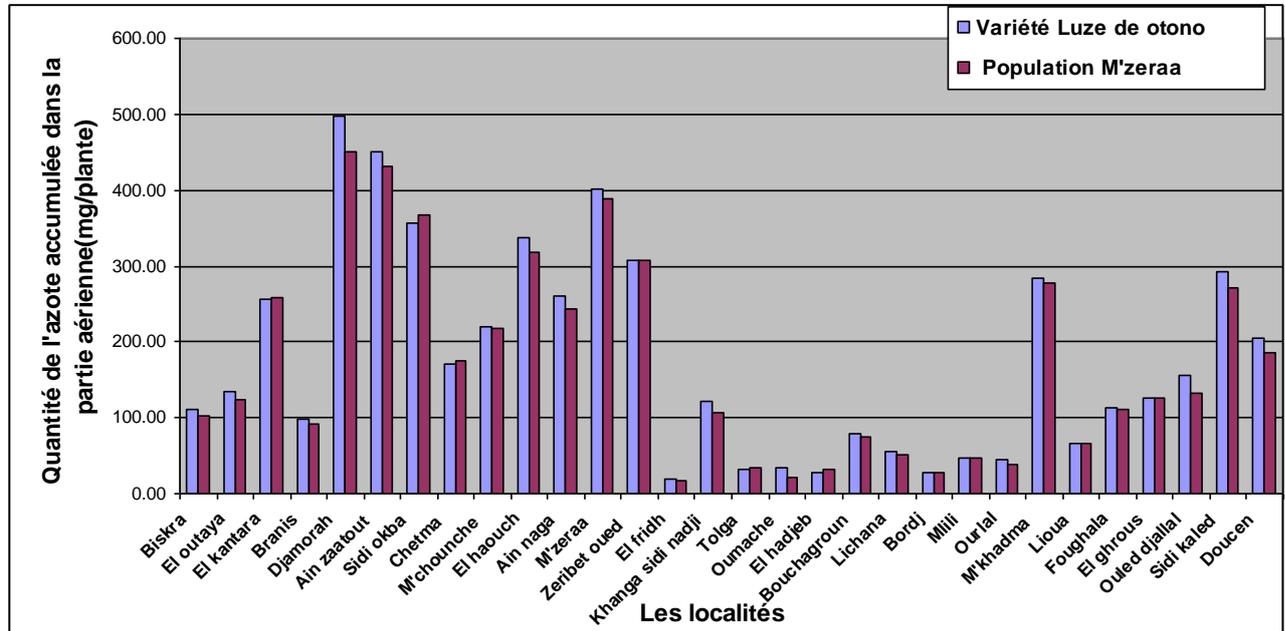


Figure 13 : La quantité de l'azote accumulé dans la partie aérienne en mg/plante de la fève sur des sols provenant des différentes localités.

2-Evaluation du potentiel symbiotique des sols testés vis-à-vis la luzerne

2-1 La nodulation

L'examen du système racinaire des plantes de la luzerne nous a permis de vérifier qu'ils sont nodulés et fixateurs de l'azote. En effet, les plantes de la luzerne ont montré sur leur système racinaire des nodosités caractéristiques de la symbiose rhizobia-légumineuses.

Les nodules observés sur le système racinaire des plantes examinées se sont tous révélés de type indéterminé et de morphologie digitée selon la classification établie par Corby en 1981.

Ils se présentent sous la forme de lobes beaucoup plus allongés que large. Dans certains cas, ces lobes, confluent à la base ou émettant des branches dans leur partie inférieure forment des amas coralloïdes. En dehors de ce trait principal, les nodules observés sur les racines de la variété et la population testées ont montré uniquement des variations sur le plan de la taille et de la couleur (figure 14).

Cette morphologie des nodules observée chez la variétés et la population de la luzerne étudiées est en accord avec les données de la littérature qui rapporte que les représentants de ce espèce produisent tous des nodules de types indéterminés (Hirsch et *al.*, 2001).

L'examen de coupes à la main levée pratiquées sur les nodules présents sur le système racinaire des plantes étudiées nous a permis de vérifier qu'il sont tous fixateurs de l'azote. En effet, les nodules des plants examinés ont présenté une zone centrale rose, rouge ou rougeâtre révélatrice de la présence de léghémoglobine.

Ce résultat indique que les sols des différentes localités renferment une flore rhizobienne comportant des souches compétentes, envers la variété et la population de la luzerne étudiées, pour les noduler et former des symbioses efficaces. Ce comportement résulterait de la conjonction de deux facteurs :

1- La présence dans le sol de souches de rhizobia capables de réagir spécifiquement à une large gamme de flavonoïdes et donc capables de noduler un large panel de plantes hôtes. Ce comportement est poussé à l'extrême dans le cas de la souche de rhizobium NGR243 qui est capable de noduler plus de 112 genres de légumineuses. Ce comportement est poussé à inspiré de nombreux travaux de biotechnologie visant à élargir le spectre d'hôte de souches de rhizobia très efficaces en vue de la production d'inoculants universels c'est-à-dire capables de former une symbiose fixatrice d'azote avec un large panel de légumineuses(Viprey et *al.*, 2000).

2- La synthèse par la plante hôte d'une large gamme de flavonoïdes qui lui permet d'induire les gènes Nod chez plus grand panel de rhizobies. C'est le cas de *Macropitillum atropurpureum* dont le niveau de promiscuité symbiotique est tel qu'elle est nodulée par tous les rhizobies connus. C'est pour cette raison que cette légumineuse est souvent utilisée dans les laboratoires comme plante cible pour l'authentification des souches de rhizobies quelle que soit leur plante hôte d'origine (Bergum et al., 2001).

La promiscuité symbiotique qui se rencontre exclusivement chez les légumineuses des régions tropicales résulte de leur faible spécificité vis-à-vis des rhizobies. Elle se rencontre en plus de *Macropitillum atropurpureum*, chez le haricot (*Phaseolus vulgaris*), l'arachide (*Arachis hypogea*) et chez la plupart des acacias australiens (Leary et al., 2006).

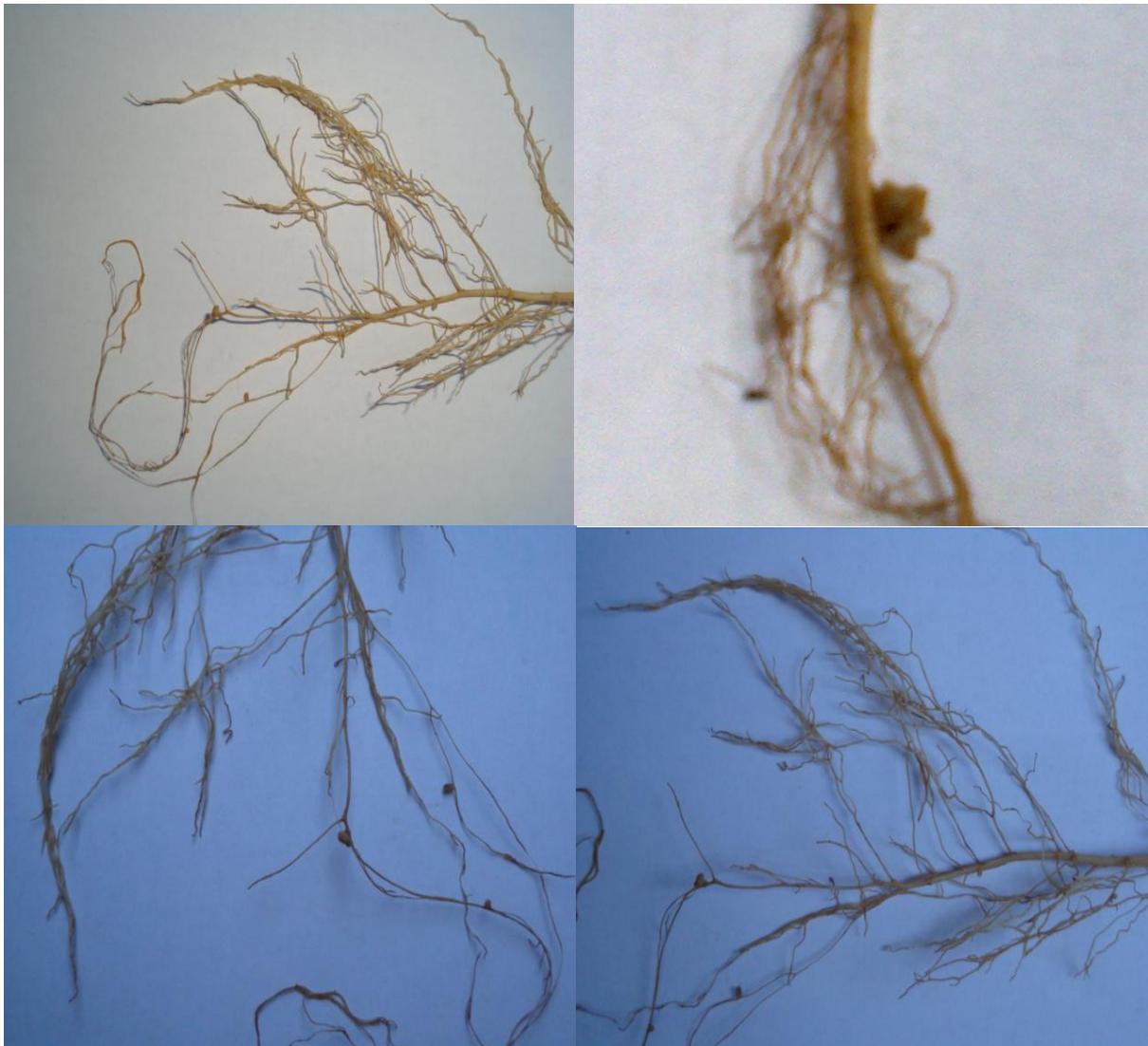


Figure 14 : Nodules des plants de la luzerne (photo original)

2-1-1 Variation de nombre des nodules

Lorsque des plantes de la luzerne sont mises en croissance sur des pots contenant des échantillons des sols testés elles montrent des niveaux de susceptibilité différents à la microflore rhizobienne.

Les résultats que nous avons obtenu (figure15) montrent que le nombre moyen des nodules par plantes est compris entre 3 et 33 nodules par plante

Le nombre de nodules enregistrés pour une variété ou une population donnée varie suivant la localité considérée c'est ainsi par exemple que pour la population Baldia, le nombre moyen est de 33 nodules par plantes au niveau de la localités Ain zaatout, et de 3 nodules par plante au niveau de la localité El fridh. Ainsi pour la variété Dista, le nombre moyen des nodules par plante est de 30 nodules par plantes au niveau de la localité Ain zaatout et de 3 nodules par plantes au niveau des localités El fridh.

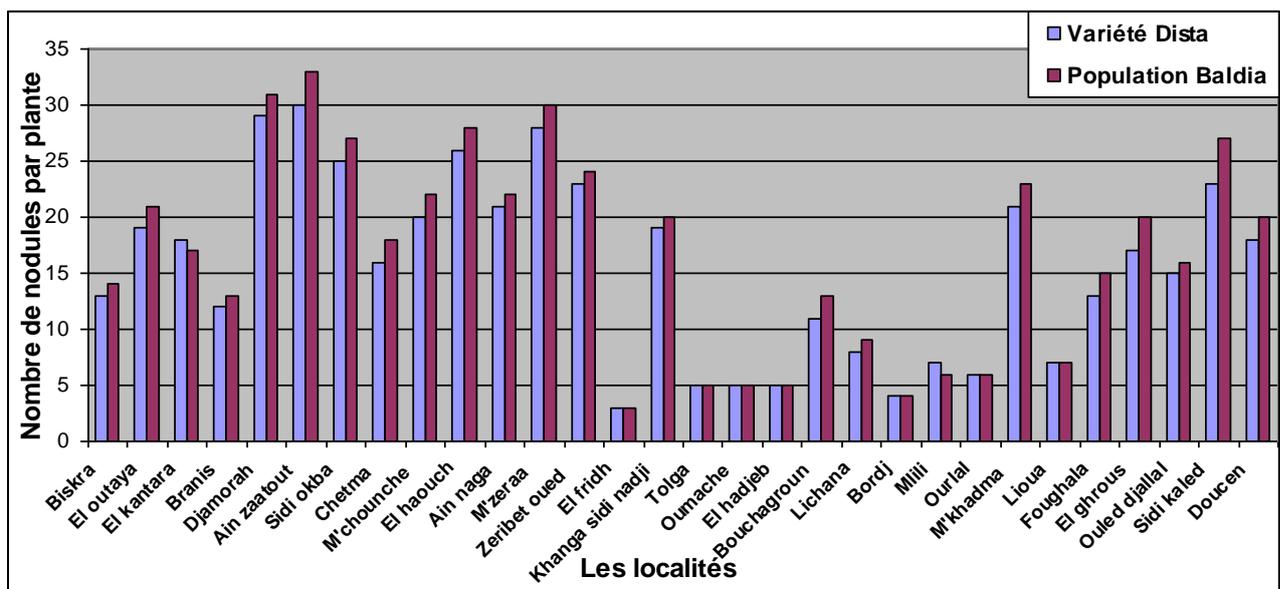


Figure15 : Le nombre des nodules par plante de la luzerne sur des sols provenant des différentes localités.

2-1-2 Variation de la matière sèche nodulaire

Les plants recueillis au niveau de sols étudiés montrent sur le plan de leur biomasse sèche nodulaire de grandes variations comme cela a été observé précédemment pour le nombre de nodules.

Les résultats de la biomasse sèche nodulaire de la luzerne, présentés dans la figure16 indiquent que la biomasse sèche des nodules varie entre 1 et 27.12 mg /plante selon la variété,

la population et les localités étudiées. Ces variations importantes des taux de nodulation observées pour la même plante sur des sols différents peuvent être dus au sol lui-même et refléteraient :

- La magnitude numérique de rhizobies capables de noduler cette légumineuse.
- L'effet des conditions édaphiques prévalant au niveau du sol (texture, teneurs en éléments, salinité,...) sur la fixation symbiotique de l'azote chez cette plante.

Le niveau de la fixation de l'azote d'une légumineuse dépend essentiellement de son taux de nodulation. Le taux de la fixation est proportionnel avant tout à la biomasse nodulaire c'est-à-dire la quantité de symbiosomes, unité fondamentale de la symbiose rhizobies-légumineuses, que la plante héberge au niveau de ses nodosités (Graham, 2008).

En dehors du taux de nodulation, la fixation symbiotique dépend du pouvoir photosynthétique de la plante hôte, conditionné par l'état de la plante (âge, état physiologique, stade phénologique...) et par tous les facteurs édaphiques qui peuvent influencer sur la photosynthèse (Postgate *et al.*, 1982).

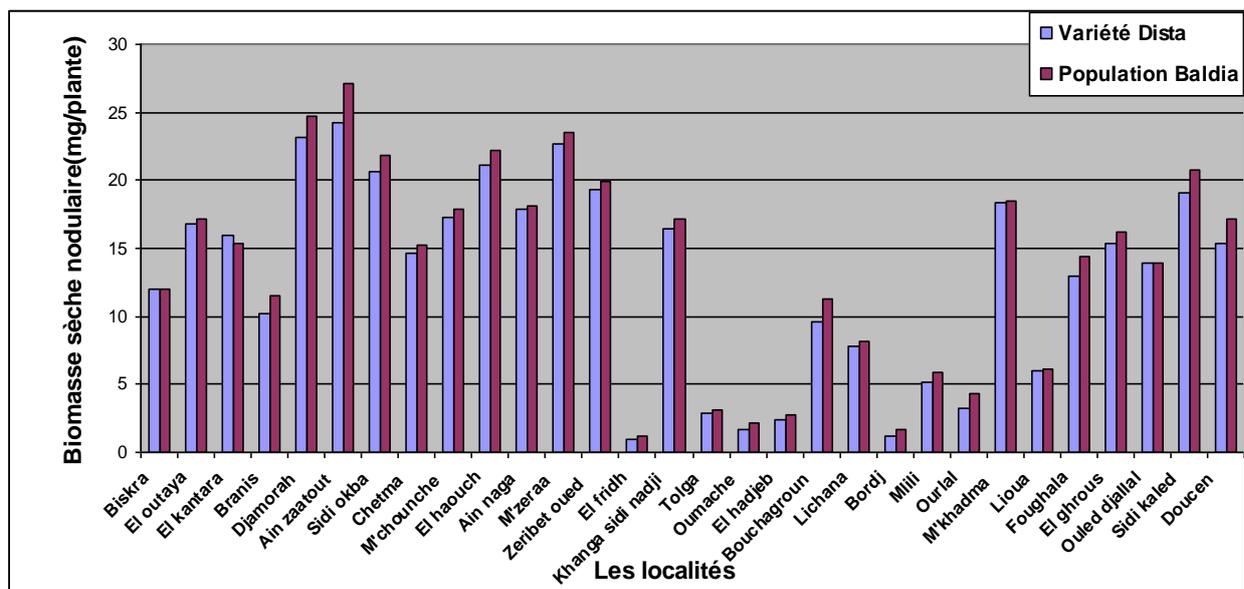


Figure16 : Biomasse sèche nodulaire en mg/plante de la luzerne sur des sols provenant des différentes localités.

2-1-3 Effet variétale

Le nombre de nodules qui apparaissent sur la racine est variable selon la variété et la population testées. La population Baldia est la plus nodulée avec un moyen des nodules de 16.80 nodules/plante et 13.72 mg/plantes de biomasse sèche nodulaire. La variété Dista est inférieure avec un moyen de 15.75 nodules/plante et 12.94 mg/plante de biomasse sèche nodulaire.

Tout comme le partenaire microbien, la plante hôte influence également l'effectivité de la symbiose légumineuse-rhizobia. Ainsi plusieurs auteurs ont montrés que la nodulation et l'activité fixatrice de l'azote de plusieurs espèces de légumineuses variaient suivant la provenance ou le génotype de la plante hôte (Perret et al., 2000; Downie, 2005).

La symbiose entre le rhizobia est régie par le caractère génétique propre à la plante hôte correspondante. Il en résulte que, même en présence de souches de rhizobia efficaces et stables, le taux de l'azote fixé par une espèce légumineuse peut varier très largement en fonction de la variété considérée (Gueye, 1984). Dans des travaux sur l'arachide (*Arachis hypogea*) Alkama,(2004) a trouvé que pour la même souche, le génotype de la plante peut influencer sur le pouvoir nodulant et la fixation de l'azote.

L'analyse des taux de nodulations en fonction du statut autochtone ou introduite indique que la population locale est mieux nodulés que la variété introduite. Ce résultat n'est pas étonnant dans le cas des variétés et des populations indigènes. En effet, celles-ci ont coévolué longtemps avec la microflore rhizobienne indigène et ont fini par modifier/sélectionner des souches qui leurs sont aujourd'hui adaptées voire très spécifiques (Leary et al., 2006, Thrall et al., 2007).

2-2 La croissance végétale

2-2-1 Variation de la biomasse sèche aérienne

La biomasse sèche aérienne moyenne des plantes de la luzerne varie selon la variété, la population et le sol de 0.455 à 1.95 g/plante (figure17). Ces résultats sont inférieurs à celle obtenus par Hireche (2006) chez la luzerne (*Medicago sativa* L) sur des plantes en pots. Une telle différence peut être due aux génotypes utilisées ou à la nature du sol.

Toutefois nos données en pot suggèrent un effet positif de la nodulation sur la croissance. En effet, la comparaison des données de croissance végétale et de nodulation montre que le groupe des sols où la nodulation des plantes est la plus élevée est également celui pour lequel la

biomasse aérienne est la plus importante. Par contre, le groupe de nodulation faible est celui de plus faible production de biomasse.

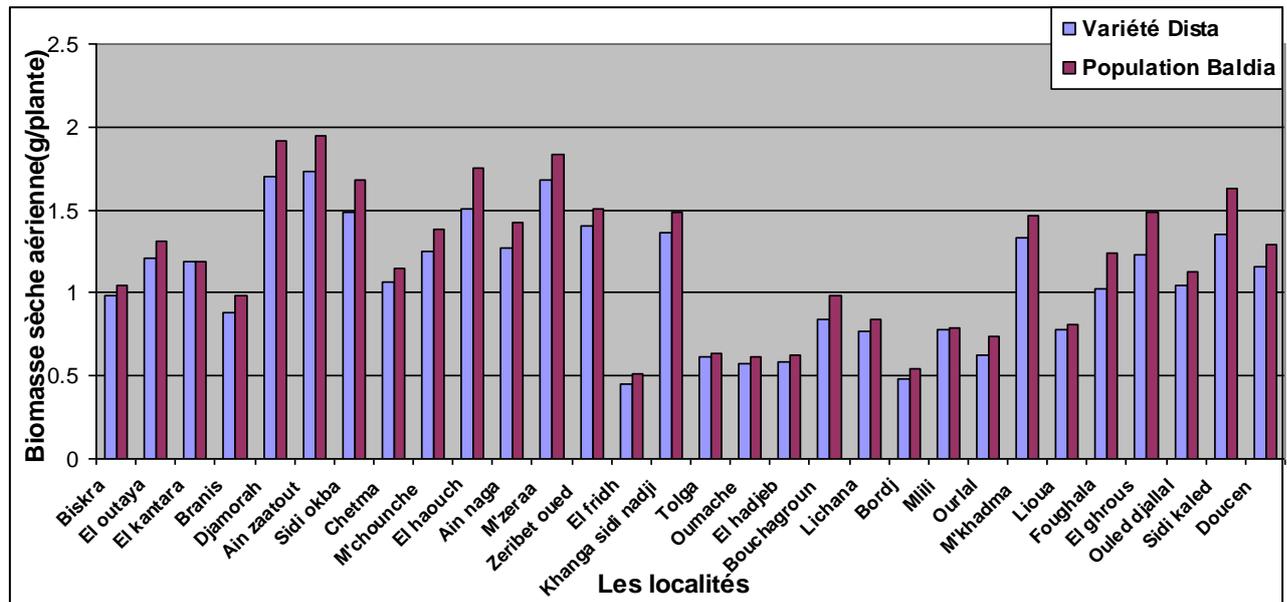


Figure 17 : Biomasse sèche aérienne en g/plante de la luzerne sur des sols provenant des différentes localités.

2-2-2 Variation de la biomasse sèche racinaire

La biomasse sèche racinaire moyenne des plantes de la luzerne varie selon la variété, la population et le sol de 0.160 et 0.523 g/plante (figure 18). on observe qu'il y a une différence entre les différentes localités, par exemple la biomasse sèche racinaire est de 0.525 g/plante chez la population Baldia dans la localité Ain zaatout et de 0.154 g/plante chez la même population dans la localité El fridh.

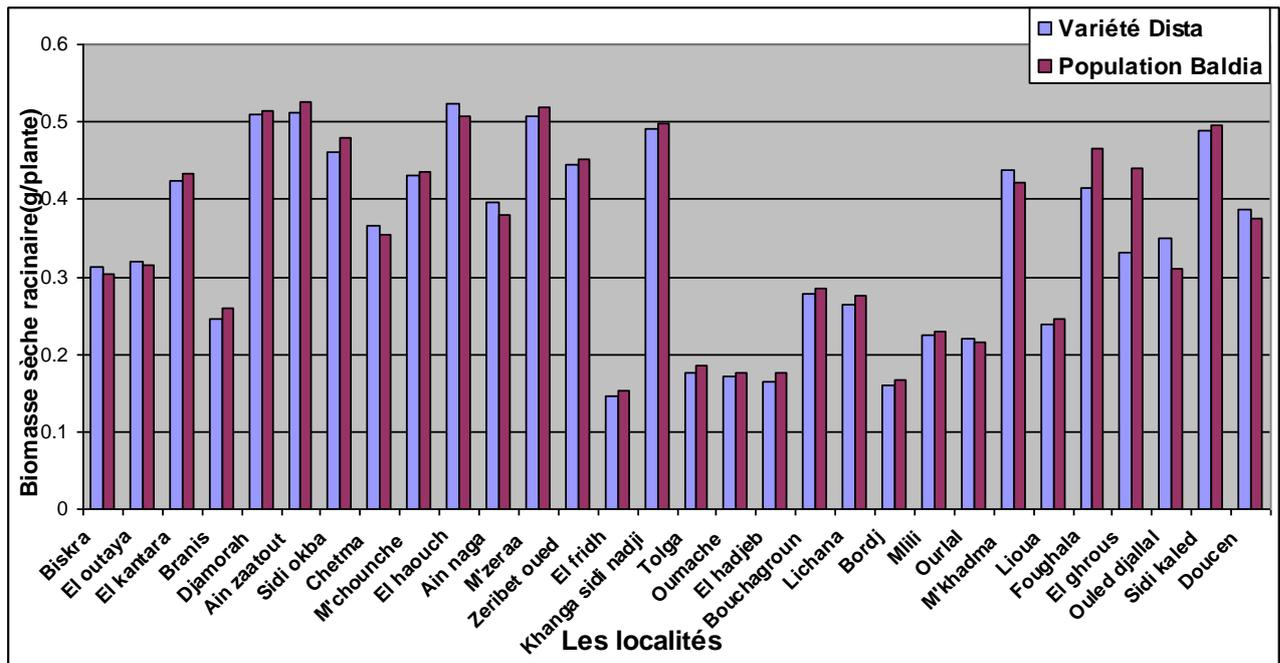


Figure 18 : Biomasse sèche racinaire en g/plante de la luzerne sur des sols provenant des différentes localités.

2-2-3 Variation du taux de l'azote total dans la partie aérienne

Les variations du taux de l'azote dans la partie aérienne sont représentées dans la figure 19.

Le taux de l'azote total dans la partie aérienne varie aussi en fonction de la localité et selon la variété et la population testées. La culture sur sol de la localité Ain zaatout conduit à des niveaux d'accumulation en azote supérieurs à 3 % chez la variété et la population de la luzerne. Par contre, une baisse très marquée du niveau d'accumulation de l'azote dans les parties aériennes est noté dans les localités Tolga et Oumache chez la population Baldia (1.1%) et aussi chez la variété Dista dans la localité Tolga (1.1%).

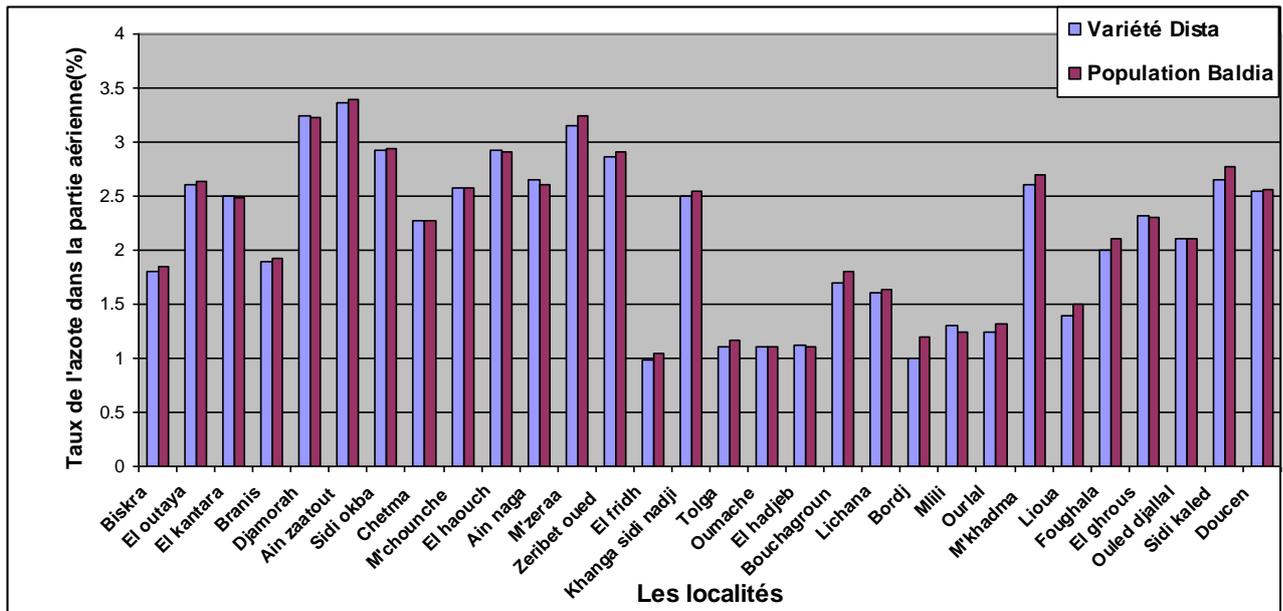


Figure 19 : Le taux de l'azote dans la partie aérienne en % des plantes de la luzerne sur des sols provenant des différentes localités.

2-2-4 Variation de la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne

Les résultats de variation de la quantité de l'azote accumulé dans la partie aérienne sont représentés dans la figure 20. L'examen de cette figure révèle que la valeur maximale est enregistrée dans la localité Ain zaatout (58,30 mg/plante) chez la population Baldia. Ceci suggère que les nodules développés dans les sols de cette localité expriment une meilleure capacité fixatrice de l'azote. Par contre, une moindre allocation de l'azote aux parties aériennes est notée dans la localité El fridh (4.45 mg/plante) chez la même population.

Les variations des quantités de l'azote sont généralement similaires à celles de la croissance et de la nodulation, ce qui permet de suggérer qu'elles soient l'expression d'un effet du taux de nodulation sur la croissance des plantes.

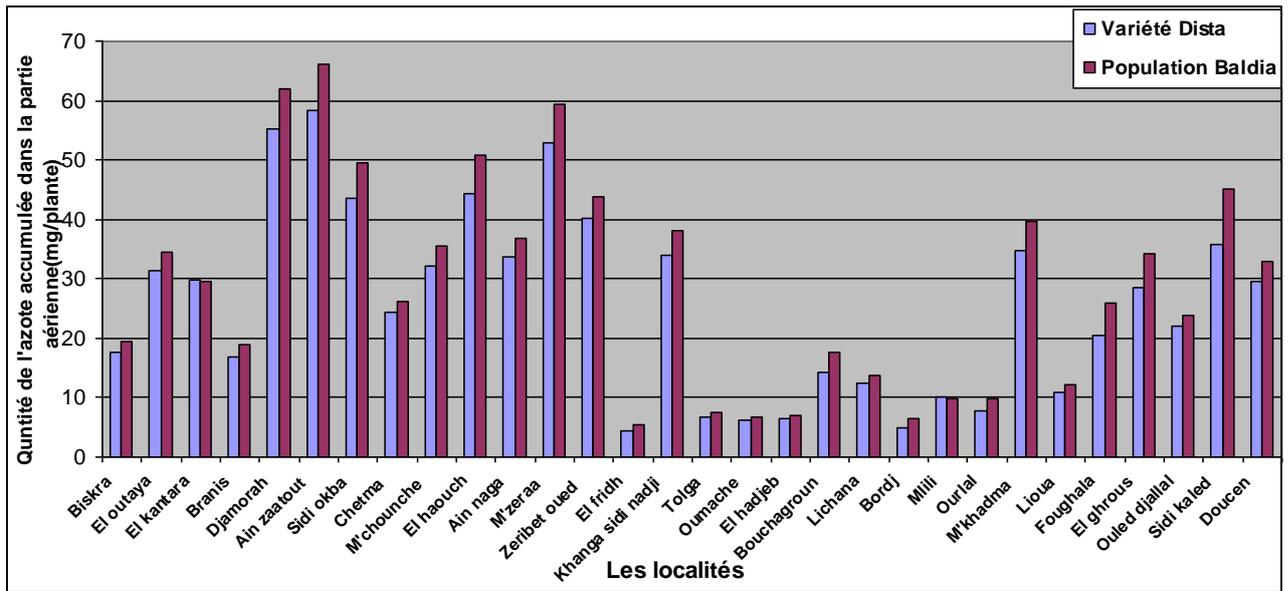


Figure 20 : La quantité de l'azote accumulé dans la partie aérienne en mg/plante de la luzerne sur des sols provenant des différentes localités.

3- Variabilité de la fixation symbiotique de l'azote chez les deux légumineuses

Pour obtenir un ordre sur la fixation de N_2 , on peut se fonder sur l'évaluation du nombre des nodules et de leur poids. Le niveau de fixation de l'azote d'une légumineuse dépend essentiellement de son taux de nodulation. Nous avons basé sur l'analyse de variance, pour déterminer la variabilité de la fixation symbiotique de N_2 chez la fève et la luzerne, en fonction des variétés, des populations et des localités étudiées.

3-1 la variabilité en fonction des variétés et des populations testées

L'ensemble des résultats de l'analyse de variance chez les deux légumineuses en fonction des variétés et des populations testées sont présentés dans la figure 21 sous forme des boîtes à Moustaches.

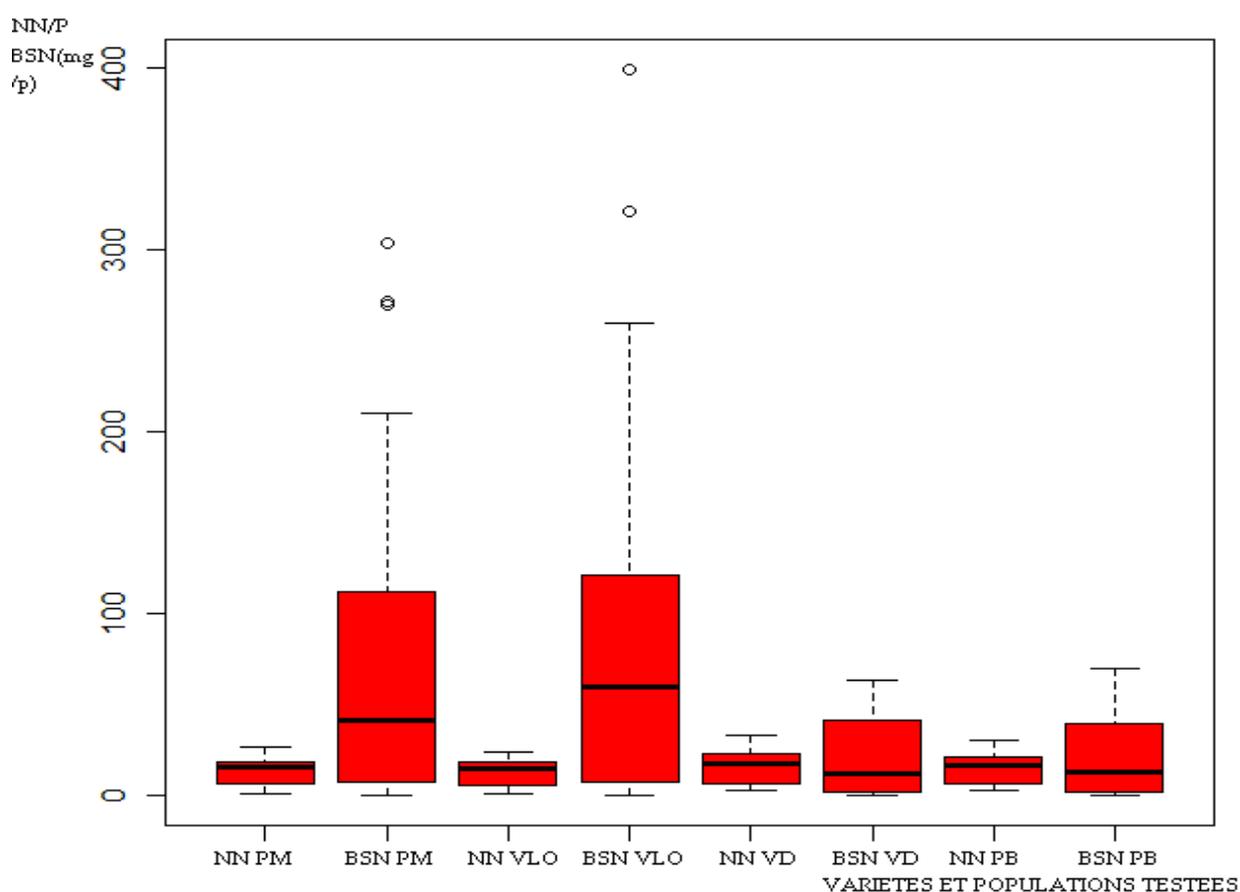


Figure 21 : Des boîtes à Moustaches de l'analyse de variance en fonction des variété et des populations testées (NN/P : nombre de nodules par plante, BSN(mg/p): biomasse sèche nodulaire en mg par plante, PM: population M'zeraa, VLO: variété Luze de otono, VD: variété Dista, PB: population Baldia).

A partir de ces boîtes de moustaches on constate que pour la fève, la variété Luze de otono a un nombre de nodules et biomasse sèche nodulaire plus important que la population locale M'zeraa. Ceci suggère que la variété Luze de otono exprime une meilleure affinité avec la microflore rhizobienne des sols de la région de Biskra, et par conséquent la fixation symbiotique de N_2 est plus importante chez cette variété. Pour la luzerne, la population Baldia a un nombre de nodules et biomasse sèche nodulaire plus important que la variété introduite Dista. Ceci montre que la population locale Baldia présente une meilleure affinité avec les souches des rhizobia. Cette population a coévolué avec la microflore rhizobienne indigène et a fini par sélectionner des souches qui leur sont aujourd'hui adaptées, cette adaptation se traduit par une fixation symbiotique de N_2 plus importante.

3-2 La variabilité en fonction des localités étudiées

L'analyse de variance chez les deux légumineuses en fonction des localités étudiées est illustrée dans la figure 22. L'analyse de variance appliquée aux résultats de la biomasse sèche nodulaire chez la fève et la luzerne dans les localités étudiées montre des différences très hautement significatives entre la biomasse sèche nodulaire et les différentes localités (annexes). Ces résultats montrent que les sols des différentes localités de la région de Biskra renferment une microflore rhizobienne très variable sur le plan quantitatif et/ou qualitatif.

Les sols d'une meilleure texture, d'une plus grande richesse en éléments nutritifs et de conditions édaphiques moins contraignantes hébergeraient une microflore rhizobienne nettement plus abondante, ce qui permet une meilleure nodulation des plantes de la fève et de la luzerne.

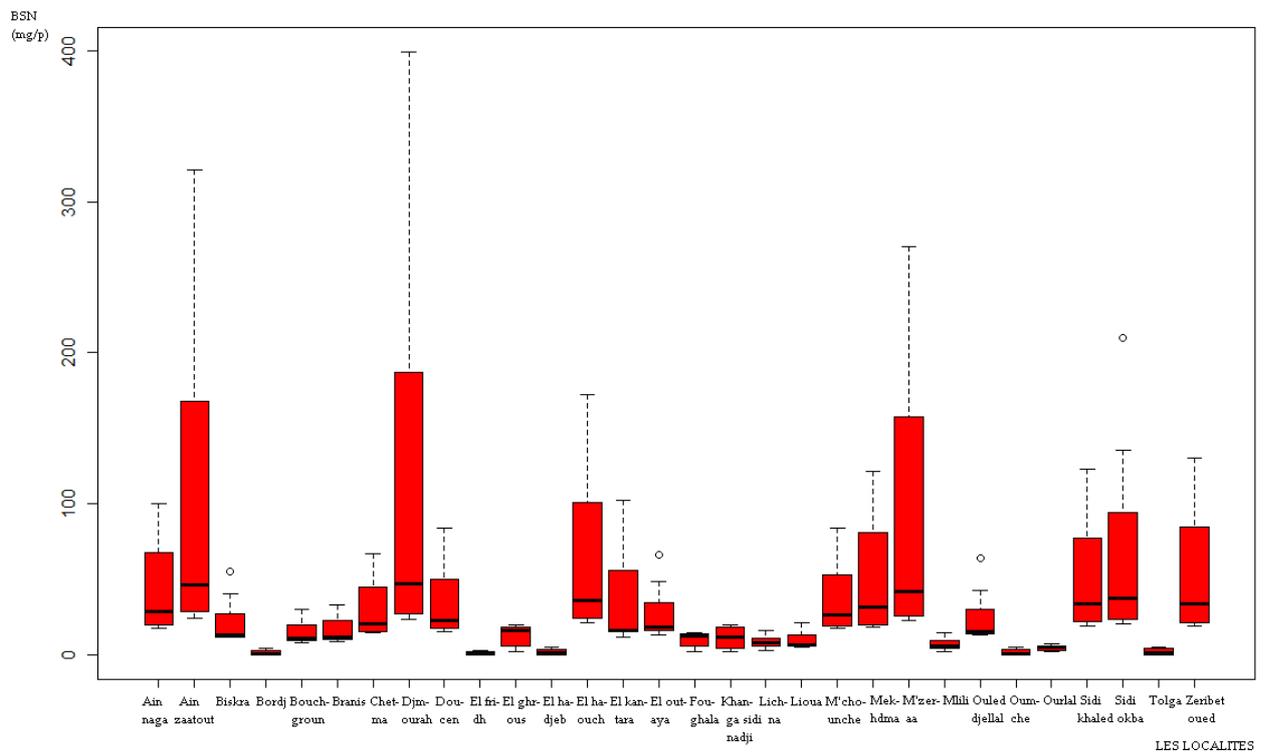


Figure 22 : Des boites à moustaches de l'analyse de variance en fonction des localités étudiées (BSN : biomasse sèche nodulaire).

Pour classer les sols des différentes localités en fonction de l'importance de la fixation symbiotique chez la fève et la luzerne dans la région de Biskra, nous avons établi une classification des localités étudiées basée sur l'importance de la fixation symbiotique de N_2 (figure 23). Cette classification montre que les sols des localités Djmorah, Ain zaatout, M'zeraa, Sidi okba, El haouch, Zeribet oued, Sidi kaled, M'khadma, Ain naga, M'chounche, et Doucen présentent un niveau important de fixation symbiotique de N_2 par apport aux autres localité étudiées. Une telle différence peut s'expliquer par des populations rhizobiales plus compétentes avec les deux espèces, ou des conditions physicochimiques plus favorable à la symbiose dans ces sols, voir une complémentarité entre les deux sources de l'azote: N_2 fixé et l'azote fourni par le sol.

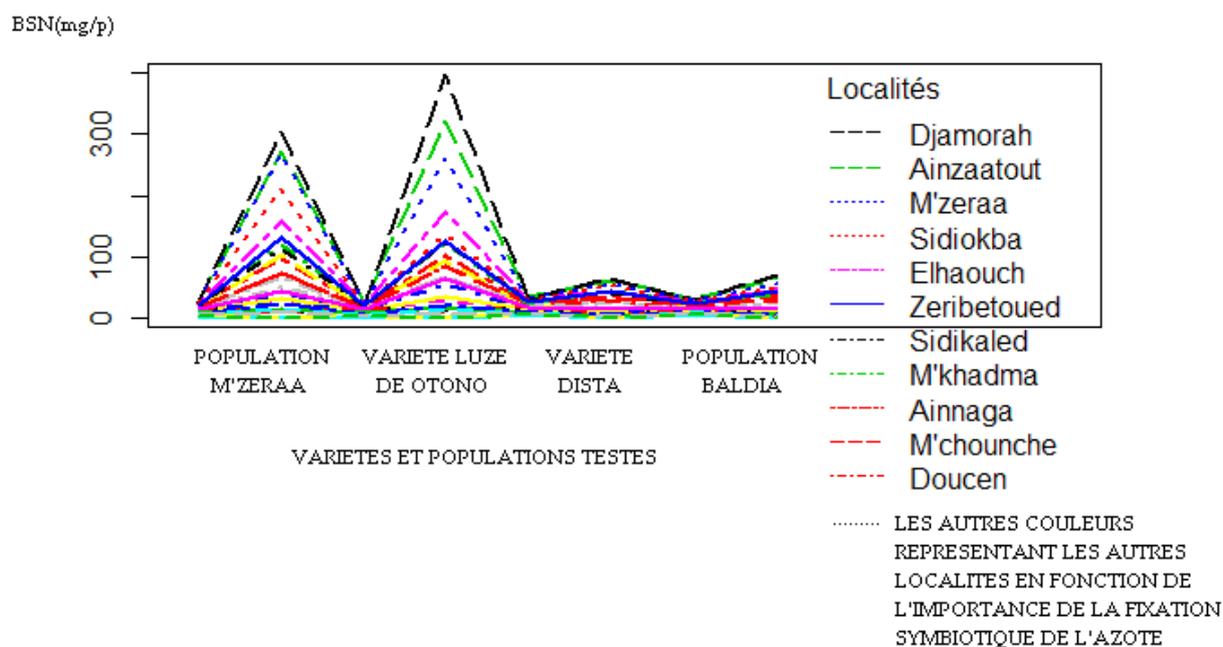


Figure 23 : Classification des sols de la région de Biskra en fonction de l'importance de la fixation symbiotique de l'azote chez la fève et la luzerne (BSN : biomasse sèche nodulaire).

4- Efficacité de la symbiose rhizobienne chez les deux légumineuses

Pour déterminer l'efficacité de la symbiose rhizobienne chez la fève et la luzerne dans cette étude, nous avons basé sur la corrélation entre la biomasse sèche nodulaire et la biomasse sèche aérienne et la corrélation entre la biomasse sèche nodulaire et la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne.

4-1 Corrélation entre la nodulation et la croissance végétale

A fin d'analyser plus précisément les relations entre nodulation et croissance de la fève et de la luzerne dans cette expérience, la corrélation entre ces paramètres ont été calculées. Les équations des droites de régression de la croissance en fonction de la nodulation pour les sols de la région de Biskra chez la fève et la luzerne présentent dans les figures 24, 25, 26, 27.

Dans le cas de la fève, les analyse de corrélation montrent que chez la variété Luze de otono, la biomasse sèche nodulaire est positivement corrélée avec la biomasse sèche aérienne ($r^2 = 80.7 \%$), chez la population M'zeraa, la biomasse sèche nodulaire est présente une corrélation significative avec la biomasse sèche aérienne ($r^2 = 85.7$).

Dans le cas de la luzerne, les analyse de corrélation indiquent que chez la variété Dista, la biomasse sèche aérienne et la biomasse sèche nodulaire sont reliés entre eux ($r^2 = 97.3 \%$), aussi chez la population Baldia, les deux paramètres sont corrélés positivement entre eux ($r^2 = 97.2 \%$).

Ces corrélation confirment que la biomasse sèche aérienne recueillis au niveau des sols des différentes localités dépend essentiellement de leur taux de nodulation et ce quelle que soit l'espèce et la localité considérée.

La pente de régression constituerait ainsi un indicateur d'efficacité de la symbiose rhizobienne pour la nutrition azotée de la plante de la fève et de la luzerne.

Rupela et Dart (1980), aient montré l'existence d'une corrélation significative entre l'accroissement du poids de matière sèche des parties aériennes et le nombre ou le poids sec des nodosités. Aouani et al.(2003) aient indiqué aussi l'existence d'une corrélation significative entre le nombre de nodules et la croissance végétale chez le pois chiche (*Cicer artietinum*). Aussi une corrélation significative apparaît entre la croissance du haricot et sa nodulation en Lauragais (Tunisie) (Drevon et al., 2003).

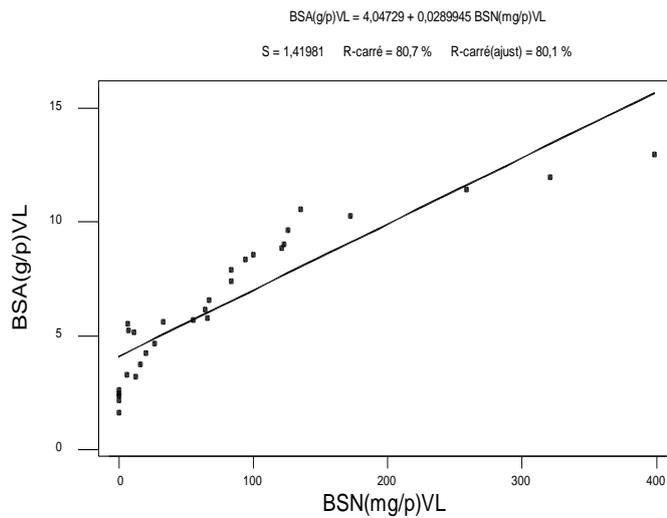


Figure 24 : Corrélacion entre la croissance de la fève chez la variété Luzé de otono en fonction de la croissance nodulaire (BSA(g/p)VL: biomasse sèche aérienne g par plante; variété Luzé de otono, BSN(mg/p)VL: biomasse sèche nodulaire; variété Luzé de otono).

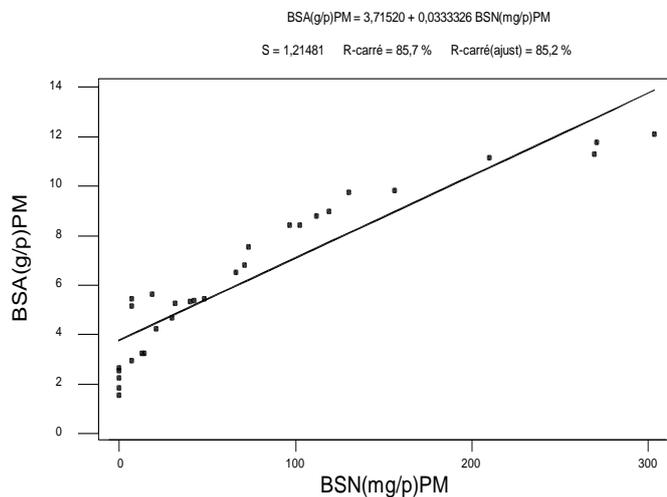


Figure 25 : Corrélacion entre la croissance de la fève chez la population M'zeraa en fonction de la croissance nodulaire (BSA(g/p)PM : biomasse sèche aérienne g par plante; population M'zeraa, BSN(mg/p)PM : biomasse sèche nodulaire; population M'zeraa).

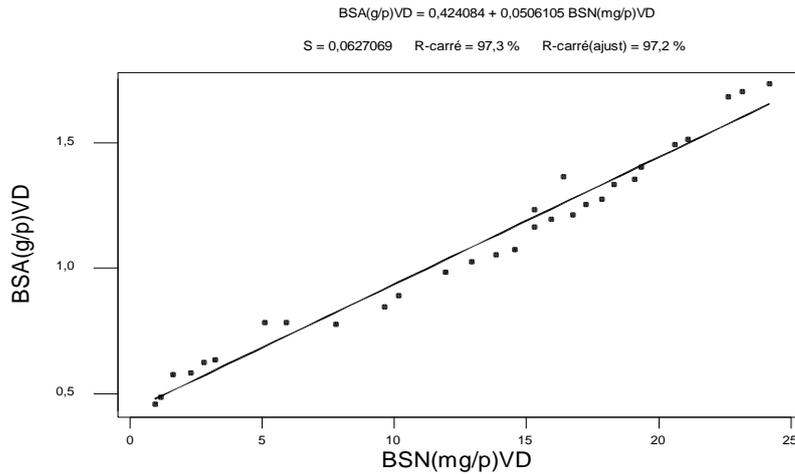


Figure 26 : Corrélation entre la croissance de la luzerne chez la variété Dista en fonction de la croissance nodulaire (BSA(g/p)VD: biomasse sèche aérienne g par plante; variété Dista, BSN(mg/p)VD: biomasse sèche nodulaire; variété Dista).

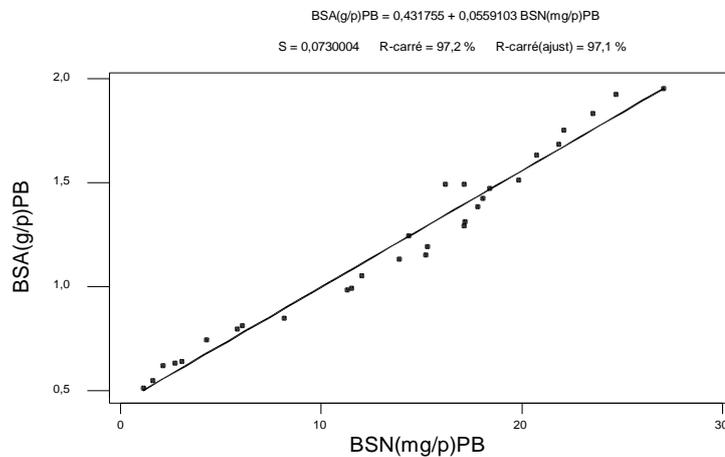


Figure 27 : Corrélation entre la croissance de la luzerne chez la population Baldia en fonction de la croissance nodulaire (BSA(g/p)PB : biomasse sèche aérienne g par plante; population Baldia, BSN(mg/p)PB : biomasse sèche nodulaire; population Baldia).

4-2 Corrélation entre la nodulation et la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne

Les données des figures 28, 29, 30,31 montrent une régression significative de la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne en fonction de la nodulation des plantes de la fève et de la luzerne. Ceci confirme que la nutrition azotée est bien le facteur déterminant de l'accumulation de l'azote dans la partie aérienne.

Dans le cas de la fève, les analyse de corrélation montrent que chez la variété Luze de otono; la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne est présente une corrélation significative avec la biomasse sèche nodulaire ($r^2 = 87.8 \%$), et chez la population M'zeraa ces deux paramètres sont corrélés positivement ($r^2 = 92.4 \%$).

Dans le cas de la luzerne, chez la variété Dista; la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne et la biomasse sèche nodulaire sont présentées une corrélation significative ($r^2 = 93.6 \%$). Chez la population Baldia, une corrélation significative est observée entre les deux paramètres ($r^2 = 94.5 \%$).

La pente des régressions peut être considérée comme un indicateur de l'efficacité des nodosités à soutenir l'accumulation de l'azote dans la partie aérienne et par conséquent la croissance aérienne. Puisque cette pente indique le bénéfice de l'accumulation de l'azote dans la partie aérienne résultant d'une augmentation de nodulation, nous proposons de l'appeler efficacité d'utilisation de la symbiose rhizobienne.

Une forte nodulation se traduit par des teneurs en azote élevé cultivé dans les parties aériennes des plantes de la fève et de la luzerne.

La quantité de l'azote dans la partie aérienne est la meilleur indice de la fixation symbiotique de l'azote. La biomasse nodulaire et le poids sec des plantes sont significativement associés à l'azote total (Sadiki et Rabih, 2003).

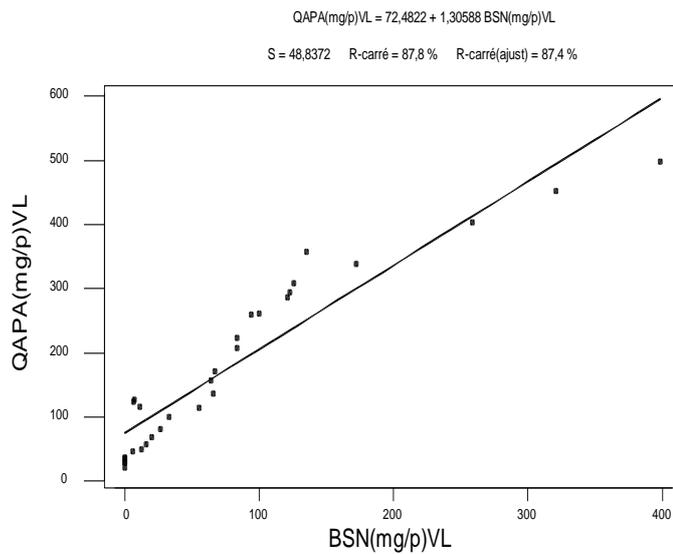


Figure 28 : Corrélation entre la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne de la fève chez la variété Luze de otono en fonction de la croissance nodulaire (QAPA(mg/p)VL: la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne mg par plante; variété Luze de otono, BSN(mg/p)VL: biomasse sèche nodulaire; variété Luze de otono).

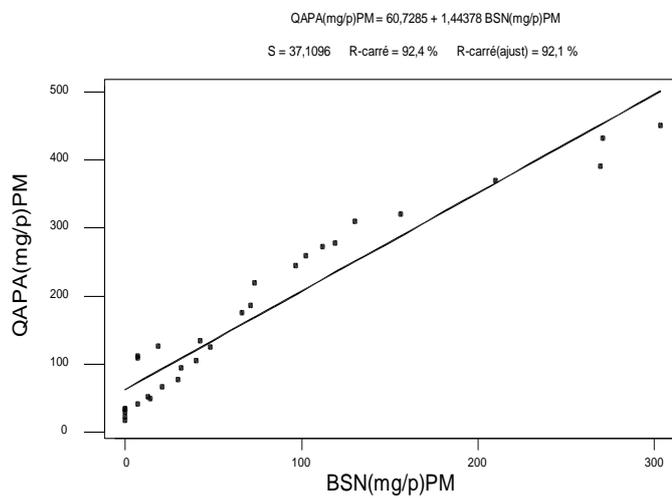


Figure 29 : Corrélation entre la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne de la fève chez la population M'zeraa en fonction de la croissance nodulaire (QAPA(mg/p)VL: la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne mg par plante; population M'zeraa, BSN(mg/p)PM : biomasse sèche nodulaire; population M'zeraa)

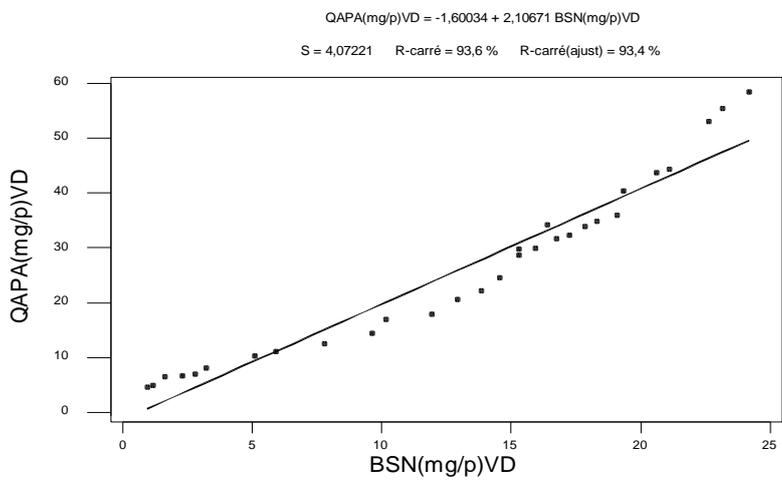


Figure 30 : Corrélation entre la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne de la luzerne chez la variété Dista en fonction de la croissance nodulaire (QAPA(mg/p)VL: la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne mg par plante; variété Dista, BSN(mg/p)VD: biomasse sèche nodulaire; variété Dista).

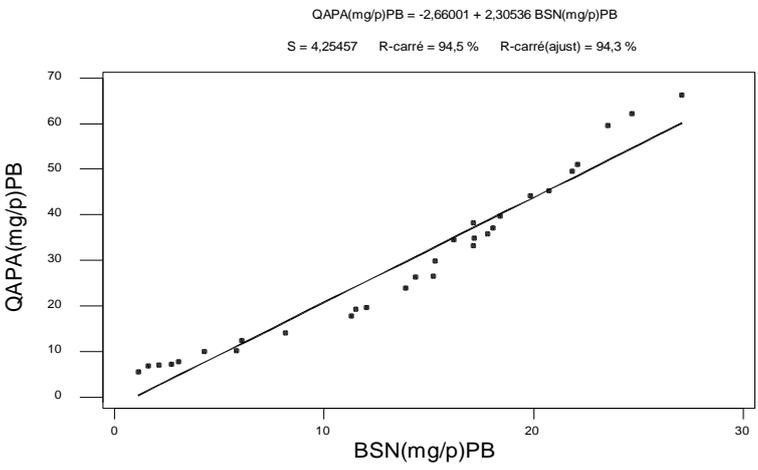


Figure 31 : Corrélation entre la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne de la luzerne chez la population Baldia en fonction de la croissance nodulaire (QAPA(mg/p)VL: la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne mg par plante; population Baldia, BSN(mg/p)PB : biomasse sèche nodulaire; population Baldia).

5- Corrélation entre la fixation symbiotique de l'azote et les propriétés physico-chimiques des sols testés

La disponibilité des éléments nutritifs et la capacité d'une légumineuse à fixer l'azote sont deux facteurs liés. Dans un sol, les rhizobia et la plante hôte disposent des éléments nutritifs qui leur sont nécessaires pour initier et entretenir l'activité symbiotique conduisant à la fixation de l'azote. Une déficience quelconque en éléments nutritifs peut affecter le développement de la plante, des rhizobia et l'activité symbiotique, et par conséquent modifier la fixation de l'azote. Khan et Yoshida (1994) ont démontré une grande variabilité dans la fixation de l'azote par l'arachide (*Arachis hypogea*), en fonction des variations des teneurs en éléments nutritifs du sol.

Les résultats de la statistique de régression (Annexe 2) montrent bien une corrélation très marquée entre la fixation de l'azote chez la fève et la luzerne et les propriétés édaphiques pris en considération dans cette étude (Annexe 1).

Le manque de phosphore affecte la fixation symbiotique de l'azote chez les deux légumineuses. Mandimba et Djondo (1996) ont montré que le phosphore pouvait augmenter la nodulation chez l'arachide (*Arachis hypogea*) de 57 à 86%. En effet, le phosphore améliore en particulier la fixation symbiotique de l'azote et beaucoup de travaux indiquent que l'efficacité du phosphore sur la fixation de l'azote réside dans sa capacité à augmenter la nodulation et l'activité de la symbiose (Olofintoye, 1986; Tang et al., 2001). L'activité fixatrice des nodules par rapport à leur biomasse semble croître avec la dose de phosphore dans la plupart des expériences de laboratoire (O'Toole et al., 1991; Ribet et Drevon, 1996).

Giller et al., (1995) ont montré qu'une fertilisation adéquate en éléments P et K augmentait la fixation symbiotique, permettant à l'arachide et au cowpea de fixer respectivement 65 à 85% de leur besoin en azote.

La salinité affecte gravement la fixation symbiotique de l'azote chez les deux légumineuses dans cette étude.

Le stress salin limite la productivité des légumineuses, affectant la croissance, la nodulation, et la fixation de l'azote. Chez *Phaseolus vulgaris*, la limitation de l'efficacité symbiotique est due à la fois à une limitation de l'activité de la nitrogénase et des processus d'assimilation de l'azote fixé (Khadri et al., 2003). Dans leur étude sur l'effet de la salinité sur la luzerne (*Medicago sativa*), Kassem et al. (1985) ont montré que la fixation de l'azote de la plante était diminuée pour des concentrations en NaCl de 0.4 %, était très faible à 1 % et devenait nulle à 2 %.

Dans notre expérimentation, nous avons noté que la biomasse sèche nodulaire est diminuée avec l'augmentation de la salinité. D'après Dommergues et Girgis (1993), la diminution de la masse de nodules résulte d'une réduction de l'apport de photosynthétats consécutive à la diminution de la croissance des parties aériennes sous l'effet de la salinité.

Pour bien indiquer l'effet des propriétés physico-chimiques de sols pris en considération dans cette étude sur la fixation symbiotique de l'azote chez la fève et la luzerne, nous avons fait recours à l'analyse en composantes principales (ACP) et à la classification (dendrogramme).

L'analyse en composantes principales a été réalisée sur l'ensemble des caractères étudiés (biomasse sèche aérienne et racinaire, le nombre et la biomasse sèche de nodules, le teneur et la quantité de l'azote dans la partie aérienne) chez les deux légumineuses et les propriétés édaphiques des sols testés.

- Les individus sont les 32 localités, les variables sont toutes quantitatives et correspondent aux paramètres mesurés chez la fève et la luzerne.

- La qualité globale de la présentation peut être mesurée par le pourcentage de l'inertie totale (du nuage initial) projetée sur le plan factoriel, soit ici : 80.88 %. Ce pourcentage, élevé, est toutefois lié à un nombre de variables important et liées entre elles. Cela signifie que 80.88 % de la variabilité des données est exprimée sur le plan principal. Le premier axe, en particulier, est largement prépondérant (73.68 % à lui seul).

- Le graphe des variables (figure 32) montre que la plupart des variables sont projetées c'est-à-dire bien représentées (car la pointe des flèches est proche du cercle de corrélation). Ce résultat est attendu compte du pourcentage d'inertie associé au plan. Les variables argile (A), pH, azote (N) étant mal représentée sur le plan, sont orthogonales (ou presque) à ce plan.

- La plupart des variables sont corrélées fortement avec le premier facteur. Les variables biomasse sèche aérienne, racinaires, le nombre de nodules, biomasse sèche nodulaire, le taux de l'azote, la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne sont très corrélées positivement. Ces variables et le phosphore assimilable dans le sol (P_2O_5) sont aussi corrélées positivement (les variables sont bien projetées et l'angle entre les variables pris deux à deux est proche de 0 donc le cosinus de l'angle est proche de 1).

Les variables (biomasse sèche aérienne, racinaires, le nombre de nodules, biomasse sèche nodulaire, le taux de l'azote, la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne) sont corrélées négativement avec le CE et les sels solubles (Na, Ca, Mg, Cl, SO_4 , HCO_3).

- On peut dire que l'axe factoriel oppose les localités qui présentent un niveau élevé de fixation symbiotique de l'azote et les localités qui présentent un niveau faible ou nulle de fixation symbiotique de N_2 . Les localités à gauche sur le graphe (figure 33), comme par

exemple Djamorah, Ain zaatout, M'zeraa seront considérées comme des localités où la fixation de N_2 est potentielle, ces localités caractérisent par une bonne croissance végétative, un nombre des nodules et biomasse sèche nodulaire importants et un teneur en azote élevé. Les sols des ces localités sont riche en phosphore assimilable et le niveau de la salinités est faible. Les localités les plus à droite sur le graphe comme, El fridh, Bordj, Tolga, El hadjeb sont à un niveau faible ou nulle de fixation symbiotique de l'azote, ces localités caractérisent par une matière sèche faible et un teneur en azote faible. Les sols des ces localités sont pauvre en phosphore assimilable et le niveau de la salinités est élevé.

L'ACP est complétée par la classification hiérarchique, nous avons proposé dans cette étude deux arbres de classification, le premier arbre classe les différentes localités en fonction des caractéristiques physico-chimiques des sols testées. Le deuxième arbre classe les différentes localités en fonction de l'importance de la fixation symbiotiques de l'azote chez les deux légumineuses.

L'analyse de premier arbre (figure 34) indique que les sols testés se partagent en trois groupes distincts :

- le premier groupe recèle les sols des localités : M'zeraa, El haouch, Khanga sidi nadji, El kantara, Ain zaatout, Djamorah, dans ces région les conditions édaphiques sont bonne c'est-à-dire favorable à la croissance végétale et à la fixation symbiotique de l'azote.
- Le deuxième groupe contient les sols des localités : Oumache, Tolga, Lioua, Bordj, Ourlal, El hadjeb, Mlili, Lichana, Bouchagroun, El fridh, Branis, dans ces régions les caractéristiques physico-chimiques sont défavorables à la croissance végétale et à la fixation symbiotique de l'azote.
- Le troisième groupe renferme le reste des sols qui sont intermédiaires entre les deux groupes.

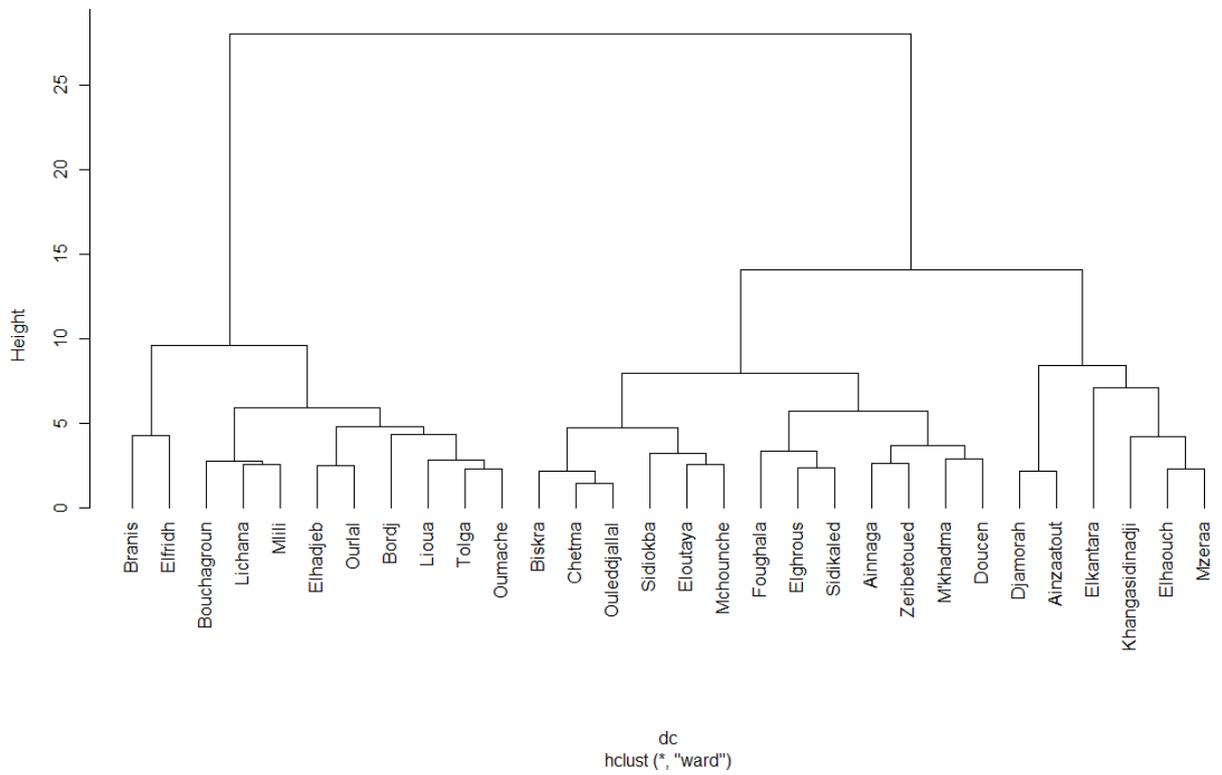


Figure34 : Dendrogramme représentant la distribution des sols de différentes localités en tenant compte de l'ensemble des caractéristiques physico-chimiques étudiées.

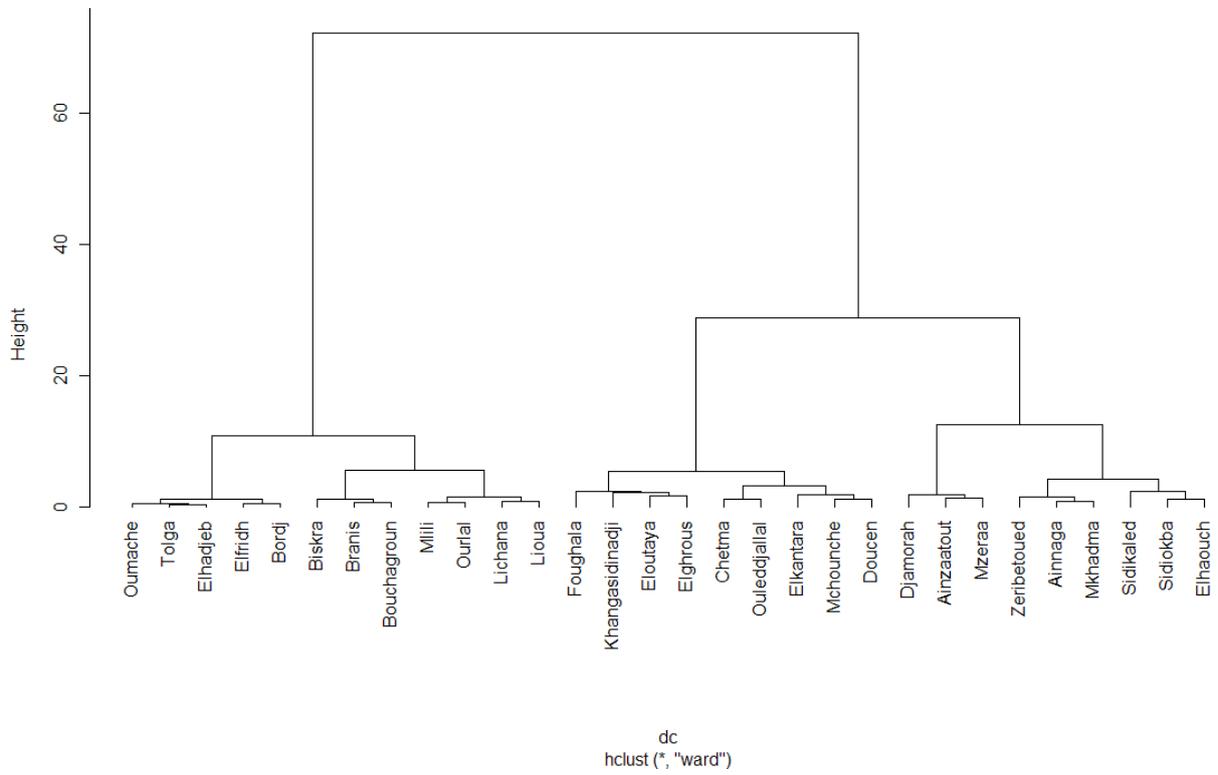


Figure35 : Dendrogramme représentant la classification des différentes localités en fonction de la fixation symbiotique de l'azote chez la fève et la luzerne dans la région de Biskra.

La classification des différentes localités en fonction de l'importance de la fixation symbiotique de l'azote chez la fève et la luzerne (figure 35) permet de classer les localités en trois groupes distincts :

- le premier groupe rassemble les localités El haouch, Sidi okba, sidi kaled, M'khadma, Ain naga, Zeribet oued, M'zeraa, Ain zaatout, Djamorah, ces localités constituent un groupe caractérisé par une bonne fixation symbiotique de l'azote.

- Le deuxième groupe contient les localités Lioua, Lichana, Ourlal, Mlili, Bouchagroun, Branis, Biskra, Bordj, El fridh, El hadjeb, Tolga, Oumache, ces localités constituent un groupe caractérisé par une faible ou nulle fixation symbiotique de l'azote chez la fève et la luzerne.

- Le troisième groupe renferme les localités Doucen, M'chounche, El kantara, Oued djellal, Chetma, El ghrous, El outaya, Khanga sidi nadj, Foughala, ces localités constituent un groupe intermédiaire entre les deux groupes.

Une comparaison entre les deux arbres (dendrogramme) montre que les trois groupes dans les deux classifications sont comparables. Ceci suggère que la fixation symbiotique de l'azote chez la fève et la luzerne est fortement liée aux conditions édaphiques du sol.

La salinité exerce un effet néfaste sur la symbiose rhizobienne par contre le phosphore favorise la fixation symbiotique de l'azote.

6- Caractérisation microbiologique des souches de rhizobia isolées

La détermination des caractères morphologiques, biochimiques et physiologiques des souches que nous avons retenues nous permet d'aboutir à une meilleure connaissance de celles-ci.

Les critères utilisés pour déterminer une espèce bactérienne sont de trois types :

- Caractéristiques morphologiques des cultures et des cellules.
- Caractéristiques biochimiques et enzymatiques.
- Profils de résistance aux facteurs physiques et biochimiques.

Nous avons utilisé dans le cadre de cette étude les souches retenues au total 10 souches :

- 5 souches de la fève : RF1, RF2, RF3, RF4, RF5.
- 5 souches de la luzerne : RL1, RL2, RL3, RL4, RL5.

6-1 Caractéristiques coloniales (morphologiques)

Des boîtes de pétri contenant du milieu YEMA sont inoculées par la méthode de stries pour obtenir une séparation la plus complète possible des colonies bactériennes. Les caractéristiques morphologiques sont notées après croissance à une température de 28°C.

Chaque espèce bactérienne en croissance sur un milieu gélosé standard homogène, forme un type caractéristique de colonies différentes en aspect. Celles-ci sont plus ou moins bombées, et leur forme plus ou moins définie.

Les différentes caractéristiques cultures des souches étudiées sont illustrées dans le tableau XII.

A partir des plants recueillis, nous avons pu extraire et purifier 10 isolats bactériens. Ces isolats forment en milieu YEMA des colonies visibles à l'œil nu après 2 à 8 jours d'incubation à 28°C, ce qui laisse indiquer que leur taux de croissance est très variable.

La fève et la luzerne sont classées parmi les espèces nodulées par les souches de rhizobia à croissance rapide, les colonies apparaissent trois à cinq jours après l'inoculation et ont un diamètre compris entre 3mm à 6mm et sont caractérisées par la forte production de gomme extracellulaire. Alors que pour les souches de rhizobia à croissance lente, leurs colonies ont un diamètre, qui dépasse rarement 1mm à 2mm après dix jours de croissance et elles produisent peu de gomme (Sprent, 2001).

Les colonies formées par nos souches sont circulaires, à bord régulier ou lobées et à élévation convexe. Elles sont toutes de texture homogène et de couleur blanche ou crème ou rosâtre. Aucune d'entre-elles n'a montré de pigmentation ou de fluorescence naturelle.

Elles présentent un aspect translucide et brillant. Ces derniers caractères étant en relation avec l'excrétion à l'extérieur des cellules de polysaccharides extracellulaires (exopolysaccharides ou EPS) responsable de l'aspect mucoïde des colonies de Rhizobia.

Dans l'ensemble, le soucier que nous avons constitué a présenté des caractéristiques coloniales homogènes, en accord avec les descriptions communément admises pour les rhizobia dans la littérature. La seule différence consistante observée lors de la procédure d'extraction et de purification des souches réside dans leur vitesse de croissance. En effet, certaines forment des colonies visibles à l'œil nu après seulement 2 à 3 jours d'incubation en milieu YAMA tandis que d'autres ne le font qu'après 7 à 8 jours d'incubation. Cette observation laisse indiquer que le soucier comporterait des rhizobia à croissance rapide et des rhizobia à croissance lente.

Tableau XII : Caractéristiques morphologiques des colonies des souches de rhizobia étudiées.

Souche	Forme	Elévation	Conteur	Couleur	Aspect des colonies
RF1	Circulaire	Convexe	Régulier	Crème	Translucide
RF2	Circulaire	Convexe	Régulier	Rose	Brillant
RF3	Circulaire	Convexe	Lobées	Crème	Translucide
RF4	Circulaire	Convexe	Régulier	Blanc crème	Translucide
RF5	Circulaire	Convexe	Régulier	Blanche	Translucide
RL1	Circulaire	Convexe	Régulier	Crème	Translucide
RL2	Circulaire	Convexe	Régulier	Blanc crème	Translucide
RL3	Circulaire	Convexe	Régulier	Rose	Translucide
RL4	Circulaire	Convexe	Lobées	Blanc crème	Brillant
RL5	Circulaire	Convexe	Régulier	Blanche	Brillant

6-2 Caractéristiques cellulaires (biochimiques)

Des observations microscopiques réalisées sur des cellules vivantes colorées au bleu de méthylène et des cellules fixées colorées par la technique de Gram, nous permis de vérifier que tous les isolats se représentent sous la forme de bacilles relativement courts et arrondis aux extrémités, tous mobiles et présentant une réaction Gram négatif (tableau XIII).

Tableau XIII : Caractéristiques biochimiques des souches de rhizobia testées.

Souche	Gram⁻	Mobilité
RF1	+	+
RF2	+	+
RF3	+	+
RF4	+	+
RF5	+	+
RL1	+	+
RL2	+	+
RL3	+	+
RL4	+	+
RL5	+	+

6-3 Caractéristiques physiologiques des souches isolées au laboratoire (Profil de réponse aux conditions physiologiques)

En milieu YEMA réparti en gélose profonde, toutes les souches prolifèrent abondamment en surface et d'une façon satisfaisante en profondeur. Ce qui indique que les souches testées sont aérobies strictes mais peuvent se contenter, si nécessaire, d'une faible pression partielle en oxygène. Ces résultats sont en accord avec le caractère d'aérobies strictes et microaérophiles qu'attribue la littérature au rhizobia (Davet, 1996).

6-3-1 Effet de la température sur la croissance des souches isolées

Les 10 souches étudiées montrent une prolifération nulle à 5°C, 10°C et 50°C, et une prolifération de 100 % aux température de 25°C et 30°C , ce qui indique que la microflore édaphique est de nature mésophile. Une proportion relativement faible des souches croit à 40°C et 45°C (tableau XIV).

Le comportement de nos souches aux températures est en accord avec la littérature. Comme toutes les bactéries du sol les rhizobia sont des organismes qui peuvent être inhibés par l'élévation ou la diminution de la température d'incubation (Jordan, 1984). Robert, (1976) a estimé que les rhizobia à croissance lente étaient beaucoup plus tolérants aux températures élevées que les rhizobia à croissance rapide.

Une adaptation à des températures élevées des souches de rhizobia pourrait être observée et serait liée au climat d'origine (étage bioclimatique d'origine).

Tableau XIV : Effet de la température sur la croissance des souches de rhizobia isolées

	T 5°C	T 10°C	T 15°C	T 20°C	T 25°C	T 30°C	T 35°C	T 40°C	T 45°C	T 50°C
RF1	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-
RF2	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
RF3	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
RF4	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
RF5	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
RL1	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-
RL2	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
RL3	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
RL4	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
RL5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-

6-3-2 Effet des pH sur la croissance des souches isolées

En ce qui concerne la tolérance à l'acidité et à l'alcalinité, nos souches ne montrent pas un comportement particulier. Comme pour les autres rhizobia leur croissance est fortement inhibée en milieu acide (pH5) et dans une moindre mesure en milieu alcalin (pH9) (Tableau XV).

Les souches de rhizobia issues de la luzerne semblent se distinguer des autres souches testées par une tolérance élevée à l'alcalinité. En effet, les 4 souches extraites des nodosités de cette légumineuse se sont révélées capables de proliférer à pH9.

Une bonne croissance à pH neutre a été constatée pour les souches testées de rhizobia ce qui indique qu'elles sont neutrophiles. Ce qui est en accord aux données de la littérature.

Tableau XV : Effet du PH sur la croissance des souches étudiées

	pH5	pH6	pH7	pH8	pH9
RF 1	-	-	+	+	+
RF 2	-	+	+	+	+
RF 3	-	-	+	+	-
RF 4	-	-	+	+	+
RF 5	-	-	+	+	-
RL 1	-	+	+	+	+
RL 2	-	-	+	+	+
RL 3	-	-	+	+	+
RL 4	-	-	+	+	-
RL 5	-	+	+	+	+

6-3-3 Effet du stress salin sur la croissance des souches isolées

La détermination de la concentration inhibitrice pour les cinq sels testés montre une différence de degrés de tolérance entre les souches de *Rhizobium leguminosarum* issues des plantules de la fève et les souches de *Sinorhizobium meliloti* issues des plantules de la luzerne; ces dernières semblent plus tolérantes à la salinité que celle issues de la fève (Annexe 3)

La souche RL3 présente une bonne tolérance à la salinité. Par contre, les souches RF3 et RF5 montrent une assez faible tolérance à la salinité. Il est souvent dit que les sols salins sélectionnent naturellement des souches plus tolérantes à la salinité (Berraho et *al.*, 2003).

L'analyse de tableau XVI a montré l'existence de trois groupes de sels selon leur pouvoir inhibiteur. Toutes les souches de rhizobia étudiées présentent une bonne tolérance aux sulfates de sodium (Na_2SO_4) et de potassium (K_2SO_4). 50 % d'entre elles continuent à croître convenablement dans un milieu de culture ou ces sels sont apportés séparément à une concentration de 2%. Contrairement, 80 % des souches sont complètement inhibées à une concentration de 0.1% de CaCl_2 . Les chlorures de sodium (NaCl) et de potassium (KCl) ont une action inhibitrice modérée; cependant, le NaCl est plus toxique du fait qu'apporté à la concentration de 1%, il provoque une inhibition de 80% des souches, alors que le KCl n'en inhibe que 30%.

Il semble que la sensibilité des souches de rhizobia à la salinité dépendrait de la nature chimique de sel. Le calcium (Ca) accompagné de chlore (Cl), entraîne une forte toxicité dès

la concentration de 0.1%. Par contre, le potassium (K) à une concentration de 1% et indépendamment de l'ion d'accompagnement, exerce une faible inhibition sur la croissance; alors que l'effet toxique de sodium (Na) ne se manifeste qu'en présence du chlore. Toutefois, à des concentrations plus élevées, les chlorures sont plus néfastes que les sulfates de sodium et de potassium. Contrairement à Amara & Miller (1986) et Brhade et *al.* (1996) qui ont montré que les chlorures et sulfates avaient le même effet inhibiteur sur la croissance de *R. meliloti*, *R. phaseoli* et *R. leguminosarum* *bv. viciae* respectivement, nos résultats concordent plutôt avec ceux de Elsheikh & Wood (1989).

L'inhibition de la croissance bactérienne par les sels, résulte de deux effets que peut présenter un stress salin, un effet ionique et un effet osmotique (Bohlool, 1982; Botsford, 1984).

Dans le cas de l'effet ionique, l'influence des sels sur la croissance est due aux effets que peuvent représenter les ions Na, Ca, K, CL, SO₄ fortement représentés dans le milieu, sur le métabolisme des bactéries, ces ions à certains seuils inhibent de nombreuses fonctions métaboliques par interaction de ces ions avec les macromolécules notamment les protéines et les acides nucléiques dont la structure peut être affectée par l'excès d'ions (Yancey, 1994).

Par ailleurs, l'enrichissement du milieu et/ou le cytoplasme en ions peut provoquer un déséquilibre électrolytique induisant une perturbation de la dynamique des échanges entre la cellule et le milieu (Yancey, 1994; Natarajan et *al.*, 1996).

Cette sélectivité de la membrane plasmique qui permet aux cellules de défier en permanence les lois physiques de la diffusion est cependant à l'origine de la deuxième manifestation de la salinité, l'effet osmotique. Du fait de la relative imperméabilité de la cellule aux ions, leur présence dans le milieu se traduit par augmentation de l'osmolarité de ce dernier par apport au cytoplasme. Cette augmentation de l'osmolarité du milieu génère un déséquilibre osmotique entre le compartiment cellulaire et l'extérieur. Ce déséquilibre provoque une sortie d'eau et une perte de turgescence de la cellule. Il s'en suit une réduction du volume cytoplasmique qui peut atteindre un niveau qui n'est plus compatible avec la division cellulaire (Natarajan et *al.*, 1996).

La croissance et la survie d'une souche bactérienne en présence d'une osmolarité croissante du milieu extérieur, nécessitent une stratégie adaptative pour que la bactérie maintienne une pression osmotique intracellulaire supérieure à celle du milieu extracellulaire. La réponse des micro-organismes aux variations de pression osmotique (=osmorégulation) se traduit généralement par une accumulation plus ou moins importante de solutés compatibles ou molécules organiques, dont le transport à travers la membrane cytoplasmique nécessite des

transporteurs spécifiques. Les principaux solutés compatibles rencontrés chez les bactéries sont certains acides aminés, les bétaines et divers glucides (Le Rudulier, 1993).

Tableau XVI : Comparaison des effets de différents sels sur la croissance des souches de rhizobia isolées. Les valeurs représentent le % des souches ayant montré une bonne croissance en présence de sel.

Concentration en %	NaCl	KCl	CaCl₂	K₂SO₄	Na₂SO₄
0.0	100	100	100	100	100
0.1	100	100	20	100	100
0.3	80	90	20	90	90
0.5	60	80	10	80	80
0.8	30	70	10	70	70
1.0	20	70	0	70	60
1.5	10	20	0	60	60
2.0	10	10	0	50	50

CONCLUSION

Dans ce mémoire, nous avons abordé quelques paramètres permettant d'étudier la symbiose à rhizobia chez la fève et la luzerne, dans la région de Biskra. Les deux légumineuses ont été choisies pour leur importance économique, socio-économique et écologique.

Nous avons utilisé, dans le cadre de cette étude des échantillons de sols recueillis à partir des 30 localités et nous avons testées une variété introduite et une population locale pour chaque légumineuse.

Ce travail qui a porté sur l'étude de la symbiose rhizobienne chez la fève et la luzerne dans la région de Ziban, bien qu'il s'agisse d'un axe de recherche qui n'est qu'à son début, a permis de dégager plusieurs points d'intérêt écologique et agronomique.

Les performances symbiotiques (biomasse sèche aérienne et racinaire, nombre et biomasse sèche nodulaire, taux et quantité de l'azote dans la partie aérienne) des plants examinés montrent des niveaux de susceptibilité différents à la microflore rhizobienne. Les sols des localités Djamorah, Ain Zatout et M'zeraa renfermeraient une microflore rhizobienne compétentes plus abondante et/ou plus diversifiée et qu'elles bénéficieraient des conditions édaphiques plus propices à la fixation symbiotique de l'azote.

Par ailleurs, nos résultats dans le cas de la fève, indiquent que le taux de nodulation enregistré chez la variété introduite Luze de otono est révélé supérieur à ceux enregistrés pour la population locale M'zeraa. Cette différence a été rapprochée de la promiscuité symbiotique de la variété introduite c'est-à-dire de leur capacité de contracter la symbiose avec un plus large panel de rhizobia, propriété qui leur permet de s'associer plus fréquemment avec des souches de rhizobia compétentes. Par contre, dans le cas de la luzerne, la population locale Baldia présente un taux de nodulation supérieur à ceux enregistrés pour la variété introduite Dista. La population locale ont coévolué avec la microflore rhizobienne indigène et ont fini par modifier / sélectionner des souches qui leurs sont aujourd'hui adaptées voir très spécifique.

L'évaluation de l'efficacité de la symbiose rhizobienne chez les deux légumineuses indique que la biomasse sèche aérienne et la quantité de l'azote accumulée dans la partie aérienne, dépend essentiellement de leur taux de nodulation et ce quelle que soit l'espèce et la localité considérée. Le taux de nodulation chez les deux légumineuses s'avère être, en absence de fertilisation azotée, un facteur limitant de la croissance végétale. La fixation symbiotique de l'azote peut contribuer à la nutrition azotée des plantes de la fève et de la luzerne dans des conditions favorable.

L'essai de corrélation entre la fixation de l'azote et quelques propriétés physico-chimiques des sols, montre qu'il existe une forte corrélation entre la fixation symbiotique de N₂ et les propriétés édaphiques. La salinité perturbe les processus physiologique de croissance, de développement et plus particulièrement celui de la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique. Par contre le phosphore favorise la symbiose rhizobienne.

Une collection de 10 souches pouvant induire la formation de nodosités sur les racines de la fève et de la luzerne, a été constituée après l'isolement des souches d'échantillons de sols provenant de différentes localités.

La caractérisation des souches de rhizobia associées aux deux légumineuses indique, que celles-ci sont nodulés par des rhizobia qui sont vraisemblablement différents.

La fixation symbiotique est un paramètre important qui s'inscrit dans le nouveau concept de l'agriculture durable, le potentiel biologique représenté par la symbiose rhizobia-légumineuses devrait être pris en considération dans la région de Biskra.

La restriction de la fixation symbiotique de l'azote imposé par les contraintes environnementales pourrait être surmontée par la sélection et la multiplication des variétés tolérantes. L'approche biologique, qui consiste à explorer la variabilité de la réponse des légumineuses à ces contraintes, fournirait les outils physiologiques ou biochimique utilisables pour le tri, des variétés résistantes (Saadallah et *al.*, 2003).

Au terme de cette modeste contribution et à travers les résultats obtenus, il apparaît souhaitable de poursuivre la recherche des variétés et des populations capables d'exprimer une forte fixation en présence des facteurs limitants. L'amélioration de la fixation symbiotique de l'azote peut s'avérer une approche efficace pour améliorer le rendement en grains chez la fève et en fourrage chez la luzerne dans la région de Biskra.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- A.N.A.T., 2002.** Schéma directeur des ressources en eau wilaya de Biskra: phase préliminaire. 100p.
- Adem L., 1974.** Etude du comportement des luzernes annuelles (écotypes locaux et populations étrangères) dans les régions de Sétif, Médéa, Tiaret et Alger. Mémoire Ing. INA. Alger. 95p.
- Alkama N., 2004.** Symbiose à rhizobia chez quelques légumineuses en Algérie: aspects microbiologiques et physiologiques. Mémoire. Magister. INA. Alger. 97p.
- Alkama N., Noureddine N.E., Haddadj A., Sadji H., Issad S., Amrani S., 2002.** La pratique de l'inoculation en agriculture et en foresterie : une biotechnologie à notre portée-communication orale présentée au 2^{ème} congrès de Biotechnologie. Tunisie.
- Allen O.N et Allen E.K., 1881.** The leguminosea: A Source Book of characteristics. Uses and Nodulation. Univ of Wisconsin Press. Pp 180-191.
- Amara D.S et Miller R.H., 1986.** Effect of moisture and salt stress on selected *rhizobium phaseoli* strains. MIRCEN J.. 2: 273-282.
- Amarger N., 2001.** Rhizobia in the Field. In: Sparks D.L. (Ed): Advances in Agronomy. Academic Press. 73: 109-136.
- Aouani M. E., Beck D.P., Drevon J.J., 2003.** Enquête sur la nodulation du pois chiche au nord de la Tunisie. In: Drevon J.J. et Sifi B. (Eds) Fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le Bassin méditerranéen. INRA. Paris. Les colloques n°100. pp 35-44.
- Bacha F. et Ounane., 2003.** Etude de l'effet du stress hydrique sur les activités des enzymes réductase et nitrogénase de la culture du pois chiche (*Cicer arietinum* L.). Recherche Agronomique. INRA. Algérie. pp 45-60.
- Bekki A., Trinchant J.C., Rigaud J., 1987.** Nitrogen fixation (C₂H₂ reduction) by Medicago nodules and bacteroids under sodium chloride stress. Physiol. Plant. 71: 61-67.
- Bentvelsen C.L.M., 1980.** Réponse des rendements à l'eau. Eds. Food & Agriculture Org. 235p.
- Bergum A.A., Leibovitch S., Migner P. et Zhang F. 2001.** Specific flavonoids induced nod gene expression and pre-activated nod genes of *Rhizobium leguminosarum* increased pea (*pisum sativum* L.) and lentil (*Lens culinaris* L.) nodulation in controlled growth chamber environment. J. Exp. Bot. Jul. 52: 137-143.
- Berner E.F et Berner R.A., 1996.** Global environment: water, air and geochemical cycles. Ed. Prentice Hall. New Jersey. 286p.
- Berraho E.B. Maatallah J., Filali-Maltouf A., 2003.** Diversité des souches de rhizobium ciceri isolées des régions arides du Maroc: Infectivité, efficacité et tolérance à la salinité. In: Drevon J.J et Sifi B. (Eds): Fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le Bassin méditerranéen. INRA. Paris. les Colloques n°100. pp 149-162.
- Bliefert C et Perraud R., 2001.** Chimie de l'environnement : Air, eau; Sols, déchets. Ed. De Boeck université. Paris. 496p.
- Bockman O.C., Kaarstad O., Lie O.H., Richard I., 1990.** Agriculture et fertilisation : les engrais- leur avenir. Ed. Norsk Hydro, Oslo, Norvège. 258p.
- Bohlool B, El Swaify S.A., Singleton P.W., 1982.** Effect of salinity on rhizobium growth and survival. Environ. Microbiol. 44: 884-890.
- Borget M., 1989.** Les légumineuses vivrières. Ed. Maisonneuve et Larose. Paris. 161p.
- Botsford J.I., 1984.** Osmoregulation in *Rhizobium meliloti*: inhibition of growth by salts. Arch. Microbiol. 137: 124-127.

- Boussalem S., 1987.** Etude d'un virus affect la fève en Algérie. Effet du virus sur la croissance et le rendement. Modification cytologique induite par le viru. Thes. Magist, Inst. Nat. Agro. Ell Harrach, p78.
- Boyardieu J., 1991.** Produire des grains oléagineux et protéagineux. Eds. TEC & DOC. Paris. 234p.
- Brahda F et le Rudulier D., 1995.** Osmorégulation chez les bactéries et chez rhizobium en particulier: rôle de la glycine-bétaine dans l'osmorégulation chez R.I. viciae. In: Drevon J.J (Ed): Facteurs Limitant la fixation symbiotique de l'azote dans le bassin Méditerranées. INRA. Paris. Les colloques n°77. pp 127-137.
- Brhada F., Le Rudulier D., 1995.** Osmorégulation chez les bactéries et chez Rhizobium en particulier: rote de la glycine bétaine dans l'osmorégulation chez *Rhizobium leguminosarum* bv. viciae. In: Drevon J.J. (Ed): Facteurs limitant la fixation d'azote dans la Bassin Méditerranéen. INRA. Paris. pp 127-137.
- Brockwell J., Bottomley P.J., Thies J.E., 1995.** Manipulation of rhizobia microflora for improving legume productivity and soil fertility: a critical assessment. Plant and Soill. 174: 143-180.
- Brumont F., 2008.** Prés et pâturages en Europe occidentale. Ed. Presses. Univ. Du Mirail. 292p.
- Camille M., 1980.** Fourrages. Ed. La maison rustique. Paris. 302p.
- Chambenoit C., Laurent F., Machet J.M., Sceurer O., 2002.** Fertilisation azotée de la pomme de terre : Guide pratique. Ed. RNRA. 128p.
- Chaux C et Foury C.L., 1994.** Production légumière : légumineuses potagères, légumes fruits. Ed. TEC et DOC. Lavoisier. 563p.
- Chou A.Y., Archdeacon J., Kado C.I., 1998.** Agrobacterium transcriptional regulator Ros is a prokaryotic zinc finger protein that regultats the plant oncogene ipt. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 95: 5293-5298.
- Cleyet-Marel J.C., 1992.** Protocole de prélèvement et conservation de nodosités récoltées sur des racines de légumineuses. In: Neyra M(Ed): Fichier technique de la fixation symbiotique de l'azote: légumineuse/ rhizobium. INRA. Rome. pp 55-56.
- Cordy H.D.L., 1981.** The systematic value of leguminous root nodules. In: Polhil R.M. et Raven P.H. (Eds): Advances in legume Systematic. Part 2. pp 657-669.
- Corby H.D.L., 1988.** Types of rhizobial nodules and their distribution among the leguminosae. Kirkia. 13: 53-123.
- Craig G.F., Atkin C.A., BELL D. T., 1999.** Effect of salinity on growth of four strains of rhizobium and their infectivity and effectiveness on two species of Acacia. Plant Soil. 133: 253-262.
- Dajoz R., 1970.** Précis d'écologie. Ed. Dunot. Paris. 434p.
- Davet P., 1996.** Vie microbienne du sol et production végétale. Ed. Quae. Paris. 383p.
- Deaker R., Roughley R.J., Kennedy I.R., 2004.** Legume seed inoculation technology. Soil Biology and Biochemistry. 36: 1275-1288.
- Delgado M.J., Ligerof., Lluch C., 1994.** Effects of salt stress on growth and nitrogen fixation by pea. Faba-bean, common bean and soybean plants. Soil Biol. Biochem. 26: 371-376.
- Delgado M.J., Bedmar E.J., Downie J.A., 1998.** Genes involved in the formation and assembly of rhizobial cytochromes and their role in symbiotic nitrogen fixation. Adv. Microb. Phsiol. 40: 191-231.
- Dilworth M.J., et Loneragan J.F., 1991.** An alternative nitrogenase is not expressed in molybdemun-deficiet legume root nodules. New Phytol. 118: 303-308.
- Dolery I., Pedallu C., Vanpeene. Bruhier S., 2003.** Réaménagement forestier des carriers de granulats. Ed. Quae. 319p.

- Domernach A.M. et Neyra M., 1992.** Estimation de l'activité fixatrice de l'azote: dosage de l'azote totale. In: Neyra M. (Ed): Fichier technique de la fixation symbiotique de l'azote: légumineuse/ rhizobium. FAO. Rome. pp 134-135.
- Domernach A.M. et Wery J., 1992.** Estimation de l'activité fixatrice d'azote : comparaison des méthodes. In: Neyra M (Ed): Fichier technique de la fixation symbiotique de l'azote: légumineuse/ rhizobium. INRA. Rome. pp 130-133.
- Dommergues Y et Mangenot F., 1970.** Ecologie microbienne du sol. Eds. Masson et C^{ie}. Paris. 796p.
- Dommergues Y.R. et Girgis M.G., 1993.** Symbioses fixatrice d'azote dans les milieux arides et salés: application aux Casuarinacées. In: Riedacker H., Dreyer E., Pafadnam C., Joly H., Bory G. (Eds): Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides. John Libbey Eurotext. pp 183-194.
- Dommergues Y., Duhoux E., Diem H.G., 1999.** Les arbres fixateurs de l'azote: caractéristiques fondamentales et rôle dans l'aménagement des écosystèmes méditerranéens et tropicaux avec référence particulier aux zones subhumides et arides. Ed. CIRAD, Editions Espaces, FAO, IR. Montpellier. France. 499p.
- Doré T., Le Bail M., Martin P., Ney B., Roger. Estrade J., 2006.** L'agronomie aujourd'hui. Ed. Quae. Paris. 367p.
- Dovel R.L., Vietor D.M., Weaver R.W., 1993.** Effects of media N content and rhizobial Strain on N₂ fixation and partitioning in leucaena Seedling. Range Manag. 15: 196-198.
- Downie J.A., 1998.** Function of rhizobia nodulation genes. In: Spaink H.P., Kondorosi A., Hooykas P.J.J (Eds): the Rhizobiaceae. pp 387-402.
- Downie J.A. et Walker P.A., 1999.** Plant responses to nodulation factors. Curr. Opin. Plant Biol. 2: 483-489.
- Downie J.A., 2005.** Legume Haemoglobins: Symbiotic Nitrogen Fixation Needs Bloody Nodules. Current Biology. 15: 196-198.
- Drevon J.J., 1992.** Importance et place des différents systèmes fixateurs de l'azote atmosphérique. In: Neyra M. (Ed): Fichier technique de la fixation symbiotique de l'azote: légumineuse/ rhizobium. INRA. Rome. pp 5-6.
- Drevon J.J., Deransart C., Irekti H., Payre H., Roy G., Serraj R., 1995.** la salinité (NaCl) abaisse la conductance des nodosités de légumineuse à la diffusion de l'oxygène. In: Drevon J.J., (Ed): Facteurs limitant la fixation symbiotique de l'azote dans le bassin Méditerranéen. INRA. Paris. Les colloques n°77: 73-84.
- Drevon J.J., Boyer G., Metral R., Payre H., Pouliquen R., 2003.** Enquête agronomique sur la nodulation du haricot en lauragais. In: Drevon J.J. et Sifi B. (Eds): Fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans la Bassin méditerranéen. INRA. Paris. Colloques, n°100: 59-68.
- Dubey R.S., Pessarkli M., 2001.** Physiological Mechanisms of Nitrogen Absorption and Assimilation in Plant Under Stressful Condition. In: Pessarakli M. (Ed): Handbook of Plant and Crop Physiology. Marcel Dekker. New York. pp 937-655.
- Dupuy Y. et Nougier P. 2005.** Les micro-organismes : du gène à la biosphère. Ed. Ellipses. Paris. 256p.
- Elli M., Zink R., Rytz A., 2000.** Iron requirement of lactobacillus spp. in completely chemically defined growth media. J. Appl. Microbiol. 88: 665-703.
- Elmerich C., 1997.** Nitrogénase: aspect biochimiques, moléculaires et génétiques. In: Morot-Gaudry J.F. (Ed): assimilation de l'azote chez les plant. Ed. INRA. Paris. pp 163-177.
- Elsheikh E.A.E et Wood., 1989.** Reponse of Chick pea and soybean rhizobia to salt: osmotic and specific ion effects of salts. Soil Biol. Biochem. 7 : 889-895.
- Fachmann et Kraut, 2006.** L'intérêt de la fève. Ed. Bourde. Paris. 74p.

- Ficher H.M., 1994.** Genetic regulation of nitrogen fixation in rhizobia. *Microbiol. Rev.* 58: 352-286.
- Gage D.J., 2004.** Infection and invasion of roots by symbiotic: nitrogen-fixing rhizobia during nodulation of temperate legumes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* 68: 280-300.
- Gallais A. et Bannerot H., 1992.** Amélioration des espèces végétales cultivées. Ed. INRA. Paris. 768p.
- Gemell L.G., Hartley E.J., Herridge D.F., 2005.** Point-of-sale evaluation of preinoculated and custom-inoculated pasture legume seed. *Australian Journal of Agricultural Research.* 45: 161-169.
- Génier G. Guy P., Prosperi J.M., 1992.** Les luzernes. In: Gallais A et Bannerot H (Eds): amélioration des espèces végétales cultivées: objectifs et critères de sélection. Ed. Quae. 768p.
- Giller K.E. et Wilson K.J., 1991.** Nitrogen fixation in tropical cropping systems. Wallingford. U.K: CAB International
- Giller K.E., Mc Donagh J.F., Toomsan B., Limpinuntana V., Cook H.F., Lee H.C., 1995.** Legumes in the cropping systems of North-East Thailand. Pro ceding of the Third. International Conference on Sustainable Agriculture. University of London. UX. Whye College Press. Ashford.
- Graham P.H., 1992.** Stress tolerance in rhizobium and Bradyrhizobium and nodulation under adverse soil conditions. *Canadian Journal of Microbiology.* 38: 475-484.
- Graham P.H., 2007.** Ecology of the root- nodule bacteria of legumen. In: Dilworth M.J. (Ed): Leguminous nitrogen-fixing symbioses. Ed. Springer. Dordrecht. 7: 23-58.
- Graham P.H., 2008.** Ecologie of the root-nodule bacteria of legumes. In: Dilworth M.J, James E.K., Sprent J.,L., Newton W.E.(Eds): Nitrogen-fixing leguminous symbioses. Springer, 23-43.
- Gu J., Wang E.T. Chen W.X. 2007.** Genetic diversity of rhizobia associated with Desmodium species grown in China. *Lett. Appl. Microbiol.* 44: 286- 292.
- Gueye M., 1983.** *Vigna unguiculata* en symbiose avec rhizobium et *Glomus mosseae*. Ed. ORSTOM. Paris. 145p.
- Hall A., Clark N., 1995.** Coping with change, complexity and diversity in agriculture: the case of rhizobium inoculants in thailand. *World Development.* 23: 1601- 1614.
- Hannachi S et Bekkari A., 1994.** Les Zibans dynamique et diversité. Thèse. DEA. Ins. Nat. De formation supérieure en agronomie Saharienne. Ourgla. 43p.
- Heller R., Esnault R., Lance C, 2000.** Physiologie végétale : Développement. Ed. Dunod. Paris. 580p.
- Herridge D. F., 2008.** Inoculation technology for legumes. In: Dilworth M.J., James E.K., Sprent J.I., Newton W.E. (Eds): Nitrogen-fixing leguminous symbioses. Eds. Springer Science et Business Media. pp 77-115.
- Hireche Y., 2006.** Réponse de la luzerne (*Medicago Sativa* L) au stress hydrique et à la profondeur de semis. Mémoire. Magister. Université Batna. 79p.
- Hirsch A.M. 1992.** Developmental biology of legume nodulation. *New Phytol.* 122: 211-237.
- Hirsh M.M. Lum M.R., Downie J.A., 2001.** What makes the rhizobia. Legume symbiosis so special?. *Plant Physiol.* 127: 1-9.
- Hofeez F.Y., Aslam Z., Malik K.A., 1988.** Effect of salinity and inoculation on growth, nitrogen fixation and nutrient uptake of *Vigna radiate* (L.) Wielczek. *Plant Soil.* 106: 3-8.
- Hopkins W.G., 2003.** Physiologie végétale. Ed. de Boeck université. Paris. 514p.
- Huhevet J., Keiter E.A., Keiter R., 1996.** Chimie inorganique. Ed. De Boeck université. Paris. 1072p.

- Hungria M., Vargas M.A.T., 2000.** Environmental factors affecting Nitrogen fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. *Field Crops Research*. 65: 151-164.
- I.N.R.A.A., 2006.** Gestion participative de la lutte biologique contre les ravageurs du palmier dattier dans les oasis Algériennes. Unité I.N.R.A de Biskra. 53p.
- Irekti H. et Drevon J.J., 2003.** Acide abscissique et conductance à la diffusion de l'oxygène dans les nodosités de haricot soumises à un choc salin. In: Drevon J.J., et Sifi B. (Eds): Fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le Bassin méditerranéen. INRA. PARIS; Les Colleques, n°100. pp 371-380.
- Isreal D.W., 1987.** Investigation of the role of phosphorus in symbiotic dinitrogen fixation. *Plant Physiol*. 84: 835-840.
- Jeder H., Akrimi M., Zouaghi M., De layudie P., Gillis M., Zaafouri M.S., 2003.** Diversité des rhizobia associés aux légumineuses pastorales des régions arides de la Tunisie. In: Drevon J.J. et Sifi B. (Eds): Fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le Bassin méditerranéen. INRA. Paris. Les colloques n°100. 163-172.
- Jordan D.C., 1984.** Family III: Rhizobiaceae. In: Krieg N.R. et Holt J.C (Eds): *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Williams et Wilkins. Baltimore. USA. pp 234-244.
- Kassem M., Capellanu A., Gounot A.M., 1985.** Effets du chlorure de sodium sur la croissance in vitro: L'infectivité et l'efficience de *Rhizobium meliloti*. *MIRENJ*. 1: 63-75.
- Khadiri M., Pliego L., Soussi M., Ocana A., Lluh C., 2003.** Assimilation de l'ammonium et métabolisme des uréides chez *Phaseolus vulgaris*: effet de la contrainte saline. In: Drevon J.J. et Sifi B.(Eds): fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le Bassin méditerranées. INRA. Paris. Les Colleques. N°100. pp 303-312.
- Khan M.K. et Yoshida A., 1994.** Nitrogen fixation in peanut determined by acetylen reduction method and ¹⁵N-isotope dilution technique. *Soil Science and Plant Nutrition*. 40(2): 283-291.
- Khechai S., 2001.** Contribution à l'étude de comportement hydrophysique des sols du périmètre irrigué de L'I.D.A.S, dans la plaine de l'Outaya (Biskra). Thèse. Magister. Batna. 178p.
- Kichou T. et Sahraoui H., 2001.** Effet de la température sur la fixation et L'assimilation de l'azote chez le pois chiche. *Céréaliculture*. N°36. Ed. A.C.T.E.S Rabat. pp 37-43.
- Kouzmine Y., 2003.** L'espace saharien Algérien, dynamique démographiques L'Homme et de la Société. Institut de Géographie. 201p.
- Krichnan H.B. et Bennett J.O., 2007.** Rhizobia that are important for nodulation. In: Gnamanicam S.S. (Ed): *Plant-Associated Bacteria*. Springer. pp 25-75.
- Kvien C.S., Ham G.E., Lambert J.W., 1981.** Recovery of introduced *Rhizobium Japonicwn* Strains by Soybean Genotypes. *Agron. J*. 74: 900-905.
- La pevronie A., 1982.** Les productions fourragères méditerranéennes. Eds. Maisonneuve & Larose. 445p.
- Lawes D.A., Bond D.A., Poulsem M.H., 1983.** Classification, Origine, Breeding methods and objectives, the Fabae bean. Eds. Hebbethwaite, Betherworth, London. pp 23-74.
- Lazali M., 2009.** Etude de la symbiose à rhizobium chez l'arachide (*Arachis hypogaea* L.) cultivée sous contrainte hydrique: aspects morfo-physiologique et agronomiques. Thèse de Magister. INA. El-Harrach. Alger. 72p.
- Le Clech B., 1999.** Production végétales grandes cultures. Ed. Synthèse Agricole. Paris. 410p.
- Le Rudulier D., 1993.** L'osmorégulation chez les bactéries : aspects physiologiques et génétiques. *Bull. Soc. Fr. Microbiol*. 8 : 167-169.
- Leary J.K., Singleton P.W., Scowcroft P.G. Borthakur D., 2006.** Symbiotic diversity in the cosmopolitan genus *Acacia*. *Symbiosis*. 41: 107-117.

- Lebbida F., 2009.** Caractérisation des rhizobia de quelques acacias d'Algérie en vue de la production d'inoculum pour la bactérisation des acacias en pépinières. Mémoire. Magister. INA. Alger. 82p.
- Leguen J et Duc G., 1992.** La fève : amélioration des espèces végétales cultivées; objectifs et variétés de sélection. Ed. I.N.R.A. Paris. pp : 189-103.
- Lengeter J.W., Drews G., Schlegel H.G., 1999.** Biology of the Prokaryotes. ED. Georg thieme Verlag. 955p.
- Léveque C et Mounolou J.C., 2001.** Biodiversité : Dynamique biologique et conservation. Ed. Dunod. Paris. 248p.
- Léveque C., 2001.** Ecologie de l'écosystème à la biosphère. Ed. Dunod. Paris. 326p.
- L'taief B., Sifi B., Zaman-Alloh M., Hajji M., Lachaal M., 2009.** Effets de la fertilisation azotée; de l'inoculation par *Rhizobium* sp. Et du régime des pluies sur la production de la biomasse et la teneur en azote du pois chiche. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 13(4): 537-544.
- Luttge G., Pienaar B.J., Braune K, Perrino P., 1994.** Collecting with Vigna in Nata and Transvaal (South Africa). Plant Genetic Ressources Newsletter. pp. 21-23.
- Messaili B., 1995.** Systématique des spermaphytes. Ed. Office de publication universitaires. Alger. 91p.
- Maatougui M.E.H., 1996.** Situation de la culture des fèves en Algérie et perspectives de relance. Céréaliculture, numéro spéciale Fève. ITGC. El Harrach. pp 6-15.
- Maatougui M.E.H., 1997.** Situation de la culture des fèves en Algérie et principales contraintes. Céréaliculture, numéro spécial fève. Ed. ACTES Rabat. pp 6-15.
- Machieix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. Ed. PPUP presses. 192p.
- Madigan M et Martinko, 2007.** Biologie des micro-organismes. Ed. Pearson. Paris. 1047p.
- Mafongoya P.L., Giller K.E., Odee D., Gathumbi S., Ndufa S.K., Sitompui S.M., 2004.** Benefiting from N₂-fixation and Managing rhizobia. In: Noordwijk M.V., Cadisch G., Ong C.K. (Eds): Below-ground interaction in tropical agro ecosystems: concepts and models with multiple plant components. CARI. pp 227-241.
- Maier R.M., Pepper I.L., Gerba C., 2009.** Environmental microbiology. Ed. Academic Press. 598p.
- Mandimba G. R. et Djondo F., 1996.** Nodulation and yield of *Arachis hypogaeae* L. as affected by soil management in Congo. Biological Agriculture and Horticulture . 12(4): 339-351.
- Mantaner A., 2000.** Overview and case studies on biological nitrogen fixation: perspectives and Limitations. In FAO Report. pp 1-11.
- Mathier C. et Pieltain F., 2003.** Analyse chimique des sols: méthodes choisies. Ed. TEC & Doc. Paris. 387p.
- Mauries M., 2003.** Luzerne : culture, récolte, conservation, utilisation. Ed. France Agricole. Paris. 240p.
- Mckay I.A. et Djordjevic M.A., 1993.** Production and excretion of Nod metabolites by *Rhizobium Leguminosarum* bv. *Trifolii* are disrupted by the same environmental factors that reduce nodulation in the field. App Environ Microbiol. 59: 385-392.
- Ministère de l'hydraulique., 1980.** Notice explicative de la carte hydrogéologique de Biskra. 31p.
- Morel R., 1996.** Les sols cultivés. Ed. TEC & DOC. Paris. 389p.
- Morot-Gaudry J.F., 1998.** Sources et cycle de l'azote. In : Morot-Gaudry J.F. (Ed): assimilation de l'azote chez les plantes aspects physiologique, biochimique et moléculaire. Quae, INRA Paris. pp 21-33.

- Mouafek A., 2006.** L'effet de la salinité sur la nodulation chez la fève "*Vicia faba* L.". Mémoire d'Ingénieur. Université Biskra. 40p.
- Munro D. B., et Small E., 1997.** Les légumes du Canada. Ed. NRC Research Press. 436p.
- Niebel A., Gressent F., Bono J., 1999.** Recent advances in the study of nod factor perception and transduction. *Biochimica* 81: 669-674.
- Novikova N.I., 1994.** Numerical taxonomy of rhizobium strains from legumes of the temperate zone. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 44: 734-737.
- Obaton M., Berger A., Junhu L., Fournier C., Panne F., Selles G., 1994.** Influence du déficit hydrique sur la nutrition azotée du soja (*Glycine max* L.). In: Drevon J.J. (Ed): Facteurs limitant la fixation symbiotique de l'azote dans le bassin méditerranéen. INRA. Paris. Colloque N°77. pp 31-48.
- O'Brian M.R., 1996.** Heme synthesis in the rhizobium-legume symbiosis: a palette for bacterial and eukaryotic pigments. *J. Bacteriol.* 178: 2471-2478.
- Odaton M., 1992.** Généralités sur la symbiose fixatrice de l'azote rhizobium-légumineuses. In: Neyra M (Ed): Fichier technique de la fixation symbiotique de l'azote légumineuse/ rhizobium. Ed. FAO-Rome. pp 7-12.
- O'Hara G.W., Howieson J.G., Graham P.H., 2002.** Nitrogen fixation and Agricultural Practice. In: Leigh G.J (Ed): Nitrogen fixation at the millenium. Elsevier. pp 391-410.
- Olofintoye J.A., 1986.** Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) response to different levels of phosphorous and nitrogen in the Guinea Savana of Nigera. *Philippine. Agriculturalist.* 69(3): 411-418.
- O'Tool P., Ganalane D.G., Farrell E.P., 1991.** Effects of phosphate fertilizer on biomass production and N₂ (C₂H₂) fixation by pot-grown *Ulex gallii* Planchon in a forest soil. *Biol. Fertil. Soils.* 12: 177-181.
- Ott T., Van Donden J.T., Gunther C., Krusell L., Desbrosses G., Vigeolas H., Bock V., Czechowski J., Geigenberger P., Udvardi M.K., 2005.** Symbiotic leghemoglobins are crucial for nitrogen fixation in legume root nodules but not for general plant growth and development. *Curr. Biol.* 15: 531-535.
- Ounane S.M., Irekti H., Bacha F., 2003.** Effet du déficit hydrique sur la fixation de l'azote et la biomasse chez le pois chiche (*Cicer arietinum*) inoculé avec différentes souche de *Mesorhizobium ciceri*. In: Drevon J.J. et Sifi B. (Eds) : Fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le Bassin méditerranée. INRA. Paris. Les Colloques, n°100. pp 69-80.
- Panagiota M., Kutharima P., Bisseling T., 1995.** Symbiotic Nitrogen fixation. *The Plant cell.* 7: 869-885.
- Pariniske M., 2000.** Intracellular accommodation of microbes by plants: A common developmental program for symbiosis and disease?. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 3: 320-328.
- Paul S., 1999.** Bactériologie. Ed. INRA. Paris . 414p.
- Pedro G., 2007.** Cycles biogéochimiques et écosystèmes continentaux. Ed. EDP Science. 427p.
- Pelmont J., 2005.** Biodégradations et métabolismes : les bactérie pour les technologie de l'environnement. Ed. EDP Science. 798p.
- Perret X., Staehelin C., Broughton W.J., 2000.** Molecular basis of symbiotic promiscuity. *Microbiol. Molec. Biol. Rev.* 64: 180-201.
- Perry J.J., staley J.J., Lory S., 2004.** Microbiologie : Cours et questions de révision. Ed. Dunod. Paris. 891p.
- Pliogo L. Khadri M., Soussi M., Ocana A., Lluch C., 2003.** Métabolisme du carbone dans les nodosités de *Phaseolus vulgaris* var. Coco en conditions de Stress Salin. In: Drevon J.J. et Sifi B. (Eds): Fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le Bassin méditerranées. INRA. Paris. Les Colleques, n°100. pp 313-320.

- Posey, J.E. et Gherardini F.C., 2000.** lack of a role for iron in the lyme disease pathogen. *Science* 288: 1651-1653.
- Postagat J.R., 1982.** The fundamentals of nitrogen fixation. Ed. Cambridge University Press. 252p.
- Pousset J., 2002.** Engrais vert et fertilité des sols. Ed. France. Agricole. Paris. 303p.
- Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., 2003.** Microbiologie. Ed. De Boeck université. 1137p.
- Prosperi J.M., Guy P., Genier G. Angervain M., 1995.** Ressources génétiques des plantes fourragères et à gazon. Ed. INRA. Paris. 320p.
- Ramade F., 2003.** Elément d'écologie : Ecologie fondamentale. Ed. Dunod. Paris. 674p.
- Ramos J et Bisseling T., 2004.** Symbiotic nitrogen fixation. In: Amancio S., Stulen (Eds). Nitrogen Acquisition and Assimilation in Higher Plants. *Journal of Plant Physiology*. 161: 1189-1202.
- Rasanen L., 2002.** Biotic and abiotic factors influencing the development of N₂- fixing symbioses between rhizobia and the woody legumes *Acacia* and *Prosopis*. *Dissertations Biocentri Viikki Universitatis Helsingiensis*. pp 27-41.
- Raven P.H., Evert R.F., Eichlorn S., 2003.** Biologie végétale. Ed. De Boeck université. Paris. 968p.
- Reddell P, 1993** Soil constraints to the growth of nitrogen-fixing trees in tropical environment. In: Subba Rao N.S., Rodriguez-Barrueco C. (Eds): *Symbioses in nitrogen-fixing trees*. Oxford & IBH. New Delhi. pp 65-83.
- Reddy T.Y., Reddy V.R., Anbumozhi V., 2003.** Physiological responses of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) to drought stress and its amelioration: a critical review. *Plant Growth Regulation*. 41: 75-88.
- Remini L., 1997.** Etude comparative de la faune de deux palmiers l'une moderne et l'autre traditionnelle dans la région de Ain Ben Noui Biskra. *Mém. Ing. INA El Harrach*, 133p.
- Ribet J., 1995.** Influence de la carence en phosphore sur l'activité nitrogénase, la respiration et la régulation de la diffusion de l'oxygène dans les nodosités chez *Glycine max* et *Acacia mangium* en symbiose avec *Bradyrhizobium*. Thèse de Spécialité. Montpellier. France. 120p.
- Ribet J., Drevon J.J., 1996.** The phosphorus requirement of N₂ fixing and urea- fed *Acacia mangium*. *New Phytol*. 132: 383-390.
- Ricklefs et Miller, 2005.** Ecologie. Ed. De Boeck université. Paris. 858p.
- Ridge W.R. 1992.** A model of legume root hair growth and rhizobium infection. *Symbiosis*. 14: 359-373.
- Robert F.M., 1976.** Characterization of rhizobia associated with horsbean (*Vicia faba* L. Var. Major) in Morocco. These. Master of science. University of Minnesota. USA. 151p.
- Robert M., 1996.** Le sol : interface dans l'environnement ressource pour le développement. Ed. Masson. Paris. 244p.
- Rose M.R. et Mueller L.D., 2006.** Evolution and ecology of the organism. Ed. Pearson. 693p.
- Rupela O. P et Dart P.J., 1980.** Research on symbiotic nitrogen fixation by chickpea at ICRISAT. In: Proceedings of the international workshop on chickpea improvement. ICRISAT. Hyderabad. Andra Pradesh. India.
- Rychter A.M., Randall D.D., 1994.** The effect of phosphate deficiency on carbohydrate metabolism in bean roots. *Physiol. Plant*. 91: 383-388.
- Saad M.M., Broughton W.J., Deakin W.J., 2006.** Role of Proteins Secreted by Rhizobia in Symbiotic Interaction with leguminous Roots. In: Barbara J., Schulz E. Christine J., Boyle C., Sieber J.N. (Eds): *Microbial root endophytes*. Springer. pp 280-291.
- Saadallah K., Abdelly C., Drevon J.J. 2003.** Fixation biologique de l'azote en conditions de salinité et de déficience en phosphore chez deux variétés de haricot: Coco blanc sensible et

- BAT 477 tolérant. In: Drevon J.J. et Sifi B. (Eds): Fixation symbiotique de L'azote et développement durable dans le Bassin méditerranéen. INRA. Paris. Les Colleques, n°100. pp 203-216.
- Sadiki M. et Rabin K., 2003.** Sélection du pois chiche pour la tolérance de la fixation symbiotique de l'azote au sel. In: Drevon J.J. et Sifi B. (Eds): Fixation Symbiotique de l'azote et développement durable dans le Bassin méditerranéen. INRA. Paris. Colleques, n°100. pp 233-244.
- Sadowsky M.J., et Graham P.H., 2006.** Root and stem nodule bacteria of legumes. In: Dworkin M et Falkou S. (Eds): the prokaryotes: ecophysiology and biochemistry. Springer. pp 817-841.
- Sana A., 2003.** Inventaire des adventices des cultures dans la région de Biskra. Ed. S.R.P.V/ I.M.P.V. 27p.
- Sangakkara U.R., Hartwing U.A., Nosberger J., 1996.** Soil moisture and potassium affect the performance of symbiotic nitrogen fixation in faba bean and common bean. *Plant and Soil*. 184: 123-130.
- Schultze M., Kondorosi E., Rater P., Buiré M., Kondorosi A., 1994.** Cell and molecular biology of rhizobium-plant interactions. *Int. Rev Cytol*. 156: 1-75.
- Serraj R., Fleurat L.P., Jaillard B., Drevon J.J., 1995.** Structural changes in the inner-cortex of soybean root-nodules are induced by short-term exposure to high salt or oxygen content. *Plant Cell Environ*. 18: 455-462.
- Serraj R., Roy G., Drevon J.J., 1994.** Salt stress induces a decrease in the oxygen uptake of soybean nodules and their permeability to oxygen diffusion. *Physiol. Plant*. 91: 161-168.
- Serraj R., Vasquez D.H., Drevon J.J., 1998.** Effects of Salt Stress on nitrogen fixation, oxygen diffusion and ion distribution in soybean. Common bean and alfalfa. *J. Plant Nutr*. 21: 475-488.
- Serraj R., Sinclair T.R., Purcell L. C., 1999.** Symbiotic nitrogen fixation response to drought. *Journal of Experimental Botany*. 50: 143- 155.
- Skerman P.J., 1982.** Les Légumineuses fourragées tropicales. Ed. FAO. Rome. 666p.
- Skorpil P. et Broughton W.J., 2005.** Molecular interaction between rhizobium and legumes. In: Overmann J. (Ed): *Molecular basis of symbiosis*. Springer. 41: 115-125.
- Smibert R.M. et Krieg N.R. 1984.** General characterization. In: Gerhardt P. (Ed): *Manual of methods for general bacteriology*. American Society of Microbiology. Washington. USA. pp 409-443.
- Soil Survey Staff., 1996.** Keys to soil taxonomy. USDA. SCS. Agri. Hondb. U. S. GOV. Washington. D.C.
- Soltner D., 1999.** Les grandes productions végétales. 19^{ème} édition. Science et techniques agricoles. 464p.
- Soltner D., 2005.** Les bases de la production végétale. Ed. Collection sciences et technique agricoles. 304p.
- Sprent J.I., 2001.** Nodulation in legumes. Dickerson (Eds). Royal botanical garden. Kew. united Kingdom. 364p.
- Stewart P., 1969.** Un nouveau climagramme pour l'Algérie et son application au barrage Vert. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Mord*. 65: 1-2.
- Streeter J.G., 1991.** Transport and metabolism of carbon and nitrogen in legume nodule. *Adv. Bot. Res*. 18: 129-187.
- Streeter J.G., 1991.** Transport and metabolism of carbon and nitrogen in legume nodules. *Adv. Bot. Res*. 18: 129-187.
- Tang C., Hisinger P., Jaillard B., Rengel Z., Drevon J J., 2001.** Effect of phosphorus deficiency on the growth, symbiotic N₂ fixation and proton release by two bean (*Phaseolus vulgaris*) genotypes. *Agronomie*. 21: 683-689.

- Tavernier R., Van Wambek A., 1976.** Détermination du régime hydrique des sols d'après Newhall. Ann. INA. El Harrach. Vol VI n° 2, pp 5- 13.
- Thrall P.H., Slattery J.F., Broadhurst L.M., Bickford S., 2007.** Geographic patterns of symbiont abundance and adaptation in native Australian Acacia-rhizobia interactions. *J. Ecol.* 95: 110-112.
- Tibaoui G. et Zouaghi M., 2003.** Influence des fertilisations phosphatées et soufrées sur la production de légumineuses fourragères : *Hedysarum coronarium* et *Trifolium alexandrinum*. In: Drevon J.J. et Sifi B. (Eds): fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le bassin méditerranéen. ANRA. Paris. les colloques, n°100. pp 101-109.
- Tortora G.J., Funke B.R., Case C.L., 2003.** Introduction à la microbiologie. Ed. Renouveau Pédagogique Inc. 945p.
- Trinchant J.C., Drevon J.J., Rigaud. J., 1998.** Fixation symbiotique de l'azote. In: Morot-Gaudry (Ed): assimilation de l'azote chez les plantes; aspect physiologique, biochimique et moléculaire. Eds. Quae, INRA. pp 133-145.
- Van Gestel M., Merckx R., Vlassak K., 1993.** Microbial biomass responses to soil drying and rewetting: the fate of fast and slow growing microorganisms in soil from different climates. *Soil Biology and Biochemistry.* 12: 109-123.
- Velagaleti R.R., Morsh S.,Kramer D., 1990.** Genotypic differences in growth and nitrogen fixation among soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) cultivars grown under salt stress. *Trop. Agric.* 67: 169-177.
- Vilain M., 1997.** La production végétale : les composantes de la production. Ed. TEC et DOC. 478p.
- Vincent J.M., 1970.** A manual for the practical study of the root nodule bacteria. IBP handbook n°15. Blackwell Sci. Publ. Oxford. 164p.
- Viprey V., Perret X., Broughton W.J., 2000.** Host plant invasion by rhizobia. In: Oelshlaeger A. et Hacker D.E. (Eds): Bacterial invasion into Eukaryotic cells. Kluwer Academic and Plenum publishers. New York. pp: 213-285.
- Waterer J.G., Vessey J.K., Raper C.D., 1992.** Stimulation of nodulation in field peas (*Pisum sativum*) by low concentration of ammonium in hydroponic culture . *Plant. Physiol.* 86: 215- 220.
- Wekeford T., 2004.** Aux origines de la vie : Quand L'homme et le microbe s'appriivoisent. Ed. De Boeck université. Paris. 128p.
- Werner D., 2007.** Molecular biology and ecology of the rhizobia. Legume Symbiosis. In: Pinton R., Varanini Z., Nannipieri P (Eds) the rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil-plant interface. CRC Press. pp 237-259.
- Yancey P.H., 1994.** Compatible and contracting solutes. In: Strange. K (Ed): Cellular and molecular physiology of cell volume regulation. CRC Press. Boca Raton. USA. pp 81-109.

ANNEXES

Annexe 1

Tableau 1 : Caractéristiques physico-chimiques des sols testés (CE en ds/m, les sels solubles; Na, Ca, Mg, K, Cl, SO₄, HCO₃ en meq/l et P₂O₅ en ppm).

Localités	SG %	SF%	L%	A%	pH	CE	Na	Ca	Mg	k	Cl	SO ₄	HCO ₃	P ₂ O ₅	N%
Biskra	70.17	20.39	6.37	3.05	7.96	2.87	15.36	9.2	3.27	0.8	15	11.49	2.1	98.15	0.112
El outaya	73.71	17.81	4.35	3.92	8.06	2.91	14.91	6.87	6.12	1.1	14	12.83	2.5	112.48	0.098
El kantara	54.41	11.24	20.25	14.06	7.92	2.29	6.27	9.82	4.51	2.38	10	9.81	3	125.17	0.126
Branis	78.16	11.34	3.38	3.09	7.76	3.26	13.86	9.7	5.37	3.8	17	11.53	4	117.73	0.105
Djamorah	60.71	24.69	9.46	5.11	8.13	0.55	1.7	1.8	121	0.9	3	1.6	1	277.08	0.145
Ain zaatout	69.1	20.32	6.37	4.18	8.1	0.45	1.85	1.2	1.01	0.5	3	1.01	0.9	187.73	0.144
Sidi okba	66.98	24.09	5.68	3.22	8.2	1.65	6.65	6.03	3.01	1	9	4.85	1.75	138.9	0.084
Chetma	59.45	30.56	7.35	2.61	7.98	2.77	13.43	8.4	4.15	1.7	14	11.38	2.1	107.94	0.196
M'chouchche	78.77	11.55	5.48	4.17	8.13	2.41	5.69	11.35	5.05	2	12	9.08	2.25	119.17	0.056
El haouch	38.27	37.21	15.75	8.75	7.99	1.36	6.14	3.98	2.54	0.8	8	4.07	1.5	130.9	0.028
Ain naga	59.01	32.52	6.12	2.33	7.8	2.42	12.7	6.85	3.12	1.5	9	13.86	1.75	123.89	0.084
M'zeraa	31.32	43.54	17.29	7.81	8.06	1.07	3.98	2.84	2.86	0.7	5	3.91	1.5	145.87	0.112
Zeribet oued	54.17	33.65	8.37	3.8	7.6	1.8	7.64	5.96	3.41	0.8	9	8.04	1.1	126.9	0.14
El fridh	54.06	22.29	10.83	4.78	7.77	4.58	25	17.07	2.78	4	24	17.35	4.5	44.96	0.124
Khanga	40.04	42.03	14.54	3.35	8.33	0.7	3.24	3.15	0.4	0.3	4	1.73	1.25	73.18	0.084
Tolga	19.81	50.29	13.38	6.43	8.04	4.1	21.13	13.07	5.04	1.9	20	18.01	3.1	61.33	0.112
Oumache	42.67	41.99	12.19	3.1	7.95	4.26	22.07	13.01	6.12	1.5	21	17.98	3.25	76.02	0.144
El hadjeb	18.44	68.13	9.59	3.81	8.1	4.15	20.04	15.1	5.86	0.5	22	16.42	4.1	49.35	0.07
Bouchagroun	22.54	61.16	13.66	2.6	8.02	3.15	7.44	16.77	5.86	0.5	16	13.45	2	94.95	0.056
Lichana	30.88	46.71	18.25	4.11	7.82	3.19	9.67	15.9	5.91	0.4	16	13.85	2.1	63	0.14
Bordj	40.42	42.31	14.53	2.71	8.37	4.35	21.34	12.45	7.15	2.8	21	18.35	4.1	65.36	0.072
Mlili	12.38	68.27	15.76	3.55	7.88	3.54	16.18	13.05	5.01	1.2	20	13.24	2.25	76.18	0.108
Ourlal	21.09	66.37	10.39	2.12	7.97	3.68	19.03	12.01	4.48	1.4	19	14.73	3	72.96	0.028
M'khadma	38.98	49.15	7.44	4.39	7.78	2.48	5.69	14.1	4.54	0.5	11	12.07	1.1	143.19	0.042
Lioua	42.45	40.95	13.37	3.2	7.81	3.48	15.75	10.66	5.65	2.7	18	14.2	2.5	90.48	0.112
Foughala	36.59	51.21	8.1	4.07	7.96	2.17	9.05	7.73	4.48	0.5	12	8.06	1.5	43	0.196
El ghrous	25.95	65.68	12.33	4.7	8.13	1.87	8.3	5.22	3.45	0.8	13	3.06	1.75	95.36	0.112
Ouled djallal	75.2	32.13	7.58	3.06	8.01	2.79	12.89	8.97	4.03	1.1	15	10.15	2.25	102.38	0.144
Sidi khaled	35.51	47.23	12.15	5.08	7.88	1.5	6.48	4.79	2.66	1	9	4.59	1.25	118.69	0.14
Doucen	42.14	43.27	11.36	3.1	7.96	2.66	13.65	8.74	4.12	0.5	15	9.25	2	115.23	0.084

Annexe 2

Analyses statistiques

Statistique de régression

1. Régression entre nombre des nodules population M'zerra et caractéristiques physico-chimiques des sols testés

Min 1Q Median 3Q Max
-14.4072 -4.9808 -0.3409 6.7346 10.6247

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	348.85243	190.79791	1.828	0.08887 .
Sablesgrossiers.	-1.34221	1.08267	-1.240	0.23546
Sablesfins.	-1.13410	1.08338	-1.047	0.31292
Limons.	-2.04427	1.29321	-1.581	0.13625
Argiles.	-1.13075	2.03433	-0.556	0.58710
pH.eau	-24.94175	16.90313	-1.476	0.16219
CEds.m	40.31602	88.99357	0.453	0.65747
Nameq.l	6.28964	5.83748	1.077	0.29949
Cameq.l	5.00435	5.38946	0.929	0.36886
Mgmeq.l	8.92751	7.91856	1.127	0.27852
kmeq.l	2.05035	6.25381	0.328	0.74787
Clmeq.l	-12.14406	8.17029	-1.486	0.15935
SO4meq.l	-10.37850	7.31628	-1.419	0.17791
HCO3meq.l	-6.15882	7.33328	-0.840	0.41511
PhosphoreassimilablePPm	0.26725	0.06817	3.920	0.00154 **
AzoteN.	-43.30676	54.96389	-0.788	0.44388

Residual standard error: 10.62 on 14 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.8742, Adjusted R-squared: 0.7395

2. Régression entre nombre des nodules variété Luze de otono et caractéristiques physico-chimiques des sols testés

Min 1Q Median 3Q Max
-15.2036 -5.1332 0.4634 6.0701 10.5066

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	394.67435	187.17362	2.109	0.053475 .
Sablesgrossiers.	-1.67683	1.06211	-1.579	0.136709
Sablesfins.	-1.52658	1.06280	-1.436	0.172863
Limons.	-2.22944	1.26865	-1.757	0.100696
Argiles.	-1.93516	1.99569	-0.970	0.348665
pH.eau	-26.38664	16.58205	-1.591	0.133868
CEds.m	32.26837	87.30310	0.370	0.717202
Nameq.l	5.13234	5.72660	0.896	0.385282
Cameq.l	3.72200	5.28709	0.704	0.492990
Mgmeq.l	7.66816	7.76815	0.987	0.340334
kmeq.l	0.15240	6.13501	0.025	0.980533
Clmeq.l	-9.93723	8.01510	-1.240	0.235424
SO4meq.l	-8.56575	7.17730	-1.193	0.252526
HCO3meq.l	-3.92662	7.19398	-0.546	0.593781
PhosphoreassimilablePPm	0.29220	0.06688	4.369	0.000642 ***
AzoteN.	-40.83094	53.91982	-0.757	0.461454

Residual standard error: 10.41 on 14 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.8874, Adjusted R-squared: 0.7669

3. Régression entre biomasse sèche nodulaire population M'zerra et caractéristiques physico-chimiques des sols testés

Min 1Q Median 3Q Max
-60.242 -16.206 2.545 14.140 60.949

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	1012.5169	742.0371	1.365	0.193939
Sablesgrossiers.	-5.8742	4.2107	-1.395	0.184732
Sablesfins.	-4.9071	4.2134	-1.165	0.263625
Limons.	-5.9972	5.0295	-1.192	0.252918
Argiles.	-4.6058	7.9118	-0.582	0.569729
pH.eau	-60.9096	65.7384	-0.927	0.369861

CEds.m	83.3000	346.1072	0.241	0.813294
Nameq.l	27.9891	22.7027	1.233	0.237933
Cameq.l	22.7192	20.9603	1.084	0.296716
Mgmeq.l	38.1318	30.7963	1.238	0.236006
kmeq.l	2.3558	24.3218	0.097	0.924211
Clmeq.l	-44.3871	31.7753	-1.397	0.184192
SO4meq.l	-37.0978	28.4539	-1.304	0.213339
HCO3meq.l	3.4155	28.5201	0.120	0.906377
PhosphoreassimilablePPm	1.3998	0.2651	5.280	0.000116 ***
AzoteN.	59.6000	213.7615	0.279	0.784463

Residual standard error: 41.29 on 14 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.8934, Adjusted R-squared: 0.7791

4. Régression entre biomasse sèche nodulaire variété Luze de otono et caractéristiques physico-chimiques des sols testés

Min	1Q	Median	3Q	Max
-51.880	-22.157	-2.532	12.715	56.069

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	771.9968	648.6011	1.190	0.2537
Sablesgrossiers.	-6.7921	3.6805	-1.845	0.0862 .
Sablesfins.	-6.3112	3.6828	-1.714	0.1086
Limons.	-6.1229	4.3962	-1.393	0.1854
Argiles.	-6.2648	6.9155	-0.906	0.3803
pH.eau	-24.5144	57.4608	-0.427	0.6761
CEds.m	-236.9597	302.5260	-0.783	0.4465
Nameq.l	21.5234	19.8440	1.085	0.2964
Cameq.l	17.6339	18.3210	0.962	0.3521
Mgmeq.l	28.3887	26.9185	1.055	0.3095
kmeq.l	-1.5157	21.2593	-0.071	0.9442
Clmeq.l	-1.7589	27.7742	-0.063	0.9504
SO4meq.l	0.7754	24.8711	0.031	0.9756
HCO3meq.l	24.1568	24.9289	0.969	0.3490
PhosphoreassimilablePPm	1.8019	0.2317	7.775	1.91e-06 ***
AzoteN.	138.5965	186.8450	0.742	0.4705

Residual standard error: 36.09 on 14 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9352, Adjusted R-squared: 0.8658

5. Régression entre nombre des nodules variété Distia et caractéristiques physico-chimiques des sols testés

Min	1Q	Median	3Q	Max
-2.9230	-1.0210	0.4326	0.9834	2.6053

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	83.79344	38.06670	2.201	0.0450 *
Sablesgrossiers.	-0.07547	0.21601	-0.349	0.7320
Sablesfins.	-0.08813	0.21615	-0.408	0.6896
Limons.	-0.39081	0.25801	-1.515	0.1521
Argiles.	0.36121	0.40588	0.890	0.3885
pH.eau	-5.79188	3.37240	-1.717	0.1079
CEds.m	0.97907	17.75539	0.055	0.9568
Nameq.l	1.76923	1.16465	1.519	0.1510
Cameq.l	1.24404	1.07527	1.157	0.2666
Mgmeq.l	2.75280	1.57986	1.742	0.1033
kmeq.l	0.23064	1.24772	0.185	0.8560
Clmeq.l	-2.57067	1.63008	-1.577	0.1371
SO4meq.l	-2.12175	1.45969	-1.454	0.1681
HCO3meq.l	-1.60341	1.46309	-1.096	0.2916
PhosphoreassimilablePPm	0.03598	0.01360	2.645	0.0192 *
AzoteN.	-21.37610	10.96602	-1.949	0.0716 .

Residual standard error: 2.118 on 14 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9676, Adjusted R-squared: 0.9328

6. Régression entre nombre des nodules population Baldia et caractéristiques physico-chimiques des sols testés

Min	1Q	Median	3Q	Max
-3.67007	-1.00348	0.05066	1.18087	3.59681

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	92.10302	47.83415	1.925	0.0747 .
Sablesgrossiers.	-0.11903	0.27143	-0.439	0.6677

Sablesfins.	-0.11963	0.27161	-0.440	0.6663
Limons.	-0.53497	0.32422	-1.650	0.1212
Argiles.	0.27853	0.51002	0.546	0.5936
pH.eau	-5.85253	4.23771	-1.381	0.1889
CEds.m	-5.28040	22.31121	-0.237	0.8163
Nameq.l	2.51649	1.46349	1.720	0.1075
Cameq.l	1.95609	1.35117	1.448	0.1697
Mgmeq.l	4.02374	1.98523	2.027	0.0622
kmeq.l	0.88346	1.56787	0.563	0.5820
Clmeq.l	-2.72225	2.04834	-1.329	0.2051
SO4meq.l	-2.45333	1.83423	-1.338	0.2024
HCO3meq.l	-2.04738	1.83850	-1.114	0.2842
PhosphoreassimilablePPm	0.03620	0.01709	2.118	0.0525
AzoteN.	-20.99606	13.77977	-1.524	0.1499

Residual standard error: 2.661 on 14 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9581, Adjusted R-squared: 0.9133

7. Régression entre biomasse sèche nodulaire variété Dista et caractéristiques physico-chimiques des sols testés

Min	1Q	Median	3Q	Max
-2.5652	-0.7063	0.0832	0.7934	2.6778

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	62.57269	34.44873	1.816	0.0908
Sablesgrossiers.	0.06135	0.19548	0.314	0.7583
Sablesfins.	0.01712	0.19560	0.088	0.9315
Limons.	-0.28053	0.23349	-1.201	0.2495
Argiles.	0.53937	0.36730	1.468	0.1641
pH.eau	-4.92206	3.05188	-1.613	0.1291
CEds.m	1.30369	16.06787	0.081	0.9365
Nameq.l	1.01826	1.05396	0.966	0.3504
Cameq.l	0.77414	0.97307	0.796	0.4396
Mgmeq.l	1.90454	1.42970	1.332	0.2041
kmeq.l	0.08244	1.12913	0.073	0.9428
Clmeq.l	-1.72886	1.47515	-1.172	0.2608
SO4meq.l	-1.47505	1.32096	-1.117	0.2829
HCO3meq.l	-2.11275	1.32403	-1.596	0.1329
PhosphoreassimilablePPm	0.01255	0.01231	1.019	0.3254
AzoteN.	-13.56745	9.92378	-1.367	0.1931

Residual standard error: 1.917 on 14 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9663, Adjusted R-squared: 0.9302

8. Régression entre biomasse sèche nodulaire population Baldia et caractéristiques physico-chimiques des sols testés

Min	1Q	Median	3Q	Max
-2.19442	-0.92323	-0.01857	0.62364	2.76113

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	79.97160	34.87517	2.293	0.0378 *
Sablesgrossiers.	-0.06337	0.19790	-0.320	0.7535
Sablesfins.	-0.09489	0.19803	-0.479	0.6392
Limons.	-0.39219	0.23638	-1.659	0.1193
Argiles.	0.22449	0.37185	0.604	0.5557
pH.eau	-5.43194	3.08965	-1.758	0.1006
CEds.m	-5.29384	16.26677	-0.325	0.7497
Nameq.l	1.45841	1.06701	1.367	0.1932
Cameq.l	1.17850	0.98512	1.196	0.2514
Mgmeq.l	2.73898	1.44740	1.892	0.0793
kmeq.l	0.38170	1.14311	0.334	0.7434
Clmeq.l	-1.51429	1.49341	-1.014	0.3278
SO4meq.l	-1.46829	1.33731	-1.098	0.2908
HCO3meq.l	-1.61976	1.34042	-1.208	0.2469
PhosphoreassimilablePPm	0.01810	0.01246	1.452	0.1684
AzoteN.	-13.53437	10.04662	-1.347	0.1993

Residual standard error: 1.94 on 14 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.9681, Adjusted R-squared: 0.9338

Analyse de variance

Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)

Localités 29 232006 8000.2 5.2941 2.752e-13 ***

NN ET BSN 7 171310 24472.9 16.1948 < 2.2e-16 ***

Residuals 203 306765 1511.2

data: expe\$Valeurs and expe\$ Localités

Bartlett's K-squared = 498.2933, df = 29, p-value < 2.2e-16

data: expe\$Valeurs and expe\$ NN et BSN

Bartlett's K-squared = 430.8472, df = 7, p-value < 2.2e-16

Annexe 3

Tableau 1 : Effet du NaCl sur la croissance des souches des rhizobia isolées.

	NaCl 0%	NaCl 0.1%	NaCl 0.3%	NaCl 0.5%	NaCl 0.8%	NaCl 1%	NaCl 1.5%	NaCl 2%
RF1	+	+	+	-	-	-	-	-
RF2	+	+	+	+	-	-	-	-
RF3	+	+	-	-	-	-	-	-
RF4	+	+	+	+	+	-	-	-
RF5	+	+	-	-	-	-	-	-
RL1	+	+	+	+	-	-	-	-
RL2	+	+	+	+	-	-	-	-
RL3	+	+	+	+	+	+	+	+
RL4	+	+	+	-	-	-	-	-
RL5	+	+	+	+	+	+	-	-

Tableau 2 : Effet du KCl sur la croissance des souches des rhizobia isolées.

	KCl 0%	KCl 0.1%	KCl 0.3%	KCl 0.5%	KCl 0.8%	KCl 1%	KCl 1.5%	KCl 2%
RF1	+	+	+	+	+	+	-	-
RF2	+	+	+	+	+	+	-	-
RF3	+	+	-	-	-	-	-	-
RF4	+	+	+	+	+	+	-	-
RF5	+	+	+	-	-	-	-	-
RL1	+	+	+	+	+	+	-	-
RL2	+	+	+	+	+	+	-	-
RL3	+	+	+	+	+	+	+	+
RL4	+	+	+	+	-	-	-	-
RL5	+	+	+	+	+	+	+	-

Tableau 3 : Effet du CaCl₂ sur la croissance des souches des rhizobia isolées.

	CaCl ₂ 0%	CaCl ₂ 0.1%	CaCl ₂ 0.3%	CaCl ₂ 0.5%	CaCl ₂ 0.8%	CaCl ₂ 1%	CaCl ₂ 1.5%	CaCl ₂ 2%
RF1	+	-	-	-	-	-	-	-
RF2	+	-	-	-	-	-	-	-
RF3	+	-	-	-	-	-	-	-
RF4	+	-	-	-	-	-	-	-
RF5	+	-	-	-	-	-	-	-
RL1	+	-	-	-	-	-	-	-
RL2	+	-	-	-	-	-	-	-
RL3	+	+	+	+	+	-	-	-
RL4	+	-	-	-	-	-	-	-
RL5	+	+	+	-	-	-	-	-

RESUME

Le travail présenté dans ce mémoire concerne la symbiose à rhizobia chez la fève (*Vicia faba* L.) et la luzerne (*Medicago Sativa* L.) dans la région de Biskra. Il se situe à plusieurs niveaux :

- Evaluation du potentiel symbiotique des sols de la région de Biskra; par la technique de piégeage, montrent des niveaux de susceptibilité différents à la microflore rhizobienne. L'efficacité de la symbiose rhizobienne chez les deux légumineuses indique que la croissance végétale dépend de leur taux de nodulation. La corrélation entre la fixation symbiotique de l'azote et quelques propriétés physico-chimiques des sols, montre que la fixation symbiotique chez les deux légumineuses est fortement liée aux conditions édaphiques du sol. La salinité exerce un effet néfaste sur la symbiose pas contre le phosphore favorise la fixation symbiotique de l'azote.
- Caractérisation physiologique, biologique et chimique des souches isolées indique que celle-ci sont nodulés par des rhozobia qui sont vraisemblablement différents.

Mots clés : Symbiose, Rhizobia, *Vicia faba* L., *Medicago sativa* L., Biskra.

SUMMARY

The work presented in this thesis dealt with the symbiotic rhizobia in faba bean (*Vicia faba* L.) and alfalfa (*Medicago sativa* L.) in the region of Biskra. It is at several levels:

- Evaluation of potential symbiotic soil in the region of Biskra, the trapping technique, show different levels of susceptibility to rhizobial microflora. The effectiveness of the rhizobial symbiosis in both legumes indicates that plant growth depends on their rate of nodulation. - The correlation between the symbiotic fixation of nitrogen and some physico-chemical properties of soil, shows that in both symbiotic legumes is strongly related to soil conditions. Salinity has a detrimental effect on the symbiosis not cons phosphorus promotes symbiotic nitrogen fixation.
- Physiological characterization, biological and chemical isolates indicates that it is rhozobia nodules that are likely to differ.

Key words : symbiosis, Rhizobia, *Vicia faba* L., *Medicago sativa* L., Biskra.

ملخص:

العمل المقدم في هذه المذكرة يخص تعايش الريزوبيا لدى نبات الفول و الصفصفا في منطقة بسكرة. تشمل الدراسة مايلي:

- تقييم التعايش الروزوبي مع نبات الفول و الصفصفا في مختلف أترية منطقة بسكرة باستخدام تقنية اخذ العينات وتبين أن هناك مستويات تعايش مختلفة. ناجعية هذا التعايش أثبتت أن نمو النبات يرتبط بنسبة العقد. الارتباط بين الازوت والخصائص الفيزيائية والكيميائية لتراب بين أن تثبيت الازوت يرتبط بشدة بهذه الخصائص حيث أن الملوحة تأثر سلبا على هذا التعايش عكس الفوسفور الذي يساهم في ارتفاع نسبة التعايش.
- تحديد الخصائص الفيزيولوجية، البيولوجية والكيميائية للبكتيريا المعزولة بين وجود اختلافات بين هذه الأخيرة.

الكلمات المفتاح: التعايش، الريزوبيا، الفول، الصفصفا، بسكرة.