

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE MOHAMED KHIDER – BISKRA –



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

Département des Sciences Agronomiques

Ref :

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences Agronomiques

THEME

Etude de la symbiose à rhizobia chez la fève (*Vicia faba* L.) et la luzerne (*Medicago sativa* L.) cultivée sous contrainte hydrique : aspects morpho-physiologiques et agronomiques

Présentée par : **MOUFFOK Ahlem**

Soutenu le

Devant le jury composé de :

Mr. HLILAT Mohamed Tahar	Président	Professeur	Université d'Ouargla
Mr. BELHAMRA Mohamed	Rapporteur	Professeur	C.R.S.T.R.A Biskra
Mr. BAGHAMI Yassine	Examineur	Professeur	Université de Batna 1
Mr. BOUMAARAF Belkassam	Examineur	M.C.A	Université de Biskra
Mme. FARHI Kamilia	Examineur	M.C.A	Université de Biskra

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

Faire les remerciements... Ce devrait être la partie la plus facile à écrire après avoir rédigé un pavé tel que la thèse. Pourtant, il y a tant de personnes à remercier, qui ont participé de près ou de loin à ce travail. Il faut à la fois n'oublier personne et trouver les mots justes. Je vais essayer de faire de mon mieux,

*Je pense particulièrement au professeur **BELHAMRA Mohamed**, mon directeur de thèse, pour la finesse de ses attitudes sur le plan aussi bien humain que scientifique. Ses remarques successives et professionnelles ont permis d'améliorer les différentes versions de ce travail. Il a toujours trouvé comme encadrant le juste équilibre entre la liberté qu'il m'a laissée dans le choix des grandes orientations et la détermination des pistes à suivre, d'une part, et un soutien total et sans faille dans les moments délicats, d'autre part. De lui, j'ai toujours reçu non seulement les encouragements que le doctorant ait tant besoin, mais aussi les précieux conseils pratiques que seul un homme, ayant des qualités humaines comme lui, peut amener à prodiguer. Grâce à son approche respectueuse de la personne humaine, je me suis continuellement senti à l'aise. Quoique je dise, les mots ne sauraient exprimer ma profonde gratitude.*

*Je tiens à remercier Monsieur **BENZIOUCHE Salah Eddine**, professeur à l'Université de Biskra d'avoir accepté de remplacer mon encadreur et d'assister ma soutenance. Je le remercie aussi pour son aide précieuse et ses conseils constructifs.*

*Je voudrai également remercier les membres du jury d'avoir accepté d'évaluer cette thèse. J'exprime ma profonde gratitude à Monsieur **HLILAT Mohamed Tahar**, recteur de l'université d'Ouargla, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury et pour l'intérêt et le soutien chaleureux dont il a toujours fait preuve. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.*

*Mes remerciements s'adressent à Monsieur **BAGHAMI Yassine**, directeur de l'ISVSA université de Batna 1, d'avoir bien voulu accepter de faire partie de ce jury malgré ses nombreuses occupations. Il a été l'un de mes anciens professeurs, et je lui suis reconnaissante pour avoir contribué à ma formation lors de mes études à l'université de Biskra.*



Je remercie également Monsieur BOUMARRAF Belkassam, Maitre de conférences A à l'Université de Biskra pour avoir accepté d'examiner mon travail et pour son aide.

Je remercie Madame FARHI Kamilia, Maitre de conférences A à l'Université de Biskra, pour avoir accepté de juger mon travail.

Je tiens à remercier chaleureusement et tout particulièrement Madame ELKHIATI Najat, professeur à l'Université de Casablanca, Maroc et Monsieur Mohamed RAMDANI professeur à l'Université Mohamed 5 de Rabat pour leur précieuse aide, leur présence et leur soutien permanent et pour m'avoir accueilli au sein de leur institue.

Ma gratitude va tout spécialement à Monsieur BELHADI A., professeur à l'Université de Saida, pour son aide et ses encouragements.

Je remercie également toutes les personnes formidables des laboratoires de L'université de Ghardaia. Je remercie particulièrement Madame Mariam, responsable des laboratoires à l'université de ghardaia.

J'exprime mes remerciements à Madame CHOUACH CHOUAN H, Monsieur OUAMANE T, et Monsieur BENGUESMI T pour leurs orientations lors de mes analyses statistiques.

Je n'oublie pas non plus Madame HIOUANI fatima, professeur à l'Université de Biskra pour son amitié, ses encouragements et ses précieux conseils.

J'exprime mes sincères remerciements aux agriculteurs, particulièrement Mrs ZARIT Mohamed et SAIH Belkassem. Que ces gens soient assurés de ma profonde gratitude et ma reconnaissance les plus respectueuses.

A toutes mes amies spécialement; Nabila, Faiza, Fatima zohra, Salima, Rima

*Enfin, je formule mes remerciements exclusifs à **mes parents**, à qui je demeure à cours de mots pour exprimer ma profonde gratitude pour leurs aides précieuses, leurs conseils pertinents et leurs brillantes directives, pour toutes les choses qu'ils ont pu faire pour moi, si nombreuses qu'elles sont, je ne saurais en faire une liste nominative. Qu'ils sachent que leur place dans mon cœur et ma pensée, reste et demeure immense.*

*J'ai une pensée très tendre à l'égard de **mon jumeau Abdesslem**, **mon frère et mes sœurs** pour leurs aides et leurs soutiens. Que ces modestes lignes leur servent de témoignage à mon*



attachement indéfectible au lien sacré de la famille. Puisse ALLAH vous accorde de plus en plus de victoires.

La réalisation d'une thèse est une longue épreuve pas toujours facile... Aussi, je tiens à dire un grand MERCI à toutes les personnes qui ont été à mes côtés pendant ces années et qui m'ont permis d'arriver au bout de ce travail.

À tous ceux que je n'ai pas cités et qui, de près ou de loin, ont rendu ce travail possible.



LISTE DES ABREVIATIONS

- ABA** : Acide abscissique
- ACP** : Analyse en composantes principales
- ACD** : Analyse canonique discriminante
- BSA** : Biomasse sèche aérienne
- BSN** : Biomasse sèche nodulaire
- C** : Carbone
- Carot** : Caroténoïdes
- Chl / Carot** : Chlorophylle/ Caroténoïdes
- Chl a / b** : Chlorophylle a / chlorophylle b
- Chl a** : Chlorophylle a
- Chl b** : Chlorophylle b
- Chl T** : Chlorophylle totale
- EURS** : Efficience de l'utilisation de la symbiose rhizobienne
- FAO**: Food and Agriculture Organisation of the United Nations
- FSN**: fixation symbiotique de l'azote
- HT** : Hauteur de la tige
- Legh** : Leghémoglobine
- MF** : Matière fraîche
- MS** : Matière sèche
- N** : azote
- N₂** : diazote
- NN** : Nombre des nodules
- P** : Phosphore
- Prol** : Proline
- Prot** : Protéine
- PS** : Poids sec
- PSN** : Poids sec des nodules
- SF** : Surface foliaire
- SS** : Sucres solubles
- TRE** : Teneur relative en eau



LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Identité et origine de cinq variétés et populations de la fève étudiées	32
Tableau II. Résultats de test Khi-deux pour la signification des fonctions discriminantes issues de l'analyse canonique discriminante pour l'ensemble des caractères étudiés chez les cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L.....	74
Tableau III. Caractéristique des fonctions discriminantes issues de l'analyse canonique discriminante pour l'ensemble des caractères étudiés chez les cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L.....	74
Tableau IV. Identité et origine de cinq variétés et populations de la luzerne étudiées.....	78
Tableau V. Résultats de test Khi-deux pour la signification des fonctions discriminantes issues de l'analyse canonique discriminante pour l'ensemble des caractères étudiés chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L.....	115
Tableau VI. Caractéristique des fonctions discriminantes issues de l'analyse canonique discriminante pour l'ensemble des caractères étudiés chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L.....	115



LISTE DES FIGURES

Figure 1. Le processus de nodulation	14
Figure 2. Structure de la nitrogénase.....	16
Figure 3. Mécanismes biochimiques impliqués dans la fixation d'azote.	17
Figure 4. Mécanismes d'échange de carbone et d'azote dans une cellule nodulaire infectée.....	19
Figure 5. Variations des teneurs relatives en eau chez les cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L. sous différents traitements hydriques	39
Figure 6. Variations de la hauteur de la tige des plantes chez les cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L. sous différents traitements hydriques	42
Figure 7. Variations de la surface foliaire des plantes chez les cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L. sous différents traitements hydriques	44
Figure 8. Variations de la biomasse sèche aérienne des plantes chez les cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L. sous différents traitements hydriques	46
Figure 9. Variations de la biomasse sèche racinaire des plantes chez les cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L. sous différents traitements hydriques	47
Figure 10. Variations du rapport biomasse sèche racinaire / biomasse sèche aérienne chez les cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L. sous différents traitements hydriques	48
Figure 11. Variations des teneurs en chlorophylle a chez les cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L. sous différents traitements hydriques	51
Figure 12. Variations des teneurs en chlorophylle b chez les cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L. sous différents traitements hydriques	52
Figure 13. Variations des teneurs en chlorophylle totale chez les cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L. sous différents traitements hydriques	53
Figure 14. Variations des teneurs en caroténoïdes chez les cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L. sous différents traitements hydriques.....	54
Figure 15. Variations du ratio chlorophylle a / chlorophylle b chez les cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L. sous différents traitements hydriques	55
Figure 16. Variations du ratio chlorophylle / caroténoïdes chez les cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L. sous différents traitements hydriques.....	56
Figure 17. Variations des teneurs en proline chez les cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L. sous différents traitements hydriques	58
Figure 18. Variations des teneurs en sucres solubles chez les cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L. sous différents traitements hydriques	61



Figure 19. Variations des teneurs en protéines chez les cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L. sous différents traitements hydriques	63
Figure 20. Variations du nombre des nodules par plant chez les cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L. sous différents traitements hydriques	65
Figure 21. Variations du poids sec des nodules par plant chez les cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L. sous différents traitements hydriques	66
Figure 22. Variations des teneurs en leghémoglobine des nodules chez les cinq variétés et populations <i>Vicia faba</i> L. sous différents traitements hydriques	67
Figure 23. Corrélation entre la croissance et la nodulation chez les cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L. sous différents traitements hydriques.....	70
Figure 24. Variations du poids sec des parties aériennes et le poids sec des nodules chez les cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L. sous différents traitements hydriques	70
Figure 25. Analyse en composantes principales représentant le cercle des corrélations entre les différents paramètres en fonction des traitements hydriques chez la fève	72
Figure 26. Représentation graphique de la distribution spatiale des variétés et des populations chez la fève dans le plan 1-2 d'une analyse en composantes principales sous les différents traitements hydriques.....	72
Figure 27. Espace discriminant bidimensionnel illustrant la répartition des variétés et des populations de <i>Vicia faba</i> L. étudiées suivant le gradient de la variance de deux fonctions discriminantes issues de l'analyse canonique discriminante (ACD).....	74
Figure 28. Dendrogramme représentant le regroupement des variétés et des populations de <i>Vicia faba</i> L. sous les différents traitements hydriques.....	75
Figure 29. Variations des teneurs relatives en eau chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L. sous différents traitements hydriques.....	82
Figure 30. Variations de la hauteur de la tige des plantes chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L. sous différents traitements hydriques.....	84
Figure 31. Variations de la surface foliaire des plantes chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L. sous différents traitements hydriques.....	86
Figure 32. Variations de la biomasse sèche aérienne des plantes chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L. sous différents traitements hydriques.....	88
Figure 33. Variations de la biomasse sèche racinaire des plantes chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L. sous différents traitements hydriques.....	89
Figure 34. Variations du rapport biomasse sèche racinaire / biomasse sèche aérienne chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L. sous différents traitements hydriques.....	90



Figure 35. Variations des teneurs en chlorophylle a chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L. sous différents traitements hydriques.....	92
Figure 36. Variations des teneurs en chlorophylle b chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L. sous différents traitements hydriques.....	93
Figure 37. Variations des teneurs en chlorophylle totale chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L. sous différents traitements hydriques.....	94
Figure 38. Variations des teneurs en caroténoïdes chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L. sous différents traitements hydriques.....	95
Figure 39. Variations du ratio chlorophylle a / chlorophylle b chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L. sous différents traitements hydriques.....	96
Figure 40. Variations du ratio chlorophylle / caroténoïdes chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L. sous différents traitements hydriques.....	97
Figure 41. Variations des teneurs en proline chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L. sous différents traitements hydriques.....	99
Figure 42. Variations des teneurs en sucres solubles chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L. sous différents traitements hydriques.....	101
Figure 43. Variations des teneurs en protéines chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L. sous différents traitements hydriques.....	103
Figure 44. Variations du nombre des nodules par plant chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L. sous différents traitements hydriques.....	105
Figure 45. Variations du poids sec des nodules par plant chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L. sous différents traitements hydriques.....	106
Figure 46. Variations des teneurs en leghémoglobine des nodules chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L. sous différents traitements hydriques.....	107
Figure 47. Corrélation entre la croissance et la nodulation chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L. sous différents traitements hydriques.....	111
Figure 48. Variations du poids sec des parties aériennes et le poids sec des nodules chez les cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L. sous différents traitements.....	111
Figure 49. Analyse en composantes principales représentant le cercle des corrélations entre les différents paramètres en fonction des traitements hydriques chez la luzerne.....	113
Figure 50. Représentation graphique de la distribution spatiale des variétés et des populations de la luzerne dans les plan 1-2 d'une analyse en composantes principales sous les différents traitements hydriques.....	113



- Figure 51.** Espace discriminant bidimensionnel illustrant la répartition des variétés et des populations de *Medicago sativa* L. étudiés suivant le gradient de la variance de deux fonctions discriminantes issues de l'analyse canonique discriminante (ACD).....115
- Figure 52:** Dendrogramme représentant le regroupement des variétés et des populations de *Medicago sativa* L. sous les différents traitements hydriques.....116

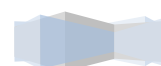


TABLE DES MATIERES

Remerciement	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I: FIXATION SYMBIOTIQUE DE L'AZOTE ATMOSPHERIQUE CHEZ LES LEGUMINEUSES ET STRESS HYDRIQUE: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	4
1. Introduction	4
2. Importances de la symbiose légumineuses-rhizobia	4
3. Macrosymbionte : partenaire végétal	5
3.1. Fève	6
3.1.1. Généralité sur la plante	6
3.1.2. Intérêts de la fève	7
3.2. Luzerne	8
3.2.1. Généralité sur la plante	8
3.2.2. Intérêts de la luzerne	9
4. Microsymbionte : partenaire bactérien	11
4.1. Caractères généraux des rhizobia	11
4.2. Taxonomie des rhizobia	12
5. Processus de nodulation	13
5.1. Echange de signal d'infection	14
5.2. Infection	15
5.3. Développement du nodule et maturation des bactéroïdes	15
6. Mécanisme de fixation d'azote atmosphérique	16
6.1. Nitrogénase et gènes de fixation d'azote	17
6.2. Métabolisme du carbone et de l'azote, lors de la fixation d'azote	18
7. Effet du stress hydrique sur les légumineuses et leurs symbioses rhizobiennes	20
7.1. Effet du stress hydrique sur la plante	20
7.2. Effet du stress hydrique sur la nodulation	22
7.3. Effet du stress hydrique sur la fixation symbiotique de l'azote	23
8. Mécanismes d'adaptation d'une plante soumise au stress hydrique	24
8.1. Echappement	25
8.2. Evitement	25
8.3. Tolérance	27
9. Conclusion	29
CHAPITRE II : EFFETS DU STRESS HYDRIQUE SUR LA CROISSANCE ET LA SYMBIOSE A RHIZOBIA CHEZ CINQ VARIETES ET POPULATIONS DE VICIA FABIA L.	30
1. Introduction	30
2. Matériel et méthodes	31



2.1. Matériel végétal	31
2.2. Installation et conduit de l'essai	32
2.3. Dispositif expérimental	33
2.4. Prélèvement des échantillons	33
2.5. Paramètres mesurés	33
2.6. Analyse statistique	37
3. Résultats et discussion	38
3.1. Effet du stress hydrique sur le comportement hydrique de la plante	38
3.1.1. Teneur relative en eau	38
3.2. Effet du stress hydrique sur les caractères morphologiques	41
3.2.1. Hauteur de la tige	41
3.2.2. Surface foliaire	43
3.2.3. Biomasses sèches	45
3.3. Effet du stress hydrique sur les caractères physiologiques et biochimiques	50
3.3.1. Pigments photosynthétiques	50
3.3.2. Accumulation de la proline	58
3.3.3. Accumulation des sucres solubles	60
3.3.4. Teneurs en protéines	63
3.4. Effet du stress hydrique sur les caractères symbiotiques	64
3.4.1. Nombre des nodules	64
3.4.2. Poids sec des nodules	65
3.4.3. Teneurs en leghémoglobine	66
3.5. Efficacité d'utilisation de la symbiose rhizobienne	68
3.6. Analyse en composantes principales des résultats	71
3.7. Analyse canonique discriminante des résultats	73
3.8. Regroupement des cinq variétés et populations de <i>Vicia faba</i> L.	75
4. Conclusion	76
CHAPITRE III : EFFETS DU STRESS HYDRIQUE SUR LA CROISSANCE ET LA SYMBIOSE A RHIZOBIA CHEZ CINQ VARIETES ET POPULATIONS DE <i>MEDICAGO SATIVA</i> L.	77
1. Introduction	77
2. Matériel et méthodes	78
2.1. Matériel végétal	78
2.2. Installation et conduit de l'essai	79
2.3. Dispositif expérimental	79
2.4. Prélèvement des échantillons	80
2.5. Paramètres mesurés	80
2.6. Analyse statistique	80
3. Résultats et discussion	81
3.1. Effet du stress hydrique sur les caractères liés à l'état hydrique de la plante	81
3.1.1. Teneur relative en eau	81
3.2. Effet du stress hydrique sur les caractères morphologiques	83



3.2.1. Hauteur de la tige	83
3.2.2. Surface foliaire	85
3.2.3. Biomasses sèches	87
3.3. Effet du stress hydrique sur les caractères physiologiques et biochimiques	91
3.3.1. Pigments photosynthétiques	91
3.3.2. Accumulation de la proline	98
3.3.3. Accumulation des sucres solubles	100
3.3.4. Teneurs en protéines	102
3.4. Effet du stress hydrique sur les caractères symbiotiques	104
3.4.1. Nombre des nodules	104
3.4.2. Poids sec des nodules	106
3.4.3. Teneurs en leghémoglobine	107
3.5. Efficacité d'utilisation de la symbiose rhizobienne	109
3.6. Analyse en composantes principales des résultats	112
3.7. Analyse canonique discriminante des résultats	114
3.8. Regroupement des cinq variétés et populations de <i>Medicago sativa</i> L.	116
4. Conclusion	117
CONCLUSION GENERALE	118
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	122
ANNEXES	



INTRODUCTION GENERALE

La région méditerranéenne est considérée actuellement comme un «Hot Spot», un point sensible du réchauffement climatique, qui atteindra des températures supérieures à la moyenne mondiale au XXI^e siècle (ADOLF et *al.*, 2015).

Au rythme de ce dérèglement climatique, le Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (GIEC) a réalisé un rapport de synthèse de l'année 2014, qui souligne que dans plusieurs régions du monde, le changement climatique a davantage d'impacts négatifs que positifs sur le rendement des cultures. Ces changements climatiques, peuvent prendre des proportions d'une désertification dans certaines régions telles que l'Afrique, où la dégradation des terres cultivables a atteint un degré critique (DENHARTIGH, 2014).

Au niveau mondial, 36 millions de Km² des terres sont touchées par la sécheresse et la désertification, dont 9 millions de Km² en Afrique. Quatre cent millions de personnes, soient les 2/3 de la population africaine, vivent dans des zones directement soumises aux effets de ce fléau (SAKROUHI, 2017).

L'agriculture étant un secteur particulièrement structurant, que ce soit en termes d'alimentation, d'aménagement du territoire ou encore de relation à notre environnement, il est primordial de mettre en place des stratégies d'adaptation des espèces végétales pour améliorer la qualité et le rendement de la production (DENHARTIGH, 2014).

La solution la plus efficace est l'utilisation des légumineuses puisque ces dernières sont capables de vivre en symbiose avec des bactéries caractérisées par leur grande capacité de fixation d'azote appelées : rhizobia. Les rhizobia sont des bactéries Gram- qui ont la caractéristique de vivre en symbiose avec les légumineuses et contribuent à la conversion de l'azote atmosphérique en ammoniacque pour qu'il soit assimilable par la plante (légumineuse) (SAKROUHI, 2017).

Dans le bassin méditerranéen, la symbiose légumineuse-rhizobia est une composante importante de cet agrosystème vu ses intérêts agronomiques, économiques et écologiques (FAO, 2009). En effet, cette symbiose pourrait, lorsqu'elle fonctionne bien, assurer une nutrition azotée adéquate aux plantes et garantir une production convenable (FAGHIRE et *al.*, 2012).

L'introduction des légumineuses dans les systèmes de culture, offre des avantages substantiels dans la production agricole. En symbiose avec des rhizobia, elles sont capables de fixer l'azote atmosphérique et de solubiliser le phosphore précipité du sol. Ainsi, on peut économiser dans une large mesure, les fertilisants chimiques qui posent actuellement de



graves problèmes de pollution de l'eau, du sol, et des végétaux (CELLIER et PIERRE, 2015). L'intérêt écosystémique est largement reconnu dans le choix des systèmes de cultures qui respectent l'environnement et la durabilité du milieu (VERTES et al., 2010).

Les légumineuses en symbiose avec les *Rhizobia*, sont une priorité pour les politiques de recherche en Algérie. Parmi ces légumineuses, la fève et la luzerne représentent des modèles intéressants pour l'étude de la fixation biologique de l'azote.

Cependant, le processus de fixation symbiotique de l'azote est affecté par plusieurs contraintes abiotiques qui réduisent son efficacité telles que les variations de température, la déficience des sols en éléments minéraux, la toxicité due à certains éléments tels que le manganèse et l'aluminium, le stress hydrique et la salinité (DITA et al., 2006; BORUCKI et SUJKOWSKA, 2008 ; CESAR et al., 2011).

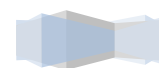
Dans les zones arides et semi-arides, le stress hydrique reste l'un des facteurs majeurs limitant la production des légumineuses particulièrement lorsque la nutrition azotée est assurée par la fixation symbiotique de l'azote. Dans ce contexte, de nombreuses études agrophysiologiques ont mis en évidence l'effet du stress hydrique sur la croissance des légumineuses dépendantes de la FSN (CIAT, 1992 ; JANSA et al., 2011).

Face à cette situation, diverses stratégies d'améliorations des rendements et d'adaptation peuvent être appliquées. Parmi ces stratégies la sélection de génotypes aux potentiels productifs acceptables et qui se caractérisent par une adaptation au milieu pour minimiser les baisses de productions lors des années difficiles.

Cependant, Si cette approche de sélection directe aux champs du rendement et de sa stabilité est indispensable, elle reste néanmoins insuffisante en ce sens qu'elle ne rend pas compte des mécanismes mis en jeu dans la réalisation de ces performances. Aussi, le recours aux caractères morpho-physiologiques et biochimiques de tolérance au stress hydrique permettent dans le cadre d'une approche intégrative d'identifier les plus pertinents d'entre eux pour la recherche de génotypes stables.

A ce titre, l'étude et l'identification des caractères morpho-physiologiques, biochimiques et symbiotiques liées à la tolérance au déficit hydrique chez les légumineuses s'avère très efficace pour l'obtention de génotypes adaptés et stables.

Ainsi, donc l'approche directe par l'étude de la stabilité des rendements et celle dite analytique par incorporation de caractères morpho-physiologiques permettent le repérage de l'idiotype pour une meilleure productivité dans des conditions environnementales spécifiques. C'est dans ce cadre que s'insère notre présente étude, les objectifs majeurs de cette thèse sont:



- Evaluer l'impact du stress hydrique sur la symbiose à rhizobia chez cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. et cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L. à travers des essais et déterminer les performances et le comportement global des variétés et des populations.

- Mettre l'accent sur certains mécanismes morpho-physiologiques, biochimiques et symbiotiques associés à la tolérance de cette symbiose au stress hydrique, et déterminer les mécanismes d'adaptation des variétés et des populations mis à l'étude et d'en identifier les plus pertinents d'entre eux, qui seraient en grande partie à l'origine du choix du où des variétés et des populations adaptés aux conditions du stress hydrique.

Afin d'atteindre ces objectifs, le manuscrit de la thèse est organisé de la manière suivante :

Un premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique présentant un état de l'art concernant la symbiose à rhizobia chez les légumineuses et le stress hydrique, qui comprend plusieurs facettes : Les légumineuses, les deux modèles *Vicia faba* L et *Medicago sativa* L., le partenaire bactérien « rhizobia », les processus de nodulation et les mécanismes de la fixation de l'azote, effet du stress hydrique sur la symbiose rhizobienne et les stratégies d'adaptation.

Les activités de recherches effectuées dans le cadre de cette thèse, correspondant aux différents objectifs spécifiques susmentionnés, sont décrites dans les deux chapitres suivants (Chapitres **II** et **III**). Les chapitres sont rédigés selon le format suivant: Introduction, Matériel et méthodes, Résultats et discussion, Conclusion.

Dans **un deuxième chapitre**, nous abordons l'effet du stress hydrique sur la croissance et la fixation symbiotique des plantes des différentes variétés et populations de *Vicia faba* L., et rechercher une relation entre les caractères morpho-physiologiques, biochimiques et symbiotiques et la tolérance au stress hydrique.

Un troisième chapitre, est consacré à l'analyse de l'effet du stress hydrique sur la croissance et la symbiose des cinq variétés et populations chez la luzerne, nous tontons la caractérisation morpho-physiologique, biochimique et symbiotique des plantes chez les variétés et les populations contrastées de *Medicago sativa* L. sous stress hydrique.

La dernière partie de cette thèse présente une conclusion générale tirée de l'étude ainsi que les perspectives de recherches envisagées à l'issue de nos travaux pour la restauration et la valorisation de la symbiose à rhizobia chez la fève et la luzerne.



CHAPITRE I : FIXATION SYMBIOTIQUE DE L'AZOTE ATMOSPHERIQUE CHEZ LES LEGUMINEUSES ET STRESS HYDRIQUE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Introduction

Par leur capacité à fixer l'azote de l'air, les légumineuses constituent une voie privilégiée d'introduction de l'azote dans les systèmes de culture. Leur autonomie vis-à-vis de cet élément permet, en réduisant l'utilisation des engrais azotés dans les systèmes de culture, de limiter ainsi les impacts environnementaux directement proportionnels à la quantité d'azote minéral fabriqué, transporté et épandu. La symbiose légumineuses-rhizobia a joué un rôle déterminant dans le développement de la production agricole durable et sa compréhension a été perçue comme un grand événement scientifique. Elle est envisagée pour procurer des économies dans la pratique agricole et assurer des bénéfices écologiques à même de constituer une sorte d'alternative aux producteurs des pays en voie de développement souffrant d'un accès limité aux intrants chimiques. 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) (MADIGAN et MARTINKO, 2007).

Une première partie fera tout d'abord le point sur une analyse bibliographique des connaissances acquises sur l'importance de la symbiose légumineuses-rhizobia, ainsi que des généralités sur les deux légumineuses (la fève, la luzerne) et les rhizobia, Aussi le processus de fixation symbiotique de l'azote. On présentera par la suite l'effet du stress hydrique sur la symbiose chez les légumineuses et les mécanismes d'adaptation au stress hydrique.

2. Importances de la symbiose légumineuses-rhizobia

Quant à leur bilan azoté et leurs contributions environnementales associées, les légumineuses symbiotiques avec ces qualités originales représentent une contribution potentielle technique, économique et environnementale. Elles jouent un rôle important dans le développement et la durabilité de l'agriculture. Actuellement, la pratique culturale des légumineuses nodulées est parmi les attentes socio-économiques qui sont en utilisation croissante en étant la base d'un système de production végétale et animale plus durables prenant en compte les coûts des intrants et les impacts environnementaux. Ce contexte est favorable au développement d'une agriculture qui présente, (i) pour les producteurs l'atout d'une capacité à fixer l'azote atmosphérique par une symbiose avec des bactéries rhizobiacées et celui d'une bonne insertion technique dans différents systèmes de culture, et (ii) pour les utilisateurs humains ou



animaux, l'atout d'une production de protéines de bonne valeur nutritionnelle (BARGAZ, 2012).

En effet, les légumineuses nodulées peuvent apporter des éléments de complémentarité à l'égard des grandes cultures telles que les céréales ou les oléagineux. En plus de sa capacité d'optimiser la gestion de l'azote et les risques de sa perte dans l'environnement, cette symbiose résulte davantage en un supplément de minéralisation (pailles et rhizodépôts) et surtout d'une meilleure efficacité de la culture suivante au moins vis-à-vis de l'azote. Outre les conséquences sur l'azote, les légumineuses augmentent la disponibilité en P assimilable aussi bien pour elles mêmes que pour la culture suivante ou celle en association (LI *et al.*, 2007). Cette symbiose entretient une relation très privilégiée avec la rhizosphère qui entoure leurs racines. Ainsi sous déficience en P, la FSN est en partie associée à l'acidification de la rhizosphère qui améliore l'assimilation des éléments minéraux et du P en particulier (SCHULZE *et al.*, 2006). Dans ce contexte, le lupin prélève ses nutriments minéraux par sécrétion d'acide citrique autour de ses racines, les minéraux solubilisés étant ensuite absorbés par les racines. Le phosphore insoluble, abondant dans la plupart des sols est ainsi solubilisé et reste en partie disponible pour la culture suivante (DUC *et al.*, 2010). En plus de ces caractéristiques, des études récentes ont commencé d'explorer la dimension rhizosphérique de cette symbiose qui semble stimuler la production des enzymes solubilisant le P ainsi que de favoriser la croissance des certains microorganismes (mycorhizes et bactéries) dotés de fortes capacités de solubilisation du P (RIFAT *et al.*, 2010 ; BARGAZ, 2012).

3. Macrosymbionte : partenaire végétal

Les légumineuses ou *Fabaceae* sont classées parmi les Angiospermes, Eudicotylédones. Il s'agit de la troisième plus grande famille des Angiospermes en nombre d'espèces (après les *Orchidaceae* et les *Asteraceae*), avec 770 genres et près de 20 000 espèces (AZANI *et al.*, 2017).

Les légumineuses ou Leguminosae se classent au second rang économique, après les Poaceae. Depuis le début de l'agriculture les légumineuses, domestiquées parallèlement aux graminées, jouent un rôle clé dans leur développement (HANCOCK, 2012). Pour une sensibilisation de leur importance au plan nutritionnel, ainsi qu'agroécologique en faveur d'un maintien d'une agriculture durable et d'une biodiversité face au changement climatique, 2016 a été désignée par l'ONU « année internationale des légumineuses » (DOMERGUE, 2017).

Les légumineuses présentent toutes une particularité dans leur système racinaire, une symbiose avec une bactérie du sol les rhizobia, qui leur permet de bénéficier de l'azote de l'air



pour leur croissance. Cela constitue en outre un apport azoté non négligeable pour la culture (SOLOMON et FASSIL, 2014).

Les légumineuses représentent 35% des protéines végétales utilisées au niveau mondial pour l'alimentation humaine et animale. D'un point de vue nutritionnel, la composition en acides aminés des légumineuses est très complémentaire de celle des céréales. En effet, les protéines provenant des céréales sont déficientes en lysine, et les légumineuses à graines sont déficientes en acides aminés sulfurés et en tryptophane (WANG et *al.*, 2003). Les légumineuses sont également cultivées pour leurs huiles alimentaires (soja, arachide). En plus de leur contribution à la fixation symbiotique de l'azote, elles constituent un potentiel de reforestation et de contrôle de l'érosion des sols et un couvert végétal pour les terres dégradées lorsqu'elles sont en association (HENAULT et REVELLIN, 2011). Les légumineuses favorisent également la survie de la faune sauvage, ce sont des espèces source de miel contribuant au développement des pollinisateurs tels que les abeilles (TERZO et RASMONT, 2007).

Les légumineuses associées à leurs symbiotes peuvent être utilisées en phytoremédiation car elles ont la propriété de faciliter la dégradation de contaminants du sol, comme les pesticides et les herbicides. Elles ont la propriété également de réduire le N₂O (protoxyde d'azote) puissant gaz à effet de serre en N₂. Ces effets ont été observés sur un sol de luzerne avec *Sinorhizobium meliloti* (HENAULT et REVELLIN, 2011).

La culture des légumineuses représente donc le meilleur moyen de produire des protéines tout en respectant l'environnement : c'est un exemple de culture dans le cadre d'une agriculture durable.

La fève et La luzerne font partie des *Fabaceae* modèles pour l'étude de la symbiose fixatrice d'azote.

3.1. Fève

3.1.1. Généralité sur la plante

La fève (*Vicia faba* L.) est une plante herbacée robuste pouvant dépasser 01 mètre, a feuilles pennées terminées par une pointe, de folioles larges de couleur glauque. L'inflorescence est en racème de deux à cinq fleurs parfois solitaire, à corolle blanche ou rosée, avec des taches noires sur les ailes. Le fruit est une gousse contenant des graines de forme ovale et aplatie avec une peau épaisse, les fèves, a chromosomes grands et moins nombreux que chez la plupart des espèces dans le genre $2n=2x=12$. Cette espèce diffère des autres espèces de *Vicia* par l'absence de vrilles et par son aspect du hile qui est à l'angle droit de la longueur de la



graine. Cette plante est peu exigeante, elle préfère la chaleur et la température optimale pour sa croissance est autour de 20°C (BELKHODJA., 1996).

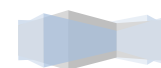
La fève est une dicotylédone annuelle appartenant à la famille des *Fabacées* (*Légumineuses*), connue botaniquement sous le nom de *Vicia faba* L. (BELKHOJA, 1996). Selon ANDRE et HUBERT (1992), le terme *Vicia faba major* désigne, dans le langage courant, la fève potagère cultivée dans le Bassin Méditerranéen, en Amérique du sud et en Asie du Sud-est pour servir essentiellement à la consommation humaine. Cependant *Vicia faba minor* représente la fêverole plus répandue en Europe Occidentale et du Nord et destinée particulièrement à l'alimentation du bétail.

En jumelant sa description botanique par ANDRE et HUBERT (1992), cette espèce peut être définie comme étant une plante herbacée, à tige creuse quadrangulaire. Ses racines, pivotantes parfois et superficielles le plus souvent, portent des nodosités renfermant la bactérie spécifique fixatrice d'azote atmosphérique, *Rhizobium leguminosarum*. Les feuilles pennées comportent 2 folioles à la base de la tige, puis 3 ou 4 par la suite. Les fleurs portées aux aisselles des nœuds reproducteurs en grappes de 2 à 12 selon le type. Les fruits sont des gousses contenant, selon le type, de 3 à 12 graines. BENACHOUR et *al.* (2007) révèlent que c'est une espèce qui présente plusieurs systèmes de reproduction: elle peut être, selon les lignées, autogame ou allogame.

3.1.2. Intérêts de la fève

La fève constitue, avec les autres légumineuses, la seconde source protéique pour l'alimentation humaine et animale et ce après les céréales. ADRIAN et *al.*, (2002) affirment que la fève fraîche possède des caractéristiques nutritionnelles intéressantes pour l'équilibre nutritionnel. Elle est, d'après eux, riche en protéines végétales (5,4 g aux 100 g) et en glucides (10 g aux 100 g), elle fournit des quantités appréciables de vitamines du groupe B (en particulier B3, B5 et B9 ou acide folique) et, ce qui est plus inattendu pour une graine de légumineuse, de vitamine C (28 mg aux 100 g). Elle représente aussi une source non négligeable de minéraux et d'oligo-éléments, notamment de potassium, de magnésium et de fer. Enfin, grâce à sa teneur élevée en fibres (6,5 g aux 100 g), elle contribue efficacement à la couverture des besoins de l'organisme, et à la lutte contre la paresse intestinale.

Comme toutes les légumineuses, l'espèce *Vicia faba* L. assure sa nutrition azotée par deux voies : l'assimilation de l'azote minéral du sol et la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique. Cette aptitude à fixer l'azote atmosphérique limite l'utilisation des engrais



azotés qui sont coûteux pour l'agriculteur et néfastes pour la santé humaine et l'environnement (NOUAR, 2007).

Plusieurs études agronomiques, entre autres celles conduites à l'ITAB (Institut Technique de la Culture Biologique) et au CREAB MP (Centre Régional de Recherche et d'Expérimentation en Agriculture Biologique de Midi-Pyrénées) en France, affirment que l'espèce *Vicia faba L.* (fève ou féverole) est indifférente à la nature du précédent cultural. Ce qui la met, le plus souvent, en fin de rotation. Sa bonne utilisation de l'azote amène à privilégier des précédents à faibles restitutions et reliquats azotés. Par contre, elle est considérée comme excellent précédent cultural pour d'autres cultures exigeantes en azote, telles que les céréales. Un intervalle minimal de 3 à 4 ans est recommandé entre deux cultures de cette espèce (PAPVC, 2009).

Dans beaucoup de cas la fève a confirmé son intérêt en tant que plante de couverture, de surcroît c'est une légumineuse avec une capacité de fixation de 30 à 100 kg de N/ha pour une interculture de 2,5 à 3 mois. Par ailleurs, la taille des graines qui augmente le volume des semences, lui octroie un pouvoir germinatif sans égal et suffisamment de réserves pour s'installer quel que soient les conditions climatiques ou de semis. En complément, cette culture possède un système racinaire très agressif et structurant qui en plus de travailler le sol et induire de la bio fissuration, en consommant l'eau du profil, dynamise comme toutes les légumineuses, l'activité biologique (PROLEA, 2009).

3.2. Luzerne

3.2.1. Généralité sur la plante

La luzerne cultivée ou *Medicago sativa.L* appartient à la famille des Fabacées qui constituent la troisième famille la plus importante du monde végétal (environ 12000 espèces) après les Astéracées et les Orchidacées. C'est une plante herbacée vivace à tige dressée dès la base puis rameuse et anguleuse. Sa hauteur varie de 30 à 90 cm. Elle présente des nodules racinaires qui témoignent de son association symbiotique avec les bactéries *Rhizobium*. La première feuille est unifoliée. Les feuilles suivantes alternes, sont composées de trois folioles égales, glabres, obtuses, un peu échanquées et denticulées. Les fleurs violettes ou bleuâtres, sont réunies en grappes allongées avec un fruit sous forme d'une gousse plus ou moins enroulée et spiralée de 1 à 4 spires. La floraison se déroule entre juin et octobre (MAURIES, 2003).

Les parties aériennes sont les parties de la plante utilisées en médecine (GRAY, 1997 et HWANG, 2001). La luzerne est une plante pérenne qui dure 2 à 10 ans selon son mode d'exploitation (MAURIES, 2003).



C'est une plante qui résiste très bien au gel. Durant la période de froid, elle entre en dormance. Au printemps, elle crée de nouvelles tiges à partir de son pivot central. Elle repousse après l'hiver ou après chaque coupe grâce aux réserves constituées dans ses racines durant les périodes de végétation. Ces réserves durent jusqu'à 10 mois. Elle pousse de Mars à Octobre avec en moyenne de quatre coupes par an espacées de 35 à 45 jours selon la température (FRAME, 2005).

La luzerne c'est une plante exigeant beaucoup de calcium. Pour un développement optimum, elle doit donc être implantée dans un sol sain de calcaire, argileux à pH variant de 6 à 7. Dans un sol normalement équilibré, seuls les apports de potassium sont nécessaires, l'apport en azote est inutile du fait de la capacité de la luzerne à utiliser l'azote atmosphérique et l'azote minéral contenu dans le sol. Son système racinaire est suffisamment important pour puiser et valoriser les éléments nutritifs présents dans le sol. La croissance optimale des plantes se situe à des températures comprises entre 15 et 30° C. La luzerne pousse dans des zones à pluviométrie équilibrée, le manque d'eau freine le développement des plantes ; un excès d'eau favorise le développement des maladies fongiques et prive les racines d'oxygène. En conditions non limitantes (bonne température et hygrométrie) la croissance dépend aussi directement du rayonnement visible intercepté au cours de la pousse (ZANIN, 1998).

3.2.2. Intérêts de la luzerne

Parmi les légumineuses, la luzerne a vraiment bien mérité l'appellation de « reine des cultures fourragères », car elle fournit un fourrage riche en éléments nutritifs, en protéines, en matières azotées digestibles et en vitamines (BENABDERRAHIM et *al.*, 2008).

Elle permet, non seulement d'économiser l'azote, mais encore elle en restitue à la culture suivante. Ainsi, selon THIEBEAU et *al.* (2001), la moyenne de production de deux ans de luzerne est de 689 kg d'N/ ha, que l'agriculteur n'aura pas à apporter sous forme d'engrais minéral. Cet azote est soustrait à l'environnement pour être transféré à l'alimentation animale par le biais de la culture de luzerne. WALIGORA (2010), rapporte qu'une luzerne peut suffire, à elle seule à fertiliser tout un système cultural sans apport d'azote. Cette particularité de pouvoir utiliser l'azote atmosphérique en plus de ses racines descendant à deux ou trois mètres de profondeur, assure l'amélioration des qualités physico- chimiques du sol (THIEBEAU et *al.*, 2003). Elle mobilise fortement les nitrates du sol, limitant leur lessivage et empêche ainsi les mauvaises herbes de se développer (ABDELGUERFI et CHEBOUTI, 2002). Ainsi, d'après ROBERT et *al.* (2010), La culture de la luzerne va laisser à la culture



suivante un sol dont le stock de graines de mauvaises herbes sera réduit, limitant, ainsi, l'utilisation de produits phytosanitaires.

La fonction écologique de la luzerne se manifeste sur la conservation du sol et de sa fertilité (BEAUDOIN *et al.*, 1992). Le système racinaire pivotant, très développé et profond (jusqu'à deux mètres) permet de fragmenter le sol et d'améliorer sa structure (THIEBEAU *et al.*, 2003). La fixation d'azote atmosphérique et le piégeage de carbone lié au processus de la photosynthèse, que la luzerne réalise, montrent qu'elle contribue à limiter les effets de l'activité de l'homme sur son environnement. D'après THIEBEAU *et al.* (2001), le total de carbone fixé par la culture après deux années d'exploitation est de 16.0 t C/ha. Cette fixation de carbone et d'azote, permet de placer la luzerne comme une culture "dépolluante".

Une étude menée par ROBERT *et al.* (2010), montre que les indicateurs mesurés (oiseaux, papillons, criquets, sauterelles, chauve-souris et abeilles) sont significativement supérieurs dans une parcelle de luzerne par rapport à une parcelle de céréales. En outre, CHATELIER (2010), confirme qu'en couvrant le sol en permanence et fleurissant toute l'année, la luzerne offre un gîte et surtout un couvert de choix pour les animaux suscités et de nombreux autres constituants de la biodiversité ordinaire.

Restant en place 26 à 38 mois, la luzerne diminue fortement l'exposition des sols cultivés qu'elle occupe aux phénomènes d'érosion dus aux écoulements de surface des pluies ou aux vents (ROBERT *et al.*, 2010). La luzerne est qualifiée de plante « nitratophage », à cause de l'azote qu'elle prélève dans le sol, et dans l'atmosphère (THIEBEAU *et al.*, 2001). Ces mêmes auteurs, rapportent que la luzerne exporte 2 à 3 t/ha/an de protéines, sans aucun apport d'engrais azoté de la part de l'agriculteur.

La luzerne affiche une plus grande régularité de rendement que ses partenaires et permet ainsi de sécuriser le rendement fourrager de l'exploitation. Sa production est assez bien étalée sur toute l'année, cette répartition présente l'avantage d'avoir du fourrage vert pendant l'été et de pouvoir réaliser moins de stocks dans certaines situations (RENAULT, 2003).

Des travaux réalisés par plusieurs auteurs ont mis en évidence un effet positif de la luzerne déshydratée sur la qualité des acides gras du lait. Ainsi, MAURIES (2001), a montré que l'incorporation de 3.6 kg de luzerne déshydratée dans un ensilage de maïs améliore l'ingestion des animaux, le taux butyreux et la digestibilité de la ration totale. L'auteur a constaté une augmentation de l'ingestion de la matière sèche de 8 points sans pour autant aucun problème de météorisation ou autre trouble digestif.



DEWHURST et COULMIER (2004), ont également montré que l'ajout à la ration d'extraits de luzerne permet une augmentation de l'ingéré total et de la production laitière et par ailleurs modifie le profil en acides gras du lait en favorisant la présence de produits bénéfiques pour la santé notamment l'acide oléique (C 18:1), l'acide l'inoléique (C 18:2) et l'acide linoléique (C 18:3). De même, en étudiant l'influence de l'introduction de luzerne sur les performances zootechniques, PEYRAUD et *al.* (1998), ainsi que BALLARD (2009); ont constaté une augmentation du taux butyreux et des teneurs en acides gras du lait.

4. Microsymbionte : partenaire bactérien

Le terme rhizobia est donné pour toutes les bactéries du sol capables de fixer l'azote atmosphérique et former des nodules sur les racines des plantes légumineuses, l'azote atmosphérique est fixé ou réduit en ammoniacque pour être assimilable par les plantes (ELFIKI 2005 ; WILLEMS 2006 ; ASADI RAHMANI et al. 2009).

Les rhizobia sont capables également d'interagir avec le système racinaire des plantes non légumineuses et d'améliorer la productivité agricole. Elles sont regroupées sous le terme de « Bactéries promotrices de la croissance végétale » (Plant growth promoting rhizobacteria ou PGPR). Ces bactéries en interaction mutualiste avec les plantes n'induisent pas la formation d'un organe spécifique, mais les deux organismes impliqués tirent profit de cette relation non obligatoire. Différents travaux ont démontré les effets bénéfiques de *Rhizobium leguminosarum* sur la laitue et la canne à sucre (SINGH et *al.*, 2013). Les effets bénéfiques de ces PGPR se traduisent par une synthèse de phytohormones, de sidérophores (AHEMAD et KHAN, 2011) et une augmentation de la solubilisation du phosphate (KHAN et *al.*, 2010).

4.1. Caractères généraux des rhizobia

Les rhizobia constituent 0.1 à 8 % de la flore bactérienne totale du sol (SADORWSKY et GRAHAM, 1998), ils se présentent sous forme de coccobacilles ou en bâtonnets réguliers de 0.6 à 0.8 µm de large sur 1 à 4 µm de long (DOMMERGUES et MANGENOT, 1970 ; VINCENT, 1974), aérobies strictes (PELMONT, 1993), Gram négatives et asporulés (JORDAN, 1984 ; BEKKI, 1983), généralement très mobiles quand elles sont jeunes grâce à la présence d'un seul flagelle polaire ou 2 à 6 flagelles péritriches (BERGEY'S, 1984).

Ces bactéries se trouvent soit à l'état libre ou à l'état symbiotique sous forme de bactéroïdes avec une taille dix fois plus grande. Ces derniers ont une forme en X, Y et T (DOMMERGUES ET MANGENOT, 1970).



Sur milieu YEM gélosé (VINCENT, 1970), ces bactéries forment des colonies de 2 à 4 mm de diamètre après 3 à 5 jours d'incubation, de couleur blanchâtres ou beiges, circulaires, convexes, semi translucides ou opaques, élevées et mucilagineuses. Les rhizobia sont des bactéries mésophiles, leur température optimale de croissance se situe entre 25 et 30 °C (ELKAN, 1992). Certaines espèces peuvent se développer à des températures allant de 40,5 °C à 42 °C, c'est le cas de *Rhizobium meliloti* qui peut se développer à 42 °C (AFFIANHA et ALEXANDER, 1992). D'autres souches isolées des légumineuses ligneuses au Kenya, en Inde et au Pakistan peuvent croître à des températures variant entre 44°C et 50°C (ZAHNAN, 1999). Cependant, la température de croissance des rhizobiums varie en fonction de l'espèce et de la région d'isolement (CACCIARI *et al.*, 2003).

Si la plupart des rhizobia préfèrent la neutralité (JORDAN, 1984), d'autres au contraire tolèrent des pH très bas (VINCENT, 1977), c'est le cas de *Bradyrhizobium japonicum* qui supporte des pH de l'ordre de 3.5 à 4 (DOMMERGUES et MANGENOT, 1970). D'autre part il a été montré que des souches de *Rhizobium* peuvent croître à des pH alcalins allant jusqu'à 12 (KULKARNI *et al.*, 2000).

En raison du temps de génération, les rhizobia sont classées en deux grands groupes :

Les rhizobia à croissance rapide ; avec un temps de génération de 2 à 4 heures, elles développent une turbidité remarquable dans un milieu de culture liquide après 2 à 3 jours. Elles sont capables d'utiliser une grande gamme d'hydrates de carbone (mais habituellement croissent mieux sur glucose, mannitol et saccharose) entraînant souvent une production d'acide. (SADOWSKY ET AL. 1983 ; SOMASEGARAN ET HOBEN 1985 ; BALA *et al.* 2004).

Les rhizobia à croissance lente ; avec un temps de génération de 6 à 7 heures, elles exigent 3 à 5 jours pour la production d'une turbidité modérée dans un milieu liquide. Ce groupe de rhizobia se développe sur une gamme moins large de sources de carbones et entraîne une production d'alcalis (SADOWSKY ET AL. 1983 ; SOMASEGARAN et HOBEN 1985 ; BALA *et al.* 2004).

4.2. Taxonomie des rhizobia

La première classification des rhizobia a été basée sur les tests de l'inoculation croisée entre les rhizobia et leurs plantes hôte et sur d'autres critères morphologiques et culturelles (WILLEMS, 2006 ; BERRADA et FIKRI-BENBRAHIM, 2014).

L'isolement des rhizobia associés aux légumineuses non prises en compte auparavant, a souvent conduit au bouleversement de leur taxonomie. Ces modifications constantes de la



taxonomie ont conduit à la recherche des critères à prendre en compte pour la description de nouveaux taxons (BERRADA et FIKRI-BENBRAHIM, 2014). C'est ainsi que les bactériologistes ont commencé l'utilisation de la taxonomie polyphasique qui permet de prendre en compte une large gamme d'information phénotypique (caractères morphologiques, physiologiques) et génotypique (analyse des plasmides, hybridation ADN/ADN, analyse du pourcentage en GC) (WILLMS, 2006 ; BERRADA ET FIKRI- BENBRAHIM, 2014 ; PEIX et al. 2015).

Le changement le plus important dans la taxonomie des rhizobia est en relation avec l'introduction des techniques génétiques qui permettent l'analyse des gènes (séquençage des gènes de l'ARNr 16S, analyse des *Housekeeping genes* tels que le *recA*, *atpD*, *glnII*) (WILLEMS 2006 ; MASSON-BOIVIN et al. 2009 ; BERRADA et FIKRI-BENBRAHIM 2014 ; PEIX et al. 2015).

D'après l'analyse des séquences ADNr 16S, tous les rhizobia appartiennent à trois sous-classes phylogénétiques distinctes α , β et γ -*Proteobacteria* connu sous le nom de alpha, beta ou gamma-rhizobia (WILLEMS, 2006 ; MASSON-BOIVIN et al. 2009 ; BERRADA et FIKRI- BENBRAHIM, 2014 ; PEIX et al. 2015).

Les 11 genres de la sous-classe α -*Proteobacteria* : *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Ensifer* (anciennement *Sinorhizobium*), *Mesorhizobium*, *Methylobacterium*, *Devosia*, *Microvirga*, *Ochrobactrum*, *Phyllobacterium*, et *Shinella*. Les deux genres de la sous-classe β - *Proteobacteria* : *Burkholderia* et *Cupriavidus* (anciennement *Ralstonia*). Le genre de la sous-classe γ - *Proteobacteria* est *Pseudomonas sp.* (BERRADA et FIKRI-BENBRAHIM, 2014 ; PEIX et al., 2015; VELAZQUEZ et al., 2017).

Cette classification est loin d'être définitive, elle est dynamique et en perpétuel changement, ce qui la rend complexe. Cette complexité est non seulement liée à la diversité des isolats bactériens et des plantes légumineuses mais aussi due au phénomène naturel qui est le brassage génétique entre les bactéries du sol qui est souvent soldé par un transfert latéral des gènes entre les souches du même genre ou de différents genres (BERRADA et FIKRI-BENBRAHAM, 2014).

5. Processus de nodulation

La symbiose rhizobium-légumineuse est le résultat d'échanges de signaux moléculaires entre les deux partenaires conduisant à la formation de nodules sur les racines, où les bactéries sont converties en bactéroïdes fixatrices d'azote (SAKROUHI, 2017).



Les nodosités sont le siège d'une activité symbiotique dans laquelle la plante fournit les sucres et l'énergie à la bactérie qui en échange procure à la plante des dérivés azotés assimilables par la plante comme l'ammonium (MASSON-BOIVIN *et al.* 2009)

La formation de nodules racinaires efficaces (fixateurs d'azote) nécessite une expression temporelle et spatio-temporelle coordonnée des gènes végétaux et bactériens (ZAHARAN, 2006). Les principales étapes du déroulement de la nodulation sont résumées dans la figure 1.

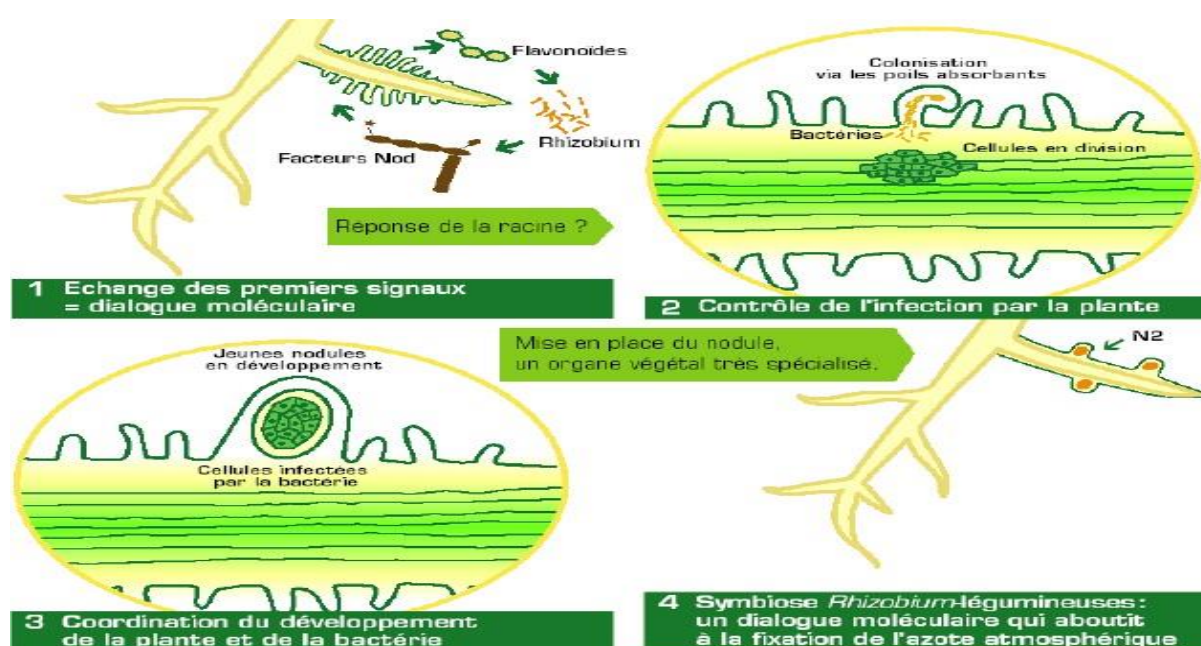
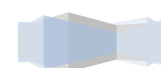


Figure 1 : Le processus de nodulation (JOURNET, 2004)

5.1. Echange de signal d'infection

La première étape dans le processus de nodulation se traduit par un échange de signal d'infection entre le rhizobium et la plante hôte. Cet échange se fait par le biais des flavonoïdes caractérisés par leurs effets attracteurs sur certains micro-organismes du sol. Ce signal, une fois perçu par le rhizobium induit la production de facteur Nod (OLDROYD, 2001). Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires de nature aromatiques exsudés par les racines de la plante dans la rhizosphère et perçus par les rhizobiums dans le sol (TAYLOR et GROTEWOLD, 2005, GIBSON *et al.*, 2008). La synthèse des flavonoïdes a lieu dans la plupart des organes des plantes et ont des rôles variés. Outre la signalisation symbiotique, les flavonoïdes jouent un rôle dans la pigmentation des fleurs, la défense en réponse aux pathogènes, la germination du tube pollinique (OLDROYD, 2001).



Les flavonoïdes sont des molécules composées de trois cycles aromatiques. Elles sont classées selon l'arrangement des cercles aromatiques qui les composent et des substitutions qu'ils portent. Les principales classes de flavonoïdes sont les Chalcone, Flavanone, Flava-3-ol, Flavone, Isoflavone, Flavonol et Anthocyanine (SHAMSELDIN *et al.*, 2008). En présence des flavonoïdes, les gènes régulateurs tels que *nodD*, *syrM*, *nolA*, *nolR* régulent l'activité des gènes de nodulation (PERRET *et al.*, 2000, ZHANG *et al.*, 2009).

Les facteurs nod sont des dérivés de chitine, un polymère de N-acétyl-D-glucosamine avec des liaisons $\beta 1 \rightarrow 4$. Ils jouent un rôle crucial dans le processus de nodulation. Les facteurs nod sont des polymères similaires sauf qu'un acide gras remplace un groupement acétyle à l'une des extrémités de la molécule (FORET, 2004).

5.2. Infection

Les bactéries s'attachent aux racines par l'intermédiaire d'une molécule d'adhésion spécifique, la rhicadhésine ainsi que des protéines spécifiques localisées à la surface des cellules. Les facteurs Nod sécrétés par les rhizobiums, induisent une dépolarisation de la membrane plasmique accompagnée d'une oscillation du flux de Ca^{+2} . L'infection se traduit par l'induction de l'expression des gènes spécifiques et la formation de la crosse de berger qui enferme les rhizobiums (ESSELING *et al.*, 2003, GAGE., 2004).

Chez quelques espèces, les rhizobia entrent directement à travers des fissures intercellulaires qui s'ouvrent au niveau de l'émergence des racines latérales, cette forme de pénétration est connue comme crack entry. Chez d'autres, la pénétration s'effectue à travers des blessures au niveau de la couche épidermique, notamment au niveau de l'émergence des racines latérales. Dans certains cas (comme *Phaseolus*), la pénétration des rhizobiums est mixte : à travers les poils radicaux et crack entry (DAZZO, 2008).

5.3. Développement du nodule et maturation des bactéroïdes

Après la digestion des parois des poils absorbants, on observe la formation d'une paroi qui entoure les rhizobiums appelée le cordon d'infection. Le cordon d'infection bourgeonne et les bactéries se différencient en bactéroïdes qui vont être enfermées dans les cellules hôtes au sein de vésicules limitées par une membrane, l'ensemble constitue le symbiosome (LODWIG et POOLE, 2003).

Les bactéries poussent et prolifèrent à l'intérieur du cordon d'infection et vont se libérer dans le cytoplasme des cellules corticales, provoquant ainsi l'apparition du méristème dont l'activité est à l'origine de la formation du nodule (LINDSTROM *et al.*, 2002).



Les bactéroïdes produisent la nitrogénase (figure 2) indispensable pour la fixation d'azote. Les bactéroïdes sont séparés du cytoplasme végétal par une membrane de séquestration servant de plaques d'échange entre les bactéries et les cellules de la plante hôte (DUPUY et NOUGIER, 2005).

Le nodule se forme avec la multiplication des cellules du cortex. Le nodule contient des hèmes appelés légghémoglobines synthétisés à l'intérieur du cytoplasme des cellules de la plante et permet de créer des conditions de microaérobie nécessaires pour le bon fonctionnement de la nitrogénase (LINDSTROM *et al.*, 2002 ; SAKROUHI, 2017).

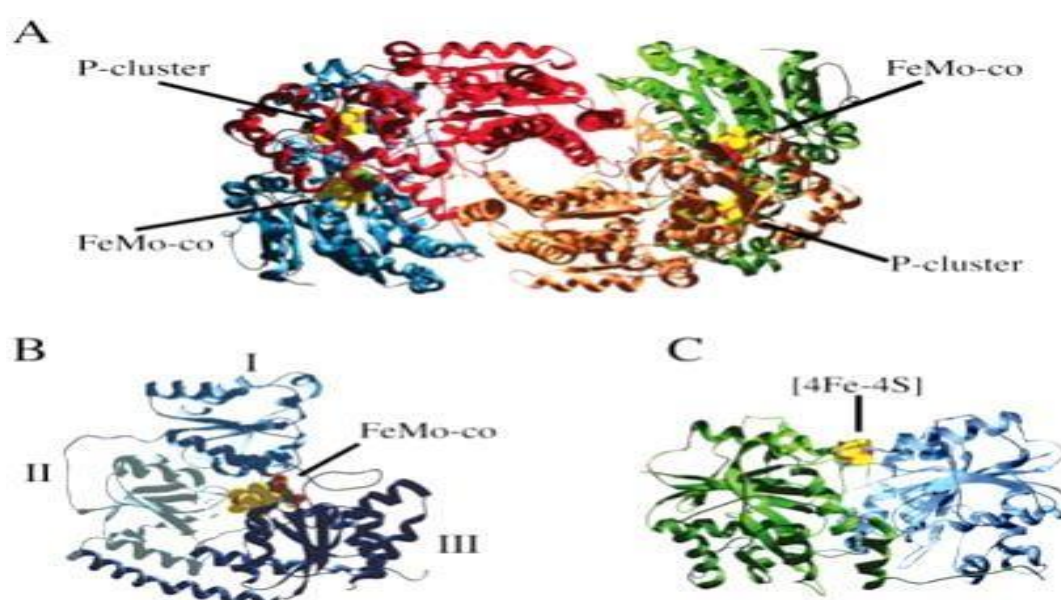


Figure 2 : Structure de la nitrogénase (RUBIO et LUDDEN, 2005).

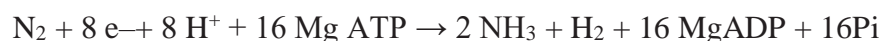
6. Mécanisme de fixation d'azote atmosphérique

La réduction de l'azote à l'intérieur du nodule exige de l'énergie qui est fourni par la plante. La photosynthèse produit du saccharose transporté au nodule et convertie dans le cytosol de la plante en acides dicarboxylique qui fournissent les bactéroïdes avec le carbone et l'énergie à travers la membrane du symbiosome (PHILIPPOT et GERMON, 2005).

Pour la génération d'énergie par respiration, un haut flux mais avec une concentration interne faible d'oxygène est accompli à l'aide de légghémoglobine (FRANCHE *et al.* 2009).

La fixation de l'azote est une réaction de réduction de l'azote moléculaire N_2 en ammoniacque NH_3 (ou ammonium NH_4^+), l'équation de la réaction chimique est :





L'équation indique qu'une molécule d'azote atmosphérique N_2 se combine avec des protons H^+ pour former deux molécules d'ammoniaque (2NH_3) et deux molécules d'hydrogène en gaz (2H_2). Cette réaction est menée par la nitrogénase. L'ammoniaque (NH_3) formé est convertie en acide aminé, la glutamine ou l'asparagine par les bactéroïdes et transporté dans le cytosol de la plante à travers la membrane du symbiosome (figure 3) (FRANCHE et *al.* 2009).

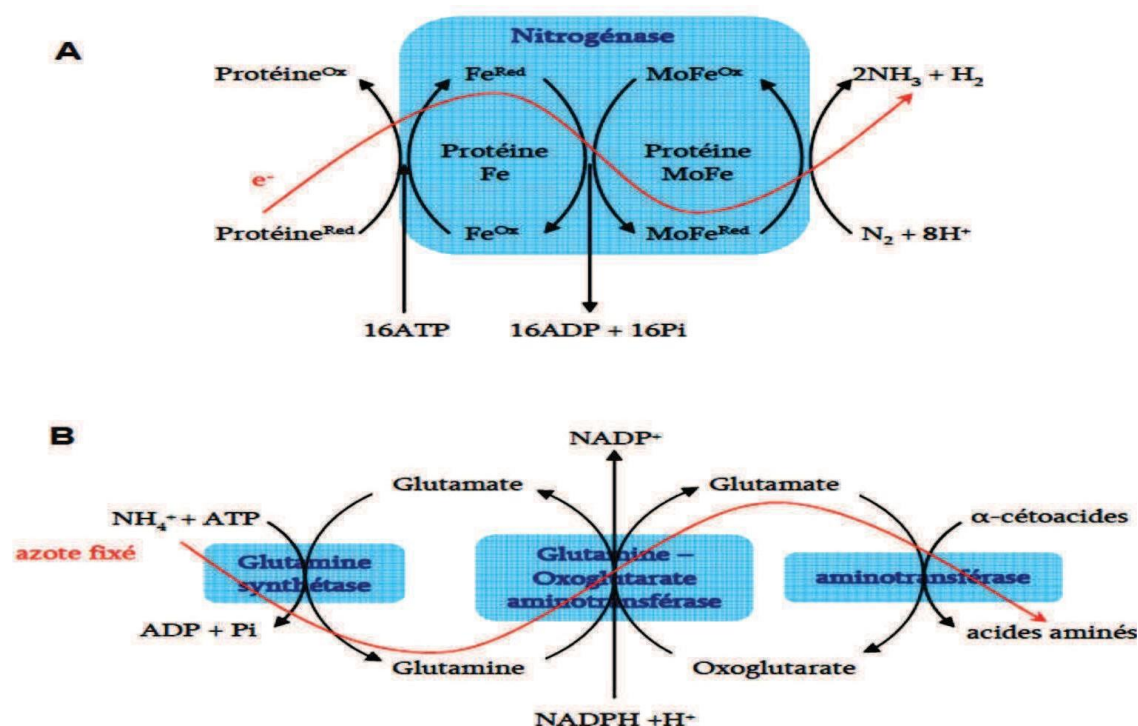


Figure 3: Mécanismes biochimiques impliqués dans la fixation d'azote. A ; mécanisme moléculaire de la réduction de l'azote en ammoniacque par la Nitrogénase. B ; cycle GS-GOGAT qui permet l'assimilation de l'azote fixé dans le métabolisme de la cellule (MASSON-BOIVIN et *al.*, 2009)

6.1. Nitrogénase et gènes de fixation d'azote

La structure du complexe nitrogénase et des séquences codant les différentes unités polypeptidiques sont très conservées chez les diazotrophes libres et symbiotiques (FRANCHE et *al.*, 2009). Ce sont les gènes *nif* et *fix* bactériens qui sont impliqués dans l'activité nitrogénase et la fixation d'azote. La caractérisation et l'organisation des gènes *nif* ont principalement été étudiées chez un fixateur libre : *Klebsiella pneumoniae*. Plus de vingt gènes *nif* organisés en opérons interviennent dans la synthèse et le fonctionnement du complexe nitrogénase dont les gènes *nifHDK* qui représentent les gènes de structure. Les gènes *nifDK* codent les chaînes $\alpha\beta$ de la protéine I, à cofacteur FeMo de la nitrogénase,



responsable de la réduction de N_2 en NH_3 . Le gène *nifH* code pour la protéine II, ou réductase, qui assure le transfert d'électrons nécessaires à la réduction de N_2 . Parmi ces gènes, *nifH* est le plus largement séquencé et est devenu le marqueur de choix pour l'étude de l'écologie et de la diversité des organismes fixateurs d'azote. L'assemblage complet de la nitrogénase nécessite les produits de gènes *nif* impliqués dans la synthèse de FeMo-Co, tels que : *nifB*, *nifQ*, *nifE*, *nifN*, *nifX*, *nifU*, *nifS*, *nifV*, *nifY* et *nifH* ainsi que d'autres gènes *nif* : *nifS*, *nifU*, *nifW* et *nifZ*. *Klebsiella* porte également des gènes de transport d'électrons (*nifF* et *nifJ*), ainsi que des régulateurs transcriptionnels *nifLA* des opérons *nif* (Dixon and Kahn, 2004). Les gènes *nifH*, *nifD*, *nifK*, *nifY*, *nifB*, *nifQ*, *nifE*, *nifN*, *nifX*, *nifU*, *nifS*, *nifV*, *nifW*, *nifZ*, nécessaires à la synthèse et au fonctionnement de la nitrogénase, sont conservés chez tous les diazotrophes (GLICK, 2012).

Bien que très conservés chez les micro-organismes fixateurs d'azote, les gènes *nif* diffèrent au niveau de leur localisation : soit plasmidique ou chromosomique ; de leur organisation et de la régulation de leur expression. L'activation symbiotique des gènes *nif* chez les rhizobia dépend de la concentration en oxygène ; elle-même régulée par une série de gènes *fix*. D'autres gènes (*rnfABCDGEF*) peuvent également être impliqués dans l'activité de la nitrogénase. Sous condition favorable limitée en oxygène, des souches rhizobiennes symbiotiques telles que : *B. japonicum*, *R. leguminosarum* et *A. caulinodans* sont aptes à exprimer une activité nitrogénase *in vitro*. Certaines bactéries telles qu'*Azotobacter* et plusieurs fixateurs d'azote photosynthétiques, incluant des cyanobactéries, possèdent des formes alternatives de nitrogénases à cofacteurs vanadium et fer (*Vnf*) ou fer (*Anf*) (NEWTON et DILWORTH, 2011).

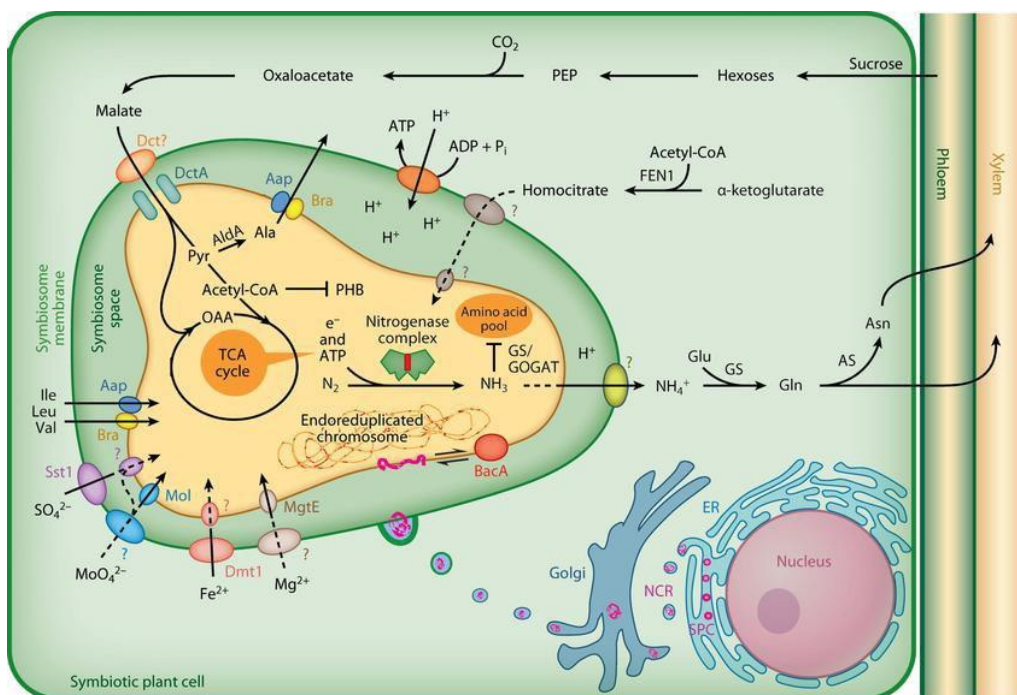
6.2. Métabolisme du carbone et de l'azote, lors de la fixation d'azote

La symbiose fixatrice d'azote, coûteuse en énergie, nécessite 16 à 24 moles d'ATP pour la réduction d'une mole d' N_2 (FRANCHE et *al.*, 2009). Les photosynthétats de la plante et notamment le saccharose serait source d'énergie, transporté des parties aériennes aux nodules par le phloème (UDVARDI et POOLE, 2013). Ce saccharose est ensuite métabolisé, dans les cellules nodulaires, en acides dicarboxyliques C-4 (malate, fumarate, succinate). Ces acides dicarboxyliques sont, à leur tour, métabolisés au travers du cycle TCA (Acides TriCarboxyliques), fournissant de l'ATP et une capacité réductrice, nécessaire au fonctionnement de la nitrogénase (ARSENE et *al.*, 1996). Deux transporteurs sont respectivement situés sur la membrane du symbiosome et la membrane du bactéroïde (*DctA*). L'activation de *dctA* serait sous dépendance d'un système à deux composants activé par les



acides dicarboxyliques C-4. Le système enzymatique du TCA intervient, au niveau bactéroïdien, dans le métabolisme du carbone. L'inactivation de ce système enzymatique conduit à une inefficience nodulaire. Les acides dicarboxyliques C-4 semblent, au niveau bactéroïdien, bloquer l'expression des gènes *nod* (UDVARDI et POOLE, 2013).

Le NH_3 , produit par l'activité nitrogénase, diffuse dans l'espace pér bactéroïdien où il est converti en NH_4^+ qui migre ensuite vers le cytoplasme de la plante, au travers de canaux de la membrane pér bactéroïdienne. La plante fournit la source de carbone nécessaire à la production d'ATP et au fonctionnement de la nitrogénase. Contrairement aux fixateurs libres qui utilisent l'azote, les rhizobia transmettent l'azote fixé à la plante. L'assimilation de NH_4^+ par les rhizobia est réprimée lors de la différenciation en bactéroïdes, au niveau de la glutamine synthétase (GS) et la glutamate synthétase (GOGAT). Chez la plante, l'activité GS est fortement stimulée au niveau des nodules par rapport aux racines. Au sein du bactéroïde, un cycle métabolique des acides aminés se couplerait au cycle du TCA, produisant de l'alanine et de l'aspartate (PRELL et POOLE, 2006 ; DOMERGUE, 2017). Le métabolisme de C et N des deux partenaires semble mutuellement dépendant (Figure 4).



Oldroyd GED, et al. 2011. Annu. Rev. Genet. 45:119-44

Figure 4 : Mécanismes d'échange de carbone et d'azote dans une cellule nodulaire infectée (OLDROYD GED et al., 2011).



7. Effet du stress hydrique sur les légumineuses et leurs symbioses rhizobiennes

D'une manière générale, les études agronomique et écologique de la symbiose rhizobia-légumineuses portent non seulement sur leurs propriétés symbiotiques (pouvoir de nodulation, efficacité, spécificité et spectre d'hôte) mais aussi sur leur capacité d'adaptation aux contraintes environnementales qui affectent les légumineuses et leurs symbioses. Selon HUNGRIA et VARGAS (2000), les principaux facteurs environnementaux limitant la relation symbiotique rhizobia-légumineuse sont la sécheresse, la salinité, les hautes températures, les pH acides extrêmes.

Une sécheresse prolongée affecte négativement les deux partenaires et toutes les étapes de l'établissement et de fonctionnement de la symbiose rhizobia- légumineuses (SERRAJ *et al.*, 1999 ; REDDY *et al.*, 2003).

7.1. Effet du stress hydrique sur la plante

Le déficit hydrique, permanent ou temporaire, limite la croissance et le rendement des plantes, plus que tout autre facteur environnemental (SHAO *et al.*, 2008). Les plantes perçoivent et réagissent rapidement aux modifications de la quantité d'eau dans les cellules à travers une série d'événements parallèles d'ordre anatomique, physiologique, cellulaire et moléculaire (CHAVES *et al.*, 2009). L'effet du stress hydrique au niveau de la plante entière se manifeste par la diminution de la croissance, de la photosynthèse et par l'altération du métabolisme carboné et azoté (DEBAEKE *et al.*, 1996 ; TELLAH, 2016). En effet, la croissance est l'une des processus physiologiques la plus sensible à la sécheresse. Le stress hydrique réduit considérablement l'expansion des cellules et la croissance cellulaire en raison de la réduction de la pression de turgescence. Sur le plan quantitatif et qualitatif, la croissance des plantes dépend de la division et la différenciation cellulaire, et tous ces événements peuvent être touchés par le stress hydrique (CORREIA *et al.*, 2001 ; CABUSLAY *et al.*, 2002). Dans maintes études sur différentes espèces végétales, il s'est montré que le stress hydrique influence significativement la croissance des racines en longueur ainsi que leur biomasse (NATIV *et al.*, 1999 ; MARRON *et al.*, 2002, KUSAKA *et al.*, 2005). La longueur des tiges est également limitée sous déficit hydrique (PITA et PARDES, 2001 ; MARRON *et al.*, 2002). De plus, le nombre de ramifications et le nombre d'organes élémentaires (phytomères) de la tige sont drastiquement réduits (LECOEUR *et al.*, 1995 ; BELAYGUE *et al.*, 1996). Le déficit hydrique peut réduire le nombre des feuilles par plante, la taille des feuilles ainsi que leur longévité par la baisse du potentiel hydrique du sol, ce qui influence négativement la surface foliaire assimilatrice. En effet, la réduction de la surface foliaire peut



provenir d'une diminution de l'expansion foliaire et/ou d'une sénescence accélérée de la feuille. La réduction de la croissance des feuilles sous déficit hydrique se traduit par plusieurs mécanismes à l'échelle cellulaire : décroissance de la vitesse de division cellulaire (GRANIER et *al.*, 2000), rigidité des parois cellulaires empêchant la déformation des parois et donc limitant la croissance cellulaire (COSGROVE, 2005) et diminution de la turgescence (BOU CHABKE et *al.*, 2006). L'extensibilité de la paroi ne dépend pas uniquement de ses propriétés élastiques, mais également des phénomènes biochimiques impliqués dans les processus de relaxation de celle-ci, des signalétiques hormonales et de l'expression de gènes induits par le stress. La régulation des gènes affectant la croissance est assez nettement différente chez les racines et les parties aériennes (WU et COSGROVE, 2000). La croissance des racines est moins affectée par rapport aux parties aériennes, végétatives et reproductives (SAAB et *al.*, 1990 ; MAHAJAN et TUTEJA, 2005).

L'un des premiers effets du déficit hydrique est le déclin de l'assimilation photosynthétique du carbone. La réduction de la photosynthèse, liée à la diminution du potentiel hydrique foliaire, est supposée dépendre de la limitation de la conductance stomatique ainsi que de la conductance du mésophylle à la diffusion de CO₂ avec pour conséquence une limitation biochimique des chloroplastes à fixer de CO₂ (FLEXAS et *al.*, 2007). Les deux types de limitations : stomatique et non-stomatique ont été généralement considérées comme le principal déterminant de la réduction de la photosynthèse en conditions de sécheresse (FAROOQ et *al.*, 2009). D'ailleurs, la photosynthèse est intrinsèquement liée à la transpiration et il n'existe aucun moyen connu pour contourner l'échange "eau contre carbone". Souvent, sous déficit hydrique, le déclin de la photosynthèse est dû à une diminution de l'activité de la ribulose 1,5 biphosphate carboxylase/oxygénase (RuBisCO) (MAHAJAN et TUTEJA, 2005), ce qui limite sérieusement la régénération du ribulose biphosphate (RuBP), substrat du cycle de Calvin. L'altération du métabolisme photosynthétique des plantes déficitaires en eau peut être une conséquence d'un stress oxydatif. En effet, la déficience en CO₂ intracellulaire résulte en une sur-réduction des composantes de la chaîne de transport d'électrons et ces derniers sont transférés aux molécules d'oxygène au niveau de photosystème I (PS I) dans les chloroplastes. Ce transfert mène à la production d'espèces réactives d'oxygène (ERO). La diminution du taux de l'assimilation du CO₂ dans les feuilles est associée à une inhibition de la photosynthèse, ce qui provoque une augmentation de la dissipation de l'énergie d'excitation du PS II, entraînant des photo-endommagements des centres réactionnels du PS II (O'NEIL et *al.*, 2006).



L'analyse de la fluorescence chlorophyllienne et de ses composantes photochimiques et non photochimiques (rendement quantique photochimique du PSII, efficacité photochimique maximale du PSII, taux du transport des électrons du PSII, quenching photochimique et quenching non photochimique), sous contrainte hydrique, montre une perturbation au niveau des réactions photochimiques de la photosynthèse avec un blocage du transfert d'électrons entre LHC II et PS II (O'NEIL *et al.*, 2006 ; CHAKHCHAR, 2015).

La plante se comporte comme un système biologique dont les caractéristiques physiologiques changent avec l'état hydrique. L'effet dépressif du stress hydrique sur la plupart des processus physiologiques et métaboliques de la plante se répercute sur les composantes du rendement, le rendement lui-même, ainsi que sa qualité. Le déficit hydrique est un des principaux facteurs limitant de la production des légumineuses. Le plus souvent, un déficit hydrique pendant les étapes de la fructification abaisse largement la production des grains (DE RAISSAC, 1992).

L'effet d'un déficit hydrique sur le rendement en graines dépendra de sa position par rapport aux phases phénologiques (de croissance végétative, de floraison – fécondation et de remplissage des graines), ou de son intensité s'il est étalé sur l'ensemble de la période reproductrice (MOUHOUCHE B. 2001).

7.2. Effet du stress hydrique sur la nodulation

En conditions de déficit hydrique prolongé et intense, la survie de la population bactérienne (rhizobia) est affectée (VAN GESTEL *et al.*, 1993 ; HUNGRIA et VARGAS, 2000). En outre, le mouvement de ces micro-organismes est entravé, induisant de ce fait une baisse de l'infection des racines (SERRAJ *et al.*, 2004). Le stress hydrique affecte l'initiation, le développement, le fonctionnement nodulaire et la synthèse de leghémoglobine ainsi que la capacité photosynthétique des feuilles (SERRAJ et DREVON, 1994 ; HUNGRIA et VARGAS, 2000).

L'effet inhibiteur du stress hydrique sur la nodulation pourrait être attribué à l'altération de l'activité métabolique des nodules ou bien à des effets directs sur la perméabilité nodulaire à l'oxygène (GONZALEZ *et al.*, 1998).

L'effet du stress hydrique sur la symbiose dépend généralement de la phase de la croissance et de développement de la plante, mais aussi de la sévérité de la contrainte hydrique (ZAHARAN, 1999). Un stress hydrique modéré réduit seulement le nombre de nodules formés sur des racines de soja, alors qu'un stress sévère réduit le nombre et la taille des nodules (WILLIAMS et DEMALLORCA, 1984). L'effet du stress hydrique sur la nodulation dépend



de son intensité et de la période de son application. Ainsi, un stress appliqué au stade de développement végétatif affecte la nodulation, mais, cette dernière peut reprendre normalement, et même mieux que le témoin après ré irrigation. Par contre, un stress appliqué pendant la période de reproduction affecte définitivement le nombre et le poids des nodules du haricot (PENA-CABRIALES et CASTELLANOS, 1993 ; SANGAKKARA, 1994).

Sur la fève, GUERIN *et al.* (1990) constatent une très forte corrélation entre le potentiel hydrique des feuilles et des nodules, néanmoins, le potentiel hydrique nodulaire augmente (dans l'absolu) plus rapidement que le potentiel foliaire. Un stress appliqué durant la phase de développement des gousses affecte l'activité nitrate réductase et la biomasse de la fève (PLIES-BALZER *et al.* 1995).

ZAHARAN *et al.* (1994), ont montré que les rhizobia exposés à un stress osmotique ont eu comme conséquence une altération de leur membrane lipopolysaccharide, qui est impliquée dans le processus de reconnaissance entre le rhizobia et la plante hôte. Le processus d'infection des racines de légumineuses par les rhizobia et de la formation du cordon d'infection est sérieusement inhibé par le stress hydrique (GRAHAM, 1992). Le stress hydrique retarde la formation des nodules chez les légumineuses (REDDI et REDDY, 1995). La réduction de nombre de nodules a été également observée chez la fève et l'haricot exposés au stress hydrique (SANGAKKARA *et al.*, 1996). Les nodules déterminés sont plus sensibles au stress hydrique par rapport aux nodules indéterminés (SERRAJ *et al.*, 1999). SMITH *et al.* (1992) ont montré une diminution de la masse du nodule de l'haricot et du soja soumis au stress hydrique.

7.3. Effet du stress hydrique sur la fixation symbiotique de l'azote

La fixation symbiotique de l'azote est fortement affectée par le déficit hydrique, à cause de la réduction de la leghémoglobine dans les nodules, de la diminution de l'activité spécifique des nodules et de la réduction de nombre et poids sec des nodules (REDDY *et al.*, 2003). Dans les nodules de soja, l'activité de la nitrogénase est presque annulée avec le début du stress hydrique, tandis que la teneur en hydrates de carbone n'a pas été affectée (DURAND *et al.*, 1987 ; FELLOWS *et al.* , 1987). Cette grande sensibilité de la fixation symbiotique de l'azote au stress a été expliquée par le fait que celui-ci provoque la plasmolyse des cellules corticales des nodosités et leur tassement, augmentant ainsi leur résistance à la diffusion de l'oxygène vers les bactéroïdes fixateurs (GUERIN *et al.*, 1990), ce qui est confirmé par le fait que l'accroissement de la pression partielle d'oxygène autour des nodosités augmente l'activité de



la nitrogénase (DREVON *et al.*, 1994).

L'activité nitrate réductase est considérablement influencée par le stress hydrique (SILVEIRA *et al.*, 2001). La diminution de l'ANR est associée à la diminution du flux des nitrates au limbe, à l'inhibition du flux transpiratoire qui transporte le nitrate vers les lieux de l'induction de l'enzyme, et à la baisse de la photosynthèse et de la respiration, sources d'énergie pour l'ANR. La perte de l'activité de la fixation est précédée par une réduction des échanges gazeux de la feuille et une baisse du contenu relatif en eau, ce qui constitue une contrainte importante pour l'accumulation de l'azote et le rendement potentiel des récoltes même dans un sol modérément desséché (VAN GESTEL *et al.*, 1993).

DESCHAMPS et WERY (1987), sur pois et pois chiche, montrent que l'absence de restriction hydrique favorise l'activité fixatrice et la production de biomasse aux dépens de la production de graines. Ceci est probablement dû au double effet de la compensation entre les deux composantes du rendement (la biomasse et la production de graines) et à l'antagonisme entre la fonction de production et de reproduction de la plante. Le stress hydrique semble avoir plus d'effet négatif sur la fixation que sur la biomasse et la production de graines.

Une étude comparative sur la sensibilité au stress hydrique de différentes variétés de pois chiche révèle une corrélation positive entre la résistance à la sécheresse et la fixation azotée (SINGH et RAI, 1982).

En résumé, les effets directs du stress hydrique sur la plante sont encore accentués par les effets dépressifs du stress sur la nodulation et la fixation de l'azote.

8. Mécanismes d'adaptation d'une plante soumise au stress hydrique

Selon LAWLOR (2009), les plantes ont recours à des comportements qui leur permettent de survivre à des situations de déficit hydrique par des méthodes d'adaptation. Ces méthodes leur permettent de préserver l'intégrité de leurs fonctions physiologiques et de leur assurer un état productif et de survie. En effet, le caractère adaptatif d'une plante doit non seulement lui permettre de survivre, mais aussi de se reproduire et de se pérenniser dans son environnement. Dans les zones arides et semi-arides sujettes à des déficits hydriques épisodiques, les plantes ont développé des mécanismes de régulation assurant leur survie. JONES (1992) a défini et établi une classification des stratégies d'adaptation des plantes à la sécheresse : la première consiste à "éviter" tout stress hydrique et inclut l'échappement (ou l'esquive) et l'évitement ; la deuxième, c'est la capacité à le "tolérer". Les stratégies de la tolérance sont associées immédiatement avec des réponses physiologiques et biochimiques, alors que les stratégies



d'évitement impliquent à long terme du développement et des traits morphologiques (MCCUE ET HANSON, 1990).

Ces mécanismes décrits sont les mêmes pour toutes les espèces végétales. Cependant, la variabilité génétique qu'ils présentent est dépendante de l'espèce. Or, la question de la variabilité génétique est centrale pour un programme de sélection intraspécifique. Certains caractères comme le développement racinaire et la régulation stomatique ont une valeur adaptative universelle, d'autres comme l'accumulation d'ABA ou de proline (MADHUSUDHAN et *al.* 2002) paraissent présenter moins d'intérêt, d'autres encore comme l'ajustement osmotique semblent varier beaucoup moins chez les légumineuses que chez les céréales (SUBBARAO et *al.* 1995).

8.1. Echappement

Le principe correspond à un décalage entre le cycle de développement, de reproduction et la phase climatique de limitation. L'esquive permet à la plante de réduire ou d'annuler les effets de la contrainte hydrique par une bonne adaptation de son cycle de culture à la longueur de la saison des pluies. Le développement phénologique rapide avec une floraison précoce, permet à la plante d'éviter les périodes sèches. Cette stratégie appliquée aux espèces cultivées a amené à décaler la date de semis et/ou à sélectionner des variétés plus précoces permettant d'éviter les déficits hydriques de fin de cycle (AMIGUES et *al.*, 2006).

Selon ELHASSANI et PERSOONS (1994), dans le cas de l'esquive, la plante effectue son cycle végétatif en dehors des périodes de sécheresse qui pourraient interférer de façon significative avec le rendement. Le rendement de nombreuses variétés a été amélioré grâce au raccourcissement des longueurs de cycle (précocité) et ceci chez pratiquement toutes les espèces cultivées annuelles (TURNER et *al.*, 2001), sur les légumineuses (SUBBARAO et *al.*, 1995), comme sur les céréales (FUKAI et *al.*, 1999). Cependant, les sélections de variétés à cycles courts ne permettent pas toujours d'améliorer les rendements dans le cas où le déficit hydrique a lieu aussi en cours de cycle (KHALFAOUI, 1990). En effet, MERAH (1999) précise que l'augmentation de la précocité permettant de réduire la durée du cycle de culture a souvent une corrélation négative avec le potentiel de rendement.

8.2. Evitement

L'évitement consiste à maintenir un état hydrique interne satisfaisant en présence d'une contrainte hydrique. Trois grands types de réponses permettent à la plante d'éviter ou, plus exactement, de retarder la déshydratation de ses tissus (TURNER *et al.*, 2001). Ce mécanisme



est appelé « évitement », en anglais *avoidance* ou parfois *dehydration post-ponement*. Le premier groupe de caractères est lié à l'efficacité de l'extraction de l'eau du sol par les racines. L'aptitude des racines à exploiter les réserves en eau du sol sous stress est une réponse particulièrement efficace pour l'élaboration de la production de graines. Le deuxième type de réponse est constitué par la régulation de l'ouverture fermeture des stomates, il conditionne les échanges entre CO₂ et H₂O et par conséquent la croissance et la productivité des cultures (LUDLOW et MUCHOW, 1990). Le troisième correspond à l'ajustement osmotique que les plantes réalisent en réponse au déficit hydrique (TURNER *et al.*, 2001). Lorsque le potentiel hydrique foliaire décroît, le potentiel de turgescence et la conductance stomatique sont maintenus grâce à une accumulation intracellulaire de solutés permis par ce mécanisme. La pertinence des caractères correspondant à ces réponses pour la sélection sera discutée pour chacune des trois formes d'évitement définies :

-La capacité d'extraction de l'eau par le système racinaire : L'optimisation de l'absorption d'eau est liée à un ensemble complexe de caractères morphologiques des racines : masse et volume, ramification, profondeur (ADDA *et al.*, 2004 ; SAHNOUNE, 2005). L'aptitude des racines à exploiter les réserves en eau du sol sous stress est une réponse particulièrement efficace pour l'élaboration de la production de graines (RAMANJULU et BARTELS, 2002). Un système racinaire capable d'extraire l'eau du sol est un trait essentiel pour la résistance à la sécheresse. Cette caractéristique revêt une importance particulière sur les cultures qui subissent régulièrement des déficits hydriques de fin de cycle (KHALFAOUI, 1990 ; SUBBARAO *et al.*, 1995). Son impact sur le rendement est particulièrement élevé car elle intervient directement dans l'efficacité de l'utilisation de l'eau en conditions de stress. La majorité des résultats reportés montre une corrélation positive entre la profondeur d'enracinement et le rendement en grain notamment sur l'arachide (KHALFAOUI, 1985).

-La régulation stomatique : Située à l'interface entre l'intérieur (plus ou moins turgescence) et l'extérieur (plus ou moins sec) des tissus foliaires, les stomates jouent un rôle fondamental dans la régulation des pertes en eau de l'appareil foliaire. La régulation de l'ouverture-fermeture des stomates dépend du potentiel hydrique foliaire et de l'humidité de l'air au champ (TURNER, 1977). Une faible conductance conduit à une fermeture des stomates rapide en conditions de déficit hydrique. Les génotypes à faible conductance sont plus sensibles au déficit de vapeur et à la baisse du potentiel hydrique foliaire que les génotypes à forte conductance. Une faible conductance est généralement proposée comme un trait favorable à l'adaptation à la sécheresse. Cependant la fermeture stomatique réduit



l'assimilation du CO₂ et conduit inévitablement à une réduction de l'activité photosynthétique (LUDLOW et MUCHOW, 1990).

En conséquence, l'intérêt d'une réponse stomatique plus ou moins rapide au déficit hydrique résulte d'un compromis entre la réduction de l'assimilation du CO₂ et la nécessité d'éviter la déshydratation (LUDLOW et MUCHOW, 1990). Des différences intervariétales existent chez les légumineuses. La mesure de la conductance stomatique et de la transpiration par porométrie exige une homogénéité parfaite des conditions environnementales incompatible avec les mesures sur un grand nombre de génotypes au champ. L'évaluation des réponses des stomates par porométrie n'est donc généralement pas retenue par les sélectionneurs pour le criblage de génotypes (Clavel *et al.*, 2004).

-L'ajustement osmotique : Le troisième type de réponse correspond à l'ajustement osmotique que les plantes réalisent en réponse au déficit hydrique. Il faut remarquer, avant tout, que l'ajustement osmotique est considéré comme un mécanisme de tolérance par certains auteurs et comme un mécanisme d'évitement par d'autres (BEN NACEUR, 1994).

Ce mécanisme permet de maintenir la conductance stomatique et la photosynthèse à des potentiels hydriques bas, il intervient aussi en retardant la sénescence foliaire et en améliorant l'extraction de l'eau par les racines. Le niveau d'ajustement osmotique réalisé par les légumineuses est modeste comparé à celui des céréales (SUBBARAO *et al.* 1995).

La capacité d'ajustement osmotique d'un végétal, est liée à sa capacité à accumuler au niveau symplasmique et de manière active certains solutés (KORICHI, 1994, AMOURI, 2016).

8.3. Tolérance

Il s'agit d'une stratégie permettant à la plante d'assurer ses fonctions physiologiques malgré le déficit hydrique. La tolérance à la sécheresse est le résultat de mécanismes physiologiques, biochimiques et moléculaires complexes. L'expression de différents gènes et l'accumulation de divers osmolytes couplées à un système antioxydant efficace sont souvent les principaux mécanismes de tolérance au déficit hydrique (TARDIEU, 2005). A l'échelle cellulaire, l'ajustement osmotique joue un rôle déterminant dans le maintien de la turgescence aux faibles potentiels hydriques foliaires. En effet, cette aptitude qui confère à la plante une meilleure tolérance permet un fonctionnement prolongé de la photosynthèse (CHAKHCHAR, 2015).

Le maintien de la turgescence lors d'un déficit hydrique permet de retarder la fermeture des stomates (MOJAYAD et PLANCHON, 1994), de maintenir le volume chloroplastique (GUPTA et BERKOWITZ, 1987) et de réduire le flétrissement foliaire (JONES et TURNER,



1980). Cette aptitude confère à la plante une meilleure tolérance au déficit hydrique interne (LUDLOW *et al.*, 1983).

Plusieurs mécanismes intervenant dans la tolérance assurent l'hydratation cellulaire et diminuent la perte en eau en maintenant un statut hydrique favorable au développement foliaire. Les géotypes qui ont la capacité photosynthétique intrinsèque la moins affectée par le stress présentent une efficacité de l'utilisation de l'eau élevée et une plus grande capacité de survie (ARAUS *et al.*, 2003).

L'ajustement osmotique est un processus majeur de l'adaptation des plantes à la déshydratation. Il consiste en une accumulation active des solutés ou osmolytes dans le compartiment cellulaire, de façon à maintenir la pression de turgescence lorsque le potentiel hydrique décroît (TURNER, 1997).

Lors de cet ajustement osmotique la plante accumule au niveau de cytoplasme certains solutés tels que les ions inorganiques (K⁺), les composés contenant l'azote (proline, acides aminés), les polyamines et les composés d'ammonium quaternaires (glycine bêtaïne) (TAMURA *et al.*, 2003). D'autres osmolytes sont produits en réponse au stress hydrique tels que le sucrose, les polyols, le pinitol et les oligosaccharides. Les osmolytes jouent un rôle dans la stabilisation des membranes et le maintien de la conformation des protéines à des potentiels hydriques foliaires faibles (RAMACHANDRA REDDY *et al.*, 2004), comme ils jouent un rôle majeur dans la protection des cellules par l'élimination des molécules réactives d'oxygènes (PINHERO *et al.*, 2001). La proline est également connue pour être impliquée dans la réduction des dommages au niveau des membranes de thylakoïdes par scavenging et/ou réduction de la production de l'oxygène singulier (ASHRAF et FOOLAD, 2007). La glycine bêtaïne joue un rôle important dans la protection des enzymes et des membranes et aussi dans la stabilisation des complexes protéiques du photosystème II (PAPAGEORGIOU et MORATA, 1995).

L'acide abscissique (ABA) joue un rôle de médiateur dans les réponses au stress hydrique, principalement dans les mouvements stomatiques. Des travaux effectués au niveau moléculaire sur les effets de l'ABA et du stress hydrique confortent l'hypothèse selon laquelle cette hormone joue un rôle clé dans la réponse au stress hydrique. L'ABA intervient dans la stimulation de la croissance racinaire, la réduction de la surface foliaire, la diminution de la radiation absorbée, l'abscission des feuilles et la fermeture stomatique (CATTIVELLI *et al.*, 1995). Ces mécanismes ont des effets bénéfiques sur le plan de l'économie en eau, mais accélèrent la sénescence et inhibent la photosynthèse et la croissance, ce qui contribue à



réduire le rendement. L'identification de génotypes capables de maintenir une photosynthèse active sous contrainte hydrique repose sur une réduction des mécanismes contraignants induits par l'ABA (EL JAAFARI et *al.*, 1995).

9. Conclusion

Cette synthèse bibliographique souligne l'importance des légumineuses et en particulier la fève et la luzerne et leur symbiose. Généralement, du fait de la production en grain chez la fève et en fourrage chez la luzerne sous des contraintes environnementales sévères (sécheresse, salinité, faible disponibilité en P et en N), les rendements de ces cultures sont en dessous de son potentiel. Cette situation est largement expliquée par l'irrégularité de la nodulation chez les deux légumineuse malgré la grande diversité des rhizobia qui peuvent les noduler. Cette limitation du rendement semble fortement due à l'insuffisance de sa fixation symbiotique de l'azote pour la croissance et la production, d'où la nécessité de sélectionner des symbioses rhizobiennes chez la fève et la luzerne performantes sous conditions de culture hostiles.

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 biochimiques utilisables pour le tri, des variétés résistantes.

Dans le cadre d'une agriculture durable, le développement de cultivars tolérants et particulièrement des symbioses rhizobiennes performantes est l'une des approches les plus envisageables pour réduire les effets délétères de diverses contraintes biotiques et abiotiques dont le stress hydrique. A travers cette étude bibliographique, la tolérance au stress hydrique est un phénomène complexe qui intègre aussi bien des modifications morphologiques que des ajustements physiologiques et biochimiques. L'identification des symbioses efficaces sous contraintes environnementales pourrait contribuer à garantir un rendement convenable en un temps raisonnable et pour un coût acceptable.



CHAPITRE II : EFFETS DU STRESS HYDRIQUE SUR LA CROISSANCE ET LA SYMBIOSE A RHIZOBIA CHEZ CINQ VARIETES ET POPULATIONS DE *VICIA FABIA* L.

1. Introduction

L'eau a un rôle fondamental dans la vie des plantes, dans la mesure où elle conditionne leurs activités physiologiques et métaboliques et sert de vecteur aux éléments nutritifs de la plante (RIOU, 1993). Elle est, de ce fait, le principal facteur limitant de la production végétale dans les régions arides et semi-arides (TELLAH, 2016).

Au cours de leur cycle végétatif, les plantes subissent les conditions du milieu ambiant dans lequel elles vivent. Elles réagissent en s'adaptant à la variation de ces conditions lorsqu'elles deviennent défavorables. La variation des conditions de croissance a pour origine les stress qui sont de nature biotiques ou abiotiques. Dans les milieux arides et semi-arides les stress abiotiques tels que les déficits hydriques imposent des limites au développement de la plante (ALBOUCHI *et al.*, 2000).

Chez les légumineuses ces contraintes s'appliquent non seulement sur la plante mais aussi sur leurs symbiotes. Les deux partenaires réagissent différemment en réponse au stress hydrique. Les nodosités qui ne possèdent pas de mécanismes efficaces de tolérance sont les premières affectées et souvent leur capacité à fixer l'azote est inhibée de façon irréversible (OUNANE, 2004). En effet, la contrainte hydrique et les perturbations osmotiques qui en découlent, peuvent affecter la symbiose rhizobium-légumineuse, en diminuant la croissance et la survie des rhizobiums dans le sol, en réduisant la colonisation de la rhizosphère ou en inhibant totalement ou partiellement le processus d'infection et de développement des nodosités (TELLAH, 2016).

La fève est l'une des légumineuses alimentaires qui représentent une source de protéines importante à la fois, pour l'homme et le bétail, en particulier dans les pays pauvres, où les protéines animales sont chères (HUBBELL et GERAD, 2003). Elles fournissent également des matières grasses et des hydrates de carbone. En outre les légumineuses sont riches en minéraux pour la construction des os et des vitamines essentielles pour être en bonne santé (PORRES *et al.*, 2003).

Les ressources en eau douce menaçant de diminuer lors des prochaines décennies, l'étude des mécanismes de résistance au stress hydrique présente donc un enjeu important afin d'améliorer les cultures et de valoriser les sols pour une meilleure production végétale dans le but de répondre à un besoin alimentaire sans cesse augmentant (FAGHIRE, 2012).



Pour résister à une contrainte ou un stress, les végétaux mettent en jeu des mécanismes divers en réponse à cet état, qui se traduisent par une succession de modifications aux niveaux cellulaire, subcellulaire et moléculaire, qui sont dépendantes des potentialités génétiques de l'espèce. Les réorientations métaboliques induites aboutissent à des transformations morphologiques, physiologiques et biochimiques déterminant une résistance plus au moins achevée et efficace de l'individu à la contrainte. D'autre part, l'adaptation correspond à une dynamique réactionnelle dont la résultante est la résistance (GHARABI, 2018).

L'objectif de ce travail est de caractériser les mécanismes agro morphologiques, physiologiques, biochimiques et symbiotique pouvant être à l'origine d'une tolérance au stress hydrique chez cinq variétés et populations de la fève, par l'évaluation de leur comportement sous cette contrainte. Ce travail nous permettra de rechercher les variétés et les populations de fève les plus performantes, ayant la capacité de tolérer les déficits hydriques. Il porte essentiellement sur : I) l'étude de la variabilité de réponses (agro-physiologiques, morphologiques, biochimiques et symbiotiques) chez les différentes variétés et populations de fève vis-à-vis de la contrainte hydrique et II) l'identification des variétés et des populations les plus tolérantes à la sécheresse.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Les semences utilisées dans cette expérimentation sont constitués de cinq variétés et populations de la fève (*Vicia faba L.major*). Le tableau I indique l'identité et l'origine des variétés et des populations testées.

La dénomination des populations correspond au nom des localités d'où elles ont été prélevées. 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 apport à la classe la plus représentative.



Tableau I : Identité et origine de cinq variétés et populations de la fève étudiées

Variétés / Populations	Origine
Variété Luze de otono	Espagne
Variété Manouth	Espagne
Population Doucen	Locale
Population Tolga	Locale
Population M'zeraa	Locale

2.2. Installation et conduit de l'essai

L'expérience a été menée sous abri afin d'éviter les apports d'eau non contrôlés par les pluies, et de mieux maîtriser les quantités d'eau données aux plantes. L'essai a été réalisé dans des pots en plastique, d'une capacité de 12 kg. Afin de laisser drainer l'eau en excès et éviter l'asphyxie des plantes, le fond des pots a été perforé, puis tapissé de graviers fins.

Afin de faciliter leur germination et d'évaluer leur capacité germinative, les graines de *Vicia faba* L. ont été triées à la main en fonction de leur bon état visuel (notamment téguments intacts, absence de taches ou autres). Elles ont été ensuite désinfectées en surface avec de l'eau de javel pendant 3 minutes, puis rincées abondamment à l'eau distillée stérile.

Les cultures sont conduites sur un sol cultivé de texture sablo-limoneuse, un pH neutre (pH =7,78), légèrement salin (CE ds/m=2,31). Il se caractérise par une faible teneur en phosphore assimilable (4,51 ppm), en matière organique (0,53 %) et en azote (0,02%). Avant l'essai, le sol utilisé a subi un tamisage afin d'éliminer les débris végétaux, animaux et gravier. La fraction fine du sol obtenue a été séchée à l'air libre puis partagée en quantités égales.

Les grains sont semés à raison de 3 graines par pot à une profondeur de 1 cm environ. Après la levée un éclaircissage basé sur l'homogénéité de la répartition du stade de développement a permis de réduire la densité à 1 plant par pot. L'arrosage s'effectue à l'eau courante, elle est caractérisée par une CE de 1,2 dS/m, un pH de 7,75 et une teneur en NO₃⁻ de 0,35 meq/l.

Chacune des cinq variétés et populations étudiées est soumise à 3 régimes hydriques différents: SDH (Traitement témoin sans déficit hydrique); le sol est maintenu à 100% de sa capacité de rétention en eau, ce régime est considéré comme témoin. ADH1 (déficit hydrique modéré) le sol est maintenu à 50% de sa capacité de rétention. ADH2 (déficit hydrique prononcé) le sol est maintenu à 25% de sa capacité de rétention.



Jusqu'à 20 jours après le semis, l'ensemble de pots a reçu la même dose d'arrosage. Ensuite, les deux régimes hydriques ADH1 et ADH2 sont appliqués.

2.3. Dispositif expérimental

Un dispositif en Split Plot a été adopté avec cinq répétitions. Chaque répétition comprend 2 facteurs.

Facteur 1 : représente les traitements hydriques

SDH : traitement sans déficit hydrique.

ADH1 : traitement avec un déficit hydrique 1

ADH2 : traitement avec un déficit hydrique 2

Facteur 2 : représente les cinq variétés et populations.

2.4. Prélèvement des échantillons

Les plantes sont récoltées en pleine floraison, ce stade correspond à une nodulation optimale qui se traduit par une meilleure fixation symbiotique de N₂.

Nous avons procédé aux prélèvements des échantillons selon les étapes suivantes :

-Les plantes entières sont soigneusement prélevées, rincées à l'eau de robinet puis séchées rapidement à l'aide du papier Joseph.

-La partie aérienne est isolée de la partie souterraine et les nodules sont détachés des racines et dénombrés. Puis les poids frais des racines, des tiges, des feuilles et des nodules sont déterminés à l'aide d'une balance plate de précision.

-Chaque échantillon pesé est enveloppé dans du papier aluminium puis le tout est déposé dans une étuve réglée à 80° C durant 48 heures. Ensuite les échantillons sont repesés, mis dans des flacons fermés à l'aide d'un bouchon plasma, et placés au congélateur jusqu'aux analyses.

2.5. Paramètres mesurés

Durant cette expérimentation nous avons tenté d'évaluer le comportement de cinq variétés et populations de la fève sous stress hydrique. Les paramètres retenus sont d'ordres morphologiques, physiologiques, biochimiques et symbiotiques.

- Paramètres hydriques (caractère liés à l'état hydrique de la plante)

➤ Teneur relative en eau (RWC= Relative Water Content)

La RWC est déterminée selon la méthode de BARRS et WEATHERLEY (1968). Le limbe foliaire est coupé à sa base puis immédiatement pesé pour avoir le poids frais (PF). L'extrémité est ensuite placée dans un tube à essai contenant de l'eau distillée et placé à



l'obscurité à 4°C pendant 12 heures. Les feuilles sont récupérées et essuyées délicatement avec un papier buvard et à nouveau pesées, c'est le poids en plein turgescence (Ppt). Le poids sec (PS) est déterminé par passage des feuilles dans une étuve pendant 48h à 80°C.

Le RWC est calculé par la formule suivante : $RWC (\%) = [(PF - PS) / (PT - PS)] \times 100$

PF: poids frais, PT: poids à la turgescence, PS: poids sec

-Paramètres morphologiques

➤ **Hauteur de la tige**

La hauteur de la tige a été déterminée à partir du collet de la plante jusqu'au bourgeon terminal. Les mesures en (cm) ont été effectuées à l'aide d'une règle graduée.

➤ **Surface foliaire**

La surface foliaire est estimée par la méthode de PAUL et *al.*, (1979) en plaçant la feuille sur du papier calque dont les contours de cette feuille sont découpés. L'empreinte de la feuille sur le papier calque a ensuite été pesée (soit Pf = Poids de la feuille de papier découpée). Ensuite, le poids Pq est déterminé par pesée correspondant à une surface (Sq) connue d'un carré du même papier calque.

La surface de la feuille SF est calculée par la formule suivante : $SF \text{ cm}^2 = Pf \text{ (g)} \times Sq \text{ (cm}^2) / Pq \text{ (g)}$

➤ **Biomasse sèche aérienne et racinaire**

À la fin de l'expérimentation, les parties aériennes et racinaires ont été séparées et mises à sécher pendant 48h à 80°C, afin de déterminer le poids de la matière sèche des différents organes.

-Paramètres physiologiques et biochimiques

➤ **Extraction et dosage des pigments photosynthétiques**

Les teneurs en chlorophylles *a* et *b* et en caroténoïdes ont été déterminées selon le protocole d'ARNON (1949).

L'extraction est réalisée par 10 mL d'acétone à 80% pour 100 mg de matière fraîche. Le broyat est centrifugé à 2000 trs/mn pendant 10 mn. L'absorbance du surnageant est lue par spectrophotométrie à des longueurs d'ondes de 645 nm, 663 nm et 470 nm respectivement pour la chlorophylle *a*, *b* et les caroténoïdes.

Les concentrations en pigments sont calculées selon la méthode décrite par LICHTENTHALER et WELBURN (1983).



- Chl a = 12.25 DO (663 nm) - 2.79 DO (645 nm) ($\mu\text{g/mL}$)
- Chl b = 21.5 DO (647 nm) - 5.10 DO (663 nm) ($\mu\text{g/mL}$)
- Caroténoïdes = 1000 D0 (470 nm) – 1.82 chl a – 85.02 chl b / 198 ($\mu\text{g/mL}$)

➤ **Extraction et dosage de la proline**

La proline est extraite selon la méthode de NGUYEN et PAQUIN (1971). Elle consiste à mettre 100 mg de matériel végétal dans un mortier, puis de le broyer avec 1.25ml d'éthanol à 95% suivi de trois rinçages et lavages avec 1.25 ml d'éthanol à 70%. La solution finale est recueillie dans un tube afin qu'elle soit décantée pendant 1 heure. 2.5ml de la phase supérieure sont prélevés auxquels sont ajoutés 1ml de chloroforme et 1.5ml d'eau distillée. Après agitation, la solution est maintenue au repos pendant 24 heures au froid pour obtenir une bonne séparation.

Le dosage de la proline libre est réalisé selon le protocole de BERGMAN et LOXLEY (1970). Dans un tube à essai, 1ml de la phase supérieure de l'échantillon est prélevé. On lui ajoute 2 ml de chlorure de sodium (NaCl) à 5 M et 5ml d'eau distillée. Après agitation, 1 ml est récupéré auquel est ajouté 1 ml de solution tampon phosphate (pH=3 en NaH_2PO_4 , 3,88 M et H_3PO_4 , 5,32 M) et 2ml de ninhydrine.

Après agitation et chauffage au bain marie à 100°C pendant une heure, les tubes à essai sont laissés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 min. La lecture de la densité optique se fait par spectrophotométrie à UV à 515 nm.

Les résultats sont obtenus par le biais d'une courbe d'étalonnage de proline pour des concentrations allant de 0 à 100 $\mu\text{g.ml}^{-1}$

➤ **Extraction et dosage des sucres solubles**

Le dosage des sucres solubles a été réalisé selon la méthode de SCHIELDS et BURNETT (1960), elle est aussi dite méthode à l'antrone en milieu sulfurique.

Le principe de cette méthode repose sur la condensation des produits de dégradation des sucres neutre. L'acide sulfurique concentré transforme à chaud les glucides en dérivés sulfuriques : Les hexoses produisent les dérivés qui donnent avec l'antrone une coloration verte présentant un maximum d'absorption à 585 nm.

L'extraction des sucres solubles est faite à froid, en mettant 100 mg de végétal dans des tubes à essai auquel sont ajoutés 3 ml d'alcool (l'éthanol à 80 %) pendant 48 heures.

La solution en suite passe au bain marie à 70 °C pendant 30 mn une fois l'alcool est disparu, on ajoute 20 ml d'eau distillée dans la totalité de l'extrait.



Le réactif de l'antrone doit être préparé quatre heures à l'avance avec les proportions suivantes : 0,2 g d'antrone dans 100 ml d'acide sulfurique pur.

Dans des tubes à essai propres, on prélève de chaque tube 2 ml de la solution à analyser à laquelle on ajoute 4 ml du réactif à l'antrone, le tout est maintenu à 0 °C dans la glace pendant l'opération ; pour éviter l'éclatement des tubes (car la réaction est exothermique).

Après agitation par agitateur, les tubes placés dans un bain marie à 90 °C pendant 8 mn.

La solution vire alors légèrement au bleu vert pour l'arrêt de cette réaction, les tubes sont refroidis dans un bain glacé et à l'obscurité pendant 30 mn pour éviter l'oxydation des sucres.

L'absorbance est alors lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de (585 nm) après étalonnage de l'appareil par le blanc de gamme composé de (2 ml de l'éthanol à 80 % plus 4 ml du réactif à l'antrone après agitation, le mélange placé dans un bain marie à 90 °C pendant 8 mn).

➤ **Extraction et dosage des protéines**

Le dosage des protéines a été réalisé suivant la méthode de BRADFORD (1976), dont le principe est basé sur la formation de complexes entre le bleu de Coomassie (G250) et les résidus basiques aromatiques des protéines. La formation de liaisons protéine-bleu de Coomassie est visualisée par l'apparition d'une coloration bleue.

L'extraction des protéines est réalisée à partir d'une aliquote de 500 mg de matière fraîche foliaire, broyée dans 6 mL d'eau distillée, puis centrifugée à 5000 trs/mn pendant 15 mn. Un volume de 0,1 mL du surnageant est additionné à 3 mL d'un mélange d'acide orthophosphorique à 85%, et 25 mg de bleu de Coomassie (G250) et de 12,5 mL d'éthanol à 95%. Le volume est ensuite complété à 250 mL par de l'eau distillée. L'absorbance est lue par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda = 595$ nm.

Les concentrations en protéines sont déterminées par projection des densités optiques obtenues sur la courbe d'étalonnage faite à partir d'une solution mère.

-Paramètres symbiotiques

➤ **Nombre de nodosités**

Les racines sont rapidement rincées à l'eau, les nodules sont ensuite détachés à la main et le nombre de nodosités par plante est enregistré.

➤ **Poids sec des nodules**

Les nodules ont été séparés et mises à sécher pendant 48h à 80°C, afin de déterminer le poids de la matière sèche nodulaire.



➤ Dosage de la leghémoglobine nodulaire

Le dosage de la leghémoglobine a été réalisé suivant la méthode de BECANA *et al.*, (1986). Cette méthode colorimétrique est basée sur l'oxydation du Fe^{2+} de l'hémoglobine en Fe^{3+} de la méthémoglobine par le ferricyanide, suivie de la formation d'un complexe très stable, la cyanméthémoglobine grâce aux ions cyanures de potassium (KCN). L'absorbance de la cyanméthémoglobine, est directement proportionnelle à la concentration en hémoglobine.

Un poids de 100 mg de nodule frais est broyé dans 3 mL du réactif de Drabkin (52 mg KCN, 198 mg $K_3 Fe(CN)_6$ et 1 mg de $NaHCO_3$ dans 1L d'eau distillée). Le broyat est centrifugé à 500 trs /mn pendant 15 mn. Le surnageant récupéré est additionné de 10 mL du réactif de Drabkin. Le mélange est centrifugé à 20000 trs /mn pendant 30 mn. Les densités optiques du surnageant sont lues par spectrophotométrie à la longueur d'onde $\lambda = 540$ nm.

2.6. Analyse statistique

Les résultats obtenus pour l'ensemble des caractères étudiés sont soumises à une analyse de la variance à deux facteurs par le logiciel SPSS (version 23), pour évaluer l'effet du stress hydrique sur les paramètres hydriques, morphologiques, physio-biochimiques et symbiotique chez les cinq variétés et populations. Les moyennes sont comparées par le test LSD ($\alpha < 0.05$). De même les coefficients de Corrélation de Pearson et les régressions linéaires ont été calculés pour déterminer les relations entre les variables. En outre, afin de déterminer quelles sont les variables discriminantes entre les variétés et populations contrastés de *Vicia faba* L., une analyse discriminante canonique (CDA) a été réalisée pour l'ensemble des caractères étudiés. L'analyse en composantes principales (ACP) a été effectuée pour l'ensemble des caractères par le logiciel R (version R 3.6.1). Les variables étudiés ont été soumis à l'analyse de classification hiérarchique utilisant la procédure de « Wards minimum variance » comme un algorithme de clustering. « Wards méthode minimum » est une procédure de classification hiérarchique dans lequel la similitude est utilisée pour rejoindre des groupes et est calculée comme la somme des carrés entre les deux groupes sommés sur toutes les variables (Hair *et al.* 1998). Le regroupement des génotypes donne des informations sur leur similitude et différence dans les réponses aux stress hydrique qui facilitent le choix des génotypes utilisés dans les programmes de sélection.



3. Résultats et discussion

3.1. Effet du stress hydrique sur le comportement hydrique de la plante

3.1.1. Teneur relative en eau

Résultats

La teneur relative en eau des feuilles renseigne sur la turgescence des tissus est figure parmi les critères d'évaluation de la tolérance à la sécheresse. Elle est liée à la capacité de la plante à maintenir un niveau d'hydratation des tissus pour maintenir l'activité métabolique. Pour apprécier l'état hydrique des plantes testées sous stress hydrique, nous avons suivi les variations de la teneur relative en eau foliaire chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L.

L'analyse de la variance des résultats obtenus démontre que la teneur relative en eau est plus dépendante de la nature des variétés et des populations testées ($p \leq 0,001$) et elle est grandement influencée par le régime hydrique appliqué ($p \leq 0,001$). Le statut hydrique de la plante (*Vicia faba* L.) diminue au fur et à mesure que le déficit s'accroît. L'interaction des deux facteurs d'étude exerce également des variations de grandeurs importantes sur cette caractéristique ($p \leq 0,001$). Ceci indique que les variétés et les populations réagissent de manières distinctes à la déclaration de la contrainte hydrique imposée (Annexe, Tab.1).

Les résultats moyens obtenus de l'estimation de ce paramètre (Figure 5), montrent que les valeurs de la teneur relative en eau les plus élevées sont notées chez les échantillons témoins (SDH), avec une valeur maximale de l'ordre de 78,85 % marquée chez la variété Manouth et une valeur minimale égale à 71,85 % observée chez la population M'zeraa.

Au niveau du traitement ADH1, la population Doucen semble être la moins affectée, avec une diminution de 4,19 % par rapport au témoin, alors que la population Tolga plus sensible enregistre une baisse de 19,25 %. Les décroissances de la teneur relative en eau s'avèrent plus importantes dans le lot ADH2 et ce de manières controversées chez les variétés et les populations conduites. Ainsi, parmi la collection, la population Doucen et le génotype Luz de otono présentent des bons niveaux de résistance pour le maintien de son hydratation, où on note une faible réduction de l'ordre de 11,22 % et 14,22 % respectivement par rapport à la valeur du lot témoin. La population locale Tolga et la variété Monouth s'avèrent plus sensibles à la perte d'hydratation sous déficit hydrique sévère, elles inscrivent des régressions de leur teneur en eau de 31,18 % et 33,87 % respectivement. La population M'zeraa présente un niveau de résistance moyenne (25,39%).



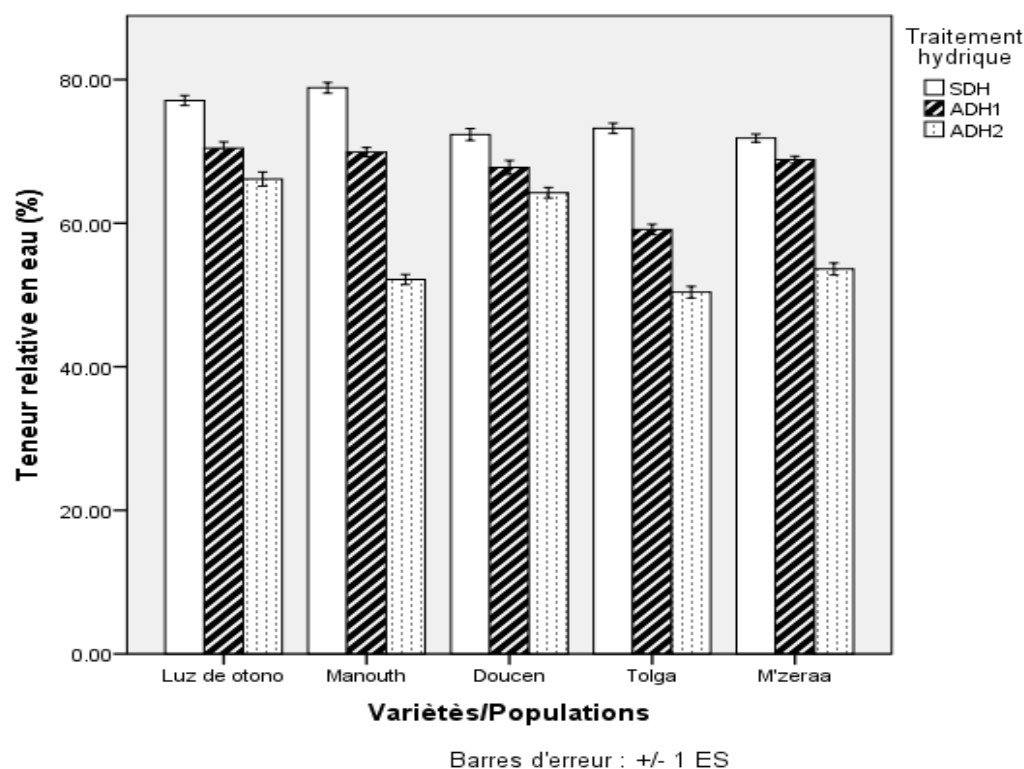


Figure 5 : Variations des teneurs relatives en eau chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM.

Discussion

A l'image des résultats obtenus, il se démontre que les régimes hydriques appliqués présentent des modifications importantes du statut hydrique des différentes variétés et populations testées. En effet, nos résultats indiquent que la teneur relative en eau régresse avec l'abaissement de l'humidité du substrat. Ceci est prouvé par une corrélation négative et significative ($r=-0,789$) entre le statut hydrique de la plante de la fève, et la situation hydrique. L'effet du stress hydrique est fortement lié à l'intensité de stress appliqué, tel que le stress sévère qui a provoqué des effets très prononcés.

D'après nos constatations, les niveaux du stress modéré et sévère ont induit des différences significatives de l'état hydrique des feuilles entre les génotypes et les populations étudiés. Au cours de la période du stress hydrique, la TRE a révélé des différences significatives compte tenu l'effet génotype et celui du régime d'irrigation. Les résultats de la TRE en pots suggèrent que la population Doucen et la variété Luz de otono présentent une très bonne stratégie de conservation d'eau voire plus stable que ne le font Tolga et Manouth durant la période du stress hydrique.



En effet, dans d'autres études, certains génotypes de tomate (SANCHEZ-RODRIGUEZ *et al.*, 2010) et de gombo (KUSVURAN, 2012) se sont révélés significativement différents à cet égard. La TRE est un bon indicateur utilisé pour évaluer l'état hydrique de la plante (MORANT-MANCEAU *et al.*, 2004). Etant donné aussi que, la teneur relative en eau peut être utilisée comme une technique de criblage dans des programmes de sélection pour la tolérance à la sécheresse (CHAKHCHAR, 2015). Elle a également été proposée comme un indicateur relatif à l'utilisation des ressources végétales (GARNIER *et al.*, 2001), puisque ses caractéristiques dépendent de la masse sèche de la feuille et de l'eau maximale qui peut être stockée.

Selon SIDDIQUE *et al.*, (2000), durant le développement végétatif, le stress dû à la sécheresse, réduit significativement les valeurs de la teneur relative en eau. Il a été également rapporté que la TRE diminue quand le stress dû à la sécheresse augmente (HALDER et BURRAGE, 2003). Les études de KIM *et al.* (2010) rapportent que l'acide abscissique (ABA) agit comme un signal de stress, synthétisé notamment en réponse à un déficit hydrique et identifié comme l'un des signaux impliqués dans la régulation des stomates (MURATA *et al.*, 2015). Leur fermeture permet une diminution de la perte en eau mais elle provoque également une diminution de la pénétration du CO₂.

Cependant, la compréhension des mécanismes qui leur confèrent une tolérance et ses effets sur les relations hydriques de la plante, aidera à déterminer l'amélioration de la tolérance et les pratiques culturales qui finiront à conduire à une production agricole plus fiable.

Avec la découverte des aquaporines, une avancée majeure dans la compréhension de la circulation de l'eau à travers les cellules est née (ASHRAF, 2004). Les aquaporines sont des pores protéiniques présents dans les membranes de tous les vivants organismes qui facilitent le transport de l'eau et d'autres petits solutés neutres. Chez les plantes, ces gènes ont un rôle dans la régulation du développement et la réponse au stress (MAUREL *et al.*, 2008). Selon ESTRADA *et al.*, (2013), l'adaptation au stress peut être lié à la régulation positive significative des gènes codés pour les aquaporines.

En revanche, cette connaissance approfondie de la régulation des aquaporines peut permettre au développement des stratégies de la sélection végétale ou de génie génétique pour l'augmentation de la croissance sous le stress hydrique.



3.2. Effet du stress hydrique sur les caractères morphologiques

3.2.1. Hauteur de la tige

Résultats

L'analyse des résultats dégagés démontre que la hauteur de la tige est sous une influence très hautement significative, de la nature des variétés et populations testées ($p \leq 0,001$), des traitements hydriques adoptés ($p \leq 0,001$) et de leur interaction ($p \leq 0,001$). En effet, l'application des régimes hydriques déficients provoque une réduction de la hauteur de la tige et ce chez l'ensemble des génotypes et populations, à des degrés différents (Annexe, Tab. 2).

Les résultats moyens (Figure 6), montrent qu'à l'échelle du traitement témoin (SDH), la hauteur de la tige fluctue entre des valeurs extrêmes de 59,8 cm (Doucen) et 40,7 cm (M'zeraa). Les réductions de la hauteur de la tige restent tributaires de l'intensité du stress hydrique appliqué. Ainsi, dans le lot ADH1, la population Tolga se distingue par leur plus grande sensibilité au déficit hydrique en inscrivant un taux de réduction de 35,18 %, alors que dans les mêmes conditions, le génotype Manouth s'avère plus résistant en inscrivant 13,91 % de réduction.

Dans les conditions de stress hydrique plus sévère (ADH2), les réductions de la hauteur de la tige sont plus prononcées. A ce niveau, le génotype Manouth se distingue parmi l'ensemble en inscrivant la plus grande réduction avec un taux de 53,43% par rapport au témoin alors que les populations M'zeraa et Doucen moins sensibles enregistrent respectivement une baisse de 38,08 % et 39,97 %. La variété Luz de otono et la population Tolga ont extériorisé une sensibilité, avec de réduction de 46,28 % et 48,19 %.



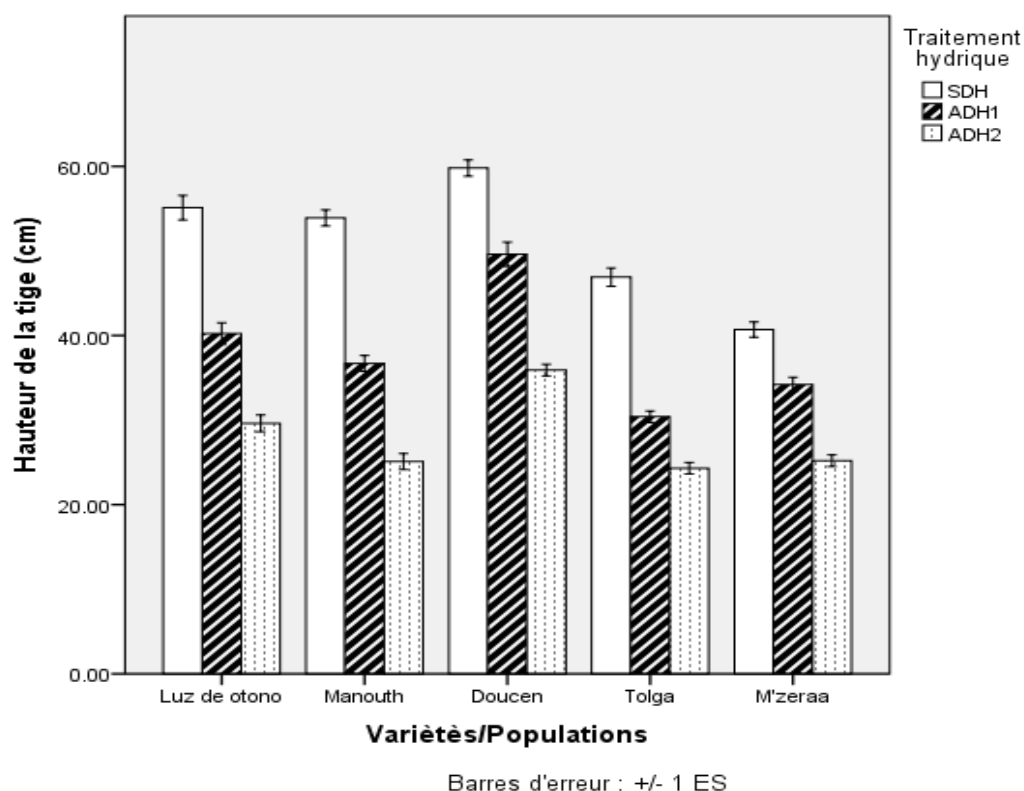


Figure 6 : Variations de la hauteur de la tige des plantes chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM.

Discussion

Au cours du stress hydrique appliqué, nos résultats obtenus se sont montrés liés à l'intensité du stress, le stress hydrique entraîne une diminution de la hauteur de la tige chez les cinq variétés et populations étudiées, une corrélation négative et significative ($r=-0,828$) est notée entre la contrainte hydrique et la hauteur des tiges. Les effets du stress hydrique ont été très prononcés sous un stress sévère que sous un stress modéré.

Une variabilité de réponse chez les variétés et les populations a été observée. En outre, il est à noter que la hauteur des tiges des populations M'zeraa et Doucen sont moins affectés par le stress hydrique que ceux des autres variétés et populations.

Nos résultats rejoignent les observations de MUNNS (2002) et YANG et al. (2008). La réduction de la hauteur de la tige chez l'arachide suite à un stress hydrique a été constatée par LAZALI (2009) et TELLAH (2016). En revanche, BACHA (2002) sur pois chiche, montre que la réduction de la hauteur des plants est observée lorsque le stress est appliqué au stade végétatif.



LLUCH et *al.* (2007) et JALEET et *al.* (2008) expliquent la réduction de la taille caulinaire par une diminution de l'expansion des tissus à cause du bas potentiel hydrique ainsi que par la réduction des pigments photosynthétiques foliaires. Alors que pour GARG et *al.* (2004), la réduction de la taille des tiges est expliquée par le fait qu'en présence de contrainte hydrique, la plante détourne l'énergie et les hydrates de carbones, issus du catabolisme glucidique de stockage, destinés à sa croissance, au profit de l'ajustement osmotique. D'après YANG et *al.* (2008) ce fait est essentiellement dû à la diminution de la surface foliaire.

3.2.2. Surface foliaire

Résultats

Pour déterminer l'effet du manque d'eau provoqué par le stress hydrique imposé aux plants de la fève étudiés, on a mesuré la surface foliaire des plants testés (Figure 7). L'étude statistique des résultats obtenus, démontre que l'expression de ce paramètre est influencée par les variations des niveaux d'alimentation hydrique adoptés ($p \leq 0,001$). Les déficits hydriques imposés provoquent de nettes réductions de la surface foliaire des géotypes et des populations conduits. Ces comportements sont conditionnés par les natures des variétés et des populations ($p \leq 0,001$). On note également une influence très hautement significative émanant de l'interaction de ces deux facteurs, induisant des comportements des réponses distinctes des géotypes et des populations, à l'égard des différents traitements hydriques ($p \leq 0,001$) (Annexe, Tab.3).

Au niveau du lot témoin, le géotype Manouth s'est distingué par la plus grande surface en inscrivant une valeur de 57,51 cm². A l'opposé et dans les mêmes conditions, la plus faible surface foliaire s'est inscrite par la population Doucen (30,28 cm²).

Dans le lot ADH1, la surface foliaire est réduite chez l'ensemble des géotypes et des populations. La variété Manouth s'avère la plus affectées par cette réduction (55,02%), alors que les autres variétés et populations enregistrent des réductions de 51,25%, 45,94%, 33,72% et 25,20% respectivement chez Tolga, Luz de otono, M'zeraa et Doucen.

A l'échelle du traitement ADH2, les réductions sont encore plus importantes et chez l'ensemble des variétés et des populations. Elles sont comprises par des limites de 77,27 % enregistré chez la variété Manouth et 66,04 % manifesté chez la population M'zeraa.



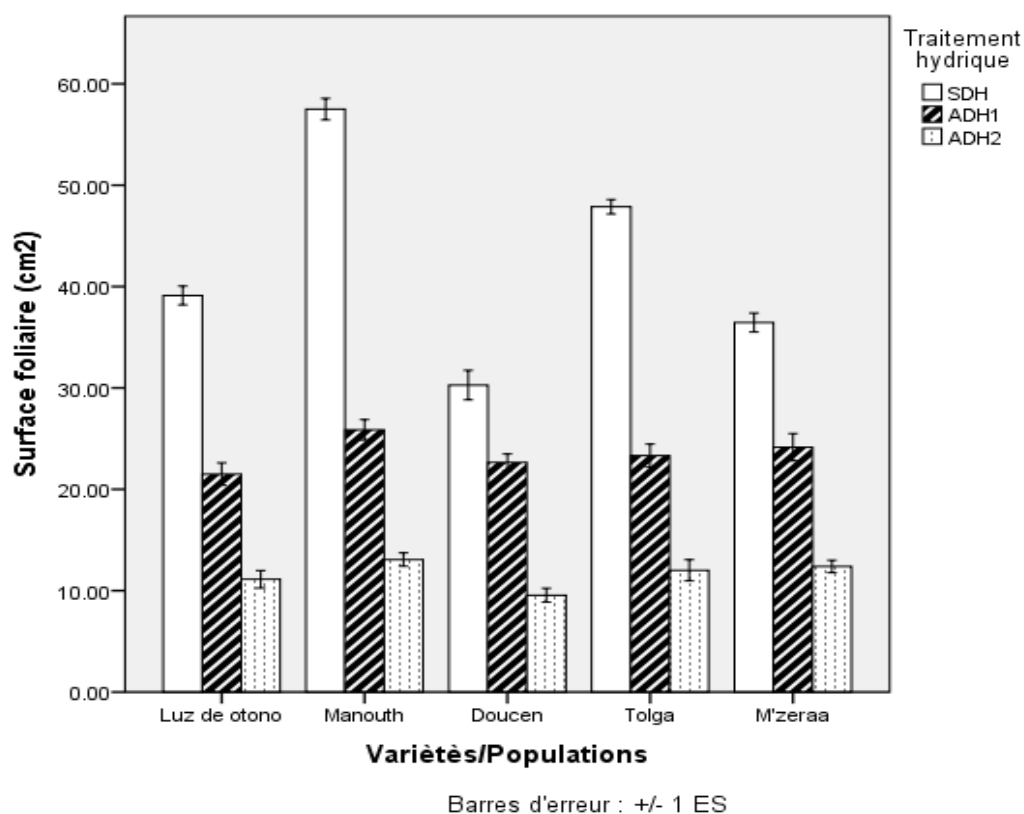


Figure 7 : Variations de la surface foliaire des plantes chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM.

Discussion

On remarque une réduction de la surface foliaire en fonction des régimes hydriques avec un coefficient de corrélation significatif et négatif ($r=-0,903$). Cependant, les variétés Manouth et la population Tolga confirment une réduction importante de la surface foliaire par rapport aux autres variétés et populations.

D'après SALA et TENHUMEN, (1996), l'une des réponses à long terme des plantes méditerranéennes, pour s'adapter à l'intensité et la durée de sécheresse est la réduction de la surface foliaire et les systèmes racinaires agissent pour équilibrer les oscillations de disponibilité d'eau. La réduction de la croissance foliaire est l'une des premières manifestations du déficit hydrique permettant de réduire la transpiration (BIDAI, 2017).

Par ailleurs, le stress hydrique entraîne une réduction de la surface foliaire des plantes (en accord avec PARRY et al., 2005 ; LEBON et al., 2006 ; ISSAAD, 2013). Cette réduction de la surface foliaire des plantes sous stress hydrique diminue en fonction de la sévérité du stress. Selon HEUER et NADLER (1998), le manque d'eau affecte de façon significative la surface foliaire de la pomme de terre. De même, une étude menée par PENUELAS et al. (1992) sur la



culture de la fraise en serre montre que le déficit hydrique entraîne aussi une réduction de la surface foliaire.

3.2.3. Biomasses sèches

Résultats

-Biomasse sèche aérienne

Les résultats statistiques de l'analyse de variance, indiquent que les variations de la biomasse sèche aérienne sont fortement influencées par les niveaux des traitements hydriques appliqués ($p \leq 0,001$). La nature des génotypes et des populations testés exercent un effet sur ce paramètre ($p \leq 0,001$). Il faut noter également que les distinctions des génotypes et des populations utilisés en réaction au déficit hydrique sont d'un ordre important ($p \leq 0,001$) (Annexe, Tab.4).

D'une manière générale et d'après les résultats obtenus (Figure 8), l'accroissement de stress hydrique du substrat, s'accompagne d'une nette décroissance de la biomasse sèche aérienne. Ainsi au niveau du traitement témoin (SDH), les valeurs de la biomasse sèche aérienne sont comprises dans l'intervalle de 15,23 g/plant inscrite par la population Doucen et 23,15 g/plant enregistrée par la population Tolga. L'intensification du déficit hydrique s'accompagne d'une nette réduction des valeurs des poids sec aérien et ce chez l'ensemble des génotypes et des populations.

La lecture des données montrent qu'au niveau du traitement ADH1, la décroissance des poids sec aérien varie entre 32,30% (Doucen) et 68,68% (Tolga). Au niveau du traitement ADH2, la plus grande régression est inscrite toujours chez la population Tolga avec une valeur de 83,02 %, par contre, la plus faible réduction est inscrite par la population Doucen qui a manifesté un taux de 55,68 %.



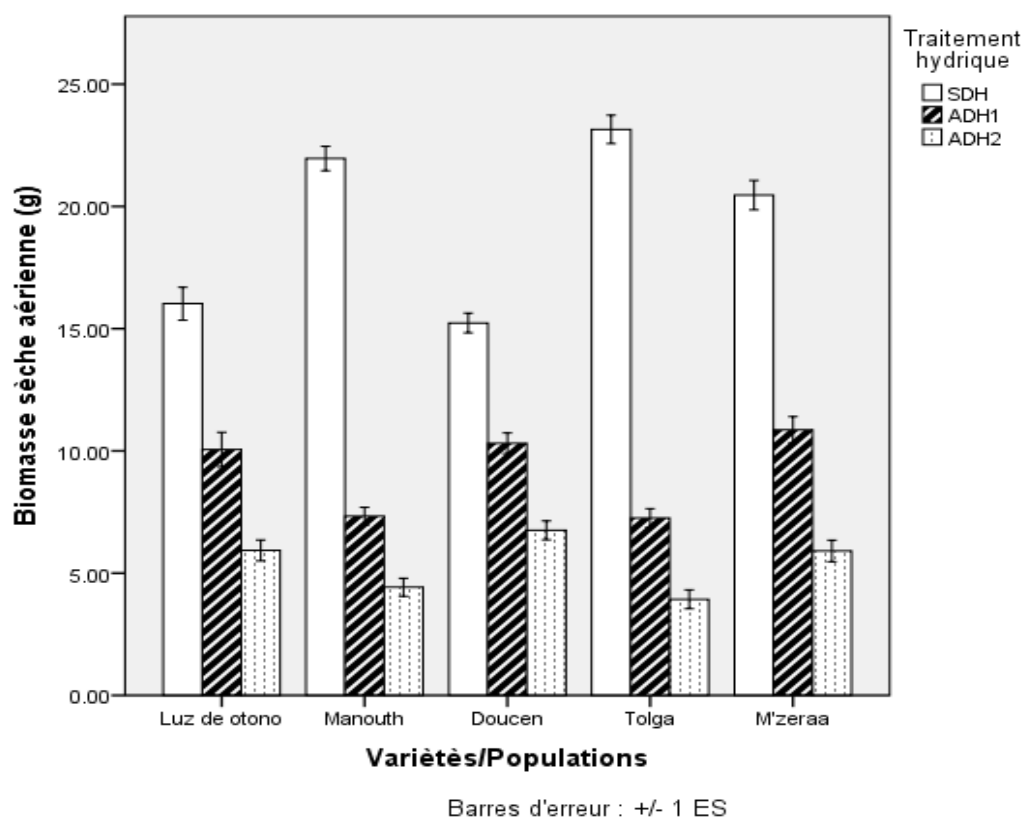


Figure 8 : Variations de la biomasse sèche aérienne des plantes chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM.

- Biomasse sèche racinaire

L'analyse de la variance des résultats obtenus, démontre que la biomasse sèche racinaire est fortement dépendante de régime hydrique appliqué ($p \leq 0,001$). Les variations de la nature des génotypes et des populations testés provoquent des différences très hautement significatives ($p \leq 0,001$). Ainsi que l'interaction permette de relever un effet très hautement significative ($p \leq 0,001$) (Annexe, Tab5).

La figure 9 illustre les variations de la biomasse sèche racinaire chez les 5 génotypes et populations de *Vicia faba* L. sous différents traitements hydriques. A l'échelle du lot témoin, la plus grande valeur de ce paramètre est inscrite chez la population Tolga avec 7,98 g/plant et la plus faible valeur est inscrite chez la population Doucen (5,53g/plant). Ces grandeurs sont fortement réduites au niveau des traitements ADH1 et ADH2. En effet dans le lot ADH1, la population Tolga et la variété Luz de otono se distinguent par les réductions limites avec, dans l'ordre, 60,78 % et 16,34%.



Au niveau du traitement ADH2, les régressions sont encore plus marquées chez l'ensemble des géotypes et des populations à des taux extrêmes de 39,05% (Luz de otono) et 73,81% (Tolga).

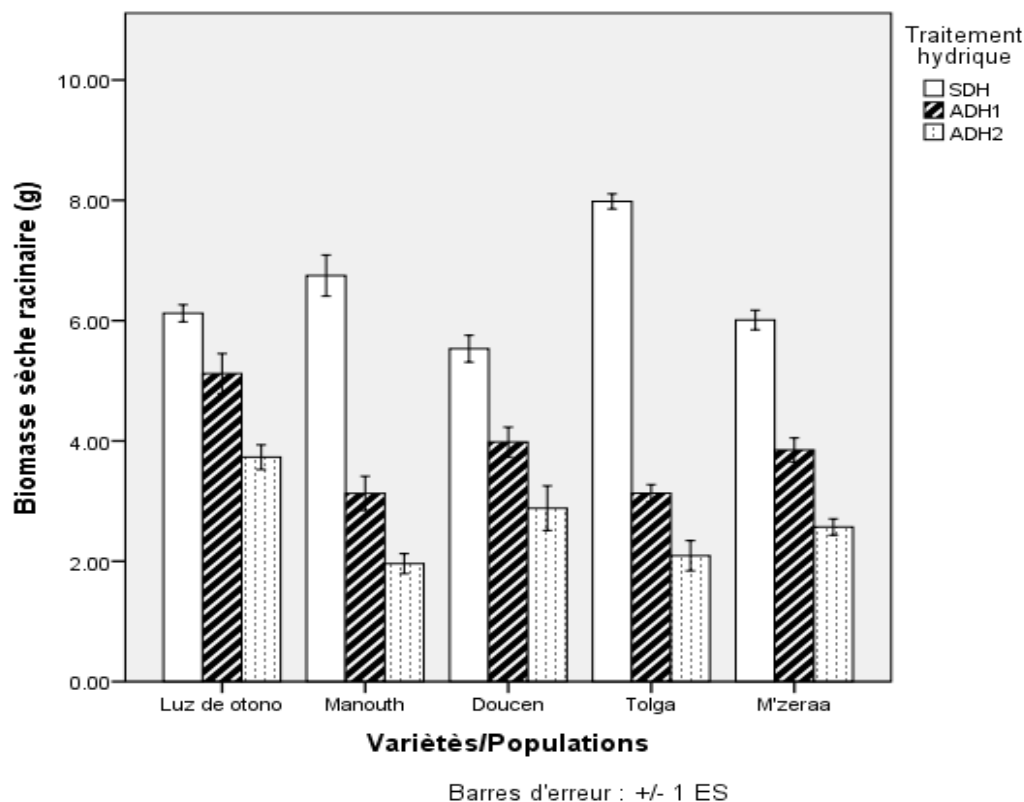


Figure 9: Variations de la biomasse sèche racinaire des plantes chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM.

- Rapport Biomasse sèche racinaire / biomasse sèche aérienne

Les résultats dégagés de cette analyse révèlent que le rapport de la biomasse sèche racinaire et la biomasse sèche aérienne dépend essentiellement de l'alimentation hydrique ($p \leq 0,001$). L'expression de ce caractère reste toutefois très influencée par la variabilité conduite ($p \leq 0,001$). Par contre, l'interaction des deux facteurs ne provoque aucune action notable sur l'expression de ce paramètre ($p > 0,05$) (Annexe, Tab.6).

Les résultats moyens obtenus (Figure 10) montrent que les plus faibles valeurs sont affichées au niveau du traitement SDH et elles oscillent entre 0,29 enregistré chez M'zeraa et 0,38 chez Luz de otono. Le manque d'eau a provoqué une augmentation du rapport dans les traitements ADH1 et ADH2 en comparaison de plantes bien hydratées. Au niveau du lot ADH1, les géotypes Manouth (38,92%) et Luz de otono (33,36%) se distinguent en inscrivant les taux



d'évolution les plus élevés, par contre la plus faible évolution chez la population Doucen (6,32%).

L'action du déficit hydrique au niveau du traitement ADH2, est plus exprimée sur le rapport. L'accentuation du déficit hydrique s'est accompagnée d'une nette élévation des valeurs du rapport chez l'ensemble des géotypes et des populations. Dans cette situation les valeurs d'évolution de ce paramètre se limitent par 17,51% (Doucen) et 64,65% (Luz de otono).

L'accentuation du déficit hydrique s'accompagne d'une élévation du rapport qui résulterait d'un déséquilibre constatée dans les tendances de réduction des taux des matières sèches, aérienne et racinaire. Ceci indique que la partie aérienne est plus sensible que souterraine au déficit hydrique pour l'élaboration de la matière sèche.

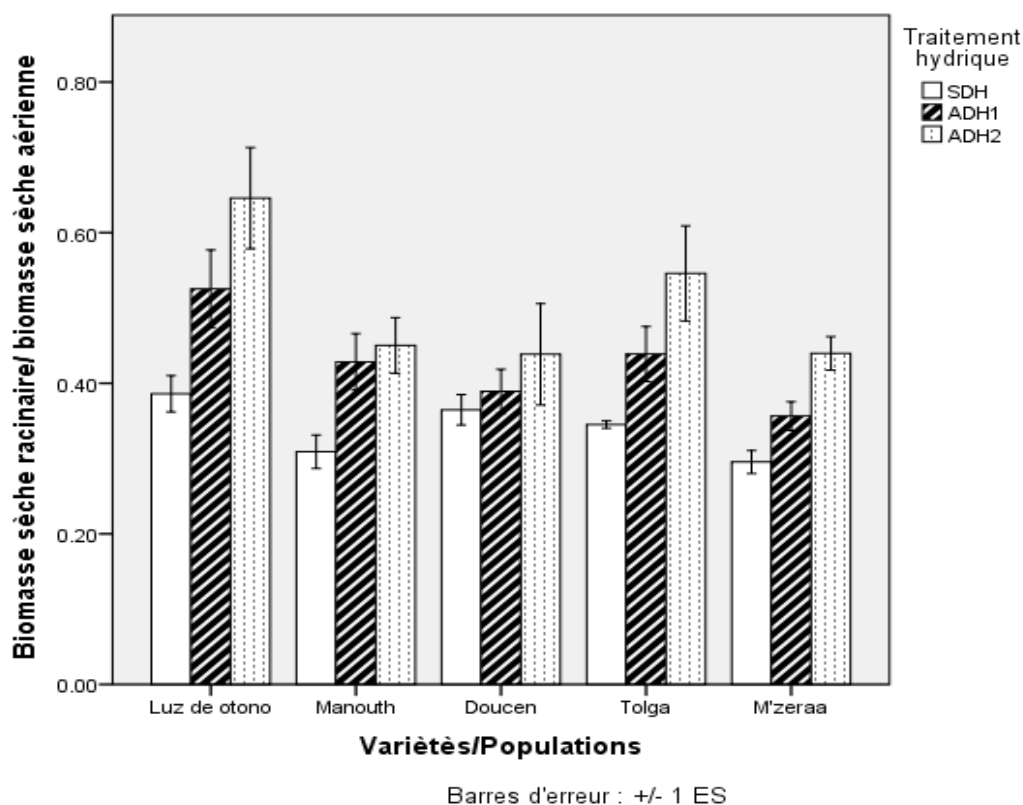


Figure 10: Variations du rapport biomasse sèche racinaire / biomasse sèche aérienne chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM.

Discussion

Les effets des différents niveaux de l'alimentation hydrique sur les deux parties, aérienne et racinaire sont de niveaux différents. Le déficit hydrique exerce une action régressive plus prononcée sur la partie aérienne ($r=-0,927$) que sur celle de la partie racinaire ($r=-0,877$).



Les résultats montrent que le rapport de la matière sèche racinaire et la matière sèche aérienne est en corrélation positive avec l'intensité du stress hydrique appliqué ($r=0,553$). Cette corrélation s'est traduite par des valeurs de ce rapport qui restent toujours supérieures chez les plantes les plus stressées. Ceci indique que le déficit hydrique n'a pas affecté de façon similaire les deux parties de la plante.

Devant la contrainte hydrique imposée, on constate que la réduction de la masse végétative concerne essentiellement la partie aérienne que le système racinaire. Ceci indique que la plante consacre les disponibilités des facteurs de croissance pour la protection des racines susceptibles d'assurer sa nutrition hydrique et minérale en situation de déficit hydrique. Cette tendance serait favorable aux mécanismes de tolérance au déficit hydrique, alors qu'elle serait pénalisante pour le maintien de la productivité de l'espèce dont l'expression est plus conditionnée par la vigueur de la partie aérienne.

Le déficit hydrique semble induire une allocation préférentielle de biomasse vers les racines, d'autant plus élevée que l'intensité du stress a été plus accentuée comme cela a été observé chez diverses espèces végétales (ALBOUCHI et *al.*, 2000; BAJJI et *al.*, 2000; THOMAS et *al.*, 2001).

Les stress hydrique sont responsables d'une perte de rendement de la biomasse végétale estimée à 50% pour les cultures les plus répondues (VINCENT, 2007). Ils constituent donc des facteurs limitants non négligeables. Ces stress se traduisent par des changements morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires qui affectent négativement la croissance de la plante et sa productivité (BEN NACEUR et *al.*, 2004 ; BOUZID et *al.*, 2010). La production de matière sèche est différemment affectée par les contraintes hydriques selon les rhizobia (SAXENA et *al.*, 1993) et le stade phénologique de la plante (ROY et *al.*, 1995). Elle se traduit par une baisse quand la contrainte hydrique est appliquée au stades végétatif et floraison (OUNANE et *al.*, 2003). Ainsi, BACHA (2002) sur pois chiche et HAMIDOU et *al.* (2005) sur niébé montrent que le poids de matière sèche des plants témoins est plus important que celui des plants stressés, ceci concorde avec nos résultats obtenus.

PURCELL et *al.* (1997) sur soja montre qu'une bonne production de matière sèche en condition de déficit hydrique a eu comme conséquence l'attribution continue des photosynthétats aux nodules qui ont prolongé l'activité de la nitrogénase.

Selon VIDAL et *al.* (1981) c'est le poids de matière sèche et non la hauteur qui est la plus sensible aux contraintes hydriques. La sécheresse provoque une diminution importante de la croissance de l'ensemble de l'appareil végétatif (AMRI – TILIOUINE, 2008).



Des corrélations significatives et positives ont été obtenues entre la teneur relative en eau et le poids sec de la partie aérienne, ainsi que la surface foliaire et le poids sec aérien avec respectivement des valeurs ($r = 0.776$, $r = 0.909$). Ces corrélations positives confirment d'une part l'étroite relation qui existe entre la surface foliaire et la production de biomasse et d'autre part confirme aussi que le stress hydrique a réduit la surface active pour la photosynthèse et provoqué une réduction de la croissance.

Nos résultats de la biomasse sèche, montrent généralement que le stress hydrique a un effet négatif sur la croissance des plantes de la fève. Il est constaté que les valeurs les plus élevées de la partie aérienne concernent la population Doucen, puis la variété Luz de otono. Cela est peut être dû à leurs différences génotypiques qui confèrent à chacune des caractéristiques propres et lui permettent de s'adapter à des situations nouvelles et différentes du stress.

3.3. Effet du stress hydrique sur les caractères physiologiques et biochimiques

3.3.1. Pigments photosynthétiques

La teneur en pigments photosynthétiques est un facteur important dans la détermination du taux de la photosynthèse et de la production de la matière sèche (GHOSH *et al.*, 2004).

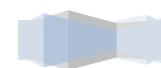
Résultats

Pour apprécier, l'effet de la contrainte hydrique sur les pigments chlorophylliens des géotypes et populations étudiés, on a procédé au dosage des chlorophylles "a" et "b" et pigments caroténoïdes des feuilles des variétés et des populations testées.

-Chlorophylle a

L'analyse statistique des résultats révèle que les variations du régime hydrique induisent des différences très hautement significative des teneurs en chlorophylle a ($p \leq 0,001$). La nature du géotype semble être à l'origine d'une variation très hautement significative ($p \leq 0,001$). L'interaction des deux facteurs d'étude exerce également des variations de grandeurs importantes sur l'expression de ce paramètre ($p \leq 0,001$) (Annexe, Tab.7).

Les résultats dégagés (Figure 11) indiquent que les déficits hydriques appliqués provoquent une diminution des teneurs en chlorophylle a chez l'ensemble des géotypes et des populations testés. Les teneurs en chlorophylle a affichées à l'échelle du traitement témoin (SDH), oscillent entre 17,85 $\mu\text{g/g}$ de MF inscrite par la population M'zeraa et 12,52 $\mu\text{g/g}$ de MF relevée chez le géotype Manouth. Sous conditions de déficit hydrique (ADH1), les réductions des teneurs en chlorophylle a constatée, sont comprises entre 21,02% (Luz de otono) et 46,98% (Tolga).



Les réductions des teneurs en chlorophylle a plus marquées en conditions de déficit hydrique plus prolongé (ADH2). Dans ces conditions la population Doucen se distingue par la plus faible réduction à une valeur de 39,92%, tandis que le génotype Manouth et la population Tolga manifestent les plus importantes réductions à des taux de 67,17 % et 68,16 % respectivement.

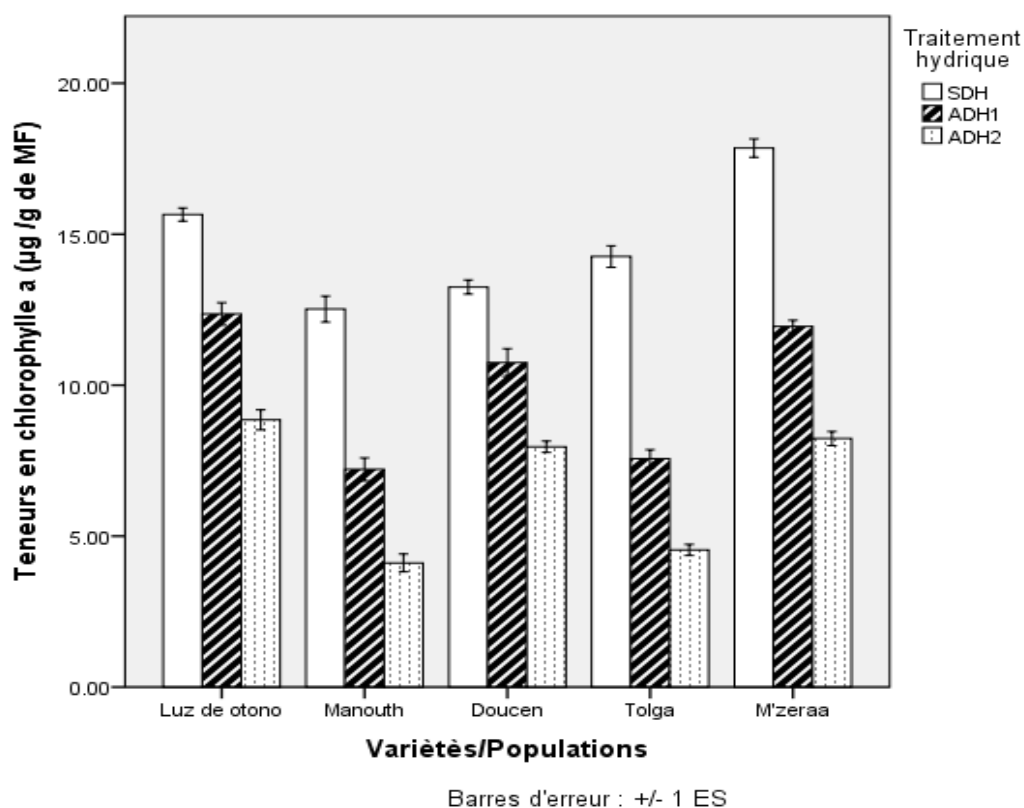


Figure 11: Variations des teneurs en chlorophylle a chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM.

-Chlorophylle b

L'étude des résultats indique que la contrainte hydrique influe d'une manière très hautement significative sur cette variable ($p \leq 0,001$). Ceci prouve que les intensités de stress ont provoqué des fluctuations de la teneur en chlorophylle b. Le facteur génotypique et l'interaction entre les deux facteurs d'étude ont également un effet très hautement significatif sur la teneur en chlorophylle b ($p \leq 0,001$) (Annexe, Tab.8).

Les résultats moyens obtenus (Figure 12) montrent que l'application progressive du déficit hydrique provoque une nette régression de la teneur en chlorophylle b. A niveau du lot (SDH) les fluctuations de la teneur en chlorophylle b oscillent entre une valeur maximale de l'ordre



de 5,75 µg /g de MF et une valeur minimale égale à 4,13 µg /g de MF notées respectivement chez la population M'zeraa et la variété Luz de otono.

Les teneurs en chlorophylle b des variétés et des populations étudiées sont réduites de manière significative sous l'effet de la contrainte hydrique. Dans le lot ADH1, la population Tolga se distingue parmi la collection conduite, par sa plus grande sensibilité au déficit hydrique en inscrivant un taux de réduction de la valeur de cette caractéristique, de 41,14%. Alors que dans les mêmes conditions, la population Doucen s'avère plus résistante en inscrivant 22,34% de réduction. En conditions de déficit hydrique plus prolongé (ADH2), les réductions des teneurs en chlorophylle b sont plus prononcées. A ce niveau, la population Tolga se distingue toujours parmi l'ensemble en inscrivant la plus grande réduction de ce paramètre avec un taux de 63,92%, tandis que la population Doucen manifeste la faible réduction avec un taux 45,77%.

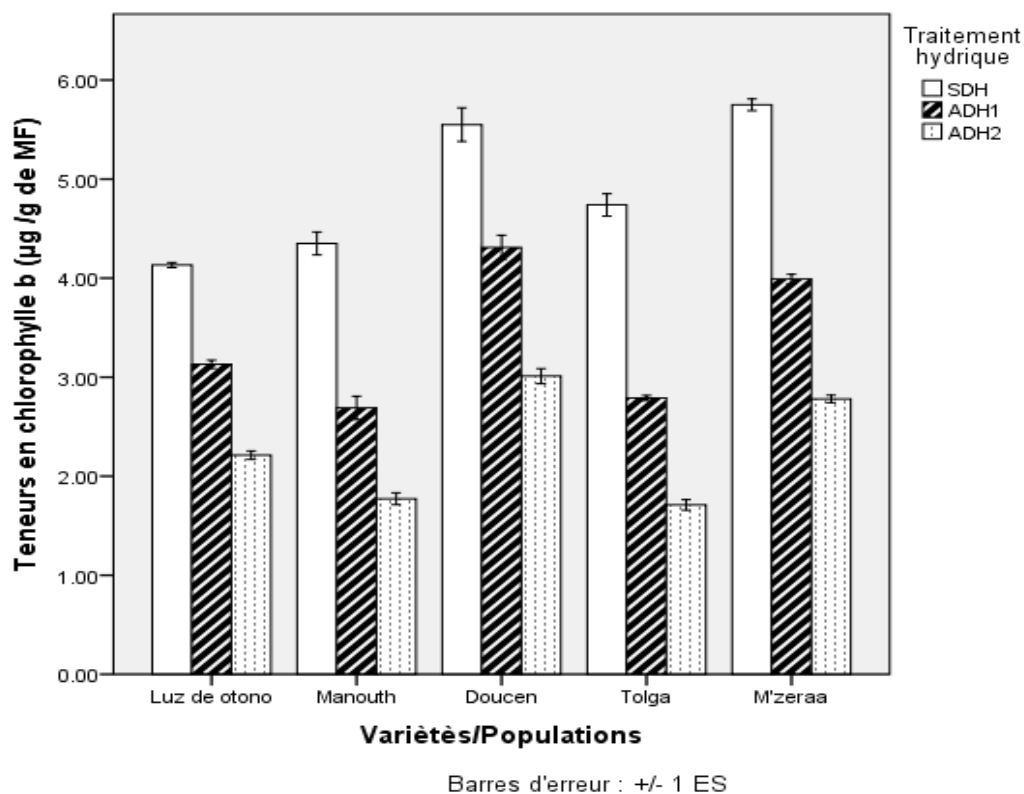


Figure 12: Variations des teneurs en chlorophylle b chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM.

-Chlorophylle totale (chlorophylle a + chlorophylle b)

L'analyse des résultats dégagés montre que la teneur en chlorophylle totale a été affectée par le manque d'eau de manière très hautement significative et proportionnelle à l'intensité du



stress hydrique appliqué ($p \leq 0,001$). La variabilité conduite influence de son côté l'expression de cette variable ($p \leq 0,001$). Des distinctions génotypiques sont constatées en réaction aux régimes hydriques appliquées et qui se justifient par la présence d'une influence très hautement significative de l'interaction des deux facteurs quant à l'élaboration de ce paramètre ($p \leq 0,001$) (Annexe, Tab.9).

Les résultats moyens (Figure 13) montrent qu'à l'échelle du traitement SDH, Les teneurs en chlorophylle totale fluctuent entre des valeurs de 16,87 $\mu\text{g/g}$ de MF (Manouth) et 23,6 $\mu\text{g/g}$ de MF (M'zeraa). Les teneurs en chlorophylle totale des variétés et populations étudiées sont réduites de manière significative sous l'effet de la contrainte hydrique. Dans le lot ADH1, la teneur en chlorophylle totale diminue chez pratiquement l'ensemble des génotypes et populations conduits. Le génotype Luz de otono et la population Doucen se distinguent par les plus faibles taux de réductions (21,69% et 19,89 % par rapport aux témoins respectifs). Dans le traitement ADH2, l'ensemble des génotypes et des populations ont inscrit des réductions notables de leurs teneurs en chlorophylle totale respectifs. Selon cette tendance, le génotype Manouth et la population Tolga extériorisent les plus importantes réductions et à des taux respectifs de 65,15% et 67,11%.

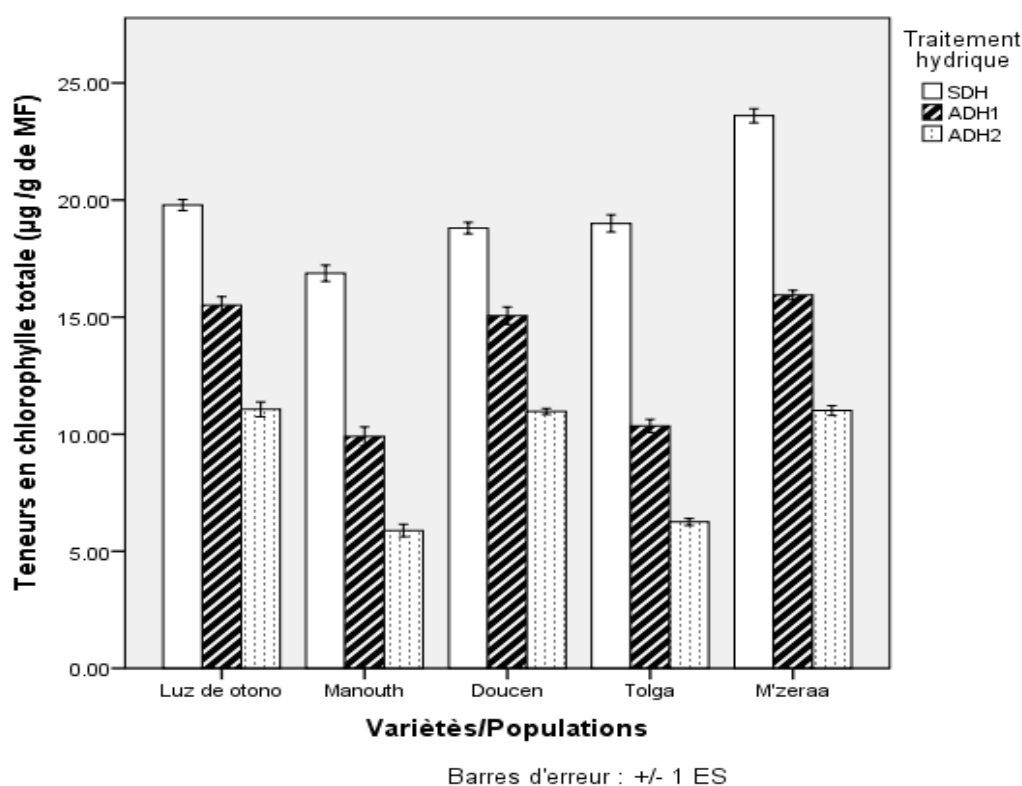


Figure 13: Variations des teneurs en chlorophylle totale chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM.



-Caroténoïdes

L'analyse de la variance des résultats obtenus, démontre que la teneur en caroténoïdes est sous une influence très hautement significative, de la nature des génotypes et des populations testés ($p \leq 0,001$), des traitements hydriques adoptés ($p \leq 0,001$) et de leur interaction ($p \leq 0,001$). En effet, l'application des régimes hydriques déficitaires provoque une nette réduction de la teneur en caroténoïdes et ce chez l'ensemble des génotypes et des populations, à des degrés différents (Annexe, Tab.10).

Les résultats moyens obtenus (Figure 14) montrent qu'au niveau du traitement témoin (SDH), les valeurs des caroténoïdes sont comprises entre 4,33 $\mu\text{g/g}$ de MF (M'zeraa) et 2,45 $\mu\text{g/g}$ de MF (Manouth). A l'échelle du lot ADH1, Les génotypes et les populations de la collection ont manifesté une réduction des teneurs en caroténoïdes, où la population Tolga se distingue parmi cet ensemble avec une réduction de 29,97%. L'application du déficit hydrique plus sévère (ADH2), est accompagnée d'une nette réduction des valeurs des teneurs en caroténoïdes, chez l'ensemble des génotypes expérimentés. Ces réductions ont atteint des niveaux de 56,45% (Tolga) et 53,47% (Manouth). Par contre la population Doucen et la variété Luz de otono semblent être moins affectées par le stress hydrique, elles enregistrent respectivement des réductions de l'ordre de 35,25% et 35,85%.

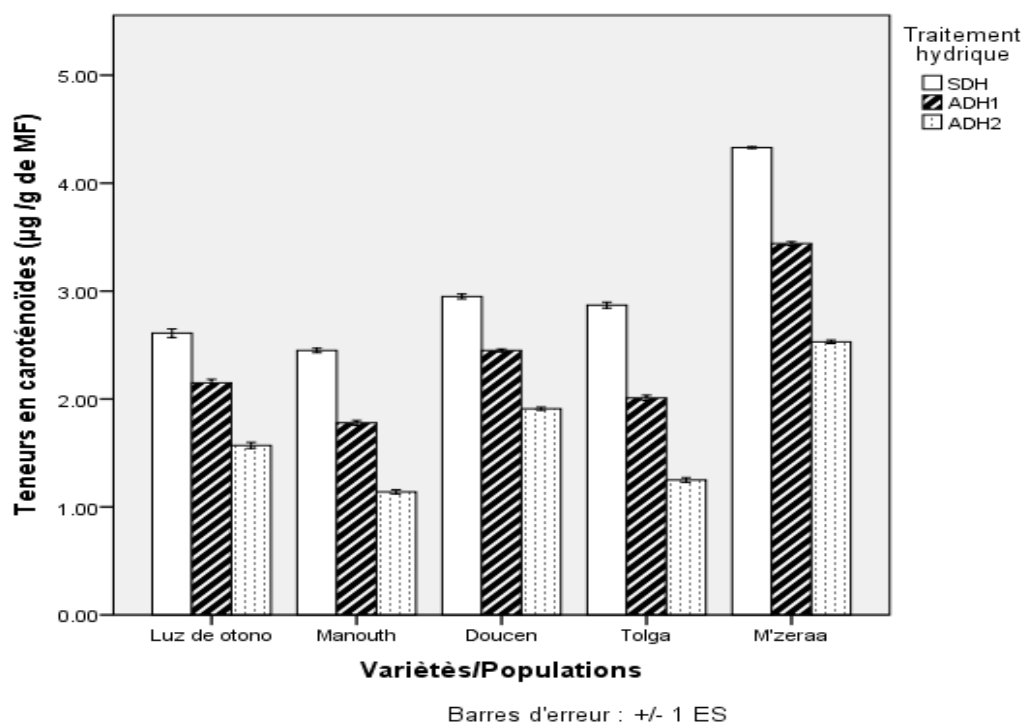


Figure 14: Variations des teneurs en caroténoïdes chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM.



-Chlorophylle a / chlorophylle b

L'analyse des résultats obtenus, démontre que son expression est indépendante de traitement hydrique appliqué ($P > 0,05$). Les variations de la nature des génotypes et des populations testés provoquent par contre des différences très hautement significatives ($p \leq 0,001$). Aucune distinction significative n'est manifestée par les génotypes et les populations testés vis-à-vis du déficit hydrique appliqué ($p > 0,05$) (Annexe, Tab.11).

D'après les résultats (Figure 15) notés entre les lots SDH et ADH1, les génotypes et les populations conduits se distinguent en deux groupes. Un premier groupe englobe les génotypes dont le ratio Chlorophylle a / chlorophylle b est augmenté par ce déficit et qui sont représentés par Doucen (4,47%), Luz de otono (4,21%). Le reste des génotypes ont manifesté une réduction de leur ratio Chlorophylle a / chlorophylle b, M'zeraa (3,52%), Manouth (6,87%) et Tolga (9,93%). L'intensification du déficit hydrique (ADH2), redimensionne les génotypes en des comportements différents. Il existe celui regroupant les génotypes dont le ratio Chlorophylle a / chlorophylle b a été réduit par le déficit hydrique, et on retient M'zeraa (4,64%), Tolga (11,75%) et Manouth(19,32%). A l'opposé, on distingue parmi la collection des génotypes ayant un accroissement de leur ratio Chlorophylle a / chlorophylle b et sont représentés par Doucen (10,77%) et Luz de otono (5,68%).

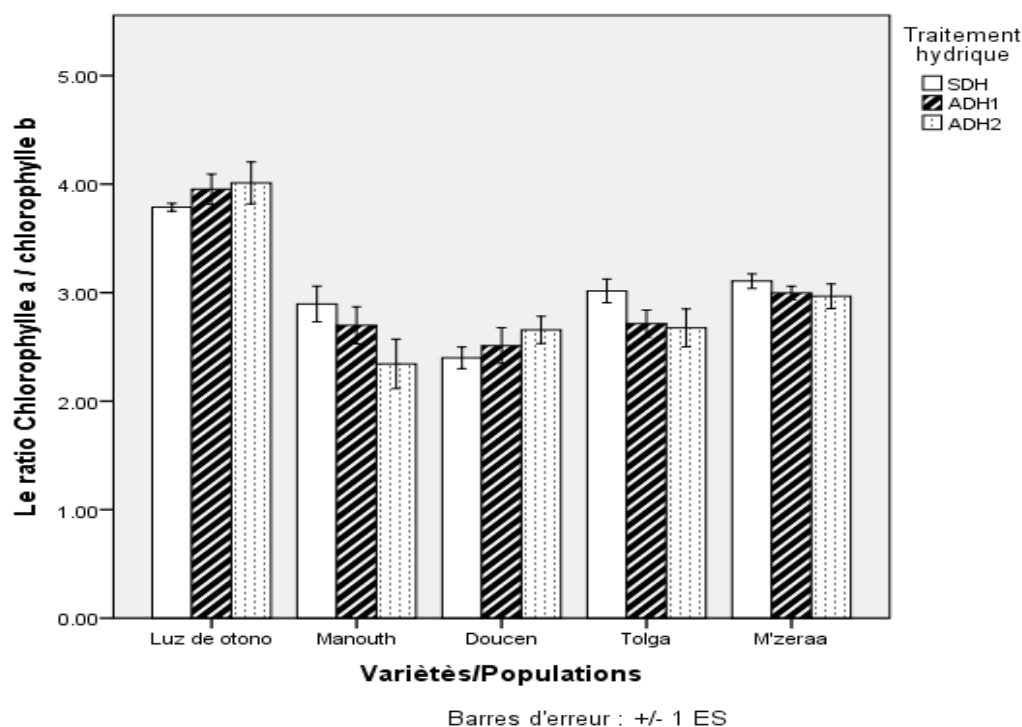


Figure 15: Variations du ratio chlorophylle a / chlorophylle b chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM.



-Chlorophylle/ Caroténoïdes

L'analyse des résultats dégagés montre que le ratio chlorophylle/ caroténoïdes a été affecté par le manque d'eau de manière très hautement significative et proportionnelle à l'intensité du stress hydrique appliqué ($p \leq 0,001$). La nature de la variabilité génétique conduite permet également des différences très hautement significatives d'expression de cette variable ($p \leq 0,001$). L'interaction entre les deux facteurs d'études influe de manière hautement significative sur l'expression de ce paramètre. Les variétés et les populations testées se comportent de manière divergente (Annexe, Tab.12).

L'application du déficit hydrique sous les deux traitements ADH1 et ADH2, provoque une diminution de chlorophylle/ caroténoïdes chez l'ensemble des géotypes et des populations testés. Cette réduction reste dépendante de l'intensité du déficit hydrique. Elle s'avère plus marquée avec l'intensification du stress hydrique. Ainsi dans le lot ADH1, les réductions sont limitées par des valeurs extrêmes enregistrées chez la population Doucen (3,55%) et la variété Manouth (19,23%). En conditions de déficit hydrique plus persistant (ADH2), les réductions sont encore plus importantes, chez l'ensemble des géotypes et populations expérimentés. Les valeurs génotypiques sont différentes et sont comprises entre 7,05% (Luz de otono) et 25,09% (Manouth) (Figure 16).

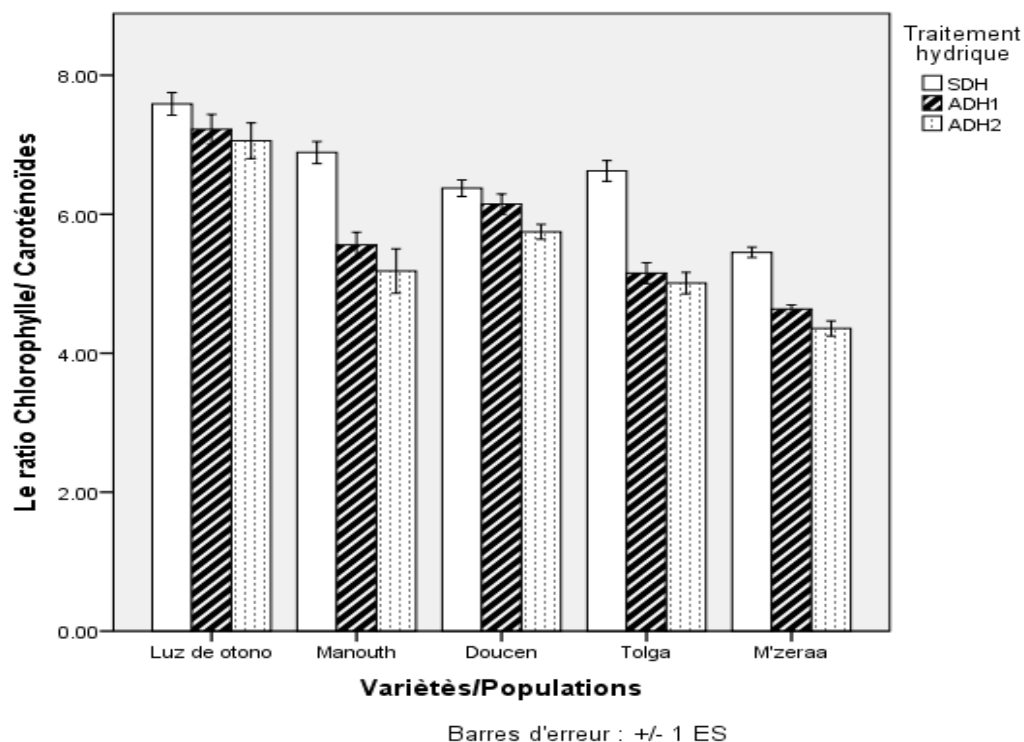


Figure 16: Variations du ratio chlorophylle / caroténoïdes chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM.



Discussion

La teneur en pigments photosynthétiques dans les feuilles (chlorophylles et caroténoïdes) et les ratios, tels que Chl a / b et Chl / Car sont de bons indicateurs pour la détection du stress et de la tolérance des plantes audit stress (FOYER et *al.*, 2002 ; DESINGH et KANAGARAJ, 2007). Nos résultats ont montré que le stress hydrique a induit une diminution significative de Chl a, de Chl b ($r = -0.837$, $r = -0.857$) et de la concentration en caroténoïdes ($r = -0.673$) dans les feuilles, en corroborant des résultats similaires (SMIRNOFF, 1993 ; FAROOQ et *al.*, 2009). Cette diminution notée peut être due à une biosynthèse très faible de la chlorophylle ou une décomposition rapide (dégradation) de la chlorophylle ainsi que des changements de structure de la membrane des thylakoïdes (BACELAR et *al.*, 2006).

D'après nos résultats, on peut noter que la variété Luz de otono et la population Doucen se distinguent par une performance efficace sur le plan énergétique. Ceci suggère que l'élaboration des photosynthétats est liée au statut hydrique de la feuille de plants. Une fois que les teneurs en chlorophylles (a), (b) et (a+b) établies pour les génotypes et les populations étudiés, il a été procédé au calcul du rapport Chl a/Chl b qui selon (GUETTOUCHE, 1990) représente un indicateur de tolérance à la sécheresse. En effet, selon ce même auteur, les variétés tolérantes à la sécheresse ont un rapport (Chl a/Chl b) plus élevé avec une coloration plus pâle du feuillage, que les variétés moyennement tolérantes. Les cultivars sensibles sont - quant à eux- caractérisés par un rapport (Chl a/Chl b) faible. D'après nos résultats, le ratio (Chl a/Chl b) est plus élevé pour le génotype Luz de otono et la population Doucen que pour les autres.

Le ratio Chl/Carot a été significativement affectée par le stress hydrique ($r = -0.463$). Ce résultat peut être expliqué par une décomposition plus rapide de la chlorophylle (source potentielle des ERO) que les caroténoïdes (piégeurs des ERO) et utilisé comme un indicateur précoce de la chlorose des plantes sous stress hydrique en révélant un besoin accru pour la photoprotection de la chlorophylle par les caroténoïdes (BACELAR et *al.*, 2006). En fait, il est bien documenté que les fonctions de caroténoïdes autres que la capture de la lumière comprennent la photoprotection en protégeant les systèmes photosynthétiques contre les dommages de photoinhibition causés par l'oxygène singulet (1O_2), qui est un produit de l'état triplet excité de la chlorophylle (ZHANG et *al.*, 2008) . Par hypothèse, la perturbation des ratios de pigments photosynthétiques pourrait conduire à une production accrue des ERO, et par conséquent, les ERO peuvent dépasser la capacité de piégeage des caroténoïdes dont



certaines agissent comme des piègeur directs des ERO produites par la chlorophylle (FAROOQ et al., 2009 ; KHOLOVA et al., 2011).

3.3.2. Accumulation de la proline

Résultats

L'analyse de la variance a révélé un effet très hautement significatif du stress hydrique ($P \leq 0,001$) sur l'accumulation de la proline, des différences entre les variétés et les populations sont très hautement significatives. Aussi, l'interaction entre les deux facteurs est très hautement significative ($P \leq 0,001$) (Annexe, Tab.13)

Les niveaux de stress hydrique appliqués ont induit une augmentation notable des teneurs en proline dans les feuilles (Figure 17). En effet, plus le niveau de la contrainte hydrique appliqué augmente plus les teneurs en proline deviennent plus marquées. Les teneurs maximales en proline sont accumulées au niveau de traitement ADH2. La population Doucen et la variété Luz de otono ont accumulé respectivement les plus fortes teneurs, soit 163,43 $\mu\text{g/g}$ de MF et 152,15 $\mu\text{g/g}$ de MF, suivies des populations M'zeraa (118,47 $\mu\text{g/g}$ de MF), Tolga (117,24 $\mu\text{g/g}$ de MF) et la variété Manouth (112,23 $\mu\text{g/g}$ de MF).

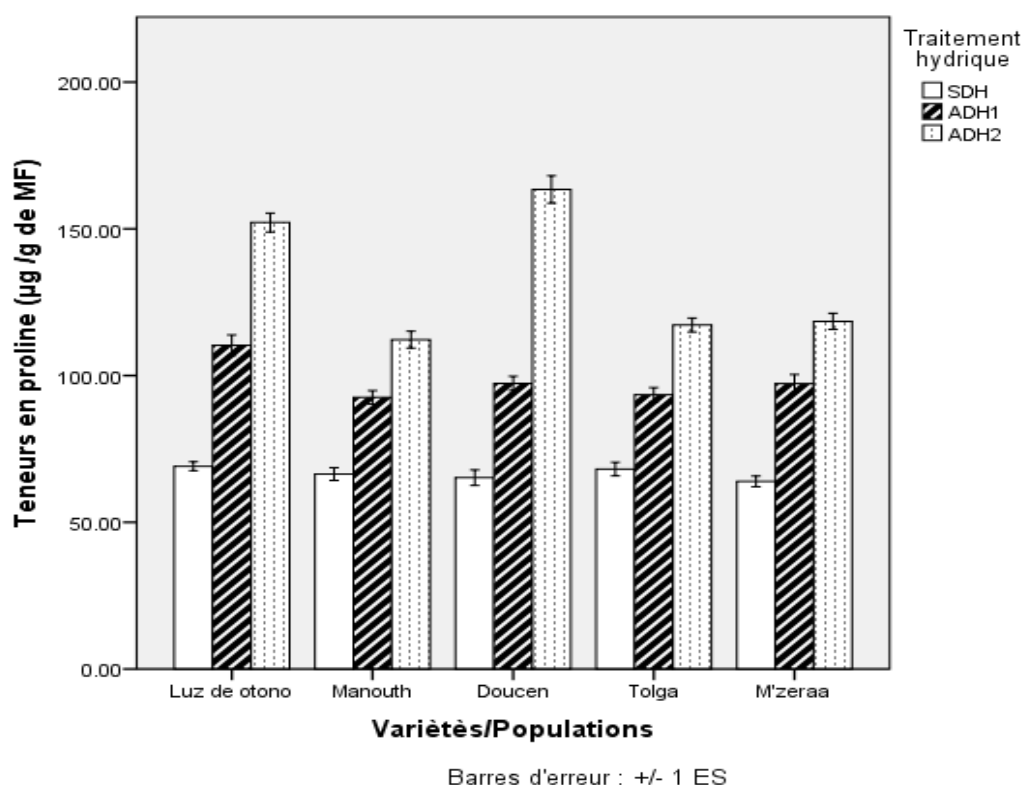


Figure 17: Variations des teneurs en proline chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions.

Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM.



Discussion

En condition de déficit hydrique, une corrélation positive et significative ($r=0,870$) est notée entre la contrainte hydrique et la teneur en proline. En effet le déficit hydrique appliqué augmente considérablement la teneur en proline. Ces résultats se confirment par plusieurs chercheurs sur différents types de plantes, tel que le blé dur (NOURI, 2002 ; MORSLI, 2010), le thé (CHAKRABORTY et *al.*, 2002) et la fève (BOUSBA, 2001).

L'examen de la réponse biochimique du contenu de proline dans les feuilles, montre que l'accumulation de cet acide aminé est variable d'une variété à une autre ; la variété Luz de otono et la population Doucen accumulent plus de proline que les populations M'zeraa, Tolga et la variété Manouth , ce qui semble confirmer, du point de vue tolérance, la supériorité de la variété Luz de otono et la population Doucen par rapport aux autres.

Nos résultats sont conformes avec d'autres recherches faites par AZZOUZ (2009) et CHAHBAR (2011). La proline est un acide aminé libre considéré comme biomarqueur de stress. Les gènes impliqués dans la synthèse d'osmoprotectants comme ce dernier, sont surexprimés sous l'influence du stress (ZHU, 2002). Ces osmoprotectants sont des solutés du métabolisme cellulaire qui protègent les plantes contre les différents stress abiotiques, par le réajustement osmotique, ce qui maintient la turgescence cellulaire et l'absorption hydrique dans des conditions hyperosmotiques. En effet, l'accumulation de la proline dans le système racinaire et foliaire des plantes est parmi les manifestations les plus remarquables induites par le stress hydrique. Cette accumulation est sans doute due à une perturbation du métabolisme et/ou d'un processus de stockage de l'azote nécessaire à la survie de la cellule. La présence de la proline dans les feuilles est souvent corrélée avec la capacité des plantes à survivre en condition de stress (RADHOUANE, 2013 ; SUZUKI et *al.*, 2014).

Par ailleurs, l'accumulation de solutés compatibles, tels que la proline en réponse aux stress hydrique chez les plantes, est suggérée de se produire principalement dans le cytosol pour équilibrer le potentiel osmotique de la vacuole où principalement les solutés non- compatibles (par exemple des ions inorganiques) sont séquestrés (CLAUSSEN, 2005).

L'accroissement du niveau de la proline est une réponse commune des plantes stressées, rapporté par ERASLAN et *al.*, (2012) et RIVERO et *al.* (2014)

Cependant, l'augmentation de la teneur en proline dans les organes de la plante peut être due à l'expression des gènes codant des enzymes clés de la synthèse de la proline Pyrroline-5-carboxylate (P5C) et une faible activité des enzymes oxydants (proline déshydrogénase) qui est contrôlée par les stress osmotique (RIVERO et *al.*, 2014).



Chez les plantes tolérantes, les processus déclenchés par les premiers signaux impliquent des contrôles de la transcription activant les mécanismes de réponse au stress qui maintiennent ou rétablissent l'homéostasie, facilitent la rétention d'eau, protègent le chloroplaste et l'intégrité de la membrane cellulaire (VINOCUR et ALTMAN, 2005).

Cependant, TRINCHANT *et al.* (2004) et VERDOY *et al.* (2006) ont établi que la synthèse de la proline se fait essentiellement chez les plantes au niveau des tiges et feuilles. Elle est ensuite transportée vers les autres organes de la plante ainsi que les nodules via des transporteurs spécifiques à la proline dont l'activité est induite par le stress hydrique. Ceci impliquerait un rôle important de la proline dans la préservation de l'activité nitrogénasique des nodules sous stress osmotique.

Des précédents résultats, nous avons constaté que parallèlement à l'augmentation de la teneur en proline foliaire, une baisse des teneurs en pigments chlorophylliens totaux a été remarquée sous l'effet du stress hydrique. Ceci est confirmé par une corrélation négative et significative ($r = -0,666$). Ce résultat suggère l'existence d'une connexion entre les voies de biosynthèse des pigments chlorophylliens et de la proline. Une compétition entre ces deux composés sur leur précurseur commun, le glutamate, peut être à l'origine de cette évolution (GRENNAN, 2006).

3.3.3. Accumulation des sucres solubles

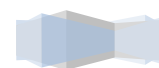
Résultats

La contrainte hydrique dans sa globalité a induit une augmentation des teneurs en sucres solubles chez les variétés et les populations testées (Figure 18). En effet, au fur et à mesure que le stress hydrique devient sévère, les plantes enregistrent des teneurs en sucres solubles très élevés.

L'étude statistique des résultats obtenus, montre que les variations des teneurs en sucres solubles varient significativement en fonction, des génotypes et populations testés ($p \leq 0,001$) et des régimes hydriques appliqués ($p \leq 0,001$). L'interaction de ces deux facteurs permet également des variations hautement significatives des résultats de ce paramètre (Annexe, Tab.14).

A l'échelle de traitement témoin (SDH), la haute valeur est marquée par la population Tolga de l'ordre de 117,56 $\mu\text{g/g}$ de MF et la faible valeur est donnée par le génotype Luz de l'ordre de 85,23 $\mu\text{g/g}$ de MF.

Au niveau du traitement plus sévère ADH2, Les quatre variétés ont enregistrées des



augmentations de 43,01%, 45,99%, 52,76%, 65,94 et de 68,28% respectivement chez les variétés et les population Tolga, Manouth, M'zeraa ,Luz de otono et Doucen par rapport aux témoins.

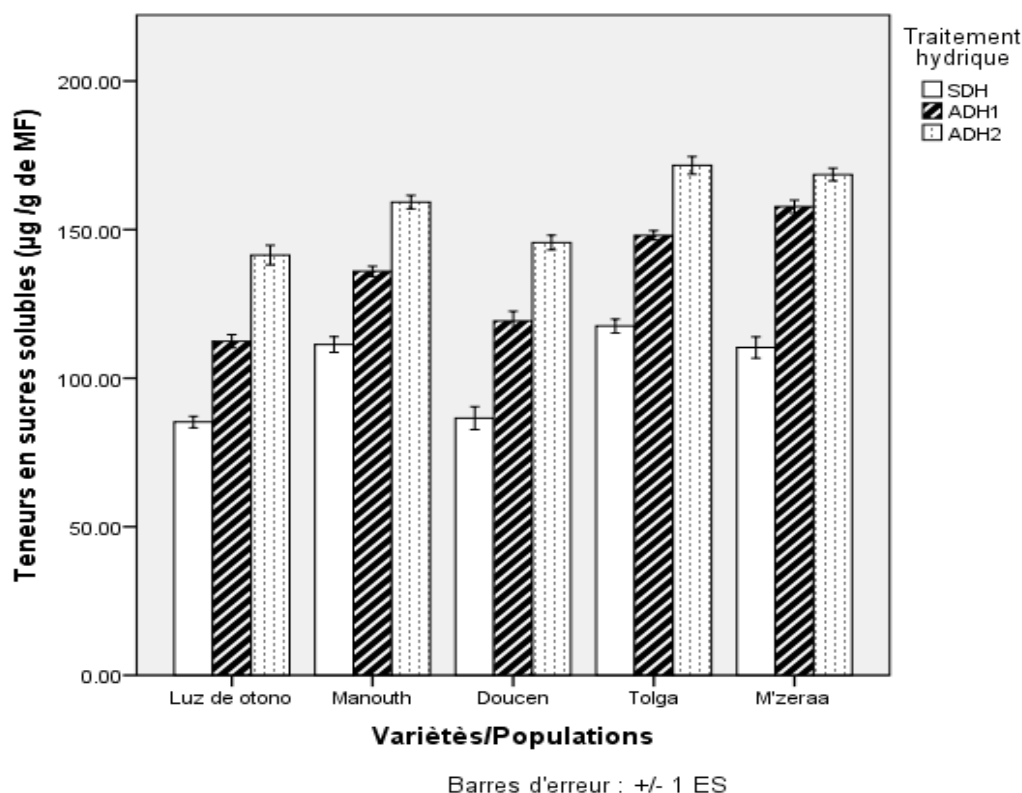


Figure 18: Variations des teneurs en sucres solubles chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM.

Discussion

Lors de notre travail, les traitements hydriques imposés ont induit une accumulation des sucres solubles ($r=0,825$) et pratiquement chez toutes les variétés et les populations testées.

Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par CHAKHCHAR (2015) ; les principaux sucres accumulés sous stress sont le glucose, le fructose, le saccharose (HARE et al., 1998).

Le stress altère la compartimentation en faveur de la synthèse du saccharose qui est attribuée d'une manière exclusive à l'activation du saccharose phosphate synthétase (SPS) par une phosphorylation réversible des protéines (MASTRANGELO et al., 2000)

Depuis longtemps, il est connu que le taux des sucres augmente considérablement chez les plantes soumises aux différents types de stress. Cela a été vérifié par LAZALI (2009) chez L'arachide sous différents stress hydriques, par MORSLI (2010) chez le blé suite à un déficit hydrique. Ceci concorde bien avec nos résultats.



Les sucres ont un double rôle chez les plantes, ils sont impliqués dans divers événements métaboliques et dans la régulation de divers gènes en particulier ceux qui sont responsables de la photosynthèse, du métabolisme du saccharose et de la synthèse d'osmoprotecteurs (GUPTA et KAUR, 2005).

Chez les plantes, les sucres sont nécessaires pour soutenir la croissance et la régulation de l'expression génique (HO et *al.*, 2001). Ils sont également considérés comme de bons osmorégulateurs (BOUATROUS, 2013) qui peuvent jouer un rôle important dans l'ajustement osmotique et l'adaptation des plantes au stress osmotique (CHAIB et *al.*, 2015). Selon BOUATROUS (2013), les sucres solubles protégeraient les membranes contre la déshydratation, l'état de déficit hydrique contribuerait en grande partie à l'abaissement du potentiel osmotique.

Les sucres solubles agissent comme molécules de signalisation en situation de stress (CHAVES et *al.*, 2009). Les sucres solubles ont un double rôle chez les plantes, ils participent aux événements métaboliques et agissent comme signaux moléculaires pour la régulation des différents gènes, en particulier ceux qui sont impliqués dans la photosynthèse, le métabolisme du saccharose et de la synthèse d'osmolyte (ROSA et *al.*, 2009). L'accumulation des sucres est suggérée comme indice de résistance au stress hydrique (MUNNS et *al.*, 2006).

L'accumulation de sucres solubles s'est démontrée fortement corrélée à l'acquisition de tolérance à la sécheresse chez les plantes. Dans notre étude, la plus forte accumulation de sucres solubles a été enregistrée chez la variété Luz de otono et la population Doucen ce qui suggère à être associés à une forte tolérance à la sécheresse par rapport aux autres génotypes et populations.

Similairement au proline, l'accumulation des sucres en réponse à la sécheresse est également très bien documenté (AZZOZ. 2009; BEN AHMED et *al.*, 2009; LABDELLI. 2011; TELLAH, 2016).

Une corrélation significative et négative a été obtenues entre l'accumulation des sucres solubles et la production de la biomasse sèche aérienne ($r = -0,704$). Cette corrélation confirme l'étroite relation qui existe entre l'accumulation des sucres et la diminution de la croissance sous stress hydrique. En effet, AZCON BIETO (1983) a rapporté que les faibles taux de carbone assimilé et la diminution des poids sec sont liés à l'accumulation des sucres solubles chez de nombreuses espèces végétales.



3.3.4. Teneurs en protéines

Le choix de ce paramètre métabolique est reconnu comme un bon indicateur de l'état physiologique de la plante (DOGANLAR et al., 2010).

Résultats

L'analyse de la variance a montré un effet très hautement significatif du stress hydrique ($P \leq 0,001$) sur la teneur en protéines des variétés et population étudiées, les différences entre les variétés et l'interaction entre les deux facteurs sont très hautement significatives (Annexe, Tab.15).

L'observation des résultats moyens (Figure 19) témoigne d'une diminution des teneurs en protéines en fonction de l'intensité du stress appliquées. Dans les deux lots ADH1 et ADH2, la population Tolga se distingue par leur plus grande sensibilité au déficit hydrique en inscrivant des taux de réduction de 44,64% et 57,47%, alors que dans les mêmes conditions, le génotype Luz de otono s'avère plus résistant en inscrivant 19,08% et 25,98% de réduction.

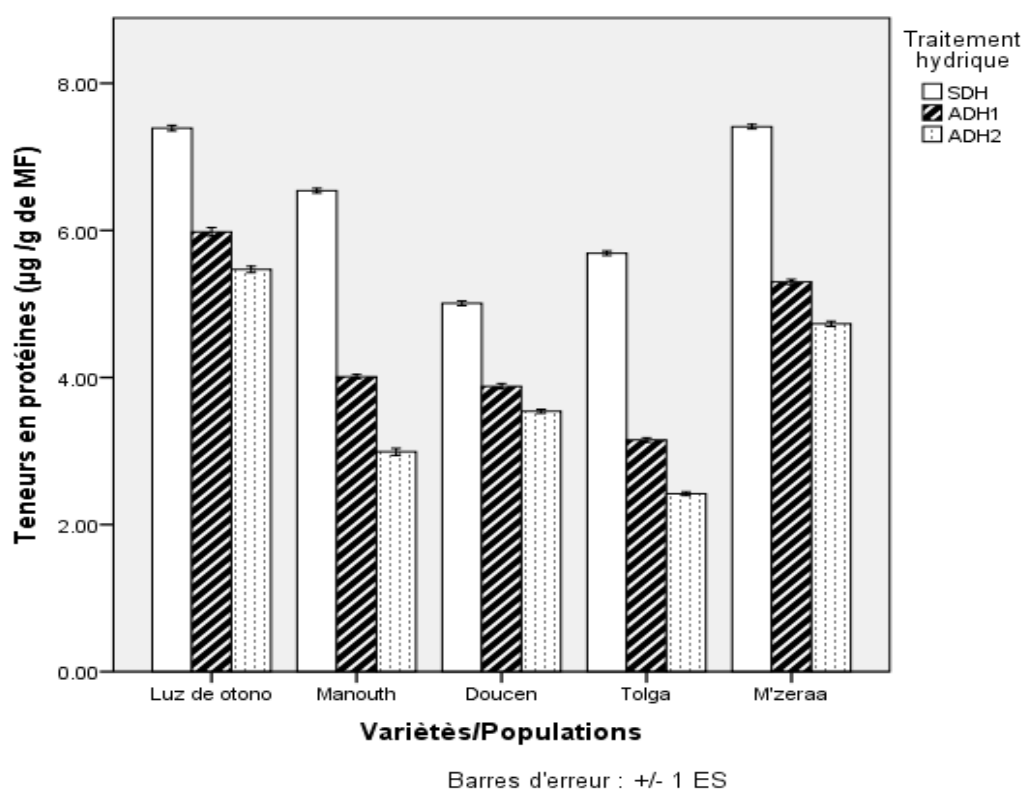


Figure 19: Variations des teneurs en protéines chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions.

Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM.

Discussion

Les résultats de la présente étude ont montré une diminution des protéines en fonction du stress hydrique avec un coefficient de corrélation significatif et négatif ($r=-0,724$).



Cette diminution est peut être due à un ralentissement de la protéosynthèse ou à l'hydrolyse des protéines riches en proline (BLAHA et al., 2000), suite à une diminution importante de la photosynthèse (LEE et al., 2004).

D'après TRINCHANT et al. (2004) ainsi que ASHARF et IRAM (2005) le déclin en protéines solubles foliaire est lié à l'augmentation de la proline foliaire. Ceci conforte nos résultats qui montrent une corrélation négative entre les taux de proline et de protéines foliaire ($r=-0,504$); l'augmentation de la proline foliaire est corrélée à la diminution des protéines soluble foliaire.

Une corrélation positive et significative a été obtenue entre les teneurs en protéines et la biomasse sèche aérienne ($r = 0,748$). Cette corrélation montre que les teneurs en protéines et la biomasse totale suivent la même évolution.

3.4. Effet du stress hydrique sur les caractères symbiotiques

3.4.1. Nombre des nodules

Résultats

L'analyse de la variance montre que le stress hydrique entraîne une baisse très hautement significative du nombre des nodules ($p \leq 0,001$) chez toutes les variétés et les populations. L'effet variété et l'interaction entre les deux facteurs sont également très hautement significatifs (Annexe, Tab.16).

Chez les plants témoin, le nombre des nodules la plus élevée est enregistrée chez la variété Luz de otono avec 92,2 nodules / plant, alors que la plus faible est observée chez la variété Manouth avec 60,2 nodules / plant.

Les résultats (Figure 20) montrent que le nombre des nodules par plante diminue significativement pour les variétés et les populations avec l'augmentation du stress hydrique.

Le stress modéré (ADH1) entraîne une baisse des nombre des nodules par plante de 29,88%, 31,02% et 46,59% chez M'zeraa, Luz de otono et Tolga respectivement. La variété Manouth semble être la plus affectée (49,50% de réduction), contrairement à la population Doucen moins sensible (23,72% de réduction).

Dans le traitement ADH2, le nombre des nodules est fortement réduit pour toutes les variétés et les populations comparativement au témoin, des taux de réductions de 51,60%, 53,55%, 59,44%, 69,44% et 71,31% ont été enregistrés respectivement chez Doucen, M'zeraa, Luz de otono, Manouth et Tolga.



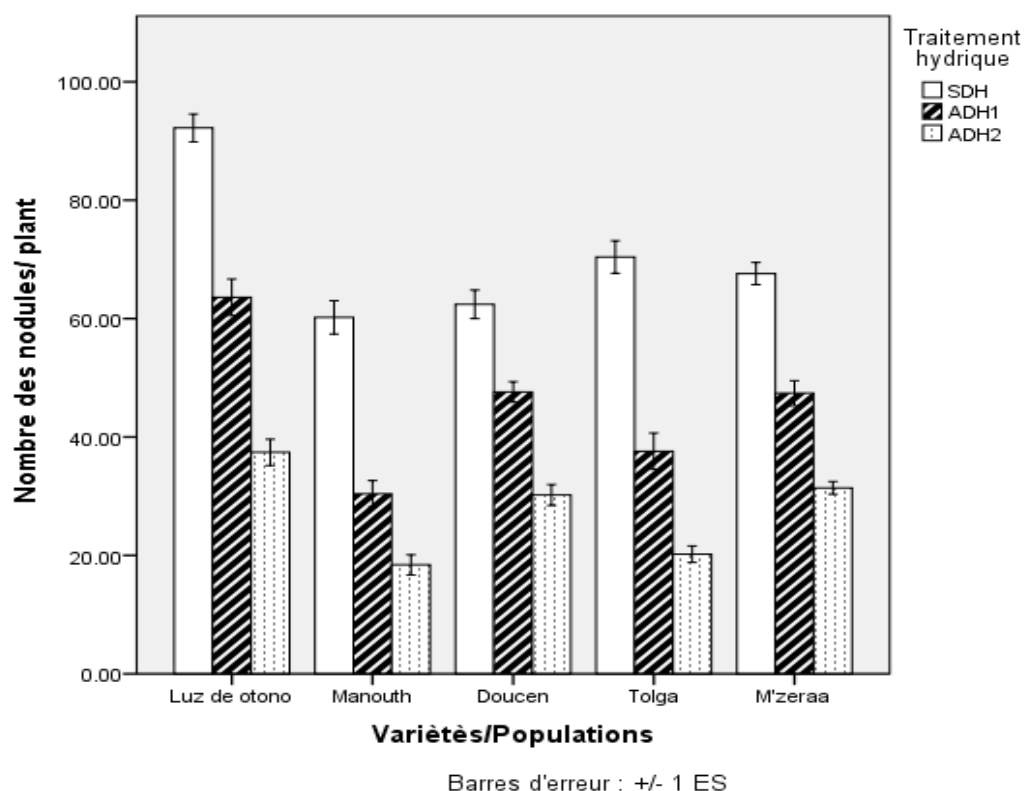


Figure 20: Variations du nombre des nodules par plant chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM.

3.4.2. Poids sec des nodules

Résultats

La mesure de la biomasse sèche des nodules est considérée comme le paramètre le plus faible pour évaluer le taux de nodulation d'une légumineuse.

L'analyse de la variance montre que le stress hydrique entraîne une baisse très hautement significative ($P \leq 0,001$) de la biomasse sèche des nodules des variétés et des populations testées. L'effet variété et l'interaction variété x traitement hydrique sont également très hautement significatifs (Annexe, Tab17).

La figure 21 montre que le stress hydrique induit une diminution du poids sec des nodules chez les cinq variétés et populations testées. Chez les plants témoin, La population Doucen et la variété Luz de otono enregistrent la plus forte biomasse sèche nodulaire (0,83 et 0,69 g/plant respectivement).

En condition de stress modéré (ADH1), des baisses significatives de 31,33%, 36,25%, 43,10%, 46,77% et 54,35% ont été enregistrées chez Doucen, Luz de otono, Manouth, M'zeraa et Tolga respectivement.



En condition de stress sévère (ADH2), les populations M'zeraa et Tolga semblent être les plus affectées, elles enregistrent respectivement des baisses de 80,65% et 82,61% par rapport aux témoins respectifs.

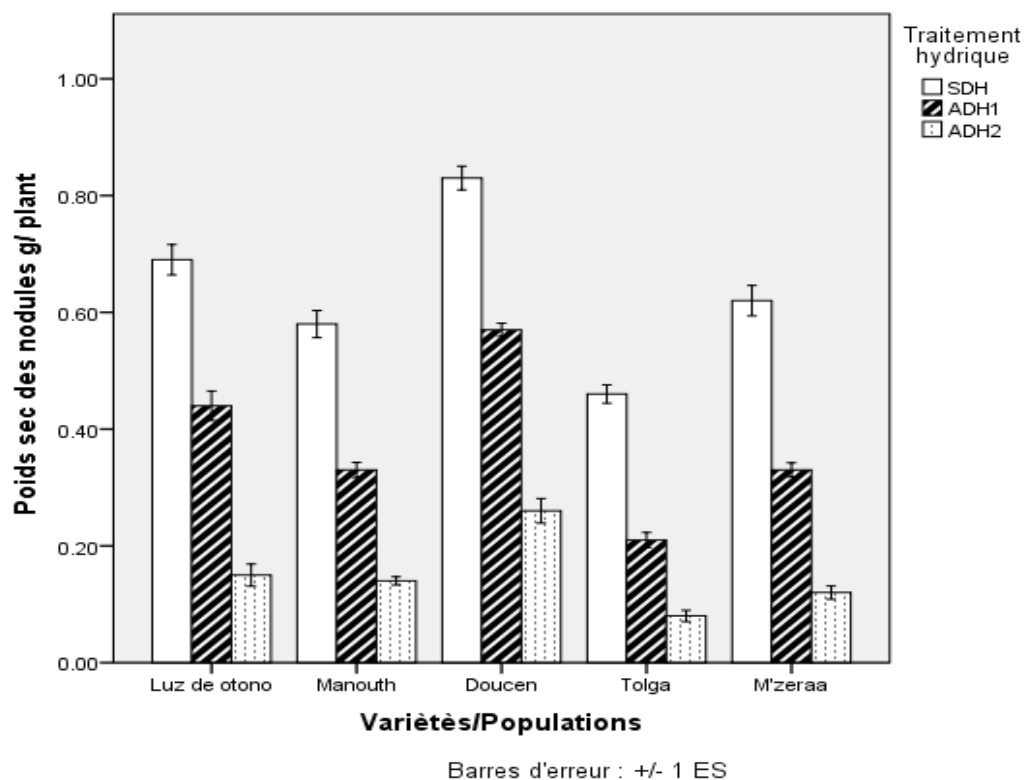


Figure 21: Variations du poids sec des nodules par plant chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM.

3.4.3. Teneurs en leghémoglobine

Résultats

L'analyse de la variance montre que le stress hydrique entraîne une baisse très hautement significative ($P \leq 0,001$) des teneurs en leghémoglobine des variétés et populations testées. L'effet variété et l'interaction entre les deux facteurs sont également très hautement significatifs (Annexe, Tab.18).

Les résultats obtenus montrent que le teneur en leghémoglobine diminue significativement pour les cinq variétés et populations en présence du stress hydrique (Figure 22). Dans le lot ADH1, une réduction de 68% et 31,25% est observée chez Tolga et Luz de otono.

En présence de stress sévère, des baisses maximales de 86% et 91,67% ont été observées chez la population Tolga et la variété Manouth respectivement, contre une baisse de 70% chez la population Doucen.



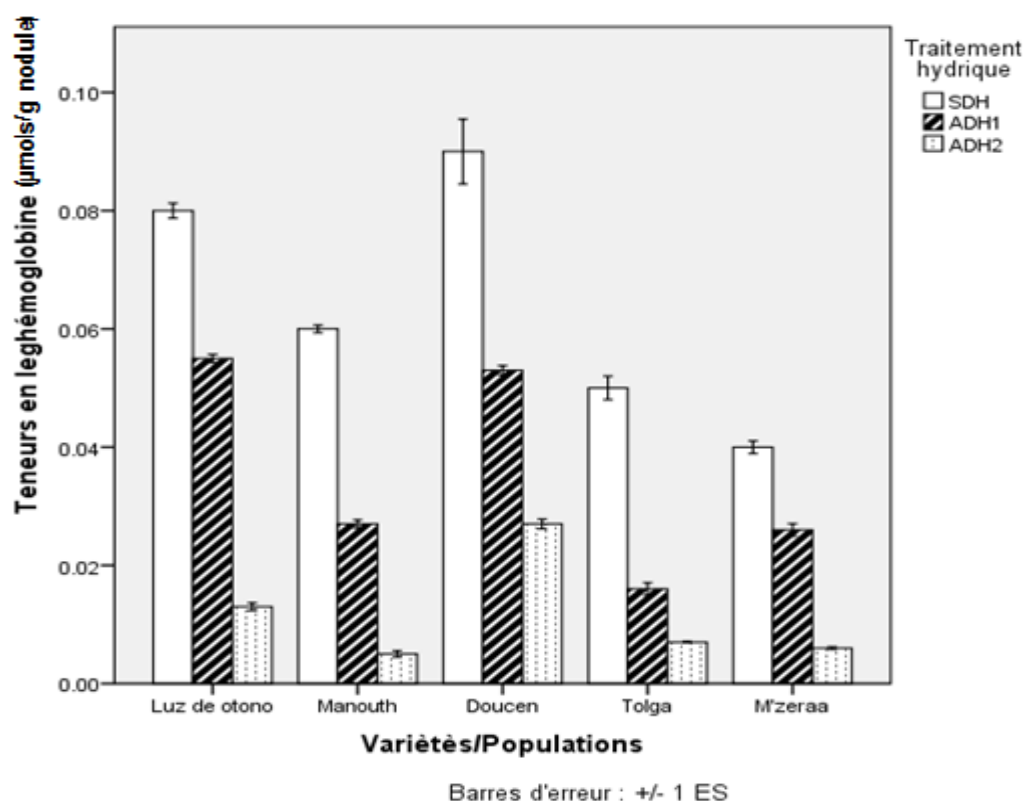


Figure 22: Variations des teneurs en leghémoglobine des nodules chez les cinq variétés et populations *Vicia faba* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM.

Discussion

L'effet du stress hydrique se traduit par une réduction du nombre et du poids sec des nodules chez les variétés et les populations ($r = -0,844$, $r = -0,862$). Les résultats obtenus montrent une réduction du poids sec plus importante que celle du nombre de nodules chez les variétés et les populations testées, indiquant ainsi que l'inhibition du stress ne concerne pas uniquement le processus de la nodulation mais également sur la croissance nodulaire.

La réduction du nombre et du poids sec des nodules est associée également à une diminution des teneurs en leghémoglobine, plus importante chez la variété Manouth et la population Tolga.

La sensibilité de la fixation de l'azote au déficit hydrique a été montrée par plusieurs auteurs, notamment chez l'arachide (Lazali, 2009; TELLAH, 2016), le cowpea (VENKATESWARLU et al., 1989), le soja (SINCLAIR et al., 2007), la fève (GUERIN et al., 1990) et chez le pois-chiche (OUNANE et al., 2004).

Il est cependant admis que le facteur majeur qui induit des changements dans l'activité nitrogénase est la concentration d'oxygène libre à l'intérieur du nodule (OUNANE et al., 2005).



En effet, l'augmentation de la teneur en oxygène de l'atmosphère entourant les nodosités sous l'effet du stress hydrique peut s'expliquer par le fait que la privation d'eau provoque la plasmolyse des cellules corticales et leur tassement, augmentant ainsi la résistance à la diffusion de l'oxygène vers les bactéroïdes fixateurs (GUERIN *et al.*, 1990). De ce fait, la capacité des nodules pour réaliser la phosphorylation oxydative, indispensable au fonctionnement de la nitrogénase se trouve limitée (DREVON *et al.*, 1994).

D'autres travaux montrent que chez les plantes exposées à un stress hydrique modéré, les nodules ne sont pas limités uniquement par O₂ mais également par une limitation métabolique (DIAZ DEL CASTILLO *et al.*, 1994). Une explication alternative pour la diminution de la fixation d'azote sous la sécheresse est une offre réduite de carbone aux bactéroïdes (SERRAJ *et al.*, 2004; LADRERA *et al.*, 2007).

La limitation de la fixation symbiotique de l'azote pourrait être due également à la diminution des photosynthétats fournis par les feuilles pour les nodules et/ou à la réduction des substrats pour la respiration des bactéroïdes (LOPEZ *et al.*, 2008). Ceci est démontré par des corrélations positives et significatives obtenues entre le nombre des nodules et les teneurs en chlorophylle totale ainsi que entre le poids sec des nodules et les teneurs en chlorophylle totale, aussi entre leghémoglobine et les teneurs en chlorophylle totale avec respectivement des valeurs ($r=0,881$, $r=0,837$, $r=0,756$).

3.5. Efficacité d'utilisation de la symbiose rhizobienne

Afin d'analyser plus précisément les relations entre la nodulation et la croissance des génotypes et des populations testés, les coefficients de corrélation entre la biomasse sèche aérienne et le poids sec des nodules sont calculés pour chaque génotype, avec la pente de régression pour une estimation de l'efficacité de l'utilisation de la symbiose rhizobienne (EURS) (Figure 23). Ainsi le poids sec des parties aériennes et le poids sec des nodules obtenus sont illustrés dans la figure 24.

L'analyse des régressions linéaires illustrées dans la figure 23 révèle une relation positive entre la biomasse sèche aérienne et le poids sec des nodules. En effet, les données révèlent des différences entre les variétés et les populations expérimentées.

Les résultats obtenus montrent que la biomasse sèche aérienne augmente avec l'augmentation du poids sec des nodules chez tous les génotypes et les populations. La biomasse sèche aérienne et le poids sec des nodules montrent une corrélation significative chez les génotypes



et les populations testés, avec des valeurs : $r^2 = 0,949$ (M'zeraa); $r^2 = 0,922$ (Tolga); $r^2 = 0,908$ (Luz de otono); $r^2 = 0,892$ (Doucen) et $r^2 = 0,885$ (Manouth).

L'analyse des résultats en termes d'EUSR montre une variation significative qui semble dépendante des génotypes et des populations. La pente des régressions (Figure 23) a permis de classer les variétés selon l'EUSR comme suit : Tolga < Manouth < M'zeraa < Luz de otono < Doucen. En effet, la population Doucen s'est montrée la moins affectée par le stress hydrique, suivie du génotype Luz de otono. Ce qui semble confirmer, du point de vue tolérance, la supériorité de ces deux espèces par rapport aux autres. Une tolérance qui s'est traduite par une meilleure production de matière sèche. La population M'zeraa et les génotypes Manouth et Tolga sont plus sensibles au stress hydrique. Ce résultat est justifié par la grande réduction de la biomasse sèche de ces espèces sous contrainte hydrique (Figure 24).

La pente des régressions peut être considérée comme un indicateur de l'efficacité de la fixation symbiotique de l'azote dans la croissance de la plante. Puisque cette pente indique le bénéfice de l'accumulation de la matière sèche résultant d'une augmentation de l'activité de la fixation d'azote.

Plusieurs études ont montré que le poids sec des parties aériennes est un bon indicateur de l'efficacité de la symbiose rhizobienne. Il y a une bonne corrélation entre la production de la matière sèche et la capacité des légumineuses à fixer l'azote atmosphérique (PEUPLES et al., 2002 ; UNKOVICH et al., 2010 ; OUSLIM, 2016)

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 et la nodulation chez l'haricot (DREVON et al., 2003).

Les corrélations significatives des cinq génotypes et populations montrent que les biomasses aériennes sont corrélées avec les biomasses nodulaires ce qui signifie que ces génotypes ont eu recours à la fixation symbiotique d'azote pour satisfaire leurs besoins en azote. Cependant, la population Doucen et le génotype luz de otono ayant des biomasses de nodosités et des parties aériennes plus importantes sont capables de fixer mieux l'azote que la population M'zeraa et les génotypes Manouth et Tolga, sous contrainte hydrique.



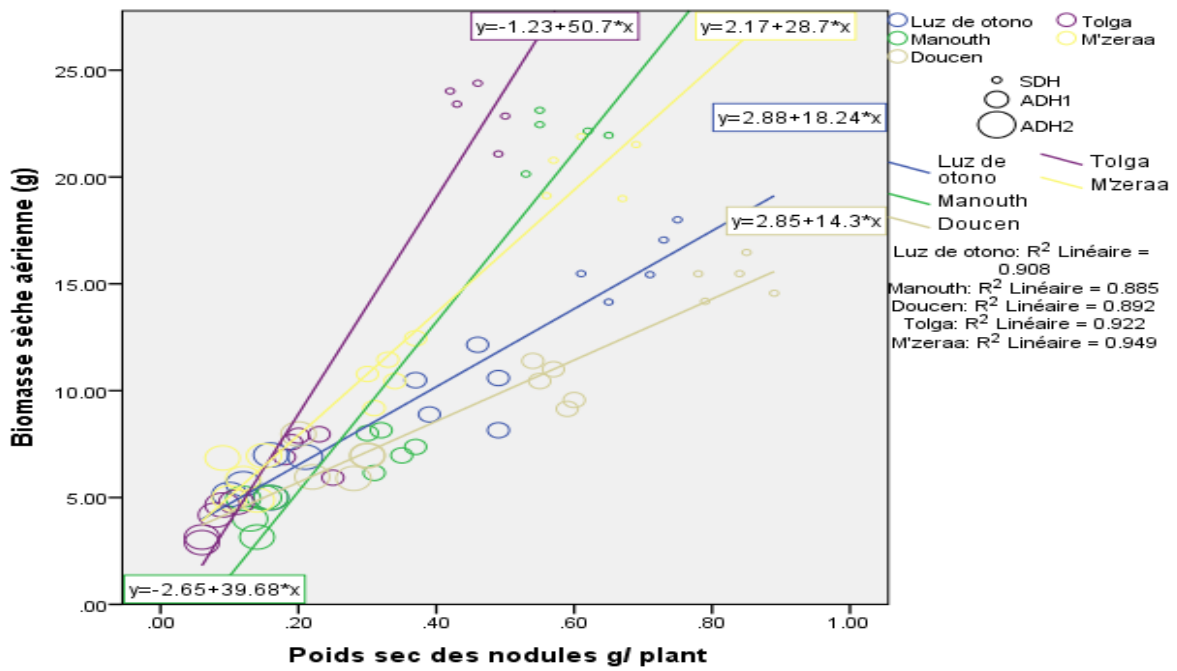


Figure 23 : Corrélation entre la croissance et la nodulation chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. sous différents traitements hydriques.

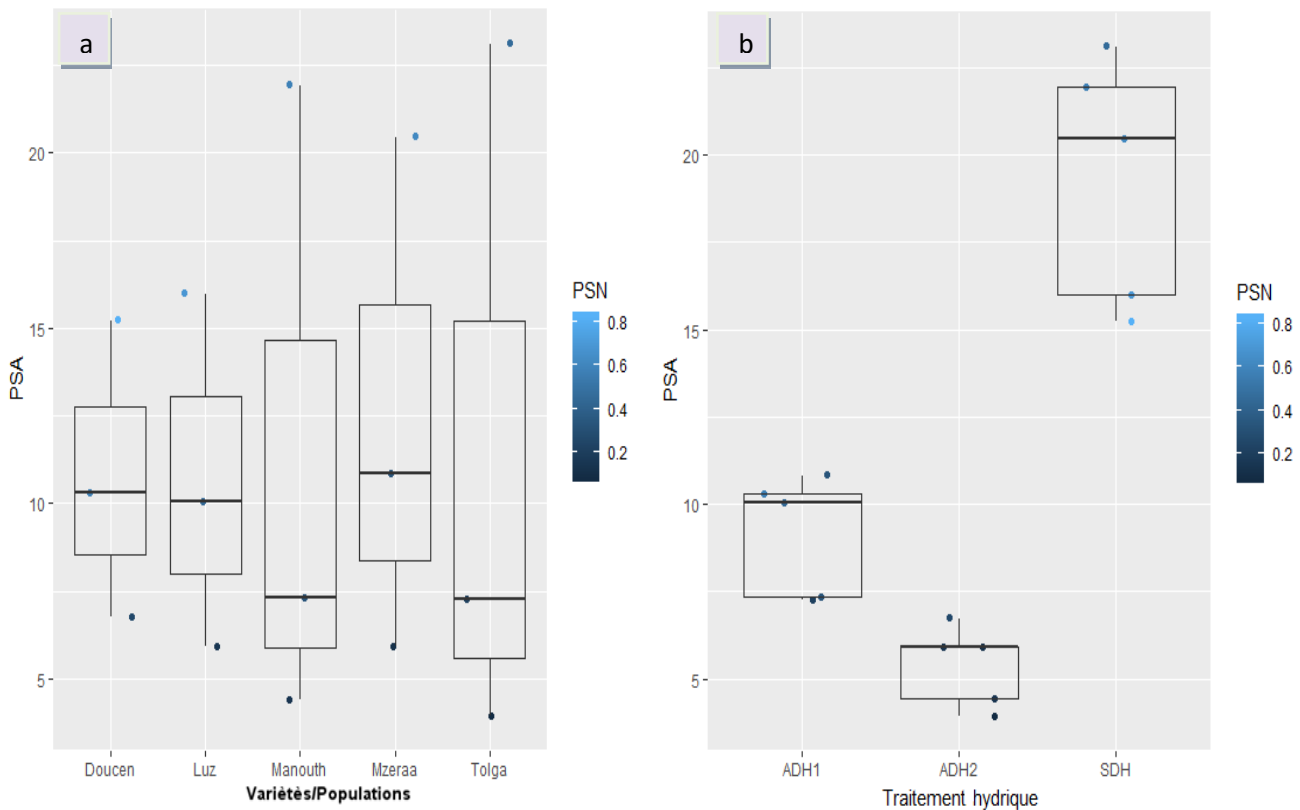


Figure 24 : Variations du poids sec des parties aériennes et le poids sec des nodules chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. (a) sous différents traitements hydriques (b)



3.6. Analyse en composantes principales des résultats

Pour effectuer une analyse exploratoire des relations possibles entre les variables, nous avons réalisé une analyse en composante principale (ACP) afin d'obtenir une projection de variables sur le plan factoriel 1x2 (Figure 25) , et pour déterminer la nature et le degré de divergence entre les cinq variétés et populations de la fève vis- à-vis de la tolérance au stress hydrique (Figure 26). L'analyse en composantes principales a été réalisée sur l'ensemble des caractères étudiés chez la fève, les individus sont les cinq variétés et populations, pour lesquelles nous disposons de données complètes pour toutes les variables retenues.

La qualité globale de la présentation sur le plan factoriel est mesurée par le pourcentage de l'inertie totale (du nuage initial) projetée sur le plan factoriel, soit ici : 83,6 % (70,6% pour l'axe 1 et 13 % pour l'axe 2). Ce pourcentage, élevé, est toutefois lié à un nombre de variables important et liées entre elles. Cela signifie que 83,6 % de la variabilité des données est exprimée sur le plan principal. Le premier axe, en particulier, est largement prépondérant (70,6 % à lui seul).

La Figure 25 montre que la plupart des variables étudiées sont projetées c'est-à-dire bien représentées sur le plan factoriel 1x2 (car la pointe des flèches est proche du cercle de corrélation). Ce résultat est attendu compte du pourcentage d'inertie associé au plan.

La plupart des variables sont corrélées fortement avec le premier facteur. Les variables Prot (Teneurs en protéines), TRE (Teneur relative en eau), Legh (Teneurs en leghémoglobine), HT (Hauteur de la tige), SF (Surface foliaire), PSN (Poids sec des nodules), NN (Nombre de nodules), Chl T (Chlorophylle totale), Chl a (Chlorophylle a), PSA (Poids sec de la partie aérienne), PSR (Poids sec de la partie racinaire), Chl b (Chlorophylle b), Carot (Teneurs en caroténoïdes) sont corrélées positivement (les variable 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). Ces variables sont corrélées négativement avec la SS (Teneur en sucres solubles), la Prol (Teneur en prolines) et le PSR/PSA (Rapport Poids sec de la partie racinaire/ Poids sec de la partie aérienne).

La projection des points moyens des variétés et des populations étudiées sur le plan défini par les axes 1 et 2 a montré leur réponse au stress hydrique en fonction des paramètres étudiés (Figure 26). Trois regroupements plus homogènes, d'une part entre la variété Manouth et la population Tolga et d'autre part, entre la variété Luz de otono et la population Doucen. Ces derniers confirment le même comportement de tolérance ou de sensibilité au stress



hydrique chez chaque couple de variétés homogènes. Le troisième groupe comprend la population M'zeraa,

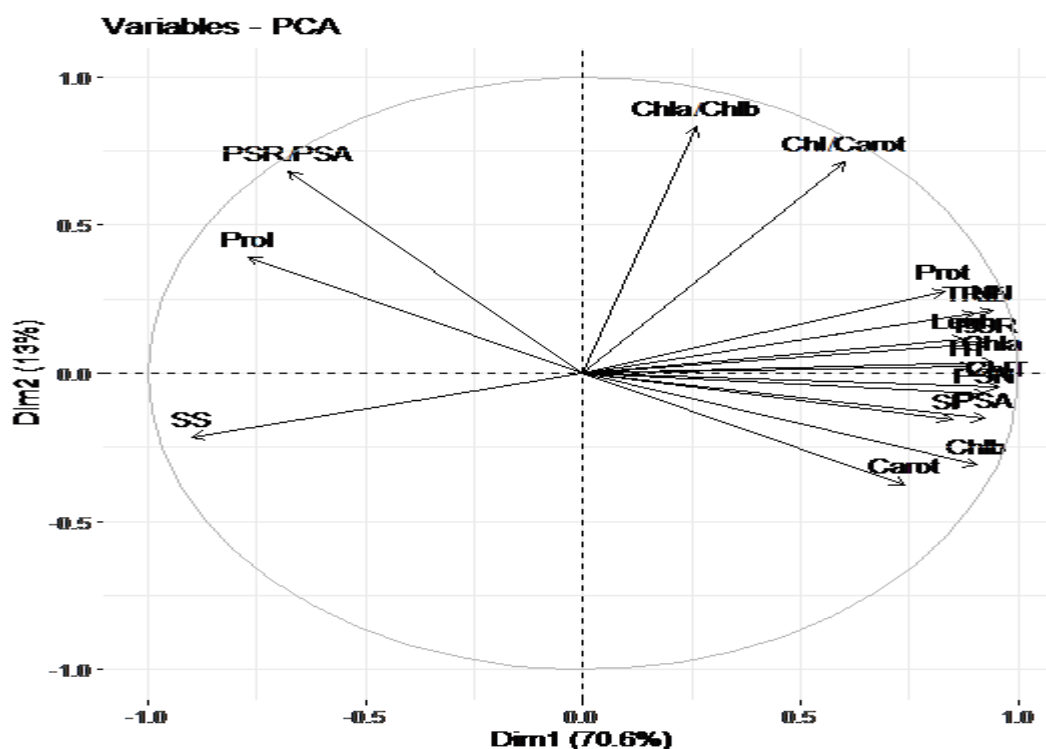


Figure 25: Analyse en composantes principales représentant le cercle des corrélations entre les différents paramètres en fonction des traitements hydriques chez la fève.

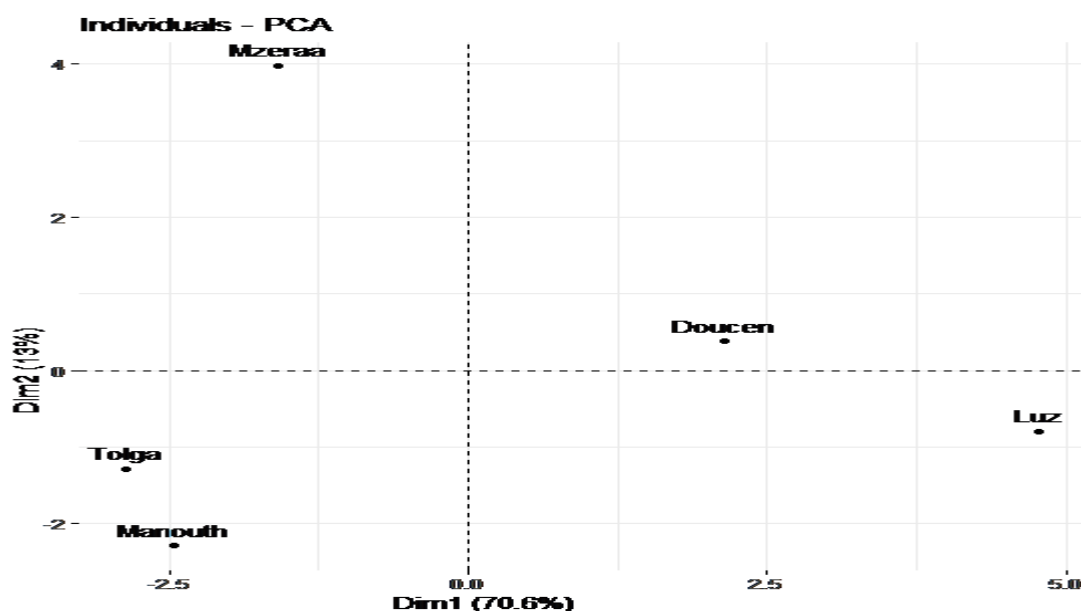


Figure 26: Représentation graphique de la distribution spatiale des variétés et des populations chez la fève dans les plan 1-2 d'une analyse en composantes principales sous les différents traitements hydriques.



3.7. Analyse canonique discriminante des résultats

Une analyse canonique discriminante (ACD) a été réalisée en utilisant l'ensemble des caractères étudiés (18 variables) comme des facteurs prédictifs de l'appartenance à un groupe de diagnostic. Ce groupe correspond aux cinq génotypes et populations de *Vicia faba* L. étudiés dans notre travail de recherche.

Les résultats de l'ACD ont confirmé l'existence de différences dans les caractéristiques globales des génotypes et des populations. La statistique Lambda de Wilks (λ) a révélé une signification statistique très importante de ce modèle ($\lambda = 0,000$). Ainsi, la statistique F (de Fisher-Snedecor) calculée a également indiqué une très bonne signification ($P < 0,001$) pour le modèle (Tableau II).

Quatre fonctions discriminantes (FD) ont été établies correspondant à 46,8%, 30,1%, 5,3% et 2,3 % de la variance totale. Le test χ^2 (Khi-deux) a montré pour l'analyse (ACD) un pouvoir discriminatoire très important concernant les quatre fonctions ($P < 0,001$). Les valeurs propres relatives aux deux premières fonctions (40,98 et 26,24 pour FD1 et FD2, respectivement) ont expliqué ensemble la portion la plus grande de la variance totale (96,5%), et leurs corrélations canoniques (ou coefficients de corrélation canonique) sont : $r_1 = 0,988$ et $r_2 = 0,982$ (Tableau III).

Le diagramme de dispersion bidimensionnels (2D) de l'espace discriminant (parcelle canonique) par rapport aux deux fonctions discriminantes relatives aux caractères étudiés (Figure 27) montrent une bonne séparation entre les génotypes et les populations de *Vicia faba* L. étudiés. En ce qui concerne l'ACD (Figure 27), la séparation horizontale a été assurée par la première FD. Cette dernière quantifie le degré par lequel tous les génotypes et les populations diffèrent dans leurs caractères étudiés. Ce résultat est relatif aux différences enregistrées entre les génotypes et les populations dans leur tolérance au stress hydrique. La population Tolga a été particulièrement séparée de tous les autres génotypes et populations par la FD1. Compte tenu de la deuxième FD, la population Doucen a été clairement distinguée des autres variétés et populations.

L'analyse factorielle discriminante (analyse canonique discriminante) a montré que le génotype Doucen est clairement distingué des autres génotypes et populations par une faible diminution de la TRE, de PSA, Chl T et Chl a/Chl b de PSN sous stress hydrique, et une augmentation significative en proline. Les caractères suivants: TRE, PSA, Chl T, Chl a/Chl b, PSN et Prol peuvent être recommandés dans les programmes de sélection pour sélectionner des plants à partir des génotypes et populations tolérants à la sécheresse.



Tableau II: Résultats de test Khi-deux pour la signification des fonctions discriminantes issues de l'analyse canonique discriminante pour l'ensemble des caractères étudiés chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L.

Test de la ou des fonctions	Lambda de Wilks	Khi-deux	ddl	p-Signification
De 1 à 4	0,000	732,016	56	0.000
De 2 à 4	0,000	490,965	39	0.000
De 3 à 4	0,014	277,572	24	0.000
4	0,246	90,575	11	0.000

Tableau III: Caractéristique des fonctions discriminantes issues de l'analyse canonique discriminante pour l'ensemble des caractères étudiés chez les cinq variétés et populations de *Vicia faba* L.

Fonction	Valeur propre	% de la variance	% cumulé	Corrélation canonique
1	40,982	46,8	46,8	0,988
2	26,342	30,1	76,9	0,982
3	17,159	19,6	96,5	0,972
4	3,073	3,5	100,0	0,869

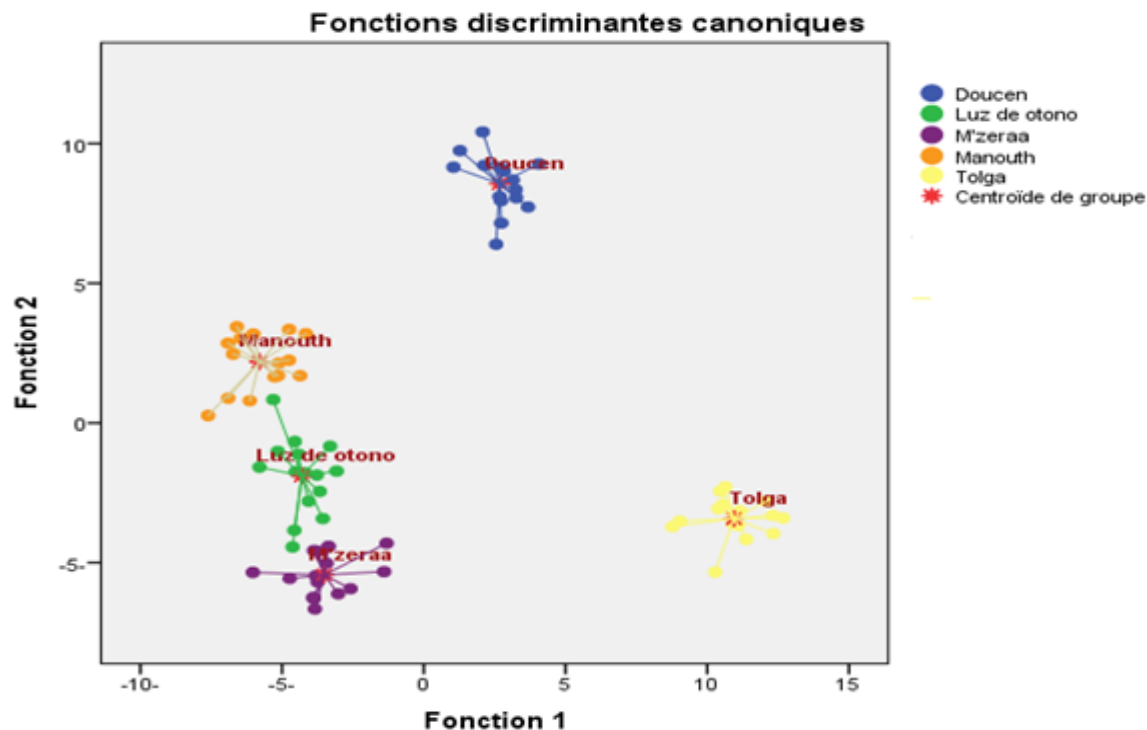


Figure 27: Espace discriminant bidimensionnel illustrant la répartition des variétés et des populations de *Vicia faba* L. étudiées suivant le gradient de la variance de deux fonctions discriminantes issues de l'analyse canonique discriminante (ACD)



3.8. Regroupement des cinq variétés et populations de *Vicia faba* L.

L'analyse de dendrogramme (figure 28) indique que les variétés et les populations testées se partagent en trois groupes distincts :

- Le premier groupe comprend la population et le génotype tolérants au déficit hydrique : Doucen et Luz de otono .
- Le deuxième groupe contient la population et le génotype sensibles au déficit hydrique : Manouth e Tolga
- Le troisième groupe renferme la population M'zeraa qui est intermédiaire entre les deux groupes.

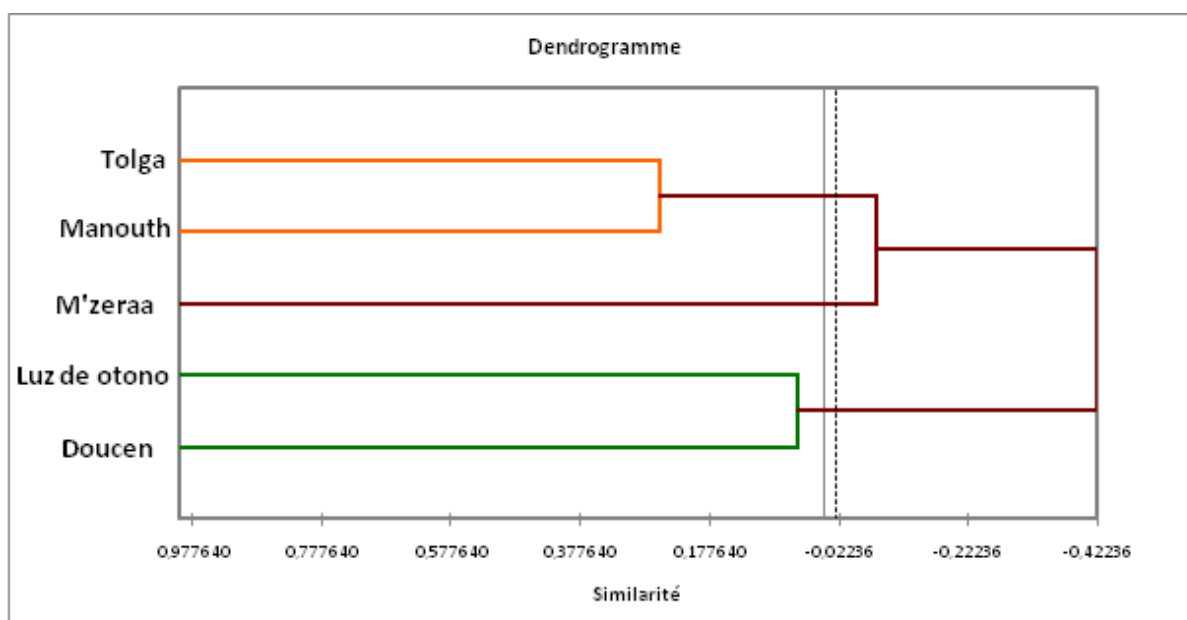
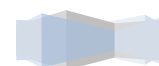


Figure 28: Dendrogramme représentant le regroupement des variétés et des populations de *Vicia faba* L. sous les différents traitements hydriques.



4. Conclusion

Une approche intégrée combinant des mesures morphologiques et des analyses physiologiques, biochimiques et symbiotiques a été adoptée pour étudier les réactions et le comportement de *Vicia faba* L. face au stress hydrique. D'après les résultats obtenus de cette expérience en pots, des différences entre les génotypes et les populations ont été enregistrées dans l'état hydrique de la feuille, les caractères morphologiques, la teneur en pigments photosynthétiques, l'accumulation d'osmoprotecteurs, la teneur en protéines et les caractères symbiotique entre les cinq génotypes et populations. Ainsi, l'effet de l'intensité de la contrainte hydrique a été mis en évidence chez la fève. Des interactions génotypes x traitement hydrique ont été montrées hautement significatives pour certains caractères. Nous avons également établi des corrélations entre les caractères qui s'interfèrent entre eux chez la plante. Les présents résultats suggèrent que l'effet génétique est très évident, parce que c'était les mêmes conditions environnementales, par conséquent, les variations observées dans les réponses morphologiques, physiologiques, biochimiques et symbiotiques pourraient être liées à des différences génétiques. Face à un stress hydrique, les réponses génotypiques sont diversifiées : Elles sont soit l'expression d'un ajustement osmotique, à travers une teneur élevée en eau, soit l'accumulation d'osmoprotecteurs importante telle que la proline ou soit d'un surcoût énergétique représenté par les teneurs pigmentaires chlorophylliennes. A la lumière de nos résultats, nous pouvons suggérer l'ordre suivant des génotypes et populations, en termes de la tolérance à la sécheresse : Doucen > Luz de otono > M'zeraa > Manouth > Tolga. La meilleure performance de la symbiose chez la population Doucen et La variété Luz de otono sous contrainte hydrique, semble être principalement déterminée par la tolérance de la légumineuse hôte et son interaction avec la souche de rhizobia. Les traits suivants: TRE, PSA, Chl T, Chl a/Chl b, Prol, PSN et EURS peuvent être recommandés dans les programmes de sélection pour sélectionner des plants à partir des génotypes et populations tolérants à la sécheresse.



CHAPITRE III : EFFETS DU STRESS HYDRIQUE SUR LA CROISSANCE ET LA SYMBIOSE A RHIZOBIA CHEZ CINQ VARIETES ET POPULATIONS DE *MEDICAGO SATIVA L.*

1. Introduction

L'eau est un élément vital pour la croissance et le développement des plantes, dans la mesure où elle conditionne leurs activités physiologiques et métaboliques. Elle est le vecteur des éléments nutritifs de la plante (RIOU, 1993). Sa carence peut affecter la croissance, elle est, de ce fait, le principal facteur limitant de la production végétale dans les régions arides et semi-arides. Le manque d'eau induit, chez les plantes stressées, une diminution du contenu relatif en eau et une réduction significative de la production de biomasse totale (ALBOUCHI *et al.*, 2000) concomitante à une réduction de la croissance en diamètre et en hauteur des tiges (THOMAS *et GAUSLING*, 2000). Le stress hydrique impose le plus souvent une diminution de la croissance accompagnée, au niveau cellulaire, d'une diminution du nombre de polysomes, d'un ajustement osmotique, d'une modification de l'extensibilité des parois et d'une altération des métabolismes carboné et azoté. Cette diminution est suivie par une réduction de la photosynthèse due à l'accumulation de l'ABA, à la fermeture des stomates et aux dommages causés aux thylakoïdes (TARDIEU *et al.*, 2000 ; LIZANA *et al.*, 2006 ; MARTINEZ *et al.*, 2007). La réduction de l'activité photosynthétique induit le plus souvent une baisse de la production économique (CONDON *et al.*, 2002). Cependant, l'importance de ces effets varie selon l'espèce et l'intensité du stress hydrique subi.

La capacité d'évaluer quantitativement les performances des plantes cultivées subissant un stress hydrique est très importante au niveau des programmes de recherche qui visent la réhabilitation et l'amélioration de la production dans les régions arides et semi-arides (INRA, 2000).

De ce fait l'amélioration de la résistance aux stress abiotiques a été depuis longtemps un des principaux objectifs de l'amélioration des plantes. De nombreuses études ont été conduites pour mieux comprendre les mécanismes impliqués et identifier les caractères qui peuvent être utilisés comme critères de sélection de la tolérance (BAJJI *et al.*, 2001; FLEURY *et al.*, 2010; RICHARDS *et al.*, 2010).

La luzerne (*Medicago sativa L.*) est la légumineuse fourragère la plus répandue et la plus cultivée dans le monde, grâce à sa haute qualité nutritive, sa teneur élevée en protéines, et ses effets sur la fertilité du sol (HUYGHE, 2003). Elle est cultivée essentiellement pour une exploitation en fauche, sur des sols non acides et non hydromorphes. Elle est exploitée pour sa



partie aérienne riche en protéines et destinée à l'alimentation animale (JULIER et HUYGHE, 2010). Grâce à sa capacité à fixer l'azote atmosphérique, la luzerne peut s'adapter aux situations de faibles ressources en azote minéral du sol. Ce qui lui confère un double intérêt économique par une réduction de la fertilisation azotée et par conséquent des engrais azotés de synthèse associée à une production de protéines, et un intérêt écologique par la limitation de lixiviation des nitrates vers la nappe phréatique (MAAMOURI, 2014). Autre qualité qui se rappelle aux éleveurs de plus en plus depuis quelques années, la luzerne supporte très bien la sécheresse dans la mesure où le sol est fissuré pour permettre aux racines de descendre. « Par rapport au changement climatique, la luzerne est la plante qui semble le mieux tirer son épingle du jeu, quel que soit le scénario envisagé » (BOURGEOIS, 2010).

Dans ce cadre, les objectifs de ce travail sont : I) d'évaluer la diversité biologique des cinq variétés et populations de luzerne en réponse au stress hydrique traditionnellement cultivées dans différentes régions du pays, II) d'explorer les relations entre les multiples traits morpho-physiologiques, biochimiques, symbiotiques et la tolérance à la sécheresse, au moyen d'une approche statistique multivariée, et III) d'identifier, dans ces variétés et populations, des caractères d'intérêt agronomique qui pourraient être utilisés dans les programmes de sélection visant à accroître la tolérance au stress hydrique.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal consacré à cette étude est constitué de cinq variétés et populations de la luzerne cultivée pérenne (*Medicago sativa* L.).

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 apport à la classe la plus représentative.

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

Tableau IV: Identité et origine de cinq variétés et populations de la luzerne étudiées

Variétés et populations	Origine
Variété Dista	Italie
Variété Moapa	USA
Variété Diamant	USA
Population Baldia	Locale
Population Lioua	Locale



2.2. Installation et conduit de l'essai

Les graines des plantes testées sont d'abord désinfectées dans l'eau de javel durant 05 mn pour éliminer toute contamination fongique, puis rincées à l'eau distillée pendant 03mn.

L'expérimentation a été réalisée sous un abri afin d'éviter les apports d'eau non contrôlés par les pluies, et de mieux maîtriser les quantités d'eau données aux plantes par la méthode du bilan hydrique.

La culture est réalisée dans des pots en plastique, d'une capacité de 12 kg. La base des pots est perforée à raison de 7 trous pour faciliter le drainage des eaux excessives, puis tapissé de graviers fins. Les cultures sont conduites sur un sol cultivé de texture sablo-limoneuse, un pH neutre (pH =7,78), légèrement salin (CE ds/m=2,31). Il se caractérise par une faible teneur en phosphore assimilable (4,51 ppm), en matière organique (0,53 %) et en azote (0,02%). Avant l'essai, le sol utilisé a subi un tamisage afin d'éliminer les débris végétaux, animaux et gravier. La fraction fine du sol obtenue a été séchée à l'air libre puis partagée en quantités égales. Avant le semis un arrosage a été effectué afin d'obtenir une humidité homogène dans tous les pots.

Les grains sont semés à raison de 20 graines par pot à une profondeur de 1 cm environ. Après la levée un éclaircissage basé sur l'homogénéité de la répartition du stade de développement a permis de réduire la densité à 5 plants par pot. L'irrigation a été effectuée manuellement, les quantités d'eau apportées ainsi que percolées ont été mesurées à l'aide des éprouvettes.

Chacune des cinq variétés et populations étudiées est soumise à 3 régimes hydriques différents: SDH (Traitement témoin sans déficit hydrique); le sol est maintenu à 100% de sa capacité de rétention en eau, ce régime est considéré comme témoin. ADH1 (déficit hydrique modéré) le sol est maintenu à 50% de sa capacité de rétention. ADH2 (déficit hydrique prononcé) Le sol est maintenu à 25% de sa capacité de rétention.

Jusqu'à un mois après le semis, l'ensemble de pots a reçu la même dose d'arrosage. Ensuite, les deux régimes hydriques ADH1 et ADH2 sont appliqués.

2.3. Dispositif expérimental

Un dispositif en Split Plot a été adopté avec cinq répétitions. Chaque répétition comprend 2 facteurs.

Facteur 1 : représente les traitements hydriques

SDH : traitement sans déficit hydrique.

ADH1 : traitement avec un déficit hydrique 1



ADH2 : traitement avec un déficit hydrique 2

Facteur 2 : représente les cinq variétés et populations.

2.4. Prélèvement des échantillons

En pleine floraison, les plantes ont été récoltées lorsque la nodulation est potentiellement optimale. Après avoir déterré les plantes, les feuilles et les racines sont soigneusement séparées, les racines sont immédiatement trempées à l'eau puis desséchées avec du papier absorbant afin d'éviter toute contamination avec le substrat de culture, les nodules sont détachés des racines et dénombrés. Les organes séparés de chaque plante sont immédiatement pesés et enveloppés dans du papier aluminium, numérotés et puis desséchés par le passage à l'étuve sous une température de 80°C pendant 48 heures. Le poids sec de chaque échantillon est déterminé après le séchage à l'aide d'une balance analytique de précision. Les échantillons sont broyés par la suite manuellement à l'aide d'un mortier en porcelaine jusqu'à l'obtention d'une fine poudre qui sera entreposée ensuite dans des piluliers hermétiquement fermés par des bouchons plasma et mise dans un congélateur pour la suite des opérations.

2.5. Paramètres mesurés

(Voir section 2.5. du chapitre II)

2.6. Analyse statistique

Les résultats obtenus pour l'ensemble des caractères étudiés sont soumises à une analyse de la variance à deux facteurs par le logiciel SPSS (version 23), pour évaluer l'effet du stress hydrique sur les paramètres hydriques, morphologiques, physio-biochimiques et symbiotique chez les cinq variétés et populations. Les moyennes sont comparées par le test LSD ($\alpha < 0.05$). De même les coefficients de Corrélation de Pearson et les régressions linéaires ont été calculés pour déterminer les relations entre les variables. En outre, afin de déterminer quelles sont les variables discriminantes entre les variétés et populations contrastés de *Medicago sativa* L., une analyse discriminante canonique (CDA) a été réalisée pour l'ensemble des caractères étudiés. L'analyse en composantes principales (ACP) a été effectuée pour l'ensemble des caractères par le logiciel R (version R 3.6.1). Les variables étudiés ont été soumis à l'analyse de classification hiérarchique utilisant la procédure de « Wards minimum variance » comme un algorithme de clustering. « Wards méthode minimum » est une procédure de classification hiérarchique dans lequel la similitude est utilisée pour rejoindre des groupes et est calculée comme la somme des carrés entre les deux groupes sommés sur



toutes les variables (Hair *et al.* 1998). Le regroupement des génotypes donne des informations sur leur similitude et différence dans les réponses aux stress hydrique qui facilitent le choix des génotypes utilisés dans les programmes de sélection.

3. Résultats et discussion

3.1. Effet du stress hydrique sur les caractères liés à l'état hydrique de la plante

3.1.1. Teneur relative en eau

La teneur relative en eau des feuilles constitue l'un des principaux paramètres d'estimation de la résistance à la sécheresse. Elle est considérée comme un indicateur physiologique important dans l'état d'hydratation des plantes en fonction des régimes hydriques disponibles dans le substrat (LAWLOR et CORNIC, 2002 ; MEFTI *et al.*, 2002).

Résultats

L'analyse statistique des résultats obtenus montre que la teneur relative en eau est très influencée par la nature des variétés et des populations testées ($p \leq 0,001$). Ce paramètre dépend également et d'une manière très hautement significative du régime hydrique appliqué ($p \leq 0,001$). Cette contrainte réduit de manière remarquable la teneur relative en eau des plantes à laquelle sont soumises. Cette diminution est d'autant plus marquée que l'intensité du stress est élevée. Il faut noter que le comportement des variétés et des populations testées, en présence de la contrainte, se réalise de manières différentes (Annexe, Tab.19).

Les résultats moyens obtenus de ce paramètre (Figure 29), montrent que les valeurs de la teneur relative en eau les plus élevées sont notées chez les échantillons témoins (SDH), avec une valeur maximale de l'ordre de 90,77 % marquée par la variété Diamant et une valeur minimale égale à 80,27 % observée chez la variété Dista.

Les valeurs de la teneur relative en eau les plus faibles sont enregistrées au niveau des plantes stressées (ADH1, ADH2). Dans le traitement ADH1, ces valeurs sont de l'ordre de 80,27% chez Dista et 88,52 % chez la population Baldia.

Les décroissances de la teneur relative en eau s'avèrent plus importantes dans le lot ADH2 et de manières controversées chez les génotypes et les populations conduits. Ainsi, parmi la collection, la population Baldia s'avère plus résistant pour le maintien de son hydratation, où on note une faible réduction de l'ordre de 20,15% par rapport à la valeur du lot témoin. Dans la même collection le génotype, Diamant présente également de bon niveau de résistance estimé à 25,49%. La variété Moapa s'avère plus sensible à la perte d'hydratation sous déficit hydrique. Elle inscrit des régressions de leur teneur en eau de 38,93%. Le reste des



génotypes, Lioua et Dista présentent des niveaux de résistance moyenne comprise limitées par des valeurs de 31,01% et 33,82%.

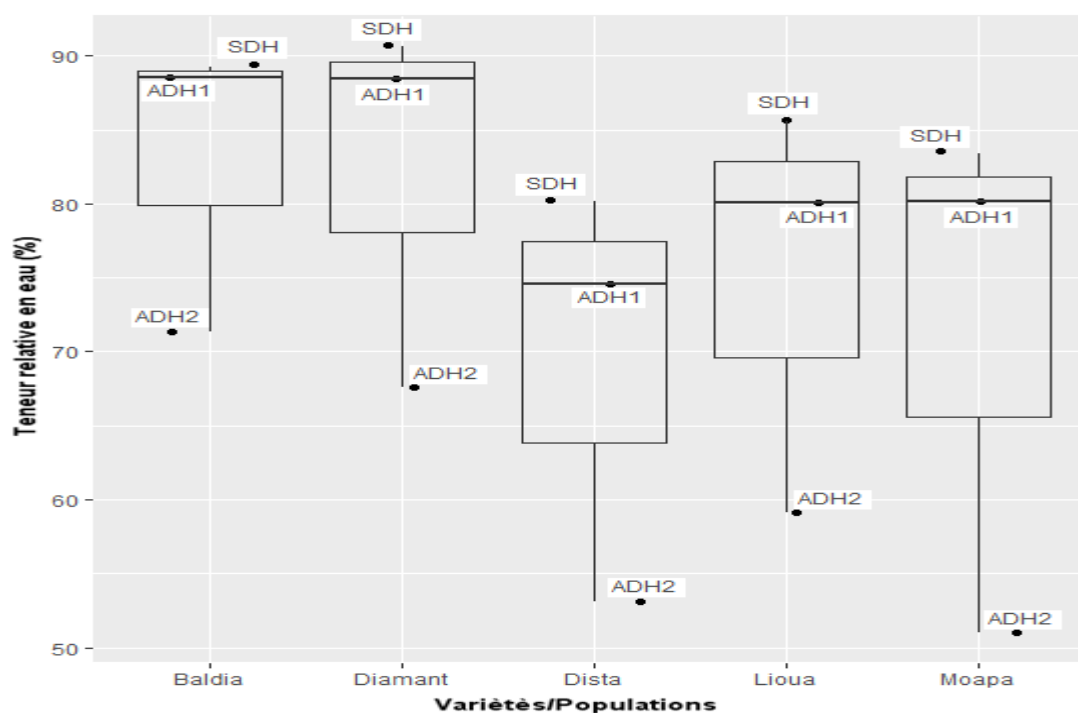


Figure 29 : Variations des teneurs relatives en eau chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions.

Discussion

L'état hydrique de la plante, exprimé par la teneur relative en eau, s'est montré sensible aux variations des disponibilités en eau dans le sol. En effet, le déficit hydrique provoque une régression des valeurs de la teneur relative en eau. Ces constatations se confirment par la nette relation négative et significative révélée entre le déficit hydrique et la teneur relative en eau ($r=-0,725$).

L'étude démontre que l'accroissement de l'intensité du stress, provoque une baisse de la teneur en eau des feuilles, essentiellement au niveau du lot ADH2. GRIMES *et al.* (1992) ont rapporté que le déficit hydrique affecte négativement le rendement de la biomasse et le contenu relatif en eau chez la luzerne.

De nombreux travaux démontrent que ce paramètre physiologique constitue un critère efficace dans le criblage des génotypes tolérants la déshydratation en conditions de déficit hydrique (ALBOUCHI *et al.*, 2003; MEKCLICHE *et al.*, 2003; RADHOUANE, 2008). Il



constitue également une caractéristique indicatrice, en réponse immédiat à la déclaration des facteurs induisant la sécheresse (ALBOUCHI *et al.*, 2003).

La TRE dans la feuille est un bon indicateur de l'état hydrique et constitue un facteur déterminant pour l'activité métabolique et la survie des feuilles. Sa réduction indique une perte de la turgescence entraînant une faible disponibilité de l'eau pour l'extension cellulaire (HASSANI *et al.*, 2008). Le maintien d'un niveau adéquat de la TRE serait probablement lié à une bonne capacité d'ajustement osmotique permettant la préservation de l'intégrité structurale et fonctionnelle des tissus (VERSLUES *et al.*, 2006).

La teneur relative en eau est d'un intérêt majeur dans les travaux de sélection, car il serait d'une forte héritabilité (ARAUS *et al.*, 1991, EL HAKIMI *et al.*, 1995). La diminution de la TRE est plus rapide chez les variétés sensibles que chez les variétés résistantes. Ainsi les génotypes qui maintiennent une TRE élevée dans la présence de stress hydrique sont des génotypes tolérants (POORMOHAMMAD, 2007).

Parmi la variabilité conduite, la population Baldia et la variété Diamant, constituent de bons géniteurs pour le transfert de ce caractère. Ils représentent les cultivars les plus tolérants vis-à-vis du déficit hydrique appliqué, en minimisant les effets de ce stress sur la préservation de leur hydratation.

3.2. Effet du stress hydrique sur les caractères morphologiques

3.2.1. Hauteur de la tige

Résultats

Le stress hydrique provoque des baisses très hautement significatives ($p \leq 0,001$) de la hauteur de la tige, les différences entre les génotypes et les populations pour ce paramètre sont significatives ($p \leq 0,05$). L'interaction des deux facteurs d'étude exerce des variations de grandeurs importantes sur cette caractéristique ($p \leq 0,001$). Ceci indique que les variétés et les populations réagissent de manières distinctes à la déclaration de la contrainte hydrique imposée (Annexe, Tab.20).

Les résultats obtenus montrent que la hauteur des tiges diminue pour les cinq variétés avec l'augmentation du stress hydrique (Figure 30). Ces résultats mettent en évidence une variabilité de réponse en présence de stress chez les cinq génotypes et populations étudiés.

A l'échelle du lot ADH1, la variété Dista semble être la plus affectée, avec une diminution de 13.01% par rapport au témoin, alors que les autres variétés enregistrent des réductions de 5.41%, 6.15% et 9.38% respectivement chez Baldia, Diamant et Moapa.



L'application du déficit hydrique plus sévère (ADH2), est accompagnée d'une nette réduction des valeurs de l'hauteur de la tige, chez l'ensemble des génotypes et des populations expérimentés. Les variétés Moapa et Dista sont les plus affectées, car la hauteur de leur tige a baissé respectivement de 23,06% et 26,56% par rapport au témoin alors que la variété Diamant et les populations Baldia et Lioua moins sensibles enregistrent respectivement une baisse de 12,57%, 15,10% et 15,21%.

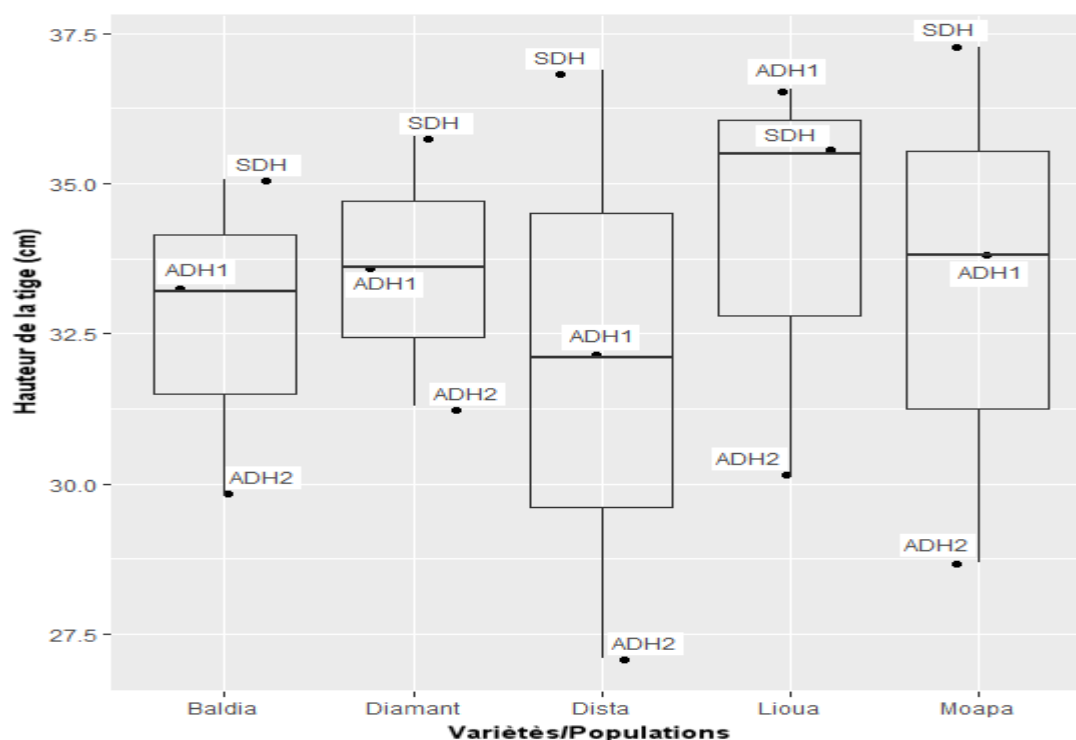


Figure 30: Variations de la hauteur de la tige des plantes chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions.

Discussion

Au cours du stress hydrique appliqué, nos résultats obtenus se sont montrés liés à l'intensité du stress, le stress hydrique entraîne une diminution de la hauteur de la tige chez les cinq variétés et populations étudiées, une corrélation négative et significative ($r=-0,757$) est notée entre la contrainte hydrique et la hauteur des tiges. Les effets du stress hydrique ont été très prononcés sous un stress sévère que sous un stress modéré.

Selon MUNNS (1998), le stress ne réduit pas la croissance du végétal directement en affectant la turgescence cellulaire, la photosynthèse ou l'activité enzymatique de la plante, mais indirectement par la sénescence des feuilles âgées. Ainsi les assimilés et les hormones de



croissance ne peuvent être disponibles aux régions méristématique de la tige et de ce fait, la croissance caulinaire est réduite.

Selon HEUER et NADLER (1998), le manque d'eau affecte de façon significative la hauteur des plantes de la pomme de terre. Ainsi, FERRYRA *et al.* (2004) et LEBON *et al.* (2006) montrent que le développement végétatif de la vigne cultivée sous conditions limitantes d'alimentation hydrique est fortement perturbé.

MATTHIAS et SMITH (1997) et BAÏ et LI (2003) ont signalé que la luzerne, malgré sa capacité d'exploiter le sol profond grâce à ses racines pivotantes, sa croissance est fortement réduite en cas de déficit d'alimentation hydrique. D'autres travaux ont montrés que le déficit hydrique provoque une réduction de la croissance des plantes (FAROOQ *et al.*, 2008). Il inhibe l'élongation cellulaire, réduit la photosynthèse, interfère avec l'absorption minérale, et altère le niveau des hormones (KUSAKA *et al.*, 2005; SHAO *et al.*, 2008).

Une variabilité de réponse chez les variétés et les populations a été observée. En outre, il est à noter que la hauteur des tiges de la variété Diamant et les populations Baldia et Lioua sont moins affectés par le stress hydrique que ceux des autres variétés.

3.2.2. Surface foliaire

Résultats

L'analyse de la variance a montré un effet très hautement significatif du stress hydrique ($p \leq 0,001$) sur la surface foliaire, les différences entre variétés et l'interaction entre les deux facteurs sont également très hautement significatives (Annexe, Tab.21).

La variation de la surface foliaire (Figure 31) montre que cette dernière est également sensible au stress hydrique, elle diminue significativement pour les cinq variétés et populations avec l'augmentation du stress hydrique.

En condition de stress hydrique (ADH1), la réduction de la surface foliaire de la variété Diamant et les populations Baldia et Lioua est 5,59%, 7,19% et 8,39% par rapport aux témoins respectifs. À l'opposé, la variété Dista affiche un taux de réduction de 15,99%.

A l'échelle du traitement ADH2, la baisse de la surface foliaire s'accroît pour atteindre des taux de réduction de 14,70%, 17,78%, 20,97% et 21,37% respectivement chez Diamant, Baldia, Lioua et Moapa, et une réduction de 31,79% chez la variété Dista.



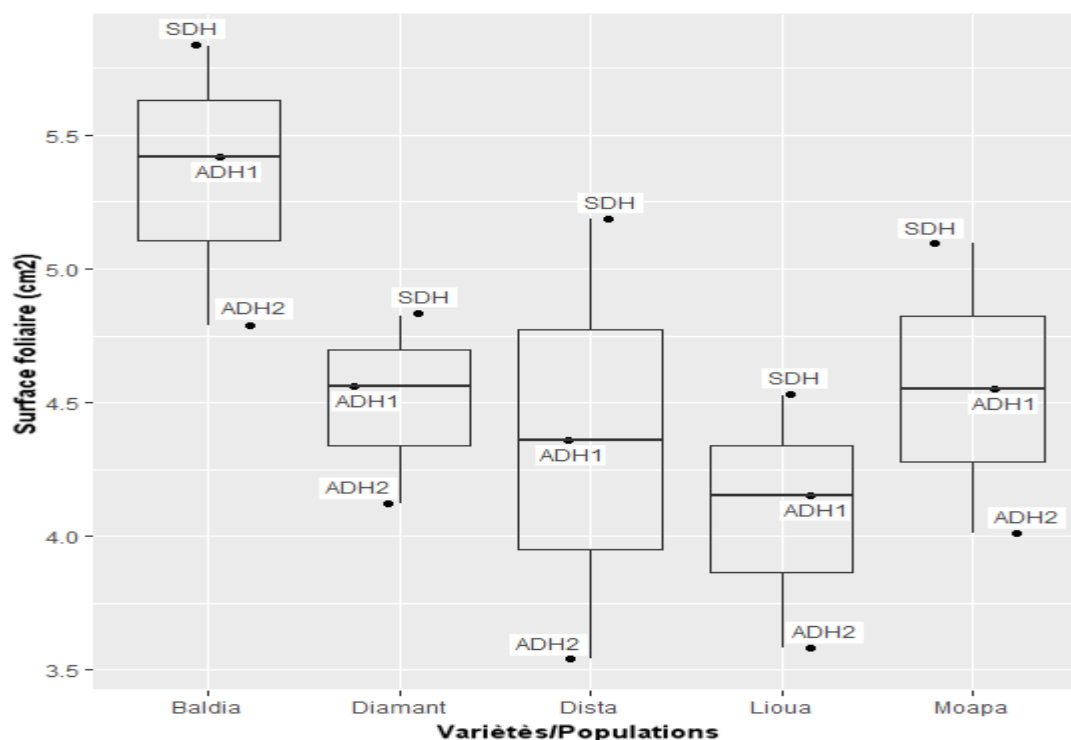
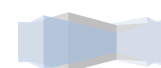


Figure 31: Variations de la surface foliaire des plantes chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions.

Discussion

Nos résultats ont montré que le stress hydrique a induit une diminution significative de la surface foliaire ($r=-0,684$). Néanmoins une variabilité de réponse au stress hydrique chez les cinq variétés et populations a été observée. En outre, il est à noter que la surface foliaire de la variété Dista est plus affecté par le stress hydrique que ceux de la variété Diamant et la population Baldia,

L'effet du déficit hydrique sur la surface foliaire a été rapporté par ARANJUELO *et al.*, (2001) et FREYER *et al.*, (2005) qui ont trouvé des différences significatives de la surface foliaire entre des plantes stressées et non stressées. Le stress hydrique a affecté le processus d'initiation des feuilles, le nombre de feuilles produites, et la taille du limbe principalement par un effet sur la division cellulaire, et la taille des feuilles. La réduction de la surface du limbe enregistrée sous le régime plus restrictif est très souvent associée à un évitement de la contrainte hydrique (FUSSEL *et al.* 1991). HIRECHE (2006) a présumé que la diminution de la surface de limbe est un trait majeur des plantes visant à limiter leurs besoins en eau lorsque celle-ci est très insuffisante.



3.2.3. Biomasses sèches

-Biomasse sèche aérienne

Résultats

L'étude statistique des résultats obtenus, démontre que l'élaboration de la biomasse sèche aérienne est très hautement significativement influencée par le stress hydrique appliqué ($p \leq 0,001$). La nature de la variabilité génétique conduite permet également des différences très hautement significatives d'expression de cette variable ($p \leq 0,001$). L'interaction des deux facteurs d'étude exerce également des variations de grandeurs importantes sur cette caractéristique ($p \leq 0,001$). Ceci indique que les variétés et les populations réagissent de manières distinctes à la déclaration de la contrainte hydrique imposée (Annexe, Tab.22).

Au niveau du traitement témoin (SDH) (Figure 32), les valeurs du poids sec aérien sont comprises entre 2,03 g/plant (Lioua) et 1,88 g/plant (Baldia).

A l'échelle du lot ADH1, les génotypes de la collection ont manifesté une diminution des taux biomasse sèche aérienne, où le génotype Dista se distingue parmi cet ensemble avec une réduction de 31.12%.

L'application du déficit hydrique plus sévère (ADH2), est accompagnée d'une nette réduction des valeurs de la biomasse sèche aérienne, chez l'ensemble des génotypes expérimentés. Ces régressions ont atteint des niveaux de 48,47 % (Dista) et 40,41% chez Moapa. Le génotype Diamant, s'avère le moins sensible à ce niveau de déficit hydrique, pour l'élaboration de la biomasse sèche aérienne, en inscrivant la plus faible réduction avec 27.60%.



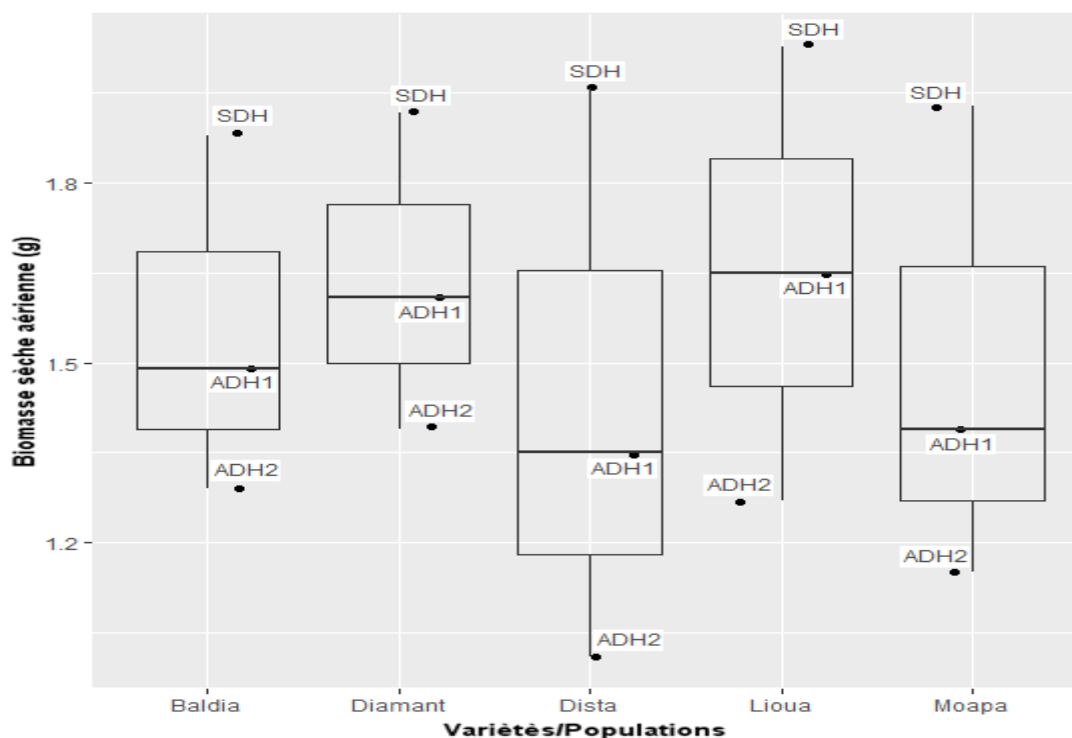


Figure 32: Variations de la biomasse sèche aérienne des plantes chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions.

- Biomasse sèche racinaire

Résultats

L'analyse de la variance a montré un effet très hautement significatif ($P \leq 0,001$) du stress hydrique sur le poids sec de la partie racinaire chez les cinq variétés et populations. Les différences entre les variétés et les populations sont très hautement significatives. Ainsi que l'interaction permette de relever un effet hautement significative (Annexe, Tab.23).

Les résultats obtenus (Figure 33) mettent en évidence une variabilité de réponse en présence et en l'absence du stress hydrique chez les cinq variétés et populations de la luzerne étudiées.

Au niveau du traitement témoin (SDH), les populations Lioua et Baldia enregistrent les poids sec de la partie racinaire les plus élevés, soit 0,93 g/plant et 0,85 g/plant, tandis que les plus faibles poids sec de la partie racinaire sont observés chez les variétés Diamant et Dista avec respectivement 0,75 g/plant et 0,71 g/plant.

L'application d'un stress hydrique affecte négativement la production des biomasses racinaires. Au niveau du traitement ADH1, la variété Diamant voit son poids sec de la partie racinaire baisser de 10,67 par rapport au témoin, pour les autres variétés et populations des



baisses de 15,05%, 18,82%, 19,51% et 21,13% ont été notées respectivement chez Lioua, Baldia, Moapa et Dista par rapport aux témoins respectifs.

Cette baisse s'accroît pour le poids sec de la partie racinaire au niveau de traitement ADH2, pour atteindre des diminutions de 27,96%, 28,24%, 30,49% et 36,62% respectivement chez Lioua, Baldia, Moapa et Dista. En revanche, la plus faible réduction est inscrite par la variété Diamant qui a manifesté un taux de 18,67 %.

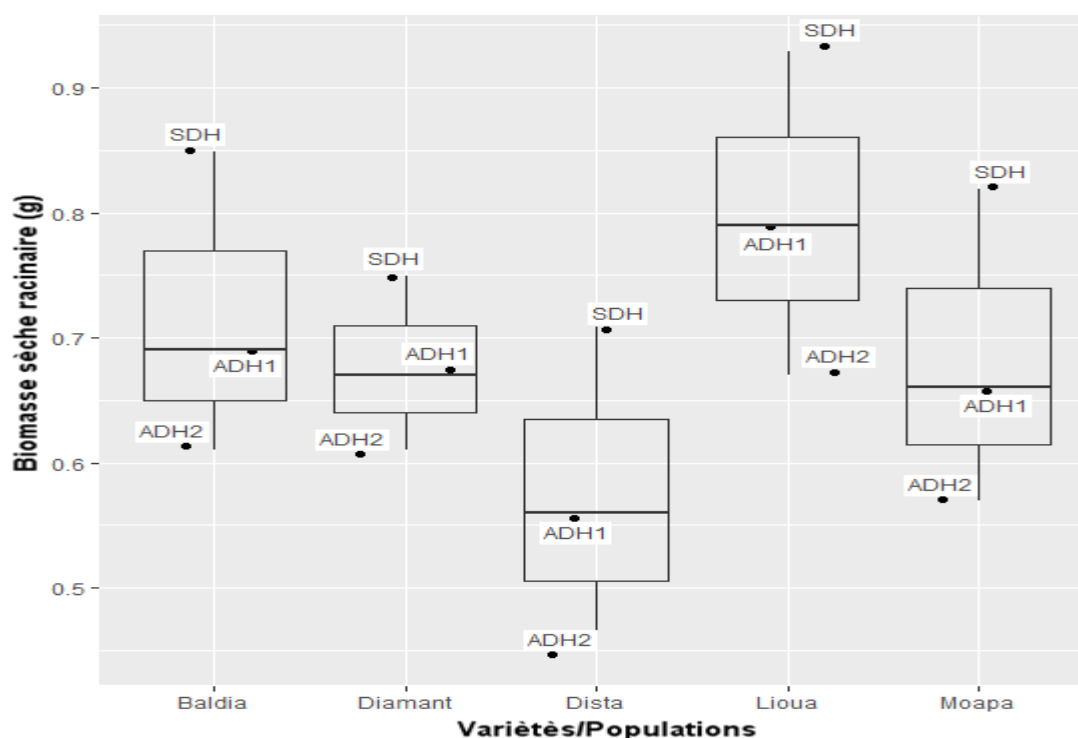


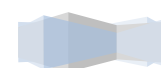
Figure 33: Variations de la biomasse sèche racinaire des plantes chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions.

-Le rapport Biomasse sèche racinaire / biomasse sèche aérienne

Résultats

Le stress hydrique provoque des augmentations très hautement significatives ($p \leq 0,001$) du rapport biomasse sèche racinaire / biomasse sèche aérienne, les différences entre les variétés et les populations pour ce paramètre sont également très hautement significatives mais l'interaction entre les deux facteurs n'est pas significative ($p > 0,05$) (Annexe, Tab.24).

Le rapport de la biomasse sèche racinaire / biomasse sèche aérienne (Figure 34) tend à augmenter avec l'augmentation de la contrainte hydrique chez les variétés et les populations Diamant, Lioua, Moapa et Dista en raison d'une plus grande sensibilité de la partie aérienne.



Ainsi, les racines sont moins affectées par le stress hydrique que les parties aériennes. En outre, il est à noter que les valeurs de ce rapport concernant la population Baldia, sont plus proches de celles des plants témoins. Le stress hydrique affecte à part égale la partie aérienne et la partie racinaire.

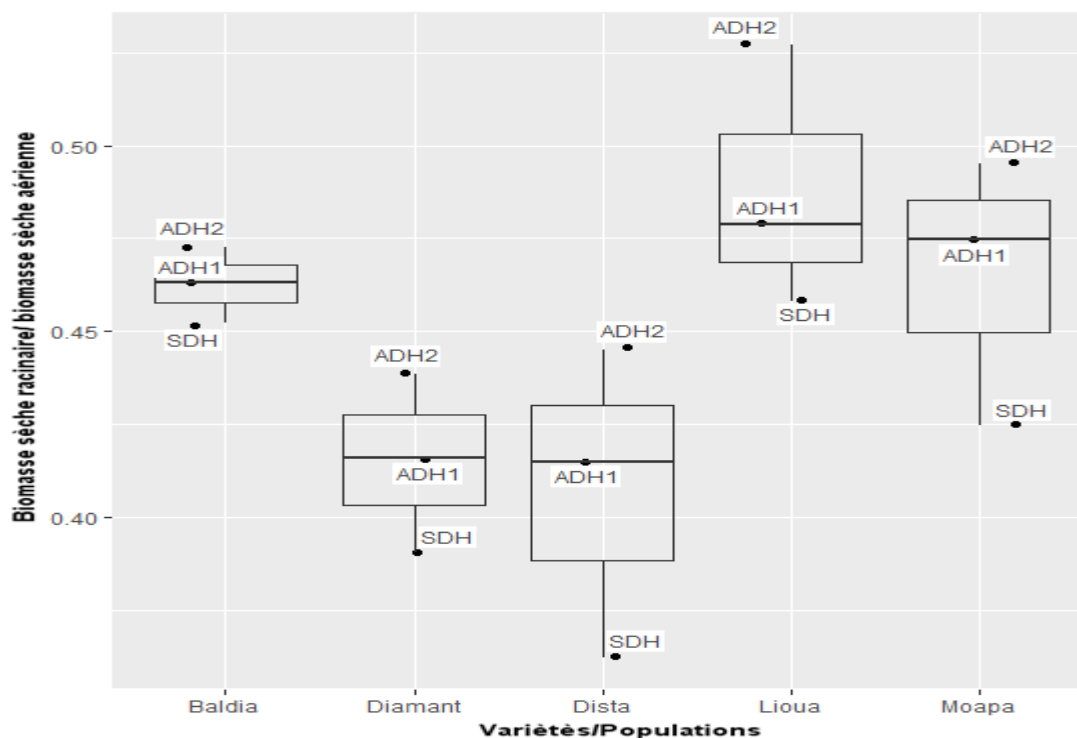


Figure 34: Variations du rapport biomasse sèche racinaire / biomasse sèche aérienne chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L. sous différents traitements hydriques.

Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions.

Discussion

Nos résultats indiquent que le stress hydrique entraîne une diminution des biomasses sèches aériennes et racinaires chez les cinq variétés et populations étudiées. Néanmoins une variabilité de réponse en présence du stress hydrique chez les variétés et les populations a été observée. En outre, il est à noter que les poids sec de la partie aérienne chez la variété Diamant et la population Baldia sont moins affectés par le stress hydrique.

L'effet du déficit hydrique est plus pénalisant au niveau de la plante en limitant essentiellement, la croissance et la néoformation des différents organes. La matière sèche est l'un des indicateurs les plus fiables de ces effets (TELLAH, 2016).

La réduction de la matière sèche sous l'effet de la contrainte hydrique est rapporté par plusieurs auteurs notamment chez *Cicer arietinum* L. (SLIM et al., 2008), *Vigna unguiculata* L. (HAMIDOU et al., 2005), *Abelmoschus esculentus* (SANKAR et al., 2007).



La production de la matière sèche est différemment affectée par les contraintes hydriques selon les souches rhizobiennes et le stade phénologique de la plante (ROY *et al.*, 1995).

Nos résultats montrent que le rapport du poids sec racines / parties aériennes tend à augmenter avec l'augmentation de la contrainte hydrique, chez les variétés et les populations Diamant, Lioua, Moapa et Dista. Ce résultat laisse indiquer que les biomasses aériennes sont plus affectées par le stress hydrique que les biomasses racinaires. Néanmoins, chez la population Baldia ce rapport est similaire à celui des plants témoins, indiquant ainsi que le stress hydrique a affecté à part égale les deux parties de la plante.

Les analyse de corrélation montrent que la biomasse sèche aérienne est positivement corrélé avec la teneur relative en eau ($r = 0,785$). Ceci dénote le rôle prépondérant de l'alimentation hydrique dans l'élaboration de la matière sèche. Une corrélation hautement significative et positive a été obtenue entre la surface foliaire et le poids sec de la partie aérienne ($r = 0,685$). Cette corrélation positive confirme d'une part l'étroite relation qui existe entre la surface foliaire et la production de biomasse et d'autre part confirme aussi que le stress hydrique a réduit la surface active pour la photosynthèse et provoqué une réduction de la croissance.

3.3. Effet du stress hydrique sur les caractères physiologiques et biochimiques

3.3.1. Pigments photosynthétiques

Afin d'estimer l'état photosynthétique des plantes des cinq génotypes et populations de *Medicago sativa* L. sous contrainte hydrique le dosage des pigments photosynthétiques des feuilles a été effectué.

-Chlorophylle a

Résultats

L'analyse de la variance a montré un effet très hautement significatif du stress hydrique ($p \leq 0,001$) sur les teneurs en chlorophylle *a*, les différences entre les variétés et l'interaction variété x stress hydrique sont très hautement significatives (Annexe, Tab.25).

Le stress hydrique provoque une diminution significative des teneurs en chlorophylle *a*, chez les cinq populations et variétés testées (Figure 35). Sous conditions de déficit hydrique (ADH1), les réductions des teneurs en chlorophylle *a* constatée, sont comprises entre 13,19% (Baldia) et 29.59% (Dista).

Les réductions des teneurs en chlorophylle *a* plus marquées en conditions de déficit hydrique plus prolongé (ADH2). Dans ces conditions la variété Diamant se distingue par la plus faible réduction à une valeur de 26,75%, tandis que les génotypes Dista et Moapa manifestent les



plus importantes réductions à des taux de 48,21 % et 49,28 % respectivement.

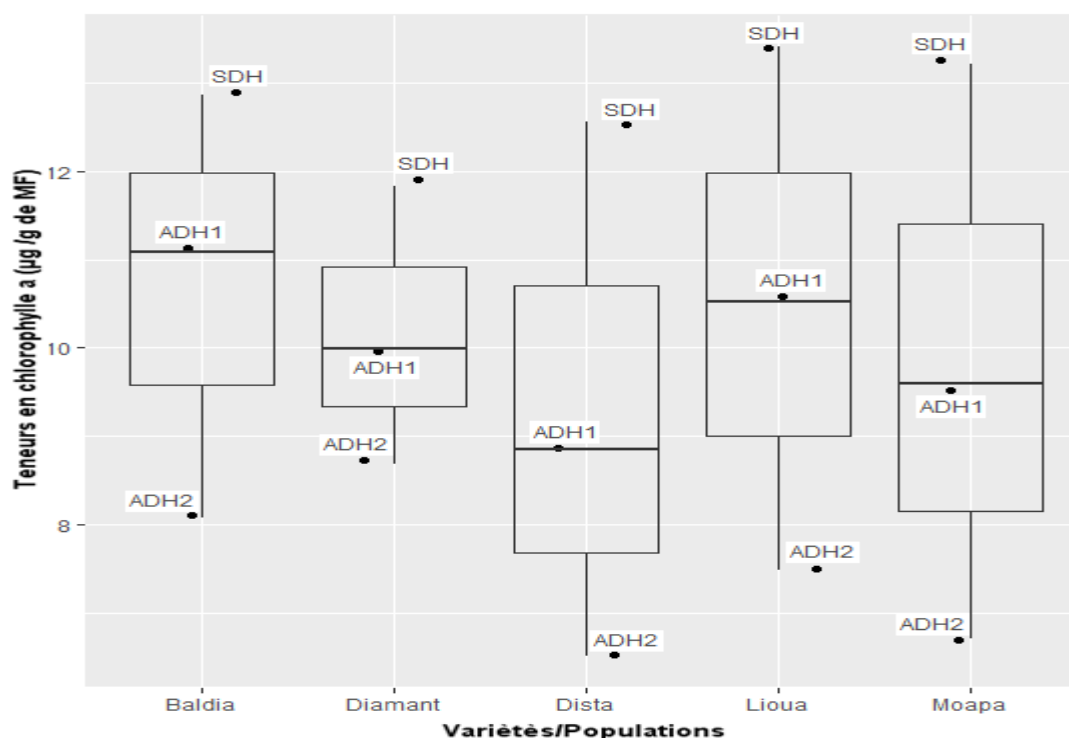


Figure 35: Variations des teneurs en chlorophylle a chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions.

-Chlorophylle b

Résultats

L'analyse statistique des résultats révèle que les variations du régime hydrique induisent des différences très hautement significatives des teneurs en chlorophylle b ($p \leq 0,001$). Les différences entre les variétés et l'interaction entre les deux facteurs sont également très hautement significatives (Annexe, Tab. 26).

Le stress hydrique engendre des baisses significatives des teneurs en chlorophylle b chez toutes les variétés et les populations (Figure 36). Les résultats obtenus indiquent que l'évolution des teneurs en chlorophylle b sous contrainte hydrique est comparable à celle de la chlorophylle a. En conditions de déficit hydrique plus prolongé (ADH2), les taux de réductions maximales des teneurs en chlorophylle b sont de 37,72%, 39%, 39,14%, 40,24% et 42,18% respectivement chez Diamant, Moapa, Baldia, Dista et Lioua.



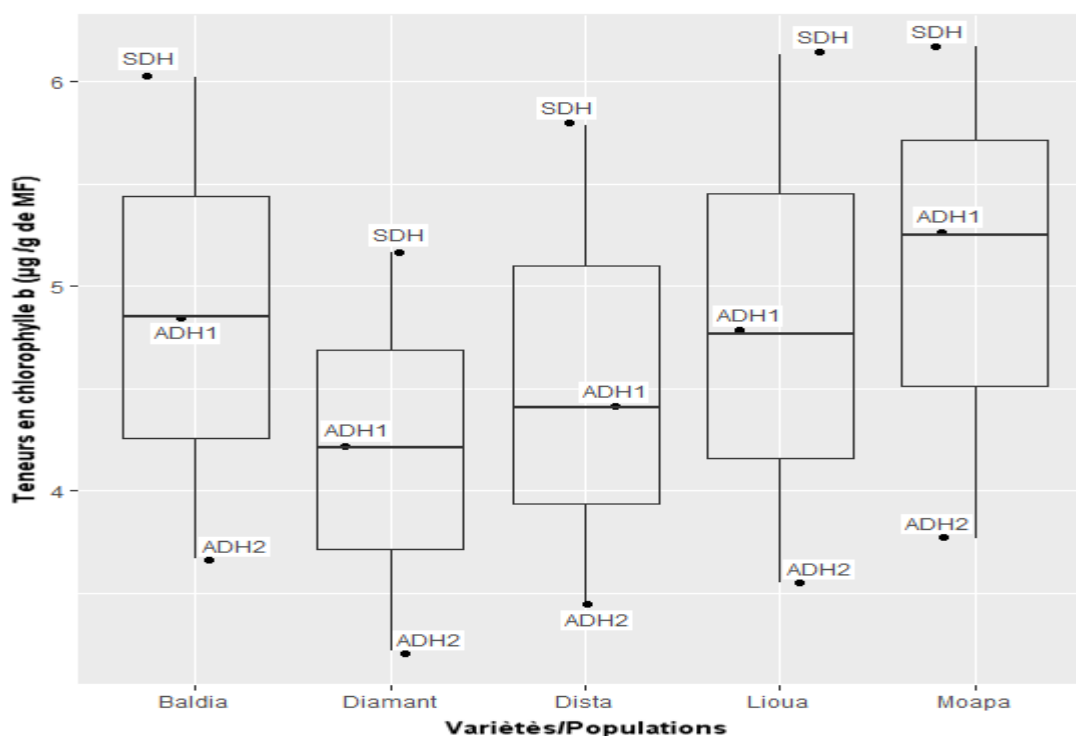


Figure 36: Variations des teneurs en chlorophylle b chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions.

-Chlorophylle totale (chlorophylle a + chlorophylle b)

Résultats

L'analyse de la variance a montré un effet très hautement significatif du stress hydrique ($p \leq 0,001$) sur les teneurs en chlorophylle totale, les différences entre les variétés et l'interaction variété x stress hydrique sont très hautement significatives (Annexe, Tab.27).

Les teneurs en chlorophylle totale des cinq variétés et populations étudiées sont réduites de manière significative sous l'effet de la contrainte hydrique (Figure 37). En effet, en conditions de déficit hydrique sévère (ADH2), la variété Diamant et la population Baldia affichent respectivement des réductions de 30,08% et 37,92% par rapport aux témoins respectifs. La variété Moapa s'avère être la plus affectée, elle montre la plus grande baisse (46,01%) des teneurs en chlorophylle totale par rapport au témoin.



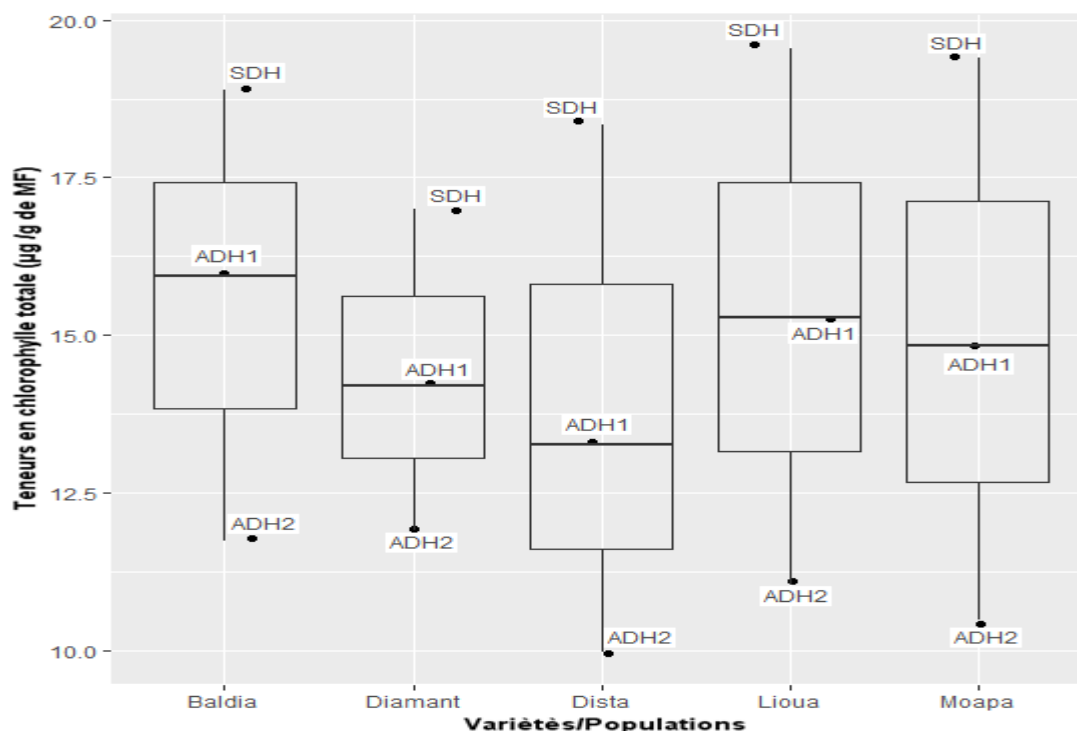


Figure 37 : Variations des teneurs en chlorophylle totale chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions.

- Caroténoïdes

Résultats

L'analyse statistique des résultats dégagés montre que la teneur en caroténoïdes a été affectée par le manque d'eau de manière très hautement significative et proportionnelle à l'intensité du stress hydrique appliqué ($p \leq 0,001$). La variabilité conduite influence de son côté l'expression de cette variable ($p \leq 0,001$). Des distinctions génotypiques sont constatées en réaction aux régimes hydriques appliquées et qui se justifient par la présence d'une influence très hautement significative de l'interaction des deux facteurs (Annexe, Tab.28).

Les résultats moyens (Figure 38) montrent que les teneurs en caroténoïdes des variétés et populations étudiées sont réduites de manière significative sous l'effet de la contrainte hydrique. Dans le lot ADH1, la teneur en caroténoïdes diminue chez pratiquement l'ensemble des géotypes et des populations conduits. Les géotypes Diamant et Moapa se distinguent par les plus faibles taux de réductions (7,49% et 10,49 % par rapport aux témoins respectifs). Au niveau du traitement ADH2, l'ensemble des géotypes et des populations ont inscrit des réductions notables de leurs teneurs en caroténoïdes. Ces réductions ont atteint des niveaux de 21,78% (Diamant), 25,97% (Baldia), 27% (Lioua), 27,45% (Moapa) et 27,71% (Manouth).



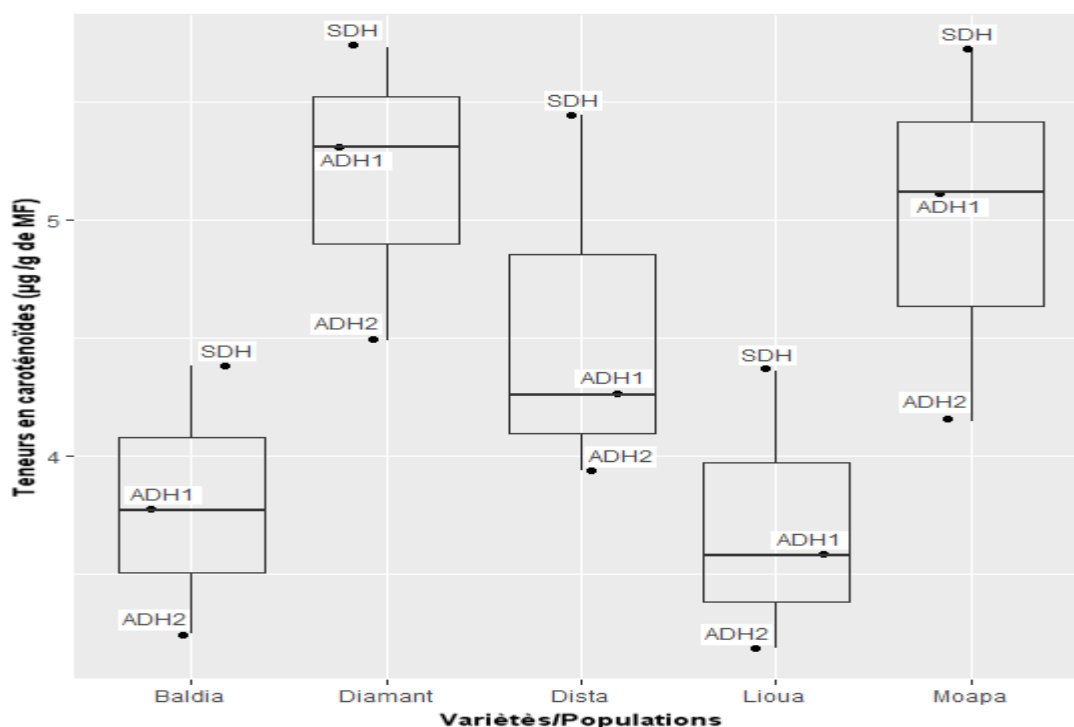


Figure 38: Variations des teneurs en caroténoïdes chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions.

-Chlorophylle a / chlorophylle b

Résultats

L'analyse des résultats obtenus, démontre que son expression est indépendante de traitement hydrique appliqué ($P > 0,05$). Les différences entre les variétés et l'interaction entre les deux facteurs sont très hautement significatives ($p \leq 0,001$) (Annexe, Tab.29).

D'après les résultats (Figure 39) notés entre les lots SDH et ADH1, les génotypes et les populations conduits se distinguent en deux groupes. Un premier groupe englobe les génotypes et les populations dont le ratio Chlorophylle a / chlorophylle b est augmenté par ce déficit et qui sont représentés par Baldia (7,05%), Diamant (3,53%) et Lioua (0,83%). Le reste des génotypes ont manifesté une réduction de leur ratio Chlorophylle a / chlorophylle b, Dista (7,56%) et Moapa (14,67%). L'intensification du déficit hydrique (ADH2), redimensionne les génotypes et les populations en des comportements différents. Il existe celui regroupant les génotypes dont le ratio Chlorophylle a / chlorophylle b a été réduit par le déficit hydrique, et on retient Lioua (3,54%), Dista (13,33%) et Moapa (16,86%). A l'opposé, on distingue parmi la collection des génotypes ayant un accroissement de leur ratio Chlorophylle a / chlorophylle b et sont représentés par Diamant (17,61%) et Baldia (2,95%).



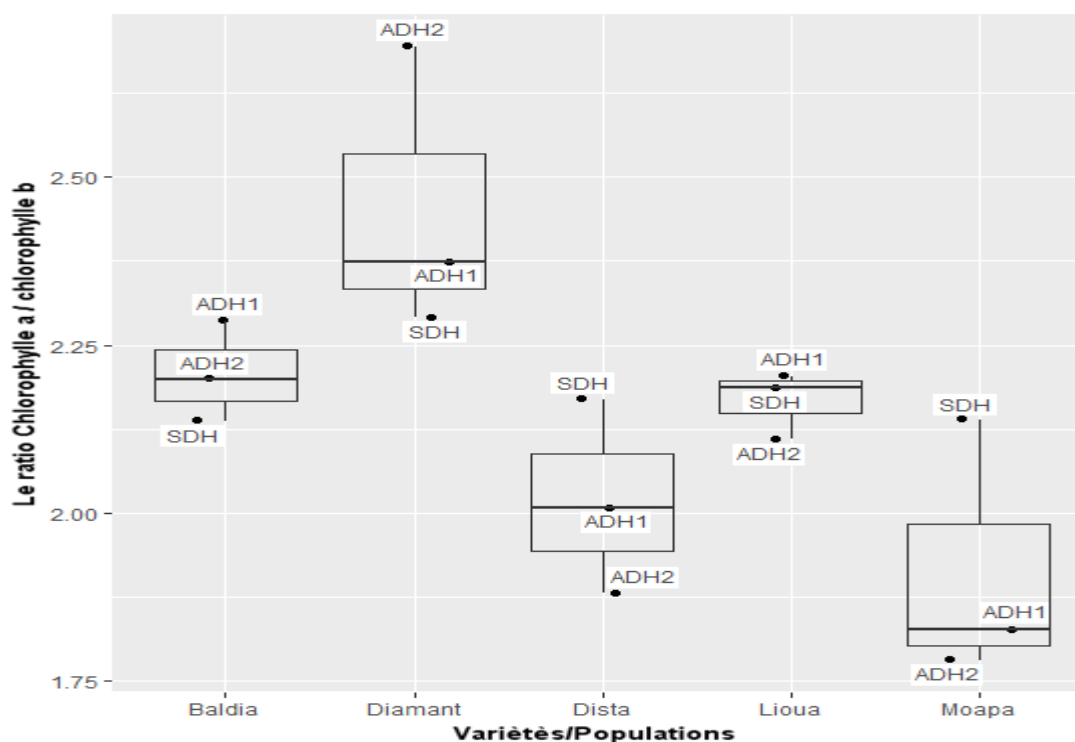


Figure 39: Variations du ratio chlorophylle a / chlorophylle b chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions.

-Chlorophylle/ Caroténoïdes

Résultats

L'analyse de la variance des résultats dégagés montre que le ratio chlorophylle/ caroténoïdes a été affecté par le manque d'eau de manière très hautement significative et proportionnelle à l'intensité du stress hydrique appliqué ($p \leq 0,001$). Les différences entre les variétés et l'interaction entre les deux facteurs sont également très hautement significatives (Annexe, Tab.30).

L'application du déficit hydrique sous les deux traitements ADH1 et ADH2 (Figure 40), provoque une diminution de chlorophylle/ caroténoïdes chez l'ensemble des génotypes et des populations testés. Cette réduction reste dépendante de l'intensité du déficit hydrique. Elle s'avère plus marquée avec l'intensification du stress hydrique. Ainsi dans le lot ADH1, les réductions sont limitées par des valeurs extrêmes enregistrées chez la population Baldia (1,84%) et la variété Moapa (14,58%). En conditions de déficit hydrique sévère (ADH2), les réductions sont encore plus importantes, chez l'ensemble des génotypes et populations expérimentés. Les valeurs génotypiques sont différentes et sont comprises entre 10,62% (Diamant) et 25,58% (Moapa).



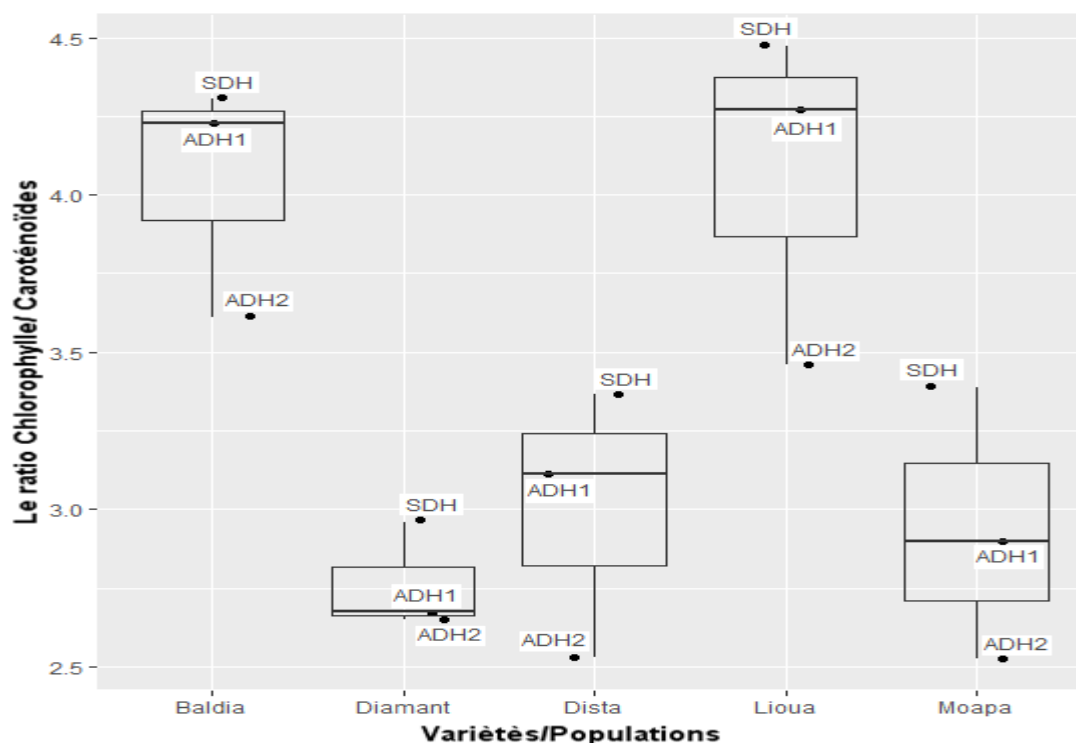


Figure 40: Variations du ratio chlorophylle / caroténoïdes chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions.

Discussion

Selon les résultats obtenus on constate que les teneurs en chlorophylles (a, b) et (a+b) et les caroténoïdes sont sensiblement inférieures chez les cinq géotypes et populations pour le traitement avec déficit hydrique par rapport au traitement sans déficit hydrique.

Cette diminution comparative peut s'expliquer par les conditions environnementales défavorables où il y a une réduction de la surface foliaire qui diminue l'activité photosynthétique. Ce résultat confirme des travaux sur la luzerne montrant la diminution des teneurs en chlorophylles (a) et (b) des plantes de la luzerne sous l'effet du déficit hydrique (LAHRIZI, 2015).

Nos résultats semblent concorder aussi avec les travaux de HEDEGUS *et al.* (2001) qui montrent une réduction de la photosynthèse, vis-à-vis de la sécheresse. Cette réduction est liée, d'une part à la fermeture des stomates et d'autre part, à la réduction de l'activité photochimique du PSII. TAHRI *et al.* (1997) enregistrent une diminution des teneurs en pigments chlorophylliens totaux (chl a et b) suite à un stress osmotique chez deux variétés de blé dur.



D'après nos résultats, on peut noter que la population Baldia et la variété Diamant se distinguent par une performance efficace sur le plan énergétique. Ceci suggère que l'élaboration des photosynthétats est liée au statut hydrique de la feuille de plants.

Le ratio Chl a/ Chl b peut être considéré comme un trait clé pour juger la tolérance aux stress environnementaux chez les plantes supérieures. La variation de la chlorophylle enregistrée entre les génotypes et les populations contrastés étudiés pourrait être due à des enzymes spécifiques dans la synthèse de chlorophylle comme la chlorophyllase (MAJUMDAR *et al.*, 1991). D'après nos résultats, le ratio (Chl a/Chl b) est plus élevé pour le génotype Diamant et la population Baldia que pour les autres.

ANJUM *et al.*, (2003) et FAROOQ *et al.*, (2009) ont signalé que le stress hydrique entraîne des changements dans le rapport de la chlorophylle 'a' et 'b' et les caroténoïdes. Plusieurs études ont déjà rapportées l'effet de ce stress et la teneur en chlorophylle. En effet, BOIS (1993) a signalé chez le mil que les processus primaires de la photosynthèse sont touchés précocement dès que la teneur relative en eau descend de 90%, ou dès que le potentiel hydrique s'abaisse. Il a suggéré que le stress hydrique a engendré une disparité de stabilité de système photosynthétique. Les mêmes constatations ont été faites chez le coton (MASSACCI *et al.*, 2008), chez le *Catharanthus roseus* (JALEEL *et al.*, 2008), et chez la tournesol (KIANI *et al.*, 2008).

D'après nos résultats, le ratio Chl/Carot a diminué tant que l'intensité de stress a augmenté. Il a été observé que le stress hydrique a affecté la chlorophylle ($r = -0,930$) plus que les caroténoïdes ($r = -0,653$). Ce résultat peut être expliqué par une décomposition plus rapide de la chlorophylle (source potentielle des ERO) que les caroténoïdes (piégeurs des ERO) et utilisé comme un indicateur précoce de la chlorose des plantes sous stress hydrique en révélant un besoin accru pour la photoprotection de la chlorophylle par les caroténoïdes (BACELAR *et al.*, 2006).

3.3.2. Accumulation de la proline

Résultats

L'analyse de la variance a montré un effet très hautement significatif du stress hydrique ($P \leq 0,001$) sur la teneur en proline des cinq variétés et populations étudiées, les différences entre les variétés et l'interaction entre les deux facteurs sont très hautement significatives (Annexe, Tab.31).

Les cinq variétés et populations réagissent à l'égard du stress hydrique par une augmentation des teneurs en proline (Figure 41). En l'absence de contrainte hydrique (SDH), les cinq



variétés et populations ont présenté les valeurs les plus basses comparativement aux plantes ayant subi un traitement hydrique, la haute valeur est marquée par la variété Dista de l'ordre de 395,57 $\mu\text{g/g}$ de MF et la faible valeur est donnée par le génotype Diamant de l'ordre de 256,69 $\mu\text{g/g}$ de MF. Les teneurs maximales en proline sont accumulées au niveau de traitement ADH2, les augmentations ont atteint des niveaux de 146,69% (Diamant) et 121,14% (Baldia).

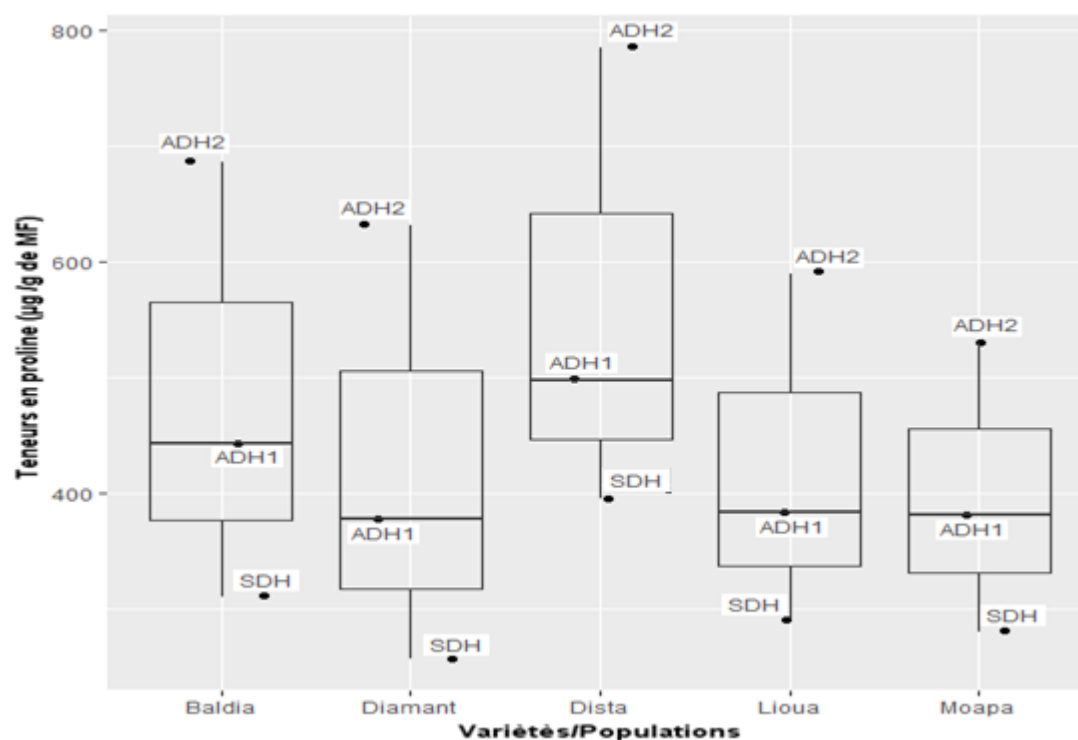


Figure 41: Variations des teneurs en proline chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions.

Discussion

D'après nos résultats, une corrélation positive et significative ($r=0,840$) est notée entre la contrainte hydrique et la teneur en proline. En effet le déficit hydrique appliqué augmente considérablement la teneur en proline. Ces résultats corroborent ceux obtenus par HIRECHE (2006) sur deux variétés de la luzerne qui note une augmentation de la teneur en proline chez ces espèces soumises à un stress hydrique.

Nos résultats montrent qu'en présence d'un stress hydrique sévère (ADH2), la variété Diamant et la population Baldia accumulent plus de proline que les autres variétés et populations, ce qui semble confirmer, du point de vue tolérance, la supériorité de la variété Diamant et la population Baldia par rapport aux autres.



L'un des principaux caractères physiologiques de tolérance aux contraintes du milieu, est l'ajustement osmotique. Celui-ci est réalisé grâce à une accumulation de composés osmorégulateurs conduisant à une réduction du potentiel osmotique permettant ainsi le maintien du potentiel de turgescence (El MIDAOUI et *al.*, 2007). L'osmorégulation permet une protection des membranes et des systèmes enzymatiques surtout dans les organes jeunes, et la proline semble jouer un rôle dans le maintien des pressions cytosol-vacuole et de régulation du pH (OTTOW et *al.*, 2005). L'accumulation de la proline a été démontrée chez de nombreuses espèces et dans différentes situations de stress (BENNABI, 2005; BOUKRAA, 2008 ; KISHOR et *al.*, 2014).

Il est établi que la proline est certainement un des osmolytes le plus répandu. Lors d'un stress osmotique, sa biosynthèse est augmentée dans les chloroplastes (SZEKELY et *al.*, 2008) et son accumulation chez les plantes stressées a une fonction de protection (VERBRUGGEN et HERMANS, 2008) suite à la perturbation du métabolisme des protéines (LEPENGUE et *al.*, 2012).

Le processus d'accumulation de la proline dans les tissus foliaires est considéré comme un critère d'adaptation (SZABADOS et SAVOURE, 2010). Elle permet aux plantes de supporter le manque d'eau par une diminution du potentiel osmotique (NANA et *al.*, 2009).

L'accumulation de la proline dans les tissus foliaires est considérée comme un critère de tolérance ; en effet, selon MEHDI et *al.*, (2010) les plantes et leurs cultivars qui synthétisent de grandes quantités de proline sont plus tolérantes sous stress.

D'après BIANCO et DEFEZ (2004) l'augmentation des teneurs en proline chez *Medicago truncatula* est due à la production de l'hormone de croissance IAA par son rhizobia *Sinorhizobium meliloti*.

Une corrélation significative et négative a été obtenues entre l'accumulation de la proline et les teneurs en chlorophylles totale ($r = -0,852$). Cette corrélation négative entre la synthèse chlorophyllienne et celle de la proline nous permet de suggérer l'existence d'une liaison étroite entre ces voies. La chlorophylle et la proline sont deux métabolites en compétition pour un précurseur commun : le glutamate (REDDY et VEERANJANEYULU, 1991).

3.3.3. Accumulation des sucres solubles

Résultats

L'analyse de la variance a révélé un effet très hautement significatif du stress hydrique ($p \leq 0,001$) sur les teneurs en sucres solubles chez les variétés et les populations testées, des différences entre les variétés sont très hautement significatives. Cependant, l'interaction entre



les deux facteurs est très hautement significative ($p \leq 0,001$) (Annexe, Tab.32).

Le stress hydrique provoque une augmentation des teneurs en sucres solubles chez les cinq variétés et populations étudiées (Figure 42). A l'échelle du lot ADH1, les teneurs en sucres solubles augmentent de 31,88%, 55,69%, 58,76% et 60,83% respectivement chez Dista, Baldia, Lioua et Moapa, alors que chez la variété Diamant une augmentation de 73,53% a été observée.

Pour toutes les variétés et les populations, les teneurs maximales en sucres solubles sont produites au niveau de traitement ADH2. La variété Diamant et la population Baldia ont enregistré respectivement des augmentations de 116,83% et 95,38% par rapport aux témoins respectifs, alors que la population Lioua et les variétés Moapa et Dista montrent des augmentations de 85,41%, 70,60% et 65,78% respectivement.

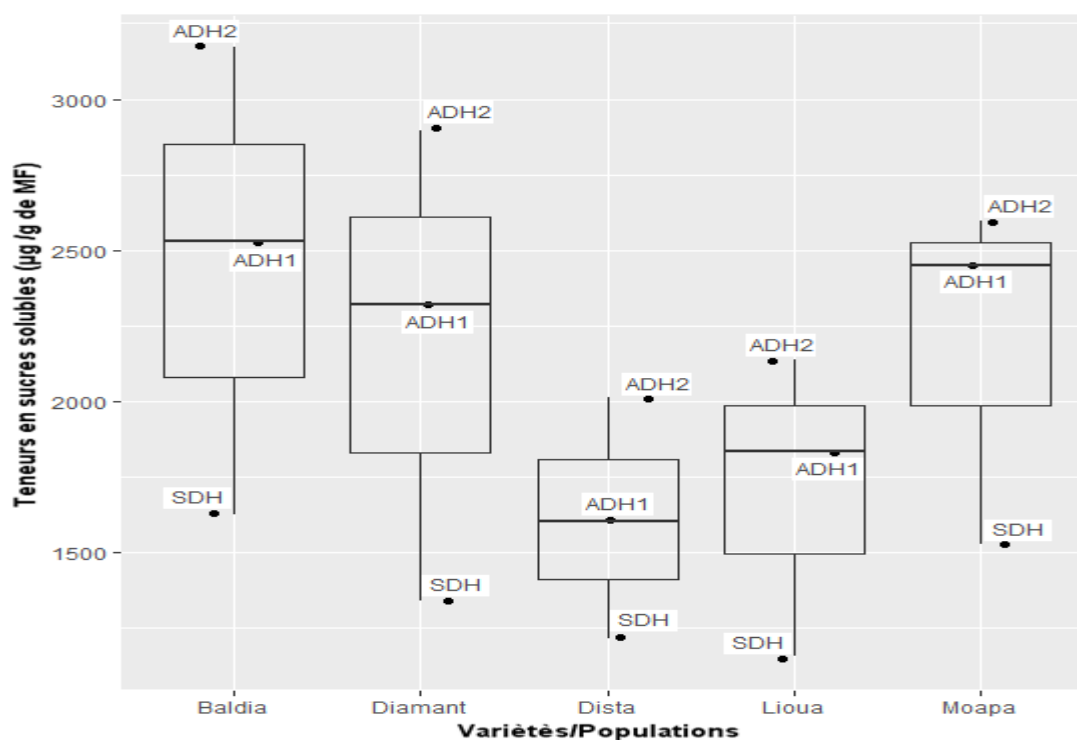


Figure 42: Variations des teneurs en sucres solubles chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions.

Discussion

D'après nos résultats, les traitements hydriques imposés ont induit une accumulation des sucres solubles ($r=0,819$) et pratiquement chez toutes les variétés et les populations testées.



L'accumulation des sucres solubles dans les plantes des légumineuses en réponse au stress hydrique a été documentée chez le haricot (AZZOZ, 2009), *Medicago sativa* (HIRECHE, 2006 ; LAHRIZI, 2015) et l'arachide (LAZALI, 2009 ; TELLAH, 2016).

L'accumulation des sucres solubles est un moyen adopté par les plantes en cas de stress, afin de résister aux contraintes du milieu (LORETTI *et al.*, 2001). Les sucres solubles sont des indicateurs des degrés de stress, à cause de son importante augmentation lors de la sévérité, les sucres métaboliques permettent la résistance aux différents stress (ZERRAD *et al.*, 2006). Les glucides tels que le sucre (glucose, fructose, saccharose, fructanes) et l'amidon s'accumulent sous le stress hydrique, jouant un rôle dans l'osmoprotection, l'ajustement osmotique, le stockage du carbone et l'élimination des radicaux, les sucres peuvent agir également comme molécules de signalisation en situation de stress (CHAVES *et al.*, 2009).

La teneur élevée des sucres solubles observée dans les feuilles de nos variétés, pourrait témoigner soit d'une limitation de leur utilisation suite à un ralentissement de la croissance, soit d'une force d'appel importante et leur hydrolyse par des enzymes présentes dans ces organes (MOURI *et al.*, 2012).

Des corrélations significatives et négatives ont été obtenues entre l'accumulation des sucres solubles et la production de matière sèche aérienne ($r = -0,705$). Ces corrélations confirment l'étroite relation qui existe entre l'accumulation des sucres et la diminution de la croissance. En effet, AZCON BIETO (1983) a rapporté que les faibles taux de carbone assimilé et la diminution des poids sec sont liés à l'accumulation des sucres solubles chez de nombreuses espèces végétales.

En effet, des corrélations significatives et négatives ont été obtenues entre la teneur relative en eau et la proline ainsi que les sucres solubles et la teneur relative en eau avec respectivement des valeurs ($r = -0,797$, $r = -0,411$). Ces corrélations montrent que l'abaissement de la teneur relative en eau chez les variétés et les populations stressées est associé à une accumulation concomitante de la proline et des sucres solubles. Ces corrélations sont plus fortes dans le cas de la proline.

3.3.4. Teneurs en protéines

Résultats

La détermination des teneurs en protéines chez les cinq variétés et populations ont révélé une variabilité de réponse en l'absence et en présence du stress hydrique (figure 43)

L'analyse de la variance a révélé un effet très hautement significatif ($P \leq 0,001$) du stress hydrique sur les teneurs en protéines chez les variétés et les populations étudiées. Des



différences entre les variétés et les populations sont très hautement significatives. L'interaction entre les deux facteurs est également très hautement significative (Annexe, Tab 33).

D'après les résultats obtenus, il ressort que les plants témoins accumulent les plus faibles teneurs en protéines (Figure 43). Les teneurs en protéines sont de l'ordre de 230,25; 284,92; 324,25 ; 350,25 et 442,86 $\mu\text{g/g}$ de MF respectivement chez les variétés Dista, Baldia, Lioua, Moapa et Diamant.

Le stress hydrique entraîne une accumulation des protéines chez les cinq variétés et populations. Au niveau de traitement ADH1, les teneurs en protéines augmentent de 5,75 % chez la variété Dista, alors que chez la population Baldia une augmentation de 19,56% a été observée. Ces teneurs évoluent au niveau du traitement ADH2, pour atteindre des augmentations de 35,21%, 29,78%, 20,68%, 14,63% et 11,17% respectivement chez Baldia, Diamant, Lioua, Moapa et Dista .

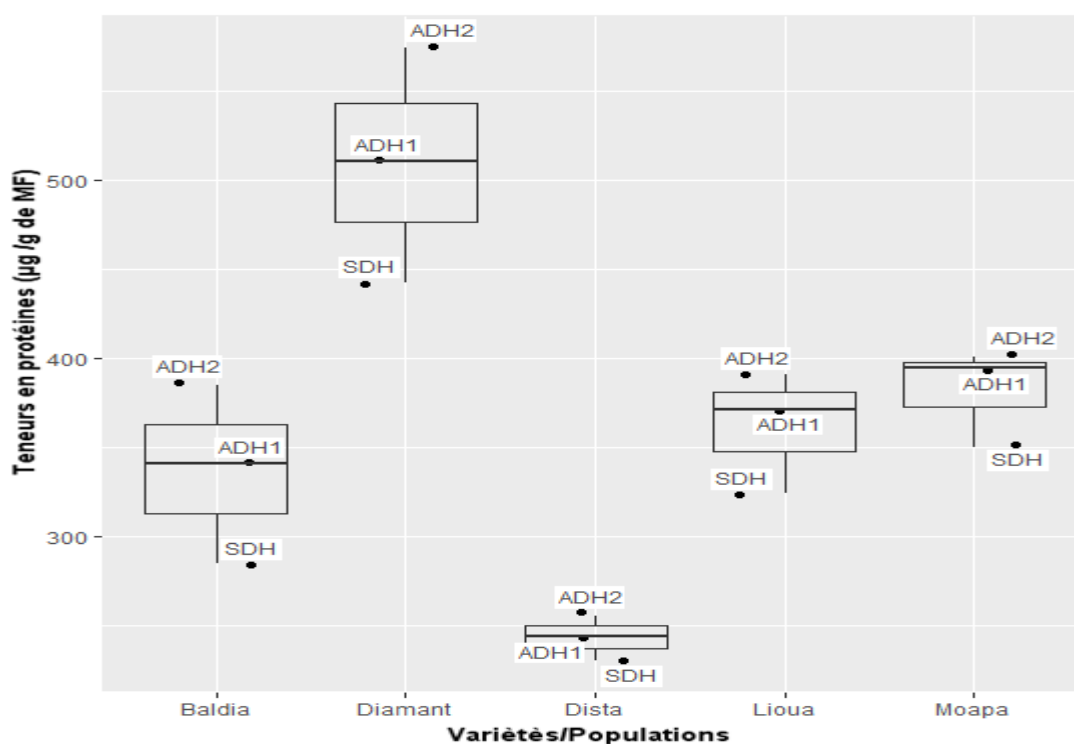


Figure 43: Variations des teneurs en protéines chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions.



Discussion

Les résultats de la présente étude ont montré une augmentation des teneurs en protéines en fonction du stress hydrique. Toutefois, l'accumulation est plus importante chez la variété Diamant et la population Baldia que chez la population Lioua et les variétés Moapa et Dista. D'après les résultats de SEYED *et al.*, (2012), les conditions de sécheresse apportent des changements quantitatifs et qualitatifs sur les protéines végétales.

Plusieurs auteurs ont montré que le stress entraîne une baisse ou une hausse des protéines totales (KUMAR, 1991). Dans notre travail, Les variétés et les populations ont répondu aux conditions du stress hydrique par une hausse des teneurs en protéines comparativement aux témoins. Ce résultat peut être expliqué par le fait que la plante cherche à protéger son intégrité morphophysiolgique, en réponse aux dommages et aux effets défavorables du déficit hydrique en élaborant des enzymes et des protéines dont le rôle est de neutraliser les molécules générées par ce stress (GARDES-ALBERT *et al.*, 2003).

Selon DAVID et GRONGNET (2001), la stimulation des protéines est due à une activation d'un ensemble de gènes permettant la synthèse des protéines spécifiques associées aux stress qui assurent une protection de l'ensemble vital des protéines cellulaires et tiennent à maintenir les structures protéiques et membranaires de la cellule végétale.

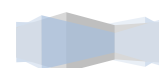
Certains auteurs, soulignent que la plante soumise à un stress abiotique, induit la production de protéines dites « protéines de stress » (HAMILTON et HECKATHORN, 2001). Ces protéines peuvent s'associer à la protéine en cours d'élongation et stabilise les conformations intermédiaires, elles permettent la remise en forme de protéines partiellement dénaturées ou en modifiant temporairement la conformation des protéines pour faciliter leur pénétration dans les organites (GUILLOTON et QUINTARD, 2003). C'est l'exemple de l'HSP70 (interviennent précocement lors de la synthèse protéique, permettant à la molécule d'acquérir sa forme native) et de la HSP.60 (agissent sur des protéines entièrement constituées, autorisant leur remise en forme, après dénaturation partielle ou leur changement de conformation) (ISSAAD, 2013).

3.4. Effet du stress hydrique sur les caractères symbiotiques

3.4.1. Nombre des nodules

Résultats

Les variations du nombre des nodules en fonction des traitements hydriques appliqués, montrent que chez toutes les variétés et les populations étudiées l'augmentation de l'intensité du stress provoque un abaissement du nombre des nodules comparativement aux témoins.



Cette baisse est d'autant plus accentuée que l'intensité du stress est importante (Figure 44).

L'analyse de la variance montre que le stress hydrique entraîne une baisse très hautement significative du nombre des nodules ($p \leq 0,001$) chez les cinq variétés et populations. L'effet variété et l'interaction variété x traitement hydrique sont également très hautement significatifs (Annexe, Tab.34).

En l'absence du stress hydrique, toutes les variétés et les populations affichent un nombre des nodules élevé par rapport aux autres traitements. Des nombres des nodules de 25,6 ; 30,4 ; 31,2 ; 33,2 et 40,4 nodules/plant sont observés respectivement chez les variétés et les populations Lioua, Diamant, Dista, Moapa et Baldia.

Le stress modéré (ADH1) entraîne une baisse des nombre des nodules par plante de 35,26%, 39,84% et 40,96% chez Diamant, Lioua et Moapa respectivement. La variété Dista semble être la plus affectée (48,68% de réduction), contrairement à la population Baldia moins sensible (29,70% de réduction). La baisse s'accroît pour toutes les variétés et les populations au niveau de traitement ADH2, des pourcentages de réductions sont de l'ordre de 69,23%, 73,76%, 79,69%, 82,89 et 84,34% respectivement pour les variétés et les populations Diamant, Baldia, Lioua, Dista et Moapa.

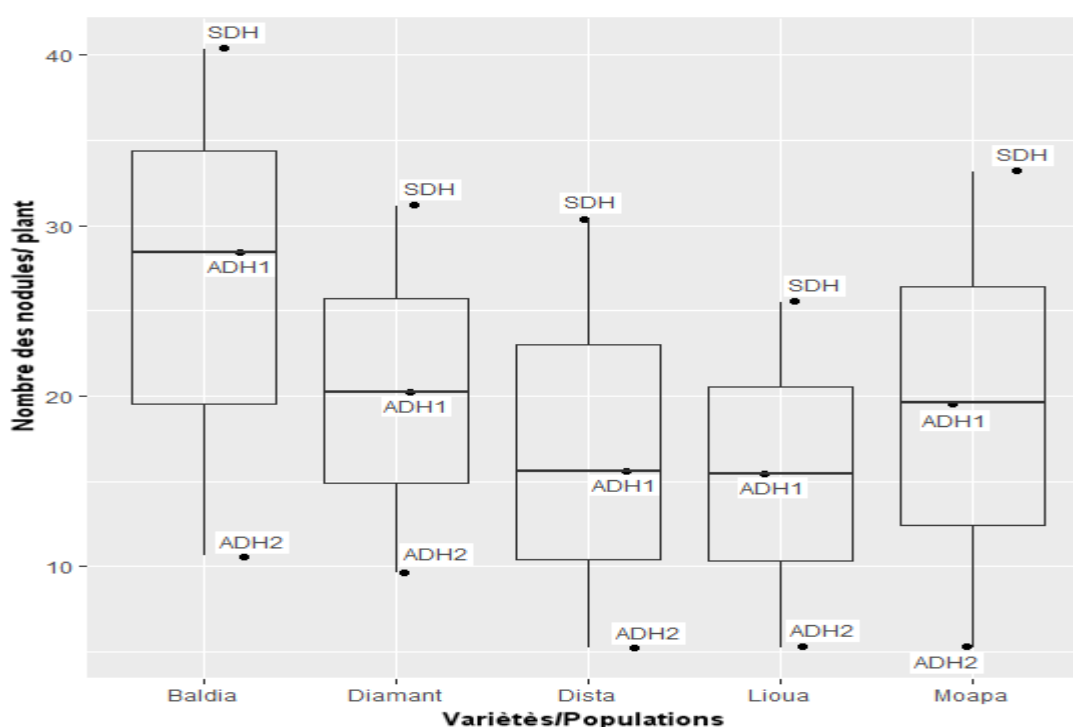


Figure 44: Variations du nombre des nodules par plant chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions.



3.4.2. Poids sec des nodules

Résultats

La figure 45 montre que le poids sec des nodules diminue pour les cinq variétés et populations en présence du stress hydrique. Ces résultats mettent en évidence une variabilité de réponse en présence du stress hydrique chez les variétés et les populations testées.

L'analyse de la variance a révélé un effet très hautement significatif du stress hydrique ($P \leq 0,001$) sur le poids sec des nodules des cinq variétés et populations. Les différences entre les variétés et les populations sont également très hautement significatives. Cependant l'interaction entre les deux facteurs n'est pas significative ($p > 0,05$) (Annexe, Tab.35).

Pour le traitement témoin (SDH), le poids sec des nodules est plus élevée chez la population Baldia et la variété Diamant (70,21 et 63,03 mg/plant respectivement), et plus faible chez la variété Dista et la population Lioua (55,42 et 57,12 mg/plant.)

En condition du stress modéré (ADH1), la variété Diamant semble être la moins affectée, avec une diminution de 38,11% par rapport au témoin, alors que la variété Dista est le plus affecté, avec une réduction de 51,05%.

En présence du stress hydrique sévère (ADH2), la population Lioua et les variétés Moapa et Dista sont les plus affectées, car le poids sec des nodules a baissé respectivement de 82,95%, 86,07% et 88,60% par rapport au témoin alors que la variété Diamant et la population Baldia moins sensibles enregistrent respectivement une baisse de 72,16% et 76,29%.

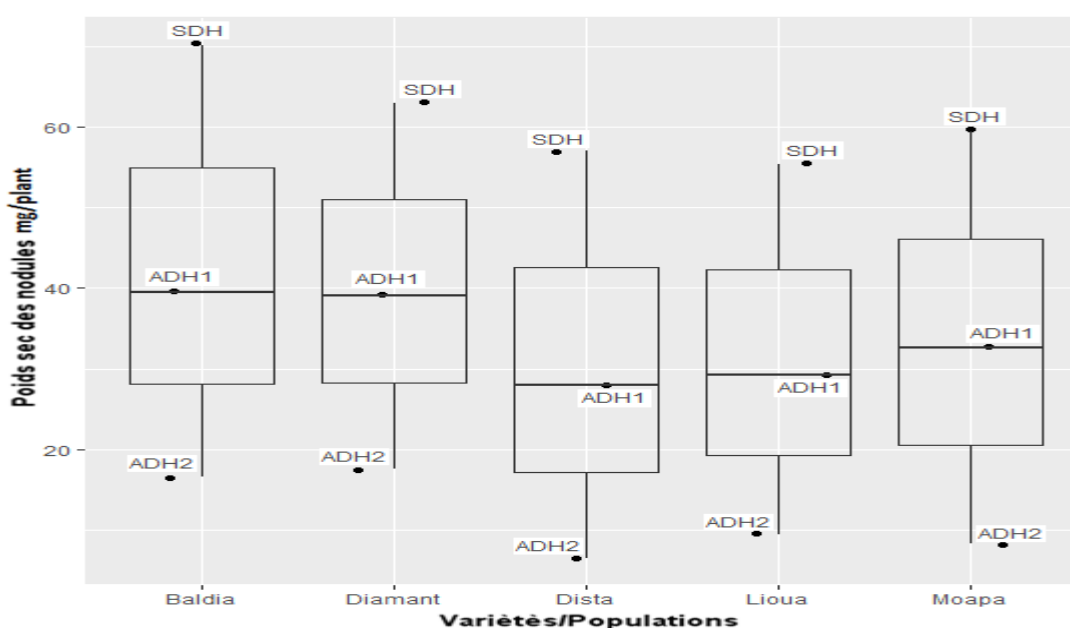
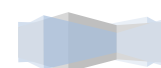


Figure 45: Variations du poids sec des nodules par plant chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions.



3.4.3. Teneurs en leghémoglobine

Résultats

D'après l'analyse de variance des résultats obtenus, on constate un effet très dépressif du déficit hydrique sur les teneurs en leghémoglobine chez l'ensemble des génotypes et des populations testés ($p \leq 0,001$). Cette réduction s'avère d'intensités différentes chez les génotypes et les populations expérimentés, faisant apparaître ainsi un effet génotypique ($p \leq 0,001$) et d'interaction entre les deux facteurs d'étude, très hautement significatif (Annexe, Tab.36)

Les teneurs en leghémoglobine (Figure 46) chez l'ensemble des génotypes et des populations et à l'échelle du traitement témoin (SDH) sont comprise entre 0.071 $\mu\text{mol/g}$ nodule (Baldia) et 0,047 $\mu\text{mol/g}$ nodule (Lioua). En conditions de déficit hydrique modéré (ADH1), les teneurs en leghémoglobine sont réduites chez tous les génotypes et les populations testés. En conditions de déficit hydrique plus prolongé (ADH2), les teneurs en leghémoglobine ont subit une forte réduction chez l'ensemble des génotypes et des populations expérimentés. Cette réduction s'exprime fortement chez le génotype Moapa avec une valeur de 92,06%. Par contre, la plus faible régression est inscrite chez le genotype Diamant (74,51%).

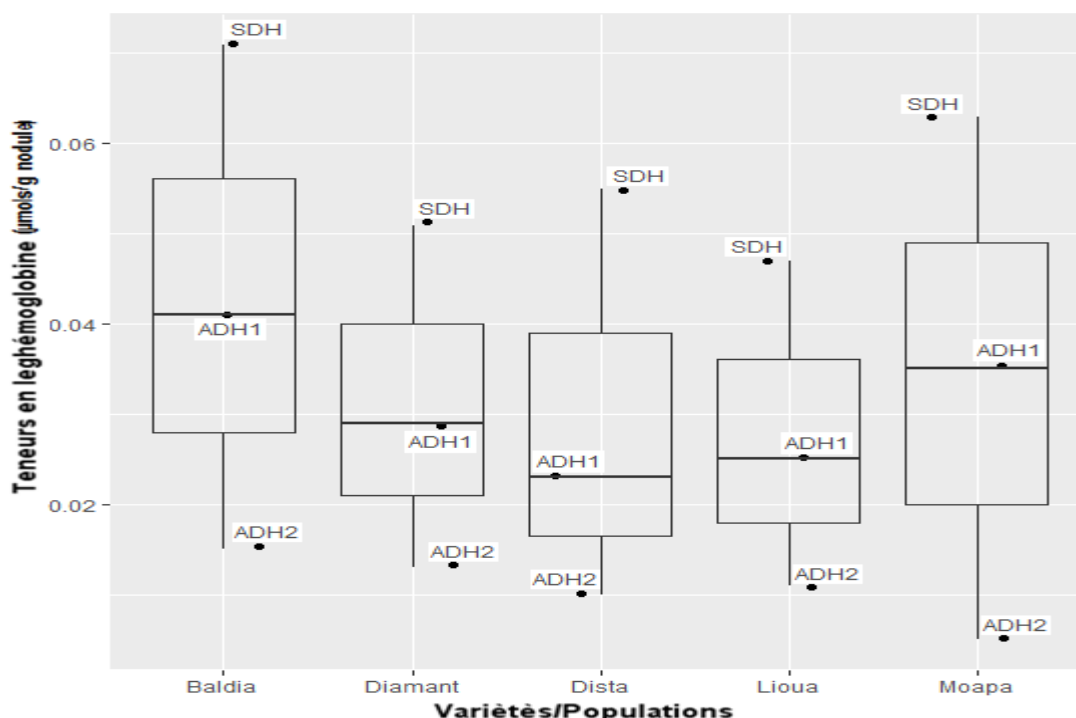


Figure 46: Variations des teneurs en leghémoglobine des nodules chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L. sous différents traitements hydriques. Chaque point représente la moyenne de 5 répétitions.



Discussion

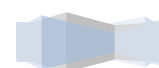
Le stress hydrique induit une diminution du nombre et du poids sec des nodules chez toutes les variétés et les populations avec l'augmentation de l'intensité du stress hydrique, avec des coefficients de corrélation significatifs et négatifs ($r = -0,894$, $r = -0,951$). Toutefois, une variabilité de réponses a été observée en présence du stress hydrique. La variété Diamant et la population Baldia se sont montrées les moins affectées par le stress hydrique. Ce qui semble confirmer, du point de vue tolérance, la supériorité de ces deux espèces par rapport aux autres. Les résultats obtenus montrent une réduction du poids sec plus importante que celle du nombre de nodules chez les variétés et les populations testées, indiquant ainsi que l'inhibition du stress ne concerne pas uniquement le processus de la nodulation mais également sur la croissance nodulaire.

L'effet négatif du déficit hydrique prolongé et intense sur la nodulation a été souligné par plusieurs auteurs (BOUTRAA et SANDERS, 2001 ; OUNANE et *al.*, 2003 ; TELLAH, 2016), ce qui rejoint nos résultats de nodulation. En effet, le nombre de nodosités formées est le résultat final de toute une succession d'événements se produisant au cours des différentes étapes de la formation des nodosités.

Le stress hydrique a un effet négatif sur les populations de rhizobium introduites dans le sol (AURAG et BRHADA, 1994). Il induit une réduction de l'infection et de nodulation des légumineuses. Ainsi, un environnement de rhizosphère favorable est essentiel à l'interaction de légumineuse–rhizobium. Cependant, l'importance de l'effet inhibiteur du stress hydrique sur la symbiose dépend du stade de développement de la plante et de son intensité (Zahran, 1999). Selon les résultats de PENA-CABRIALES et CASTELLANOS (1993), sur l'haricot le stress hydrique durant le stade végétatif a diminué temporairement la nodulation, et après réalimentation régulière en eau la nodulation reprend mieux que chez le témoin non stressé.

L'effet du stress hydrique sur la symbiose dépend généralement de la phase de la croissance et de développement de la plante, mais aussi de la sévérité de la contrainte hydrique (ZAHARAN, 1999). Un stress hydrique modéré réduit seulement le nombre de nodules formés sur des racines de soja, alors qu'un stress sévère réduit le nombre et la fixation d'azote (PAZDERNIK, et *al.*; 1997). La nodulation et la fixation d'azote est plus sensible au stress hydrique pendant la phase végétative que la phase reproductrice (PENA –CABRIALES et CASTELLANOS, 1993).

La réduction du nombre et du poids sec des nodules est associée également à une diminution des teneurs en leghémoglobine, plus importante chez les variétés Moapa et Dista. La fixation



symbiotique de l'azote est fortement affectée par le déficit hydrique, à cause de la réduction de la leghémoglobine dans les nodules, de la diminution de l'activité spécifique des nodules et de la réduction de nombre et poids sec des nodules (REDDY *et al.*, 2003). Le stress hydrique retarde aussi la formation des nodules chez les légumineuses. La réduction de nombre de nodules a été également observée chez la fève et l'haricot exposés au stress hydrique (SANGAKKARA *et al.*, 1996).

La limitation du nodulation pourrait être due à la diminution des photosynthétats fournis par les feuilles pour les nodules et/ou à la réduction des substrats pour la respiration des bactéroïdes (GARG et SINGLA, 2004 ; LOPEZ *et al.*, 2008). Ceci est démontré par les corrélations positives et significatives obtenues entre le nombre des nodules et les teneurs en chlorophylle totale ($r= 0,899$) et entre le poids sec des nodules et les teneurs en chlorophylle totale ($r=0,926$).

Cette grande sensibilité de la fixation symbiotique de l'azote au stress a été expliquée par le fait que celui-ci provoque la plasmolyse des cellules corticales des nodosités et leur tassement, augmentant ainsi leur résistance à la diffusion de l'oxygène vers les bactéroïdes fixateurs, ce qui est confirmé par le fait que l'accroissement de la pression partielle d'oxygène autour des nodosités augmente l'activité de la nitrogénase (HUNGRIA et VARGAS, 2000).

3.5. Efficacité d'utilisation de la symbiose rhizobienne

La fixation symbiotique de N₂ est évaluée par la droite de régression des biomasses sèches aériennes en fonction des biomasses sèche nodulaires. Pour déterminer l'efficacité de la symbiose rhizobienne chez la luzerne dans cette étude, nous avons basé sur la corrélation entre la croissance et la nodulation. Les coefficients de corrélation entre la biomasse sèche aérienne et le poids sec des nodules sont calculés pour chaque génotype, avec la pente de régression pour une estimation de l'efficacité de l'utilisation de la symbiose rhizobienne (EURS) (Figure 47). Aussi le poids sec des parties aériennes et le poids sec des nodules obtenus sont illustrés dans la figure 48.

Les données de la figure 47 montrent une régression significative de la matière sèche aérienne en fonction du poids sec des nodules des plantes de la luzerne. Ceci confirme que la fixation symbiotique de l'azote est un facteur déterminant de l'accumulation de la matière sèche.



Des corrélations positives et significatives entre la biomasse sèche aérienne et la biomasse sèche nodulaire sont notées chez toutes les génotypes et les populations : Baldia ($r^2 = 0,954$), Lioua ($r^2 = 0,950$), Dista ($r^2 = 0,948$), Diamant ($r^2 = 0,938$) et Moapa ($r^2 = 0,922$) montrant ainsi l'étroite relation existante entre la biomasse sèche aérienne et la biomasse sèche nodulaire. Cette corrélation confirme que la croissance chez la luzerne dépend de la fixation symbiotique de l'azote.

L'analyse des résultats en termes de l'efficacité de la fixation symbiotique de N_2 montre une variation qui semble dépendante des génotypes et de populations. La pente des régressions (Figure 47) a permis de classer les variétés et les populations selon l'efficacité de la fixation symbiotique de N_2 comme suit : Lioua < Dista < Moapa < Diamant < Baldia. En effet, la population Baldia s'est montrée la moins affectée par le stress hydrique, suivie du génotype Diamant. Ce qui semble confirmer, du point de vue tolérance, la supériorité de ces deux espèces par rapport aux autres. Une tolérance qui s'est traduite par une meilleure production de matière sèche sous contrainte hydrique (Figure 48).

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. Cette pente constituerait un indicateur d'efficacité de la symbiose rhizobienne pour la nutrition azotée de la plante.

OUSLIM (2016), ait montré l'existence d'une corrélation significative entre l'accroissement du poids de matière sèche des parties aériennes et le poids sec des nodosités. Le poids sec des plantes sont significativement associés à la biomasse nodulaire (SADIKI et RABIH, 2003).



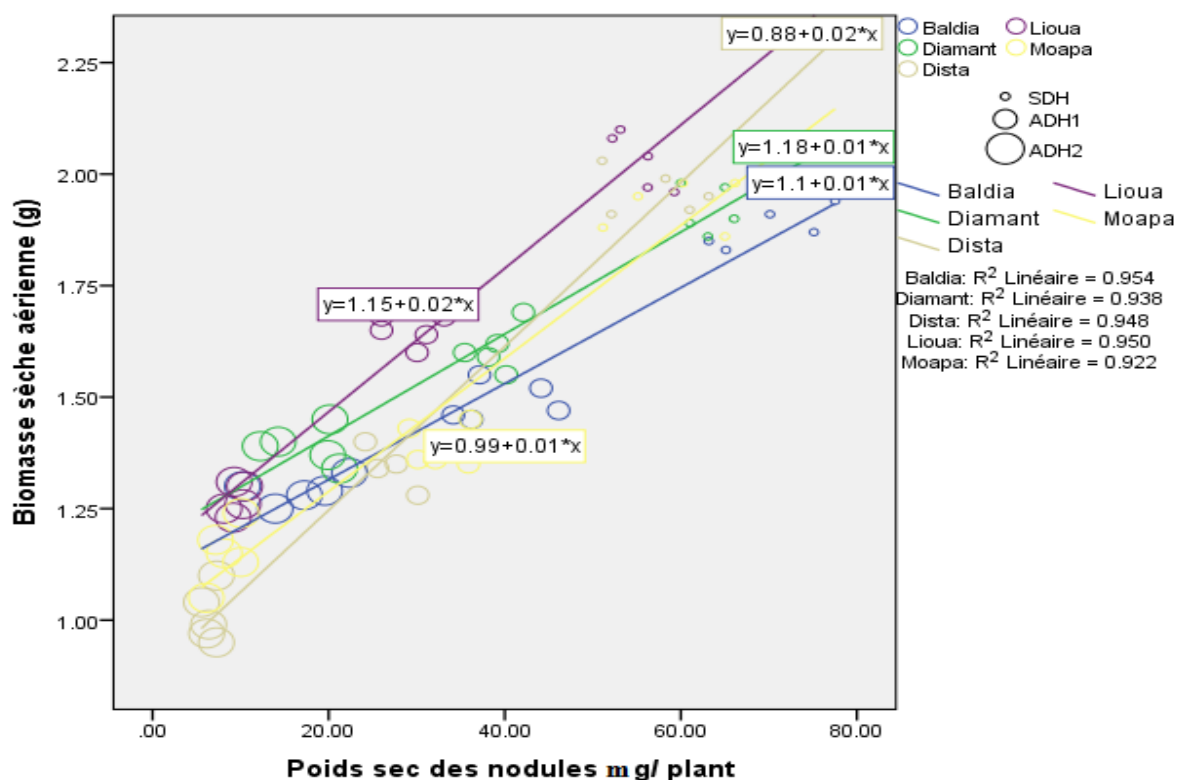


Figure 47 : Corrélation entre la croissance et la nodulation chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L. sous différents traitements hydriques.

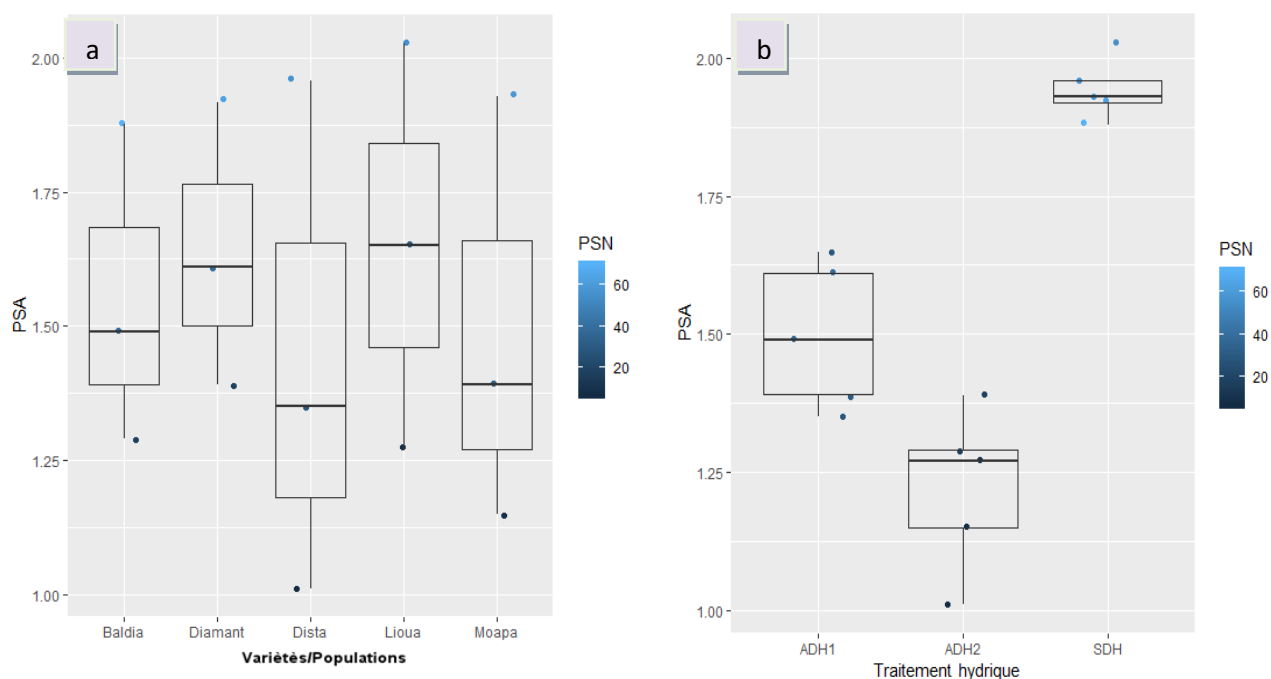


Figure 48 : Variations du poids sec des parties aériennes et le poids sec des nodules chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L. (a) sous différents traitements (b).



3.6. Analyse en composantes principales des résultats

Selon l'analyse de la variance, le stress hydrique appliqués a induit des réductions très hautement significatives des facteurs de croissance, du nombre des nodules, des poids sec des nodules, des teneurs en pigment photosynthétiques, en leghémoglobine ainsi que le teneur relative en eau, contrairement aux solutés compatibles et les teneurs en protéines qui ont augmenté significativement.

L'analyse en composante principale (ACP) a permis de représenter graphiquement la variabilité des facteurs agronomiques étudiés, et de déterminer la nature et le degré de divergence entre les cinq variétés et populations de la luzerne vis-à-vis de la tolérance au stress hydrique. Les premiers axes décrivent 77,6 % de la variation totale. Le premier axe exprime le plus important pourcentage de variation (66,2%). Il est positivement corrélé aux facteurs de croissance, de la Teneurs relatives en eau (TRE) ainsi que les pigments foliaires. Il est négativement corrélé aux solutés compatibles. Le deuxième axe représente 11,4 % de l'information. Il est positivement corrélé aux teneurs en protéines et du ratio chlorophylles a/ chlorophylles b (Figure 49).

La projection des points moyens des variétés et des populations étudiées sur le plan défini par les axes 1 et 2 a montré leur réponse au stress hydrique en fonction des paramètres étudiés (Figure 50). Trois regroupements plus homogènes, d'une part entre la population Baldia et la variété Diamant et d'autre part, entre la variété Dista et la Moapa. Ces derniers confirment le même comportement de tolérance ou de sensibilité au stress hydrique chez chaque couple de variétés homogènes. Le troisième groupe comprend la population Lioua,



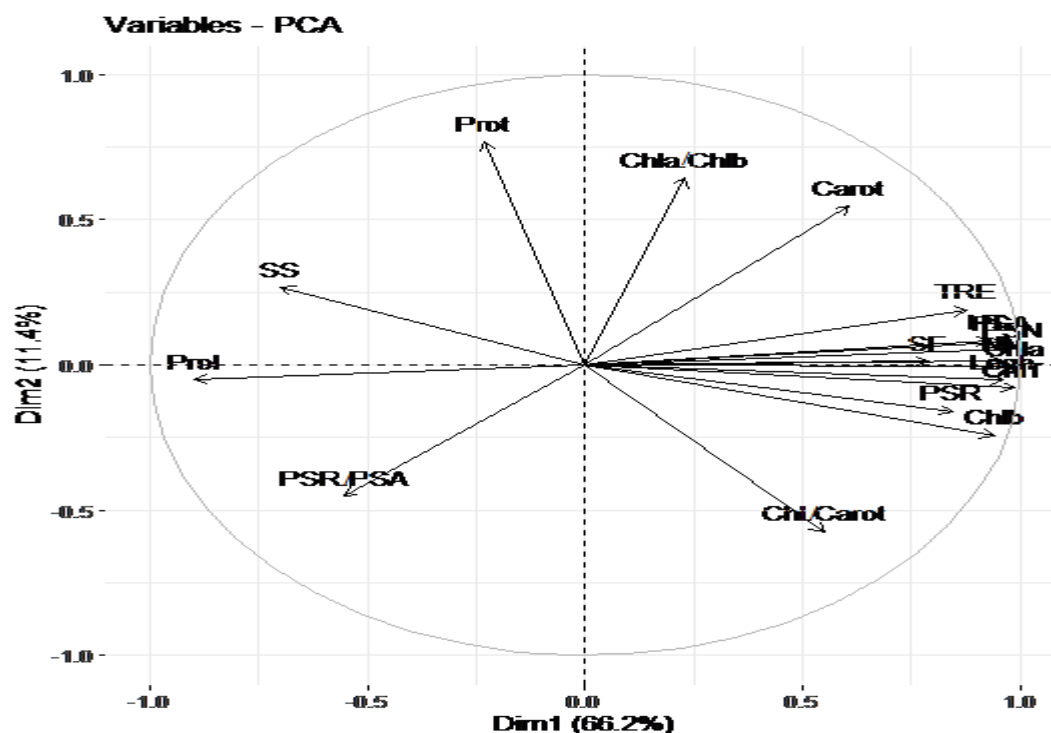


Figure 49: Analyse en composantes principales représentant le cercle des corrélations entre les différents paramètres en fonction des traitements hydriques chez la luzerne.

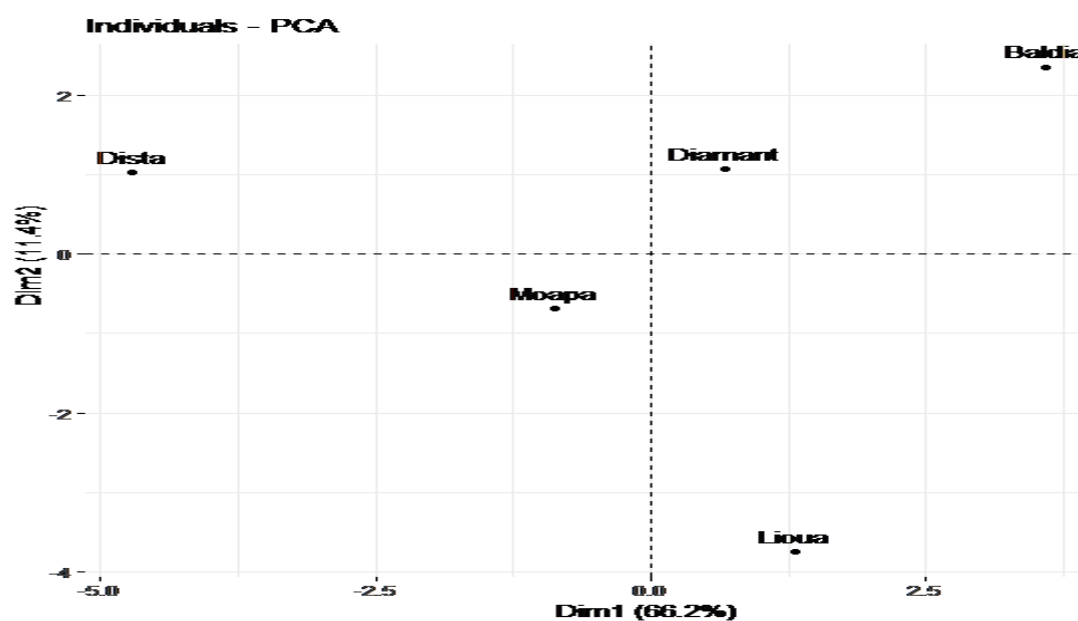


Figure 50: Représentation graphique de la distribution spatiale des variétés et des populations de la luzerne dans les plan 1-2 d'une analyse en composantes principales sous les différents traitements hydriques.



3.7. Analyse canonique discriminante des résultats

Une analyse canonique discriminante (ACD) a été réalisée en utilisant l'ensemble des caractères étudiés (18 variables) comme des facteurs prédictifs de l'appartenance à un groupe de diagnostic. Ce groupe correspond aux cinq génotypes et populations de *Medicago sativa* L. étudiés dans notre travail de recherche.

Les résultats de l'ACD ont confirmé l'existence de différences dans les caractéristiques globales des génotypes et des populations. La statistique Lambda de Wilks (λ) a révélé une signification statistique très importante de ce modèle ($\lambda = 0,000$). Ainsi, la statistique F (de Fisher-Snedecor) calculée a également indiqué une très bonne signification ($P < 0,001$) pour le modèle (Tableau V).

Quatre fonctions discriminantes (FD) ont été établies correspondant à 82,8%, 9,6%, 19,6% et 3,5 % de la variance totale. Le test χ^2 (Khi-deux) a montré pour l'analyse (ACD) un pouvoir discriminatoire très important concernant les quatre fonctions ($P < 0,001$). Les valeurs propres relatives aux deux premières fonctions (277,16 et 32,05 pour FD1 et FD2, respectivement) ont expliqué ensemble la portion la plus grande de la variance totale (97,7%), et leurs corrélations canoniques (ou coefficients de corrélation canonique) sont : $r_1 = 0,998$ et $r_2 = 0,985$ (Tableau VI).

Le diagramme de dispersion bidimensionnels (2D) de l'espace discriminant (parcelle canonique) par rapport aux deux fonctions discriminantes relatives aux caractères étudiés sont présentés dans la figure 51. Ces parcelles canoniques ont reflété une bonne séparation entre les génotypes et les populations contrastés de *Medicago sativa* L. objet d'étude. En ce qui concerne l'ACD (Figure 51), la séparation horizontale a été établie par la première FD. Ladite fonction a permis de quantifier le degré auquel tous génotypes et les populations diffèrent dans leurs caractères. Cette constatation nous a permis de faire une liaison entre les caractères étudiés et les différences enregistrées chez génotypes et les populations dans leur tolérance face au stress hydrique. Le génotype Diamant a été nettement séparé de tous les autres génotypes et populations. Compte tenu de la seconde FD, le génotype Dista a été légèrement distingué des autres génotypes et populations.

L'analyse factorielle discriminante (analyse canonique discriminante) a montré que les génotypes (Moapa et Dista) sont clairement distingués des autres génotypes et populations par une diminution considérable de la TRE, de PSA, Chl T et Chl a/Chl b de PSN sous stress hydrique.



Tableau V: Résultats de test Khi-deux pour la signification des fonctions discriminantes issues de l'analyse canonique discriminante pour l'ensemble des caractères étudiés chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L.

Test de la ou des fonctions	Lambda de Wilks	Khi-deux	ddl	p-Signification
De 1 à 4	0,000	897,038	86	0.000
De 2 à 4	0,000	542,462	48	0.000
De 3 à 4	0,006	322,074	30	0.000
4	0,114	137,012	14	0.000

Tableau VI: Caractéristique des fonctions discriminantes issues de l'analyse canonique discriminante pour l'ensemble des caractères étudiés chez les cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L.

Fonction	Valeur propre	% de la variance	% cumulé	Corrélation canonique
1	277,160	82,8	82,8	0,998
2	32,057	9,6	92,3	0,985
3	17,868	5,3	97,7	0,973
4	7,800	2,3	100,0	0,

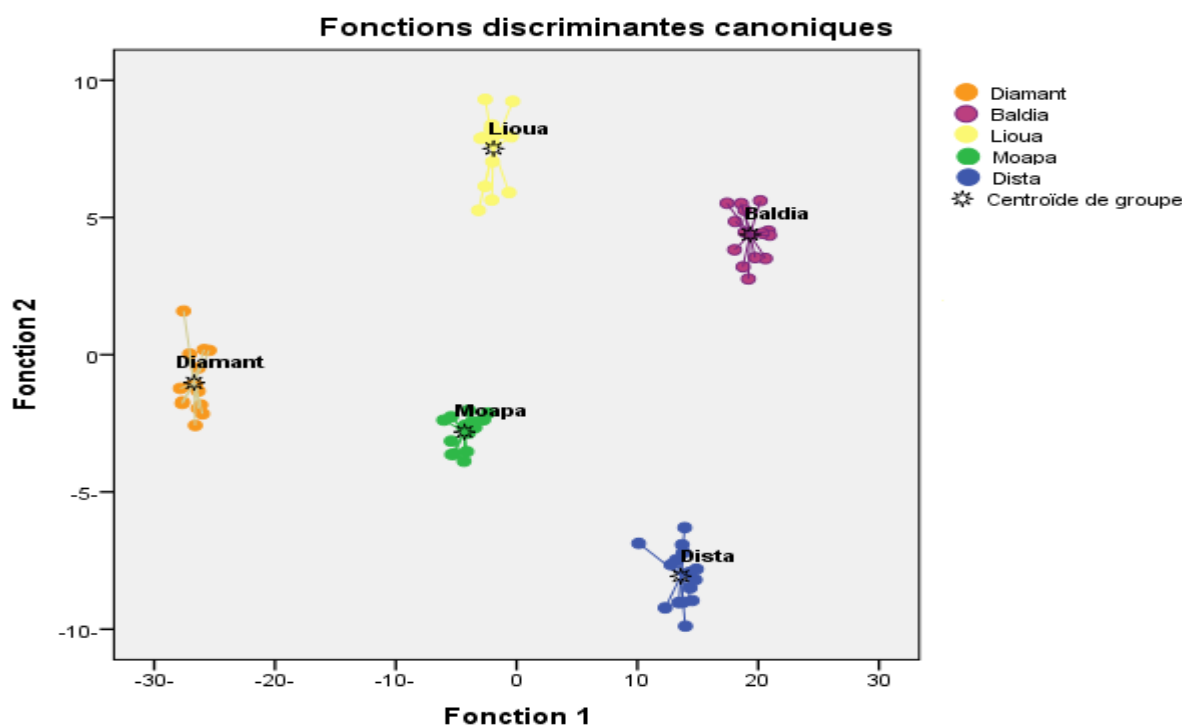


Figure 51: Espace discriminant bidimensionnel illustrant la répartition des variétés et des populations de *Medicago sativa* L. étudiées suivant le gradient de la variance de deux fonctions discriminantes issues de l'analyse canonique discriminante (ACD)



3.8. Regroupement des cinq variétés et populations de *Medicago sativa* L.

Les résultats de l'analyse des regroupements, des différents variétés et populations de *Medicago sativa* L. pour les paramètres étudiés sous différents traitements hydriques, ont montré qu'il ya trois groupes (Figure 52)

- Le premier groupe contient la variété et la population tolérantes à la sécheresse: Diamant et Baldia
- Le deuxième groupe contient la population et le génotype les plus sensibles au déficit hydrique : Moapa et Dista
- Le troisième groupe renferme la population Lioua qui est intermédiaire entre les deux groupes.

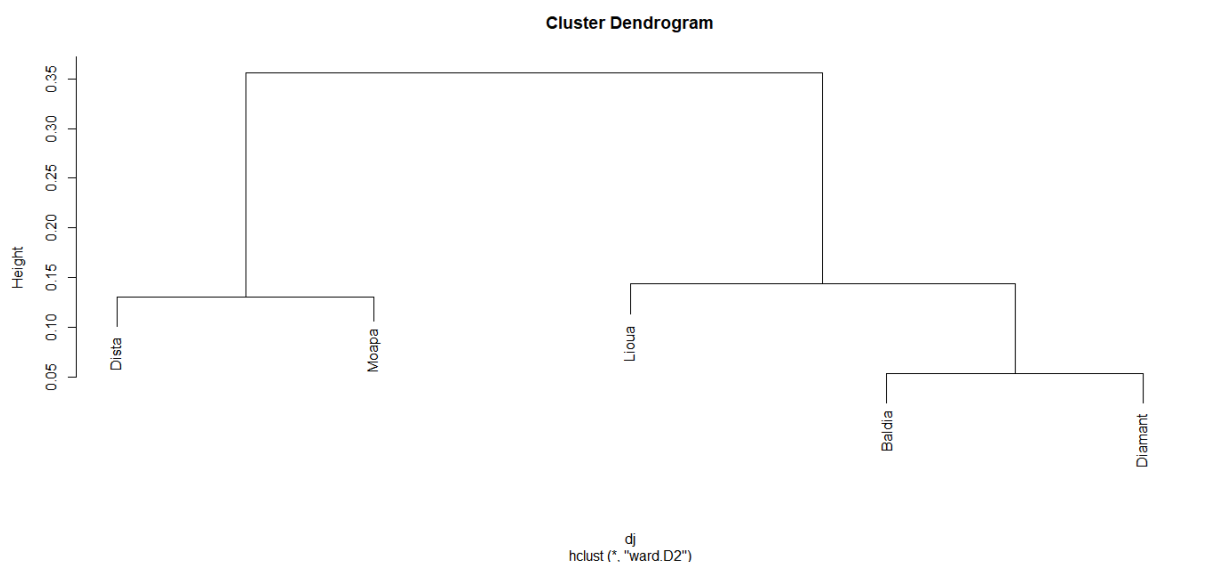


Figure 52: Dendrogramme représentant le regroupement des variétés et des populations de *Medicago sativa* L. sous les différents traitements hydriques.



4. Conclusion

Il ressort de l'étude comparative des cinq génotypes et populations de *Medicago sativa* L., qu'il y a des différences significatives en termes de leurs réponses morphologiques, physiologiques, biochimiques et symbiotiques en conditions de stress hydrique. D'après les résultats obtenus de cette expérience en pots, des différences intra-spécifiques ont été observées dans l'état hydrique de la feuille, les caractères morphologiques, la teneur en pigments photosynthétiques, l'osmorégulation et les caractères symbiotique entre les cinq génotypes et populations étudiés. D'après l'analyse de variance, nous avons ainsi noté un effet hautement significatif de l'intensité de la contrainte hydrique chez les plantes de la luzerne stressées. Des interactions génotype x traitement hydrique ont été montrées hautement significatives pour certains traits. Nous avons également établi des corrélations entre les traits qui interfèrent entre eux chez la plante. Les présents résultats suggèrent que l'effet génétique est très évident, parce que c'était les mêmes conditions environnementales, par conséquent, les variations observées dans les réponses morphologiques, physiologiques, biochimiques et symbiotiques pourraient être liées à des différences génétiques. Sur la base de nos résultats de recherche, il s'est révélé clairement que la capacité et l'aptitude de tolérance et d'adaptation à la sécheresse de ces cinq génotypes et populations contrastés sont différentes. Or, nous pouvons suggérer l'ordre suivant des cinq génotypes et populations, en termes de la capacité de tolérance au stress hydrique : Diamant>Baldia> Lioua> Maopa>Dista. Face au déficit hydrique, les cultivars tolérants Baldia et Diamant se sont montrés les plus efficaces par rapport aux autres génotypes et populations. La performance des génotypes étudiés en termes de fixation d'azote pourrait dépendre de la corrélation positive ainsi démontrée entre la croissance et la nodulation. L'utilisation des génotypes ou des populations, et des souches de rhizobia ayant une efficacité optimale de croissance et de rendement sous stress hydrique, contribuerait à l'amélioration des légumineuses nodulées.



CONCLUSION GENERALE

La sécheresse représente l'un des principaux facteurs de la réduction des rendements agricoles. L'un des défis de la recherche actuelle en écophysologie végétale est de produire des variétés de plantes à intérêt agronomique présentant une tolérance vis-à-vis du stress hydrique. L'élaboration de telles variétés implique une bonne compréhension des mécanismes biologiques intervenant dans la signalisation et la réponse à la contrainte hydrique.

Les travaux présentés dans cette étude s'inscrivent dans le cadre de l'amélioration de la production des légumineuses sous stress hydrique. La fixation biologique de l'azote atmosphérique par la symbiose *Rhizobia*- légumineuse représente un intérêt économique et agronomique considérable.

L'effet du stress hydrique sur la croissance, le développement des nodules et la fixation symbiotique de l'azote, a été étudié chez cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. et de *Medicago sativa* L. L'objectif étant de contribuer à la mise au point d'un test de sélection pour l'amélioration de la fève et de la luzerne sous contrainte hydrique.

Ce travail qui porte sur l'étude des mécanismes agro morphologiques, physiologiques, biochimiques et symbiotiques a permis d'identifier plusieurs réponses au stress hydrique chez la fève et la luzerne. Elles peuvent être de diverse nature et se déclencher séparément ou ensemble, pour contrecarrer les effets de cette contrainte. Cette diversité constitue un atout majeur pouvant être exploité pour déterminer les mécanismes les plus efficaces de la tolérance au stress hydrique.

Le stress hydrique exerce chez les deux cultures un effet dépressif sur les paramètres de croissance. Une corrélation élevée et négative obtenue entre les paramètres morphologiques retenus et le contrainte hydrique montre que le stress hydrique engendre une réduction de la croissance chez *Vicia faba* L. et *Medicago sativa* L. Le degré de sensibilité ou de tolérance dépend de la variété et de l'intensité du stress. Il en ressort que la croissance en hauteur chez les deux cultures est moins affecté par le stress hydrique que la surface foliaire. Les résultats de la production de la matière sèche aérienne et racinaire a permis de scinder les variétés et les populations étudiés chez la fève en deux groupes ; un groupe à croissance très affectée par le stress hydrique constitué de Tolga et Manouth et un autre groupe à croissance moins affecté, formé par Doucen et Luz de otono. Chez la luzerne, Diamant et Baldia sont moins affectés par le stress hydrique, par contre Dista et Moapa sont plus sensibles au stress hydrique. Cette supériorité de la production de matière sèche pourrait trouver son explication



dans le fait que les pigments chlorophylliens chez Doucen, Luz de otono, Diamant et Baldia ont été les moins affectés par le stress hydrique.

En ce qui concerne les osmorégulateurs (proline et les sucres solubles), les résultats obtenus, dans les conditions de cette expérimentation, semblent indiquer que les teneurs en osmoticum des feuilles des plantes de la fève et de la luzerne préalablement soumises au stress hydrique, ont été plus élevées que celles des plantes bien alimentées en eau. Ces teneurs ont été toutefois, d'autant plus importantes que le niveau du stress dans le milieu est élevé. La variété Luz de otono et la population Doucen chez la fève, Diamant et Baldia chez la luzerne, accumulent les plus fortes teneurs, ce qui semble confirmer la tolérance de ces variétés et populations au stress hydrique. De ce fait, l'accumulation de la proline serait impliquée dans les mécanismes de l'ajustement osmotique et servirait aussi comme osmoprotecteurs. Cet élément peut être considéré comme un marqueur biochimique du degré de tolérance et par conséquent pourrait être utilisé dans les programmes de sélection.

Dans nos conditions expérimentales, la contrainte hydrique semble stimuler la synthèse et l'accumulation de solutés compatibles ce qui a permis le maintien d'une turgescence cellulaire convenable chez les plantes de la fève et de la luzerne. Cette turgescence cellulaire est appréciée par des teneurs relatives en eau convenables aussi pour les plantes témoins que pour celles stressées. L'aptitude à résister au stress hydrique dépend du maintien d'un gradient de potentiel hydrique entre le milieu interne et externe de la plante qui favorise l'absorption de l'eau. Le maintien d'une teneur relative en eau modérée, sous stress hydrique, est une forme remarquable de résistance.

Les résultats concernant les teneurs en pigments photosynthétiques montrent qu'elles sont restées plus importantes chez les plantes témoins, comparativement aux teneurs enregistrées chez les plantes de *Vicia faba* L. et *Medicago sativa* L. sous stress hydrique. Ce stress cause le plus souvent une perte progressive de la chlorophylle conduisant à la réduction de l'absorption de la lumière par les feuilles, et donc une moindre accumulation de la matière sèche chez la plante. L'altération de la chlorophylle affecte le processus de la photosynthèse ce qui suggère que le degré de variation du contenu en chlorophylle peut être utilisé comme critère de sélection de la tolérance vis-à-vis du stress hydrique. La tolérance au stress imposé reflétée par le statut énergétique et plus particulièrement par le rapport Chl a / Chl b montre des valeurs élevées de ce dernier pour le génotype Luz de otono et la population Doucen chez la fève, Diamant et Baldia chez la luzerne.



Le stress hydrique induit une diminution de la nodulation et de la fixation symbiotique d'azote chez les deux cultures. L'analyse des résultats en termes d'EUSR montre une variation significative qui semble dépendante des génotypes et des populations. La pente des régressions entre la croissance et la nodulation chez la fève, a permis de classer les variétés selon l'efficacité d'utilisation de la symbiose rhizobienne comme suit : Manouth < Tolga < M'zeraa < Luz de otono < Doucen. En effet, la population Doucen s'est montrée la moins affectée par le stress hydrique, suivie du génotype Luz de otono. Ce qui semble confirmer, du point de vue tolérance, la supériorité de ces deux espèces par rapport aux autres. Les résultats en termes de l'efficacité de la fixation symbiotique de N₂ chez la luzerne ont permis de classer les variétés et les populations comme suit : Lioua < Dista < Moapa < Diamant < Baldia. En effet, la population Baldia s'est montrée la moins affectée par le stress hydrique, suivie du génotype Diamant.

La classification hiérarchique sous les différents traitements hydrique chez la fève fait ressortir trois groupes, l'un tolérant au stress hydrique comprenant la variété Luz de otono et la population Doucen, l'autre concernant la variété Manouth et la population Tolga sensibles au stress hydrique, le troisième groupe renferme la population M'zeraa qui est intermédiaire entre les deux groupes. Chez la luzerne, la population Baldia et la variété Diamant sont moins affectés par le stress hydrique que les autres populations et variétés.

En effet, les cultivars Luz de otono et Doucen chez la fève et Diamant et Baldia chez la luzerne présentent des teneurs relative en eau et en pigments chlorophylliens moins affectées par le stress hydrique, une meilleure production de la matière sèche aérienne et nodulaire et des teneurs en proline plus élevées, une meilleure efficacité d'utilisation de la symbiose rhizobienne. De ce fait ces caractères aisés à exploiter pourront servir des critères de sélection pour la tolérance au stress hydrique chez la fève et la luzerne.

Les données que nous venons d'exposer apportent quelques informations sur le comportement des variétés et des populations de *Vicia faba* L. et de *Medicago sativa* L, mais demeurent encore insuffisantes et nécessitent de pousser davantage les investigations en intégrant d'autres paramètres génétiques et hormonaux pour aboutir à une sélection des variétés performantes au plan de l'adaptation au stress hydrique.
















Notre présente étude a visé à comprendre et à caractériser les mécanismes de tolérance morpho-physiologiques, biochimiques et symbiotiques de la fève et de la luzerne au stress hydrique. Il s'agit de :



- Approfondir les recherches sur les marqueurs génétiques et la recherche des gènes candidats impliqués dans la tolérance de la symbiose à rhizobia chez la fève et la luzerne au stress hydrique comme candidats potentiels, pour la sélection assistée de génotypes tolérants à la sécheresse.
- Approfondir les études scientifiques sur les mécanismes de tolérance liés aux adaptations morphologiques, anatomiques et symbiotiques pour mieux comprendre le comportement adaptatif de la fève et de la luzerne dans sa totalité.
- Elargir ce genre des études sur les différentes populations et variétés qui constituent l'aire de répartition de la fève et la luzerne en Algérie, afin d'élargir la variabilité génotypique.
- Prévoir une étude sur le terrain afin de déterminer les effets des conditions de l'environnement naturel sur le comportement éco-physiologique de la fève et de la luzerne.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-  ABDELGUERFI A. et CHEBOUTI A., 2002. Les espèces fourragères et pastorales, leur utilisation au Maghred (Algérie, Maroc et Tunisie). FAO-RNE, p135.
-  ADDA A., SAHNOUNE M., KAID-HARCH M. et MERAH O., 2004. Impact of water deficit intensity on durum wheat seminal roots. C. R. Biologies 328 (2005) 918–927.
-  ADLOFF F., SOMOT S. et SEVAULT S., 2015. Mediterranean Sea response to climate change in an ensemble of twenty first century scenarios, Clim . Dyn., DOI 10.1007/s00382-015- 2507-3.
-  AFFIANHA T., ALEXANDER D. 1992. Difference among cowpea, Rhizobia intolerance to high temperature and dissication in soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, 43 : 435-439 pp.
-  AHEMAD M, KHAN MS. 2011. Functional aspects of plant growth promoting rhizobacteria: Recent advancements. *Insight Microbiol.* 1: 39-54.
-  ALBOUCHI A, SEBEÏ H, MEZNI MY, EL AOUNI MH., 2000. Influence de la durée d'une alimentation hydrique déficiente sur la production de biomasse, la surface transpirante et la densité stomatique d'*Acacia cyanophylla* Lindl. Edit. *Annales de l'INRGREF* , Vol. 4, pp 138-161.
-  ALBOUCHI A., BEJAOUI Z., HEDI EL AOUNI M. 2003. Influence d'un stress hydrique modere ou sévère sur la croissance de jeunes plants de *Casuarina glauca* Sieb. Edit. Science et changements planétaires, Sécheresse.14 (3) : 137-142.
-  AMIGUES, J.P., DEBAEKE, P., LTIER, B., LEMAIRE, G., SEGUIN, B., TARDIEU , F. ET THOMAS, A. 2006. Réduire la vulnérabilité de l'agriculture à risque accru de manque d'eau (Sécheresse et agriculture). Expertise scientifique collective, synthèse du rapport, INRA. France, 72 p.
-  AMOURI A.A. 2016. Caracterisation moleculaire et biochimique en condition de stress salin de *Medicago truncatula* gaertner. Thèse doctorat. Université Oran 1. Algérie. 195p.
-  AMRI – TILIOUINE W. 2008. Etude de la symbiose à Rhizobium chez l'Arachide (*Arachis hypogaea L.*) : Aspects microbiologiques, physiologiques, et agronomiques. Mémoire de Magister. I. N. A. - El Harrach – Alger. 102p.
-  ANDRE G. et HUBERT B., 1992 - Amélioration des espèces cultivées : objectifs et critères de sélection. Ed. INRA ; 771 p.
-  ANJUM F., YASEEN M., RASUL E., WAHID A., AND ANJUM S. 2003. Water stress in barley (*Hordeum vulgare L.*). I. Effect on morphological characters. *Pakistan J. Agric. Sci.*, 40: 43–44.
-  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 collègues n°100. pp 35-44.
-  ARANJUELO M. I., IRIGOYEN J. J., DIAZ M. S., 2001. Effect of increased temperature and drought associated to climate change on change on productivity of nodulated alfalfa. En. XIV Eucarpia Medicago SPP. Group Meeting. Quality in Lucerne and Medics for animal production. 2001. Zaragoza.
-  ARAUS J.L., FEBRERO A., VENDRELL P. 1991. Epidermal conductance in different parts of durum wheat grown under Mediterranean conditions : the role of epicuticular waxes and stomata. *Plant Cell Environ*, 14, 545-558.



- 📖 ARAUS, J.L., VILLEGAS, S., APARICIO, D.N., GARCIA, DEL MORAL, L.F., EL HANI, S., RHARRABTI, Y., FERRIO, J.P. ET ROYO, C. 2003. Environmental Factors Determining Carbon Isotope Discrimination and yield in *durum* wheat under Mediterranean Conditions. *Crop Sci.* N° 43, p.170 - 180.
- 📖 ARNON D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Poly-phenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol* 24: 1–15
- 📖 ARSENE, F., KAMINSKI, P.A., and ELMERICH, C. 1996. Modulation of NifA activity by PII in *Azospirillum brasilense*: evidence for a regulatory role of the NifA N-terminal domain. *J. Bacteriol.* 178, 4830– 4838.
- 📖 ASADI RAHMANI H, SALEH-RASTIM N, KHAVAZI K, ASGHAZADEH A, FEWER D, KIANI S, LINDSTRÖM K. 2009. Selection of thermotolerant bradyrhizobial strains for nodulation of soybean (*Glycine max* L.) in semiarid regions of Iran. *World J. Microbiol Biotechnol*, 25: 591-600.
- 📖 ASHRAF M. ET IRAM A. 2005. Drought stress induced changes in some organic substances in nodules and other plant parts of two potential legumes differing in salt tolerance. *Flora*, 200: 535- 546.
- 📖 ASHRAF M., FOOLAD M.R., 2007. Roles of glycine betaine in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* 59, 206-216.
- 📖 ASHRAF, M. 2004. Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants, *Flora* 199, 361-376.
- 📖 AURAG J., BRHADA F. 1994. Dynamique des populations de *Rhizobium* introduites dans le sol : influence du stress hydrique, de l'acidité et de la texture du sol. In Facteurs limitant la fixation symbiotique de l'azote dans le Bassin Méditerranéen. Les Colloques, n°77. Ed. INRA. Paris. pp. 149-158.
- 📖 AZANI, N., BABINEAU, M., BAILEY, C.D., BANKS, H., BARBOSA, A.R., PINTO, R.B., BOATWRIGHT, J.S., BORGES, L.M., BROWN, G.K., BRUNEAU, A., 2017. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny The Legume Phylogeny Working Group (LPWG). *Taxon* 66, 44–77.
- 📖 AZCON-BIETO J. 1983. Inhibition of photosynthesis by carbohydrates in wheat leaves. *Plant Physiol.*, 73: 681-686.
- 📖 AZZOUZ F. 2009. Les réponses morpho physiologiques et biochimiques chez l'haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) soumis à un stress hydrique. Mémoire de magister. Université d'Oran es senia. Algérie. 82p.
- B** BACELAR, E. A., SANTOS, D. L., MOUTINHO-PEREIRA, J. M., GONÇALVES, B.C., FERREIRA, H.F. & CORREIA, C.M. 2006. Immediate responses and adaptative strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: Changes on structure and chemical composition of foliage and oxidative damage. *Plant Sci.* 170: 596-605.
- 📖 BACHA F. 2002. Etude de l'effet du stress hydrique sur la nutrition azotée du pois chiche (*Cicer arietinum* L.). Thèse de Magister. INA. El Harrach. Alger. 68 P.
- 📖 BAÏ W., M., LI L. H., 2003. Effect of irrigation methods and quota on root water uptake and biomass of alfalfa in the Wulanbuhe sandy region of China. *Agr. Water Manage.*, 62:139148.
- 📖 BAJJI M., LUTTS S., KINET J.M., 2000. La résistance au stress hydrique chez le blé dur : comparaison des comportements au niveau cellulaire et au niveau de la plante entière. Edit. *Plant physiology*, pp 227- 231



- BAJJI M., LUTTS S., KIEN T. J.M. 2001. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf aging in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Sci.* 160: 669-681.
- BALA A, MURPHY P J, GILLER K. E. 2004. Classification of Tropical Tree Rhizobia Based on phenotypic characters forms Nested Clusters of phylogenetic Groups. *West African J Appl Ecol*, 6: 9-19.
- BALLARD V., 2009. Analyse des valeurs alimentaires de la luzerne déshydratée en fonction du temps de préfanage. *Coop de France Déshydratation*, 1-34.
- BARGAZ A. 2012. Caractérisation Agrophysiologique Et Biochimique De Symbioses Haricot (*Phaseolus vulgaris*)-Rhizobia Performantes Pour La Fixation Symbiotique De L'Azote Sous Déficit En Phosphore. Thèse doctorat. Univer. Marrakeche. Maroc. 163p.
- BARRS, H. 1968. "determination of water deficit in plant tissues" in "Water deficit and plant growth", Koslowski, T. (ed) Academy Press, New York, pp.235-238.
- BEAUDOIN N., DENYS D., MULLER J.C., MONBRUN M.D. et LEDAIN C., 1992. Influence d'une culture de luzerne sur le lessivage du nitrate dans les sols de Champagne-Crayeuse. *Fourrages*, 129, 45-57.
- BECANA M, GOGORCENA Y, APARICIO-TEJO PM, SÁNCHEZ-DÍAZ M. 1986. Nitrogen fixation and leghemoglobin content during vegetative growth of alfalfa. *J. Plant Physiol.* 123 : 117–125.
- BEKKI A. 1983. Contribution à l'étude de quelques espèces de Luzerne et leurs symbiotes dans un environnement salé. *DES biologie végétale*. Oran Université d'Oran, 48 p.
- BELAYGUE, C., WERY, J., COWAN, A.A. & TARDIEU, F. 1996. How do Leaf Expansion, Rate of Leaf Appearance and Stolon Branching Contribute to Plant Leaf Area Establishment under Water Deficit in White Clover (*Trifolium repens* L.). *Crop Science*, 36, 1240-1246.
- BELKHODJA M., 1996. Action de la salinité sur le comportement physiologique, métabolique, minéral et recherche de marqueurs moléculaires chez la fève (*Vicia faba* L.). Thèse Doctorat d'Etat es Sciences Naturelles. Université d'es-Senia. Oran. 255 p.
- BEN AHMED, C., BEN ROUINA, B.,SENSOY, B.,BOUKHRIS,M. & BEN ABDALLAH, F. 2009. Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxydative enzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes. *Environ. Exp. Bot.* 67: 345-352.
- BEN NACUR M., CHEIKH-M'HAMED H., MAALEM S., RAHMOUNE C., 2005. Les indicateurs précoces de la tolérance à la salinité 1er Colloque Euroméditerranéen de Biologie Végétale et environnement, Annaba 28-30 Novembre 2005.
- BENABDERRAHIM M.A., HADDAD M. ET FERCHICHI A., 2008. Essai d'adaptation de 16 cultivars de luzerne pérenne (*Medicago sativa* L) dans un système oasien du sud tunisien : Gabes (local) et 15 cultivars étrangers. *Option méditerranéennes*. Série A, 79. CIHEM, 419- 422.
- BENACHOUR K., LOUADI K. et TERZO M., 2007 - Rôle des abeilles sauvages et domestiques (*Hymenoptera apoidea*) dans la pollinisation de la fève (*Vicia faba* L.) en région de Constantine (Algérie). *J. Plant Physiol.* 152: 213-219.
- BENNABI F., 2005. Métabolisme glucidique et azote chez une halophyte (*Atriplex halimus* L.) stressée à la salinité. Mémoire de magistère en physiologie végétale, Université Es- Senia, Oran 120p.
- BENNACEUR M. 1994. Contribution à l'évaluation du degré aux contraintes hydriques (sécheresse et excès d'eau) Chez (*Hordeum vulgare* L.) et la fétuque (*Festuca arundinacea* Schreb).Thèse de doctorat d'état, 1-13.



- 📖 BERGEY S.1984. Manuel of systematic bacteriology. Vol. 1 (Ed) Noel, R., Krieg. Paris. 122 p.
- 📖 BERGMAN I, LOXLEY R., 1970. New spectrophotometric method for the determination of proline in tissue hydrolyzates. *Analytical chemistry* 42:702-706.
- 📖 BERRADA H., FIKRI-BENBRAHIM K. 2014. Taxonomy of the Rhizobia: Current Perspectives. *Br Microbiol Res J* 4(6): 616-639.
- 📖 BIANCO C. AND DEFEZ R. 2009. Medicago truncatula improves salts tolerance when nodulated by an indole-3-acetic acid-overproducing Sinorhizobium meliloti strain. *J.Exp.BOT.* 60/ 3097-3107.
- 📖 BIDAI Y., 2017. Caractérisation biochimique des marqueurs physiologiques et métaboliques de la résistance au stress salin chez l'halophile *Atriplex halimus* L. Thèse de doctorat. Université d'Oran. Algérie. 148p.
- 📖 BLAHA J., DRASLAROVA J. ET KROESNA K., 2000. The effect of vitamin and electrolyte supplement on broiler performance under stress. *Agricultural Tropical et subtropical*, vol. 33, p. 52-58.
- 📖 BOIS J.F., 1993. Effet de la contrainte hydrique sur la photosynthèse du Mil. ORSTOM (Colloques et Séminaires), pp:161-168.
- 📖 BORUCKI W, SUJKOWSKA M, 2008. The effects of sodium chloride salinity upon growth, nodulation, and root nodule structure of pea (*Pisum sativum* L.) plants. *Acta Phys. Plant.* 30:293-301.
- 📖 BOUATROUS Y.,2013. Water stress correlated with senescence in durum wheat (*Triticum durum* Desf). *Advances in Environmental Biology*, vol. 7(7), p.1306-1314.
- 📖 BOUCHABKE, O., TARDIEU, F. & SIMONNEAU, T. 2006. Leaf growth and turgor in growing cells of maize (*Zea mays* L.) respond to evaporative demand in well-watered but not in water saturated soil. *Plant, Cell and Environment* 29 : 1138-1148.
- 📖 BOUKRAA D., 2008. Interaction acide sulfosalicylique et salinité sur la réponse de la proline et des variations minérales chez des plantes juvéniles d'*Atriplex halimus* L. stressée à la salinité. Mémoire de magistère en physiologie végétale, Université Es- Senia, Oran 109p
- 📖 BOURGEOIS S. 2010. , La luzerne Reine des fourragères. *Rev Réussir Bovins Viande* N°167 P 15- 33.
- 📖 BOUSBA R., 2001. Effets d'une contrainte abiotique (stress hydrique) sur la plante et les composants de la graine de *Vicia faba* L. Thèse de magister : Les bases biologiques de la production végétale ,43-44.
- 📖 BOUTRAA T., SANDERS F. E. 2001. Effects of interactions of moisture regime and nutrient addition on nodulation and carbon partitioning in two cultivars of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) *Journal of Agronomy and Crop Science.* 186 (4): 229-237.
- 📖 BOUZID S., 2010. Étude de l'effet de la salinité et de la présence du molybdène sur le comportement écophysologique de deux variétés de plantes de l'espèce *Phaseolus vulgaris* L. Mémoire de l'obtention du diplôme de magistère en Biologie Végétale. Université Mentouri, Constantine, Algérie:178.
- 📖 BRADFORD M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal.Biochem.* 72 : 248-254.
- C** CABUSLAY, G.S., ITO, O. & ALEJAL, A.A. 2002. Physiological evaluation of responses of rice (*Oryza sativa* L.) to water deficit, *Plant Sci.* 63: 815-827.
- 📖 CACCIARI I., DIMATTIA E., QUATRINI P. 2003. Réponses adaptatives des isolats de *Rhizobium* aux stress. In, Grouzis M ; le Floc'h. Un arbre au désert, *Acacia raddiana*. *IRD.* Paris.183-200 pp.



- 📖 CATTIVELLI, M., CROSATTI, C., GROSU, M., PORTESI, A., RIZZA, F., ET STANCA, A.M. 1995. Relationship among the modification of gene expression induced by ABA, drought and gold stress in barley *in*: Reproductive Biology and plant breeding. XIIIth EUCARPIA Congress 6 - 11 juillet 1992, ANGERS? France.
- 📖 CELLIER et PIERRE, 2015. Impacts environnementaux de l'introduction de légumineuses dans les systèmes de production". 515-p.
- 📖 CESAR AI, ESTHER MG, DANIEL M, RUBEN L, ESTIBALIZ L, ERENA GQ, 2011. Physiological response of legume nodules to drought. *Plant stress*. 5:24-31.
- 📖 CHAHBAR S. 2011. Etude des paramètres morphologiques et physiologiques résistance à la sécheresse chez la fève *Vicia faba* L. Mémoire de magister. Université d'Oran es senia. Algérie. 82p.
- 📖 CHAIB G., BENLARIBI M., 2015. Accumulation d'osmoticums chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous stress hydrique. *European Scientific Journal*, vol.11(24),p.378-395.
- 📖 CHAKHCHAR A. 2015. Mécanismes physiologiques et biochimiques de la tolérance de l'arganier au stress hydrique. Thèse doct. Université de Marrakech. Maroc. 224p.
- 📖 CHAKRABORTY U., DUTTA S. 2002. Response of tea plants to water stress. *Biologia Plantarum* 45. 557 - 562.
- 📖 CHATELIER D., 2010. La luzerne alliée naturelle de la biodiversité. *COOP de France Déshydratation, Réseau Biodiversité pour les Abeilles, Fotolia*.
- 📖 CHAVES M.M., FLEXAS J., PINHEIRO C., 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*, vol. 103(4), p. 551-560.
- 📖 CIAT, 1992. Constraints to and opportunities for improving bean production. A planning document 1993–98. An achievement document 1987-92, CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical), Cali, Colombia.
- 📖 CLAUSSEN, W. 2005. Proline as a measure of stress in tomato plants. *Plant Sci.*, 168, 241–248.
- 📖 CLAVEL D, SARR B, MARONE E, ORTIZ R. 2004. Potential agronomic and physiological traits of Spanish groundnut varieties (*Arachis hypogaea* L.) as selection criteria under end-of-cycle drought conditions. *Agronomie*. 24: 1-8.
- 📖 CONDON A.G., RICHARDS R.A., REBETZKE G.J., FARQUHAR G.D. 2002. Improving intrinsic water-use efficiency and crop yield. *Crop Sci.*, 42 : 122–131.
- 📖 CORREIA, M.J., COELHO, D.&DAVID, M.M. 2001. Response to seasonal drought in three cultivars of *Ceratonia siliqua*; leaf growth and water relation, *Tree Physiol*. 21: 645–653.
- 📖 COSGROVE, D.J. 2005 . Growth of the cell wall. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 6: 850-861. DaSilva, C.M., Gonzalez-Elizondo, M.S. & Vanzela, L.L.(2005). Reduction of chromosome number in *Eleocharis subarticulata* (*Cyperaceae*) by multiple translocations. *Botanical Journal of the Linnean Society* 149: 457-464.
- D** DAVID, J.C. ET GRONGNET, J.F., 2001. Les protéines de stress. *INRA Prod. Anim.*, 14(1): 29-40.
- 📖 DAZZO F.B. 2008. Applications of quantitative microscopy in studies of plant surface microbiology. In *Plant Surface Microbiology*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 503-550.
- 📖 DE RAISSAC M. 1992. Mécanismes d'adaptation à la sécheresse et maintien de la productivité des plantes cultivées. *Agronomie tropicale* 46, 29-37.



- DEBAEKE P., CABELGUENNE M., CASALS M.L., PUECH J. 1996. Élaboration du rendement du blé d'hiver en conditions de déficit hydrique. II. Mise au point et test d'un modèle de simulation de la culture de blé d'hiver en conditions d'alimentation hydrique et azotée variées. *Epicphase-blé. Agronomie*.16: 25 - 46 p.
- DENHARTIGH C., 2014. Réseau Action Climat- France Adaptation de l'Agriculture Aux changements climatiques recueil d'expériences territoriales. p3- 6.
- DESCHAMPS M. ET WERY J. 1987. Effet de l'eau et de l'azote sur la croissance et la nutrition azotée du pois et du pois-chiche. *Nutrition azotée des légumineuses*, Versailles, 19-21 Novembre 1985, Ed. INRA, Paris, 1987 (les Colloques de l'INRA, n° 37).
- DESINGH R, KANAGARAJ G. 2007. Influence of salinity stress on photosynthesis and antioxidative systems in two cotton varieties. *Gen. Appl. Plant Physiol* 33:221-234.
- DEWHURST R. et COULMIER D., 2004. Effets des extraits à base de luzerne sur les acides gras du lait de vaches laitières Holstein. *Renc. Rech. Ruminants*, 2004, 11.
- DIAZ DEL CASTILLO L., HUNT S., LAYZELL D.B. 1994. The role of oxygen in the regulation of nitrogenase activity in drought-stressed soybean nodules. *Plant Physiology*. 106: 949-955.
- DITA MA, RISPAIL N, PRATS E, RUBIALES D, SINGH KB, 2006. Biotechnology approaches to overcome biotic and abiotic stress constraints in legumes. *Euphytica* 147:1-24.
- DOGANLAR, Z.B., DEMIR, K., BASAK, H. AND GUL, I. 2010. Effects of salt stress on pigment and total soluble protein contents of three different tomato cultivars. *African Journal of Agricultural Research* Vol. 5(15), pp. 2056-2065.
- DOMERGUE O. 2017. Diversité fonctionnelle de rhizobia associés à la féverole en agro-écosystème Sud de France. Thèse doctorat. Université de recherche. Paris. France.231p.
- DOMMERGUES Y., MANGENOT B. 1970. *Ecologie microbienne du sol* : (Ed). Masson et Cie Paris, 796 p.
- DREVON J.J., DERANSART C., ROY G., SERRAG R., VADEZ V. 1994. Les réponses des échanges nodulaires à l'oxygène permettant de mieux comprendre diverses limitations de la fixation symbiotique de l'azote. In: *Recent Developments in Biological Nitrogen Fixation Research in Africa*. (M. Sadiki and A. Hillali Eds). IAV. Hassen II. Rabat, Morocco.
- 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.
- DUC, G., MIGNOLET, C., CARROUEE, B. et HUYGHE, C. 2010. Importance économique passée et présente des légumineuses : Rôle historique dans les assolements et facteurs d'évolution. *Innovations Agronomiques*. 11, 1-24
- DUPUY Y. ET NOUGIER P. 2005. *Les microorganismes. Du gène à la biosphère*. Edition Ellipses. France, 212p.
- DURAND J.L., SHEEHY J.E., MINCHIN F.R., 1987. Nitrogenase activity photosynthesis and nodule water potential in soybean plants experiencing water deprivation. *Journal of Experimental Botany* 38, 311-321.
- E** EL HAKIMI A., MONNEVEUX P., GALIBA G. 1995. Soluble sugars, proline, and relative water content as traits for improving drought tolerance in *Triticum durum*. *J. Gen. Breed.* 49, 234-244.
- EL MIDAOUI M, BENBELLA M, HOUSSA A, IBRIZ M, TALOUIZTE A., 2007. Contribution à l'étude de quelques mécanismes d'adaptation à la salinité chez le tournesol cultivé (*Helianthus annuus* L.). *Revue HTE* 136:29-34.



- EL-FIKI A A. 2005. Genetic Diversity in Rhizobia Determined by Random Amplified Polymorphic DNA Analysis. *J Agri Social Scien* 9 : 121-129.
- ELHASSANI T.A. et PERSSONS E., 1994. Agronomie moderne. Bases physiologiques et agronomiques de la production végétale. Edt. AUPELF-UREF. 544P.
- EL-JAAFRI S. et PAUL R., 1995. Accumulation foliaire de proline et résistance à la sécheresse chez le blé (*triticum aestivum* L.). *Physiol. Biochemi. Biophys.* 101- B8.
- ELKAN G. H. 1992. Taxonomy of rhizobia. *Canadian Journal of Microbiology*, 38: 446-450 pp.
- ERASLAN, F., ELKARIM, A. K. H. A., GUNES, A., INAL, A. 2012. Effect of nutrient induced salinity on growth, membrane permeability, nitrate reductase activity, proline content and macronutrient concentrations of tomato grown in greenhouse. In *Proceedings of World Academy of Science, Engineering and Technology* (No. 71, p. 1915). World Academy of Science, Engineering and Technology (WASET).
- ESSELING J.J, LHUISSIER F.G.P, EMONS A.M.C. 2003. Nod Factor-Induced Root Hair Curling: Continuous Polar Growth towards the Point of Nod Factor Application. *Plant Physiology* 132: 1982-1988.
- ESTRADA, B., AROCA, R., MAATHUIS, F. J., BAREA, J. M., AND RUIZ-LOZANO, J. 2013. Arbuscular mycorrhizal fungi native from a Mediterranean saline area enhance maize tolerance to salinity through improved ion homeostasis. *Plant, cell & environment*, 36(10), 1771-1782.
- F** FAGHIRE M, MANDRI B, OUFDOU K, BARGAZ A, GHOULAM C, RAMIREZ-BAHENA MH, VELAZQUEZ E, PEIX A, 2012. Identification at species and symbiovar levels of strains nodulating *Phaseolus vulgaris* in saline soils of the Marrakech (Morocco) and analysis of *otsA* gene putatively involved in osmotolérance. *Systematic and Applied Microbiology Journal*, 35:156-164.
- FAGHIRE M. 2012. Rôle des microorganismes symbiotiques (cas de rhizobia) dans l'amélioration de la production agricole de *Phaseolus vulgaris* sous stress salin. Thèse doctorat. Université de Marrakech. Maroc. 110p.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2009. FAOSTAT. <http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=291&lang=fr>
- FAROOQ M., BASRA S.M.A. WAHID A., CHEEMA Z.A, CHEEMA M.A., AND KHALIQ A., 2008. Physiological role of exogenously applied glycinebetaine in improving drought tolerance of fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.). *J. Agron. Crop Sci.*, 194: 325–333
- FAROOQ M., WAHID A., KOBAYASHI N., FUJITA D., BASRA S.M.A. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agron. Sustain. Dev.*, 29: 185–212.
- FELLOWS R.J., PATTERSON R.P., RAPER J.R., HARRIS D., 1987. Nodule activity and allocation of photosynthate of soybean during recovery from water stress. *Plant Physiology* 84, 456-460.
- FERREYRA, R., SELLES ,G., RUIZ, R.S. and SELLES I.M., 2004. Effect of water stress induced at different growth stages on grapevine cv. Chardonnay on production and wine quality. *Acta Hort.* 664:233- 236.
- FLEURY D., JEFFERIES S., KUCHEL H., LANGRIDGE P. 2010. Genetic and genomic tools to improve drought tolerance in wheat. *Journal of Experimental Botany*, 6: 3211–3222.



- 📖 FLEXAS, J., DIAZ-ESPEJO, A., GALMES, J., KALDENHOFF, R., MEDRANO, H. & RIBAS-CARBO, M. 2007. Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO₂ concentration around leaves. *Plant Cell Environ* 30: 1284-1298.
- 📖 FORET R. 2004. Dico de Bio, édition de Doeck: 229, 230, 306, 350.
- 📖 FOYER CH, VANACKER H, GOMEZ LD, HARBINSON J., 2002. Regulation of photosynthesis and antioxidant metabolism in maize leaves at optimal and chilling temperatures: review. *Plant Physiology and Biochemistry* 40:659-668.
- 📖 FRAME J. 2005. Forage legumes for temperate grasslands. Enfield (NH), USA: Science Publishers, Inc.
- 📖 FRANCHE C., LINDSTRÖM K. and ELMERICH C. 2009. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. *Plant Soil*, 321: 35–59.
- 📖 FREYER B., F. DMYTRO K., ROMAN D., FEDOSEYENKO D., IRINA K., AND ANATOLIY K., 2005. Biological nitrogen fixation of different legume species under water stress – Greenhouse experiment. Poltava Agrarian Academy, Poltava, 36003. 23 pp.
- 📖 FUKAI S, PANTUWAN G, JONGDEE B, COOPER M., 1999. Screening for drought resistance in rainfed lowland rice. *Field Crops Res* ; 64 : 61-74.
- 📖 FUSSEL L.K., BOKIRG F.R., ET BIELEV P., 1991. Crop physiology and breeding for drought tolerance research and development. *Field crop Res.* 27, pp: 183-199.
- 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.
- G** GARDES-ALBERT, M., BONNEFONT-ROUSSELOT, D., ABEDINZADEH, Z. ET JORE, D., 2003. Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*. 91-96.
- 📖 GARG N., SINGLA R. 2004. Growth, photosynthesis, nodule nitrogen and carbon fixation in the chickpea cultivars under salt stress. *Braz. J. Plant Physiol.* 16:137-146.
- 📖 GARNIER, E., SHIPLEY, B., ROUMET C. & LAURENT, G. 2001. A standardized protocol for the determination of specific leaf area and leaf dry matter content. *Funct. Ecol.* 15: 688-695.
- 📖 GHARABI D. 2018. Effet du stress salin sur le comportement physiologique et morpho-biochimique de jeunes plants de variétés d'olivier cultivé (*Olea-europea*) locales et introduites non greffés et greffés sur oléastre. UNIVERSITE DE SIDI BEL ABBES. Algérie. 166p.
- 📖 GHOSH, P. K., RAMESH, P., BANDYOPADHYAY, K. K., TRIPATHI, A. K., HATI, K. M., MISRA, A. K. 2004. Comparative effectiveness of cattle manure, poultry manure, phosphocompost and fertilizer-NPK on three cropping systems in vertisols of semi-arid tropics. II. Dry matter yield, nodulation, chlorophyll content and enzyme activity. *Bioresour. Technol.* 95 : 85-93.
- 📖 GIBSON K.E, KOBAYASHI H, WALKER G.C. 2008. Molecular determinants of a symbiotic chronic infection. *Annu Rev Genet* 42:413-441.
- 📖 GLICK, B.R. 2012. Plant Growth-Promoting Bacteria Mechanisms and Applications. *Scientifica Article ID 963401*, 15 p.
- 📖 GONZALEZ E.M., GORDON A.J., JAMES C.L., ARRESE-IGOR C. 1998. The role of sucrose synthase in the response of soybean nodules to drought. *J. Exp. Bot.* 291, 1515-1523.
- 📖 GRAHAM P.H., 1992. Stress tolerance in *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* and nodulation under adverse soil conditions. *Canadian Journal of Microbiology* 38, 475-484.
- 📖 GRANIER, C., INZÉ, D. & TARDIEU, F. 2000. Spatial distribution cell division rate can be deduced from that of P34cdc2 kinase activity in maize leaves grown in contrasting conditions of temperature and water status. *Plant Physiology* 124: 1393-1402.



- 📖 GRAY A. 1997. Pancreatic and extrapancreatic effects of the traditional anti-diabetic plant, *Medicago sativa* (lucerne). *Br J Nutr.* 78 (2) : 325-34.
- 📖 GRENNAN AK 2006. High Impact Abiotic Stress in Rice. An “Omic” Approach; *Plant Physiol.* 140: 1139–1141.
- 📖 GRIMES D.W., WILEY P.L., SHEESLEY W.R. 1992. Alfalfa yield and plant water relations with variable irrigation. *Crop Sci*, 32: 1381-1387
- 📖 GUERIN V., TRINCHANT J.C., RIGAUD J., 1990. Nitrogen fixation (C₂H₂ reduction) by broad bean (*Vicia faba* L.) nodules and bacteroids under water-restricted conditions. *Plant Physiology* 92, 595-601.
- 📖 GUETTOUCHE, R. 1990. Contribution à l'identification des caractères morphophysiologiques d'adaptation à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum* Desf). Thèse diplôme d'agronomie approfondie. ENSA-Montpellier. France. 210p.
- 📖 GUILLOTON, M., ET QUINTARD, B., 2003. Biochimie. Licence 1ère et 2ème année. Prépas. PCEM. Pharmacie. Dunod, Paris. 192 pages.
- 📖 GUPTA A.K., KAUR N., 2005. Sugar signalling and gene expression in relation to carbohydrate metabolism under abiotic stresses in plants. *Review Journal of Biosciences*, vol.30(5),p.761-776.
- 📖 GUPTA, A.S. and BERKOWITZ G.A., 1987- Osmotic Adjustment, Symplast Volume, and Nonstomatally Mediated Water Stress Inhibition of Photosynthesis in Wheat. *Plant Physiol.* 85(4):1040–1047.
- H** HAIR J.F., ANDERSON J.R., TATHAM R.E., BLACK W.C. 1998. Multivariate Data Analysis, (5th Edition). Upper Saddle River, New Jersey(NJ): Prentice Hall. cell cycle, partners in crime?" *Plant Physiology and Biochemistry* 40(6-8): 537-548.
- 📖 Halder, K., Burrage, S. 2003. Drought stress effects on water relations of rice grown in nutrient film technique. *Pak. J. Biol. Sci.* 6(5) : 441- 444.
- 📖 HAMIDOU F., DICKO M.H., ZOMBRE G., TRAORE A.S., GUINKO S. 2005. Réponse adaptative de deux variétés de niébé à un stress hydrique. *Cahiers Agricultures.* 14(6) : 561-567.
- 📖 HAMILTON, W. AND HECKATHORN, S., 2001. Mitochondrial Adaptations to Na Cl. Complex I is protected by antioxidants and small heat shock proteins whereas complex II is protected by proline and betaine. *Plant Physiology* Vol. 126m. 1266-1274.
- 📖 HANCOCK, J.F. (2012). *Plant Evolution and the Origin of Crop Species* (CABI).
- 📖 HARE P, CRESS W, VAN STADEN J., 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant, cell & environment* 21:535-553.
- 📖 HASSANI A., DELLAL A., BELKHODJA M., KAID- HARCHE M. 2008. Effet de la salinité sur l'eau et certains osmolytes chez l'orge (*Hordeum vulgare*). *European Journal of Scientific Research*, vol.23, 1, pp: 61-69.
- 📖 HEGEDÜS, A. ERDEI, S. AND HORVATH, G., 2001. Comparative studies of H₂O₂ detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress. *Plant science*, 160 (6): 1085-1093.
- 📖 HENAULT C. and REVELLIN C., 2011. Inoculants of leguminous crops for mitigating soil emissions of the greenhouse gas nitrous oxide. *Plant and Soil.* 346(1):289-296.
- 📖 HEUER, B., NADLER, A., 1998. Physiological response of potato plants to soil salinity and water deficit. *Plant Science*, Vol. 137, No. 1. 43-51.
- 📖 HIRECHE Y., 2006. Réponse de la luzerne (*Medicago sativa* L.) au stress hydrique et à la profondeur de semis. *Mémoire de Magistère en Sciences Agronomiques. Univ. El Hadj Lakhdar-Batna, Algérie.*



HO S.L., CHAO Y.C., TONG W.F., YU S.M., 2001. Sugar Coordinately and Differentially Regulates Growth- and Stress-Related Gene Expression via a Complex Signal Transduction Network and Multiple Control Mechanisms. *Plant Physiology*, vol.125(2) ,p. 877-890.

HUBBELL D. H. AND GERALD K. 2003. Biological nitrogen fixation. Fact sheet of the soil and water science department of food and agricultural science. University of Florida. 4pp.

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*,65,1 51-164.

HUYGHE C. 2003. Les fourrages et la production de protéines. *Fourrages*. 174: 145-162.

HWANG J. 2001. Soy and alfalfa phytoestrogen extracts become potent low-density lipoprotein antioxidants in the presence of acerola cherry extract. *J. Agric. Food Chem.* 49 (1): 308-14.

I INRA. 2000. La résistance des plantes à la sécheresse. *Centre de Montpellier*.

ISSAAD G. 2013. Statut nutritionnel et plasticité de réponses aux stress chez un modèle végétal : *triticum durum* desf. Thèse doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba. 172p.

J JALEEL C. A., GOPI R., SANKAR B., GOMATHINAYAGAM M., AND PANNEERSELVAM R., 2008. Differential responses in water use efficiency in two varieties of *Catharanthus roseus* under drought stress. *C. R. Biologies*, 331:42-47.

JALLET C. A., SANKAR B., SRIDHARAN R., PANNEERSELVAM.2008. Soil salinity alters growth, chlorophyll content and secondary metabolite accumulation in *catharanthus roseus*. *Turk J Biol*, 32: 79-83.

JANSA J, A BATIONO, E FROSSARD, IM RAO, 2011. Options for Improving Plant Nutrition to Increase Common Bean Productivity in Africa. *Fighting poverty in sub-saharan africa: the multiple roles of legumes in integrated soil fertility management* 2011:201-240.

JONES M.M.; TURNER N.C. 1980. Osmotic adjustment in expanding and fully expanded leaves of sunflower in response to water deficit. *Aus Journal Plant Physiol.* 7: 181-192.

JONES H.G., 1992. *Plant and Microclimates: A quantitative approach to environmental. Plant physiology*, Cambridge University Press, 452 p.

JORDAN D.C. 1984. International committee on systematic bacteriology. Subcommittee on the taxonomy of *Agrobacterium* and *Rhizobium*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 34: 248 p.

JULIER B., HUYGHE C. 2010. Quelles légumineuses fourragères (espèces et variétés) et quelles conduites pour améliorer l'autonomie protéique des élevages herbivores ?, *Innovations Agronomiques*, Vol. 11 : 79-99.

K KHALFAOUI JL., 1985. Conduite de l'amélioration génétique de l'adaptation à la sécheresse en fonction des mécanismes physiologiques. *Oléagineux*; 40 : 329- 34.

KHALFAOUI J.L.B., 1990. Genetic adaptation to drought of cultivated species and consequences on plant breeding. *Bull Soc Bot Fr*; 137 : 125-37.

KHAN MS, ZAIDI M, AHMED M, OVEN M, WANI P.A., 2010. Plant growth promotion by phosphate solubilizing-fungi current perspective. *Arch. Agron. Soil Sci* 56: 73-98.



- 📖 KHOLOVA, J., HASHA, C.T., MARIE KOCOVA, M. & VADEZ, V. 2011. Does a terminal drought tolerance QTL contribute to differences in ROS scavenging enzymes and photosynthetic pigments in pearl millet exposed to drought?. *Environ. Exp. Bot.* 71: 99-106.
- 📖 KIANI S.P., MAURY P., SARRAFI A., AND GRIEU P., 2008 . QTL analysis of chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under well-watered and water-stressed conditions. *Plant Sci.*, 175: 565–573
- 📖 KIM T., BÖHMER M., HU H., NISHIMURA N., SCHROEDER J.I., 2010. Guard Cell Signal Transduction Network: Advances in Understanding Abscisic Acid, CO₂, and Ca²⁺ Signaling. *Annual review of plant biology*, vol. 61, p.561-591.
- 📖 KISHOR K, POLAVARAPU B, SREENIVASULU N., 2014. Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue? *Plant, cell & environment* 37:300-311.
- 📖 KORICHI M.F. 1994. Contribution à l'étude de la capacité à l'ajustement osmotique de trois cultivars de blé dur en réponse à différentes intensités de déficit hydrique. INRA; Pp1-17.
- 📖 KULKARNI S., SURANGE S., NAUTIYAL C. S. 2000. Crossing the limits of Rhizobium existence in extreme conditions. *Curr. Microbiol.* 41: 402-409 pp.
- 📖 KUMAR, P.K. AND SINGH, R.A., 1991. Germination and metabolism in susceptible and tolerant mung bean genotypes under moisture stress. *Indian J. Plant Physiol.*, 34: 267 pages.
- 📖 KUSAKA M., OHTA M., AND FUJIMURA T., 2005. Contribution of inorganic components to osmotic adjustment and leaf folding for drought tolerance in pearl millet. *Physiol. Plant.*, 125: 474–489.
- 📖 KUSAKA, M., LALUSIN, A. G. & FUJIMURA, T. 2005. The maintenance of growth and turgor in pearl millet (*Pennisetum glaucum* [L.] Leeke) cultivars with different root structures and osmoregulation under drought stress. *Plant Science* 168:1-14.
- 📖 KUSVURAN, S. 2012. Influence of drought stress on growth, ion accumulation and antioxidative enzymes in okra genotypes. *International Journal of Agriculture and Biology.* 14: 401-406.
- L** LABDELLI A. 2011. Etude des effets des variations morpho-structurales du système racinaire pour la tolérance à la sécheresse du blé dur (*triticum durum* desf.). Mémoire Magister. Université d'Oran Es-Senia. Algérie. 120p.
- 📖 LADRERA R., MARINO D., LARRAINZAR E., GONZÁLEZ E.M., ARRESE-IGOR C. 2007. Reduced Carbon Availability to Bacteroids and Elevated Ureides in Nodules, But Not in Shoots, Are Involved in the Nitrogen Fixation Response to Early Drought in Soybean. *Plant Physiol.* 145(2): 539–546.
- 📖 LAHRIZI Y. 2015. Evaluation Agro-physiologique et biochimique de 154 familles demi-frères de luzerne pour la tolérance au stress hydrique estival sous conditions de champ de la région du Haouz. Mémoire Master. Université de FES. Maroc. 70p.
- 📖 LAWLOR D.W. 2009. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. *Ann. Bot.* 2009 Feb; 103(4): 561–579.
- 📖 LAZALI M. 2009. Etude de la symbiose à rhizobium chez l'arachide (*Arachis hypogaea* L.) cultivée sous contrainte hydrique: aspects morpho-physiologiques et agronomiques. Mémoire Magister. INA, El-Harrach, Alger. 136p.
- 📖 LEBON, E., PELLEGRINO, A., LOUARN, G. AND LECOEUR, J., 2006. Branch development controls leaf area dynamics in grapevine (*Vitisvinifera*) growing in drying soil. *Annals of Botany* 98:175-185.



- LECOEUR, J., WERY, J., TURC, O. & TARDIEU, F. 1995 . Expansion of pea leaves subjected to short water deficit: cell number and cell size are sensitive to stress at different periods of leaf development. *Journal of Experimental Botany* 46: 1093-1101.
- LEE G., CARROW R.N., DUNCAN R.R., 2004. Photosynthetic responses to salinity stress of halophytic *Sesuvium portulacastrum* ecotypes. *Plant Science*, vol. 166, p. 1417-1425.
- LEPENGUE A.N., MOUARAGADJA I., M'BATCHI B., 2010. Effet du chlorure de sodium (NaCl) sur la germination et la croissance du maïs (*Zea mays* L., Poaceae) au Gabon. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*.vol.4 (5), p.1602-1609,
- LI, L. LI, S-M. SUN, J-H. ZHOU, L-L. BAO, X-G. ZHANG, H-G. and ZHANG, F-S. 2007. Diversity enhances agricultural productivity via rhizosphere phosphorus facilitation on phosphorusdeficient soils. *Proceeding of the National Academy of Sciences Of the United States of America*. 27, 11192-11196.
- LICHTENTHALER HK, WELBURN AR. 1983. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc. T*. 11: 591-592.
- LINDSTROIM K, TERREFEWORK Z, SUOMINEN L, LORTET G. 2002. Signaling and development of Rhizobium –legume symbiosis. *Biology and environnement: Royal Irish Academy* vol. 102B, NO.1, 61-64.
- LIZANA C., WENTWORTH M., MARTINEZ J.P., VILLEGAS D., MENESES R., MURCHIE E.H., PASTENES C., LERCARI B., VERNIERI P., HORTON P., PINTO M. 2006. Differential adaptation of two varieties of common bean to abiotic stress. I. Effects of drought on yield and photosynthesis. *J. Exp. Bot.*, 57: 685–697.
- LLUCH C., TEJERA N, HERRERA-CERVERA J.A., LOPEZ M. BARRANCO-GRESA J.R.PALMA F.J., GOZOLAEZ M., LIRIBARNE C., MORENO E., OCANA A. 2007. Saline stress tolerance in legumes. *Lotus newsletter*, vol 37, 2 : 67-77.
- LODWIG E.M, POOLE P.S. 2003. Metabolism of Rhizobium bacteroids. *Critical reviews in plant sciences*, 22(1): 37–38.
- LÓPEZ M, HERRERA-CERVERA JA, IRIBARNE C, TEJERA N A, LLUCH C. 2008. Growth and nitrogen fixation in *Lotus Japonicus* and *Medicago truncatula* under salt stress: nodule carbon metabolism. *J. Plant Physiol.* 165: 641-650.
- LORETI E., DE BELLIS L., ALPI A., PERATA P. 2001. Why and how do plant cells sense sugars? *Annals Bot* 88: 803-812.
- LUDLOW M.M., FISCHER M.J., WILSON J.R., 1983. Stomatal adjustment to water deficits in three tropical grasses and tropical legumes grown in controlled conditions and in the field. *Aust Jour. Plant Physiof* 12: 131-139.
- LUDLOW M.M., MUCHOW R., 1990. A critical evaluation of traits for improving crop yields in water limited environments. *Adv Agron*; 43 : 107-53.
- M** MAAMOURI A. 2014. Variabilité génétique de la luzerne cultivée en association avec une graminée fourragère. Thèse doctorat en agronomie. Université de POITIERS. 222p.
- MADHUSUDHAN KV, GIRIDARAKUMAR S, RANGANAYKULU GS, REDDY PC, SUDHAKAR C. 2002. Effect of water stress on some physiological responses in two groundnut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars with contrasting drought tolerance. *J Plant Biology*. 29 : 199-202.
- MADIGAN M. et MARTINKO A., 2007. *Biologie des micro-organismes*. Ed. Pearson. Paris. 1047p.
- MAHAJAN, S. & TUTEJA, N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444, 139–158..



- MAJUMDAR, S. S., GHOSH, B., GLICK, R. & DUMBROFF, E.B. 1991. Activities of chlorophyllase, phosphoenolpyruvate carboxylase and ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase in the primary leaves of soybean during senescence and drought. *Physiol Plant*. 81: 473-480.
- MARRON, N., DELAY, D., PETIT, J.M., DREYER, E., KAHLEM, G., DELMOTTE, F.M. & BRIGNOLAS, F. 2002. Physiological traits of two *populus* × *euramericana* clones, Luisa avanzo and dorskamp, during water stress and re-watering cycle, *Tree Physiol*. 22: 849–858.
- MARTINEZ J.P., SILVA H., LEDENT J.F., PINTO M. 2007. Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Europ. J. Agronomy*, 26: 30–38.
- MASSACI A., NABIEV S.M., PETROSANTI L., NEMATOV S.K., CHERNIKOVA T.N., THOR K., AND LEIPNER J., 2008. Response of the photosynthetic apparatus of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) to the onset of drought stress under field conditions studied by gas-exchange analysis and chlorophyll fluorescence imaging. *Plant Physiol. Biochem*. 46:189-195.
- MASSON-BOIVIN C., GIRAUD E., PERRET X., BATUT J. 2009. Establishing nitrogen-fixing symbiosis with legumes. *Trends in Microbiology* 17 (10): 458-466.
- MASTRANGELO MM, ROJAS AM, CASTRO MA, GERSCHENSON LN, ALZAMORA SM., 2000. Texture and structure of glucose-infused melon. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80:769-776.
- MATTHIAS W. and SMITH S. E., 1997. Morphological and physiological characteristics associated with tolerance to summer irrigation termination in alfalfa. *Crop Sci.*, 37:704-711.
- MAUREL, C., VERDOUCQ, L., LUU, D.T., SANTONI, V., 2008. Plant aquaporins: membrane channels with multiple integrated functions. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 595–624
- MAURIÈS M., 2001. A Comparison of Two Methods of Combining Alfalfa Cubes With Corn Silage Fed to Lactating Cows. *Revue: Canadian Journal of animal science- Canada* (1977) 57,559-565.
- MAURIÈS M. 2003. Luzerne culture récolte conservation. Ed. France agricole. 12-13 p.
- MCCUE, K.F. and HANSON, A.D. 1990. Drought and salt tolerance: towards understanding and application. *TibTech*. 8: 358–362.
- MEFTI M., CHABOUTI A., BOUZERZOUR H., M’HAMMEDI BOUZINA M., AOUBANI M.E., ABDELGUERFI A., 2006. Etude de l’effet du stress hydrique sur le développement de quelques populations de *Medicago polymorpha* L. In Workshop international sur la diversité des fabacées fourragères et leurs symbiotes : Applications biotechnologiques, agronomiques et environnementales. Ed. Abdelguerfi A., Alger 19-22 février 2006, 226-229.
- MEHDI H., CHAABOUNI A.C., BOUJNAH D., BOUKHRIS M., 2010. The response of young pistachio trees grown under saline conditions depends on the rootstock, A no. XX, 2010—XIV GREMPA, Meeting on pistachios and almonds.
- MEKLIÈCHE A., BOUKECHA D., EIT HANIFI-MEKLIÈCHE L. 2003. Etude de la tolérance à la sécheresse de quelques variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.). L’effet de l’irrigation de complément sur les caractères phénologiques, morphologiques et physiologique. *Annales de l’Institut National, Agronomique*. El Harrach. 24 (1), 97-110.
- MERAH O., 1999. Utilisation de la discrimination isotopique du carbone pour l’amélioration de la tolérance à la sécheresse chez le blé dur dans les régions méditerranéennes. ENSA. De Rennes. Thèse de doctorat. Rennes .127p.



- MOJAYAD F., PLANCHON C., 1994. Stomatal and photosynthetic adjustment to water deficit as the expression of heterosis in sunflower. *Crop Science* 34, 103–107.
- MORSLI L. 2010. Adaptation du blé dur (*Triticum durum* Desf) dans les conditions des hautes plaines constantinoises. Thèse doctorat. Université d'Annaba. Algérie. 99p.
- MOUHOUCHE B., 2001. Effet du stress hydrique appliqué à différentes phases phénologiques, sur les composantes du rendement de quatre légumineuses alimentaires à grosse graine par utilisation de la méthode de marquage des organes fructifères. Thèse doctorat, INA. EL-Harrach, 164 p.
- MOURI C., BENHASSAINI H., BENDIMERED F.Z., BELKHODJA M. 2012. Seasonal variation of the content in proline and soluble sugars in oyat (*Ammophila arenaria* (L.) Link) growing in natural conditions of the Algerian western coast. *Acta Bot. Gallica*. 159:127–135.
- MUNNS R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*, 25: 239-250.
- MUNNS R., JAMES R.A. , LÄUCHLI A., 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany*, 57(5), 1025-1043.
- MURATA Y., MORI I.C., MUNEMASA S., 2015. Diverse Stomatal Signaling and the Signal Integration Mechanism. *Annual Review of Plant Biology*, vol.66, p.369-392.
- MWANAMWENGE J., LOSS S.P., SIDDIQUE K.H.M., COCKS P.S., 1999. Effect of water stress during floral initiation, flowering and podding on the growth and yield of faba bean (*Vicia faba* L.). *European Journal of Agronomy* 11, 1-11.
- N** NANA R., TAMINI Z. , SAWADOGO M., 2009. Effets d'un stress hydrique intervenu pendant le stade végétatif et la phase de floraison chez le gombo. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, vol.3(5), p.1161-1170.
- NATIV, R., EPHRATH, J.E., BERLINER, P.R. & SARANGA, Y. 1999. Drought resistance and water use efficiency in *Acacia soligna*. *Aust. J. Bot.* 47: 577–586.
- NEWTON, W.E., and DILWORTH, M.J. 2011. Assays of Nitrogenase Reaction Products. In *Nitrogen Fixation*, (Humana Press), pp. 105–127.
- NGUYEN ST. & R. PAQUIN., 1971. Méthodes d'extraction et de purification des acides aminés libres et des protéines des tissus végétaux. *J. Chromatography*, 61, p.349-51.
- NOUAR S., 2007 - Réponse physiologique de la fève (*Vicia faba* L.) au stress thermique, Thèse de magister ; INA, El-Harrach; 86 p.
- NOURRI L., 2002. Ajustement osmotique et maintien de l'activité photosynthétique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.), en condition de déficit hydrique. Thèse de magister en biologie végétale, 4-16.
- O** O'NEILL, P.M., SHANAHAN, J.F. & SCHEPERS, J.S. 2006. Use of chlorophyll fluorescence assessments to differentiate corn hybrid response to variable water conditions. *Crop Sci.* 46:681- 687.
- OLDROYD G. 2001. Dissecting symbiosis: developments in Nod factor signal transduction. *Annals of Botany* 87: 709-718
- OLDROYD, G.E.D., MURRAY, J.D., POOLE, P.S., and DOWNIE, J.A. 2011. The Rules of Engagement in the Legume-Rhizobial Symbiosis. *Annu. Rev. Genet.* 45, 119–144.
- OTTOW EA, BRINKER M, TEICHMANN T, FRITZ E, KAISER W, BROSCHE M, KANGASJÄRVI J, JIANG X, POLLE A., 2005. *Populus euphratica* displays apoplastic sodium accumulation, osmotic adjustment by decreases in calcium and soluble carbohydrates, and develops leaf succulence under salt stress. *Plant Physiology* 139:1762- 1772.



- 📖 OUNANE S.M. 2004. Effet du stress hydrique et thermique sur la nutrition azotée chez le pois chiche (*Cicer arietinum*). Thèse de doctorat d'état. INA. El Harrach. Alger. 95P.
- 📖 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 souches de *Mesorhizobium ciceri*. In : Fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le bassin méditerranéen. Ed. INRA, Paris. Les colloques n°100 : 69-80.
- 📖 OUNANE S.M., DJEBARA M., GHALMI A., BENMOHAMED A., BACHA F., BENHALIMA M., ALKAMA N., NOUAR S. 2005. Effet du nitrate exogène sur la nodulation et la fixation de l'azote chez le pois chiche (*Cicer arietinum*). In : Séminaire international sur l'amélioration des productions végétales (APV2005) – LRGB – INA – Alger. pp. 239-245.
- 📖 OUSLIM S. 2016. BNL associées aux légumineuses alimentaires (*Vicia faba* L) dans l'ouast algérien (caractérisation et importance). Thèse doctorat. Université d'Oran. 159p.
- P** PAPAGEORGIOU G.C., MORATA N., 1995. The usually strong stabilizing effects of glycine betaine on the structure and function in the oxygen evolving photosystem- II complex. *Photosynth. Res.* 44, 243-52.
- 📖 PAPVC : Pôle Agronomie Productions Végétales des Chambres d'Agriculture de Bretagne (Revue) - Cap Agro. Printemps 2009, 41-42.
- 📖 PARRY, M.A.J., FLEXAS J. AND H. MEDRANO, 2005. Prospects for crop production under drought: research priorities and future directions. *Annals of Applied Biology* 147:211-226.
- 📖 PAUL, M.H; PLANCHTON, C; ECOCHARD, R; 1979. "Etude des relations entre le développement foliaire, le cycle de développement et la productivité chez le soja" *ann amélio plants*, 29, pp.479-492.
- 📖 PAZDERNIK D. L., GRAHAM P. H., VANCE C. P., ORE J.H., 1997. Variation in the pattern of nitrogen accumulation and distribution in soybean. *Crop Sci.*, 31, 1482-1486.
- 📖 PEIX A., RAMÍREZ-BAHENA M. H., VELÁZQUEZ E., BEDMAR E. J. 2015. Bacterial associations with legumes. *CRC Crit Rev in Plant Sci* 34: 17-42.
- 📖 PELMONT J. 1993. Bactéries et environnement. Adaptations physiologiques, Presses Universitaire de Grenoble, 899 p.
- 📖 PENA-CABRIALES J. J. and CASTELLANOS J. Z. 1993. Effects of Water stress on N₂ Fixation and Grain Yield of *Phaseolus vulgaris* L. *Plant and Soil* 152: 151-155.
- 📖 PENUELAS, J., SAVE, R., MARFA, O., AND SERRANO, L., 1992. Remotely measured canopy temperature of greenhouse strawberries as indicator of water status and yield under mild and very mild water stress conditions. *Agricultural and Forest Meteorology*, Vol. 58, No. 1-2. 63-77.
- 📖 PEOPLES M.B., GILLER K. E., HERRIDGE D. F., VESSY J. K. 2002. Limitations to biological nitrogen fixation as a renewable source of nitrogen for agriculture. *Nitrogen Fixation Global Perspectives*. Publishing. Walling Ford UK. 356- 360.
- 📖 PERRET X, STAEHELIN C, BROUGHTON W.J. 2000. Molecular basis of symbiotic promiscuity. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64: 180-201.
- 📖 PEYRAUD J.L., DELABY L. et LEBOIS S., 1998. Comparison of dehydrated lucerne and straw to reduce sub-acute ruminal acidosis syndrome in dairy cows fed highly energetic diets. *Coop de France Déshydratation*.
- 📖 PHILIPPOT L. et GERMON J.C. 2005. Contribution of bacteria to initial input and cycling of nitrogen in soils. *Microorganismis in soils: roles in genesis and functions*, 159-176.



- 📖 PINHERO R.G., RAO M.V., PALYATH G., MURR D.P., FLETCHER R.A., 2001. Changes in the activities of antioxidant enzymes and their relationship to genetic and paclobutrazol-induced chilling tolerance of maize seedlings. *Plant Physiology* 114, 695-704.
- 📖 PITA, P. & PARDES, J.A. 2001. Growth, leaf morphology, water use and tissue water relation of *Eucalyptus globules* clones in response to water deficit, *Tree Physiol.* 21: 599–607.
- 📖 PLIES-BALZER E., KONG T., SCHUBERT S. and MENGEL L. 1995. Effect of water stress on plant growth, nitrogenous activity and nitrogen economy of four different cultivars of (*Vicia faba* L.). *Eur. J. Agron.*, 4(2), 167-173.
- 📖 POORMOHAMMAD K.S. 2007. Analyse génétique des réponses physiologiques dutournesol (*Helianthus annuus* L.) soumis à la sécheresse. Thèse de doctorat d'état, ENSAT, Toulouse. France, 213p.
- 📖 PORRES J. M., JURADO M. L., ARANDA P. AND URBANO G. 2003. Effect of heat treatment and mineral and vitamin supplementation on the nutritive use of protein and calcium from lentils in growingrat. *Nutrition.* 19(5): 451-456.
- 📖 PRELL, J., and POOLE, P. (2006). Metabolic changes of rhizobia in legume nodules. *Trends Microbiol.* 14, 161–168.
- 📖 PROLEA 2009 Féverole. www.prolea.com.
- 📖 PURCELL L.C., DE SILVA M., KING A.C., KIM W. H. 1997. Biomass accumulation and allocation in soybean associated with genotypic differences in tolerance of nitrogen fixation to water deficits. *Plant and Soil.* 196(1): 101-113.
- R** RADHOUANE, L. 2008. Corrélation entre le stade germination et le stade adulte en présence de stress hydrique chez quelques écotypes autochtones tunisiens de mil (*Pennisetum glaucum* L. R. Br.) *Compte Rendus Biologie* 331(8) : 623-630.
- 📖 RAMACHANDRA REDDY A., CHAITANYAA K.V., VIVEKANANDAN M., 2004. Drought- induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology* 161, 1189-1202.
- 📖 RAMANJULU S, BARTELS D., 2002. Drought and dessication induced modulation of gene expression. *Plant Cell Env.* 25: 141-151.
- 📖 RAMDANE, Z., TRILLES, J.P., MAHÉ, K. AND AMARA, R. 2013. Metazoan ectoparasites of two teleost fish, *Boops boops* (L.) and *Mullus barbatus barbatus* L. from Algerian coast: diversity, parasitological index and impact of parasitism. *Cybiurn* 37(1-2): 59-66.
- 📖 REDDI G.H.S., REDDY T.Y., 1995. Efficient Use of Irrigation Water. Kalyani Publishers, New Delhi.
- 📖 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.
- 📖 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.
- 📖 REDDY, P.S. and VEERANJANEYULU, K., 1991. Proline metabolism in senescing leaves of horsgram (*Macrotyloma uniflorum* Lam.). *J. Plant. Physiol.* 137. 381-383.
- 📖 RENAULT J-C., 2003. La luzerne : culture- utilisation. Co édité par le GNIS, Aravalis–Institut du végétal et l'élevage.
- 📖 RICHARDS R.A., REBETZKE G.J., WATT M., CONDON A.G., SPIELMEYER W., DOLFERUS R. 2010. Breeding for improved water productivity in temperate cereals:



phenotyping, quantitative trait loci, markers and the selection environment. *Functional Plant Biology* 37, 85–97.

📖 RIFAT, H., SAFDAR, A., UMMAY, A., RABIA, K. et IFTIKHAR, A. 2010. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion. *Ann Microbiol.* DOI 10.1007/s13213-010-0117-1.

📖 RIOU C. 1993. L'eau et la production végétale. *Sècheresse*, 4: 75 - 83.

📖 RIVERO, R.M. TERESA C. M., MITTLER, R. FRANCISCO RUBIO, F. GARCIA-SANCHEZ, F. and MARTINEZ, V. 2014. The combined effect of salinity and heat reveals a specific physiological, biochemical and molecular response in tomato plants *Plant, Cell and Environment*, 37, 1059–1073.

📖 ROBERT P., THIEBEAU P., COULMIER D. et LARBRE D., 2010. Luzerne et eau: mieux vaut prévenir que guérir. *COOP de France Déshydratation*.

📖 ROSA M., PRADO C., PODAZZA G., INTERDONATO R., GONZÁLEZ J. A., HILAL M., PRADO F. E., 2009. Soluble sugars metabolism, sensing and abiotic stress. *Plant Signaling and Behavior*, vol. 4(5), pp. 388-393.

📖 ROY S.K., RAHAMANS S.M.L., SALAHUDIN A.B.M. 1995. Effect of rhizobium inoculation and nitrogen on nodulation, growth and seed yield of gram (*Cicer arietinum* L.). *Indian J. Agric Sci.* 65, 853-857.

📖 RUBIO L.M, LUDDEN P.W. 2005. Maturation of Nitrogenase: a Biochemical Puzzle. *J Bacteriol* 187: 405–414.

S SAAB, I.N., SHARP, R.E., PRITCHARD, J. 1990. Increased endogenous abscisic acid maintains primary root growth and inhibits shoot growth of maize seedlings at low water potentials. *Plant Physiology* 93: 1329-1336.

📖 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. Colloques, n°100. pp 233-244.

📖 SADOWSKY M. J., KEYSER H. H., BEN BOHLOOL B. 1983. Biochemical Characterization of fast- and Slow- Growing Rhizobia That Nodulate Soybeans. *Int J Syst Bacteriol*: 716-722.

📖 SADOWSKY M. J., GRAHAM P. H. 1998. Soil biology of the rhizobiaceae. In Spiak H. P et al., (eds.), *the Rhizobiaceae*. *Kluwer Academic Publishers*, 155-172.

📖 SAHNOUNE M., ADDA A., SOUALEM S., KAID-HARCH M. et MERAH O., 2005. Early water deficit effect on seminal root barley, *C. R. Biologies* 327; 389–398.

📖 SAKROUHI I., 2017. Caractérisation physiologique et taxonomique des rhizobiums nodulant acacia isolés des dunes de merzouga et étude transcriptomique d'une souche modèle de la collection. Thèse doctorat. Univ Mohamed V. Rabat. Maroc. 131p.

📖 SALA A, TENHUNEN JD. 1996. Simulation of net canopy photosynthesis and transpiration in *Quercus ilex* L. under the influence of seasonal drought. *Agricultural and Forest Meteorology* 78: 203-222.

📖 SANCHEZ-RODRIGUEZ, E., RUBIO-WILHELMI, M.M., CERVILLA, L.M., BLASCO, B., RIOS, J, ROSALES, M.A., ROMERO, L. & RUIZ, J.M. 2010. Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. *Plant Science* 178: 30-40.

📖 SANGAKKARA U. R. 1994. Growth, yield and nodule activity of *Phaseolus vulgaris* L. as affected by Soil moisture. *J. Agronomy and Crop Science* 172, 62-68.



- 📖 SANGAKKARA U.R., HARTWIG 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.
- 📖 SANKAR B., JALEEL C.A., MANIVANNAN P., KISHOREKUMAR A., SOMASUNDARAM R., PANNEERSELVAM R. 2007. Drought induced biochemical modifications and proline metabolism in *Abelmoschus esculentus*. *Acta Bot. Croat.* 66, 43-56.
- 📖 SAXENA N.P., JOHANSEN M.C., SAXENA M.C., SILIM S.N. 1993. Selection for drought and salinity tolerance in cool-season food legumes, in: Singh K.B., Saxena M.C. (Eds). *Breeding for Tolerance in cool-season Food Legumes*. pp. 245-270.
- 📖 SCHIELDS R, BURNETT W. 1960. Determination of protein bound carbohydrate in serum by a just modified anthrone method. *Anal. Chem.* 32: 885-886.
- 📖 SCHULZE, J., TEMPLE, G., STEPHEN, J., BESCHOW, H. et VANCE, C.P. 2006. Nitrogen Fixation by White Lupin under Phosphorus Deficiency. *Annals of Botany.* 98, 731-740.
- 📖 SERRAJ R., DREVON J.J., 1994. Effet de la salinité et de la source d'azote sur la croissance et la fixation biologique de l'azote chez la luzerne. In: *Recent Developments in Biological Nitrogen Fixation Research in Africa*. (M. Sadiki and A. Hillali Eds). IAV. Hassen II. Rabat, Morocco. pp. 163-168.
- 📖 SERRAJ R., SINCLAIR T.R. and PURCELL L.C. 1999. Symbiotic nitrogen fixation response to drought. *J Exp Botan*, 50: 143-155.
- 📖 SERRAJ R., ADU-GYAMFI I., RUPELA O.P., DREVON. 2004. Improvement of legume productivity and role of symbiotic nitrogen fixation in cropping systems: Overcoming the physiological and agronomic limitations symbiotic nitrogen fixation prospects for enhanced application in tropical agriculture. Editor R. Serraj Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd. New Delhi. pp. 67-99
- 📖 SEYED, Y.S.L., ROUHOLLAH, M., MOSHARRAF, M.H., ISMAIL, M.M.R., 2012. *Water Stress in Plants: Causes, Effects and Responses*, Water Stress, Prof. Ismail Md. Mofizur Rahman (Ed.), ISBN: 978-953-307-963-9.
- 📖 SHAMSELDIN A, SADOWSKY M. J, EL-SAADANI M, CHUNG SUN AN. 2008. Molecular Biodiversity and Identification of Free Living *Rhizobium* Strains from Diverse Egyptian Soils as Assessed by Direct Isolation Without Trap Hosts. *American-Eurasian J Agric Environ Sci* 4 (5): 541-549.
- 📖 SHAO H.B., CHU L.E., JALEEL C.A., ZHAO C.X., 2008. Water deficit stress induced anatomical changes in higher plants. *Comptes Rendus Biologies. (C R Biol)*. 2008 Mar; 331(3):215-25.
- 📖 SHAO H.B., L.Y., CHU M.A., SHAO C., ABDUL JALEEL AND HONG-MEI M., 2008. Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. *Comp. Rend. Biol.*, 331: 433-441.
- 📖 SHARMA P.S., SIVAKUMAR M.V.K., 1991. Penetrometer soil resistance, pod number and yield of peanuts as influenced by drought stress. *Indian Journal of Plant Physiology* 34, 147-152.
- 📖 SIDDIQUE, M.R.B., HAMID, A., ISLAM, M. S. 2000. Drought stress effects on water relations of wheat. *Botanical Bulletin Academia Sinica.* 41(1) : 35-39.
- 📖 SILVEIRA J.A.G., COSTA R.C.L., OLIVEIRA J.T.A. 2001. Drought-induced effects and recovery of nitrate assimilation and nodule activity in cowpea plants inoculated with *Bradyrhizobium* spp. under moderate nitrate level. *Brazilian Journal of Microbiology.* 32 (3): 1517-1590.



- 📖 SINCLAIR T. R., PURCELL L.C., KING A.C., SNELLER C.H., CHEN P., VADEZ V. 2007. Drought tolerance and yield increase of soybean resulting from improved symbiotic N₂ fixation. *Field Crops Research*. 101(1) 20 : 68-71.
- 📖 SINGH G. and RAI V. K. 1982. Response of two differentially sensitive *Cicer arietinum* L cultivars to water stress: protein content and drought resistance. *Biologia Plantarum* (Praha) 24 (1), 7-12.
- 📖 SINGH RK, MALIK N, SINGH S. 2013. Impact of rhizobial inoculation and nitrogen utilization in plant growth promotion of maize (*Zea mays* L.). *Bioscience* 5: 8-14.
- 📖 SLIM N., SIFI B., TRIKI S. 2008. Criblage de variétés de pois chiche (*Cicer arietinum* L.) pour la résistance au stress hydrique. In Actes du séminaire international: Gestion des ressources et applications biotechnologiques en aridoculture et cultures oasiennes: Perspectives pour la valorisation des potentialités du Sahara. Institut des Régions Arides, Médenine 25-28 Décembre 2008, Tunisie. *Revue des régions arides*. 21, 734-744.
- 📖 SMIRNOFF, N. 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytol*. 125: 27-58.
- 📖 SMIT G., SWART S., LUGTENBERG B.J.J., KIJNE J.W., 1992. Molecular mechanisms of attachment of rhizobium bacteria to plant roots. *Mol. Microbiol*. 6, 2897-2903.
- 📖 SOLOMON, L., et FASSIL, A. 2014. Symbiotic And Phenotypic Characteristics of Rhizobia Nodulating Faba Bean (*Vicia Faba*) From Tahtay Koraro, Northwestern Zone Of Tigray Regional State, Ethiopia. *Ijtee*, 2347-4289.
- 📖 SOMASEGARAN P., HOBEN H. G. 1985. *Methods in Legume Rhizobium Technology*. United States Agency for International Development (USAID).
- 📖 SUBBARAO G.V., JOHANSEN C., SLINKARD A.E., NAGESWARA RAO R.C., SAXENA N.P., CHAUHAN Y.S., 1995. Strategies for improving drought resistance in grain legume. *Crit Rev Plant Sci* . 14 : 469-523.
- 📖 SUZUKI N., RIVERO R.M., SHULAEV, BLUMWALD E., MITTLER R. 2014. Abiotic and biotic stress combinations. *New Phytologist*. 203: 32-43.
- 📖 SZABADOS L., SAVOURE A., 2010. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in plant science*, vol. 15(2), p. 89-97.
- 📖 SZÉKELY G., ÁBRAHÁM E., CSÉPLŐ Á., RIGÓ G., ZSIGMOND L., CSISZÁR J., AYAYDIN F., STRIZHOV N., JÁSIK J., SCHMELZER E., KONCZ C., 📖 SZABADOS L., 2008. Duplicated P5CS genes of Arabidopsis play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis. *The Plant Journal*, vol. 53(1), p. 11-28.
- T** TAHRI, H. BELABED, A. SADKI, K., 1998. Effet d'un stress osmotique sur l'accumulation de proline, de chlorophylle et des ARNm codant pour la glutamine synthétase chez trois variétés de blé dur (*Triticum durum*). *Bulletin de l'institut scientifique*, Rabat, n°21. 81-87.
- 📖 TAMURA T., HARA K., YAMAGUCHI Y., KOIZUMI N., SANO H. 2003. Osmotic stress tolerance of transgenic tobacco expressing a gene encoding a membrane-located receptor- like protein from tobacco plants. *Plant Physiology* 131, 454- 462.
- 📖 TARDIEU F., REYMOND M., HAMARD P., GRANIER C., MULLER B. 2000. Spatial distributions of expansion rate, cell division rate and cell size in maize leaves: a synthesis of the effects of soil water status, evaporative demand and temperature. *J. Exp. Bot.*, 51: 1505–1514.
- 📖 TARDIEU, F. 2005. Plant tolerance to water deficit: physical limits and possibilities for progress. *C. R. Geoscience* 337:57-67.



- 📖 TAYLOR L.P, GROTEWOLD E. 2005. Flavonoids as developmental regulators. *Curr Opin Plant Biol* 8:317–323
- 📖 TELLAH S. 2016. Etude des mécanismes agrophysiologiques, morphologiques et moléculaires impliqués dans la tolérance au stress hydrique chez quelques populations locales d'arachide (*Arachis hypogaea* L.). Thèse doctorat. ENSA. Algérie. 258p.
- 📖 TERZO M. ET RASMONT P., 2007. Abeilles sauvages, bourdons et autres insectes pollinisateurs. Les livrets de l'agriculture. Ministère de la Région wallonne. 61p.
- 📖 THIEBEAU P., JUSTES E. et VANLOOT P., 2001. Filière luzerne en France. Des atouts en faveur de l'environnement. *Perspectives Agricoles - n°266 - mars 2001*. 32-36.
- 📖 THIEBEAU P., PAMAUDEAU V. et GUY P., 2003. Quel avenir pour la luzerne en France et en Europe. *Le courrier de l'environnement n°49*, juin 2003. 29-46.
- 📖 THOMAS F.M., GAUSLING T. 2000. Morphological and physiological responses of oak seedlings (*Quercus petraea* and *Q. robur*) to moderate drought. *Ann. For. Sci*; 57: 325-33.
- 📖 THOMAS R. et MUCHOW C., 2001. System analysis of plant traits to increase yield on limited water supplies. *Edit. Agron. J.* vol. 93, pp 263-270.
- 📖 TRANCHANT J. C., BOSCARI A., SPENNATO G., VAN DE SYPE G., BUDULIER D. 2004. Proline betaine accumulation and metabolism in alfalfa plants under sodium chloride stress. Exploring its compartmentalization in nodules. *Plant Physiology*. 135: 1583- 1594.
- 📖 TURNER N.C. 1997. Further progress in crop water relations. *Adv Agron* ; 58 : 293-338.
- 📖 TURNER N.C., WRIGHT G.C., SIDDIQUE K.H.M., 2001. Adaptation of grain legume to water-limited environments. *Adv Agron*; 71 : 193-231.

U UDVARDI, M., and POOLE, P.S. 2013. Transport and Metabolism in Legume-Rhizobia Symbioses. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 781–805.

📖 UNKOVICH M. J., BALDOCK J., PEOPLES M. B. 2010. Prospects and problems of simple linear models for estimating symbiotic N₂fixation by crop and pasture legumes. *Plant Soil*. 329: 75-89.

V VAN GESTEL M., MERCKX R., VLASSAK K. 1993. Microbial biomass responses to soil drying and rewetting: the fate of fast growing and slow growing microorganisms in soil from different climates. *Soil Biology and Biochemistry* 25, 109-123.

📖 VELÁZQUEZ E, GARCÍA-FRAILE P, RAMÍREZ-BAHENA MH, RIVAS R., MARTÍNEZ-MOLINA E. 2017. Current Status of the Taxonomy of Bacteria Able to Establish Nitrogen-Fixing Legume Symbiosis. *Microbes for Legume Improvement*. 2017; 1-43.

📖 VENKATESWARLU B., MAHESWARI M., KARAN N. S. 1989. Effects of water deficits on N₂ (C₂H₂) fixation in cowpea and groundnut. *Plant Soil*. 114: 69-74.

📖 VERBRUGGEN N., HERMANS C., 2008. Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids*, vol.35(4), p. 753-759.

📖 VERDOY D., COBA DE LA PENA T., REDONDO F. J., LUCAS M., PUEYO J. J. 2006. Transgenic *Medicago truncatula* plants that accumulate proline display nitrogen-fixing activity with enhanced tolerance to osmotic stress. *Plant cell and environment*. Vol 29. 10 : 1913- 1923.

📖 VERSLUES P.E., AGARWAL M., KATIYAR-AGARWAL S., ZHU J., ZHU J.K. 2006. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant J.*, 45: 523-539.



- VERTES F., JEUFFROY M.H., JUSTES E., THIEBEAU P. et CORSON M. 2010. Connaître et maximiser les bénéfices environnementaux liés à l'azote chez les légumineuses, à l'échelle de la culture, de la rotation et de l'exploitation. *Innovations Agronomiques* (11), 25-44.
- VIDAL A., ARNAUDO D., ARNOUX M. 1981. La résistance à la sécheresse du soja. Influence d'un déficit hydrique sur la croissance et la production. *Annal. Agronomie*. 1(4): 295-302.
- VINCENT D, ERGÜL A, BOHLMAN MC, TATTERSALL EA, TILLET RL, WHEATLEY MD, WOOLSEY R, QUILICI DR, JOETS J, SCHLAUCH K., 2007. Proteomic analysis reveals differences between *Vitis vinifera* L. cv. Chardonnay and cv. Cabernet Sauvignon and their responses to water deficit and salinity. *Journal of Experimental Botany* 58:1873-1892.
- VINCENT J.M. 1970. A manual for the practical study of root nodule bacteria. International Biological Programme Handbook n°15. *Blackwell Scientific Publication, Oxford*.
- VINCENT J. M. 1977. Root-nodule symbiosis with Rhizobium. *In the biology of nitrogen fixation quispel*. A. eds. North-holland. Amsterdam, 256-341 pp.
- VINOCUR, B., A. ALTMAN. 2005. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. *Curr Opi Biotech.*, 16: 123-132.
- W** WALIGORA C., 2010. Introduire la luzerne. De l'azote en quantités industrielles. *Technique. Cultivar- mars*. 42-45.
- Wang Y., Shirogame T., Liu D., Harper J. W. Elledge S.J. Exit from exit: resetting the cell cycle through Amn1 inhibition of G protein signaling. *Cell* 112(5):697-709.
- WILLEMS A. 2006. The taxonomy of rhizobia: an overview. *Plant Soil* 287: 3-14.
- Williams P.M., Demallorca S.M., 1984. Effects of osmotically induced leaf moisture stress on nodulation and nitrogenase activity of *Glycine max*. *Plant and Soil* 80, 267-283.
- WU, Y. & COSGROVE, D.J. 2000. Adaptation of roots to low water potentials by changes in cell wall extensibility and cell wall proteins. *Journal of Experimental Botany* 51: 1543-1553.
- Y** YANG C. W., JIANDER A., LI C.V., SHI D.C., WANG D.L. 2008. Comparaison of the effects of salt-stress and alkali on Photosynthesis and energy storage of an alkali-resistant halophyte chloris virgata. *Photosynthetica*, Vol 46, 2: 273- 278.
- YANG X. ; LIANG Z. ; WEN X. ; LU C. 2008. Genetic engineering of the biosynthesis of glycine betaine leads to to increased tolerance of photosynthesis to salt stress in transgenic tobacco plants. *Plant molecular biology*, 66, 73 – 86.
- YOUNG JC, HOOGENRAAD N.J., HARTL F. U. 2003. Molecular chaperones Hsp90 and Hsp70 deliver preproteins to the mitochondrial import receptor Tom70. *Cell* 112(1):41-50
- Z** ZAHRAN H.H., RASANEN L.A., KARSISTO M., LINDSTROM K., 1994. Alteration of lipopolysaccharide and protein profiles in SDS-PAGE of rhizobia by osmotic and heat stress. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 10, 100-105.
- ZAHRAN H.H. 1999. Rhizobium-Legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 63(4): 968-989.
- ZAHRAN H.H. 2006. Wild-Legume Rhizobia: Biodiversity and Potential As Biofertilizer. *Handbook of Microbial Biofertilizers*, pp.203-222.



- 📖 ZANIN V. 1998. Un nouveau concept nutritionnel pour l'homme l'extrait foliaire de luzerne. Association pour la promotion des extraits foliaires en nutrition APEF Paris. 6-21 p.
- 📖 ZERRAD W., MAATAOUI B.S, HILALI S., EL ANTRI S.ET HMYENE A., 2008. Etude comparative des mécanismes biochimiques de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur. *Lebanese Science Journal*, 9 (2): 27-36.
- 📖 ZHANG H, GUO Z, LI W, FENG J, XIAO Y, ZHANG F, XUE X, LIANG X. 2009. Purification of flavonoids and triterpene saponins from the licorice extract using preparative HPLC under RP and HILIC mode. *Journal of Separation Science*.32:526-535.
- 📖 ZHANG, X., WOLLENWEBER, B.,JIANG, D.,LIU,F. & ZHAO, J. 2008. Water deficits and heat shock effect on photosynthesis of a transgenic *Arabidopsis thaliana* constitutively expressing ABP9, a bZIP transcription factor. *J. Exp. Bot.* 59: 839-848.
- 📖 ZHU J.K., 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu. Rev. Plant Biol*, 53: 247-273.



Annexes

Tableaux d'analyses de la variance des paramètres étudiés chez la fève

Tableau 1: Teneur relative en eau

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5490.957 ^a	14	392.211	133.838	.000
Intercept	330600.292	1	330600.292	112813.587	.000
Varie_Popul	889.932	4	222.483	75.920	.000
Trait_Hydro	3796.950	2	1898.475	647.833	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	804.075	8	100.509	34.298	.000
Error	175.830	60	2.931		
Total	336267.079	75			
Corrected Total	5666.787	74			

a. R Squared = .969 (Adjusted R Squared = .962)

Tableau 2: Hauteur de la tige

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	9470.303 ^a	14	676.450	135.435	.000
Intercept	115193.127	1	115193.127	23063.226	.000
Varie_Popul	2317.455	4	579.364	115.997	.000
Trait_Hydro	6799.348	2	3399.674	680.661	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	353.500	8	44.187	8.847	.000
Error	299.680	60	4.995		
Total	124963.110	75			
Corrected Total	9769.983	74			

a. R Squared = .969 (Adjusted R Squared = .962)

Tableau 3 : Surface foliaire

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	14260.836 ^a	14	1018.631	209.327	.000
Intercept	49889.466	1	49889.466	10252.216	.000
Varie_Popul	1117.402	4	279.350	57.406	.000
Trait_Hydro	11914.745	2	5957.372	1224.232	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	1228.689	8	153.586	31.562	.000
Error	291.973	60	4.866		
Total	64442.274	75			
Corrected Total	14552.808	74			

a. R Squared = .980 (Adjusted R Squared = .975)



Tableau 4 : Biomasse sèche aérienne

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2954.254 ^a	14	211.018	175.119	.000
Intercept	9585.340	1	9585.340	7954.661	.000
Varie_Popul	29.159	4	7.290	6.050	.000
Trait_Hydro	2614.179	2	1307.089	1084.724	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	310.917	8	38.865	32.253	.000
Error	72.300	60	1.205		
Total	12611.894	75			
Corrected Total	3026.554	74			

a. R Squared = .976 (Adjusted R Squared = .971)

Tableau 5 : Biomasse sèche racinaire

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	233.567 ^a	14	16.683	60.526	.000
Intercept	1401.581	1	1401.581	5084.851	.000
Varie_Popul	9.940	4	2.485	9.015	.000
Trait_Hydro	192.289	2	96.144	348.806	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	31.338	8	3.917	14.212	.000
Error	16.538	60	.276		
Total	1651.687	75			
Corrected Total	250.105	74			

a. R Squared = .934 (Adjusted R Squared = .918)

Tableau 6 : rapport biomasse sèche racinaire / biomasse sèche aérienne

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.610 ^a	14	.044	5.610	.000
Intercept	13.458	1	13.458	1733.207	.000
Varie_Popul	.219	4	.055	7.047	.000
Trait_Hydro	.335	2	.167	21.563	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	.056	8	.007	.903	.520
Error	.466	60	.008		
Total	14.534	75			
Corrected Total	1.076	74			

a. R Squared = .567 (Adjusted R Squared = .466)



Tableau7:Teneurs en chlorophylle a

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1110.159 ^a	14	79.297	164.959	.000
Intercept	8222.824	1	8222.824	17105.652	.000
Varie_Popul	260.981	4	65.245	135.728	.000
Trait_Hydro	802.979	2	401.490	835.205	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	46.198	8	5.775	12.013	.000
Error	28.842	60	.481		
Total	9361.825	75			
Corrected Total	1139.001	74			

a. R Squared = .975 (Adjusted R Squared = .969)

Tableau8 :Teneurs en chlorophylle b

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	113.569 ^a	14	8.112	224.355	.000
Intercept	933.368	1	933.368	25814.063	.000
Varie_Popul	25.254	4	6.313	174.611	.000
Trait_Hydro	85.791	2	42.896	1186.359	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	2.524	8	.316	8.726	.000
Error	2.169	60	.036		
Total	1049.106	75			
Corrected Total	115.739	74			

a. R Squared = .981 (Adjusted R Squared = .977)

Tableau9 : Teneurs en chlorophylle totale

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1859.087 ^a	14	132.792	312.184	.000
Intercept	14699.720	1	14699.720	34557.924	.000
Varie_Popul	380.594	4	95.148	223.687	.000
Trait_Hydro	1413.531	2	706.766	1661.552	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	64.963	8	8.120	19.090	.000
Error	25.522	60	.425		
Total	16584.329	75			
Corrected Total	1884.609	74			

a. R Squared = .986 (Adjusted R Squared = .983)



Tableau 10: Teneurs en caroténoïdes

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	49.065 ^a	14	3.505	1324.185	.000
Intercept	418.665	1	418.665	158185.592	.000
Varie_Popul	24.683	4	6.171	2331.562	.000
Trait_Hydro	23.188	2	11.594	4380.693	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	1.194	8	.149	56.370	.000
Error	.159	60	.003		
Total	467.889	75			
Corrected Total	49.224	74			

a. R Squared = .997 (Adjusted R Squared = .996)

Tableau 11: Ratio chlorophylle a/ chlorophylle b

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	20.024 ^a	14	1.430	14.403	.000
Intercept	666.745	1	666.745	6714.185	.000
Varie_Popul	18.541	4	4.635	46.677	.000
Trait_Hydro	.155	2	.078	.781	.462
Varie_Popul * Trait_Hydro	1.328	8	.166	1.671	.124
Error	5.958	60	.099		
Total	692.728	75			
Corrected Total	25.982	74			

a. R Squared = .771 (Adjusted R Squared = .717)

Tableau 12: Ratio chlorophylle / caroténoïdes

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	69.551 ^a	14	4.968	34.194	.000
Intercept	2639.503	1	2639.503	18167.800	.000
Varie_Popul	48.530	4	12.133	83.509	.000
Trait_Hydro	16.894	2	8.447	58.141	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	4.127	8	.516	3.551	.002
Error	8.717	60	.145		
Total	2717.771	75			
Corrected Total	78.268	74			

a. R Squared = .889 (Adjusted R Squared = .863)



Tableau 13: Teneurs en proline

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	66759.329 ^a	14	4768.523	123.432	.000
Intercept	737244.699	1	737244.699	19083.322	.000
Varie_Popul	5551.559	4	1387.890	35.925	.000
Trait_Hydro	54739.101	2	27369.550	708.451	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	6468.669	8	808.584	20.930	.000
Error	2317.976	60	38.633		
Total	806322.004	75			
Corrected Total	69077.305	74			

a. R Squared = .966 (Adjusted R Squared = .959)

Tableau 14: Teneurs en sucres soluble

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	53782.668 ^a	14	3841.619	109.568	.000
Intercept	1294831.371	1	1294831.371	36930.134	.000
Varie_Popul	14450.231	4	3612.558	103.034	.000
Trait_Hydro	38348.282	2	19174.141	546.869	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	984.154	8	123.019	3.509	.002
Error	2103.699	60	35.062		
Total	1350717.737	75			
Corrected Total	55886.366	74			

a. R Squared = .962 (Adjusted R Squared = .954)

Tableau 15: Teneurs en protéines

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	170.246 ^a	14	12.160	1814.092	.000
Intercept	1801.240	1	1801.240	268708.110	.000
Varie_Popul	71.632	4	17.908	2671.512	.000
Trait_Hydro	90.226	2	45.113	6729.970	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	8.388	8	1.048	156.412	.000
Error	.402	60	.007		
Total	1971.889	75			
Corrected Total	170.649	74			

a. R Squared = .998 (Adjusted R Squared = .997)



Tableau 16: Nombre des nodules

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	31053.600 ^a	14	2218.114	87.881	.000
Intercept	171363.000	1	171363.000	6789.342	.000
Varie_Popul	6522.800	4	1630.700	64.608	.000
Trait_Hydro	23386.160	2	11693.080	463.276	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	1144.640	8	143.080	5.669	.000
Error	1514.400	60	25.240		
Total	203931.000	75			
Corrected Total	32568.000	74			

a. R Squared = .954 (Adjusted R Squared = .943)

Tableau 17: Poids sec des nodules

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.789 ^a	14	.271	166.059	.000
Intercept	11.252	1	11.252	6903.088	.000
Varie_Popul	.754	4	.189	115.716	.000
Trait_Hydro	2.957	2	1.479	907.137	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	.078	8	.010	5.961	.000
Error	.098	60	.002		
Total	15.139	75			
Corrected Total	3.887	74			

a. R Squared = .975 (Adjusted R Squared = .969)

Tableau 18: Teneurs en leghémoglobine

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.051 ^a	14	.004	257.208	.000
Intercept	.103	1	.103	7272.287	.000
Varie_Popul	.014	4	.003	241.288	.000
Trait_Hydro	.034	2	.017	1218.883	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	.003	8	.000	24.749	.000
Error	.001	60	1.412E-5		
Total	.154	75			
Corrected Total	.052	74			

a. R Squared = .984 (Adjusted R Squared = .980)



Tableaux d'analyses de la variance des paramètres étudiés chez la luzerne

Tableau 19: Teneur relative en eau

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	12186.721 ^a	14	870.480	126.322	.000
Intercept	435955.568	1	435955.568	63264.883	.000
Varie_Popul	2322.258	4	580.565	84.250	.000
Trait_Hydro	9515.282	2	4757.641	690.418	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	349.181	8	43.648	6.334	.000
Error	413.457	60	6.891		
Total	448555.746	75			
Corrected Total	12600.178	74			

a. R Squared = .967 (Adjusted R Squared = .960)

Tableau 20: Hauteur de la tige

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	708.047 ^a	14	50.575	17.544	.000
Intercept	82303.203	1	82303.203	28551.065	.000
Varie_Popul	37.113	4	9.278	3.219	.018
Trait_Hydro	584.647	2	292.323	101.407	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	86.287	8	10.786	3.742	.001
Error	172.960	60	2.883		
Total	83184.210	75			
Corrected Total	881.007	74			

a. R Squared = .804 (Adjusted R Squared = .758)

Tableau 21 : Surface foliaire

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	29.482 ^a	14	2.106	304.607	.000
Intercept	1567.282	1	1567.282	226704.190	.000
Varie_Popul	13.342	4	3.335	482.457	.000
Trait_Hydro	14.902	2	7.451	1077.748	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	1.239	8	.155	22.396	.000
Error	.415	60	.007		
Total	1597.178	75			
Corrected Total	29.897	74			

a. R Squared = .986 (Adjusted R Squared = .983)



Tableau 22 : Biomasse sèche aérienne

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	7.472 ^a	14	.534	219.632	.000
Intercept	181.274	1	181.274	74598.409	.000
Varie_Popul	.506	4	.126	52.010	.000
Trait_Hydro	6.636	2	3.318	1365.528	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	.330	8	.041	16.968	.000
Error	.146	60	.002		
Total	188.892	75			
Corrected Total	7.618	74			

a. R Squared = .981 (Adjusted R Squared = .976)

Tableau 23 : Biomasse sèche racinaire

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.087 ^a	14	.078	78.993	.000
Intercept	35.639	1	35.639	36242.576	.000
Varie_Popul	.389	4	.097	98.847	.000
Trait_Hydro	.670	2	.335	340.712	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	.029	8	.004	3.636	.002
Error	.059	60	.001		
Total	36.785	75			
Corrected Total	1.146	74			

a. R Squared = .949 (Adjusted R Squared = .937)

Tableau 24 : rapport biomasse sèche racinaire / biomasse sèche aérienne

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.122 ^a	14	.009	11.636	.000
Intercept	15.017	1	15.017	19969.390	.000
Varie_Popul	.073	4	.018	24.235	.000
Trait_Hydro	.042	2	.021	28.034	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	.007	8	.001	1.236	.294
Error	.045	60	.001		
Total	15.185	75			
Corrected Total	.168	74			

a. R Squared = .731 (Adjusted R Squared = .668)



Tableau25: Teneurs en chlorophylle a

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	390.491 ^a	14	27.892	53.318	.000
Intercept	7646.711	1	7646.711	14617.135	.000
Varie_Popul	17.642	4	4.410	8.431	.000
Trait_Hydro	351.424	2	175.712	335.884	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	21.425	8	2.678	5.119	.000
Error	31.388	60	.523		
Total	8068.590	75			
Corrected Total	421.879	74			

a. R Squared = .926 (Adjusted R Squared = .908)

Tableau26 : Teneurs en chlorophylle b

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	75.361 ^a	14	5.383	171.632	.000
Intercept	1655.340	1	1655.340	52779.476	.000
Varie_Popul	6.643	4	1.661	52.948	.000
Trait_Hydro	67.745	2	33.872	1080.000	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	.974	8	.122	3.881	.001
Error	1.882	60	.031		
Total	1732.583	75			
Corrected Total	77.243	74			

a. R Squared = .976 (Adjusted R Squared = .970)

Tableau27 : Teneurs en chlorophylle totale

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	783.371 ^a	14	55.955	97.166	.000
Intercept	16417.642	1	16417.642	28509.119	.000
Varie_Popul	27.814	4	6.954	12.075	.000
Trait_Hydro	727.629	2	363.815	631.761	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	27.928	8	3.491	6.062	.000
Error	34.552	60	.576		
Total	17235.565	75			
Corrected Total	817.923	74			

a. R Squared = .958 (Adjusted R Squared = .948)



Tableau 28: Teneurs en caroténoïdes

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	50.500 ^a	14	3.607	576.533	.000
Intercept	1484.743	1	1484.743	237305.679	.000
Varie_Popul	27.049	4	6.762	1080.812	.000
Trait_Hydro	22.109	2	11.054	1766.825	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	1.342	8	.168	26.821	.000
Error	.375	60	.006		
Total	1535.618	75			
Corrected Total	50.876	74			

a. R Squared = .993 (Adjusted R Squared = .991)

Tableau 29: Ratio chlorophylle a/ chlorophylle b

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.632 ^a	14	.259	7.241	.000
Intercept	348.410	1	348.410	9726.136	.000
Varie_Popul	2.510	4	.627	17.517	.000
Trait_Hydro	.036	2	.018	.507	.605
Varie_Popul * Trait_Hydro	1.085	8	.136	3.787	.001
Error	2.149	60	.036		
Total	354.191	75			
Corrected Total	5.781	74			

a. R Squared = .628 (Adjusted R Squared = .541)

Tableau 30: Ratio chlorophylle / caroténoïdes

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	32.972 ^a	14	2.355	72.474	.000
Intercept	848.872	1	848.872	26121.810	.000
Varie_Popul	24.570	4	6.142	189.016	.000
Trait_Hydro	7.177	2	3.589	110.429	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	1.226	8	.153	4.714	.000
Error	1.950	60	.032		
Total	883.794	75			
Corrected Total	34.922	74			

a. R Squared = .944 (Adjusted R Squared = .931)



Tableau 31: Teneurs en proline

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1798243.014 ^a	14	128445.930	465.079	.000
Intercept	15631473.067	1	15631473.067	56598.639	.000
Varie_Popul	256920.593	4	64230.148	232.565	.000
Trait_Hydro	1496363.599	2	748181.799	2709.026	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	44958.823	8	5619.853	20.348	.000
Error	16570.865	60	276.181		
Total	17446286.946	75			
Corrected Total	1814813.879	74			

a. R Squared = .991 (Adjusted R Squared = .989)

Tableau 32: Teneurs en sucres soluble

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	27343852.517 ^a	14	1953132.323	7173.279	.000
Intercept	308580492.000	1	308580492.000	1133325.195	.000
Varie_Popul	7497501.784	4	1874375.446	6884.029	.000
Trait_Hydro	18379024.995	2	9189512.498	33750.371	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	1467325.737	8	183415.717	673.632	.000
Error	16336.732	60	272.279		
Total	335940681.249	75			
Corrected Total	27360189.249	74			

a. R Squared = .999 (Adjusted R Squared = .999)

Tableau 33: Teneurs en protéines

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	643247.909 ^a	14	45946.279	1300.813	.000
Intercept	10093639.299	1	10093639.299	285767.195	.000
Varie_Popul	552539.618	4	138134.904	3910.822	.000
Trait_Hydro	72231.226	2	36115.613	1022.491	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	18477.065	8	2309.633	65.389	.000
Error	2119.272	60	35.321		
Total	10739006.479	75			
Corrected Total	645367.181	74			

a. R Squared = .997 (Adjusted R Squared = .996)



Tableau 34: Nombre des nodules

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	9095.520 ^a	14	649.680	133.679	.000
Intercept	29165.880	1	29165.880	6001.210	.000
Varie_Popul	1076.187	4	269.047	55.359	.000
Trait_Hydro	7813.040	2	3906.520	803.811	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	206.293	8	25.787	5.306	.000
Error	291.600	60	4.860		
Total	38553.000	75			
Corrected Total	9387.120	74			

a. R Squared = .969 (Adjusted R Squared = .962)

Tableau 35: Poids sec des nodules

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	32369.359 ^a	14	2312.097	150.510	.000
Intercept	94415.828	1	94415.828	6146.149	.000
Varie_Popul	1632.186	4	408.047	26.562	.000
Trait_Hydro	30590.173	2	15295.087	995.658	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	147.000	8	18.375	1.196	.317
Error	921.707	60	15.362		
Total	127706.895	75			
Corrected Total	33291.067	74			

a. R Squared = .972 (Adjusted R Squared = .966)

Tableau 38: Teneurs en leghémoglobine

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.031 ^a	14	.002	585.166	.000
Intercept	.081	1	.081	21788.929	.000
Varie_Popul	.002	4	.001	135.357	.000
Trait_Hydro	.027	2	.014	3662.768	.000
Varie_Popul * Trait_Hydro	.001	8	.000	40.670	.000
Error	.000	60	3.733E-6		
Total	.112	75			
Corrected Total	.031	74			

a. R Squared = .993 (Adjusted R Squared = .991)



EFFECT OF WATER STRESS ON RHIZOBIA SYMBIOSIS IN ALFALFA
(*MEDICAGO SATIVA* L.)

A. Mouffok^{1*}, M. Belhamra²

¹Department of Agricultural Sciences, Faculty of Exact Sciences and Natural and Life Sciences, University of Mohamed khider Biskra, BP 145 RP, 07000 Biskra, Algeria

²Department of Agricultural Sciences, Faculty of Exact Sciences and Natural and Life Sciences, University of Mohamed khider Biskra, BP 145 RP, 07000 Biskra, Algeria

Received: 08 November 2018 / Accepted: 20 December 2019 / Published online: 01 January 2020

ABSTRACT

The objective of this work was to highlight the responses to the low, moderate and severe water deficit of five varieties of alfalfa. The mechanisms studied focused on the relative water content, dry matter yield and symbiotic nitrogen fixation. The results obtained showed that the effects of water stress are manifested by a decrease in the relative water content and negatively affect vegetative growth as well as the symbiotic nitrogen fixation. The varieties studied behave differently depending on the severity of stress. However, the Diamant and Baldia varieties proved the most tolerant to the different degrees of water deficit. On the other hand, the varieties Dista and Moapa showed a significant sensitivity to the lack of water. This study could be used to define relevant criteria for drought resistance that can be used in varietal selection.

Keywords: nitrogen fixation; alfalfa; tolerance; selection; water deficit.

Author Correspondence, e-mail: mouafek.ahlem@yahoo.com

doi: <http://dx.doi.org/10.4314/jfas.v12i1.17>



1. INTRODUCTION

La sécheresse est largement reconnue comme le premier facteur limitant la production agricole mondiale. Globalement, 35% de la superficie cultivable peut être classée comme aride ou semi-aride, le reste des ces superficies, 25% au moins sont régulièrement soumises à des périodes de sécheresse. De plus, les zones touchées sont en nette progression car l'un des problèmes majeurs est l'effet de serre qui engendre une élévation des températures qui accroissent les risques de sécheresse. La bonne gestion de la ressource en eau est une nécessité économique et écologique [1].

L'effet du déficit hydrique peut se traduire selon la stratégie adaptative de chaque espèce ou variété, par des modifications morphologiques (pour augmenter l'absorption d'eau et/ou pour diminuer la transpiration et la compétition entre les organes pour les assimilats), des modifications physiologiques et biochimiques (baisse de la teneur en eau des tissus, perturbation de la balance hormonale, augmentation de la température du couvert végétal, diminution de la teneur en chlorophylle et par conséquent la photosynthèse) [2,3].

Pour une agriculture durable il sera plus intéressant de s'orienter vers une gestion rationnelle des terres cultivées basées sur une connaissance profonde des interactions biologiques entre espèces et en utilisant des ressources naturelles disponibles. D'autre part, l'identification de variétés tolérantes au stress hydrique permettrait certainement d'améliorer la production des zones à risque [4].

Les analyses effectuées au cours des dernières années à propos de l'effet des contraintes de l'environnement sur la croissance végétale sous climat méditerranéen indiquent que l'azote pourrait être l'un des facteurs les plus limitants de la production végétale et bien qu'il soit possible d'augmenter la productivité de certains sols au moyen d'engrais azotés, les faibles bénéfices économiques qui en résultent font que la fertilisation est impossible dans beaucoup de conditions. En raison de ce type de limitation, une attention particulière doit être accordée à la fixation biologique de l'azote au moyen de l'utilisation d'associations légumineuses-*Rhizobia* [5].

A cause de l'importance de la fixation symbiotique de l'azote chez la luzerne, les recherches se sont orientées vers l'amélioration de la fixation chez les cultivars de cette plante, ainsi que la

sélection de souches efficaces de *Rhizobium meliloti*. Cependant, pour bénéficier au maximum de cette association symbiotique, il est aussi important d'améliorer les conditions de la symbiose.

L'objectif principal de ce travail est de présenter la variabilité dans le comportement des cultivars étudiés à différents niveaux de stress hydrique appliqués chez la luzerne. Notre approche est d'étudier la variabilité de réponses de la symbiose à rhizobia chez la luzerne cultivée sous contrainte hydrique.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Effet du stress hydrique sur la teneur relative en eau

La teneur relative en eau des feuilles constitue l'un des principaux paramètres d'estimation de la résistance à la sécheresse. Elle est considérée comme un indicateur physiologique important dans l'état d'hydratation des plantes en fonction des régimes hydriques disponibles dans le substrat [6,7].

L'analyse statistique des résultats obtenus (tableau 1) montre que la teneur relative en eau est influencée par la nature des variétés testées ($p < 0,05$). Ce paramètre dépend également et d'une manière très hautement significative du régime hydrique appliqué ($p < 0,001$). Cette contrainte réduit de manière remarquable la teneur relative en eau des plantes à laquelle sont soumises. Cette diminution est d'autant plus marquée que l'intensité du stress est élevée. Il faut noter que le comportement des variétés testées, en présence de la contrainte, se réalise de manières différentes.

Les résultats moyens obtenus de l'estimation de ce paramètre (tableau 2), montrent que les valeurs de la teneur relative en eau les plus élevées sont notées chez les échantillons témoins (SDH), avec une valeur maximale de l'ordre de $90,77 \pm 1,07\%$ marquée par la variété Diamant et une valeur minimale égale à $80,27 \pm 1,67\%$ observée chez la variété Dista.

Tableau 1. Analyse de la variance des paramètres étudiés des génotypes testés.

Variables	Effet du génotype	Effet hydrique	Effet génotype x hydrique
	Test F	Test F	Test F
Teneur relative en eau (TRE)	2,337*	116,456***	1,985*
Matière sèche (MS)	2,851**	67,125***	1,137ns
Activité de réduction de l'acétylène (ARA)	4,724***	75,487***	2,493**

*, **, *** = seuil de signification à 5, 1 et 0,1 % respectivement ; ns : non significatif

Tableau 2. La teneur relative en eau des plantes de *Medicago sativa* L. sous différents régimes hydriques.

Variétés	TRE				
	SDH	ADH 1	Evolution %	ADH2	Evolution %
Dista	80,27±1,67	74,57±0;89	-7,10	53,12±3.14	-33,82
Moapa	83,53±2,01	81,25±1,05	-2,72	50,01±1.58	-40,12
Diamant	90,77±1,07	88,44±0,84	-2,56	67,63±4.36	-25,49
Baldia	89,38 ±0,91	88,52±1,43	-0,96	71,37±1.19	-20,14
Saudiane	85,67±1,15	80,09±1,07	-6,51	59,10±2.10	-30,97

Les valeurs de la teneur relative en eau les plus faibles sont enregistrées au niveau des plantes stressées (ADH₁, ADH₂). Dans le traitement ADH₁, ces valeurs sont de l'ordre de 80,09±1,07% chez Saudiane et 88,52±1,43% chez le génotype Baldia.

Les décroissances de la teneur relative en eau s'avèrent plus importantes dans le lot ADH₂ et de manières controversées chez les génotypes conduits. Ainsi, parmi la collection, le génotype Baldia s'avère plus résistant pour le maintien de son hydratation, où on note une faible réduction de l'ordre de 20,14% par rapport à la valeur du lot témoin. Dans la même collection le génotype, Diamant présente également de bon niveau de résistance estimé à 25,49%.

La variété Moapa s'avère plus sensibles à la perte d'hydratation sous déficit hydrique. Elle inscrit des régressions de leur teneur en eau de 40,12%. Le reste des géotypes, Saudiane et Dista présentent des niveaux de résistance moyenne comprise limitées par des valeurs de 30,97% et 33,82%.

L'étude démontre que l'accroissement de l'intensité du stress, provoque une baisse importante de la teneur en eau des feuilles, essentiellement au niveau du lot ADH2. De nombreux travaux démontrent que ce paramètre physiologique constitue un critère efficace dans le criblage des géotypes tolérants la déshydratation en conditions de déficit hydrique [8,9,10,11]. Il constitue également une caractéristique indicatrice, en réponse immédiat à la déclaration des facteurs induisant la sécheresse [12]. La teneur relative en eau est d'un intérêt majeur dans les travaux de sélection, car il serait d'une forte héritabilité [13,14].

La diminution de la TRE est plus rapide chez les variétés sensibles que chez les variétés résistantes. Ainsi les géotypes qui maintiennent une TRE élevée dans la présence de stress hydrique sont des géotypes tolérants [15].

Parmi la variabilité conduite, les géotypes Baldia et Diamant, constituent de bons géniteurs pour le transfert de ce caractère. Ils représentent les géotypes les plus tolérants vis-à-vis du déficit hydrique appliqué, en minimisant les effets de ce stress sur la préservation de leur hydratation.

2.2. Effet du stress hydrique sur la matière sèche des plantes de la luzerne

L'étude statistique des résultats obtenus (tableau 1), démontre que l'élaboration de la matière sèche est significativement influencée par le stress hydrique appliqué ($p < 0,01$). La nature de la variabilité génétique conduite permet également des différences significatives d'expression de cette variable ($p < 0,05$).

Au niveau du traitement témoin (SDH) (tableau 3), les valeurs de la matière sèche sont comprises entre $1,97 \pm 1,45$ g (Diamant) et $1,70 \pm 1,10$ g (Saudiane).

A l'échelle du lot ADH1, les géotypes de la collection ont manifesté un accroissement des taux de la matière sèche, où le géotype Dista se distingue parmi cet ensemble avec une réduction de 21,16%.

L'application du déficit hydrique plus sévère (ADH2), est accompagnée d'une nette réduction

des valeurs de la matière sèche, chez l'ensemble des génotypes expérimentés. Ces régressions ont atteint des niveaux de 53,96% (Dista) et 50% chez Saudiane. Le génotype Diamant, s'avère le moins sensible à ce niveau de déficit hydrique, pour l'élaboration de la matière sèche, en inscrivant la plus faible réduction avec 35,53%.

Tableau 3. La matière sèche des plantes de *Medicago sativa* L. sous différents régimes hydriques

Variétés	MS				
	SDH	ADH 1	Evolution %	ADH2	Evolution %
Dista	1,89 ± 0,66	1,49± 0,41	-21,16	0,87±0,24	-53,96
Moapa	1,81±1,03	1,62±0,93	-10,49	1,01±0,19	-44,19
Diamant	1,97±1,45	1,84±0,79	-6,59	1,27±0,35	-35,53
Baldia	1,90±0,89	1,71±1,15	-10	1,10±0,10	-42,10
Saudiane	1,70±1,10	1,41±1,09	-17,05	0,80±0,21	-50

A fin d'analyser la relation entre la teneur relative en eau et la croissance de la luzerne dans cette expérience, la corrélation entre ces paramètres ont été calculées. L'équation de droite de régression de la croissance en fonction de la teneur relative en eau chez la luzerne présente dans la figure 1.

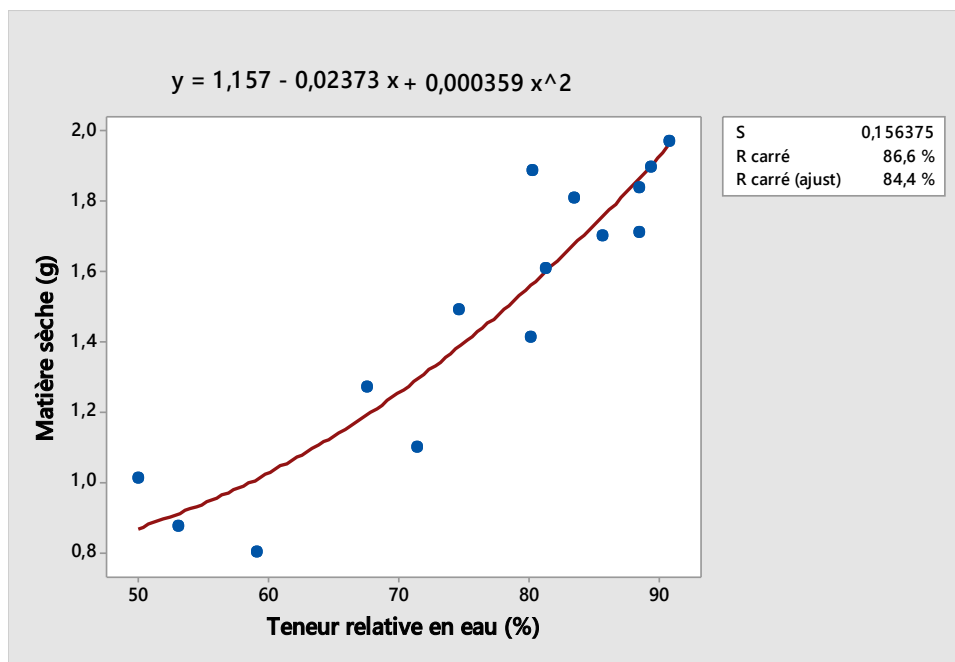


Fig. 1. Corrélation entre la matière sèche et la teneur relative en eau

Les analyse de corrélation montrent que la biomasse sèche est positivement corrélée avec la teneur relative en eau ($r^2 = 84,4\%$). Ceci dénote le rôle prépondérant de l'alimentation hydrique dans l'élaboration de la matière sèche. Le déficit hydrique et l'irrégularité des pluies constituent, de ce fait, des facteurs limitants majeurs pour la production agricole en zone semi aride et aride.

L'effet du déficit hydrique est plus pénalisant au niveau de la plante en limitant essentiellement, la croissance et la néoformation des différents organes. La matière sèche est l'un des indicateurs les plus fiables de ces effets.

La réduction de la matière sèche sous l'effet de la contrainte hydrique est rapporté par plusieurs auteurs notamment chez *Vicia faba* L. [16], *Cicer arietinum* L. [17], *Vigna unguiculata* L. [18], , *Abelmoschus esculentus* [19].

La production de la matière sèche est différemment affectée par les contraintes hydriques selon les souches rhizobiennes et le stade phénologique de la plante [20,21].

2.3. Effet du stress hydrique sur la fixation symbiotique de l'azote

D'après les résultats obtenus (tableau 1), on constate un effet très dépressif du déficit hydrique sur le processus de la fixation symbiotique de l'azote chez l'ensemble des génotypes testés ($p < 0,001$). Cette réduction s'avère d'intensités différentes chez les génotypes expérimentés,

faisant apparaître ainsi un effet génotypique ($p < 0,001$) et d'interaction entre les deux facteurs d'étude, significatif.

Tableau 4. Activité de réduction de l'acétylène des plantes de *Medicago sativa* L. sous différents régimes hydriques

Variétés	ARA				
	SDH	ADH 1	Evolution %	ADH2	Evolution %
Dista	32,53±1,03	21,15±2,03	-34,98	2,36±1.15	-92,74
Moapa	38,86±0,85	25,01±0,65	-35,64	4,17±1.09	-89,26
Diamant	43,18±2,03	30,19±1,35	-30,08	9±0,89	-79,15
Baldia	48,23±1,95	28,41±1,02	-41,09	15±0,12	-68,89
Saudiane	40,12±1,01	31,12±0,45	-22,43	5,32±0,45	-86,73

L'activité de réduction de l'acétylène (ARA) (tableau 4) chez l'ensemble des génotypes et à l'échelle du traitement témoin SDH est comprise entre 48,23±1,95µmols de C₂H₄/h/plant (Baldia) et 32,53±1,0395µmols de C₂H₄/h/plant (Dista). En conditions de déficit hydrique modéré (ADH1), ARA est réduites chez tous les génotypes testés. En conditions de déficit hydrique plus prolongé (ADH2), ARA a subit une forte réduction chez l'ensemble des génotypes expérimentés. Cette réduction s'exprime fortement chez le génotype Dista avec une valeur de 92,74%. Par contre, la plus faible régression est inscrite chez le genotype Diamant (79,15%).

La contrainte hydrique provoque une diminution de la fixation symbiotique de l'azote, avec une activité très réduite pendant le stress sévère.

La figure 2 montre une corrélation positive significative entre l'activité de réduction de l'acétylène et la teneur relative en eau ($r^2 = 84,4\%$). Cette corrélation confirme que la fixation symbiotique de l'azote chez la luzerne dépend essentiellement de la teneur relative en eau.

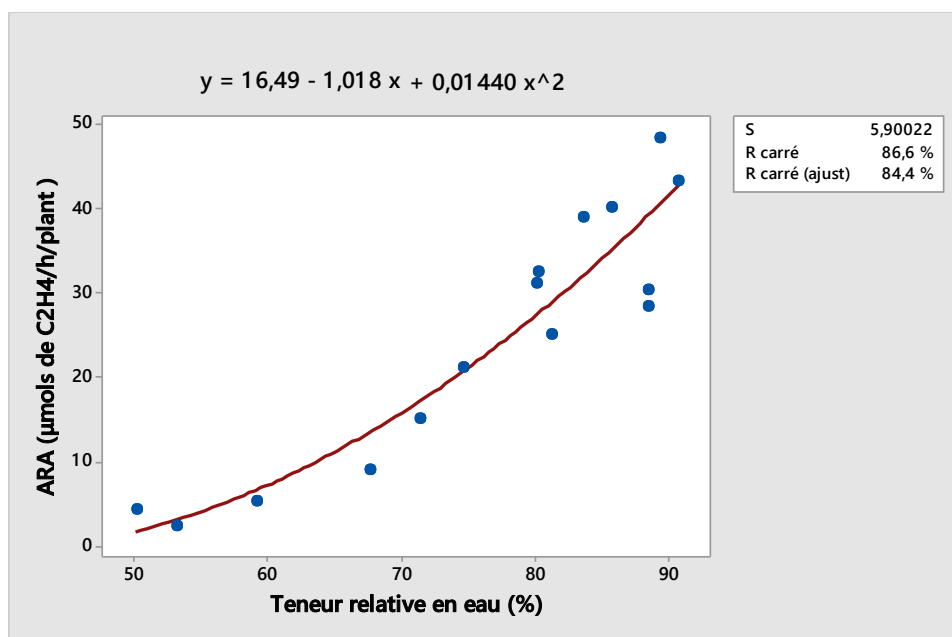


Fig.2. Corrélation entre l'activité de réduction de l'acétylène et la teneur relative en eau

L'effet du stress hydrique sur la symbiose dépend généralement de la phase de la croissance et de développement de la plante, mais aussi de la sévérité de la contrainte hydrique [22]. Un stress hydrique modéré réduit seulement le nombre de nodules formés sur des racines de soja, alors qu'un stress sévère réduit le nombre et la fixation d'azote [23,24]. La nodulation et la fixation d'azote est plus sensible au stress hydrique pendant la phase végétative que la phase reproductrice [25].

La fixation symbiotique de l'azote est fortement affectée par le déficit hydrique, à cause de la réduction de la leghémoglobine dans les nodules, de la diminution de l'activité spécifique des nodules et de la réduction de nombre et poids sec des nodules [26]. Le stress hydrique retarde aussi la formation des nodules chez les légumineuses. La réduction de nombre de nodules a été également observée chez la fève et le haricot exposés au stress hydrique [27].

Cette grande sensibilité de la fixation symbiotique de l'azote au stress a été expliquée par le fait que celui-ci provoque la plasmolyse des cellules corticales des nodosités et leur tassement, augmentant ainsi leur résistance à la diffusion de l'oxygène vers les bactéroïdes fixateurs [28], ce qui est confirmé par le fait que l'accroissement de la pression partielle d'oxygène autour des nodosités augmente l'activité de la nitrogénase [29,30].

Pour déterminer l'efficacité de la symbiose rhizobienne chez la luzerne dans cette étude, nous avons basé sur la corrélation entre la biomasse sèche et la fixation symbiotique de l'azote.

Les données de la figure 3 montrent une régression significative de la matière sèche en fonction de l'activité de réduction de l'acétylène des plantes de la luzerne ($r^2 = 85,3 \%$). Ceci confirme que la fixation symbiotique de l'azote est un facteur déterminant de l'accumulation de la matière sèche.

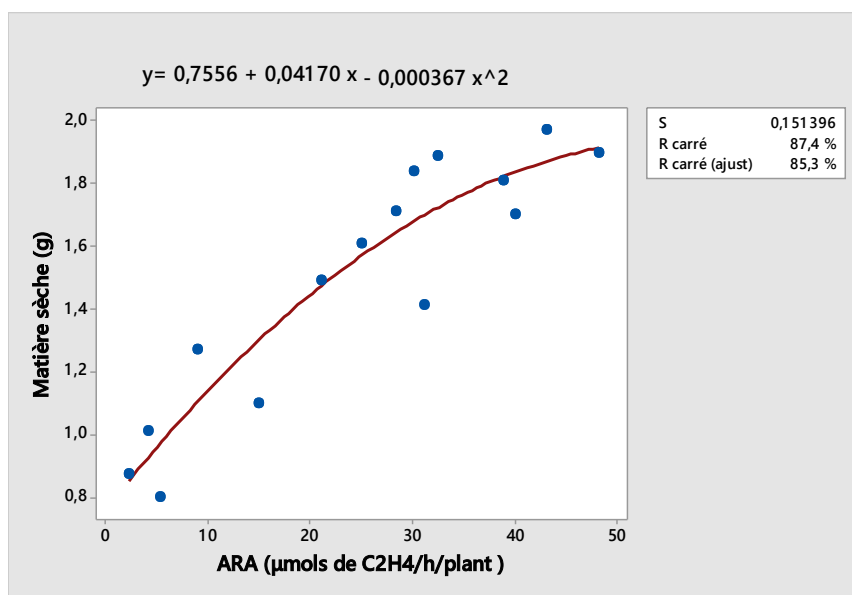


Fig.3. Corrélation entre l'activité de réduction de l'acétylène et la matière sèche

La pente des régressions peut être considérée comme un indicateur de l'efficacité de la fixation symbiotique de l'azote dans la croissance de la plante. Puisque cette pente indique le bénéfice de l'accumulation de la matière sèche résultant d'une augmentation de l'activité de la fixation d'azote.

3. EXPERIMENTAL

L'expérimentation a été réalisée sous un abri afin d'éviter les apports d'eau non contrôlés par les pluies, et de mieux maîtriser les quantités d'eau données aux plantes par la méthode du bilan hydrique. Le matériel végétal utilisé est constitué de cinq variétés de luzerne: Dista, Moapa, Diamant, Baldia, Saudiane.

La culture est réalisée dans des pots 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. La base des pots est perforée à raison de 7 trous pour faciliter le drainage des eaux excessives. Les pots sont remplis chacun d'un substrat composé en parties égales de sable, de matière organique et de terre ayant une capacité de rétention d'eau faible et une forte infiltration.

Les grains sont semés à raison de 5 graines par pot. Après la levée un éclaircissage basé sur l'homogénéité de la répartition du stade de développement a permis de réduire la densité à 3 plants par pot. Les pots portant les plants sont disposés en bloc randomisés au hasard avec 3 répétitions par traitement.

Les pots sont disposés en trois traitements avec et sans déficit hydrique (ADH₁, ADH₂, SDH). Au niveau de chaque traitement, chacun des géotypes est répété 3 fois.

SDH (traitement sans déficit hydrique), les plantes sont irriguées à la capacité au champ. Ce traitement est considéré comme témoin.

ADH1 (traitement avec déficit hydrique 1) les plantes subissent un déficit hydrique d'intensité de 50% de la capacité au champ.

ADH2 (traitement avec déficit hydrique 2) les plantes subissent un déficit hydrique d'intensité de 25% de la capacité au champ.

Un mois après le semis, l'ensemble des pots a reçu la même dose d'arrosage. Ensuite, les deux régimes hydriques ADH1 et ADH2 sont appliqués.

Au stade floraison, les plantes ont été déterrés, les feuilles et les racines sont soigneusement séparées, les racines sont immédiatement trempées à l'eau puis desséchées avec du papier absorbant afin d'éviter toute contamination avec le substrat de culture.

Les organes séparés de chaque plante sont immédiatement pesés et enveloppés dans du papier aluminium, numérotés et puis desséchés par le passage à l'étuve sous une température de 80°C pendant 48 heures. Le poids sec de chaque échantillon est déterminé après le séchage à l'aide d'une balance analytique de précision.

Les échantillons séchés sont broyés par la suite manuellement à l'aide d'un mortier en porcelaine jusqu'à l'obtention d'une fine poudre qui sera entreposée ensuite dans des piluliers hermétiquement fermés par des bouchons plasma et mise dans un congélateur pour les analyses.

Les paramètres que nous avons mesurés au cours de cette étude ont été retenus vue leur sensibilité au stress hydrique : teneur relative en eau, matière sèche, la fixation symbiotique de l'azote par la mesure de l'activité réductrice d'acétylène (ARA).

L'analyse de la variance a été utilisée afin de mettre en évidence d'éventuelles différences entre les traitements et les variétés. Les moyennes sont comparées selon la méthode de la plus petite différence significative.

4. CONCLUSION

Au terme de cette étude et à travers les résultats obtenus, nous avons noté que le stress hydrique perturbe les processus physiologique de croissance, de développement et plus particulièrement celui de la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique. Les différentes variétés étudiées réagissent différemment à ces contraintes. Cette diversité constitue un atout majeur pouvant être pour déterminer les mécanismes les plus efficaces déployés par la luzerne pour s'adapter au stress hydrique.

Nous avons pu mettre en évidence la supériorité des deux variétés Diamant et Baldia pour la production de matière sèche et la fixation de l'azote pendant une contrainte hydrique. Ces paramètres contribuent à la formation du rendement en fourrages et par conséquent conditionnent la productivité de la luzerne. De ce fait nous pouvons penser que ces variétés peuvent présenter un intérêt pour les régions où les contraintes hydrique constituent un facteur limitant de la production végétale.

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.

Au terme de cette contribution, il apparaît souhaitable de poursuivre la recherche des variétés et des populations capables d'exprimer une forte fixation en présence des facteurs limitants tel que le stress hydrique. Aussi dans notre région la diversité génétique des rhizobia peut encore révéler de nombreux caractères liés à l'adaptation des souches au déficit hydrique. L'amélioration de la fixation symbiotique de l'azote peut s'avérer une approche efficace pour améliorer le rendement en fourrage chez la luzerne.

5. REFERENCES

- [1] Bauerle W.L., Wang G.G., Bowden J.D., Hong C.M. An analysis of ecophysiological responses to drought in American chestnut. Edit. Ann. For. Sci. vol., 2006,63, 833-842.
- [2] Hamidou F., Dicko M.H., Zombre G., Traore A., Guinko S. Réponse adaptative de deux variétés de niébé à un stress hydrique. Edit. Cahiers Agricultures, 2005, 14 (6), 561- 567.
- [3] Slama A., Salem M., Ben Naceur M., Zid E. Les céréales en Tunisie: production, effet de la sécheresse et mécanisme de résistance. Edit. Sécheresse, 2005, 15 (16), 225- 229.
- [4] Boualla N., Benziane A., Et Derrich Z. Origine de la salinisation des sols de la plaine de M'leta, Oran Algérie Journal of Applied Biosciences, 2012, 53, 3787 – 3796.
- [5] Sanchez-Diaz M. et Aguirreolea J. Fijacion de nitrogeno en embeintes ariodos y semiariodos. In: Megias Guijo M., Palomares Diaz A.J. & Ruis Berraquero F., eds. Aportaciones biologia fijacion nitrogeno atmosférico. Sevilla, Spain: Publicaciones Universidad de Sevilla, 1991, 45-60.
- [6] Lawlor D., Cornic G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. Edit. Plant Cell Environ, 2002, 25, 275–294.
- [7] Mefti M., Abdelguerfi A., Chebouti A. Etude de la tolérance à la sécheresse chez quelques espèces de *Médicago truncatula* (L.)Gaertn. Edit. Revue Sécheresse, 2002, 15 (5) 173-176.
- [8] Sairam R.K., Chandrasekhar V., Srivastava G.C. Comparison of hexaploid wheat cultivars in their responses to water stress. Biologica plantarum, 2001, 44 (1), 89- 94.
- [9] Mekliche A., Boukecha D., Eit Hanifi-Mekliche L. Etude de la tolérance à la sécheresse de quelques variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.). L'effet de l'irrigation de complément sur les caractères phénologiques, morphologiques et physiologique. Annales de l'Institut National, Agronomique. El Harrach, 2003, 24 (1), 97-110.
- [10] Khan H.R., Link W., Hocking T.J., Stoddard F.L. Evaluation of physiological traits for improving drought tolerance in faba bean (*Vicia faba*L.). *Plant and Soil*, 2007, 292, 205-217.
- [11] Radhouane, L. Corrélation entre le stade germination et le stade adulte en présence de stress hydrique chez quelques écotypes autochtones tunisiens de mil (*Pennisetum glaucum* L. R. Br.) *Compte Rendus Biologie*, 2008, 331(8), 623-630.
- [12] Albouchi A., Bejaoui Z., Hedi El Aouni M. Influence d'un stress hydrique modéré ou

sévère sur la croissance de jeunes plants de *Casuarina glauca* Sieb. Edit. Science et changements planétaires, Sécheresse, 2003, 14 (3), 137-142.

[13] Araus J.L., Febrero A., Vendrell P. Epidermal conductance in different parts of durum wheat grown under Mediterranean conditions : the role of epicuticular waxes and stomata. *Plant Cell Environ*, 1991, 14, 545-558.

[14] El Hakimi A., Monneveux P., Galiba G. Soluble sugars, proline, and relative water content as traits for improving drought tolerance in *Triticum durum*. *J. Gen. Breed.*, 1995, 49, 234-244.

[15] Poormohammad K.S. Analyse génétique des réponses physiologiques dutournesol (*Helianthus annuus* L.) soumis à la sécheresse. Thèse de doctorat d'état, ENSAT, Toulouse. France, 2007, 213p.

[16] Mwanamwenge J., Loss S.P., Siddique K.H.M., Cocks P.S. Effect of water stress during floral initiation, flowering and podding on the growth and yield of faba bean (*Vicia faba* L.). *European Journal of Agronomy*, 1999, 11, 1-11.

[17] Slim N., Sifi B., Triki S. Criblage de variétés de pois chiche (*Cicer arietinum* L.) pour la résistance au stress hydrique. In Actes du séminaire international: Gestion des ressources et applications biotechnologiques en aridoculture et cultures oasiennes: Perspectives pour la valorisation des potentialités du Sahara. Institut des Régions Arides, Médenine 25-28 Décembre 2008, Tunisie. *Revue des régions arides*, 2008, 21, 734-744.

[18] Hamidou F., Dicko M.H., Zombre G., Traoré A.S., Guinko S. Réponse adaptative de deux variétés de niébé à un stress hydrique. *Cahiers Agricultures*, 2005,14, 561-567.

[19] Sankar B., Jaleel C.A., Manivannan P., Kishorekumar A., Somasundaram R., Panneerselvam R. Drought induced biochemical modifications and proline metabolism in *Abelmoschus esculentus*. *Acta Bot.Croat*, 2007, 66, 43-56.

[20] Saxena N.P., Johansen M.C., Saxena M.C., Silim S.N. Selection for drought and salinity tolerance in cool-season food legumes. In *Breeding for Tolerance in cool-season Food Legumes*. Eds. Singh K.B., Saxena M.C., 1993, 245-270.

[21] Roy S.K., Rahamans S.M.L., Salahudin A.B.M. Effect of rhizobium inoculation and nitrogen on nodulation, growth and seed yield of gram (*Cicer arietinum* L.). *Indian J. Agric.*

Sci., 1995, 65, 853-857.

[22] Zahran H.H. Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 1999, 63, 968–989.

[23] Sinclair T.R., Soffes A.R., Hinson K., Albrecht S. L., Pfehler M., Genotypic variation in soybean nodules number and weight. *Crop Sci*, 1991,31, 301-304.

[24] Pazdernik D. L., Graham P. H., Vance C. P., Ore J.H., Variation in the pattern of nitrogen accumulation and distribution in soybean. *Crop Sci.*, 1997, 31, 1482-1486.

[25] Pena -Cabriaes J.J., Castellanos J.Z. Effects of water stress on nitrogen fixation and grain yield of *Phaseolus vulgaris* L. *Plant and Soil*, 1993, 152, 151-155.

[26] Reddy T.Y., Reddy V.R., Anbumozhi V. Physiological responses of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) to drought stress and its amelioration: a critical review. *Plant Growth Regulation*, 2003, 41, 75-88.

[27] Sangakkara U.R., Hartwig U.A., Nosberger J. Soil moisture and potassium affect the performance of symbiotic nitrogen fixation in faba bean and common bean. *Plant and Soil*, 1996, 184, 123-130.

[28] Guerin V., Trinchant J.C., Rigaud J. Nitrogen fixation (C₂H₂ reduction) by broad bean (*Vicia faba* L.) nodules and bacteroids under water-restricted conditions. *Plant Physiology*, 1990, 92, 595-601.

[29] Drevon J.J., Deransart C., ROY G., Serraj R., Vadez V. Les réponses des échanges nodulaires à l'O₂ permettant de mieux comprendre diverses limitations de la fixation symbiotique de l'azote. In *Recent developments in biological nitrogen fixation reseach in Africa*. Eds. Sadiki M., Hillali A., 1994, 45-60.

[30] Hungria M., Vargas M.A.T. Environmental factors affecting Nitrogen fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. *Field Crops Research*, 2000, 65, 151-164.

How to cite this article:

Mouffok A et Belhamra M . Effect of water stress on rhizobia symbiosis in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *J. Fundam. Appl. Sci.*, 2020, 12(1), 242-256.

Résumé

Le déficit hydrique affecte considérablement la croissance des plantes : c'est, sans doute, l'un des facteurs majeurs qui limite la production végétale en conditions naturelles.

Dans ce travail, l'effet du stress hydrique sur la croissance et la symbiose à rhizobia, a été étudié chez cinq variétés et populations de *Vicia faba* L. et de *Medicago sativa* L. L'objectif de cette thèse est de mettre en évidence, les réponses au déficit hydrique chez la fève et la luzerne, en vue d'identifier des critères pour la sélection au sein de ces variétés et populations, celles les mieux adaptées à la sécheresse.

Les mécanismes étudiés ont porté principalement sur des aspects morphologiques, physiologiques, biochimiques et symbiotiques. L'effet du stress hydrique se traduit par un effet dépressif sur tous les paramètres de croissance (hauteur des plants, surface foliaire, ainsi que le poids sec), de la nodulation et de la fixation symbiotique d'azote (nombre des nodules/plant, poids sec des nodules et teneurs en leghémoglobine), les pigments chlorophylliens et les caroténoïdes sont également réduits. Une augmentation des teneurs en proline et en sucres solubles chez toutes les variétés et les populations est enregistrée. Cet effet varie en fonction des traitements hydriques, de la variété et de la population. Les résultats obtenus montrent que la population Doucen et la variété Luz de otono chez la fève, Diamant et Baldia chez la luzerne, montrent une tolérance au stress hydrique, contrairement aux variétés Moapa et Dista chez la luzerne, Manouth et Tolga chez la fève qui se sont avérées sensibles aux conditions de déficit hydrique. Cette étude pourrait servir à la définition de critères pertinents de la résistance à la sécheresse utilisables en sélection variétale. La variété Luz de otono et la population Doucen chez la fève, Diamant et Baldia chez la luzerne présentent des teneurs relatives en eau et en pigments chlorophylliens moins affectées par le stress hydrique, une meilleure production de la matière sèche aérienne et nodulaire, des teneurs en proline plus élevées, une meilleure efficacité d'utilisation de la symbiose rhizobienne. De ce fait ces caractères pourront servir de critères de sélection pour la tolérance au stress hydrique chez la fève et la luzerne.

Mots clés : Fève, Luzerne, Stress hydrique, Croissance, Symbiose, Fixation de N₂.



Abstract

The water deficit considerably affects the growth of plants. Without a doubt, it is one of the major factors which limit plant production under natural conditions. In this work, the effect of water's stress on the growth and the rhizobia symbiosis was studied in five varieties and strains of beans and alfalfa. The aim of this research is to shed light on the resistance's mechanisms against water's stress of beans and alfalfa in order to determine the criteria of selection within these species and strains best adapted to drought. The studied mechanisms are based on the morphological, physiological, chemical and symbiotic aspects. Water's stress negatively affected all aspects of growth (the plant's length, the leaf's size, and the dry weight), bacterial nodules and atmospheric nitrogen fixation (the nodes' number, nodes' dry weight and the amount of leghemoglobin), a decrease in the amount of chlorophyll and carotenoids, and an increase in the amount of proline and sugar in all species and strains. This impact also differed according to the hydrotherapy treatments, species and strains. The results showed that the Doucen strain, the Luz de otono type of the bean plant and the Diamant and Baldia of the alfalfa were resistant to water stress; whereas, Tolga and Manouth of the beans as well as Moapa and Dista of alfalfa showed the inability to resist water's stress. Therefore, the quantity of water and Chlorophyll, the production of the drought material and nodes were the best in Doucen strain, the Luz de otono for the bean plant, the Diamant and the Baldia for the alfalfa plant. Hence, these characteristics can be adopted as criteria for selecting the most resistant strains and varieties to water stress for beans and alfalfa.

Keywords: Beans, alfalfa, water's stress, growth, symbiosis, nitrogen fixation.



ملخص

نقص الماء يؤثر تأثيرا كبيرا على نمو النباتات، فبدون شك هو أحد العوامل الرئيسية التي تحد من إنتاج المحاصيل في ظل الظروف الطبيعية.

خلال هذا البحث قمنا بدراسة تأثير الإجهاد المائي على النمو والتعايش الريزوبي لخمس فصائل وسلالات من الفول والبرسيم، الهدف من البحث هو تسليط الضوء على آليات مقاومة الإجهاد المائي للفول والبرسيم، وذلك لتحديد معايير الاختيار داخل هذه الأنواع والسلالات الأفضل تكيفا مع الجفاف.

الآليات المدروسة تركز على الجوانب المورفولوجية، الفيزيولوجية، الكيميائية والتعايشية. فالإجهاد المائي اثر سلبا على جميع مظاهر النمو (طول النبتة، حجم الورقة، الوزن الجاف)، العقد البكتيرية وتثبيت الأزوت الجوي (عدد العقد، الوزن الجاف للعقد، كمية الليموقلوبين) ، وانخفاضا في كمية الكلوروفيل والكاغوتونويد ، وارتفاعا في كمية البرولين والسكر عند جميع الأنواع والسلالات. كما اختلف هذا التأثير تبعا للمعالجات المائية والأنواع والسلالات. فقد أظهرت النتائج أن سلالة الدوسن والنوع ليز دووتونو لنبات الفول وديامو وبلدية لنبات البرسيم مقاومة للإجهاد المائي، في حين أبدت طولقة ومنوث للفول وكذا موبا وديستا للبرسيم عدم القدرة على مقاومة الإجهاد المائي ، فكمية الماء و الكلوروفيل، إنتاج المادة الجافة والعقد كانت أحسن عند سلالة الدوسن والنوع ليزدووتونو لنبات الفول وديامو وبلدية لنبات البرسيم. لهذا يمكن اعتماد هذه الخصائص كمعايير اختيار السلالات والأنواع الأكثر مقاومة للإجهاد المائي للفول والبرسيم.

الكلمات المفتاحية: الفول ، البرسيم، الإجهاد المائي ، نمو ، التعايش، تثبيت الأزوت.

