

Etude de la symbiose à Rhizobium chez l'Arachide (Arachis hypogaea L.)

Aspects microbiologiques, physiologiques, et
agronomiques

Présenté par

AMRI – TILIOUINE Wahiba

Directeur Mr OUNANE S.M. Maître de conférences

Co-Directeur Mme Djebara M. Chargée de cours

Année universitaire 2007-2008

Devant le jury d'examen Président Mr BELLAL M. Professeur Examineur Mr BOUZNAD Z
Professeur Examineur . Mme BENMOHAMED A. Chargée de cours

Table des matières

REMERCIEMENTS . .	5
Résumé . .	6
Summary . .	7
ص غل م ل ا . .	8
Liste des abréviations . .	9
INTRODUCTION . .	10
I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE . .	12
I.1. Partenaires de la symbiose Arachide-Rhizobiums . .	12
I.1.1. L'arachide (<i>Arachis hypogaea</i> L.) . .	12
I.1.2. Le partenaire microbien: LeRhizobium . .	16
I.2. Installation de la symbiose . .	19
I.3. Fonctionnement du nodule . .	22
I.4. Sénescence des nodosités fixatrices . .	23
I.5. Effet du stress hydrique sur la symbiose . .	24
II. MATERIEL ET METHODES . .	26
II.1. Echantillons de sols . .	26
II.2. Analyses physico-chimiques des sols . .	26
II.3. Evaluation du potentiel nodulant des sols . .	27
II.4. Milieux de culture . .	27
II.5. Extraction des souches . .	28
II.6. Authentification des isolats . .	28
II.7. Caractérisation phénotypique . .	29
II.7.1. Mesure de la croissance . .	29
II.7.2. Pouvoir acidifiant ou alcalinisant des isolats . .	29
II.7.3. Photo-induction . .	30
II.7.4. Tolérance aux températures . .	30
II.7.5. Tolérance à l'acidité et à l'alcalinité . .	30
II.7.6. Tolérance à la salinité . .	30
II.7.7. Utilisation des hydrates de carbone . .	30
II.8. Analyse numérique . .	31
II.9. Réponse de l'arachide à l'inoculation . .	31
II.9.1. Mesure de l'activité réductrice d'acétylène . .	32
II.9.2. Mesure de l'infectivité . .	34
II.9.3. Effet des souches sur la croissance de la plante et le rendement . .	34
II.10. Stress hydrique . .	34
II.11. Traitements statistiques des données . .	36
III. RESULTATS ET DISCUSSION . .	37
III.1. Caractéristiques physico- chimiques des échantillons de sols . .	37
III.2. Evaluation du potentiel nodulant des sols . .	37
III.3. Caractérisation phénotypique . .	39

III.3. 1. Caractérisation morphologique . . .	39
III.3.2. Etude de la croissance . . .	39
III.3.3. Pouvoir acidifiant ou alcalinisant des isolats . . .	41
III.3.4. Photo-induction . . .	42
III.3.5. Tolérance aux températures extrêmes . . .	42
III.3.6. Tolérance à l'acidité et à l'alcalinité . . .	42
III.3.7. Tolérance à la salinité (NaCl) . . .	43
III.3.8. Assimilation des hydrates de carbone . . .	44
III.3.9. Analyse numérique . . .	45
III.3.10. Conclusion . . .	47
III.4. Réponse à l'inoculation . . .	47
III.4.1. Nodulation . . .	47
III.4.2. Poids frais des nodules par plant . . .	48
III.4.3. Poids sec des nodules par plant . . .	48
III.4.4. Activité réductrice d'acétylène . . .	51
III.4.5. Hauteur des plants . . .	52
III.4.6. Rendement en matière sèche . . .	52
III.5. Rendement et ses composantes . . .	53
III.5.1. Rendement en gousses . . .	53
III.5.2. Rendement en graines . . .	54
III.5.3. Poids de cent gousses . . .	55
III.5.4. Poids de cent graines . . .	55
III.5.5. Taux de fructification des gynophores . . .	56
III.5.6. Indice de récolte . . .	57
III.5.7. Taux de remplissage des gousses . . .	57
III.5.8. Conclusion . . .	58
III.6. Stress hydrique . . .	60
III.6.1. Effet du stress hydrique sur la nodulation . . .	60
III.6.2. Effet du stress hydrique sur l'A.R.A. . . .	61
III.6.3. Effet du stress hydrique sur l'A.N.R. . . .	63
III.6.4. Effet du stress hydrique sur la hauteur des plants . . .	65
III.6.5. Effet du stress hydrique sur la production de biomasse . . .	66
III.6.6. Conclusion . . .	68
CONCLUSION GENERALE . . .	70
Références Bibliographiques . . .	72
Annexes . . .	83
Annexe 1 : Composition des milieux de culture. . . .	83
Annexe 2 : Résultats de la caractérisation phénotypique. . . .	83
Annexe 3 : Analyse de la variance . . .	86
Annexe 4 : Analyse de la variance . . .	95

REMERCIEMENTS

Je remercie avant tous Allah de m’avoir donné le succès, et la volonté pour faire ce travail.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à monsieur OUNANE S. M. maître de conférence à l’Institut National Agronomique d’El Harrach, pour son suivi et ses précieux conseils tout au long de la réalisation de ce travail.

Ma profonde reconnaissance va à madame DJEBARA M. chargée de cours à la FSB de l’USTHB, pour son suivi, et pour les efforts fournis affins de concrétiser ce travail.

Mes sincères remerciements vont à:

Monsieur BELLAL M. professeur à l’Institut National Agronomique d’El Harrach, d’avoir accepter de présider ce jury.

Monsieur BOUZNAD Z. professeur à l’Institut National Agronomique d’El Harrach, d’avoir accepter d’examiner ce travail.

Madame BENMOHAMED A. chargée de cours à l’Institut National Agronomique d’El Harrach, d’avoir accepter d’examiner ce travail.

Je remercie profondément monsieur LADADA M.S. directeur de la station expérimentale de l’ I.T.G.C. de oued smar. El Harrach de leur aide pour l’initiation de ce travail.

J’exprime ma plus profonde gratitude à mes meilleures amies Nacera, Farida, Hafida, Mounira, Samia, pour leur aide moral.

Mes vifs remerciements reviennent à toute ma famille et à mon Mari que j’ai impliqué dans ce travail.

Mes remerciements s’adressent également à tous ceux qui ont contribué à l’achèvement de ce travail, trouvent ici l’expression de nos profondes reconnaissances.

Résumé

Le présent travail a porté sur l'étude de la symbiose Rhizobium-*Arachis hypogaea* L. Dix neuf isolats derhizobiumnodulant l'arachide, isolés de différents sols, provenant de régions arachidières en Algérie (El Tarf et Guelma) ont été caractérisés phénotypiquement.

L'analyse de leur tolérance à la salinité (NaCl), aux pH acides et alcalins, aux températures extrêmes, ainsi qu'à l'utilisation des différents hydrates de carbone, a permis de mettre en évidence une gamme diversifiée de souches de rhizobiums d'arachide. L'analyse numérique montre deux grands groupes à 38% de similarité; un groupe qui réunit les isolats à croissance rapide et intermédiaire et un autre groupe qui réunit les isolats à croissance lente qui appartiendraient probablement au genre *Bradyrhizobium*.

Une réponse positive à l'inoculation (de l'arachide) par la majorité des souches testées a été observée, avec une augmentation du rendement en graines et en gousses. Ces souches qui ont entraîné cette supériorité sont classées parmi celles qui ont montré également des caractéristiques symbiotiques supérieures (capacité fixatrice d'azote, nodulation et rendement en matière sèche satisfaisant).

Certaines souches confirment leur supériorité en conditions de stress hydrique. Ce dernier se manifeste par une baisse rapide des deux activités enzymatiques ARA et ANR, ainsi qu'une diminution de la nodulation, de la hauteur et du poids sec des plants.

Mots clés : Rhizobium, Arachide, Caractérisation, Symbiose, Fixation d'azote, Inoculation, Stress hydrique.

Summary

This present work is to study symbiosis Rhizobium-*Arachis hypogaea* L. Phenotypic characteristics of nineteen rhizobia strains of nodulated a groundnut, isolated from various soils collected from different areas classified with great production of groundnut in Algeria (El Tarf and Guelma), were studied.

The analysis of their tolerance to salinity, the extreme temperatures, the acid and alkaline pH and assimilation of carbohydrates, allowed the description of a wide diversity among tested isolates of rhizobia strains of groundnut. Numerical analysis shows two groups at 38% of similarity; a group which joins together the isolates with fast and intermediate growth and another group which joins together the isolates with slow growth which would probably belong to the *Bradyrhizobium* kind.

A positive response to the inoculation (of groundnut) by the majority of the strains tested, with an increase in the output out yield of grain and pods. These strains which involved this superiority are classified among those which also showed higher symbiotic characteristics (capacity of nitrogen fixation, nodulation and dry matter yield satisfying). Some strains confirm their superiority into water stress conditions. Water stress appears by a fast fall of the two enzymatic activities ARA and ANR, reduction of nodulation, height plants and dry matter yield.

Key words: Rhizobium, Groundnut, Characterization, Symbiosis, Nitrogen fixation, Inoculation, Water stress.

ص خل مل ا

تسعة عشر عزلة ريزوبيوم قلدره (*Rhizobium-Arachis hypogaea* L) البحث المقدم يتناول دراسة التعيش ريزوبيوم/فول سوداني (علي تشكيل العقد البكتيرية عند فصائل محلية من الفول السوداني مستخلصة من اترية متنوعة لأهم المنطق المتنتجة لهذا لأخير في الجزائر (الطارف و قالمة)، خضعت لدراسة مورفوفيزيولوجية.

دراسة المقاومة للملوحة، الحرارة، للحموضة والفاغدية وللاستعملل مختلف السكريلت سمحت بتشكيل مجموعة متنوعة من عزلات ريزوبيوم للفول للسوداني . للتحليل للرقمي يظهر في مستوى 38^o للنشابه مجموعتين كبيرتين تضم للأولى العزلات ذات للنمو السريع والمتوسط و الثانية النمو البطيء. هذه الأخيرة تنتمي ربما إلى فصيلة *Bradyrhizobium*. تضم العزلات ذات

عملية للرزق بلستعمال معظم العزلات المختبرة أدت إلى زيادة في مردود الحبوب و للقرون. العزلات التي أدت إلى هذه للزيادة لها خصائص للتعابش معتبرة (للقدرة علي تثبيت للازوت الجوي، عدد العقد البكتيرية، مردود إنتاج البنية). البعض منها أكدت مقاومتها لنقص الماء. هذا لأخير لم تأثير سلبي سريع على عمل الانزيمات المسئولة عن تثبيت و امتصاص الازوت، وعلى عدد للعقد البكتيرية، طول الساق ومردود إنتاج البنية.

نقص للماء، للرزق، تثبيت الازوت، التعابش، دراسة الخصائص، الفول للسوداني، *Rhizobium*: الكلمات للمفتاح

Liste des abréviations

NGR234 New Guinea Rhizobium
ADNr16S ADN ribosomique 16S
ARNr16S ARN ribosomique 16S
EPS Exopolysaccharides
A.R.A Activité Réductrice Acétylène
A.N.R Activité Nitrate Réductase
Kwh Kilo watt heure
Mt Million de tonnes
nm Nanomètre
mn Minute
mm Millimètre
mM Millimolaire
µm Micromètre
µmole Micromole
µl Microlitre
U/ha Unité par hectare
DO Densité Optique
ppm Partie par million
A% Argile %
L% Limon %
S% Sable %
CE Conductivité Electrique
PCGS Poids de cent gousses
PCGR Poids de cent graines
YEMA Yeast-Extract Mannitol Agar

INTRODUCTION

L'Arachide (*Arachis hypogaea* L.) est l'une des plus importantes oléagineuses cultivées dans le monde, notamment dans les régions arides et semi-arides de l'Afrique. Son succès réside dans le fait que c'est une oléoprotéagineuse aux nombreuses utilisations alimentaires et fourragères (graine, huile, tourteaux, fanes et coques). Sa culture prend de l'ampleur en Algérie (Benmohamed *et al.*, 2004), où elle est cultivée dans plusieurs wilayas El Tarf, Skikda, Adrar, Ghardaïa, et El Oued. Cependant, la production nationale reste en deçà des besoins, car les rendements sont faibles et très variables. En effet, le rendement moyen est de l'ordre de 11 qx/ha avec un maximum de 18q x/ha enregistré à Ghardaïa en 2006 (M.A.D.R, 2007), alors que le rendement potentiel de l'arachide est de 60 à 70 qx/ha (Aune, 2007).

Etant une légumineuse, l'arachide peut utiliser l'azote atmosphérique grâce à la symbiose avec des bactéries de la famille des *rhizobiaceae*.

Il est généralement admis que l'ensemble du processus de fixation biologique de l'azote par les fixateurs libres et les associations symbiotiques peut s'élever à 175 millions de tonnes par an à l'échelle de la planète. La participation de l'association légumineuse-rhizobium à cette fixation atteindrait 50% environ avec des différences sensibles entre les associations concernées dans les rendements mesurés au champ (Trinchantet *al.*, 1997). Cette association peut fournir jusqu'à 90% de l'azote nécessaire à la plante. Ainsi, l'arachide peut fixer de 22 à 92% de ses besoins en azote de l'atmosphère. Mais la quantité d'azote fixé est très variable d'une espèce à l'autre et pour une même espèce car l'activité symbiotique est influencée par les souches bactériennes, la plante hôte et les facteurs du milieu (Waniet *al.*, 1995).

L'intérêt du processus de fixation symbiotique de l'azote se trouve actuellement amplifié par l'exigence permanente d'une agriculture durable et respectueuse de l'environnement. Il apparaît comme un moyen très économique pour produire des protéines végétales. En effet, dans les pays développés, la sur-utilisation des engrais azotés chimiques a conduit à une pollution des sols, des nappes phréatiques et cours d'eau. Aujourd'hui, la pollution par les nitrates est un problème réellement inquiétant, et la réintroduction de légumineuses s'avère être un bon moyen pour limiter cette nuisance.

Par ailleurs, la capacité de fixation symbiotique de l'azote des légumineuses peut être améliorée en inoculant le sol avec des souches performantes de rhizobiums. Les souches locales, plus adaptées à leur environnement, occupent plus facilement les sites de nodulation sur les racines des légumineuses comparativement aux souches introduites, qui peuvent avoir des difficultés pour les supplanter (Bado, 2002).

La perturbation de la fixation de l'azote par les contraintes environnementales, en particulier le stress hydrique représente la limitation majeure de l'extension et de l'instabilité du rendement des légumineuses. 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 ou encore en affaiblissant l'activité fixatrice de ces dernières.

Dans la perspective d'utiliser la symbiose rhizobium-arachide nous nous sommes proposés :

- d'évaluer le potentiel rhizobien des sols des régions arachidières en Algérie.
- de constituer une collection de souches de rhizobiums nodulant l'arachide et la caractériser sur le plan phénotypique.
- d'étudier le niveau d'infectivité et d'efficacité de ces souches, et d'évaluer par la suite leur influence sur la croissance des plantes et le rendement.
- d'étudier l'influence du stress hydrique sur l'établissement de la symbiose.

I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Partenaires de la symbiose Arachide-Rhizobiums

I.1.1. L'arachide (*Arachis hypogaea* L.)

I.1.1.1. Morphologie et développement de la plante

L'arachide cultivée, est une légumineuse annuelle herbacée à fructification souterraine, de la famille des fabacées (Clavel et Gautreau, 1997; Schilling et al., 1997).

La partie aérienne comprend une tige principale toujours érigée et deux ramifications primaires, érigées ou rampantes (**Figure 1**). Le système racinaire comporte un pivot à chevelu abondant, qui peut s'enfoncer à plus de 1,30 mètre de profondeur et peut porter des nodules sur les racines primaires et secondaires, essentiellement sur les quinze premiers centimètres (**Figure 2**). Leur nombre peut varier entre 800 à 4 000 et leur dimension peut aller de la taille d'une tête d'épingle à environ 4 mm. Ils portent des radicelles blanches, courtes et épaisses en forme de massue qui peuvent jouer un rôle non négligeable dans la nutrition de la plante (Gillier et Sylvestre, 1969).

Les feuilles sont nombreuses, pennées avec deux paires de folioles elliptiques opposées et subsessiles. Les fleurs jaunes - orangées papilionacées, prennent naissance à l'aisselle des feuilles. La fécondation a lieu avant l'épanouissement des fleurs (Cleistogamie) bien qu'il existe un certain pourcentage d'allogamie de 1 à 4. Après la fécondation, la base de l'ovaire s'allonge pour donner naissance à un organe appelé gynophore qui porte l'ovaire vers le bas (Wissuwa et al., 2001). La gousse prend une position horizontale entre 2 à 7 cm sous la surface du sol. Elle est composée d'une coque indéhiscente contenant de 1 à 4 graines (Gillier et Sylvestre, 1969).

La graine est dormante dans le groupe Virginia, non dormante chez les Valencia et Spanish. Elle lève au bout de trois à cinq jours. La plante a un développement végétatif limité jusqu'au début de la floraison (25 à 30 jours après le semis). Il s'intensifie ensuite avec émission de fleurs puis formation des gousses. La floraison dans les conditions normales de croissance passe par un maximum entre 40 et 60 jours après semis pour ensuite décroître, sans cesser totalement, jusqu'à la récolte. La plante émet de 400 à 1 000 fleurs dont 10 à 20 % donneront des gousses qui ne parviendront pas toutes à maturité (Schilling, 2003). Seules les premières formées, correspondant à la floraison « Utile ».

Dans les conditions optimales des cultures pluviales, l'arachide achève son cycle en 90 jours pour les variétés hâtives, en 120 jours pour les semi-tardives et en 140 jours pour les tardives (Schilling et al., 1997).



Figure 1 : Plant d'arachide à ramifications érigées
(Encyclopédie, 2006)

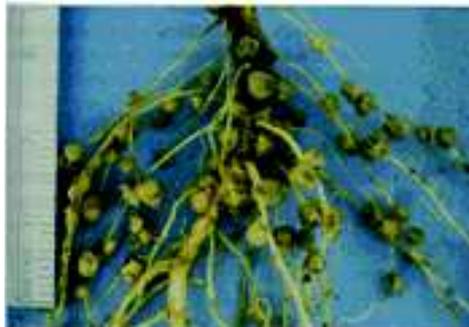


Figure 2 : Nodulation provoquée par *Bradyrhizobium sp.* chez l'arachide
(Perry et al., 2004).

I.1.1.2. Caractéristiques génétiques, systématique et types variétaux

L'espèce sauvage *Arachis monticola* tétraploïde, est considérée comme l'ancêtre probable de l'arachide cultivée (Clavel et Gautreau, 1997).

D'après Krapovickas et Rigoni (1957) cités par Clavel et Gautreau (1997) et Schilling *et al.* (1997); l'arachide cultivée est un allotétraploïde ($2n=4x=40$), hybride interspécifique, entre deux parents sauvages diploïdes inconnus, stabilisé par un doublement chromosomique.

Toutes les variétés cultivées appartiennent à l'espèce *Arachis hypogaea*, c'est la seule espèce cultivée du genre *Arachis* et sa variabilité intraspécifique est très grande. Elle même, divisée en deux sous espèces, *hypogaea hypogaea* correspondant au type Virginia, et *hypogaea fastigiata*; correspondant aux types Valancia et Spanish (Demol et *al.*, 2002; Schilling, 2003).

La diversification variétale est considérable, 17 000 variétés maintenues dans la collection mondiale. L'ensemble des variétés cultivées est généralement classé, en fonction de critères aisés à déterminer, en trois grands types; Virginia, Spanish et Valencia, dont les caractéristiques et la position taxonomique sont données par le **tableau 1**.

Le type Virginia diffère sensiblement des types Valencia et Spanish de point de vue disposition des organes reproducteurs. Ceux-ci sont distribués sur les rameaux latéraux de façon alternée chez le type Virginia faisant succéder deux bourgeons végétatifs, deux bourgeons fructifères, alors que chez les types Valencia et Spanish on notera une série de bourgeons fructifères (Schilling, 2003).

Genre	<i>Arachis</i>		
Espèce	<i>Hypogaea</i>		
Sous-espèces	<i>hypogaea</i>	<i>Fastigiata</i>	
Variétés	<i>Hypogaea</i>	<i>Vulgaris</i>	<i>Fastigiata</i>
Types	Virginia	Spanish	Valencia
Port	Erigé/rampant	Erigé	Erigé
Ramification	Alterné	Séquentielle	Séquentielle
Fleurs sur tige principale	Non	Oui	Oui
Couleur feuillage	Vert foncé	Vert clair	Vert clair
Cycle	120-150 J	90 J	90 J
Dormance	Oui	Non	Non
Gousses (cavités)	2 c.	2 c.	3-4 c.

Tableau 1: Classification et principales caractéristiques de l'espèce *Arachis hypogaea*.

Selon: Schilling, 2003.

I.1.1.3. Origine et diffusion mondiale

L'Arachide est originaire de l'Amérique tropicale. Sa dissémination s'est faite à partir de la côte Péruvienne en direction de l'Extrême - Orient d'une part, et à partir de la côte Brésilienne en direction de l'Afrique de l'Ouest d'autre part. La première introduction en Europe aurait été faite à partir du Brésil (Clavel et Gautreau, 1997; Schilling et al., 1997).

Par la suite, elle a couvert la totalité des zones tropicales à partir de deux centres de diversifications secondaires de l'espèce; l'Afrique de l'Ouest et le Sud-est Asiatique.

Actuellement, cette culture déborde très largement son aire d'origine, puisqu'on la retrouve jusqu'aux 40^{ème} parallèles nord et sud et sur tous les continents lorsque les étés chauds permettent à la plante de boucler son cycle malgré la latitude élevée (Schilling, 2003).

I.1.1.4. Utilisation

L'arachide est une oléoprotéagineuse qui se prête à de nombreuses utilisations alimentaires. Sa graine à la fois riche en huile (50%) et en protéine (25%) fait l'objet d'emplois très diversifiés selon les pays producteurs (Schilling et al., 1997; Clavel et Gautreau, 1997).

Son fruit connu sous la dénomination de « cacahuète » peut être consommé directement (sans aucune préparation particulière) ou après une très légère torréfaction.

L'huile d'arachide est très appréciée pour la fabrication de certains produits alimentaires en raison de sa très bonne tenue aux hautes températures et sa stabilité (Schilling et al., 1997)

Le tourteau, contenant près de 50% de protéines est un aliment du bétail apprécié des éleveurs et des fabricants d'aliments concentrés (Clavel et Gautreau, 1997).

Les coques vides, résultant du traitement des gousses, est un sous produit non négligeable. En Afrique de l'Ouest, elles fournissent une partie de l'énergie aux huileries locales (1Kg de coque= 1KWh) (Schilling et al., 1997).

La valeur fourragère des fanes d'arachide est équivalente à celle de la luzerne (Schilling et al., 1997). Leur valeur marchande peut avoisiner celle de l'arachide en coque à certaines périodes de l'année dans les régions tropicales et subtropicales (Clavel et Gautreau, 1997).

La quasi totalité des transactions internationales en graines ou en coques porte sur l'arachide de bouche, l'arachide d'huile étant le plus souvent triturée sur place dans les pays producteurs (Schilling et al., 1997).

I.1.1.5. Production de l'arachide

Dans le monde

La production mondiale d'arachide non décortiquées (en coque) a dépassé 34 millions de tonnes en 2007. Elle a connu une progression remarquable ces dernières années.

Elle est dominée par huit pays qui couvrent à eux seuls 83% de la production mondiale. La Chine vient en première position et fournit 38% de cette production, elle dédie à cette culture plus de 5 millions d'hectares. L'Inde vient en deuxième position et contribue pour 19%, avec une superficie de plus de 6 millions d'hectares.

Le Nigeria, USA, Indonésie, Myanmar, Argentine, (Ghana, Soudan, Sénégal, Tchad, Viet Nam,) viennent ensuite et contribuent respectivement avec 11%, 5%, 4%, 3%, 2%, (1%) à la production mondiale (**Tableau 2**).

Tableau 2 : Production mondiale d'arachide non décortiqué pour la période 2006-2007.

Pays	Production en tonnes 2006	% Production mondiale	Production en tonnes 2007	% Production mondiale
Chine	14 737 561	43 %	13 090 000	38 %
Inde	4 909 000	14 %	6 600 000	19 %
Nigeria	3 825 000	11 %	3 835 600	11 %
États-Unis d'Amérique	1 575 980	5 %	1 696 728	5 %
Indonésie	1 470 000	4 %	1 475 000	4 %
Myanmar	910 000	3 %	1 000 000	3 %
Argentine	496 176	1 %	714 286	2 %
Ghana	520 000	2 %	440 000	1 %
Soudan	364 000	1 %	460 000	1 %
Sénégal	460 481	1 %	427 093	1 %
Tchad	450 000	1 %	450 000	1 %
Viet Nam	464 900	1 %	490 000	1 %
Autres pays	4 288 216	12 %	4 177 300	12 %
Total	34 471 314	100 %	34 856 007	100 %

Selon : FAOSTAT, (2008).

Pour ce qui est du rendement, la moyenne mondiale pour les cinq dernières années est d'environ 14Qx/ Ha.

Les échanges d'arachide portent sur une faible part de la récolte. Pour l'année 2001, environ 4 millions de tonnes soit 11 % de la production s'est faite essentiellement sous forme d'arachides en coques (2,4 millions de tonnes). Les échanges de produits dérivés sont assez limités ; beurre d'arachide : 49 000 t, huile d'arachide : 270 000 t. Les principaux exportateurs sont la Chine (1,6 Mt), l'Argentine (0,5 Mt) et les États-Unis (0,4 Mt). Ces derniers dominent le marché par la qualité des produits proposés et la maîtrise de la filière. Les principaux importateurs sont les Pays-Bas (0,6 Mt), l'Indonésie (0,3 Mt), le Royaume-Uni et le Japon (année 2001) (Encyclopédie, 2006).

· En Algérie

La production de l'arachide en Algérie n'est pas négligeable mais connaît des fluctuations, un minimum de 23 830 Qx est enregistré en 1997 et un maximum de 47 490 Qx en 1999 avec une moyenne dépassant 37 000 Qx entre 1993 et 2006. Ces fluctuations sont liées essentiellement à des variations des superficies consacrées à cette culture, mais ces dernières n'ont pas beaucoup influé sur l'évolution des rendements durant la même période. Celles-ci tourne autour de 11 Qx/Ha (**Tableau 3**).

Tableau 3 : Evolution des superficies cultivées, productions et rendements d'arachide en Algérie durant la période allant de 1993 à 2006.

Année	Superficie (Ha)	Production (Qx)	Rendement (Qx/Ha)
1993	3 030	32 550	10,70
1994	2 840	33 280	11,70
1995	2 650	33 930	12,80
1996	2 880	30 780	10,60
1997	2 290	23 830	10,40
1998	3 380	41 350	12,20
1999	4 260	47 490	11,10
2000	4 020	38 940	9,60
2001	4 250	46 210	10,90
2002	3 750	46 160	12,30
2003	3 380	38 420	11,40
2004	4 081	42 690	10,50
2005	2 837	33 040	11,60
2006	2 718	29 950	11,00
Moyenne	3 311,86	37 044,29	11,20

Selon : M.A.D.R. 1993 à 2007.

Le recours aux importations est une nécessité pour combler le déficit de la production qui reste très insuffisante par rapport aux besoins nationaux. Selon les données statistiques du ministère de l'agriculture et du développement rural (commerce extérieur agricole) l'Algérie a importé 89 351 Qx pour l'année 2001.

I.1.2. Le partenaire microbien: LeRhizobium

I.1.2.1. Définition

On appelle communément rhizobiums toutes les bactéries qui sont capables d'induire la formation de nodosités racinaires, capables de fixer et de réduire l'azote moléculaire en ammoniac directement assimilable chez les légumineuses. Ce sont des bactéries en forme de bâtonnets de 0.5 à 0.9 sur 1.2 à 3.0 μm , Gram négatif et aérobies. Ils sont généralement mobiles par une ciliature polaire ou péritriche. Ils forment des colonies incolores, blanches ou de couleur crème, sur milieu de culture contenant du mannitol et de l'extrait de levure (Prescott *et al.*, 2003; Duhoux et Nicole, 2004).

On distingue deux groupes de rhizobium sur la base de la vitesse de croissance :

- Les rhizobiums à « croissance rapide », dont les colonies apparaissent trois à cinq jours après l'inoculation sur milieu YEMA. Ce groupe de rhizobium est caractérisé par une forte production de polysaccharides extracellulaires et très souvent, ils acidifient le milieu de culture (Vincent, 1979).
- Les rhizobiums à « croissance lente », dont les colonies apparaissent après sept jours d'incubation sur milieu YEMA. Elles ont une tendance à alcaliniser le milieu de culture et produisent peu de polysaccharides extracellulaires (Vincent, 1979).

I.1.2.2. Taxonomie

La classification des rhizobiums est restée longtemps basée particulièrement sur la spécificité des souches à réaliser des symbioses avec un groupe de légumineuses (groupe d'inoculation croisée) (Jordan, 1984). La mise en évidence de souches à large spectre d'hôte cas de la souche de *Bradyrhizobium* NGR234 qui nodule plus de 100 légumineuses ainsi qu'une non légumineuse, a conduit à inclure des techniques phénotypiques (analyse des protéines par SDS-PAGE et analyse des LPS) et génotypiques (hybridation ADN/ADN, ARN r16s/ADN, séquençage de l'ARN r16s) pour apporter une base solide à la taxonomie et à la phylogénie des rhizobiums (Graham, 1992 ; Elkan, 1992 ; de Lajudie *et al.*, 1998).

Sur cette base les rhizobiums se répartissent en dix genres (**Tableau 4**), qui appartiennent à plusieurs groupes phylogénétiques dont font également partie des bactéries non symbiotiques. Ils se répartissent dans la sous-classe des alpha-Protéobactéries et des beta-Protéobactéries (Moulin *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2001).

<i>Rhizobium</i>		incipales Plantes hôtes
Genres	Espèces	
<i>Rhizobium</i>	<i>R. leguminosarium</i>	
	<i>biovar trifolii</i>	Trèfles
	<i>biovar viciae</i>	Vesce, Pois, Lentille, etc.
	<i>biovar phaseoli</i>	Haricot
	<i>R. lupini</i>	Lupin
<i>Sinorhizobium</i>	<i>S. melilotii</i>	Luzerne, Melilot, Trigonelli
	<i>S. ferdii</i>	Soja, Vigna
	<i>S. terangae</i>	Sesbania, Acacias
<i>Allorhizobium</i>	<i>A. undicola</i>	<i>Neptunia natans</i>
<i>Mesorhizobium</i>	<i>M. loti</i>	Lotier, Anthyllis, Lupin
	<i>B. elkanni</i>	Soja, Vigna, Macroptilium
<i>Bradyrhizobium</i>	<i>B. japonicum</i>	Soja, Vigna, Macroptilium
<i>Azorhizobium</i>	<i>A. caulinodans</i>	<i>Sesbania rostrata</i>
<i>Blastobacter</i>	<i>B. denitrificans</i>	<i>Aeschynomene indica</i>
<i>Methylobacterium</i>	<i>M. nodulans</i>	Crotalaria
<i>Burkholderia</i>	<i>B. sp.</i>	Aspalathus
<i>Ralstonia</i>	<i>R. taiwanensis</i>	Mimosa

Tableau 4 : Classification simplifiée des bactéries fixatrices d'azote symbiotique des légumineuses.

Selon: Munive (2002) ; In Duhoux et Nicole (2004).

Cette classification est loin d'être définitive, s'affine sans cesse et s'enrichit régulièrement de nouveaux taxons au gré de nouvelles techniques et surtout de l'isolement de nouvelles souches. En effet, jusqu'à présent, seuls les rhizobiums isolés d'à peine 1% des 20.000 espèces de légumineuses ont été classés dans la taxonomie. Récemment des souches isolées des légumineuses du genre *Hedysarum* appartenant à la sous classe des gamma-protéobactéries ont été mises en évidence (Benhinzia et al., 2004).

Les souches de rhizobium associées à l'arachide appartiennent au genre *Bradyrhizobium* dans lequel plusieurs espèces sont actuellement reconnues, *Bradyrhizobium japonicum* (Jordan, 1982), *Bradyrhizobium elkani* (Kuykendall et al., 1992), *Bradyrhizobium liaoningense* (Xu et al., 1995). Ces trois espèces nodulent le soja.

Une nouvelle espèce *Bradyrhizobium yuanmingense* a été isolée du genre *Lespedeza* (Yao et al., 2002; Euzéby et Findall, 2004). Les autres espèces reconnues de ce groupe sont *Bradyrhizobium betae* (Rivas et al., 2004) et *Bradyrhizobium canariense* (Vinuesa et al., 2005). D'autres souches à croissance lente nodulant *Arachis hypogaea* (Urtz et Elkan, 1996), *Lupinus* (Barrera et al., 1997), *Astragalus*, *Oxytropis* et *Onobrychis* (Laguerre et al., 1997), *Amphicarpaea* (Sterner et Parker, 1999) et autres sont encore non classées. Elles sont désignées aussi par *Bradyrhizobium* sp. suivi du genre de la plante hôte entre parenthèses.

Par ailleurs, des travaux ont montré que l'arachide est également nodulée par des souches à croissance rapide (Taurianet *al.*, 2006).

I.2. Installation de la symbiose

La mise en place de la symbiose fixatrice d'azote est un phénomène complexe qui implique des interactions anatomiques, morphologiques, et biochimiques importantes entre les deux partenaires (Rosenberg, 1997; Hopkins, 2003). Les principales étapes sont :

- Chimiotactisme

L'attraction des bactéries par les racines des plantes hôtes semble impliquer un chimiotactisme positif. Les rhizobiums sont des bactéries saprophytes libres du sol. En présence des racines de l'hôte, la multiplication des bactéries et la colonisation de la rhizosphère sont accrues.

Les racines exsudent des acides aminés, des glucides et des acides organiques qui peuvent servir de nutriments aux rhizobiums. Une autre famille de composés chimiques impliqués dans l'attraction des rhizobiums est constituée par les **flavonoïdes** (Hopkins, 2003). Les composés flavonoïques appartiennent, en général, à trois groupes chimiques, les flavones, les flavanones et les isoflavones. Chez *Phaseolus vulgaris* six types de flavonoïdes ont été identifiés (daidzeine, coumestrol, naringénine, genisteine, liquiritigénine et isoliquiritigénine) (Bolanos-Vasquez et Werner, 1997). Ces substances sont actives à des doses très faibles 10^{-8} M à 10^{-7} M. (Vijn et *al.*, 1993; Carlson et *al.*, 1994; Mylona et *al.*, 1995). En outre certains flavonoïdes ont des effets antagonistes sur l'induction de l'infection (Djordjevic et *al.*, 1987; Rhijn et van Der leyden, 1995).

- Infection du système racinaire

Deux modes d'infection sont connus à ce jour :

- L'infection par recourbement du poil absorbant (Shepherd's crook) en cross
- L'infection intercellulaire (Crack entry)

Le développement des nodules par infection des poils absorbants est le plus étudié. Il caractérise les nodules des légumineuses tempérées telle que *Médicago* et *Trifolium*.

Les lectines du côté du végétale et la rhamnadhésine localisée à la surface des cellules des rhizobiums permettraient l'attachement des bactéries aux racines (Hopkins, 2003; Perryet *al.*, 2004). Avant d'envahir leur hôte, les rhizobiums émettent des signaux moléculaires qui sont des lipo-chitino-oligosaccharides diffusibles (LCO) appelés facteurs de nodulation ou facteurs Nod(s) (Prescott et *al.*, 2003; Hopkins, 2003) (**Figure 3**).

Ce sont des signaux mitogènes qui stimulent la différenciation des cellules du cortex en cellules méristématiques dont l'activité s'intensifie pour donner le **primordium nodulaire**.

Les rhizobiums envahissent alors le cortex par le biais d'une invagination en forme de tube nommée ' ' **cordon d'infection**' qui s'allonge jusqu'à atteindre le primordium. A ce niveau, il se ramifie et bourgeonne des petites vésicules contenant chacune une ou plusieurs bactéries (**Figure 4**). Qui se retrouvent dans la cellule végétale par un phénomène

d'endocytose. Ces bactéries cessent alors de se diviser, grandissent et se différencient en cellules spécialisées dans la fixation d'azote nommées **bactéroïdes (Figure 5)**.

La différenciation en bactéroïdes est marquée par une augmentation du taux d'ADN, et de nombreuses modifications métaboliques, comprenant la synthèse d'enzymes et d'autres facteurs nécessaires à la fixation d'azote.

Une membrane pér bactéroïdienne enveloppe les bactéroïdes. Elle sert de plaque d'échange entre la bactérie et le cytoplasme de la cellule hôte (Prescott *et al.*, 2003; Hopkins, 2003; Perry *et al.*, 2004).

Il existe quelques différences dans la morphologie des nodosités certaines peuvent entourer complètement le collet comme chez le lupin, ou être individualisées sur la racine et prendre une forme arrondie (déterminée) comme chez le Soja et le Haricot ou une forme allongée (indéterminée) chez les légumineuses tempérées telle que la Luzerne et la Fèverole.

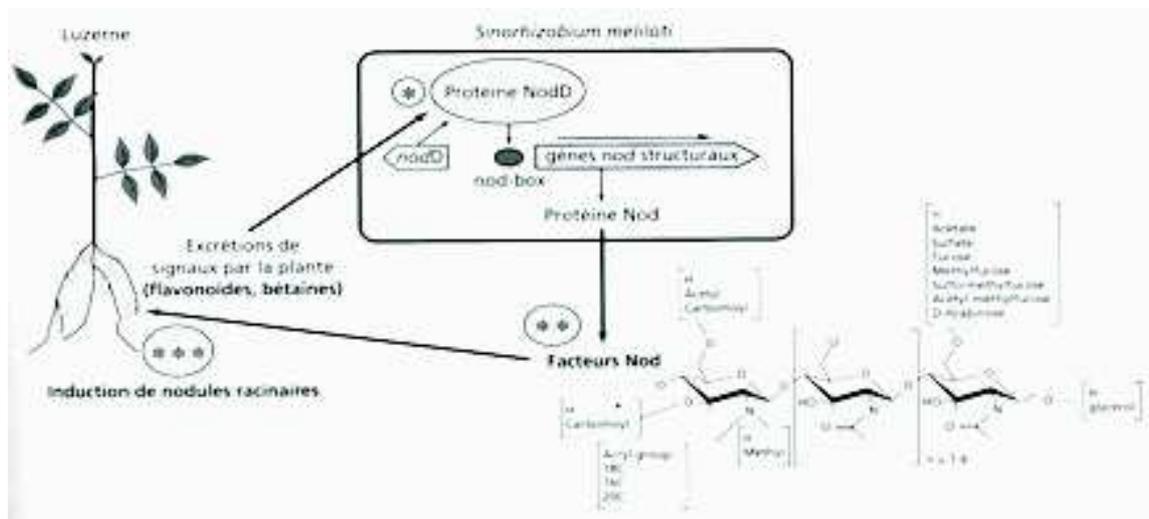


Figure 3: Le message moléculaire dans la symbiose rhizobium-légumineuse. (Luzerne) (Dommergues *et al.*, 1999 In Duhoux et Nicole, 2004).

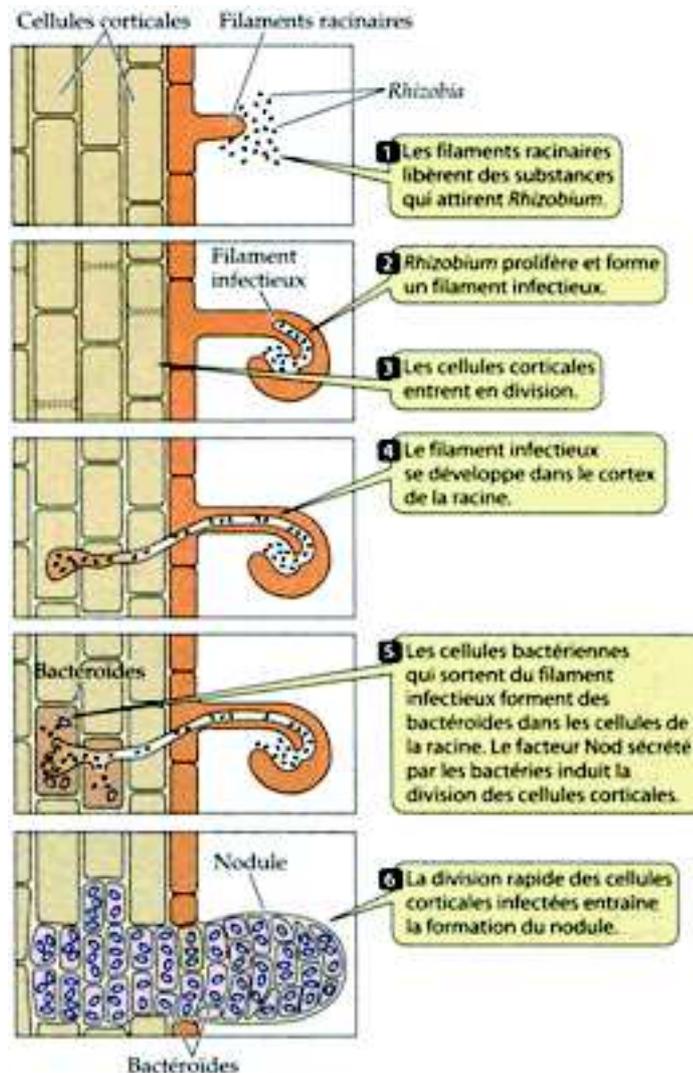


Figure 4 : Schéma des différentes étapes conduisant à la formation du nodule (Perry et al., 2004).

C'est le mode de fonctionnement du méristème qui explique ces différences morphologiques : l'activité méristématique continue amène à distinguer des nodosités de type indéterminé (**Figure 6A**), de forme digitées (*Médicago*) ou coralloïdes (*Vicia*) des nodosités de type déterminé (**Figure 6B**) chez lesquelles le méristème a une durée d'activité limitée. Dans ce dernier cas les cellules infectées engendrent d'autres cellules infectées, et la nodosité en grandissant par expansion acquiert une forme sphérique comme chez *Glycine* ou *Phaseolus* (Trinchant et al., 1997; Rosenberg, 1997; Diouf et al., 2003).

Le nombre de nodules et leur masse sont contrôlés par la plante en fonction des conditions environnementales et son état physiologique (Duhoux et Nicole, 2004).

Infection chez l'arachide

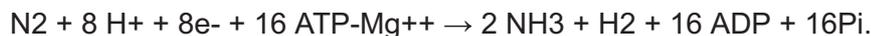
Le mode d'infection "Crack entry", est un mode d'infection intercellulaire spécifique aux légumineuses tropicales comme *Sesbania rostrata* et les légumineuses appartenant à la tribu des *Aschynomeneae*. Le microsymbiote infecte l'hôte par voie fissurale ou par les blessures épidermiques (Chandler et al., 1982; Uheda et al., 2001). Les fissures se situent,

généralement au point d'émergence des racines latérales des cellules corticales (Allen et Allen, 1958 cité par Dommergues et Mangenot, 1970 ; Schilling et *al.*, 1997). Il n'y a pas de formation du cordon d'infection. Les rhizobiums pénètrent les cellules du cortex externe vraisemblablement par le processus " d'endocytose". Les nodules sont de forme ovoïde, ou arrondie (type déterminé). Ce mécanisme serait vraisemblablement celui de l'arachide (Uheda et *al.*, 2001).

I.3. Fonctionnement du nodule

La conversion de l'azote moléculaire est réalisée grâce à un complexe enzymatique nommé nitrogénase. C'est une enzyme complexe, formée de deux métalloprotéines nommés protéine I (dinitrogénase) et II (dinitrogénase réductase), qui comportent trois groupements prosthétiques différents.

La nitrogénase est une enzyme lente, nécessite pour chaque molécule de diazote réduite, au moins seize ATP. Le bilan global de la réaction catalysée par la nitrogénase est :



La source première de l'énergie utilisée dans la fixation d'azote est constituée des glucides produits par la plante hôte au cours de la photosynthèse (Hopkins, 2003). Les bactéries symbiotiques fixatrices d'azote peuvent consommer près de 20% de l'ATP produite par la plante hôte (Prescott *et al.*, 2003).

L'un des problèmes cruciaux auxquels les organismes fixateurs d'azote doivent faire face est la sensibilité de la nitrogénase à l'oxygène moléculaire. Cette sensibilité extrême pose un problème aux organismes fixateur d'azote car dans le nodule les bactéries respirent.

Le maintien d'une faible pression en oxygène dans le nodule est donc crucial. Il est assuré :

1. Par une barrière à la diffusion de l'oxygène située dans le cortex interne du nodule.
2. Par une respiration bactérienne rapide.
3. Par la présence de la leghémoglobine, protéine qui facilite le transport de l'oxygène aux bactéroïdes, à une pression partielle, sans endommager le complexe nitrogénase (Duhoux et Nicole, 2004).

La leghémoglobine; synthétisée par la plante hôte, est localisée dans les cellules hôtes infectées par les bactéroïdes. Elle peut constituer jusqu'à 30% des protéines de cellule hôte et conférer au nodule une couleur rose (Figure 7).

Tous les fixateurs d'azote produisent de l'hydrogène, tous ne libèrent pas l'hydrogène dans l'atmosphère. De 25 à 30% d'ATP et des électrons fournis à la nitrogénase peuvent être consommés par la production d'hydrogène. Beaucoup de fixateurs d'azote possèdent une enzyme oxygène-dépendante nommée hydrogénase d'absorption qui récupère une partie de l'énergie perdu par la production d'hydrogène. Cela résulte du couplage de l'oxydation de H_2 et de la production d'ATP. Les électrons libérés sont reversés dans le pool de réducteurs de la nitrogénase.

L'utilisation des biotechnologies afin d'accroître le nombre de souches de rhizobium capables de recycler l'hydrogène, ouvre la possibilité d'augmenter globalement l'efficacité de la fixation biologique de l'azote des plantes d'intérêt agronomique (Hopkins, 2003).

I.4. Sénescence des nodosités fixatrices

Chez les légumineuses herbacées, la durée d'activité d'une nodosité est relativement brève, de l'ordre de quelques semaines. Cette courte période d'activité est compensée par l'apparition de générations successives de nodosités participant à une nutrition azotée régulière jusqu'à la maturation des graines.

Chez les nodosités de type indéterminé, la zone de sénescence située à la partie proximale, va s'accroître au cours du temps. Dans les nodosités de type déterminé, c'est l'ensemble du tissu central qui sera désorganisé après quelques semaines.

Des analyses de fractions cytosoliques nodulaire ont révélé l'existence d'activités protéolytiques croissantes avec l'âge des nodosités (Vance et al., 1986). Elles sont responsables de la lyse des protéines solubles et plus particulièrement de la leghémoglobine dont la disparition entraîne une perte importante de l'activité fixatrice.



Figure 5: Structure des bactéroïdes d'un nodule observé au microscope électronique à balayage.

Photographie A. Syred /SPL/Photo Researchers, Inc (Perry et al., 2004).

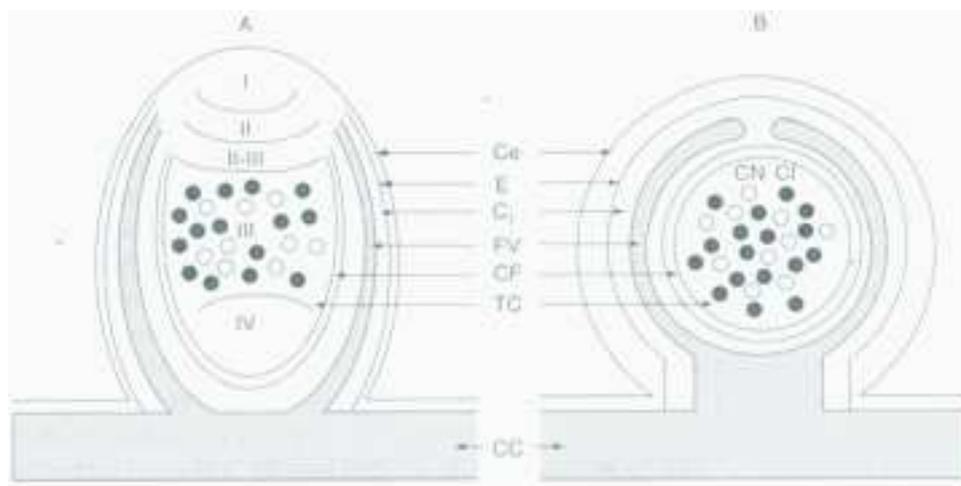


Figure 6 : Coupe longitudinale schématique d'une nodosité de type indéterminé

(A) et de type déterminé (B). I= Zone méristématique, II= zone d'infection, II-III= zone fixatrice d'azote, IV= zone de sénescence. Ce= cortex externe, E= endoderme, Ci= cortex interne, FV= faisceau vasculaire, CF= couche frontière, TC= tissu central, CC= cylindre central de la racine, CI= cellule infectée, CN= cellule noninfectée (Frassen et *al.*, 1992).

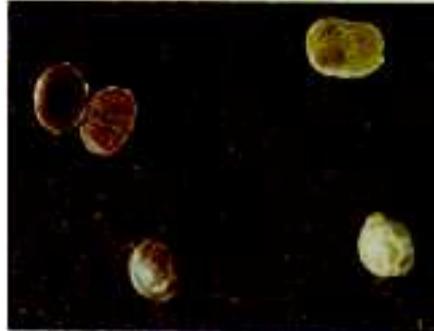


Figure 7: Nodule fixateur d'azote

(à gauche) de couleur rouge. Nodules inactifs (à droite) sont dépigmentés (Perry et *al.*, 2004)

L'ultra structure des nodosités est aussi affectée lors de cette sénescence et la membranepéribactéroïdienne serait la cible privilégiée des protéases.

Des altérations de l'environnement racinaire (rareté de l'eau, excès de nitrates) provoquent une sénescence précoce avec l'induction de ces mêmes activités protéolytiques (Trinchant *etal.*, 1997).

I.5. Effet du stress hydrique sur la symbiose

La nutrition azotée chez les légumineuses, par l'assimilation des nitrates du sol et la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique, est fortement influencée par de nombreux facteurs environnementaux, parmi lesquels, le stress hydrique. Ce dernier a lieu chaque fois que la vitesse de transpiration de la plante dépasse celle de l'absorption en eau; autrement dit, lorsque les besoins en eau de la plante ne peuvent être satisfaits par la réserve en eau du sol.

Le stress hydrique se traduit généralement par une réduction de la croissance, mais aussi des échanges gazeux et du métabolisme général de la plante. Il agit différemment en fonction de son intensité et du stade physiologique.

En conditions de déficit hydrique prolongé et intense, la survie de la population bactérienne (rhizobiums) est affectée (Van Gestel et *al.*, 1993). En outre, le mouvement de ces micro-organismes est entravé, induisant de ce fait une baisse de l'infection des racines (Dommergues et Mangenot, 1970). Le stress hydrique affecte l'initiation, le développement et le fonctionnement nodulaire ainsi que la capacité photosynthétique des feuilles (Serraj et Drevon, 1994).

L'effet inhibiteur du stress hydrique sur lanodulation 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).

Par ailleurs, 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.

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Echantillons de sols

Les échantillons de sols utilisés dans cette étude ont été prélevés à 30 cm de profondeur dans des exploitations arachidières situées essentiellement dans la région Nord-Est de l'Algérie. Nous avons pris le soin de prélever également les populations d'arachide qui y sont cultivées (**Figure 8**).

Les sites de prélèvement ainsi que les caractéristiques des différentes populations sont représentés sur le **tableau 5**.

Tableau 5 : Sites de prélèvement et caractéristiques des différentes populations d'arachide.

Lieu de collecte	Type de sol	Port	PCGS	PCGR	Type	Cycle	Dormance	Gousses
Berrihane	Sableux	Erigé	57 à 65g	27 à 33g	Spanish	Court	Non	Bigraine - monograine
Sebaà	Sableux	Erigé	70 à 76g	32 à 35g	Spanish	Court	Non	Bigraine - monograine
Réghia	Sableux	Erigé	71 à 75g	33 à 37g	Spanish	Court	Non	Bigraine - monograine
Gréat	Sableux	/	/	/	/	/	/	/
El Kala	Sableux	Erigé	75 à 60g	34 à 38g	Spanish	Court	Non	Bigraine - monograine
Souarekh	Sableux	Erigé	95 à 98g	38 à 43g	Spanish	Court	Non	Bigraine - monograine
Guelma G1	Sableux	Erigé	68 à 99g	34 à 43g	Spanish	Court	Non	Bigraine - monograine
Guelma G2	Limono-Sableux	Erigé	97 à 99g	39 à 46g	Spanish	Court	Non	Bigraine - monograine
Guelma G3	Sableux	Erigé	93 à 97g	38 à 45g	Spanish	Court	Non	Bigraine - monograine
Adrar	Limoneux	Erigé	145 à 157g	60 à 65g	Spanish	Court	Non	Bigraine - monograine

En plus de ces sites, nous avons prélevé un échantillon de sol de la station expérimentale de l'Institut National Agronomique (INA).

II.2. Analyses physico-chimiques des sols

Les analyses physico-chimiques des sols ont porté sur les caractéristiques suivantes: granulométrie, pH eau, conductivité électrique, calcaire total, carbone organique, azote total, phosphore et potassium. Elles ont été réalisées au niveau du département de phytotechnie

(INA) et du laboratoire de biologie des sols (INRA), selon les protocoles de Duchaufour (1970) et Aubert (1978).

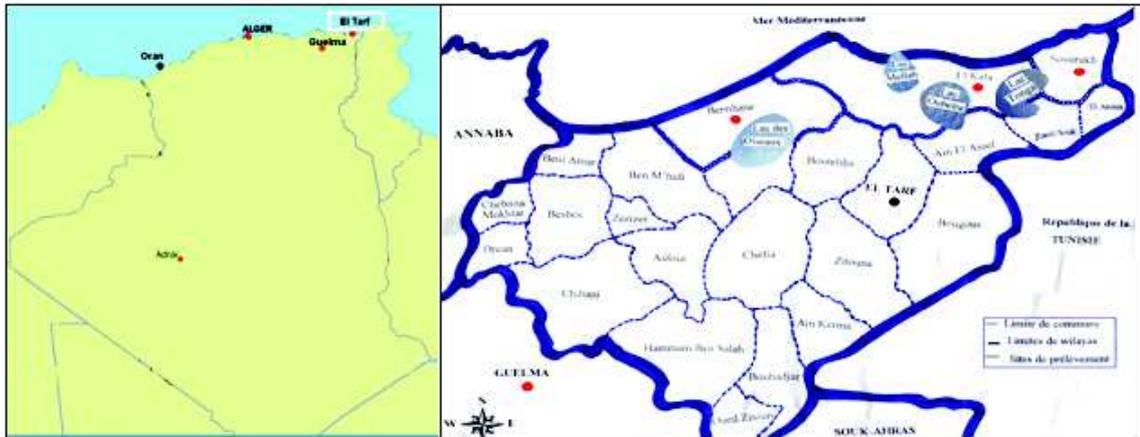


Figure 8: Sites de prélèvement des échantillons de sols et des populations d'arachides.

- **El Tarf** : - Berrichane (Berrichane, Sebaà, Réghia, Gréat)
- - El Kala.
- - Souarekh.
- **Guelma** : 3 Sites.
- **Adrar** : 1 Site.
- **INA**

II.3. Evaluation du potentiel nodulant des sols

L'évaluation du potentiel nodulant des sols est effectuée par la technique de piégeage sélectif, qui consiste à cultiver l'espèce végétale choisie dans différents échantillons de sols. Trois graines d'arachide (*Arachis hypogaea* L. type Spanish à cycle court) sont mises en culture dans les sols qui ont été préalablement séchés à l'air libre, tamisés à 2mm puis réparties dans des pots en plastique d'une contenance d'un demi-litre, à raison de 3 pots par échantillon de sol. Ces derniers sont ensuite placés dans une serre en verre à la station expérimentale de l'INA à une température de 18 à 22°C et arrosé tous les quatre jours. Au bout de 8 semaines, les plantules sont déterrées avec leurs systèmes racinaires et la présence ou l'absence de nodosité est notée.

II.4. Milieux de culture

Pour la culture des souches de rhizobiums, nous avons utilisé le milieu de culture Yeast-Extract Mannitol Agar (YEMA) dont la composition est la suivante:

Milieu YEMA (Vincent, 1970)

Mannitol	K ₂ HPO ₄	MgSO ₄	0,5 g	0,2 g
7H ₂ O	Extrait de		g 0,4	g 0,1
levure	NaCl	Eau	g 1000ml	15g 10ml à
distillée	Agar-			0.25%
agar	Rouge	Congo		

Le pH est ajusté à 7 et la stérilisation est réalisée à 120°C pendant 20mn.

Nous avons utilisé également le milieu **YEMB** pour la culture des souches rhizobiennes en milieu de culture liquide. Ce dernier est dépourvu d'agar-agar et du rouge congo.

II.5. Extraction des souches

Pour l'extraction, l'isolement et la purification des souches de rhizobiums, nous avons adopté les méthodes préconisées par le programme biologique international (PBI) (Vincent, 1970).

- Stérilisation des nodules

Le système racinaire des plants déterrés est lavé abondamment à l'eau courante. Les nodosités obtenues sont excisées, stérilisées superficiellement par passage dans l'éthanol à 90% pendant 30 secondes puis dans une solution de HgCl₂ à 0.1% pendant 3 minutes et enfin rincées dans plusieurs bains d'eau distillée stérile car le HgCl₂ est très toxique. Il est actuellement interdit par la FAO.

- Extraction et purification

Les nodules ainsi stérilisés sont écrasés dans une goutte d'eau physiologique stérile à l'aide d'une tige en verre flambée à l'alcool. Le broyat obtenu est étalé sur une boîte de Pétri contenant le milieu YEMA. Après 3 à 7 jours d'incubation à 28°C, les colonies d'aspect mucoïde et de couleur rose clair caractéristique des souches de rhizobiums sont isolées et purifiées par repiquages successifs sur milieu YEMA. Les colonies ainsi purifiées sont conservées à 4°C dans des tubes à essai contenant du milieu YEMA incliné.

La nomenclature des isolats tient compte du site de prélèvement de l'échantillon de sol et d'un numéro qui fait référence à des caractéristiques de la souche utilisée :

Exemple : SBHA1.1

S : Souche

BH : origine de la souche (site de prélèvement Berrihane)

A : Arachide

: caractéristique particulière de la souche.

II.6. Authentification des isolats

Le test d'authentification consiste à vérifier que l'isolat bactérien présumé être un rhizobium est capable d'induire une nodulation lorsqu'il est réinoculé à la plante hôte (Vincent, 1970). Les graines d'arachide (*Arachis hypogaea* L. type Spanish) sont inoculées avant le semis par immersion pendant trois heures dans un inoculum liquide d'une culture bactérienne en phase exponentielle de croissance mélangé à de la tourbe stérile. Elles sont transférées dans des pots contenant du sol de la station expérimentale de l'INA et au pouvoir nodulant nul envers l'arachide, à raison de trois répétitions pour chaque isolat.

II.7. Caractérisation phénotypique

II.7.1. Mesure de la croissance

Une préculture de 24 heures de chacun des isolats est ensemencée dans le milieu YEMB réparti à raison de 100ml dans des erlens de 500ml. Les erlens sont ensuite incubés sous agitation rotative de 200 rpm à 28°C.

La croissance des isolats est suivie par la mesure de l'absorbance à 620nm et un dénombrement des bactéries vivantes sur milieu solide. Le principe est basé sur le fait qu'une cellule bactérienne viable donne naissance à une colonie lorsque cette dernière est ensemencée sur milieu de culture solide optimum. Ainsi, une série de suspension dilutions décimales des cultures bactériennes est réalisée à partir desquelles 0.1ml est ensemencé par étalement sur boîtes de pétri contenant le milieu YEMA. Trois répétitions sont effectuées. Les boîtes sont ensuite incubées à 28°C.

La détermination du nombre de bactéries est effectuée avec la dilution qui donne un nombre de bactéries compris entre 30 et 300. Le nombre de bactéries étant la moyenne des trois répétitions.

Le temps de génération des isolats est calculé à partir de la relation suivante (Prescott et al., 2003) :

$$\mu = \frac{\ln(\text{DO finale}) - \ln(\text{DO initial})}{T \text{ (heures)}}$$

T (heures)

$$k = \mu / \ln 2 \quad \text{TG (heures)} = 1/k$$

μ : taux de croissance népérien.

k : taux de croissance numérique.

TG : temps de génération.

$\ln 2$: 0.69 nombre de divisions par heure.

$\ln(\text{DO initial})$: \ln de la densité optique au début de phase exponentielle de croissance.

$\ln(\text{DO finale})$: \ln de la densité optique à la fin de la phase exponentielle de croissance.

T : l'intervalle de temps.

II.7.2. Pouvoir acidifiant ou alcalinisant des isolats

Le pouvoir acidifiant ou alcalinisant des isolats est déterminé par ensemencement des isolats en tubes à essai contenant 10ml de milieu YEMB additionné d'un indicateur de pH, le bleu de bromotymol (BTB) à raison de 0.0025 %. La lecture des tubes est effectuée après 48 heures d'incubation à 28°C pendant une période de 8 jours.

II.7.3. Photo-induction

L'induction d'un pigment photosynthétique est recherchée par ensemencement des isolats en boîtes de Pétri contenant le milieu YEMA au dixième (**Annexe 1.1**) et dépourvu de rouge congo. Pour stimuler cette synthèse, nous avons exposé les boîtes à la lumière blanche en intermittence avec les U.V.

II.7.4. Tolérance aux températures

Pour tester la survie des isolats à des températures extrêmes, nous les avons ensemencé sur milieu YEMA et incubés à 5-10-15- 35 et 40°C. La lecture des boîtes est effectuée après 48 heures d'incubation pendant une période de 8 jours.

II.7.5. Tolérance à l'acidité et à l'alcalinité

Pour étudier l'influence du pH du milieu sur la croissance des isolats nous les avons ensemencé sur milieu YEMA à neuf pH différents: 4- 4,5-5-6-7-8-9 -9,5-10 et incubée à 28°C. La lecture des boîtes est effectuée après 48 heures d'incubation pendant une période de 8 jours.

II.7.6. Tolérance à la salinité

La tolérance à la salinité des isolats est déterminée par ensemencement des isolats sur YEMA en boîtes de Pétri contenant différentes concentrations en NaCl : 200 mM - 400 mM - 600 mM - 800 mM - 1M et incubées à 28°C. La lecture des boîtes est effectuée après 48 heures d'incubation pendant une période de 8 jours.

II.7.7. Utilisation des hydrates de carbone

L'utilisation des différents hydrates de carbone par les isolats étudiés est testée sur milieu YEMA additionné de bleu de bromotymol (Annexe 1.2) et dont le mannitol est remplacé par un hydrate de carbone. Un témoin non inoculé ainsi que deux répétitions par sucre et par isolat sont effectuées.

La dégradation des sucres, par les bactéries, est mise en évidence par un changement de couleur du milieu provoqué par le changement du pH de celui-ci. La lecture des résultats se fait après 8 jours d'incubation.

Les hydrates de carbone utilisés sont :

Des monosaccharides : Hexoses (galactose, sorbose), Polyols (mannitol, dulcitol, inositol)

Des disaccharides : cellobiose, maltose, saccharose.

Des polysaccharides : raffinose (Trisaccharide), dextrine, méthyle mannoside.

II.8. Analyse numérique

En vue d'étudier les relations phénotypiques entre les isolats étudiés une analyse numérique a été effectuée sur la base d'une matrice de données qui englobe les caractéristiques suivantes : taille, couleur, production des EPS, temps de génération, effet alcalinisant ou acidifiant, tolérance à l'acidité et à l'alcalinité, aux températures et à la salinité et assimilation des différents sucres. Pour coder les données ; chaque caractère est représenté indépendamment de l'autre, soit par 1 (présent), soit par 0 (absent). Les caractères pour lesquels les isolats répondent de la même manière ne sont pas retenus.

Le dendrogramme est une représentation graphique établie à partir de la matrice de similitude qui permet de regrouper les isolats en groupes ou clusters. L'évaluation de la similitude entre les isolats est évaluée en déterminant le coefficient de similitude. De nombreuses formules permettent de le calculer. La plus utilisée en microbiologie est celle de Jaccard. Nous avons utilisé pour l'élaboration de ce dendrogramme, la méthode UPGMA (Unweighted Pair Group with Arithmetic Mean). Le logiciel utilisé est le M.V.S.P. (Multi-Variate Statistical Package) version 3.12 de kovach computing services.

II.9. Réponse de l'arachide à l'inoculation

L'essai a été réalisé en pots suivant un dispositif expérimental aléatoire complet avec trois blocs et trois répétitions par traitement (Annexe 1.3) avec une population d'arachide locale de type Spanish, à cycle court et non dormante dénommée K7D₂ fournie par Benmohamed A. du département de phytotechnie. INA. El-Harrach.

Les isolats nodulaires sont (19 isolats) : SBHA1.1, SBHA1.2, SBHA11, SBHA15, SBHA8, SG1A1, SG1A2, SG1A3, SG1A5, SG3A2, SG3A3, SG3A4, SGRA4, SRGA1, SRGA3, SRGA6, SSA1, SSA2, SSKA6.

Conditions climatiques

Les relevés climatiques des températures et d'hygrométrie moyennes mensuelles enregistrés durant la période de notre essai Mai/Septembre 2005 montrent que les températures moyennes mensuelles durant cette période sont comprises entre un minimum de 19°C enregistré durant le mois de Mai et un maximum de 26°C durant le mois de Juillet, ce qui semble favorable à un bon développement de la plante. Ces valeurs sont illustrées par la figure 9.

En effet, les températures moyennes optimales se situent entre 20°C et 35°C, sont loin des températures extrêmes (10°C et 45°C). La température joue un rôle très important sur la vitesse des processus physiologiques donc sur le cycle végétatif de l'arachide.

L'hygrométrie moyenne de 78% enregistrée durant cette période semble optimale pour un bon développement de cette culture.

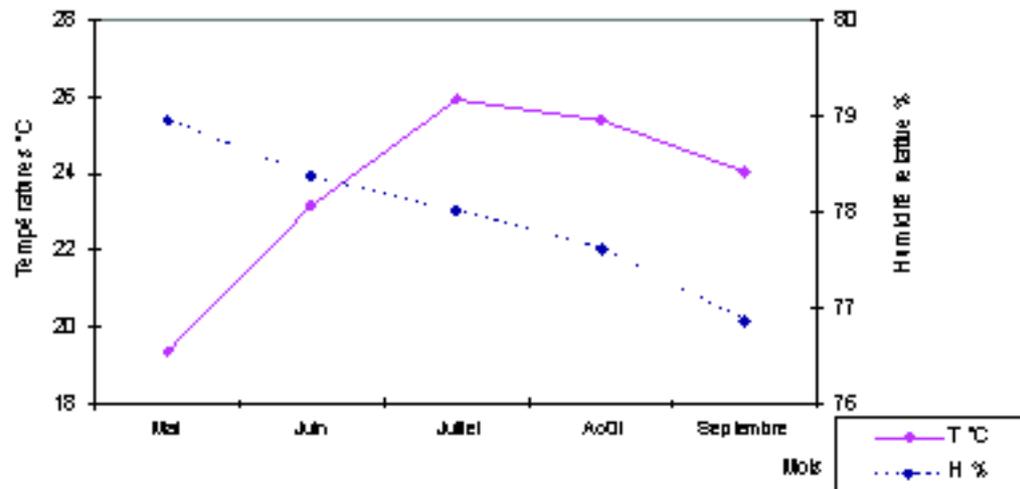


Figure 9: Relevé des températures et d'hygrométrie moyennes mensuelles de la période Mai/Septembre 2005.

- Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé à partir d'une culture bactérienne obtenue après ensemencement d'une préculture de 24 heures, dans un milieu de culture YEMB réparti à raison de 100ml dans des erlens de 500ml. Les erlens sont ensuite incubés sous agitation rotative à 200 tours/mn à 28°C jusqu'à une DO (à 620nm lue sur spectrophotomètre) égale à 0.600 correspondant à une concentration cellulaire de 10^9 cellules/ml de culture pour les souches à croissance rapide et 10^{10} pour les souches à croissance lente. Cette corrélation est déterminée par mesure de DO et numération des bactéries vivantes sur YEMA.

- Inoculation, semis et entretien de la culture

Les graines décortiquées deux jours avant sont inoculées avant le semis par immersion pendant trois heures dans un mélange constitué de 200ml d'inoculum et 50g de tourbe stérile. Elles sont semées dans des pots de six litres contenant du sol dépourvu de bactéries nodulant l'arachide à raison de trois graines par pot et trois pots par traitement. Un témoin non inoculé (**T**) ainsi qu'un témoin azoté (**TN**) pour lequel on a apporté 100U/ha ont été réalisés la source d'azote est sous forme de KNO_3 fractionné en quatre apports comme suit :

premier apport : après la levée

deuxième apport : après 20 jours -stade végétatif

troisième apport : début floraison

quatrième apport : début formation des gousses

L'irrigation des plants a été effectuée régulièrement tous les quatre jours. Un démariage est effectué au stade levée (un plant par pot).

Les travaux d'entretien (désherbage, binage et buttage) sont effectués au cours du cycle de développement de la culture lorsqu'ils sont nécessaires.

II.9.1. Mesure de l'activité réductrice d'acétylène

Dans la relation symbiotique rhizobium-plante hôte, deux critères sont à prendre en compte ; l'aptitude à noduler ou infectivité et l'aptitude à fixer l'azote atmosphérique en symbiose ou efficacité (Duhoux et Nicole, 2004).

La fixation de l'azote est estimée au stade pleine floraison, par la mesure de l'activité réductrice d'acétylène (A.R.A) directement dans le pot. Nous avons utilisé pour cette mesure la méthode "in situ" mise au point par Balandreau et Dommergues (1971).

La réduction de l'acétylène (C₂H₂), analogue structural de l'azote moléculaire et inhibiteur compétitif de la nitrogénase, a procuré depuis 1968 des possibilités remarquables pour l'analyse de l'activité fixatrice ; c'est la méthode la plus utilisée au laboratoire ainsi qu'au champ. L'éthylène (C₂H₄), produit de réduction de C₂H₂, peut être facilement dosé par chromatographie en phase gazeuse (CPG) (Bergersen, 1980).

Description du dispositif de mesure de l'ARA

Le compartiment racinaire est isolé de la partie aérienne de la plante, en couvrant le pot par un sac plastique bien fermé au niveau du collet. Un volume de 5ml d'acétylène est injecté directement dans le pot, à travers le sac plastique en prenant bien soin de reboucher le trou fait par l'aiguille avec du scotch. Après 15mn d'incubation, 5ml du mélange gazeux interne est prélevé avec la même seringue en prenant soin d'effectuer des va et vient successifs du piston pour permettre un brassage de l'atmosphère interne, puis aussitôt injectés et stockés sous vide dans des tubes venoject de 13ml. Les échantillons sont analysés par chromatographie en phase gazeuse.

La quantité d'éthylène produite est calculée à partir de la concentration mesurée au chromatographe par rapport à une valeur étalon. L'injection dans le chromatographe est effectuée à l'aide d'une seringue hypodermique de 1ml. Dans le tube venoject, 1ml de contenu gazeux est prélevé et injecté à travers la pastille du chromatographe.

La hauteur du pic d'éthylène permet de déduire le nombre de moles d'éthylène contenu dans 1ml injecté. Les pics de sortie sont repérés sur le chromatographe dans l'ordre suivant : air, C₂H₄, C₂H₂.

La mesure de l'activité réductrice d'acétylène est exprimée en μ moles de C₂H₄ /heure/ plant selon l'expression suivante :

$$A.R.A (\mu\text{moles de C}_2\text{H}_4 / \text{heure/Plt}) = \frac{H_{\text{ech}} \times V1 \times V2 \times V4 \times V5 \times 60 \times 10^4}{H_{\text{ethy}} \times 24 \times 500 \times V3 \times V6 \times V2 \times t}$$

V1: volume éthylène étalon.

V2: volume injection au chromatographe.

V3: Volume flacon étalon.

V4: Volume venoject.

V5: Volume du pot.

V6: volume prélèvement de l'échantillon.

t : temps d'incubation.

II.9.2. Mesure de l'infectivité

L'évaluation de l'infectivité des souches testées a consisté à déterminer le nombre, le poids frais et le poids sec des nodules produits par la souche sur la racine de la plante hôte.

II.9.3. Effet des souches sur la croissance de la plante et le rendement

L'évaluation de l'effet des souches sur la croissance et le rendement des plantes a porté sur les caractères suivants :

- Hauteur des plants

La hauteur de la tige principale des plants est mesurée en centimètres à partir du collet jusqu'à la dernière feuille pour chaque plant.

- Rendement en matière sèche

Le poids sec des parties aériennes est mesuré pour chaque plant après passage à l'étuve à 85°C pendant 48 heures.

- Rendement en gousses par plant

Le poids moyen des gousses matures par plant est mesuré en gramme.

- Rendement en graines par plant

Le poids moyen des graines matures par plant est mesuré en gramme.

- Taux de fructification des gynophores

Le taux de fructification des gynophores est le pourcentage des gynophores donnant naissance à des gousses matures. Ce paramètre est déterminé à l'aide de la formule suivante :

$$TF \text{ Gyn } \% = (\text{Nombre de gousses matures} / \text{Nombre de gynophores}) \times 100$$

- Indice de récolte

L'indice de récolte permet d'estimer la productivité. Il est calculé à partir du rapport poids des gousses par poids de la matière sèche on utilisant la formule suivante :

$$IR = \text{Poids des gousses} / \text{poids de la matière sèche.}$$

- Taux de remplissage des gousses

Le taux de remplissage des gousses est le rapport poids des graines sur poids des gousses. Il a été calculé à partir de la formule suivante :

$$R \text{ Gr} / Gs = \text{Poids des graines} / \text{Poids des gousses.}$$

- Poids de cent gousses (PCG).
- Poids de cent graines (PCGR).

II .10. Stress hydrique

En vue d'étudier le comportement des souches étudiées en réponse au stress hydrique effectué, nous avons retenu six isolats (SG1A1, SG1A3, SG3A3, SG3A4, SBHA1.2, SSKA6) que nous avons testés vis-à-vis de la population d'arachide K7D2. Les graines sont inoculées avant le semis par immersion pendant trois heures dans un mélange inoculum liquide-tourbe stérile. Elles sont transférées dans des pots contenant du sol de la station expérimentale de l'INA qui possède un pouvoir nodulant nul envers l'arachide et suivant un dispositif expérimental aléatoire complet avec trois blocs.

Le stress hydrique appliqué consiste à réduire la quantité d'eau d'arrosage de 75% par rapport aux plants témoins (inoculés non stressés) conduits à l'ETM et arrosés tous les quatre jours avec 500ml d'eau.

Le stress hydrique est appliqué à partir de la quatrième semaine de culture jusqu'à la neuvième semaine.

Nous avons évalué l'effet du stress hydrique à la cinquième semaine de culture qui coïncide avec le stade début floraison (après une semaine de stress), et à la neuvième semaine de culture qui coïncide avec le stade formation des gousses (cinquième semaine de stress) sur les paramètres suivants :

- activité nitrate réductase (A.N.R)
- activité réductrice d'acétylène (A.R.A)
- nodulation
- hauteur des plants
- poids sec des parties aériennes
- Description du dispositif de mesure de l'ANR

La mesure de l'activité nitrate réductase a été déterminée par la méthode "in-situ" de Robin et al. (1983).

Cette méthode consiste à mesurer l'activité de la nitrate réductase en quantifiant les nitrites produites dans la feuille. Le dosage se fait sur une feuille entièrement formée, la plus proche de l'apex, car elle représente le maximum d'ANR spécifique.

Sur une balance de précision, les feuilles sont pesées immédiatement après leur prélèvement puis, introduites dans des tubes venoject de 13ml, contenant 0.5ml de KNO_3^- à 0.2N. Afin de rétablir le flux xylénique des nitrates stoppé par l'excision, le pétiole de la feuille doit plonger dans la solution de KNO_3^- . Pour établir l'anoxie deux aiguilles creuses de seringues piquées dans les tubes bouchés hermétiquement, permettent le balayage d'azote à partir d'une bouteille d'azote gazeux. Le débit est réglé à l'aide d'un manomètre à une pression de 1 bar. Le balayage de 30 secondes est suffisant pour assurer l'anoxie, il est interrompu par le retrait simultané des deux aiguilles. L'obscurité est assurée par une feuille d'aluminium entourant le tube. Après 30 minutes d'incubation, 4ml d'eau bouillante sont ajoutés aux tubes qui sont mis immédiatement, dans un bain-marie pendant 10 minutes. Après refroidissement, 2ml de n-naphtyléthylène-diamine-dichlorure (0.2g/l) et 2ml sulphanilamide à 10g/l dans du HCl à 1.5N, sont ajoutés.

Après 10 minutes de réaction, la densité optique est lue au spectrophotomètre à 540nm.

L'activité nitrate réductase est exprimée en $\mu\text{moles de NO}_2^-$ produit par gramme de poids frais et par heure. Elle se calcule par la formule suivante :

$$\text{ANR} = \frac{\text{DO.V.60}}{\text{P.T.E}}$$

DO : densité optique à 540nm.

V : volume d'extraction en litre = $8,5 \times 10^{-3}$ L

P : poids frais du végétal.

T : temps d'incubation 30 minutes.

E : coefficient d'extinction molaire = 47.8×10^{-3} .

II.11. Traitements statistiques des données

L'analyse statistique des résultats a été effectuée à l'aide du logiciel STATITCF. Ce programme logiciel nous a permis de faire : l'analyse de la variance, le classement des moyennes et le calcul des coefficients de corrélation.

L'analyse de la variance comporte deux aspects :

- Analyse de la variance avec un seul facteur étudié qui est la souche.
- Analyse de la variance avec deux facteurs étudiés qui sont le stress et le facteur souche.

L'analyse de la variance permet d'estimer le degré de signification entre les différents traitements par rapport aux paramètres étudiés. Le test de Newman et Keuls au seuil 5% permet de constituer des groupes homogènes.

La matrice des corrélations permet de mettre en évidence l'existence de corrélation entre les différents paramètres étudiés.

III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Caractéristiques physico- chimiques des échantillons de sols

Les caractéristiques physico-chimiques des échantillons de sols dans le **tableau 6** montrent que tous les sols des sites étudiés sont de texture sablonneuse à l'exception du sol de Guelma (G2) (limono-sablonneuse), d'Adrar et de l'INA (limoneuse). Ils sont pauvres en azote, en phosphore, en potassium et en matière organique, non calcaires, non salés et à tendance légèrement acide à neutre à l'exception du sol d'Adrar qui est peu calcaire, peu salé et à pH alcalin.

Tableau 6: Caractéristiques physico-chimiques des échantillons de sols.

Station	A%	L%	S%	N%	C%	C/N	MO%	CaCO ₃	CE	pH	P	k ⁺
								%	mmoh/cm	Eau	ppm	meq/100g
Berrihane	0,80	17,57	81,63	0,017	0,53	31,55	0,92	1,91	0,15	6,3	0,20	0,49
Sebaà	0,80	15,90	83,30	0,012	1,13	89,68	1,94	1,91	0,08	6,4	0,10	0,70
Réghia	0,80	19,26	79,94	0,021	1,29	61,43	2,23	1,76	0,16	6,8	0,10	0,43
Gréat	0,80	26,40	72,80	0,032	1,70	52,80	2,93	2,35	0,19	7,1	0,15	0,41
El Kala	0,80	14,63	84,57	0,035	0,80	22,86	1,38	1,61	0,12	6,0	0,09	0,41
Souarekh	5,80	14,63	79,57	0,072	0,72	9,89	1,24	1,61	0,10	6,2	0,75	0,60
Guelma G1	4,13	10,80	85,07	0,035	0,47	13,43	0,81	1,98	0,16	6,5	0,30	0,49
Guelma G2	2,46	35,07	62,47	0,024	0,51	17,35	0,88	1,91	0,11	5,6	0,10	0,55
Guelma G3	0,80	21,76	77,44	0,074	0,74	9,97	1,27	1,91	0,07	6,3	0,11	0,64
Adrar	8,30	72,75	18,95	0,082	0,76	9,20	1,31	7,63	1,80	8,0	0,20	0,53
INA	17,46	44,63	37,91	0,170	0,39	2,28	0,67	3,59	0,38	7,6	3,25	0,75

III.2. Evaluation du potentiel nodulant des sols

L'ensemble des sols testés de la région Nord-Est sont capables de noduler l'arachide. Les taux de nodulation enregistrés varient entre un minimum de 4,66 nodules/plant obtenue sur le sol d'El Kala et un maximum de 27,33 nodules/plant obtenue sur le sol de Berrihane, suivi du sol de Gréat avec 26 nodules/plant, de Guelma avec 25 nodules/plant pour **G3** et 15,33 nodules/plant pour **G1**. Des taux de nodulation de 10, 9, 8 et 6,33 nodules/plant, sont notés respectivement pour les sols de Réghia, Sbeaa, Guelma **G2**, et Souarekh (**Figure 10 et 11**).

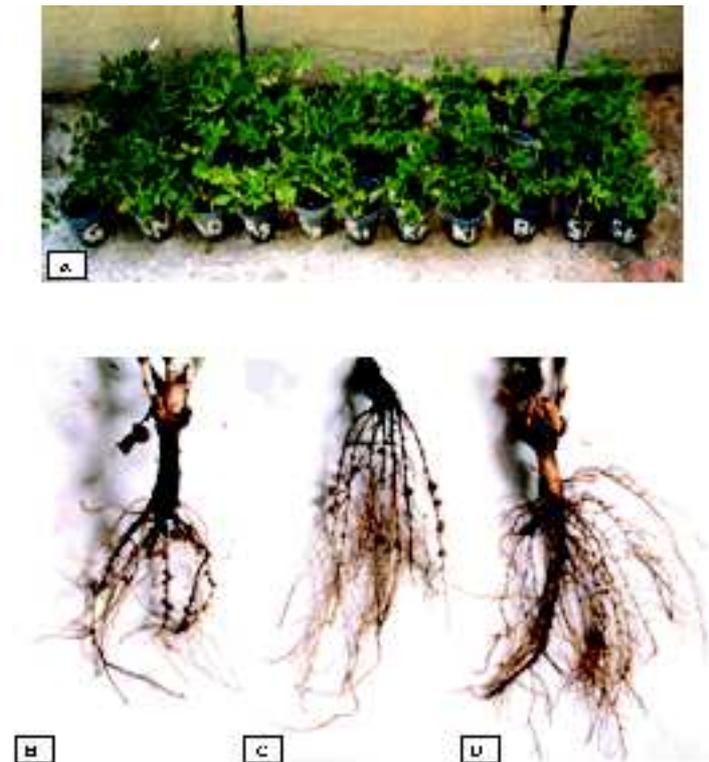


Figure 10: (A) Piégeage en pots des souches de rhizobiums d'arachide sur des échantillons de sols provenant de différentes localités. Nodosités sur plants d'arachide issue de piégeage ((B) : sol de Guelma G3, (C) : sol de Réghia). (D) Absence de nodules sur plant d'arachide obtenu sur sol de la station expérimentale de l'INA.

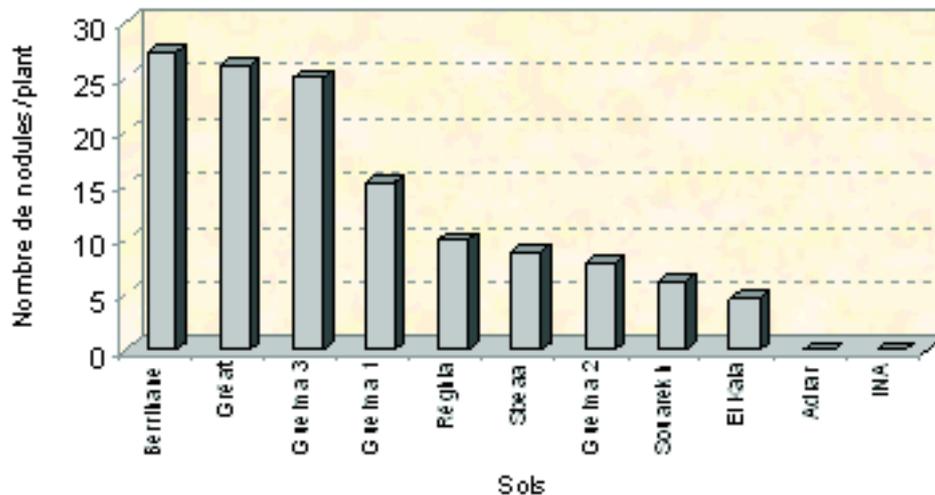


Figure 11 : Nombre de nodules par plant en fonction des différents sols testés

Pour des sols d'Algérie, Alkama (2003) a rapporté des taux de nodulation allant de 0,33 à 3,67 nodules/plant pour l'arachide, 0,33 et 11,67 nodules/plant pour le cowpea et l'absence de nodulation pour le soja. Des taux de nodulation allant de 0,67 à 22 et de 0,2 à 12,8 nodules/plant ont été signalés respectivement pour la lentille (Haddadj, 2002) et pour le bersim (Sadji, 2003). Ainsi, les taux de nodulation observés pour l'arachide dans notre étude sont à rapprocher de ceux obtenus en Algérie avec des légumineuses des zones tempérées. Ces résultats peuvent être liés au choix des sites étudiés en l'occurrence des

sols de régions où l'arachide est bien établie. En effet, l'arachide a été introduite au début de siècle dans la région d'El Tarf et dès lors a connu un essor non négligeable.

III.3. Caractérisation phénotypique

III.3. 1. Caractérisation morphologique

Pour notre étude nous avons retenu dix neuf isolats dont les caractéristiques morphologiques sur milieu YEMA sont données dans le **tableau 7**.

Ces caractéristiques morphologiques permettent de distinguer trois principaux groupes :

- un groupe de bactéries dont la taille des colonies n'excède pas 1mm; elles sont dites punctiformes.
- un groupe de grosses colonies dont la taille est de 4 à 6mm, qui sont très mucoïdes.
- et un groupe de taille intermédiaire de 2 à 4mm.

Isolats	Taille (mm)			Contour	Relief	Pigment	Opacité	Mucoïdité	Consistance	
	48h	72h	5j							
SBHA1.1	-	<1	≤1	Circulaire	Régulier	Convexe	-	Opaque	+	Gélatineuse
SBHA1.2	-	<1	≤1	C	R	C	-	Opaque	+	Gélatineuse
SBHA11	1-2	2-3	-	C	R	C	-	Translucide	++	Gélatineuse
SBHA15	1-2	2	-	C	R	C	-	Translucide	++	Gélatineuse
SBHA8	2	2-3	-	C	R	C	-	Translucide	++	Visqueuse
SG1A1	-	<1	≤1	C	R	C	-	Opaque	+	Gélatineuse
SG1A2	-	<1	≤1	C	R	C	-	Translucide	+	Gélatineuse
SG1A3	-	<1	≤1	C	R	C	-	Opaque	+	Gélatineuse
SG1A5	1-2	2-3	-	C	R	C	-	Translucide	++	Gélatineuse
SG3A2	1-2	2	-	C	R	C	-	Translucide	+	Gélatineuse
SG3A3	-	<1	≤1	C	R	C	-	Opaque	+	Gélatineuse
SG3A4	-	<1	≤1	C	R	C	-	Opaque	+	Gélatineuse
SGRA4	2	3	-	C	R	C	-	Translucide	++	Fluide
SRGA1	2	3	-	C	R	C	-	Translucide	++	Visqueuse
SRGA3	1-2	2	-	C	R	C	-	Translucide	+	Très visqueuse
SRGA6	2-3	5-6	-	C	R	C	-	Translucide	+++	Gélatineuse
SSA1	2	3	-	C	R	C	-	Translucide	++	Fluide
SSA2	1-2	2-3	-	C	R	C	-	Translucide	++	Fluide
SSKA6	<1	≤1	1-1,5	C	R	C	-	Opaque	+	Gélatineuse

Tableau 7: Caractéristiques morphologiques des isolats.

III.3.2. Etude de la croissance

La détermination du temps de génération des isolats cultivés sur milieu YEMB à 28°C permet de distinguer trois groupes (Tableau 8) :

- un groupe des isolats dont le temps de génération est inférieur ou égale à 3 heures: il s'agit des isolats SGRA4 et SSKA6. Ils sont dits à croissance rapide.
- un groupe des isolats dont le temps de génération est compris entre 3 et 6 heures: il s'agit des isolats SBHA11, SBHA15, SBHA8, SG1A5, SG3A2, SRGA1, SRGA3, SRGA6, SSA1 et SSA2. Ils sont dits à croissance intermédiaire.
- un groupe des isolats dont le temps de génération est supérieur à 6 heures : il s'agit des isolats: SBHA1.1, SBHA1.2, SG1A1, SG1A2, SG1A3, SG3A3 et SG3A4. Ils sont dits à croissance lente.

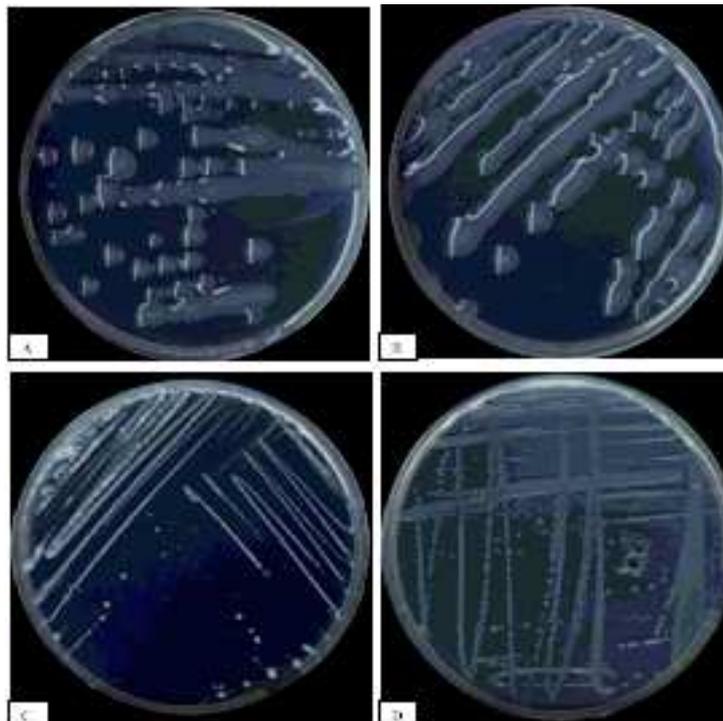


Figure 12: Aspect cultural des isolats sur milieu YEMA :

- (A) et (B) isolats à croissance rapide.
- (C) isolats à croissance lente (colonies opaques)
- (D) isolats à croissance lente (colonies translucides)

Tableau 8: Temps de génération et pouvoir acidifiant ou alcalinisant des isolats.

Isolats	Temps de Génération (Heures)	pH
SBHA1.1	14,64	Alcalinisante
SBHA1.2	9,27	Alcalinisante
SBHA11	3,92	Acidifiante
SBHA15	3,75	Acidifiante
SBHA8	3,62	Acidifiante
SG1A1	7,80	Alcalinisante
SG1A2	8,32	Alcalinisante
SG1A3	8,90	Alcalinisante
SG1A5	3,61	Acidifiante
SG3A2	3,71	Acidifiante
SG3A3	12,04	Alcalinisante
SG3A4	8,04	Alcalinisante
SGRA4	2,46	Acidifiante
SRGA1	3,95	Acidifiante
SRGA3	3,92	Acidifiante
SRGA6	3,56	Acidifiante
SSA1	3,64	Acidifiante
SSA2	3,71	Acidifiante
SSKA6	2,62	Acidifiante

La majorité des isolats présentent un temps de génération compris entre 3 et 6h, soit une croissance intermédiaire (Figure 13).

Bien que l'arachide soit classée parmi les espèces nodulées par les souches de rhizobium à croissance lente du genre *Bradyrhizobium* (Zhang et al., 1999), la présence de souches à croissance rapide est également signalée (Zablotowicz et Focht, 1981; Sprent, 2001; Taurianet al., 2006).

La vitesse relative de la croissance de rhizobium dépend de plusieurs facteurs. En effet, le temps de génération d'une souche de rhizobium à croissance rapide, isolée des nodosités des racines de *Vigna Unguiculata*, varie beaucoup en fonction de la nature du substrat carboné du milieu de culture : sur xylose, son temps de génération est de 4,18h, alors que sur mannitol, il passe à 31,54h (Zablotowicz et Focht, 1981). Toutefois, l'élévation de la température de croissance de 29°C à 31°C raccourcit le temps de génération d'une souche de rhizobium du groupe *Cowpea* de 33h à 14,5h (Osa-Afiana et Alexander, 1982).

III.3.3. Pouvoir acidifiant ou alcalinisant des isolats

Les isolats SBHA1.1, SBHA1.2, SG3A3, SG1A1, SG1A2, SG1A3, SG3A3 et SG3A4 alcalinisent le milieu de culture, alors que les isolats SBHA11, SBHA15, SBHA8, SG1A, SG3A2, SGRA4, SRGA1, SRGA3, SRGA6, SSA1, SSA2 et SSKA6 sont acidifiants.

L'acidification des milieux de culture est due à l'excrétion de protons et d'acides organiques par les bactéries. Chez les rhizobiums, les polysaccharides peuvent contribuer à cette acidification. En effet, les rhizobiums qui sont caractérisés par une forte production de gomme extracellulaire très souvent acidifient le milieu de culture, contrairement aux rhizobiums qui produisent peu de gomme. Ces derniers ont tendance à alcaliniser le milieu de culture (Ayanaba et al., 1983; Graham, 1992; Zakhia et de Lajudie, 2001).

III.3.4. Photo-induction

Les résultats relatifs à la recherche de la synthèse de pigment photosynthétique montrent qu'aucun des isolats testés n'a présenté de pigmentation.

Au moment où la disponibilité en photosynthétats devient un facteur limitant pour la fixation d'azote, la photosynthèse par les rhizobia peut constituer alors un système qui soulagerait la plante (Fleischman et al., 1995). Cependant, en culture pure, même des *Bradyrhizobium* isolés de nodules d'*Aeschynomene* synthétisent des pigments photosynthétiques qui leur confèrent une coloration. Le plus souvent il s'agit de caroténoïdes. Cependant, selon Wade (1998) la bactériochlorophylle est synthétisée dans le nodule caulinaire, alors qu'elle ne l'est pas dans le nodule racinaire.

III.3.5. Tolérance aux températures extrêmes

Tous les isolats testés se sont révélés capables de croître à des températures de 20 à 35°C (Figure 14). Huit isolats ont toléré 40°C, il s'agit de SBHA11, SBHA15, SBHA8, SG1A2, SG1A3, SG3A2, SG1A5 et SG3A3. Treize ont poussé à 15°C (SBHA11, SBHA15, SG1A1, SG1A2, SG1A3, SG3A2, SG1A5, SG3A3, SG3A4, SRGA3, SRGA6, SSA2 et SSKA6), alors que trois isolats ont toléré 10°C, il s'agit des isolats SBHA11, SG1A5, SG3A2. Seule l'isolat SBHA11 tolère 5°C (Annexe 2.1).

La température est un facteur déterminant pour la survie et la persistance des rhizobiums dans les sols (Lowendorf, 1980; Pueppke, 1986; Hamdi, 1986). Pour la plupart des rhizobiums, la gamme de température optimale pour leur croissance varie entre 28 et 31°C, et beaucoup ne peuvent pas se développer au-delà de 37°C (Graham, 1992; Gouffi et al., 1999).

III.3.6. Tolérance à l'acidité et à l'alcalinité

En ce qui concerne la tolérance à l'acidité et à l'alcalinité du milieu de culture des isolats testés, les résultats relatifs à ce test sont illustrés par la figure 15 et annexe 2.2.

L'ensemble des isolats testés ont toléré des pH compris entre 6 et 9. Dix-huit isolats ont proliféré à pH5, dont neuf isolats ont toléré un pH égal à 4,5 et sept isolats ont toléré un pH égal à 4. Alors que, onze isolats ont proliféré à pH 9,5 et pH10.

La sensibilité aux pH acides (inférieurs à 5) est marquée pour les isolats à croissance rapide comme SGRA4 et SSKA6. Alors, que les isolats SSA1 et SSA2 à croissance intermédiaire soit un temps de génération de 3 à 4h ont pu tolérer un pH égale à 4,5. En revanche, l'ensemble des isolats à croissance lente (SBHA1.1, SBHA1.2, SG1A1, SG1A2, SG1A3, SG3A3, SG3A4) tolèrent aussi bien l'acidité que l'alcalinité de milieu de culture (Annexe 2.2).

Berraho (1984) et Hamdi (1986), rapportent que la majorité des espèces de rhizobium croissent à pH compris entre 5,5 et 7. La sensibilité aux pH acides est marquée pour la plupart des espèces à croissance rapide, (*Rhizobium trifolii* et *Rhizobium mililoti*). Tandis que les rhizobiums du groupe *Cowpea* sont beaucoup plus tolérants à ces pH (Graham et al., 1994). Cependant, d'autres travaux montrent l'existence de souches à croissance rapide de *Vigna unguiculata* tolérantes aux pH inférieurs à 4 (Mpeperekki et al., 1997).

III.3.7. Tolérance à la salinité (NaCl)

Les résultats obtenus montrent que l'ensemble des isolats étudiés tolèrent jusqu'à 400mM. Quatorze isolats ont toléré jusqu'à 600mM, il s'agit des isolats SBHA1.1, SBHA1.2, SBHA11, SBHA15, SBHA8, SG1A3, SG1A5, SG3A2, SG3A4, SGRA4, SRGA1, SRGA3, SRGA6 et SSA1 (Figure 16).

Six isolats SBHA15, SBHA8, SGRA4, SRGA1, SRGA3 et SRGA6 ont toléré jusqu'à 800mM. Et deux isolats SBHA15 et SRGA6 ont montré un niveau de tolérance remarquable égale à 1M de NaCl (Annexe 2.1).

Nous remarquons que les isolats tolérant des fortes concentrations en NaCl (800mM à 1M) sont mucoïdes, alors que ceux dont le niveau de tolérance n'excède pas 600 mM sont peu producteurs de polysaccharides.

Les isolats étudiés se sont montrés dans l'ensemble tolérants à la salinité, ce qui offre un choix envers cette contrainte limitante qui pose un problème dans les régions à production arachidière. Il est établi que les rhizobia sont relativement plus tolérants à la salinité que les plantes-hôtes correspondantes (Singleton *et al.*, 1982) et c'est précisément la formation des nodules et la fixation d'azote qui sont les plus concernées (Singleton et Bohlool, 1983; Serraj et Drevon, 1993).

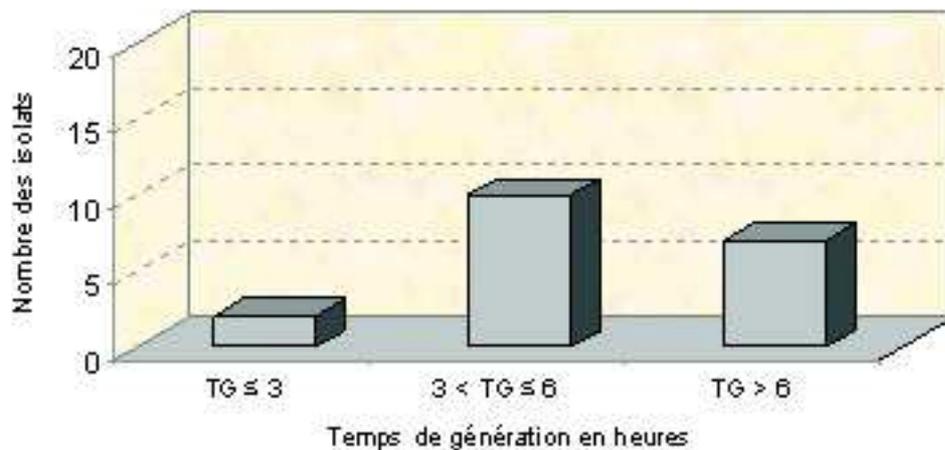


Figure 13 : Distribution des isolats en fonction de leur temps de génération

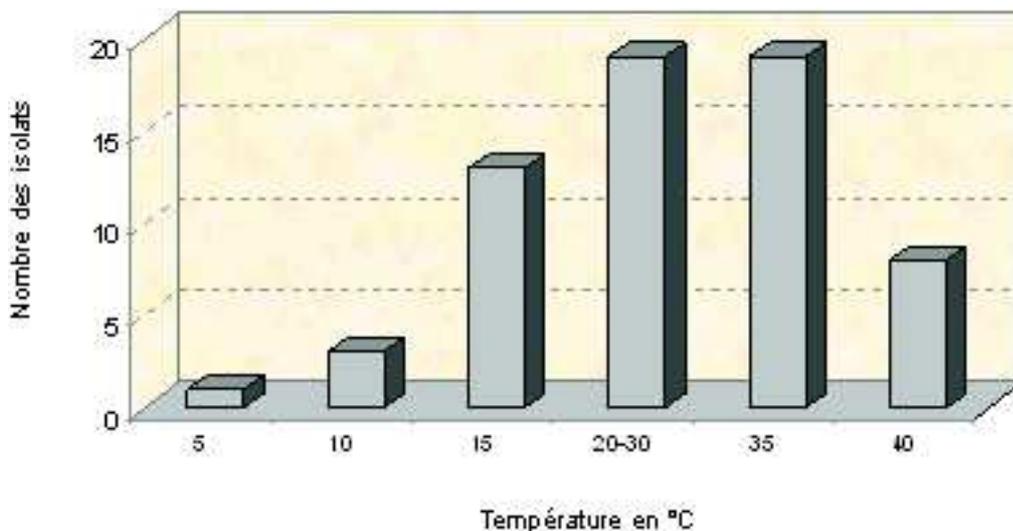


Figure 14 : Effet de la température sur la croissance des isolats.

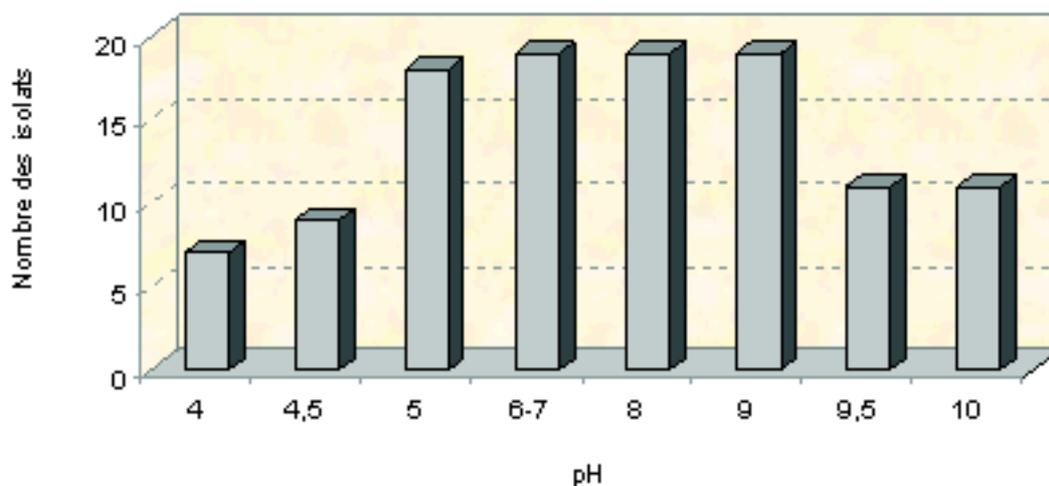


Figure 15 : Effet du pH sur la croissance des isolats

De même, nos résultats rejoignent ceux de Upchurch et Elkan (1977) qui montrent une relation directe entre la richesse en expolysaccharides des souches et leur tolérance au sel. Singleton et *al.* (1982) et Yelton et *al.* (1983) rajoutent qu'il peut exister également une relation entre la rapidité de croissance et la résistance au sel.

D'après Beunard (1995), l'alcalinisation du milieu de culture par la souche de *Bradyrhizobium japonicum* et l'acidification par la souche de *Rhizobium tropici*, joue sans doute un rôle dans le comportement différent des deux types de souches vis-à-vis de la salinité. De ce fait, les souches de *Bradyrhizobium japonicum* se sont montrées beaucoup plus sensibles à la salinité que celles de *Rhizobium* (Tu, 1980; Beunard, 1995).

III.3.8. Assimilation des hydrates de carbone

Les résultats relatifs à l'utilisation des hydrates de carbone par les isolats testés représentés par la figure 17 montrent que :

- à l'exception de l'isolat SBHA1.1 tous les isolats utilisent le cellobiose, dix-sept isolats sur dix-neuf utilisent le galactose et seize sur dix-neuf utilisent le maltose.
- quatorze isolats utilisent le saccharose et l'inositol, et douze isolats utilisent le dulcitol et la dextrine.
- Alors que, neuf isolats utilisent le sorbose, huit isolats utilisent le raffinose, et sept isolats seulement utilisent le méthyle mannoside.

Selon Stowers (1985) et Van Rossum et *al.* (1995), les souches à croissance rapide sont capables d'utiliser une large gamme d'hydrates de carbone, alors que les souches à croissance lente exigent des sucres simples pour leur croissance (Vincent, 1981).

Notons, que les isolats SBHA8 et SRGA6 à croissance intermédiaire ont dégradé tous les sucres testés à l'exception de dulcitol pour SBHA8, le sorbose et méthyle mannoside pour SRGA6 (**Annexe 2.3**).

Toutefois, des exceptions sont notées, comme l'isolat à croissance lente SG3A4 qui a dégradé tous les sucres testés à l'exception de méthyle mannoside, et l'isolat à croissance rapide SGRA4 qui n'a dégradé que six sucres sur dix (**Figure 18**).

La description de nouveaux genres de *Rhizobium* s'est accompagnée par la révélation d'une grande diversité des profils d'utilisation de sources de carbone (Stowers et Elkan, 1984; Zhang et al., 1991; de Lajudie et al., 1994; Odee et al., 1997).

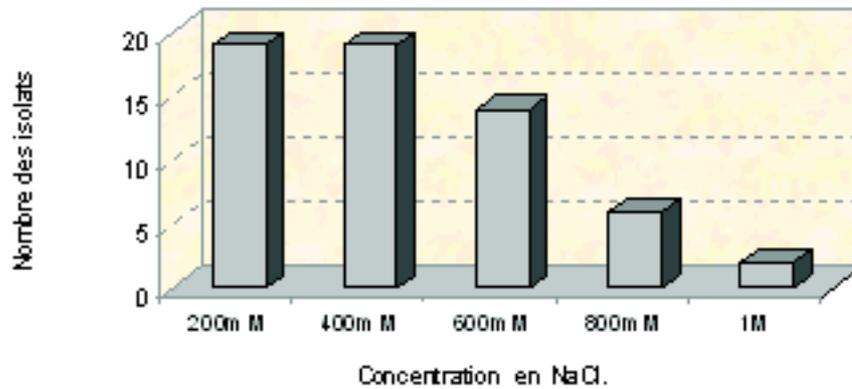


Figure16: Tolérance des isolats aux différentes concentrations de NaCl.

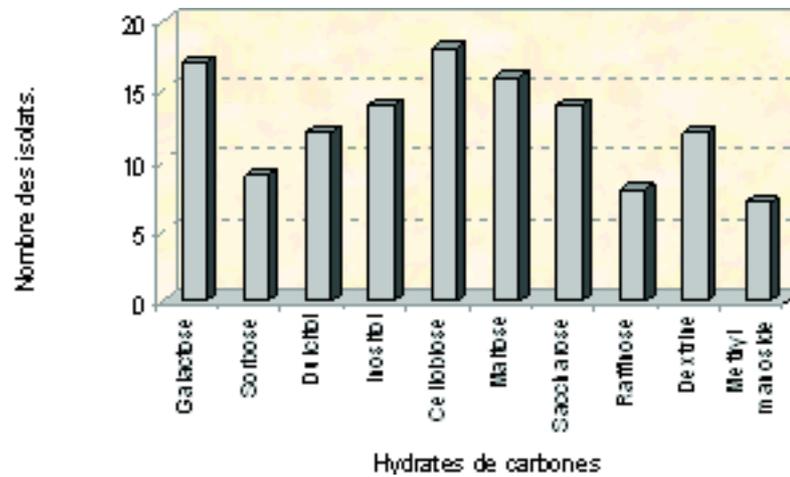


Figure17: Utilisation des hydrates de carbone par les isolats.

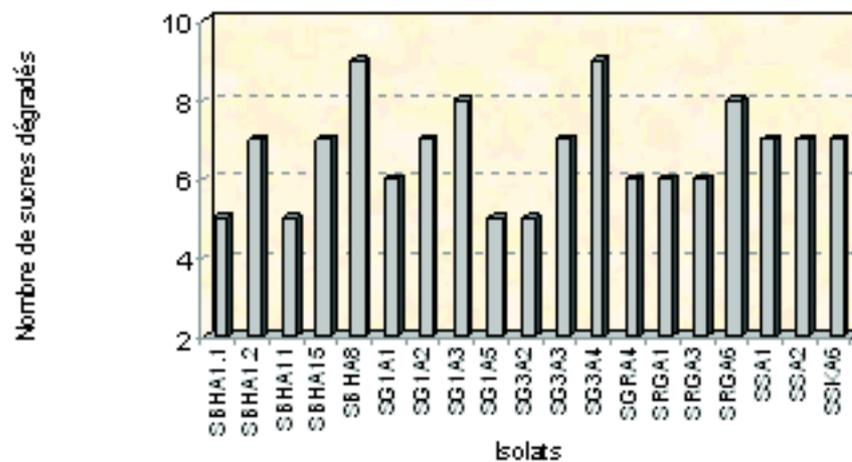


Figure18: Nombre de sucres dégradés par les isolates.

III.3.9. Analyse numérique

L'analyse numérique des profils phénotypiques des isolats étudiés a permis la construction d'un dendrogramme qui résume graphiquement leur degré de similitude et leur homologie phénotypique (**Figure 19**).

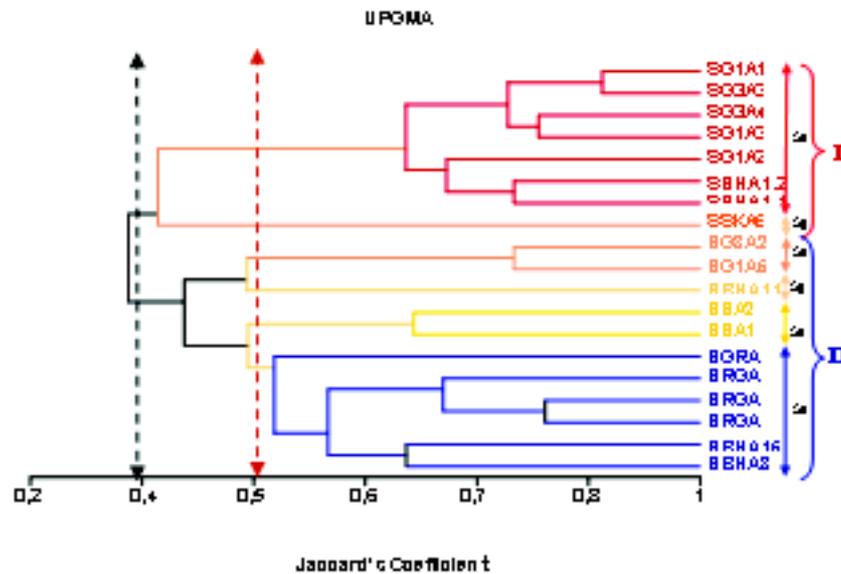


Figure 19 : Dendrogramme montrant la distribution des isolats en fonction du niveau de similitude de leurs profils phénotypiques.

Le dendrogramme a été établi sur la base des caractères morphologiques et physiologiques des isolats : Taille, couleur, production des EPS, temps de génération, effet alcalinisant ou acidifiant, tolérance à l'acidité et à l'alcalinité, aux températures et à la salinité, et assimilation des différents sucres.

L'analyse de ce dendrogramme, indique que les isolats analysés se subdivisent dès la distance de similitude phénotypique **0,38** en deux grands groupes distincts **I** et **II** (clusters), cette ségrégation indique que ces isolats sont phénotypiquement bien différenciés :

- Le groupe I : renferme tous les isolats à croissance lente : SG1A1, SG3A3, SG3A4, SG1A3, SG1A2, SBHA1.2 et SBHA1.1 à l'exception de l'isolat RSKA6, qui se caractérise par une croissance rapide. Ce groupe, se subdivise rapidement à la distance de similitude phénotypique **0,41** pour détacher cet isolat (SSKA6) du reste du groupe, constituant un subcluster à part. Les isolats du groupe I (SG1A1, SG3A3, SG3A4, SG1A3, SG1A2, SBHA1.2 et SBHA1.1) sont liés par la taille, le temps de génération, l'effet alcalinisant de milieu de culture. Ces caractères les rapprochent du genre *Bradyrhizobium*.
- Le groupe II** : renferme tous les isolats à croissance rapide et intermédiaire: SG3A2, SG1A5, SBHA11, SSA2, SSA1, SGRA4, SRGA6, SRGA3, SRGA1, SBHA15, et SBHA8. Les isolats de ce groupe sont liés aussi par leur effet acidifiant de milieu de culture.

Au niveau de similitude de **53%**, les isolats testés peuvent être regroupés en six subclusters :

- Le subcluster 1: regroupe tous les isolats du groupe I à l'exception de SSKA6. Les membres de ce groupe se rapprochent par la sensibilité aux températures de 5°C et 10°C, la tolérance de 400mM de NaCl, et peuvent pousser sur milieu acide ou alcalin (pH4 à 10).

- Ce subcluster à son tour se ramifie à la distance de similitude phénotypique de **72%** pour rassembler les isolats SG1A1, SG3A3, SG3A4 et SG1A3 dans un groupe à part et les isolats SG1A2, SBHA1.2, SBHA1.1 dans un autre groupe. Ces isolats se séparent par la couleur des colonies et la gamme de sucres qui peuvent dégrader.
- Le subcluster 2: constitué par le seul isolat de la région de Souarekh SSKA6 qui se spécifie par leur croissance relativement rapide et un diamètre qui ne dépasse pas 1,5mm. Par ailleurs, il est sensible au sel, et incapable à pousser à 400mM de NaCl.
- Le subcluster 3: regroupe les isolats de la région de Guelma (SG3A2, et SG1A5). Les caractères qui les relient sont l'incapacité à pousser à des températures de 5°C, mais peuvent pousser à 10°C, et sur milieu acide (pH5). Ils peuvent dégrader le cellobiose, le maltose, l'inositol, et le galactose, mais ne peuvent pas dégrader le sorbose, le dulcitol et le méthyle mannoside.
- Le subcluster 4: constitué par le seul isolat de la région de Berrihane SBHA11 qui se détache du reste du groupe par la tolérance à différentes températures basses et hautes (5°C à 40°C).
- Le subcluster 5: réunit les deux isolats de la région de Sebaa (SSA2 et SSA1), ces deux isolats sont liés par la couleur, la production des EPS, l'inaptitude à pousser à des températures de 10°C et 40°C, sur pH4 et supérieur à 9, et l'incapacité de dégrader le raffinose et le sorbose.
- Le subcluster 6: réunit les trois isolats de la région Réghia (SRGA6, SRGA3 et SRGA1), un isolat de la région de Great (SGRA4) et deux isolats de la région de Berrihane (SBHA15 et SBHA8). Ces isolats se caractérisent par leur incapacité à croître à des températures inférieures ou égales à 10°C et sur milieu acide (pH 4 et 4,5), mais peuvent tolérer jusqu' à 800mM de NaCl.

III.3.10. Conclusion

D'après les résultats de l'analyse des sols, il ressort que ces derniers sont généralement sableux, peut fertiles, pauvres en éléments minéraux, notamment en azote et en matière organique. Ce faible niveau de fertilité est l'un des facteurs limitants des rendements de cette culture exigeante en azote d'où l'intérêt de la symbiose fixatrice d'azote.

La caractérisation phénotypique des isolats obtenus a permis de mettre en évidence une large diversité, sur la base de leur vitesse croissance, pouvoir acidifiant ou alcalinisant, tolérance au NaCl, au pH et à la température ainsi que l'utilisation des différents sucres.

L'analyse numérique de ces caractéristiques phénotypiques a montré qu'à un niveau de 38% de similarité, les isolats se répartissent en deux grands groupes, un premier groupe qui rassemble les isolats à croissance rapide et intermédiaire et un deuxième groupe qui rassemble les isolats à croissance lente.

III.4. Réponse à l'inoculation

III.4.1. Nodulation

La caractérisation symbiotique montre que sur le plan de la nodulation les souches SSA1, SSKA6, SG3A4, et SSA2 se sont montrées les plus infectives avec respectivement 167,33,

165, 127,67 et 101 nodules/plant suivie de SBHA1.2, SG3A3 et SRGA1 avec 89,67, 86,67 et 82,67 nodules/plant. La souche SBHA11 a donné le taux le plus faible soit 3,33 nodules/plant. La moyenne générale de toutes les souches est de 62,24 nodules/plant (Figure 20, 21 et 22). L'analyse de la variance pour ce paramètre montre une différence très hautement significative (Annexe 3.1), et le test de Newman et Keuls fait ressortir six groupes homogènes (Annexe 3.2).

Ces résultats indiquent une variabilité du taux de nodulation de l'arachide par les souches testées. En effet chez toutes les légumineuses, l'infection et l'efficacité dépendent de l'interaction plante-souche-sol-environnement (Dommergues et Mangenot, 1970; Dommergues et *al.*, 1999).

III.4.2. Poids frais des nodules par plant

Le poids frais des nodules varie entre un maximum de 1,107 g chez les plantes nodulées par la souche SSA1, et un minimum de 0,032 g chez les plantes nodulées par la souche SBHA11 (Figure 23).

L'analyse de la variance montre une différence très hautement significative entre les souches (Annexe 3.3), leur classement selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5%, les réparties en six groupes homogènes (Annexe 3.4).

III.4.3. Poids sec des nodules par plant

Le poids sec des nodules le plus élevé a été obtenu chez les plantes nodulées par la souche SSA1 avec 254mg, alors que la limite inférieure est obtenue chez les plantes nodulées par SBHA11, SG1A5 avec 10mg et 11mg respectivement (Figure 24). Toutefois, l'analyse de la variance montre une différence très hautement significative entre les souches (Annexe 3.5) et la comparaison des moyennes permet de subdiviser la collection testée en cinq groupes homogènes (Annexe 3.6).

D'après Schultze et Kondorosi (1998), Duhoux et Nicole (2004) le nombre (ou le poids) des nodules actifs sur le système racinaire est contrôlé par la plante hôte (phénomène d'autorégulation).

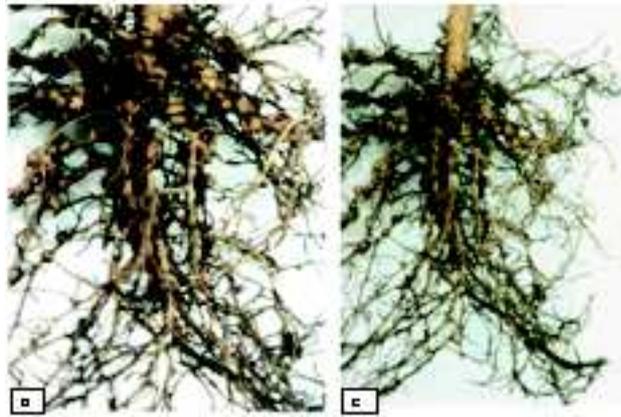


Figure 20: (A) Vue générale de l'essai.

(B)et (C) Nodosité sur plant d'arachide inoculé par la souche SSA1 (B) et SSA2 (C).

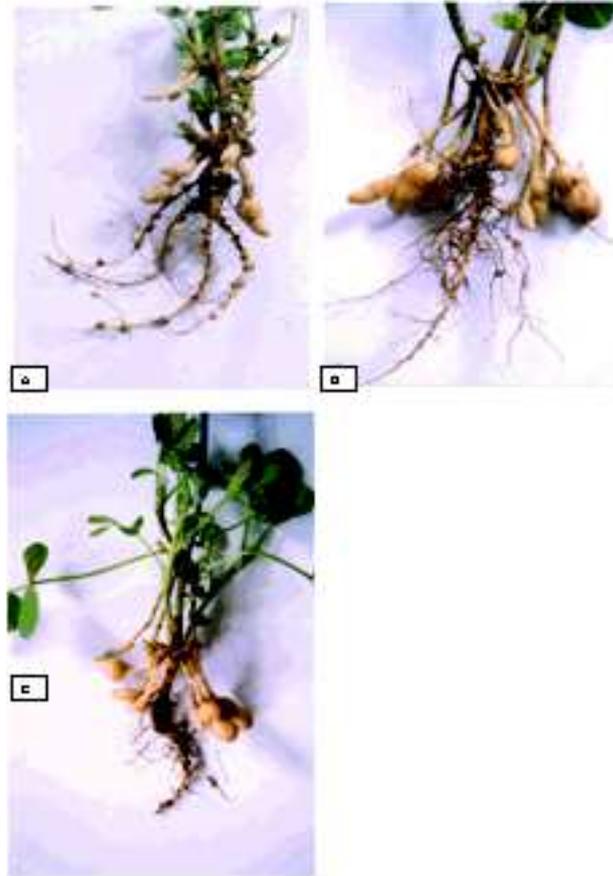


Figure 21 : (A), (B) et (C) Nodosité sur plant d'arachide inoculé par la souche à croissance lente SG1A3 (A) et la souche à croissance rapide SGRA4 (B) et (C). (Différentes dispositions des nodules).

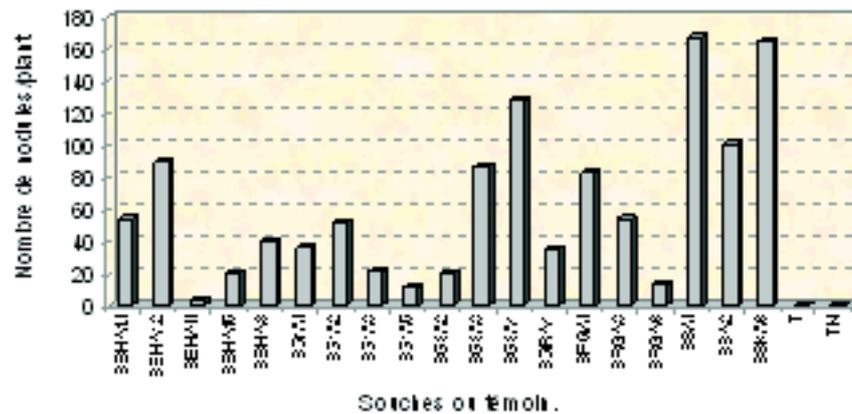


Figure 22 : Nombre de nodules par plant chez l'arachide inoculée avec les différentes souches.

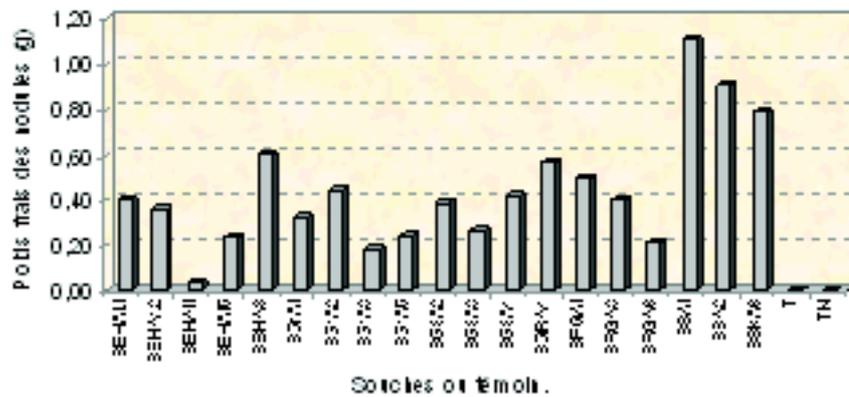


Figure 23 : Poids frais des nodules chez l'arachide inoculée avec les différentes souches

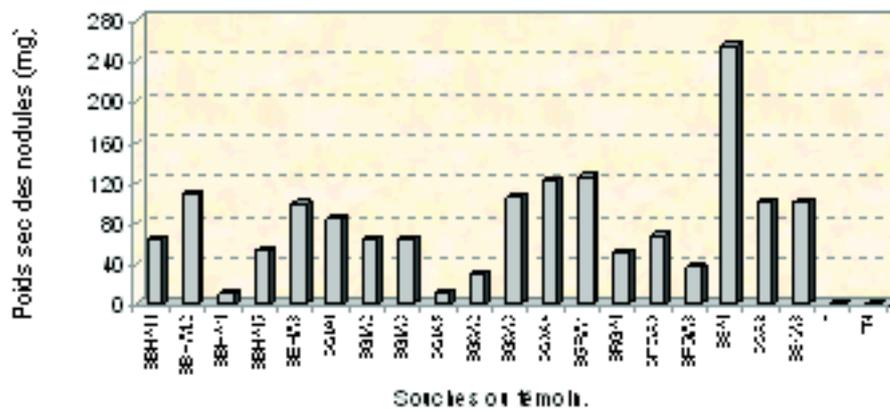


Figure 24 : Poids sec des nodules chez l'arachide inoculée avec les différentes souches

III.4.4. Activité réductrice d'acétylène

Tous les couples symbiotiques obtenus ont montré une activité fixatrice d'azote, avec une divergence entre les différentes souches testées que l'analyse de la variance met en évidence par une différence très hautement significative (Annexe 3.7). Le test de Neuman et Keuls au seuil de 5% fait ressortir neuf groupes homogènes (Annexe 3.8).

Les résultats obtenus montrent que les souches SSKA6, SG1A1, SG1A2, et SG3A4 se sont montrées les plus efficaces avec respectivement 59,67, 57,33, 52,67 $\mu\text{M C}_2\text{H}_4/\text{h/plant}$ et 52 $\mu\text{M C}_2\text{H}_4/\text{h/plant}$. Le niveau d'activité nitrogénasique le plus faible est enregistré chez les plantes inoculées par la souche SBHA11 avec 8 $\mu\text{M C}_2\text{H}_4/\text{h/plant}$ (Figure 25). La moyenne générale de toutes les souches confondues est de 41,58 $\mu\text{M C}_2\text{H}_4/\text{h/plant}$.

En effet, la capacité de fixation biologique de l'azote par les légumineuses dépend du génotype de la plante, de la souche de rhizobium, et de l'interaction hôte-souche (Sadiki, 1992). Toutefois, l'intensité de l'activité de la nitrogénase peut varier d'une souche à une autre (Hartwiget *al.*, 1987). Par ailleurs, il paraît que le niveau de fixation d'un couple symbiotique reflète un compromis entre son niveau d'infection et le niveau d'activité des nodosités (Djordjevic et *al.*, 1987). De ce fait, lorsque le nombre de nodules est faible, la plante peut leur fournir plus de photosynthétats que lorsqu'ils sont plus nombreux permettant ainsi aux bactéroïdes d'exprimer plus leur pouvoir de fixation d'azote (Gall et *al.*, 1987).

III.4.5. Hauteur des plants

L'analyse de la variance de la hauteur des plants montre une différence très hautement significative (Annexe 3.9). Le test de Newman et Keuls fait ressortir quatre groupes homogènes (Annexe 3.10).

Les plantes inoculées par la souche SBHA8 répond positivement avec une augmentation de 6.33cm soit 29.21% par rapport aux plantes témoins (T). Une légère augmentation marquée aussi chez les plantes inoculées par les souches SGRA4 et SSA2 avec 3.05% pour chacune par rapport aux plantes témoins (T). Le reste du soucier a un effet négatif sur la croissance en hauteur des plants (Figure 26).

III.4.6. Rendement en matière sèche

Une variabilité concernant l'accumulation de la matière sèche des parties aériennes en fonction des souches est observée (Figure 27). L'analyse de la variance met en évidence une différence hautement significative (Annexe 3.11).

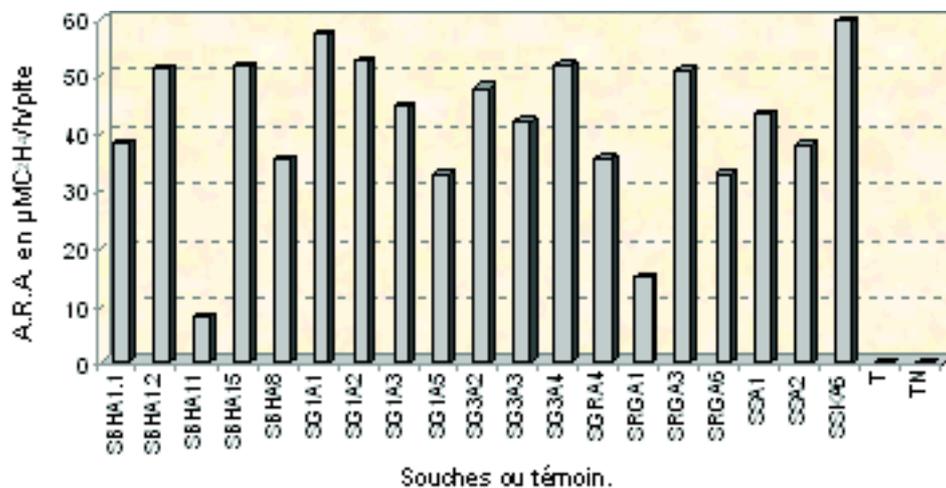


Figure 25 : Activité reductrice d'accétylène (A.R.A.) chez l'arachide inoculée avec les différentes souches

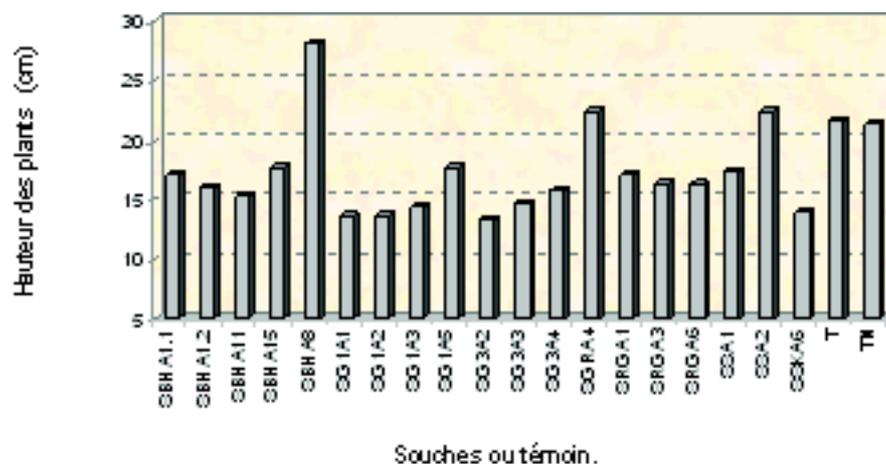


Figure 26 : Hauteur des plants chez l'arachide inoculée avec les différentes souches

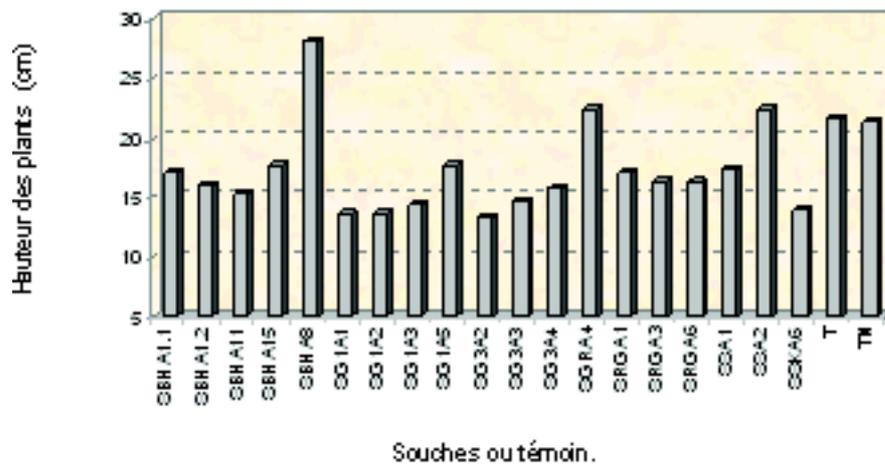


Figure 27 : Rendement en matière sèche des parties aériennes chez l'arachide inoculée avec les différentes souches

Le témoin non inoculé azoté (TN) a permis d'obtenir la valeur la plus élevée. L'inoculation a permis une augmentation importante de la matière sèche, et plus particulièrement chez les plantes inoculées par les souches SGRA4, SBHA15, et SBHA8, où cette augmentation était de plus de 30% par rapport au témoin non inoculé (T), et plus de 20% chez les plantes inoculées par les souches SG1A5, SSA2, et SSA1. Toutefois, une légère augmentation, est remarquée chez les plantes inoculées par les souches SG1A1, SG3A2, et SRGA1.

Le reste de la collection des souches testées, ont réagi négativement avec des valeurs plus faibles que le témoin non inoculé (T). C'est le cas de la majorité des souches à croissance lente SBHA1.1, SBHA1.2, SG1A2, SG1A3, SG3A3 et SG3A4.

L'augmentation du poids de matière sèche des plantes d'arachide inoculées avec des souches de rhizobium spécifiques a été soulignée par de nombreux chercheurs. Ainsi, Patel et Thakur (1997), rapportent que l'inoculation permet l'obtention d'un rendement en fanes (parties aériennes et parties racinaires) supérieur au témoin.

Cette augmentation de rendement en matière sèche sous l'effet de l'inoculation a été constatée également par Berraho (1984) et Maâtallah et *al.* (2002) chez le pois chiche.

III.5. Rendement et ses composantes

III.5.1. Rendement en gousses

Les moyennes relatives au rendement en gousses déterminées à partir du poids moyen des gousses par plant pour les différents traitements sont illustrées par la figure 28.

L'analyse de la variance ne montre aucune différence significative entre les souches pour ce paramètre (Annexe 3.13). Toutefois, les observations suivantes sont notées :

les plantes inoculées par les souches SBHA15 et SSA1, avec un rendement respectivement de 21,13 g/plant et 19,74 g/plant ont manifesté une supériorité par rapport au témoin non inoculé (T), soit une augmentation de 20,08% et 20,59% respectivement, et

une augmentation même par rapport au témoin non inoculé azoté (TN) avec 10,40% pour SBHA15 et 3,13% pour SSA1.

Les plantes inoculées par les souches SG3A2, SBHA1.1, SBHA8 et SBHA11 avec respectivement un rendement de 18,27 g/plant, 18,16 g/plant, 17,53 g/plant et 17,21 g/plant ont montré également une augmentation par rapport au témoin non inoculé (T) soit respectivement 11,61%, 10,93%, 7,09% et 5,13%.

Un résultat similaire a été obtenu par Hiep et *al.* (2002) chez une culture d'arachide qui s'est exprimée par une augmentation significative du rendement en gousses par rapport au témoin non inoculé et par rapport à une culture recevant 100U d'azote. Patel et Thakur (1998) ont également signalé une différence significative entre une culture d'arachide inoculée et non inoculée. Cette différence est exprimée par une augmentation en gousses de 8,20%.

Ainsi, l'augmentation du rendement en gousses chez l'arachide inoculée par différentes souches de rhizobium a été observée par plusieurs auteurs Diatloff et Langford, (1975), Joshi et Kulkarni (1983), Nambiar et *al.* (1984), Ndiaye, (1986), Pal et *al.* (2000), Rao et *al.* (2004).

Une réponse positive observée chez le haricot inoculé, soit une augmentation de rendement en gousses de +66% par rapport au témoin non inoculé (Guene et *al.*, 2004), Diouf et *al.* (1999) note aussi une augmentation significative du rendement du haricot inoculé.

III.5.2. Rendement en graines

Une augmentation du poids moyen des graines par plant est observée chez les plantes inoculées par les souches SSA1, SBHA15, SG3A2, SBHA1.1, et SBHA11 (Figure 29); soit une augmentation de 71,79%, 59,92%, 45,91%, 32,49%, et 21,01% respectivement par rapport au témoin non inoculé (T) et de 47,17%, 37%, 25%, 13,50% et 3,67% respectivement par rapport au témoin azoté (TN).

Une augmentation du rendement en graines par rapport au témoin non inoculé (T) est observée aussi chez les plantes inoculées par les souches SRGA3, SGRA4, SG1A3, SG1A1, SBHA8, SG3A3 et SG1A2.

De ce fait, nos résultats rejoignent ceux obtenus par Ngo The Dem et *al.* (2000) cités par Van Toan (2002) qui signalent que la culture d'arachide inoculée présente un rendement en graines supérieur par rapport à une culture non inoculée. De même Boujghagh (1993) sur le soja, constate une augmentation du rendement en grains de 37% dans un traitement inoculé et sans azote par rapport au traitement non inoculé recevant 100kg N/ha.

L'analyse de la variance ne montre aucun effet significatif entre les différents traitements pour ce paramètre (Annexe 3.14).

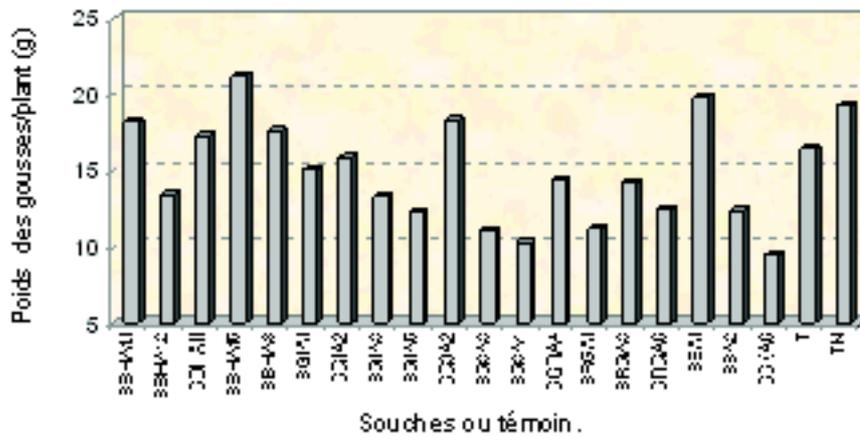


Figure 28 : Poids moyen des gousses par plant chez l'arachide inoculée avec les différentes souches

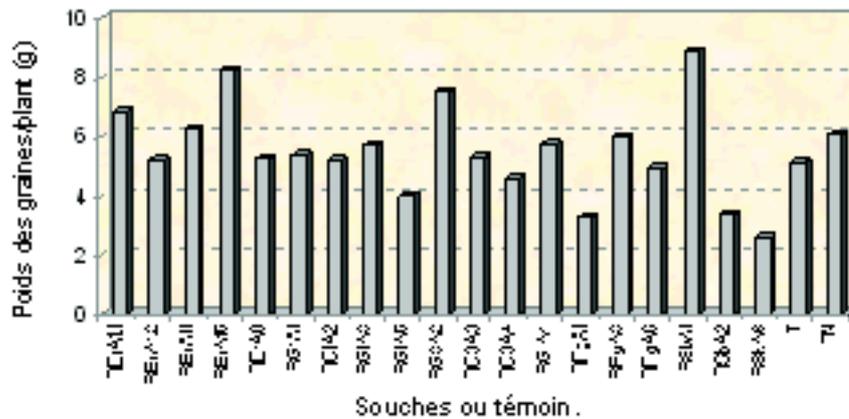


Figure 29 : Poids moyen des graines par plant chez l'arachide inoculée avec les différentes souches

III.5.3. Poids de cent gousses

Les moyennes relatives au poids de cent gousses obtenus avec les différentes souches (Figure 30) indiquent qu'elles sont supérieures à celles obtenus avec le témoin azoté (TN). Ainsi, le poids de cent gousses le plus élevé est obtenu chez les plantes inoculées par la souche SBHA11 avec 99,32g, soit une augmentation de 63,41% par rapport au témoin azoté (TN). Cependant, l'analyse de la variance ne montre aucune différence significative entre les différents traitements (Annexe 3.15).

III.5.4 Poids de cent graines

Le poids de cent graines le plus important est celui obtenu par les plantes inoculées par la souche SG1A2 avec 28g. La limite inférieure est obtenue chez les plantes inoculées par la souche SSKA6 avec 12,14g (Figure 31).

Par ailleurs, nous remarquons une augmentation bien évidente pour la majorité des traitements pour le poids de cent graines par rapport au témoin azoté (TN), à l'exception des traitements SBHA8 et SSKA6 ; les plantes inoculées par ces souches ont donné un

poids de cent graines inférieur à celui obtenu par le témoin non inoculé (T), et même à celui obtenu par le témoin azoté (TN).

L'analyse de la variance met en évidence une différence hautement significative entre les souches pour ce paramètre (Annexe 3.16) et le test de Neuman et Keuls permet de subdiviser la collection testée en trois groupes (Annexe 3.17). L'analyse des corrélations fait ressortir une corrélation positive hautement significative entre le poids de cent graines et le rendement en graines ($r = 0,54$), et une corrélation significative avec le rendement en gousses ($r = 0,46$).

III.5.5. Taux de fructification des gynophores

L'ensemble des traitements à l'exception de SGRA4 et SSA2 ont montré un taux de fructification des gynophores supérieur par rapport au témoin non inoculé (T) et par rapport au témoin azoté (TN) (Figure 32).

Le taux le plus élevé est obtenu chez les plantes inoculées par la souche SBHA15 avec 67,76%, suivie par la souche SG1A3 avec 61,10%. L'analyse de la variance révèle une différence très hautement significative entre les traitements (Annexe 3.18). Il ressort du test de Newman et Keuls cinq groupes homogènes (Annexe 3.19).

Le taux de fructification des gynophores est corrélé positivement avec le rendement en graines ($r = 0,58^{**}$), et avec le rendement en gousses ($r = 0,53^*$), ainsi qu'avec l'indice de récolte ($r = 0,52^*$).

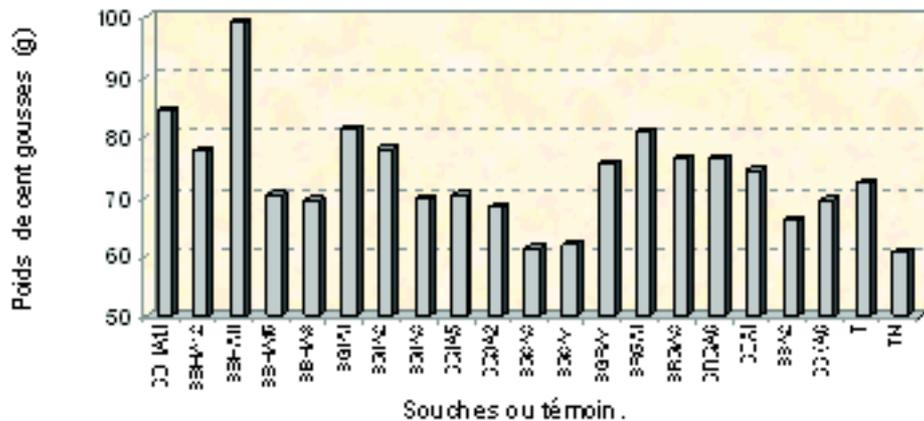


Figure 30 : Poids de cent gousses chez l'arachide inoculée avec les différentes souches.

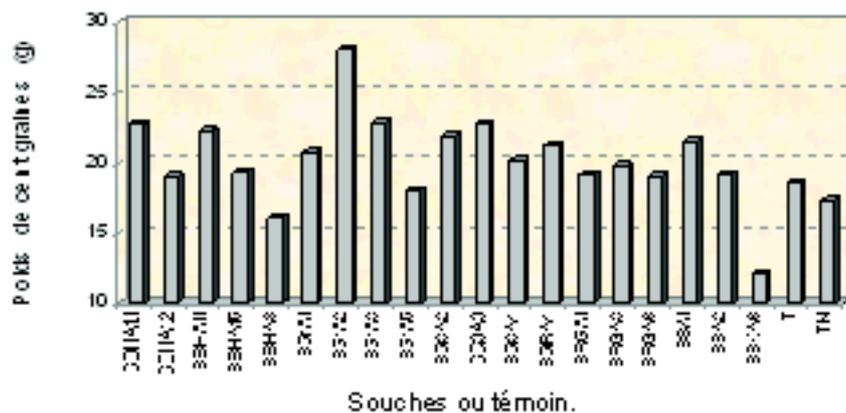


Figure 31 : Poids de cent graines chez l'arachide inoculée avec les différentes souches.

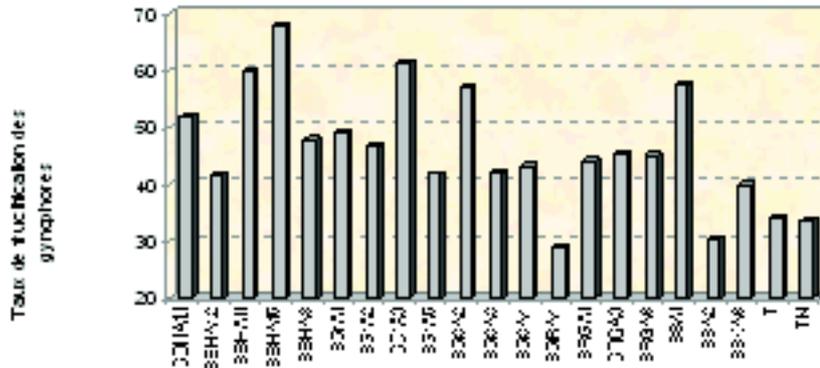


Figure 32 : Taux de fructification des gynophores chez l'arachide inoculée avec les différentes souches

III.5.6. Indice de récolte

Le maximum pour l'indice de récolte est atteint par les plantes inoculées par la souche SBHA1.1 soit 1,20, suivie par les souches SBHA1.2, SBHA11, SG1A2, SG1A3, et SG3A2. Tandis que, le minimum soit 0,50 est enregistré chez les plantes inoculées par la souche SSA2 (Tableau 9).

L'analyse de la variance ne montre aucune différence significative entre les traitements pour ce paramètre (Annexe 3.20). Par ailleurs, d'après l'analyse des corrélations, il existe une liaison positive hautement significative entre l'indice de récolte et le poids des graines, ainsi qu'avec le poids des gousses ($r=0,65$).

III.5.7. Taux de remplissage des gousses

Le taux le plus élevé est obtenu chez les plantes inoculées par la souche SG3A3 avec 0,48, suivie par SG3A2, SG3A4 avec 0,44 et SG1A3, SSA1 avec 0,43 (Tableau 9).

La limite inférieure pour ce paramètre est enregistrée chez les plantes inoculées par la souche SSKA6 avec 0,27.

Tableau 9 : Indice de récolte et taux de remplissage des gousses pour les différents traitements.

Traitements	Indice de Récolte	Taux de remplissage des gousses
SBHA1.1	1,20	0,38
SBHA1.2	1,18	0,39
SBHA11	1,00	0,35
SBHA15	0,89	0,39
SBHA8	0,76	0,30
SG1A1	0,79	0,36
SG1A2	1,05	0,32
SG1A3	1,01	0,43
SG1A5	0,55	0,33
SG3A2	1,01	0,44
SG3A3	0,79	0,48
SG3A4	0,83	0,44
SGRA4	0,56	0,34
SRGA1	0,59	0,30
SRGA3	0,93	0,39
SRGA6	0,73	0,39
SSA1	0,90	0,43
SSA2	0,50	0,29
SSKA6	0,95	0,27
T	0,92	0,30
TN	0,61	0,36

L'analyse de la variance révèle une différence significative (**Annexe 3.21**) et le classement des moyennes fait ressortir un seul groupe homogène (**Annexe 3.22**). Ce paramètre est corrélé positivement au poids des graines ($r = 0,49^*$).

III.5.8. Conclusion

La réponse de l'arachide à l'inoculation par les différentes souches étudiées est positive sur le plan de la nodulation. En effet, une nodulation importante a été notée pour **53 %** des souches et un potentiel fixateur intéressant pour **58%** des souches. La corrélation est significative ($r=0,47$) entre le poids sec des nodules par plant et l'activité fixatrice d'azote (**Figure 33**), alors qu'il n'existe aucune corrélation significative entre le nombre de nodules et le taux de fixation de chaque souche.

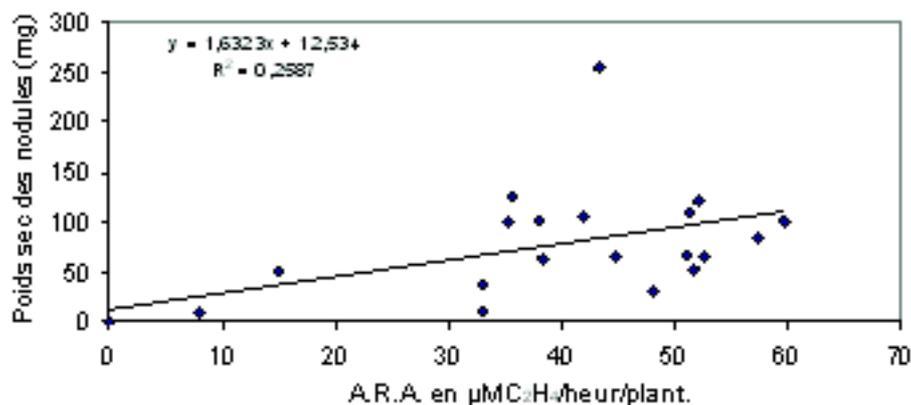


Figure 33 : Relation entre le poids sec des nodules et l'A.R.A.

Cette corrélation a été déjà mise en évidence par Tricot (1993), chez le pois qui a montré qu'il existe un parallélisme à l'échelle de la plante entre la masse de matière sèche de nodosité et la quantité d'azote fixée. Chez d'autres espèces comme le Haricot (*Phaseolus Vulgaris L.*), Rosas et Bliss (1986) indiquent également une corrélation hautement significative avec le poids des nodules, aussi bien en serre qu'au champ.

En revanche, Benhalima (2006) sur pois chiche note une grande hétérogénéité entre le nombre, le poids et l'efficacité des nodules.

Pour le rendement en matière sèche, les souches SG1A5, SSA2, et SSA1 ont permis une amélioration de plus de 20% comparé au témoin non inoculé et non fertilisé alors que les souches SGRA4, SBHA15, et SBHA8 ont montré une réaction positive presque égale à un apport d'azote de 100 unités. Des inoculums de ces souches confèrent donc aux plants d'arachide la couverture partielle ou presque totale de leur besoin en azote, ce qui limiterait l'utilisation massive des engrais azotés.

Ainsi, l'apport d'azote par la fixation symbiotique chez l'arachide, contribuerait à faire face aux besoins élevés de la plante en azote liés à la forte teneur de la plante en protéines, tant dans les graines que dans les fanes. Des travaux de l'ICRISAT établissent que l'arachide consomme un kilogramme d'azote pour produire 36 kg de biomasse contre 120kg pour le sorgho (Schilling et al., 1997).

Sur le plan du rendement et ses composantes, 63% des souches ont permis une augmentation du rendement en graines par rapport au témoin non inoculé et non azoté et plus de 26% des souches ont entraîné une augmentation par rapport au témoin recevant 100U d'azote. 32% des souches ont permis un rendement en gousses supérieur au témoin non inoculé, et 11% des souches par rapport au témoin azoté. Ces deux composantes du rendement sont hautement corrélées entre elles ($r=0,90$). Mais ne le sont pas avec le potentiel fixateur des souches. Par ailleurs, les souches qui ont entraîné cette supériorité sont classées parmi celles qui ont montré également des caractéristiques symbiotiques supérieures (capacité fixatrice d'azote, nodulation et rendement en matière sèche satisfaisant).

Concernant le poids de cent gousses et le poids de cent graines, l'ensemble des plantes inoculées ont donné une augmentation de ces paramètres par rapport au témoin azoté. A l'exception des plantes inoculées par les souches SSKA6 et SBHA8, qui ont donné un poids de cent graines inférieur à celui obtenu par le témoin azoté.

Quant au taux de fructification des gynophores, toutes les plantes ont montré un accroissement de ce paramètre par rapport au témoin azoté à l'exception des souches SSA2 et SGRA4.

Pour l'indice de récolte, toutes les plantes ont donné un indice de récolte supérieur à celui obtenu par le témoin azoté (exception faite pour les plantes inoculées par les souches SRGA1, SGRA4, SG1A5, et SSA2).

Enfin, pour le taux de remplissage des gousses, toutes les plantes à l'exception de celles inoculées par les souches SSA2 et SSKA6 ont donné une réponse positive avec des valeurs plus élevées que celles du témoin non inoculé non azoté. En outre, les plantes inoculées par les souches SG3A3, SG3A4, SSA1, SG1A3, SG3A2, SRGA3, SBHA1.2, SRGA6, SBHA15, et SBHA1.1 ont manifesté une augmentation même par rapport au témoin azoté.

Ainsi, même si toutes les composantes ne sont pas affectées de la même manière, l'arachide répond mieux à l'inoculation par certaines souches, ce qui permet d'envisager

d'intégrer cette pratique dans l'itinéraire technique de culture de l'arachide, afin de réduire les dépenses occasionnées par l'utilisation des engrais chimiques azotés et la préservation de l'environnement.

III.6. Stress hydrique

III.6.1. Effet du stress hydrique sur la nodulation

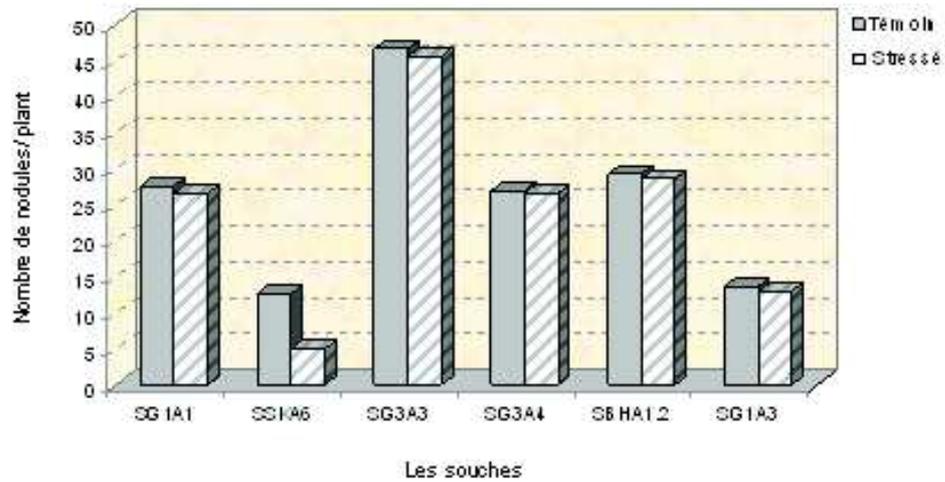
Le stress hydrique d'une semaine n'induit pas de différence significative sur le nombre de nodules des plants stressés par rapport aux plants non stressés; par contre une différence très significative est observée après cinq semaines de stress même si une augmentation du nombre de nodules chez les plants stressés est observée avec la durée du stress (**Figure 34**).

Après cinq semaines de stress les souches SG3A4 et SBHA1.2 se sont montrées les plus infectives dans les conditions normales avec respectivement 220 et 210 nodules/plant. La souche SG3A3 est la plus infective en conditions de stress avec 89 nodules/plant, suivie de la souche SG3A4 avec 69 nodules/plant. L'analyse de la variance révèle une différence très hautement significative pour les deux facteurs souche et stress hydrique, et hautement significative pour l'interaction entre ces deux facteurs (**Annexe 4.3**). Le test de Newman et Keuls fait ressortir deux groupes homogènes pour les deux facteurs ainsi que pour l'interaction (**Annexe 4.4**).

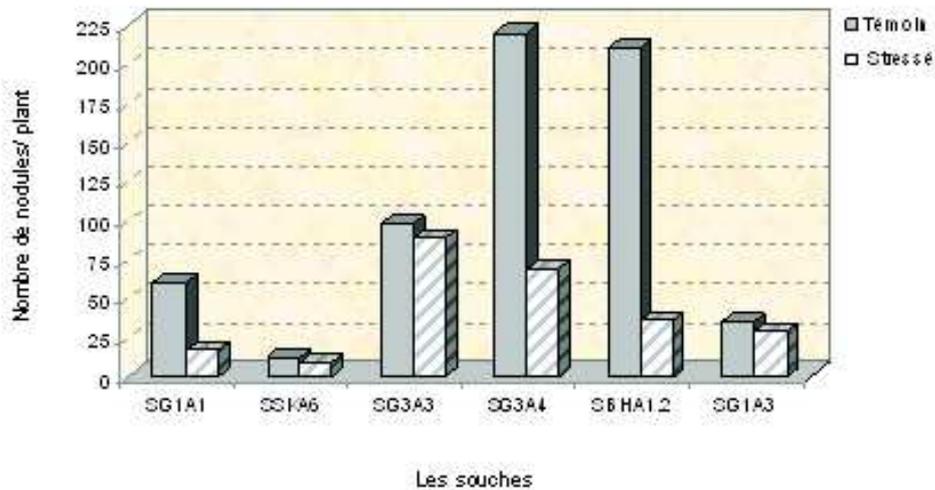
Le stress hydrique a un effet négatif sur les populations de rhizobium introduites dans le sol (Aurag et Brhada, 1994). Il induit une réduction de l'infection et de nodulation des légumineuses (Zahran, 1999). Ainsi le dessèchement progressif d'un sol sableux, cas des sols des régions à production d'arachide, diminue ou élimine totalement les populations bactériennes introduites dans ce sol.

Nos résultats relatifs à l'effet du stress hydrique sur la nodulation montrent que ce dernier n'affecte pas la nodulation après une semaine de stress hydrique. En effet, dans cette expérimentation, ce stress a été appliqué à la quatrième semaine, alors que l'inoculation a lieu au semis. Sachant que les nodules apparaissent chez l'arachide un mois après l'inoculation, il est, donc, logique de penser que les rhizobium se sont déjà multipliés, adsorbés aux racines et enrôlés dans le développement des nodules lorsque le stress a été appliqué. Toutefois, l'effet négatif du déficit hydrique prolongé et intense sur la nodulation a été souligné par plusieurs auteurs (Bouniols et *al.*, 1985; Sinclair et *al.*, 1988, Atharet Johnson, 1996; Boutraa et Sanders, 2001), ce qui rejoint nos résultats de nodulation après cinq semaines de stress. 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.

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-Cabrialet Castellanos (1993), sur 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.



Une semaine de stress.



Cinq semaines de stress.

Figure 34: Nombre de nodules par plant chez l'arachide inoculée avec des souches rhizobiennes et sous condition de stress hydrique

Tandis qu'un stress hydrique durant le stade reproducteur diminue la nodulation et après réalimentation régulière en eau il n'y avait aucun rétablissement.

Chez le soja, l'effet d'un léger stress hydrique réduit seulement le nombre de nodules formées, alors qu'un stress modéré et sévère réduit le nombre et la taille de nodules (Williams et Mallorca, 1984).

III.6.2. Effet du stress hydrique sur l'A.R.A.

Les résultats présentés dans la figure 35 montrent un effet dépressif du stress hydrique sur l'activité fixatrice d'azote. Après une semaine de stress cet effet est plus marqué chez les traitements SG1A1, SG3A3, SG1A3 et SG3A4 avec respectivement une diminution de 31, 23,33, 21,67, et 16 $\mu\text{MC}_2\text{H}_4/\text{h}/\text{plant}$ par rapport aux témoins. L'analyse de la variance montre un effet très hautement significatif pour le facteur souche et le facteur stress hydrique

et significatif pour l'interaction (**Annexe 4.5**). Le test de Newman et Keuls fait ressortir deux groupes homogènes pour le facteur souche et le facteur stress et quatre groupes homogènes pour l'interaction (**Annexe 4.6**).

Après cinq semaines de stress les traitements SG1A1, SSKA6 et SG3A3 avec respectivement une diminution de 44, 36 et 24,67 μ MC₂H₄/h/plant par rapport aux témoins se sont montrés les plus affectés par le stress. L'analyse de la variance révèle une différence très hautement significative pour le facteur stress, non significative pour le facteur souche et significative pour l'interaction (**Annexe 4.7**). Le test de Newman et Keuls fait ressortir deux groupes homogènes pour le facteur stress et deux groupes homogènes pour l'interaction (**Annexe 4.8**).

La sensibilité de la fixation de l'azote au déficit hydrique a été montrée par plusieurs auteurs, notamment chez l'arachide (Nambiar et Dart, 1980; **Simpson et Daft**, 1991), le cowpea (Zablotowicz et Focht, 1981; **Venkateswarlu et al.**, 1989), le soja (Obaton et al., 1982; Kirda et al., 1989; **Sinclair et al.**, 2007), la fève (**Guerin et al.**, 1990) et chez le pois-chiche (Wery et al., 1988; Ounane, 1998; Ounane et al., 2003).

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 (Guérin 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).

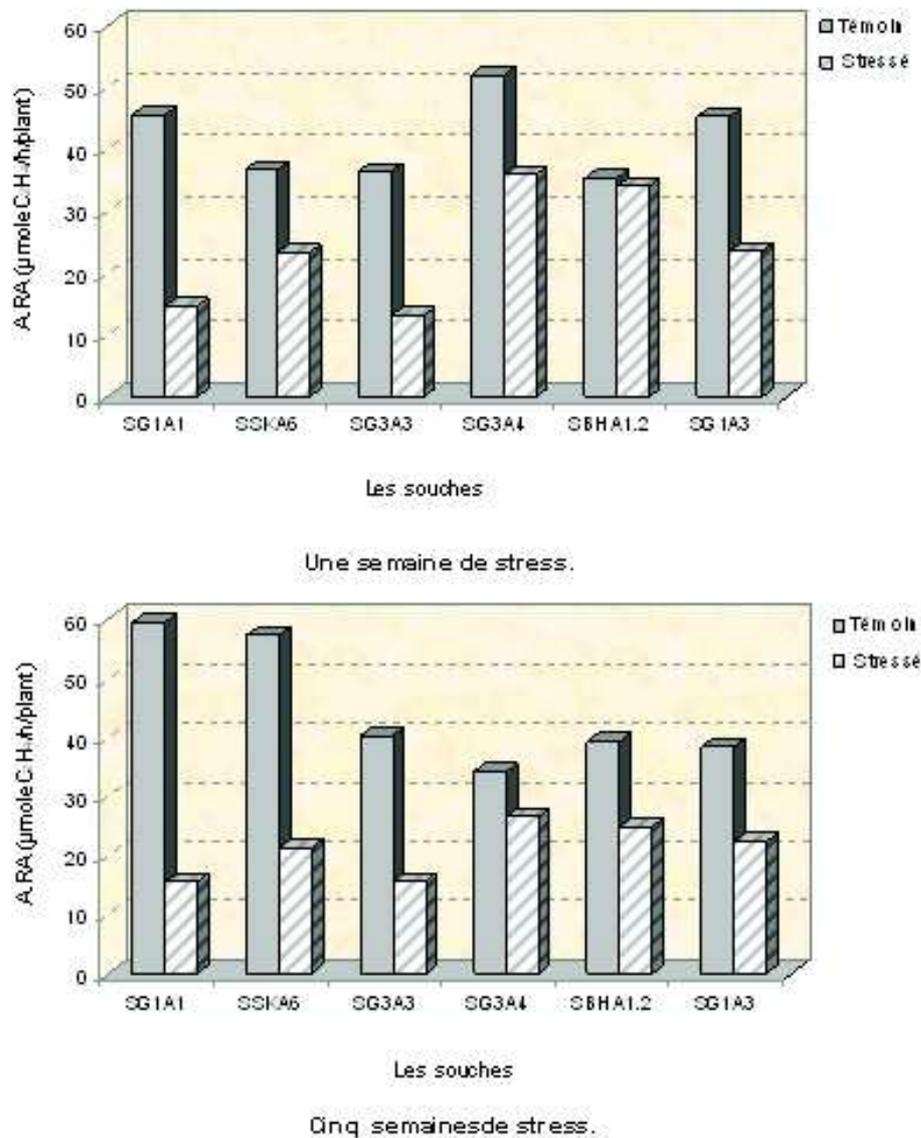


Figure 35: Activité réductrice d'acétylène (ARA) chez l'arachide inoculée avec des souches rhizobiennes et sous condition de stress hydrique.

D'autres travaux montrent que chez les plantes exposées à un stress hydrique modéré, les nodules ne sont pas limitées 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 (Arrese-Igor et al., 1999; Serraj et al., 2004; Ladrera et al., 2007).

III.6.3. Effet du stress hydrique sur l'A.N.R.

La figure 36 montre bien un effet dépressif du stress hydrique sur l'activité nitrate réductase. Cet effet ne s'observe pas de la même façon après une semaine qu'après cinq semaines de stress. Ainsi, après une semaine de stress hydrique, l'ANR diminue de façon significative chez tous les traitements (SG1A1, SSKA6, SG3A3, SG3A4, SBHA1.2 et SG1A3). L'analyse de la variance montre une différence très hautement significative pour le facteur stress, non significative pour le facteur souche et l'interaction entre ces deux facteurs (Annexe 4.9).

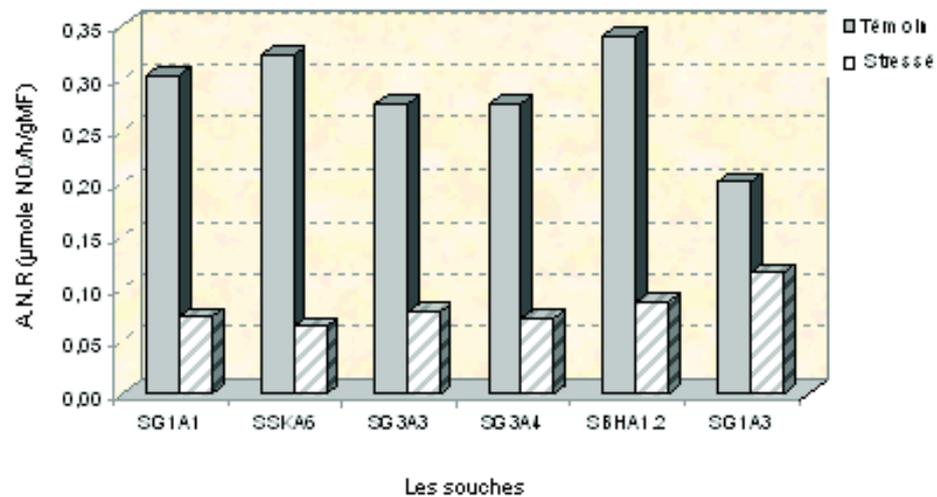
Le test de Newman et Keuls fait ressortir deux groupes homogènes pour le facteur stress (**Annexe 4.10**).

Tandis qu'après cinq semaines de stress hydrique, la diminution est plus importante chez les plantes inoculées avec les souches SSKA6, SG3A3, SBHA1.2 et SG1A3. L'analyse de la variance montre un effet significatif pour le facteur souche et hautement significatif pour le facteur stress. L'interaction entre les deux facteurs ne montre aucune différence significative (**Annexe 4.11**). Le test de Newman et Keuls fait ressortir deux groupes homogènes pour les facteurs ; souche et stress hydrique (**Annexe 4.12**).

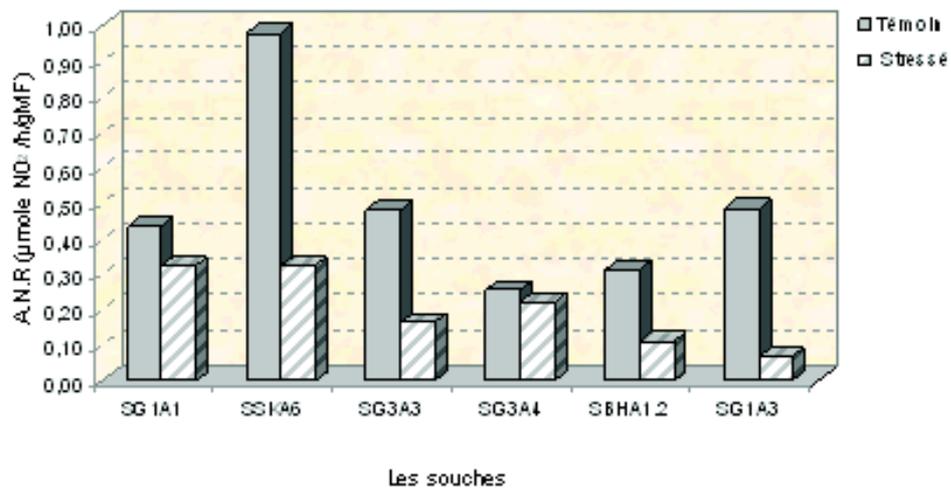
Nos résultats relatifs à la sensibilité de l'activité nitrate réductase au déficit hydrique rejoignent ceux obtenus par plusieurs chercheurs, notamment chez le haricot (Boutraa et Sanders, 2001), le cowpea (Silveira et al., 2001), le soja (Obaton et al., 1982; Bouniols et al., 1985) et chez le pois-chiche (Deschamps et Wery 1987; Ounane, 2004).

En effet, la réduction du nitrate est dépendante d'autres métabolismes, tels la respiration et la photosynthèse, pour la fourniture d'énergie, de pouvoir réducteur et de chaînes carbonées (Faure et al., 1997).

La nitrate réductase est l'une des enzymes les plus sensibles au stress hydrique (Ferrario-Méry et al., 1998; Foyer et al., 1998). C'est une enzyme inductible par son substrat, de ce fait elle est réglée par plusieurs métabolites, et son mécanisme de contrôle sous stress hydrique semble complexe dû à la participation des facteurs directs et indirects (Foyer et al., 1998). Ainsi, le manque d'eau en diminuant l'activité photosynthétique handicape la réduction du nitrate par un manque de pouvoir réducteur à l'ANR. Les besoins énergétiques seraient diminués par une fermeture des stomates ou une baisse du transport des photosynthétats (Sall, 1987).



Une semaine de stress.



Cinq semaines de stress.

Figure 36: Activité nitrates réductase (ANR) chez l'arachide inoculée avec des souches rhizobiennes et sous condition de stress hydrique.

De nombreux auteurs ont montré que le nitrate aussi bien que l'azote total par plant, augmentent au fur et à mesure que le déficit hydrique s'accroît, tandis qu'une forte diminution de l'activité enzymatique est observée (Sinha et Nicolas, 1981).

Toutefois, la diminution rapide de l'activité nitrates réductase observée a été très probablement provoquée par dénaturation/inactivation de l'enzyme ou dégradation induite par le stress hydrique (Ferrario-Méry et al., 1998; Foyer et al., 1998), en dépit de la présence du NO_3^- dans les tissus des feuilles. Ainsi, cette enzyme dépend de l'intensité de l'approvisionnement en ions nitriques directement disponibles et non des nitrates présents dans les tissus qui seraient localisés en des sites de moindre accessibilité.

III.6.4. Effet du stress hydrique sur la hauteur des plants

Le stress hydrique d'une semaine n'induit pas d'effet significatif sur la hauteur des plants, de ce fait l'analyse de la variance ne révèle aucune différence significative pour les deux facteurs souche et stress hydrique ainsi que pour l'interaction (**Annexe 4.13**). Toutefois, une diminution de la hauteur des plants est observée chez les plantes inoculées par les souches SG1A3, SG1A1 et SG3A3 (**Figure 37**).

Après cinq semaines de stress, l'effet du stress est plus marqué. Il se traduit par une diminution plus au moins importante chez tous les traitements. Ainsi, les plantes inoculées par les souches SG1A3, SG1A1 et SBHA1.2 se sont montrées les plus sensibles (**Figure 33**).

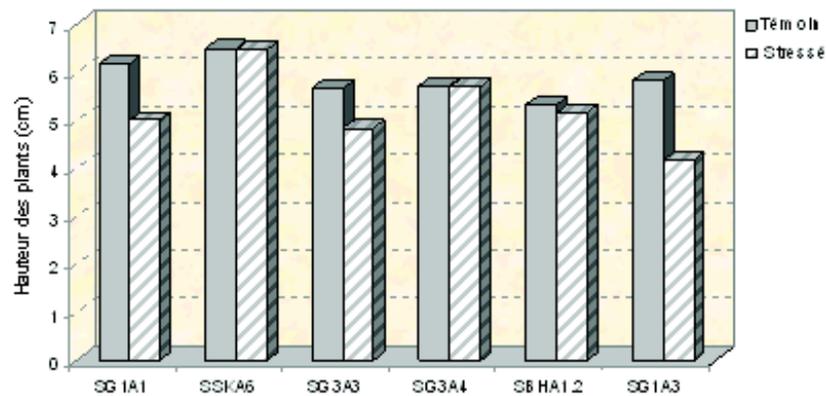
L'analyse de la variance montre une différence hautement significative pour le facteur stress hydrique (**Annexe 4.14**). Le test de Newman et Keuls fait ressortir deux groupes homogènes (**Annexe 4.15**).

La réduction de la hauteur de la tige chez l'arachide suite à un stress hydrique a été constatée également par Malki et Boussaha (1998). En revanche, Bacha (2002) sur pois chiche, montre que la réduction de la hauteur des plants est observée seulement lorsque le stress est appliqué au stade végétatif.

III.6.5. Effet du stress hydrique sur la production de biomasse

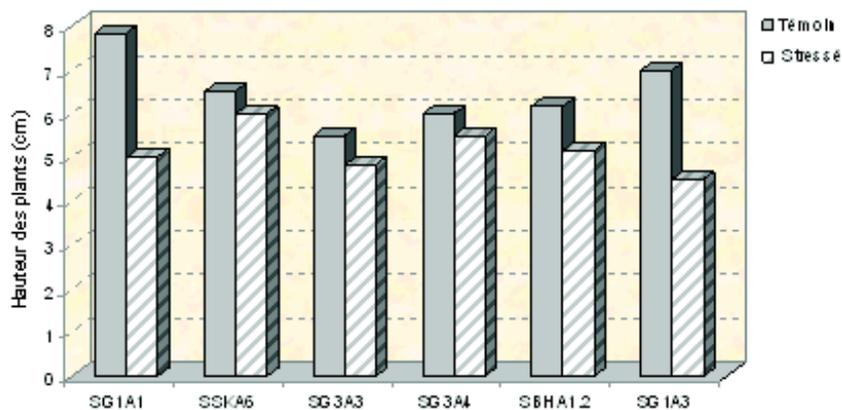
D'après la **figure 38**, nous remarquons que le stress d'une semaine ne semble pas avoir d'impact sur le poids sec des parties aériennes pour l'ensemble des traitements, à l'exception des plantes inoculées par la souche SG1A3 qui présentent une diminution de ce paramètre par rapport aux témoins. Ceci est confirmé par l'analyse de la variance, qui ne montre aucune différence significative entre les traitements (**Annexe 4.16**).

Après cinq semaines de stress, l'effet du stress est plus marqué chez tous les traitements. Les plantes inoculées par les souches SG3A4 et SG3A3 se sont montrées les plus sensibles, tandis que les plantes inoculées par la souche SG1A3 se sont révélées les plus tolérantes.



Les souches

Une semaine de stress.



Les souches

Cinq semaines de stress.

Figure 37: Hauteur des plants chez l'arachide inoculée avec des souches rhizobiennes et sous condition de stress hydrique.

L'analyse de la variance montre une différence très hautement significative pour le facteur stress hydrique, et significative pour l'interaction entre les deux facteurs (**Annexe 4.17**). Le test de Newman et Keuls fait ressortir deux groupes homogènes pour le facteur stress et trois groupes homogènes pour l'interaction (**Annexe 4.18**).

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 après cinq semaines de stress.

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.

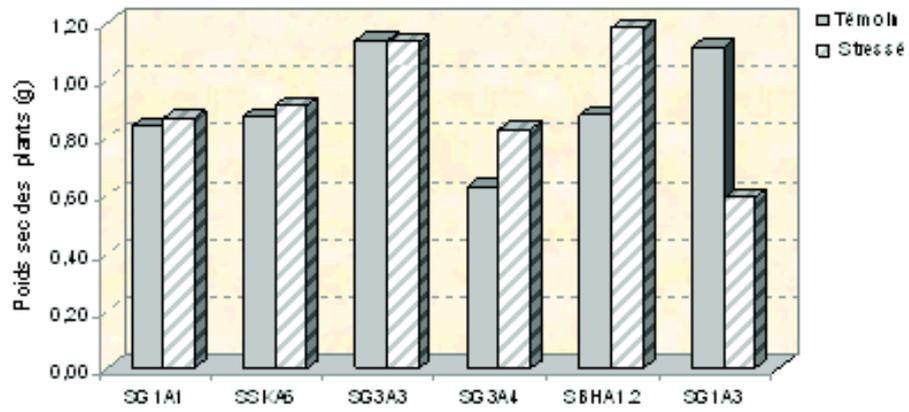
Par ailleurs, le stress réduit la taille finale des feuilles par réduction de la surface et la vitesse moyenne de croissance ; ainsi la taille finale des feuilles est fortement corrélée avec le potentiel hydrique des plantes (Karamanos et *al.*, 1982).

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.

III.6.6. Conclusion

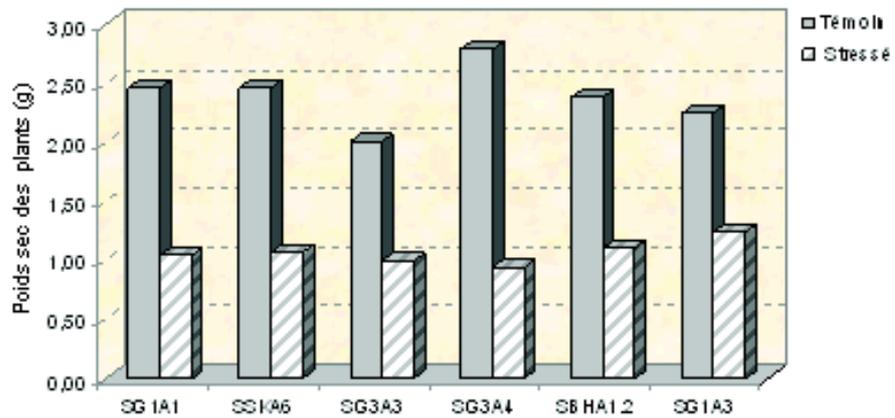
Le stress hydrique est un facteur environnemental important qui peut affecter la fixation symbiotique de l'azote; cette dernière serait sensible même à un stress hydrique modéré (**Sinclair et *al.* ., 2007**). Selon Purcell et *al.* (1997), elle serait plus sensible au déficit hydrique que beaucoup d'autres processus physiologiques et pourrait donc limiter le rendement dans ces conditions. A l'opposé, le rôle bénéfique de la fixation symbiotique dans le maintien d'une bonne productivité en condition de déficit hydrique a été rapporté par Purcell et King (1996).

Les résultats obtenus montrent que le stress hydrique se manifeste par une baisse rapide des deux activités enzymatiques ARA et ANR, ainsi qu'une diminution de la nodulation, de la hauteur et du poids sec des plants. Toutefois, les souches SG3A4, SBHA1.2, SG1A3 confirment leur supériorité pour la fixation symbiotique de l'azote sous stress hydrique. Et en se référant à la production de matière sèche, les plantes inoculées par les souches SG1A3, SG3A3, SBHA1.2 se sont révélées les plus tolérantes au stress hydrique.



Les souches

Une semaine de stress.



Les souches

Cinq semaines de stress.

Figure 38: Poids sec des plants chez l'arachide inoculée avec des souches rhizobiennes et sous condition de stress hydrique.

CONCLUSION GENERALE

Dans ce travail qui a porté sur l'étude de la symbiose rhizobium-arachide, nous avons cherché à évaluer la variabilité symbiotique et phénotypique des rhizobiums nodulant cette espèce, en vue d'une amélioration des rendements au moindre coût de production, tout en préservant les ressources naturelles.

L'évaluation du potentiel rhizobien des sols des régions arachidières en Algérie (**El Tarf** ; Berrihane, Sebaà, Réghia, Gréat, El Kala, Souarekh, et **Guelma**), atteste la présence de souches bactériennes capables d'établir une symbiose avec cette légumineuse.

Une collection de 19 isolats bactériens a été retenue. Leur caractérisation phénotypique sur la base de leur tolérance à la salinité (NaCl), aux pH acides et alcalins, aux températures extrêmes, ainsi qu'à l'utilisation des différents hydrates de carbone, a permis de mettre en évidence une gamme diversifiée de souches nodulant l'arachide. En effet, l'analyse numérique montre deux grands groupes au niveau de similarité de 38% qui diffèrent essentiellement par leur vitesse de croissance ; un groupe qui réunit les isolats à croissance rapide et intermédiaire et un autre groupe qui réunit les isolats à croissance lente qui appartiendraient probablement au genre *Bradyrhizobium*. Ces deux groupes se ramifient à 53% de similarité pour former six groupes phénotypiques distincts.

Par ailleurs, certaines souches se distinguent par des caractères intéressants : les souches SBHA8, SBHA15, SGRA4, SRGA1, SRGA3 et SRGA6 par leur osmotolérance (tolèrent jusqu'à 800mM de NaCl), les souches SBHA11, SBHA15, SBHA8, SG1A2, SG1A3, SG3A2, SG1A5, et SG3A3 par une adaptation particulière aux hautes températures (40°C), et les souches à croissance lente SBHA1.1, SBHA1.2, SG1A2, SG1A1, SG3A3, SG1A3 et SG3A4 par leur tolérance aux milieux très acides ou très basiques (pH 4 à 10).

L'étude de la réponse de la population d'arachide K7D₂ à l'inoculation par ces souches, fait ressortir des souches intéressantes. En effet, sur la base du potentiel de fixation de l'azote, les souches SSKA6, SG1A1, SG1A2, SG3A4, SBHA15, SBHA1.2, SRGA3, SG3A2, SG1A3, SSA1 et SG3A3 sont les plus efficaces avec une meilleure performance symbiotique, nodulation et capacité fixatrice d'azote, des souches SBHA1.2, SG3A4 et SSKA6.

Pour le rendement en matière sèche, un gain de plus de 20% comparé au témoin non inoculé est obtenu avec les souches SGRA4, SBHA15, SBHA8, SG1A5, SSA2, et SSA1.

La majorité des souches (plus de 63%) ont entraîné une augmentation du rendement en graines, avec un maximum de plus de 71% comparé au témoin non inoculé et de plus de 47% comparé au témoin azoté. Un gain moins important est enregistré également pour le rendement en gousses.

Une supériorité particulière est enregistrée chez les plantes inoculées par les souches à croissance intermédiaire SSA1, SBHA15 et SBHA8 pour les paramètres étudiés ; rendement en graines, gousses, matière sèche, capacité fixatrice d'azote et nodulation. De ce fait, ces souches peuvent présenter un intérêt incontestable pour inoculer l'arachide et contribuer à l'amélioration du rendement chez cette espèce. Cependant, il s'avère nécessaire de confirmer les performances symbiotiques de ces souches par des essais d'inoculation au champ et avec d'autres variétés ou encore d'autres espèces comme le

cowpea afin de sélectionner les meilleurs couples symbiotiques, capables de s'adapter à nos conditions climatiques dont, la principale contrainte climatique se traduit par un déficit hydrique.

Dans notre étude portant sur l'effet du stress hydrique sur la nodulation, l'activité réductrice d'acétylène et l'activité nitrate réductase, la hauteur des plants et la production de matière sèche, les résultats obtenus montrent que les deux activités enzymatiques (ARA et ANR) sont rapidement affectées par le stress, ainsi une diminution très marquée est notée après une semaine de stress hydrique seulement, tandis que la nodulation, la hauteur des plants et la production de matière sèche ne sont affectées qu'après un stress prolongé (cinq semaines de stress).

L'effet de la contrainte hydrique se manifeste différemment en fonction de son intensité, de la souche de rhizobium et du stade phénologique de la plante (Ounane et *al.*, 2003).

En se référant à la production de matière sèche, les plantes inoculées par les souches SG1A3, SG3A3 et SBHA1.2 se sont révélées les plus tolérantes en conditions de stress hydrique. Tandis que la nodulation est moins affectée chez les plantes inoculées par les souches SG3A3, SG3A4 et SG1A3.

Toutefois, les souches SG3A4, SBHA1.2 et SG1A3 confirment leur supériorité pour la fixation de l'azote et les souches SG1A1 et SG3A4 pour l'assimilation de l'azote pendant une contrainte hydrique. Ces deux voies de la nutrition azotée chez les légumineuses sont souvent complémentaires et se succèdent dans le temps (Obaton et Kimou, 1987; Serraj et *al.*, 1993), mais peuvent être concurrentielles. Ainsi, en condition de stress hydrique une compensation s'établit pour assurer une alimentation régulière en azote de la plante (Wery et *al.*, 1986; Patriarca et *al.*, 2002).

Ainsi ces souches sélectionnées pour leur tolérance au stress hydrique peuvent être utilisées pour inoculer l'arachide susceptible d'être cultivé dans les régions où la contrainte hydrique constitue un facteur limitant de la production. Cependant, l'amélioration de cette symbiose passe obligatoirement par une sélection du partenaire végétal sur le plan de la réponse à l'inoculation et de leur tolérance aux contraintes pédoclimatiques.

Références Bibliographiques

- Alkama N. 2003. Symbiose à rhizobium chez quelques légumineuses en Algérie : Aspects microbiologiques et physiologiques. Thèse magister. INA. El-Harrach. 86 P.
- Athar M., Johnson D. A. 1996. Influence of drought on competition between selected *Rhizobium meliloti* strains and naturalized soil rhizobia in alfalfa. *Plant and Soil*. 184(2): 231-241.
- Aubert G. 1978. Méthode d'analyse des sols. CRDP Marseille. 191P.
- Aune J.B. 2007. Meilleures Techniques et Approches de Développement pour l'amélioration de l'agriculture au Sahel. 32 P.
- 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.
- Ayanaba A., Asanuma A., Munns D.N. 1983. An agar plate method for rapid screening of *Rhizobium* for tolerance to acid aluminium stress. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47(1): 256-258.
- 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.
- Bado B.V. 2002. Rôle des légumineuses sur la fertilité des sols ferrugineux tropicaux des zones Guinéenne et Soudanienne Du Burkina Faso. Thèse Doctorat. Université Laval, Québec, 183P. (<http://www.theses.ulaval.ca/2002/20487/20487.html>.)
- Balandreau J. Dommergues Y. 1971. Mesure in situ de l'activité nitrogénase. *C. R. Acad. Sc. Paris*. 273 : 2020-2023.
- Barrera L. L., Trujillo M. E., Goodfellow M., Garcia F. J., Hernandez-lucas I., Davila G., van Berkum P., Martinez-Romero E. 1997. Biodiversity of bradyrhizobia nodulating *Lupinus* spp. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47: 1086-1091.
- Benhalima M. 2006. Essai de caractérisation de quelques isolats de *Rhizobium* nodulant le pois chiche (*Cicer arietinum* L.).Thèse magister. INA. El-Harrach. 90 P.
- Benhinzia Y, Benhinzia H, Benguedouar A, Muresu R, Giacomini A, Squartini A. 2004. Gamma proteobacteria can nodulate legumes of the genus *Hedysarum*. *Syst. Appl. Microbiol.* 27: 462–468.
- Benmohamed A., Ounane S.M., Ghalmi N., Djebara M., Benamara A. 2004. Etude de la diversité génétique de l'arachide local (*Arachis hypogaea* L). 2ème conférence méditerranéenne de Rhizobiologie. Oran 23-25 mai 2004.
- Bergersen F. J. 1980. Methods for evaluating biological nitrogen fixation. F.J. Bergersen ed. John Wiley and sons. New York. 702 P.
- Berraho E.B. 1984. Etude des souches de *Rhizobium* du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) isolées de plusieurs types de sol du Maroc. Thèse Doctorat. Université Mohamed V. Rabat. 106 P.

- Beunard P. 1995. Appréciation de l'influence du taux de chlorure de sodium sur la multiplication et l'infection de diverses souches de *Rhizobium*. In Facteurs limitant la fixation symbiotique de l'azote dans le Bassin Méditerranéen. Les Colloques n°77. Ed. INRA. Paris. pp.159–164.
- Bolanos-Vasquez MC., Werner D. 1997. Effects of *Rhizobium tropici*, *R. etli*, and *R. leguminosarum* bv. Phaseoli on nod gene-inducing flavonoids in root exudates of *Phaseolus vulgaris*. *Mol. Plant. Microbe. Intract.* 10: 339-346.
- Boujghagh M. 1993. Influence de l'azote et de l'inoculation des semences par un mélange de souches de *Rhizobium japonicum* sur le soja. *Rev. Al Awamia.* 82: 199-208.
- Bouniols A., Puech J., Chalamet A., Mondies M. 1985. Influence des conditions d'alimentation hydrique ou (et) azotée à différents stades du développement sur la production de graines et nutrition azotée du Soja. *Eurosoya.* 3 : 55-54.
- 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.
- Carlson W.R., Price J.P. N., Stacey G. 1994. The biosynthesis of Rhizobial lipooligosaccharide nodulation signal molecules. *Mol. Plant Microbe Intract.* 7: 684-695.
- Chandler M.R., Date R.A., Roughley R. J. 1982. Infection and root nodule development in *Stylosanthes* species by *Rhizobium*. *J. Exp. Bot.* 33: 47-57.
- Chen W.M., Laevens S., Lee T.M., Coenye T., De Vos P., Mergeay M., Vandamme P., 2001. *Ralstonia taiwanensis* sp. nov., isolated from root nodules of *Mimosa* species and sputum of cystic fibrosis patient. *Int J. Syst Evol. Microbiol.* 51: 1729-1735.
- Clavel D., Gautreau J., 1997. L'arachide. In. L'amélioration des plantes tropicales Ed. CIRAD ORESTOM., Paris. pp. 61-82.
- Dakora F.D. 1985. Nodulation and nitrogen fixation by groundnut in amended and unamended field soil in Ghana. In: Biological fixation in Africa. Ssali, H. and S. O. Keya (eds). Proceedings of the first conference of the African association for biological nitrogen fixation (AABNF) held in Nairobi, Kenya. pp. 324- 339.
- de Lajudie P., Laurent-Fulele E., Willems A., Torck U., Coopmam R., Collins M.D., Kersters K., Dreyfus B., Gillis M. 1998. *Allorhizobium undicola* gen. nov., sp.nov., nitrogen-fixing bacteria that efficiently nodulate *Neptunia natans* in Senegal. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48: 1277-1290.
- de Lajudie P., Willems A., Pot B. 1994. Polyphasic taxonomy of Rhizobia: emendation of the genus *Sinorhizobium* and description of *Sinorhizobium meliloti* comb. nov., *Sinorhizobium saheli* sp. nov., *Sinorhizobium teranga* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 44: 715-733.
- Demol J., Baudoin J.P., Louant B.P. 2002. L'amélioration des plantes. Application aux principales espèces cultivées en régions tropicales. Ed. Les presses agronomiques de Gembloux. 560 P.
- Deschamps M., Wery J. 1987. Effet de l'eau et de l'azote sur la croissance et la nutrition azotée du pois chiche. In : Nutrition azotée des légumineuses. Ed. INRA, Paris. Les colloques n°37 : 271-280.

- Diatloff A., Langford S. 1975. Effective natural nodulation of peanuts in Queensland. *Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences*. 32: 95-100.
- 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.
- Diouf A., Ndoye I., Spencer M.M., Nef-Campa C., Gueye M. 1999. Need for inoculation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Senegal and assessment of nitrogen fixation using N isotope dilution technique. *Symbiosis*. 27: 251-257.
- Diouf D., Diop T.A., Ndoye I. 2003. Actinorhizal, mycorrhizal and rhizobial symbioses: how much do we know? *African journal of biotechnology*. vol. 2(1): 1-7.
- Djordjevic M.A., Redmond J. W., Batey M., Rolfe B.G. 1987. Clovers secrete specific phenolic compounds which either stimulate or repress nod gene expression in *Rhizobium trifolii*. *EMBO. J.*, 6: 1173-1179.
- Dommergues Y., Duhaux E., Hoang G.D. 1999. Les arbres fixateurs d'azote: Caractéristiques fondamentales et rôle dans l'aménagement des écosystèmes méditerranéens et tropicaux. Y. Dommergues .ed. Édition espaces 34. Paris. 475 P.
- Dommergues Y., Mangenot F. 1970. *Ecologie microbienne du sol*. Ed. Mason, Cie, 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.
- Duchaufour P. 1970. *Précis de pédologie*. Paris, Masson & Cie, 481 P.
- Duhoux E., Nicole M. 2004 : *Biologie végétale. Association et interaction chez les plantes*. Ed. DUNOD. Paris. 164 P.
- Elkan G.H. 1992. Taxonomy of the rhizobia. *Can. J. Microbiol.* 38: 446-450.
- Encyclopédie. 2006. Arachide. Un article de Wikipédia, l'encyclopédie libre. (« <http://fr.wikipedia.org/wiki/Arachide> »)
- Euzéby J. P., Findall B. J. 2004. Status of strains that contravene rules 27(3) and 30 of the Bacteriological Code. Request for an Opinion. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54: 293-301.
- Faostat, 2008. <http://faostat.fao.org>.
- Faure J.D., Meyer C., Caboche M. 1997. Assimilation du nitrate : nitrate et nitrite réductases. In *Assimilation de l'azote chez les plantes – Aspects physiologique, biochimique et moléculaire*. Ed INRA, Paris. pp. 45- 64.
- Ferrario-Méry S., Valadier M., Foyer C.H. 1998. Over expression of nitrate reductase in tobacco delays drought-induced decreases in nitrate reductase activity and mRNA. *Plant Physiol.* 117: 293-302.
- Fleischman D. E., Evans W. R., Miller M. 1995. Bacteriochlorophyll-containing *Rhizobium* species. In *Anoxygenic Photosynthetic Bacteria*. Blankenship, R.E., M.T. Madigan, and C. E. Bauer (eds). Kluwer Academic Publishers, Netherlands. pp. 123-136.

- Foyer C.H., Valadier M.H., Migge, A., Becker, T.W. 1998. Drought-induced effects on nitrate reductase activity and mRNA and on the coordination of nitrogen and carbon metabolism in maize leaves. *Plant Physiol.* 117: 283-292.
- Gall H.T., Heichel G.H., Barnes D.K. 1987. Photosynthate partitioning in plants of Alfaalfa selected for high and low nodule mass. *Crop. Sci.* 27: 96-100.
- Gillier P., Sylvestre P. 1969. L'arachide. Ed Maisonneuve et Larousse. Paris. 292P.
- Gouffi K., Pica N., Pichereau V., Blanco C. 1999. Disaccharides as new class of nonaccumulated osmoprotectants for *Sinorhizobium meliloti*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 1491-1500.
- Graham P.H. 1992. Stress tolerance in *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and nodulation under adverse soil conditions. *Can. J. Microbiol.* 38: 475-484.
- Graham P.H., Draeger K., Ferrey M.L., Conroy M.J., Hammer B.E., Martinez E., Naarons S.R., Quinto C. 1994. Acid pH tolerance in strains of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and initial studies on the basis for acid tolerance of *Rhizobium tropici* UMR1899. *Can. J Microbiol.* 40: 198-207.
- Guene N.F.D., Diouf A., Gueie M. 2004. Nitrogen Fixation in the Common Bean (*Phaseolus vulgaris*) - A Multilocational Inoculation Trial in Senegal. In *Symbiotic Nitrogen Fixation -Prospects for Enhanced Application in Tropical Agriculture*. Ed. Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd. New Delhi. pp. 247-252.
- Guerin V., Trinchant J. C., Rigaud J. 1990. Nitrogen fixation (C₂H₂ reduction) by broad bean (*Vicia faba* L.) nodules and bacterioids under water restricted conditions. *Plant Physiol.* 92: 595-601.
- Haddadj A. 2002. La formation des nodosités à *Rhizobium* chez quelques légumineuses cultivées: Aspects chimio-taxiques et cellulaires. Thèse magister. INA. El-Harrach. 126 P.
- Hamdi Y.A. 1986. Application des systèmes fixateurs d'azote dans l'amélioration et l'aménagement des sols. Ed. FAO, Rome. 180 P.
- Hamidou F., Dicko M.H., Zombre G., Traoré A.S., Guinko S. 2005. Réponse adaptative de deux variétés de niébé à un stress hydrique. *Cahiers Agricultures.* 14(6) : 561-567.
- Hartwig U., Boller B., Nosberger J. 1987. Oxygen supply limits nitrogenase activity of clover after defoliation. *Ann. Of botany.* 59: 285-291.
- Hiep N.H., Diep C. N., Herridge D.F. 2002. Nitrogen fixation of soybean and groundnut in the Mekouy Delta, Vietnam. In: *Inoculants and nitrogen fixation of legumes in Vietnam*. Ed. Herridge. pp. 10-18.
- Hopkins W.G. 2003. *Physiologie végétale*. Ed DeBoek et Larcier S.a, Paris. 514P.
- Jordan D.C. 1982. Transfer of *Rhizobium japonicum* Buchanan 1980 to *Bradyrhizobium* gen.nov., a genus of slow growing root nodule bacteria from leguminous plants, *Int. J. Syst. Bacteriol.* 32: 136-139.
- Jordan D.C. 1984. Family III Rhizobiaceae. In " *Bergey's manual of symbiotic bacteriology*" 9ème édition, vol. 1A, Krieg N.R. et Holt J.C. (eds.). Williams et Wilkins. Baltimore. pp. 234-244.

- Joshi P.K., Kulkarni J.H. 1983. Response of groundnut to single and mixed *Rhizobium* strains. *Indian Journal of Agricultural Sciences*. 53: 376-378.
- Karamanos A.J., Elston J., Wadsoworth R.M. 1982. Water stress and leaf growth of field bean (*Vicia faba* L.) in the field: water potentials and laminar expansion. *Annal. Bot.* 49 : 815-826.
- Kirda C, Danso S K A, Zapata F. 1989. Temporal water stress effects on nodulation, nitrogen accumulation and growth of soybean. *Plant Soil*. 120:49–55.
- KuyKendall L. D., Saxena B., Devine T. E., Udell S. E. 1992. Genetic diversity in *bradyrhizobium japonicum* Jordan 1982 and a proposal for *bradyrhizobium elkanii* sp nov. *Can. J. Microbiol.* 38: 501-505.
- 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.
- Laguerre G., van Berkum P., Amarger N., Prévost D. 1997. Genetic diversity of rhizobial symbionts isolated from legume species within the genera *Astragalus*, *Oxytropis*, and *Onobrychis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 4748-4758.
- Lowendorf H.S. 1980. Factor affecting survival of *Rhizobium* in soils. *Adv. Microbiol. Ecol.* 4: 87-124.
- M.A.D.R. 1993-2007. Statistique série B. Ministère de l'agriculture et du développement rural.
- Maâtallah J., Berraho E.B., Sanjuan J., Luch C. 2002. Phenotypic characterization of rhizobia isolated from chickpea (*Cicer arietinum*) growing in Moroccan soils. *Agronomie.* 22: 321-329.
- Malki M., Boussaha F. 1998. Influence du rationnement en eau sur le comportement de quelques populations d'arachide provenant de la région d'El Kala. Thèse Ing. Agro. INA. El-Harrach. 127 P.
- Moulin L., Munive A., Dreyfus B., Boivin-Masson C. 2001. Nodulation of legumes by members of the b-subclass of Proteobacteria. *Nature.* 21: 3-5.
- Mpepereki S., Makonese F., Wollum A.G. 1997. Physiological characterization of indigenous rhizobia nodulating *Vigna unguiculata* in Zimbabwean soils. *Symbiosis.* 22: 275-292.
- Mylona P., Pawlowski K., Bisseling T. 1995. Symbiotic nitrogen fixation. *Plant Cell.* 7: 869-885.
- Nambiar P.T.C., Dart P.J. 1980. Studies on nitrogen fixation by Groundnut at ICRASAT. In: *Proceedings of the International Workshop on Groundnuts*. ICRISAT Center. Patancheru, India. pp.110-123.
- Nambiar P.T.C., Srinivasa Ran B., Anjaiah V. 1984. Studies on competition, persistence and methods of application of a groundnut *Rhizobium* strain NC92. *Peanut Science.* 11: 83-87.
- Ndiaye M. 1986. Contribution à l'inoculation bactérienne au champ de l'arachide (*Arachis hypogaea*) et du soja (*Glycine max*) au Sénégal communication présentée

- au séminaire "Amélioration Biologique De La Fertilité Du Sol" Dakar- Sénégal, 19 - 25 Mars 1986. pp. 437-455.
- Obaton M. 1992. Facteurs pédoclimatiques limitant la fixation biologique de l'azote chez les légumineuses. In: Mulongoy K., Gueye M., Spencer D.S.C. Ed. Biological nitrogen fixation and sustainability of tropical agriculture.
- Obaton M., Kimou A. 1987. Evolution de l'activité nitrate réductase et nitrogénase au cours du cycle végétatif chez le soja. In : Nutrition azotée des légumineuses. Ed. INRA, Paris. Les colloques n°37 : 281-284.
- Obaton M., Miquel M., Robin P., Conejero O., Domenach A.M., Bardin R. 1982. Influence du déficit hydrique sur l'activité nitrate réductase et nitrogénase chez le soja. C.R. Acad. Sci. Paris, Série III. 294: 1006-1012.
- Odee D. W., Sutherland J. M., Makatiani E. T., Mc Inroy S. G., Sprent J. I. 1997. Phenotypic characteristics and composition of the rhizobia associate with woody legumes growing in diverse Kanyen conditions. Plant and Soil. 188: 65-75.
- Osa-Afiana L.O., Alexander M. 1982. Differences among cowpea Rhizobium in tolerance to high temperature and desiccation in soil. Appl. Environm. Microbiol. 43 (2): 435-439.
- Ounane S.M. 1998. Effet du stress hydrique sur la fixation et l'assimilation de l'azote chez le pois chiche. In : Annales de l'institut national agronomique - El Harrach. 19 (1et 2). 114-123.
- 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., 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.
- 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.
- Pal K.K., Dey R., Bhatt D.M., Chauhan S.M. 2000. Plant growth promoting fluorescent pseudomonads enhanced peanut growth, yield and nutrient uptake. 12 P. (<http://www.ag.auburn.edu/argentina/pdfmanuscript/pal.pdf>).
- Patel S.R., Thakur D.S. 1997. Influence of phosphorus and Rhizobium on yield attributes, yield and nutrient uptake of groundnut (*Arachis hypogaea*). Oilseeds Res. 14(2): 189-193.
- Patel S.R., Thakur D.S. 1998. Effect of phosphorus and bacterial inoculation on yield and quality of groundnut (*Arachis hypogaea*). Indian journal of agricultural sciences. 68(2): 119-120.
- Patriarca E.J., Tate R., Laccarino M. 2002. Key role of bacterial NH₄⁺ metabolism in Rhizobium-plant symbiosis. Microbiol. Mol. Biol. 66: 203-222.

- Pena-Cabriaes J. J., Castellanos J. Z. 1993. Effects of water stress on N₂ fixation and grain yield of *Phaseolus vulgaris* L. *Plant and Soil*. 152(1): 151-155.
- Perry J.J., Staley J.T., Lory S. 2004. *Microbiologie. Cours et question de révision*. Ed DUNOD, Paris. 891P.
- Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A. 2003. *Microbiologie* Ed DeBoeck et Larcier S.a., Paris. 1137P.
- Pueppke S.G. 1986. Nodule distribution on legume roots. Specificity and response to the presence of soil. *Soil. Biol. Biochem.* 18: 601-606.
- 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.
- Purcell L.C., King C.A. 1996. Drought and nitrogen source effects on nitrogen nutrition, seed growth, and yield in soybean. *J. Plant Nutr.* 19: 969-993.
- Rao D.L.N., Natarajan T., Iyamurugu K., Raut R.S., Rawat A.K. 2004. *Rhizobium* inoculation of leguminous oilseeds results of on-farm and farmers' field demonstrations in the ICAR coordinated project on BNF. In *Symbiotic Nitrogen Fixation-Prospects for Enhanced Application in Tropical Agriculture*. Ed. Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd. New Delhi. pp. 301-310.
- Rhijn P., van Der leyden J. 1995. The *Rhizobium*-plant symbiosis. *Microbiol. Rev.*, 59: 124-142.
- Rivas R., Willems A., Palomo J. L., Garcia-Benavides P., Mateos P. F., Martinez-Molina E., Gillis M., Velazquez E. 2004. "*Bradyrhizobium betae* sp. nov. isolated from roots of *Beta vulgaris* affected by tumor-like deformations." *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54: 1271-1275.
- Robin P., Conejero G., Tranchant JP., Passama L., Salsac L. 1983. Mesures de la réduction du nitrate dans les feuilles intactes. *Physiol Vég.* 21 : 123-128.
- Rosas J.C., Bliss F.A. 1986. Host plant traits associated with estimates of nodulation and nitrogen fixation in common bean. *Hort. Sci.* 21: 287-289.
- Rosenberg C. 1997. Signaux symbiotiques chez les *Rhizobium*. In *Assimilation de l'azote chez les plantes – Aspects physiologique, biochimique et moléculaire*. Ed INRA, Paris. pp.149- 162.
- 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*). *Indian J. Agric. Sci.* 65. 853-857.
- Sadiki M. 1992. Classification of symbiotic interactions between strains of *Rhizobium leguminosarum* and genotypes of Faba bean. In *Interactions between plants and microorganisms*. IFS. Sc.Nat.143: 227-237.
- Sadji H. 2003. Etude de la symbiose entre *Rhizobium leguminosarum* bv trifolii et le trèfle d'Alexandrie (*Trifolium alexandrinum*) : Aspects microbiologiques, physiologiques et histologiques. Thèse magister. FSB-USTHB. Alger. 130 P.
- Sall K. 1987. Influence du déficit hydrique sur les activités nitrates réductase et nitrogénase chez le soja (*Glycine max.* L. Merrill). Thèse Doctorat. INP-ENASA. Toulouse. 140 P.

- 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.
- Schilling R. 2003. L'arachide Histoire et perspectives. Résumé de Conférence. Agropolis Museum. CIRAD. 5 février 2003.
(<http://museum.agropolis.fr/pages/savoirs/arachide/arachide.htm>).
- Schilling R., Dimanche P., Crambade P., Gautreau J. 1997. L'arachide en Afrique tropicale. Ed. Masson et Larousse, Paris. 171 P.
- Schultze M., Kondorosi A. 1998. Regulation of symbiotic root development. *Annu. Rev. Genet.* 32: 33-57.
- 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., 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.
- Serraj R., Obaton M., Vidal A. 1993. Nitrogen fixation and nitrate assimilation of determinate, semi-determinate and indeterminate soybeans (*Glycine max L.*). *Journal of Agronomy and Crop Science.* 171: 36-45.
- 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.
- Simpson D., Daft M. J. 1991. Effects of *Glomus clarum* and water stress on growth and nitrogen fixation in two genotypes of groundnut. *Afr. Ecosyst. Environ.* 35: 47-54.
- 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.
- Sinclair T.R., Zimet A.R., Muchow R.C. 1988. Changes in soybean nodule number and weight in response to drought. *Field Crops Res.* 18: 197-202.
- Singleton P.W., Bohlool B.B. 1983. Effect of salinity on the functional components of the soybean- *Rhizobium japonicum* symbiosis. *Crop Sci.* 23: 815-818.
- Singleton P.W., El Swaify S.A., Bohlool B.B. 1982. Effect of salinity on the *Rhizobium* growth and survival. *Appl. Environ. Microbiol.* 44: 884-890.
- Sinha S.K., Nicholas D.J.D. 1981. Nitrate reductase. In: *The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants*. Eds. L G Paleg & D Aspinall. Academic Press, Sydney. pp. 145-169.
- Sprent J.I. 2001. Nodulation in Legumes. Royal Botanic Gardens. Kew. 221 P.

- Sterner J. P., Parker M. A. 1999. Diversity and relationships of bradyrhizobia from *Amphicarpaea bracteata* based on partial nod and ribosomal sequences. *Syst. Appl. Microbiol.* 22: 387-392.
- Stowers M. D., Elkan G. H. 1984. Gluconate catabolism in Cowpea rhizobia: evidence 111 for a Ketogluconate pathway. *Arch. Microbiol.* 137: 3-9.
- Stowers M.D. 1985. Carbon utilization by *Rhizobium*. *Ann. Rev. Microbiol.* 34: 89-108.
- Taurian T., Ibanez F., Fabra A., Aguilar O. M. 2006. Genetic Diversity of *Rhizobia* Nodulating *Arachis hypogaea* L. in Central Argentinean Soils. *Plant and Soil.* Vol. 282, N° 1-2: 41-52.
- Tricot F. 1993. Mise en place des nodosités du pois protéagineux (*Pisum Sativum* L.). Influence de la nutrition carbonée. Thèse de Doctorat, Université de Paris- Sud Orsay.
- Trinchant J.C., Drevon J.J., Rigend J. 1997. Fixation symbiotique de l'azote, In Assimilation de l'azote chez les plantes – Aspects physiologique, biochimique et moléculaire. Ed INRA, Paris. pp.131- 147.
- Tu J.C. 1980. Effect of salinity on *Rhizobium*-root-hair interaction, nodulation and growth of soybean. *Can. J. Plant Sc.* 61: 231-239.
- Uheda E., Daimon H., Yoshizako F. 2001. Colonization and invasion of peanut (*Arachis hypogaea* L.) roots by gusA-marked *Bradyrhizobium* sp. *Canadian Journal of Botany.* 79: 733-738.
- Upchurch R.G., Elkan G.H. 1977. Comparison of colony morphology, salt tolerance, and effectiveness in *Rhizobium japonicum*. *Can. J. Gen. Microbiol.* 23: 1118-1122.
- Urtz B. E., Elkan G. H. 1996. Genetic diversity among *Bradyrhizobium* isolates that effectively nodulate peanut (*Arachis hypogaea*). *Can. J. Microbiol.* 42: 1121-1130.
- Van Gestel, M., R. Merckx, and K. Vlassak. 1993. Microbial biomass responses to soil drying and rewetting: the fate of fast-growing and slow-growing microorganisms in soils from different climates. *Soil Biol. Biochem.* 25: 109-123.
- van Rossum D., Schuurmans F.P., Gillis M., Muyotcha A., Van Verseveld H.W., Stotthamer A.H. , Boogerd F.C. 1995. Genetic and phenotypic analysis of *Bradyrhizobium* strains nodulating Peanut (*Arachis hypogaea* L.) roots, *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 1599-1609.
- Van Toan P. 2002. Potential for legume inoculation in Vietnam. In: Inoculants and nitrogen fixation of legume in Vietnam. Ed. Herridge D. pp. 46-51.
- Vance C.P., Reibach P.H., Ellis W.R. 1986. Proteolytic enzymes of legumes nodules and their possible role during nodule senescence. In M.J. Dalling, ed, *Plant Proteolytic Enzymes* CRC Press, Boca Raton, pp. 103-124.
- 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.
- 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.

- Vijn I., das Neves L., van Kammen A., Franssen H., Bisseling T. 1993. Nod factors and nodulation in plants. *Science* 260: 1764-1765.
- Vincent J.M. 1970. Manual for the practical study of the root nodule bacteria .international biological programme. London, 164 P.
- Vincent J.M. 1981. Genus *Rhizobium*. In "The procaryotes" Starr M.P., Stolp H., Balows A. et Schlegel H.G. Eds. Springer, Verlag, Berlin. pp. 97-128.
- Vincent J.M. 1979. The identification and classification of *Rhizobium*. *Soc. Appl. Bact. Tech. Ser.* 14: 49-69.
- Vinuesa P., Leon-Barrios M., Silva C., Willems A., Jarabo-Lorenzo A., Perez-Galdona R., Werner D., Martinez-Romero E. 2005. *Bradyrhizobium canariense* sp. nov., an acid-tolerant endosymbiont that nodulates endemic genistoid legumes (Papilionoideae:Genisteeae) from the Canary Islands, along with *Bradyrhizobium japonicum* bv. *genistearum*, *Bradyrhizobium* genospecies alpha and *Bradyrhizobium* genospecies beta. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55: 569-575.
- Wade T. 1998. Etude de la photosynthèse bactérienne chez un *Bradyrhizobium* d'Aeschynomene. Photoactivité et caractérisation du complexe capteur de lumière. D.E.A. Faculté Des Sciences Et Techniques. Département de Biologie Végétale. Université Cheikh Anta Diop. Dakar. 50 P.
- Wani S.P., Rupela O.P., Lec K.K. 1995. Sustainable agriculture in the semi-arid tropic through biological nitrogen fixation in grain legumes. *Plant and soil.*174: 29-49.
- Wery J., Turc O., Salsac L.1986. Relationship between N fixation, N assimilation and growth in a legume. *Plant and Soil.* 96: 17-29.
- Wery J., Deschamps M., Cresson-Leger N. 1988. Influence of some agroclimatic factors and agronomic practices on nitrogen nutrition of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Beck D.P. et Materon L.A. (editors) *Nitrogen fixation by legumes in mediterranean agriculture*, I.C.A.R.D.A. Netherlands. pp. 287-299.
- Williams P.M., De Mallorca M.S. 1984. Effect of osmotically induced leaf moisture stress on nodulation and nitrogenase activity of *Glycine max*. *Plant Soil.* 80: 267-283.
- Wissuwa M., Ae N. 2001. Genotypic differences in the presence of hairs on roots and gynophores of peanuts (*Arachis hypogaea* L.) and their significance for phosphorus uptake. *Journal of experimental botany.* 361(52): 1703-1710.
- Xu L. M., Ge C., Cui Z., Li J., Fan H. 1995. *Bradyrhizobium liaoningense* sp. nov. isolated from the root nodules of soybeans. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45: 706-711.
- Yao, Z. Y., Kan F. L., Wang E. T., Wei G. H., Che W. X. 2002. Characterization of rhizobia that nodulate legume species of the genus *Lespedeza* and description of *Bradyrhizobium yuanmingense* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 52: 2219-2230.
- Yelton M.M., Yang S.S., Edie S.A., Lim S.T. 1983. Characterization of an effective salt-tolerant, fast-growing strain of *Rhizobium japonicum*. *J. Gen. Microbiol.* 129: 1537-1547.
- Zablotowicz R.M., Focht D.D., 1981. Physiological characteristics of cowpea Rhizobia. Evaluation of symbiotic Efficiency in *Vigna unguiculata*. *Appl. Environ. Microbiol.* 41 (3): 679-685.

- 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.
- Zakhia F. de Lajudie P. 2001. Taxonomy of rhizobia. *Agronomie*. 21: 569-576.
- Zakhia F., de Lajudie P. 2006. La taxonomie bactérienne moderne: revue des techniques - application à la caractérisation des bactéries nodulant les légumineuses (BNL). *Can. J. Microbiol.* 52(3): 169–181.
- Zhang X., Nick G., Kailainem S., Terefwork Z., Paulin L., Tighe S.W., Graham P.H., Lindström K. 1999. Phylogeny and diversity of Bradyrhizobium strains isolated from the root nodules of peanuts (*Arachis hypogaea*) in Sichuan, China. *Syst. Appl. Microbiol.* 22: 378-386.
- Zhang X.-X., Harper R., Karsisto M., Lindström K. 1991. Diversity of Rhizobium bacteria isolated from root nodules of leguminous trees. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 41: 104-113.

Annexes

Annexe 1 : Composition des milieux de culture.

A.1.1. Milieu YEMA minimum

Mannitol	K ₂ HPO ₄	MgSO ₄	2g	0,5g	0,2g	0,1g	0,1g	1000ml	15g
7H ₂ O	Extrait de levure	NaCl	Eau distillée	Agar-agar					

A.1.2. Milieu utilisé pour la dégradation des sucres

Source de carbone	10g	0,5g	0,2g	0,1g	0,1g	1000ml
K ₂ HPO ₄	MgSO ₄	7H ₂ O	Extrait de levure	NaCl	Eau distillée	

Annexe 2 : Résultats de la caractérisation phénotypique.

Isolats	NaCl (mM)					Températures °C						
	200	400	600	800	1 000	5	10	15	20-30	35	40	
SBHA1												
.1	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	
SBHA1												
.2	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	
SBHA1												
1	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	
SBHA1												
5	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	
SBHA8	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	
SG1A1	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	
SG1A2	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	
SG1A3	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	
SG1A5	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	
SG3A2	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	
SG3A3	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	
SG3A4	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	
SGRA4	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	
SRGA1	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	
SRGA3	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	
SRGA6	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	
SSA1	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	
SSA2	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	
SSKA6	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	

A.2.1. Tolérance à la salinité (NaCl) et aux températures des isolats.

A.2.2. Tolérance aux pH des isolats.

Isolats	4	4,5	5	6-7	8	9	9,5	10
SBHA1.1	+	+	+	+	+	+	+	+
SBHA1.2	+	+	+	+	+	+	+	+
SBHA11	-	-	-	+	+	+	+	+
SBHA15	-	-	+	+	+	+	+	+
SBHA8	-	-	+	+	+	+	+	+
SG1A1	+	+	+	+	+	+	+	+
SG1A2	+	+	+	+	+	+	+	+
SG1A3	+	+	+	+	+	+	+	+
SG1A5	-	-	+	+	+	+	-	-
SG3A2	-	-	+	+	+	+	+	+
SG3A3	+	+	+	+	+	+	+	+
SG3A4	+	+	+	+	+	+	+	+
SGRA4	-	-	+	+	+	+	-	-
SRGA1	-	-	+	+	+	+	-	-
SRGA3	-	-	+	+	+	+	-	-
SRGA6	-	-	+	+	+	+	-	-
SSA1	-	+	+	+	+	+	-	-
SSA2	-	+	+	+	+	+	-	-
SSKA6	-	-	+	+	+	+	-	-

A.2.3. Utilisation des hydrates de carbone par les isolats.

Isolats	Cellbiose	Maltose	Raffinose	Inositol	Saccharose	Galactose	Sorbose	Dulcitol	Dextrine	Méthyle mannoside
SBHA1.1	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-
SBHA1.2	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+
SBHA11	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
SBHA15	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
SBHA8	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
SG1A1	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
SG1A2	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+
SG1A3	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
SG1A5	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-
SG3A2	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-
SG3A3	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
SG3A4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
SGRA4	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+
SRGA1	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-
SRGA3	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-
SRGA6	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
SSA1	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+
SSA2	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+
SSKA6	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-

A.1.3. Dispositif expérimental (Bloc aléatoire complet)

T : témoin non inoculé, TN : témoin azoté.

BLOC 1	BLOC 2	BLOC 3
SGRA4	TN	SRGA3
SSA1	SSIA6	SG3A1
TN	SBHA12	T
SBHA12	SSA1	SG3A3
SSA2	SRGA6	SBHA8
SSIA6	SG3A1	SBHA12
SRGA6	SG1A1	SG3A2
T	SRGA3	SSA1
SRGA3	SSA2	SSIA6
SG1A1	SG3A3	SGRA4
SRGA1	SBHA15	SRGA6
SG3A1	SG1A3	TN
SG3A2	SG1A2	SSA2
SBHA8	SBHA11	SG1A1
SG3A3	SRGA1	SG1A5
SG1A5	SG3A2	SBHA15
SBHA15	SBHA1.1	SG1A3
SBHA11	T	SBHA1.1
SG1A3	SBHA8	SBHA11
SG1A2	SG1A5	SRGA3
SBHA1.1	SGRA4	SG1A2

Annexe 3 : Analyse de la variance

Réponse à l'inoculation

A.3.1. Analyse de la variance du nombre de nodules par plant.

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	178 939.27	62	2 886.12				
VAR.FACTEUR1	155 747.94	20	7 787.40	14.10	0.0000		
VAR.RESIDUELLE	23 191.33	42	552.17			23.50	41.7%

A.3.2. Classement des isolats par rapport au nombre de nodules selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5%.

Isolats	moyennes	Groupes homogènes
SSA1	167.33	A
SSKA6	165.00	A
SG3A4	127.67	A B
SSA2	101.00	B C
SBHA1.2	89.67	B C D
SG3A3	86.67	B C D
SRGA1	82.67	B C D E
SBHA1.1	54.33	C D E F
SRGA3	54.33	C D E F
SG1A2	52.00	C D E F
SBHA8	40.33	C D E F
SG1A1	36.00	D E F
SGRA4	35.33	D E F
SG1A3	21.33	E F
SBRA15	20.33	E F
SG3A2	20.00	E F
SRGA6	13.33	F
SG1A5	11.67	F
SBHA11	3.33	F
TN	0.00	F
T	0.00	F

A.3.3. Analyse de la variance du poids frais des nodules.

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	5.95	62	0.10				
VAR.FACTEUR1	4.80	20	0.24	8.79	0.0000		
VAR.RESIDUELLE	1.15	42	0.03			0.17	41.7%

A.3.4. Classement des isolats par rapport au poids frais des nodules selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5%.

Etude de la symbiose à Rhizobium chez l'Arachide (*Arachis hypogaea* L.)

Isolats	moyennes	Groupes homogènes
SSA1	1,11	A
SSA2	0.91	A B
SSKA6	0.79	A B C
SBHA8	0.60	B C D
SGRA4	0.56	B C D
SRGA1	0.49	C D E
SG1A2	0.44	C D E F
SG3A4	0.42	C D E F
SRGA3	0.40	C D E F
SBHA1.1	0.40	C D E F
SG3A2	0.39	C D E F
SBHA1.2	0.36	C D E F
SG1A1	0.32	D E F
SG3A3	0.26	D E F
SG1A5	0.24	D E F
SBHA15	0.23	D E F
SRGA6	0.21	D E F
SG1A3	0.18	D E F
SBHA11	0.03	E F
TN	0.00	F
T	0.00	F

A.3.5. Analyse de la variance du poids sec des nodules.

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	0.22	62	0.00				
VAR.FACTEUR1	0.20	20	0.01	17.70	0.0000		
VAR.RESIDUELLE	0.02	42	0.00			0.02	31.9%

A.3.6. Classement des isolats par rapport au poids sec des nodules selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5%.

Isolats	moyennes	Groupes homogènes
SSA1	0.26	A
SG3A4	0.13	B
SGRA4	0.13	B
SBHA1.2	0.11	B C
RG3A3	0.11	B C
SBHA8	0.10	B C D
SSA2	0.10	B C D
SSKA6	0.10	B C D
SG1A1	0.08	B C D
SG1A2	0.07	B C D E
SBHA1.1	0.07	B C D E
SRGA3	0.07	B C D E
SG1A3	0.06	B C D E
SBHA15	0.05	C D E
SRGA1	0.05	C D E
SRGA6	0.04	D E
SG3A2	0.03	D E
SBHA11	0.01	E
SG1A5	0.01	E
TN	0.00	E
T	0.00	E

A.3.7. Analyse de la variance de l'A.R.A

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	19 680.85	62	317.43				
VAR.FACTEUR1	19 060.19	20	953.01	64.49	0.0000		
VAR.RESIDUELLE	620.67	42	14.78			3.84	10.2%

A.3.8. Classement des isolats par rapport à l'A.R.A selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5%.

Etude de la symbiose à Rhizobium chez l'Arachide (*Arachis hypogaea* L.)

Isolats	moyennes	Groupes homogènes
SSKA6	59.67	A
SG1A1	57.33	A B
SG1A2	52.67	A B C
SG3A4	52.00	A B C D
SBHA15	51.67	A B C D
SBHA1.2	51.33	A B C D
SRGA3	51.00	A B C D
SG3A2	48.00	B C D
SG1A3	44.67	C D E
SSA1	43.33	C D E
SG3A3	42.00	D E F
SBHA1.1	38.33	E F
SSA2	38.00	E F
SGRA4	35.67	E F
SBHA8	35.33	E F
SG1A5	33.00	F
SRGA6	33.00	F
SRGA1	15.00	G
SBHA11	01/08/00	H
TN	0.00	I
T	0.00	I

A.3.9. Analyse de la variance de la hauteur des plants.

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	989.27	62	15.96				
VAR.FACTEUR1	838.60	20	41.93	11.69	0.0000		
VAR.RESIDUELLE	150.67	42	3.59			1.89	10.9%

A.3.10. Classement des isolats par rapport à la hauteur des plants selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5%.

Isolats	moyennes	Groupes homogènes
SBHA8	28.00	A
SGRA4	22.33	B
SSA2	22.33	B
T	21.67	B C
TN	21.33	B C
SBHA15	17.67	C D
SG1A5	17.67	C D
SSA	17.33	C D
SBHA1.1	17.00	C D
SRGA1	17.00	C D
SRGA3	16.33	D
SRGA6	16.33	D
SBHA1.2	16.00	D
SG3A4	15.67	D
SBHA11	15.33	D
SG3A3	14.67	D
SG1A3	14.33	D
SSKA6	14.00	D
SG1A1	13.67	D
SG1A2	13.67	D
SG3A2	13.33	D

A.3.11. Analyse de la variance du rendement en matière sèche

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	2284.57	62	36.85				
VAR.FACTEUR1	1319.38	20	65.97	2.87	0.0020		
VAR.RESIDUELLE	965.18	42	22.98			4.79	26.7%

A.3.12. Classement des isolats par rapport au rendement en matière sèche selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5%.

Etude de la symbiose à Rhizobium chez l'Arachide (*Arachis hypogaea* L.)

Isolats	moyennes	Groupes homogènes
TN	26.40	A
SGRA4	24.42	A B
SBHA15	23.68	A B
SBHA8	23.23	A B
SG1A5	22.82	A B
SSA2	22.70	A B
SSA1	21.83	A B
SG1A1	19.27	A B
SRGA1	19,04	A B
SG3A2	17.91	A B
T	17.76	A B
SBHA11	17,03	A B
SRGA6	16.49	A B
SBHA1.1	15.95	A B
SRGA3	14.43	A B
SG1A2	14,02	A B
SG3A3	13.97	A B
SG1A3	13.27	A B
SG3A4	13.24	A B
SBHA1.2	13,43	B
SSKA6	9,86	B

A.3.13. Analyse de la variance de poids moyen des gousses par plant.

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	2 575.88	62	41.55				
VAR.FACTEUR1	671.58	20	33.58	0.74	0.7629		
VAR.RESIDUELLE	1904.30	42	45.34			6.73	45.3%

A.3.14. Analyse de la variance de poids des graines par plant.

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	437.02	62	7.05				
VAR.FACTEUR1	143.30	20	7.17	1.02	0.4569		
VAR.RESIDUELLE	293.72	42	6.99			2.64	48.3%

A.3.15. Analyse de la variance de poids de cent gousses.

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	12 421.49	62	200.35				
VAR.FACTEUR1	4 672.37	20	233.62	1.27	0.2536		
VAR.RESIDUELLE	7 749.11	42	184.50			13.58	18.5%

A.3.16. Analyse de la variance de poids de cent graines.

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	1 021.30	62	16.47				
VAR.FACTEUR1	582.10	20	29.11	2.78	0.0026		
VAR.RESIDUELLE	439.20	42	10.46			3.23	16.1%

A.3.17. Classement des isolats par rapport au poids de cent graines selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5%.

Isolats	moyennes	Groupes homogènes
SG1A2	28.00	A
SG1A3	22.77	A B
SG3A3	22.73	A B
SBHA1.1	22.70	A B
SBHA11	22.30	A B
SG3A2	21.90	A B
SSA2	21.53	A B C
SGRA4	21.20	A B C
SG1A1	20.73	A B C
SG3A4	20,1	A B C
SRGA3	19.77	A B C
SBHA15	19.20	A B C
SRGA1	19.13	A B C
SSA2	19/07/08	A B C
SRGA6	19,07	A B C
SBHA1.2	19.00	A B C
T	18.57	A B C
SG1A5	18,1	B C
TN	17.37	B C
SBHA8	16,03	B C
SSKA6	12,13	C

A.3.18. Analyse de la variance du taux de fructification des gynophores.

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	9 546.64	62	153.98				
VAR.FACTEUR1	6 383.18	20	319.16	4.24	0.0000		
VAR.RESIDUELLE	3 163.45	42	75.32			8.68	18.8%

A.3.19. Classement des isolats par rapport au taux de fructification des gynophores selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5%.

Etude de la symbiose à Rhizobium chez l'Arachide (*Arachis hypogaea* L.)

Isolats	moyennes	Groupes homogènes
SBHA15	67.77	A
SG1A3	61.10	A B
SBHA11	59.67	A B C
SSA1	57.43	A B C D
SG3A2	56.97	A B C D
SBHA1.1	51.73	A B C D E
SG1A1	48.90	A B C D E
SBHA8	47.80	A B C D E
SG1A2	46.50	A B C D E
SRGA3	45.23	A B C D E
SRGA6	45.03	A B C D E
SRGA1	44.20	A B C D E
SG3A4	43.03	A B C D E
SG3A3	41.87	B C D E
SG1A5	41.77	B C D E
SBHA1.2	41.60	B C D E
SSKA6	39.83	B C D E
T	33.90	C D E
TN	33.53	D E
SSA2	30.37	E
SGRA4	28.93	E

A.3.20. Analyse de la variance de l'indice de récolte

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	5.61	62	0.09				
VAR.FACTEUR1	2.44	20	0.12	1.62	0.0923		
VAR.RESIDUELLE	3.16	42	0.08			0.27	32.5%

A.3.21 Analyse de la variance du taux de remplissage des gousses.

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	0.42	62	0.01				
VAR.FACTEUR1	0.21	20	0.01	2.04	0.0257		
VAR.RESIDUELLE	0.21	42	0.01			0.07	19.6%

A.3.22. Classement des isolats par rapport au taux de remplissage des gousses selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5%.

Isolats	moyennes	Groupes homogènes
SG3A3	0.48	A
SG3A4	0.44	A
SSA1	0.44	A
SG1A3	0.43	A
SG3A2	0.43	A
SRGA3	0.39	A
SBHA1.2	0.39	A
SRGA6	0.39	A
SBHA15	0.39	A
SBHA1.1	0.37	A
TN	0.36	A
SG1A1	0.36	A
SBHA11	0.35	A
SGRA4	0.34	A
SG1A5	0.33	A
SG1A2	0.32	A
SBHA8	0.30	A
SRGA1	0.30	A
T	0.29	A
SSA2	0.28	A
SSKA6	0.27	A

Annexe 4 : Analyse de la variance

Stress hydrique

A.4.1. Analyse de la variance du nombre de nodules par plant chez l'arachide inoculée avec des souches rhizobiennes et sous condition de stress hydrique d'une semaine.

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	8318.22	35	237.66				
VAR.FACTEUR1	5215.56	5	1043.11	8.23	0.0002		
VAR.FACTEUR2	32.11	1	32.11	0.25	0.6250		
VAR.INTER F1x2	60.56	5	12.11	0.10	0.9900		
VAR.BLOCS	221.55	2	110.78	0.87	0.4341		
VAR.RESIDUELLE 1	2788.45	22	126.75			11.26	44.6%

A.4.2. Classement des traitements par rapport au nombre de nodules par plant après une semaine de stress selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5%.

- Facteur 1 : Souche

Etude de la symbiose à Rhizobium chez l'Arachide (*Arachis hypogaea* L.)

Traitements	moyennes	Groupes homogènes
SG3A3	46.17	A
SBHA1.2	29.00	B
SG1A1	27.17	B
SG3A4	26.83	B
SG1A3	13.33	B C
SSKA6	0,83	C

A.4.3. Analyse de la variance du nombre de nodules par plant chez l'arachide inoculée avec des souches rhizobiennes et sous condition de stress hydrique de cinq semaines.

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	207298.75	35	5922.82				
VAR.FACTEUR1	89473.91	5	17894.78	11.33	0.0000		
VAR.FACTEUR2	37056.23	1	37056.23	23.46	0.0001		
VAR.INTER F1x2	45262.60	5	9052.52	5.73	0.0016		
VAR.BLOCS	758.00	2	379.00	0.24	0.7912		
VAR.RESIDUELLE 1	34748.00	22	1579.45			39.74	53.9%

A.4.4. Classement des traitements par rapport au nombre de nodules par plant après cinq semaines de stress selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5%.

- Facteur 1 : Souche

Traitements	moyennes	Groupes homogènes
SG3A4	144.83	A
SBHA1.2	123.17	A
SG3A3	93.83	A
SG1A1	38.50	B
SG1A3	31.67	B
SSKA6	10,5	B

Facteur 2 : Stress

Traitements	moyennes	Groupes homogènes
Témoin	105.83	A
Stressé	41.67	B

- Interaction: Souche-Stress

Traitements	moyennes	Groupes homogènes
SG3A4	220.33	A
SBHA1.2	210.00	A
SG3A3	98.33	B
SG3A3S	89.33	B
SG3A4S	69.33	B
SG1A1	59.67	B
SBHA1.2S	36.33	B
SG1A3	34.67	B
SG1A3S	28.67	B
SG1A1S	17.33	B
SSKA6	12	B
SSKA6S	9	B

A.4.5. Analyse de la variance de l'activité réductrice d'acétylène chez l'arachide inoculée avec des souches rhizobiennes et sous condition de stress hydrique d'une semaine.

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	5874.00	35	167.83				
VAR.FACTEUR1	1275.00	5	255.00	01/06/46	0.0008		
VAR.FACTEUR2	2844.45	1	2844.45	72.08	0.0000		
VAR.INTER F1x2	771.22	5	154.24	01/03/91	0.0110		
VAR.BLOCS	115.17	2	57.58	01/01/46	0.2534		
VAR.RESIDUELLE 1	868.17	22	39.46			01/06/28	19.0%

A.4.6. Classement des traitements par rapport à l'activité réductrice d'acétylène après une semaine de stress selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5%.

- Facteur 1: Souche

Traitements	moyennes	Groupes homogènes
SG3A4	44.00	A
SBHA1.2	34.67	B
SG1A3	34.50	B
SG1A1	30.17	B
SSKA6	30.00	B
SG3A3	24.67	B

Facteur 2: Stress

Traitements	moyennes	Groupes homogènes
Témoin	41.89	A
Stressé	24/11/08	B

- Interaction: Souche-Stress

Etude de la symbiose à Rhizobium chez l'Arachide (*Arachis hypogaea* L.)

Traitements	moyennes	Groupes homogènes
SG3A4	52.00	A
SG1A1	45.67	A B
SG1A3	45.33	A B
SSKA6	36.67	B C
SG3A3	36.33	B C
SG3A4S	36.00	B C
SBHA1.2	35.33	B C
SBHA1.2S	34.00	B C
SG1A3S	23.67	C D
SSKA6S	23.33	C D
SG1A1S	14.67	D
SG3A3S	13.00	D

A.4.7. Analyse de la variance de l'activité réductrice d'acétylène chez l'arachide inoculée avec des souches rhizobiennes et sous condition de stress hydrique de cinq semaines.

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	9468.00	35	270.51				
VAR.FACTEUR1	605.67	5	121.13	01/01/20	0.3404		
VAR.FACTEUR2	5088.44	1	5088.44	50.54	0.0000		
VAR.INTER F1x2	1452.56	5	290.51	01/02/89	0.0375		
VAR.BLOCS	106.17	2	53.08	0.53	0.6026		
VAR.RESIDUELLE 1	2215.17	22	100.69			10/03/08	30.4%

A.4.8. Classement des traitements par rapport à l'activité réductrice d'acétylène après cinq semaines de stress selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5%.

- Facteur 2 : Stress

Traitements	moyennes	Groupes homogènes
Témoin	44.89	A
Stressé	21,11	B

- Interaction: Souche-Stress

Traitements	moyennes	Groupes homogènes
SG1A1	59.67	A
SSKA6	57.33	A
SG3A3	40.33	A B
SBHA1.2	39.33	A B
SG1A3	38.33	A B
SG3A3	34.33	A B
SG3A4S	26.67	B
SBHA1.2S	25.00	B
SG1A3S	22.33	B
SSKA6S	21.33	B
SG3A3S	15.67	B
SG1A1S	15.67	B

A.4.9. Analyse de la variance de l'activité nitrates réductase chez l'arachide inoculée avec des souches rhizobiennes et sous condition de stress hydrique d'une semaine.

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	0.61	35	0.02				
VAR.FACTEUR1	0.01	5	0.00	0.32	0.8949		
VAR.FACTEUR2	0.38	1	0.38	50.63	0.0000		
VAR.INTER F1x2	0.03	5	0.01	0.76	0.5918		
VAR.BLOCS	0.03	2	0.01	01/01/98	0.1604		
VAR.RESIDUELLE 1	0.16	22	0.01			0.09	46.7%

A.4.10. Classement des traitements par rapport à l'activité nitrates réductase après une semaine de stress selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5%.

· Facteur 2: Stress

Traitements	moyennes	Groupes homogènes
Témoin	0.29	A
Stressé	0.08	B

A.4.11. Analyse de la variance de l'activité nitrates réductase chez l'arachide inoculée avec des souches rhizobiennes et sous condition de stress hydrique de cinq semaines.

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	6,04	35	0.17				
VAR.FACTEUR1	1,71	5	0.34	01/03/52	0.0173		
VAR.FACTEUR2	1,14	1	01/01/14	01/11/71	0.0025		
VAR.INTER F1x2	1,04	5	0.21	01/02/13	0.0998		
VAR.BLOCS	0.01	2	0.00	0.05	0.9533		
VAR.RESIDUELLE 1	2,14	22	0.10			0.31	82.0%

A.4.12. Classement des traitements par rapport à l'activité nitrate réductase après cinq semaines de stress selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5%.

- Facteur 1: Souche

Traitements	moyennes	Groupes homogènes
SSKA6	0.85	A
SG1A1	0.38	B
SG3A3	0.32	B
SG1A3	0.28	B
SG3A4	0.24	B
SBHA1.2	0.21	B

Facteur 2: Stress

Traitements	moyennes	Groupes homogènes
Témoin	0.56	A
Stressé	0.20	B

A.4.13. Analyse de la variance de la hauteur des plants chez l'arachide inoculée avec des souches rhizobiennes et sous condition de stress hydrique d'une semaine.

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	48.81	35	1.39				
VAR.FACTEUR1	8,29	5	1,66	1.31	0.2945		
VAR.FACTEUR2	3.80	1	3.80	3.01	0.0933		
VAR.INTER F1x2	3.49	5	0.70	0.55	0.7363		
VAR.BLOCS	5.43	2	2.71	2.15	0.1387		
VAR.RESIDUELLE 1	27.79	22	1.26			1.12	20.3%

A.4.14. Analyse de la variance de la hauteur des plants chez l'arachide inoculée avec des souches rhizobiennes et sous condition de stress hydrique de cinq semaines.

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	61.00	35	1.74				
VAR.FACTEUR1	6.00	5	01/01/20	0.90	0.5005		
VAR.FACTEUR2	16.00	1	16.00	11.98	0.0023		
VAR.INTER F1x2	8.33	5	1.67	1.25	0.3208		
VAR.BLOCS	1.29	2	0.65	0.48	0.6280		
VAR.RESIDUELLE 1	29.37	22	1.34			1.16	19.8%

A.4. 15. Classement des traitements par rapport à la hauteur des plants cinq semaines de stress selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5%.

- Facteur 2 : Stress

Traitements	moyennes	Groupes homogènes
Témoin	6,5	A
Stressé	5,17	B

A.4.16. Analyse de la variance de poids sec des plants chez l'arachide inoculée avec des souches rhizobiennes et sous condition de stress hydrique d'une semaine

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	01/03/40	35	0.10				
VAR.FACTEUR1	0.63	5	0.13	1.66	0.1850		
VAR.FACTEUR2	0.00	1	0.00	0.00	0.9458		
VAR.INTER F1x2	0.62	5	0.12	1.63	0.1936		
VAR.BLOCS	0.48	2	0.24	3.18	0.0602		
VAR.RESIDUELLE 1	1,67	22	0.08			0.28	30.0%

A.4.17. Analyse de la variance de poids sec des plants chez l'arachide inoculée avec des souches rhizobiennes et sous condition de stress hydrique de cinq semaines.

	S.C.E.	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	18.44	35	0.53				
VAR.FACTEUR1	0.44	5	0.09	01/01/64	0.1903		
VAR.FACTEUR2	15.92	1	15.92	296.83	0.0000		
VAR.INTER F1x2	0.73	5	0.15	2.71	0.0468		
VAR.BLOCS	0.17	2	0.09	1.63	0.2183		
VAR.RESIDUELLE 1	1,18	22	0.05			0.23	13.4%

A.4. 18. Classement des traitements par rapport au poids sec des plants après cinq semaines de stress selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5%.

- Facteur 2 : Stress

Traitements	moyennes	Groupes homogènes
Témoin	2,39	A
Stressé	1,06	B

- Interaction: Souche-Stress

Etude de la symbiose à Rhizobium chez l'Arachide (*Arachis hypogaea* L.)

Traitements	moyennes	Groupes homogènes
SG3A4	2,79	A
SG1A1	2,47	A B
SSKA6	2,46	A B
SBHA1.2	2,39	A B
SG1A3	2,25	A B
SG3A3	1,08	B
SG1A3S	1 .24	C
SBHA1.2S	11,08	
SSKA6S	6,08	C
SG1A1S	5,08	C
SG3A3S	0.99	C
SG3A4S	0.94	C