

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قلمة  
Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et l'Univers



## Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

**Domaine** : Science de la Nature et de la Vie

**Filière** : Sciences Biologiques

**Spécialité** : Microbiologie Appliquée

**Département** : Ecologie et Génie de l'Environnement

# Contribution à l'étude des facteurs affectant la nodulation

Présenté par :

HAMLAOUI Serine

KAFI Chayma

Devant le jury :

Président :	M. TOUATI Hassen	M.C.B	Université 8 Mai 1945 Guelma.
Examineur :	Mme BOUSSADIA Meriem Imen	M.C.A	Université 8 Mai 1945 Guelma.
Encadrant :	Mme TORCHE Esmâ	M.C.A	Université 8 Mai 1945 Guelma.

Juin 2024

## *Remerciements*

Avant tout, nous exprimons notre gratitude envers ALLAH, le Tout-Puissant, pour nous avoir accordé la chance, la volonté, la patience et le courage nécessaires pour mener à bien ce modeste projet.

Nous voulons également remercier les membres du jury, en particulier **M. TOUATI Hassen**, Maître de conférence B de l'Université 8 Mai 1945 Guelma, pour avoir accepté de prendre la présidence du jury. Il convient également de remercier **Mme BOUSSADIA Meriem Imen**, maître de conférences A de l'Université 8 Mai 1945 Guelma, pour avoir accepté de diriger ce travail.

Nous souhaitons exprimer notre profonde reconnaissance envers notre superviseure, **Mme TORCHE Esma**, pour son soutien indéfectible, ses précieux conseils et son accompagnement tout au long de cette étude. Sa compétence et sa disponibilité ont joué un rôle essentiel dans la réalisation de ce projet.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers **Mme Hayet**, l'ingénieur du laboratoire de microbiologie, pour son précieux soutien et ses précieux conseils techniques qui ont considérablement simplifié notre recherche.

Nous souhaitons aussi exprimer notre gratitude envers l'ensemble de l'équipe du laboratoire du département SNV de l'Université de Guelma pour leur soutien et leur coopération.

Enfin, nous exprimons notre gratitude envers tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de cette tâche. Leur assistance et leur soutien ont été essentiels pour assurer le succès de ce projet.

## *Dédicace*

*Avant tout, je remercie Dieu, le Tout-Puissant, de m'avoir donné suffisamment de courage et surtout de patience pour réaliser ce travail.*

*À la lumière de mes jours, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; **Maman** que j'adore, puisse Dieu, le Tout-Puissant, te préserver et t'accorder santé, longévité et bonheur.*

*À mon cher **Père** pour lequel je souhaite une longue et heureuse vie pleine de bonheur, pour leurs sacrifices sans limites, leur amour et leur encouragement.*

*À **Maman Rachida**, elle manquera à tous, mais sa mémoire vivra en nous tous pour toujours. Je t'aime tellement, et tu me manqueras plus qu'aucun mot ne puisse l'exprimer.*

*Avec mes sentiments d'amour, à mon grand amour et mari **Zakaria**, symbole du courage, pour sa patience et son aide qui m'ont toujours encouragée, je te souhaite une bonne santé et une longue vie.*

*À mes sœurs **Hadil** et **Issra** qui ont toujours été à mes côtés, surtout dans les moments les plus difficiles.*

*À mon frère **AbdRahmane**, mon petit amour, je te souhaite tout le bonheur.*

*Avec toute ma tendresse, mon amour et mon affection, à ma merveilleuse petite **Taline**, symbole d'innocence et de joie. Ta présence illumine chaque jour de ma vie. Que ta route soit parsemée de rires et de découvertes. Je te souhaite une vie remplie de bonheur et de réussite.*

*À **Serine**, mon précieux binôme, compagnon de route et partenaire de succès. Tes compétences et ton dévouement sont une source d'inspiration constante, je te souhaite tout le bonheur.*

*À mes cousines **Hiba**, **Houda**, **Hajer**, **Khayra**, **Hayet**, **Sonia**, **Amal**, **Dikra** et **Rahil**.*

*À mon amie **Wissam**, merci d'être à mes côtés. Je te souhaite une bonne santé et une longue vie.*

*À ma belle-famille.*

*À toutes et à tous, qu'ils trouvent dans ce mémoire ma profonde gratitude et mon éternelle reconnaissance.*

*Chayma*

# Dédicace

*C'est avec une immense joie et le cœur rempli d'émotion que je souhaite dédier ce mémoire à ma chère famille. Que Dieu tout-puissant vous préserve, vous comble de santé, de bonheur et de sérénité.*

*À **mon père**, le meilleur des pères, je suis infiniment reconnaissante pour ton soutien inconditionnel et ton amour indéfectible. Tu es notre référence, la lumière qui guide chacun de nos pas, tu es notre modèle de force. Ce travail est le fruit de ton esprit de sacrifice et de ton encouragement constant, et j'espère qu'il témoigne de ma fierté de t'avoir comme père.*

*À **ma mère**, source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifices je ne saurais exprimer toute ma gratitude et mon affection. Je suis profondément reconnaissante pour tout ce que tu as sacrifié pour nous, pour tous les efforts que tu as déployés pour veiller à notre bien-être et à notre bonheur. Tu as été notre modèle d'amour inconditionnel.*

*À mon cher frère **Amine** et à mes sœurs, **Ines** et **Lilia**, je tiens à exprimer toute ma gratitude pour l'amour et le soutien inconditionnels dont vous m'avez entouré tout au long de ma vie. Votre présence a été un pilier essentiel. Votre gentillesse et votre encouragement sans limites ont été une source de réconfort et de motivation constantes. Je suis profondément reconnaissante de pouvoir compter sur vous, et cette réussite est aussi la vôtre. Je suis fière d'avoir un frère et sœurs aussi exceptionnels que vous.*

*À tous mes oncles et tantes, en particulier ma tante **Naima**, je souhaite exprimer ma gratitude pour leurs soutien et leurs encouragement constants. Leur présence a été une source de réconfort tout au long de ce parcours.*

*À **Chayma**, mon binôme exceptionnel, merci pour ton soutien indéfectible et ta collaboration inestimable. Ensemble, nous faisons des merveilles !*

*À mes amies **Nihed**, **Mayssa**, **Yousra**, **Yassamine** je tiens à vous remercier pour votre amitié sincère et votre soutien infailible. Votre présence a été un soutien précieux, et je suis reconnaissante de vous avoir à mes côtés.*

*Serine*

## Résumé

Le stress hydrique et les hautes températures affectent les processus morphologiques et physiologiques des plantes entraînant ainsi des dommages irréversibles et une réduction de la croissance et du rendement des cultures. Dans cette étude nous avons essayé de déterminer l'effet du stress hydrique et thermique sur la croissance de la plante légumineuse *Pisum sativum* L. et sur l'interaction symbiotique avec les bactéries fixatrices d'azote. Les bactéries isolées à partir des nodules racinaires de la légumineuse ont été caractérisé morphologiquement et ont subi des essais de résistance aux différents facteurs abiotiques, un test de nodulation est réalisé afin de voir l'effet de la température sur la croissance des plantes et le rôle des bactéries symbiotiques dans l'adaptation des plantes aux conditions extrême de températures. Les résultats obtenus démontrent bien que les bactéries isolées tolèrent les variations de différents facteurs abiotiques, elles peuvent stimuler la croissance des plantes même en absence de nodulation, mais elles n'ont pas un effet sur la résistance des plantes au stress thermique.

**Mots-clés** : légumineuses, nodules, *Rhizobia*, *Pisum sativum* L., stress thermique.

## **Abstract**

Water stress and high temperatures affect the morphological and physiological processes of plants, causing irreversible damage and reducing growth and crop yield. This study aims to determine the effect of water and thermal stress on the growth of the legume *Pisum sativum* L. and its symbiotic interaction with nitrogen-fixing bacteria. Bacteria isolated from root nodules were morphologically characterized and tested for resistance to various abiotic factors. A nodulation test assessed the impact of temperature on plant growth and the role of symbiotic bacteria in plant adaptation to extreme temperatures. Results show that the isolated bacteria tolerate variations in abiotic factors and can stimulate plant growth even without nodulation, but do not enhance plant resistance to thermal stress.

**Keywords:** legumes, nodules, *Rhizobia*, *Pisum sativum* L., thermal stress.

## ملخص

يؤثر الجفاف ودرجات الحرارة المرتفعة على الآليات المرفولوجية والفيسيولوجية للنبات وتؤدي إلى تلف غير رجعي وتراجع في النمو ومردود المحاصيل. في هذه الدراسة حاولنا تبين تأثير الجفاف والحرارة على نمو النبات البقولي البازلاء وعلى علاقة التعايش مع البكتيريا المثبتة للأزوت. البكتيريا المعزولة من العقد الجذرية تم تعريفها مورفولوجيا وخضعت لاختبارات العوامل اللاحيوية المختلفة. تم إجراء اختبار العقد الجذرية من أجل معرفة تأثير الحرارة على نمو النبات وكذا دور البكتيريا المتعايشة في تأقلم النبات مع الظروف الحرارية القصوى. النتائج المتحصل عليها بينت أنه بالرغم من أن البكتيريا المعزولة تتحمل التغييرات في مختلف العوامل اللاحيوية وتحسن نمو النبات إلا أنها لا تساعد النبات على مقاومة التوتر الحراري.

**الكلمات المفتاحية:** البقوليات، العقد الجذرية، الريزوبيوم، البازلاء، الإجهاد الحراري

## Liste des abréviations et symboles

<b>% :</b>	Pourcentage
<b>°C :</b>	Degré Celsius
<b>ABA :</b>	L'acide abscissique
<b>ATP:</b>	Acide adénosine triphosphorique
<b>BNL :</b>	Bactéries Nodulant les Légumineuses
<b>CaCl<sub>2</sub> :</b>	Chlorure de calcium
<b>CaCo<sub>3</sub> :</b>	Carbonate De Calcium
<b>DCWG :</b>	Direction du Commerce de la Wilaya de Guelma
<b>DO:</b>	Densité optique
<b>Etc :</b>	et cetera
<b>g/l:</b>	gramme par litre
<b>GPA-BCP:</b>	Glucose Peptone Agar + Pourpre de Bromocrésol
<b>h:</b>	heure
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:</b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>HCL :</b>	Chlorure d'hydrogène
<b>HgCl<sub>2</sub> :</b>	Chlorure de Mercure
<b>Km :</b>	Kilomètre
<b>KOH :</b>	Hydroxyde de potassium
<b>M :</b>	mètre
<b>Mm :</b>	millimètre
<b>Myc :</b>	Gènes de mycorhization
<b>N:</b>	Azote
<b>N<sub>2</sub>:</b>	Diazote
<b>NaCl:</b>	Chlorure de Sodium
<b>NH<sub>3</sub>:</b>	Ammoniac
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup>:</b>	Ammonium
<b>NO<sub>3</sub><sup>-</sup>:</b>	Nitrate
<b>Nod :</b>	Gènes de nodulation
<b>ONM:</b>	Office National de la Météorologie
<b>pH:</b>	Potentiel hydrogène
<b>SAT:</b>	Surface agricole totale
<b>SAU:</b>	Surface agricole utile
<b>TYA:</b>	Trypton- Yeast-Agar
<b>YMA:</b>	Yeast Mannitol Agar
<b>YMA-RC:</b>	Yeast Mannitol Agar + Rouge Congo
<b>YMB:</b>	Yeast Mannitol Broth
<b>µm :</b>	micromètre

## Liste des Figures

Figure N°	Titre	Page
<b>1</b>	Cycle de l'azote simplifié pour les écosystèmes terrestres. <b>(Zohary et Hopf, 1988)</b>	<b>04</b>
<b>2</b>	Plante de <i>Pisum sativum</i> L. [2]	<b>08</b>
<b>3</b>	Structure des nodules de légumineuses. <b>(Fitouri, 2011)</b>	<b>11</b>
<b>4</b>	Différentes étapes de l'établissement de la symbiose <i>Rhizobia</i> - légumineuse. [3]	<b>13</b>
<b>5</b>	Carte de localisation géographique de la wilaya de Guelma [4]	<b>18</b>
<b>6</b>	Diagramme ombrothermique de la wilaya de Guelma pour l'année 2023	<b>21</b>
<b>7</b>	Histogramme de température et de précipitation pour la période (2013-2023)	<b>22</b>
<b>8</b>	Site d'échantillonnage de <i>Pisum sativum</i> L.	<b>22</b>
<b>9</b>	Les nodules collectés de la plante.	<b>23</b>
<b>10</b>	Conservation des nodules sous CaCl <sub>2</sub> .	<b>24</b>
<b>11</b>	Réhydratation des nodules dans de l'eau distillée.	<b>25</b>
<b>12</b>	Conservation des souches.	<b>27</b>
<b>13</b>	Stérilisation des graines.	<b>29</b>
<b>14</b>	Germination des graines.	<b>29</b>
<b>15</b>	Préparation des plantules dans le milieu Jensen.	<b>30</b>
<b>16</b>	Test de nodulation	<b>31</b>
<b>17</b>	Croissance des souches isolées dans le milieu YMB.	<b>33</b>
<b>18</b>	Croissance des souches isolées sur milieu YMA.	<b>34</b>
<b>19</b>	Aspect des colonies bactériennes sur milieu YMA + Rouge Congo.	<b>35</b>
<b>20</b>	Aspect des colonies bactériennes sur milieu PGA+BCP.	<b>36</b>
<b>21</b>	Aspect des colonies bactériennes sur milieu YMA + BTB.	<b>37</b>
<b>22</b>	Examen microscopique par la coloration de Gram.	<b>37</b>
<b>23</b>	Croissance a différentes valeurs de pH.	<b>39</b>
<b>24</b>	Résultats de germination sur milieu TYA dans 3 différentes températures.	<b>42</b>
<b>25</b>	Formation des nodules pour la souche P4a à T° ambiante	<b>43</b>
<b>26</b>	Partie aérienne et racinaire d'une plante inoculée par les isolats à T° ambiante	<b>44</b>
<b>27</b>	Partie racinaire et aérienne du témoin (non inoculé) à T° ambiante	<b>44</b>
<b>28</b>	Graine mise à 44 °C	<b>45</b>

### Liste des tableaux

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	La classification botanique de cette plante <i>Pisum sativum</i> L. (Coussin, 1974).	<b>7</b>
<b>2</b>	Résultat des souches étudiées sur milieu YMA	<b>34</b>
<b>3</b>	Effet du NaCl sur la croissance de toutes souches testées après 24h d'incubation	<b>39</b>
<b>4</b>	Effet du NaCl sur la croissance de toutes souches testées après 48h d'incubation	<b>40</b>
<b>5</b>	Effet de la température sur la croissance de toutes souches testées après 24h d'incubation	<b>40</b>
<b>6</b>	Effet de la température sur la croissance de toutes souches testées après 48h d'incubation	<b>41</b>

# Table des matières

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des Figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

## Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

1. Azote.....3

1.1. Cycle de l'azote.....3

1.1.1. Fixation de l'azote.....4

1.1.2. Ammonification.....4

1.1.3. Nitrification.....4

1.1.4. Assimilation.....5

1.1.5. Dénitrification.....5

1.2. Fixation biologique de l'azote .....5

1.2.1. Les fixateurs libres.....5

1.2.2. Les fixateurs symbiotiques.....5

2. l'interaction plante légumineuse-bactérie.....6

2.1. Légumineuses.....6

2.1.1. Diversité des légumineuses.....6

2.1.2. La plante légumineuse *Pisum sativum* L. ....7

2.2. Les bactéries *Rhizobia*.....8

2.2.1. Les caractéristiques des <i>Rhizobia</i> .....	8
2.2.1.1. Caractéristiques morphologique.....	8
2.2.1.2. <i>Caractéristiques biochimiques</i> .....	9
2.2.1.3. <i>Caractéristiques physiologiques</i> .....	9
2.2.1.4. Caractères culturaux.....	9
2.3. La symbiose <i>Rhizobium</i> -légumineuse.....	10
2.3.1. Morphologie des nodules.....	10
2.3.2. Étapes de nodulation .....	11
2.3.2.1. Pré-infection.....	11
2.3.2.2. Infection .....	11
2.3.2.3. Développement du nodule et maturation des bactéroïde.....	12
3. Effet du stress thermique et du stress hydrique sur les plantes. ....	13
3.1. Effet sur la germination.....	13
3.2. Effet sur la croissance végétative.....	14
3.3. Effet sur la reproduction .....	14
3.4. Effet sur la nodulation des légumineuses .....	14
4. Mécanisme d'adaptation des plantes au stress hydrique.....	15
4.1. Adaptations phonologiques.....	15
4.2. Adaptations morphologiques. ....	15
4.2.1. Au niveau de la plante.....	15
4.2.2. Au niveau de la structure.....	16
4.3. Adaptation physiologique.....	16
5. Rôle des bactéries symbiotique dans l'adaptation.....	16

## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

1. Aperçu de la région de Guelma .....	18
1.1. Situation géographique.....	18
1.2. Situation géologique. ....	19
1.3. Situation agricole.....	19
1.4. Situation climatologique .....	20
1.4.1. Température.....	20
1.4.2. Précipitations.....	20
2. Collecte des nodules.....	22
2.1. Conservation des nodules.....	23
2.2. Isolement des bactéries à partir des nodules .....	24
2.2.1. Stérilisation des nodules.....	25
2.2.2. Extraction des bactéries à partir des nodules.....	25
2.3. Caractères culturaux.....	26
2.3.1. Sur milieux liquides.....	26
2.3.2. Sur milieux solides.....	26
2.4. Vitesse de croissance.....	26
2.5. Examen microscopique par coloration de Gram.....	26
2.6. Conservations des souches.....	27
3. Etude de l'effet des facteurs abiotiques sur la croissance bactérienne.....	27
3.1. Effet du pH.....	27
3.2. Effet du NaCl.....	28

3.3. Effet de la température.....	28
4. Effet du stress thermique sur l'interaction symbiotique.....	28
4.1. Sur la germination des graines .....	28
4.1.1. Stérilisation des graines.....	28
4.1.2. Germination.....	29
4.2. Effet de la température sur la nodulation.....	30
4.2.1. Préparation des plantules.....	30
4.2.2. Inoculation des plantules .....	30
5. Enquête sur les méthodes d'adaptation aux stress hydrique dans la région de Guelma.....	31
5.1. Description des Répondants.....	32
5.2. Considérations Éthiques.....	32
5.3. Méthodologie de l'Enquête.....	32

### **Chapitre 3 : Résultats et discussion**

1. Caractères morphologiques et culturaux.....	33
1.1. Croissance sur milieu liquide YMB .....	33
1.2. Croissance sur milieux solides.....	33
1.2.1. Croissance sur YMA.....	33
1.2.2. Croissance sur milieu YMA+RC.....	35
1.2.3. Croissance sur milieu PGA+BCP.....	35
1.3. Vitesse de croissance.....	36

1.4. Examen microscopique par coloration de Gram.....	37
2. Etude de l'effet des facteurs abiotiques sur la croissance bactérienne .....	38
2.1. Effet du pH .....	38
2.2. Effet du NaCl.....	39
2.3. Effet de la température.....	40
3. Effet du stress thermique sur l'interaction symbiotique.....	41
3.1. Sur la germination des graines.....	41
3.2. Effet de la température sur la nodulation.....	42
4. Enquête sur les méthodes d'adaptation aux stress hydrique dans la région de Guelma.....	45
4.1. Gestion de la sécheresse.....	46
4.2. Gestion de la température.....	46
4.3. Types d'irrigation.....	46
4.4. Périodes de cultures.....	46
4.5. Variétés de semis et résistance des graines.....	47
<b>Conclusion</b> .....	<b>48</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>50</b>

## **Annexes**

# INTRODUCTION

---

---

### Introduction

Le sol sert de support à divers échanges d'énergie et de transfert de substances entre les différentes entités qui l'entourent. Le cycle de l'azote est l'un des cycles les plus cruciaux (**El-hilali, 2006**).

Depuis de nombreuses années, les légumineuses (*Fabaceae*) ont été employées dans les rotations des cultures afin d'intégrer l'azote dans les systèmes agricoles, ce qui a évité le besoin de fertilisation azotée (**Geddes et al., 2015**).

Ce phénomène est dû à l'interaction symbiotique avec les bactéries diazotrophes du sol connues collectivement sous le nom de *Rhizobiums* (*Rhizobia*). Ce processus biologique permet d'assurer tout ou une partie des besoins en azote des *Fabaceae*, selon les espèces et selon les conditions de milieu (**Vertes et al., 2015**) et apporte au sol des quantités pouvant atteindre plusieurs centaines de kilogrammes d'azote par hectare et par an (**Calvet, 2003**).

L'association symbiotique *Rhizobium*-légumineuse présente un haut niveau de spécificité basé sur une communication moléculaire entre deux partenaires. Le résultat de cette relation est la formation des structures racinaires, les nodules, qui sont le lieu de fixation de l'azote atmosphérique.

Les légumineuses (*Fabaceae*) sont divisées en trois sous-familles : *Mimosoideae*, *Caesalpinioideae* et *Papillionoideae*. Parmi les légumineuses le genre *Pisum* qui fait partie de la troisième famille avec deux espèces très communes dans le monde : *Pisum fulvum* et *Pisum sativum* L. [1]. Cette dernière espèce fait l'objet de notre étude

Nous nous concentrons sur l'étude de *Pisum sativum* L. dans la région de Guelma, qui est marquée par des épisodes de canicule intense et est devenue l'une des villes les plus chaudes de l'est algérien. L'agriculture locale et les écosystèmes naturels sont confrontés à des défis importants en raison des températures élevées, de la sécheresse et de la canicule dans cette région.

Cela implique donc à s'intéresser davantage aux légumineuses afin de mieux comprendre les facteurs affectant la nodulation chez certaines plantes comme le pois cultivé dans la région de Guelma.

Notre étude vise à réaliser trois objectifs :

- Evaluer l'impact de la sécheresse et des variations de température sur la nodulation de *Pisum sativum* L. en examinant la germination des graines et la formation des nodules.
- Etudier de manière morphologique les bactéries isolées à partir des nodules de *Pisum sativum* L. en effectuant une caractérisation microscopique et macroscopique ainsi qu'une étude de l'effet des facteurs abiotiques sur la croissance bactérienne
- Evaluer l'aptitude des isolats à provoquer la nodulation dans des conditions extrêmes de température.

Outre une **introduction générale** et une **conclusion générale**, le mémoire est structuré en **trois chapitres** :

- ✓ Le **premier chapitre** est une synthèse bibliographique qui présente les informations essentielles pour comprendre en profondeur la nodulation de la légumineuse *Pisum sativum* L. en fonction de divers facteurs.
- ✓ Le **deuxième chapitre** présente le matériel et les techniques employés dans cette étude, en décrivant les procédures expérimentales mises en œuvre afin d'évaluer les effets de la sécheresse et de la température sur la nodulation de *Pisum sativum* L.
- ✓ Les principaux résultats obtenus et leurs interprétations sont regroupés dans le **troisième chapitre**, avec une discussion approfondie qui permet de situer les conclusions et de les comparer à la littérature existante

**Chapitre 01 :**  
**Synthèse bibliographique**

---

## 1. Azote

L'azote joue un rôle essentiel dans la vie. C'est le quatrième élément des plantes utilisé pour fabriquer des molécules essentielles telles que les protéines, les acides nucléiques et la chlorophylle. L'azote gazeux ( $N_2$ ) est le principal composant de l'atmosphère terrestre, mais les plantes ne peuvent pas l'assimiler directement. L'azote contenu dans le sol est absorbé par les plantes sous forme de nitrates ( $NO_3^-$ ) et d'ammonium ( $NH_4^+$ ). Chacune de ces formes est relativement importante en fonction de l'espèce végétale et des conditions de l'environnement. Cependant, les légumineuses peuvent également consommer de l'azote grâce à leur capacité à s'associer avec des bactéries du sol communément appelées *Rhizobium*. Elles n'ont donc pas besoin d'engrais azotés, contrairement aux céréales ou aux oléo-protéagineux tels que le colza et le tournesol. (**Lazrek Ben-friha, 2008**).

### 1.1. Cycle de l'azote

L'azote est principalement absorbé par les plantes sous forme d'ions nitrate ( $NO_3^-$ ) ou d'ions ammonium ( $NH_4^+$ ), selon les recherches de **Miloud (1986)**. Il subit un cycle constant entre sa forme minérale et organique. Les composés organiques azotés se décomposent dans le sol sous l'action des microorganismes présents, générant ainsi de l'azote sous forme minérale, principalement des nitrates. Les plantes utilisent les nitrates absorbés par leurs racines pour synthétiser de la matière organique azotée (**Saoudi, 2008**). Ce processus permet de maintenir le cycle de l'azote dans les écosystèmes agricoles.

En général, pour mieux comprendre les principales étapes du cycle de l'azote, de la fixation de l'azote atmosphérique à la dénitrification, en passant par la minéralisation, la nitrification et l'assimilation par les plantes, la Figure 01 montre ces processus.

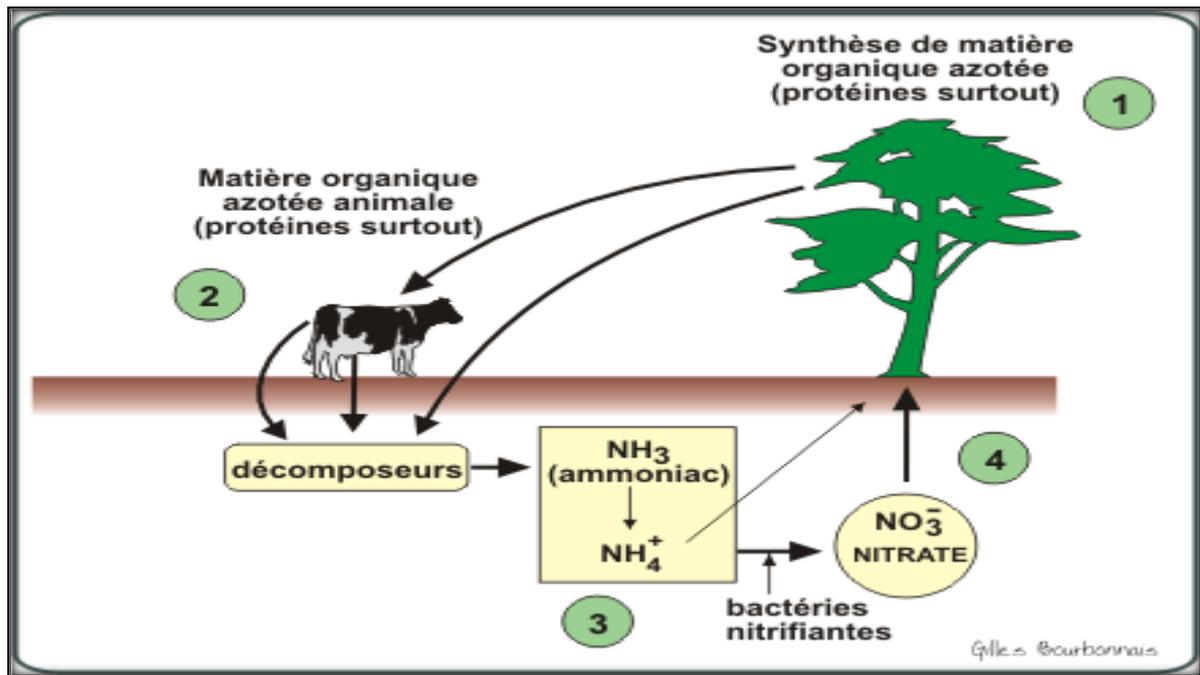


Figure 01 : Cycle de l'azote simplifié pour les écosystèmes terrestres. [2]

### 1.1.1. Fixation de l'azote

La fixation de l'azote est le processus par lequel l'azote atmosphérique est transformé en ammoniac.

### 1.1.2. Ammonification

L'ammonification est la transformation de composés azotés biologiques en ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) et en ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) (Berg *et al.*, 2009).

### 1.1.3. Nitrification

La première étape de la formation de nitrate, est l'oxydation de l'ammoniac en nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) par des bactéries appartenant aux genres *Nitrosomonas* ou *Nitrococcus* (Hopkins.,2003), les nitrites sont toxiques pour les plantes, mais ils s'accumulent rarement dans le sol. Nitrobacter, autre genre des bactéries, oxyde les nitrites en ions nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) (Lydie, 2015 ; Perry *et al.*,2004 ; Pidello, 2014 ; Raven .,2014).

#### 1.1.4. Assimilation

Racines de la plante absorbent le nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ), l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) ou l'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ), et assimilent l'azote de ces molécules dans les protéines de la plante et les acides nucléiques (**Berg et al., 2009**).

#### 1.1.5. Dénitrification

Dans le sol, les nitrates sont transformés en gaz d'azote ( $\text{N}_2$ ) et renvoyés dans l'atmosphère par des bactéries dénitrifiantes en milieu anaérobie, fermant ainsi le cycle. Ce mécanisme, principalement effectué par des bactéries des espèces *Pseudomonas* et *Paracoccus*, se produit lorsque l'oxygène du sol est limité (**François et al., 1997**). Outre l'azote gazeux ( $\text{N}_2$ ), ce processus génère également de l'oxyde nitreux ( $\text{N}_2\text{O}$ ), ce qui contribue à la diminution de l'azote dans le système sol-plante (**Pidello, 2014 ; Raven et al., 2014**).

### 1.2. Fixation biologique de l'azote

Les microorganismes ont la capacité de fixer biologiquement l'azote, que ce soit de manière autonome ou en symbiose avec des plantes supérieures.

#### 1.2.1. Les fixateurs libres

L'ensemble des organismes fixateurs qui peuvent fixer le diazote sous sa forme libre est connu sous le nom de diazotrophes. Parmi ces organismes, certains sont des anaérobies rigoureux tels que les archaebactéries des genres *Methanosarcina* et *Methanococcus*, ainsi que les procaryotes présents dans le genre *Clostridium*. Certains procaryotes fixateurs possèdent des caractéristiques anaérobies facultatives telles que les genres *Klebsiella* et *Erwinia*, ou des caractéristiques aérobies strictes telles que les membres du genre. Finalement, il est également possible pour les cyanobactéries photosynthétiques des genres *Anabaena* ou *Nostoc* de réaliser cette fixation de l'azote dans des cellules spécialisées appelées hétérocystes (**Dixon et Wheeler, 1986**).

#### 1.2.2. Les fixateurs symbiotiques

Il existe deux types principaux de symbioses fixatrices d'azote, impliquant généralement un microorganisme et un hôte végétal : la symbiose actinorhizienne et la symbiose *Rhizobium*-légumineuses. Une caractéristique distinctive de ces deux types

de symbiose est leur capacité à induire la formation d'un nouvel organe chez les plantes, appelé nodule, dans lequel la bactérie fixe l'azote atmosphérique. Les expressions « noduler » et « nodulation » désignent cette faculté. Il convient de souligner que les cyanobactéries peuvent également créer des liens symbiotiques avec les plantes. Par exemple, cela s'applique aux membres du genre *Anabaena*, qui sont des symbiotes des fougères d'eau *Azollasp.*, et au genre *Nostoc*, qui est un symbiote des angiospermes du genre *Gunnera* (Smil, 2002).

## 2. L'interaction plantes légumineuses- bactéries

### 2.1. Légumineuses

#### 2.1.1. Diversité des légumineuses

Les légumineuses sont la plus grande famille d'angiospermes et la troisième plus grande famille de plantes à fleurs. Représentées par 770 genres et près de 20 000 espèces, les légumineuses se subdivisent en six sous-familles (Azani *et al.*, 2017). Elles se rencontrent dans pratiquement tous les environnements terrestres. C'est la famille végétale qui offre le plus grand nombre d'espèces utiles à l'homme, qu'elles soient alimentaires, industrielles ou médicinales, comprenant des plantes herbacées, des arbres, des arbustes ou des lianes, à feuilles généralement composées, rarement simples, généralement stipulées. La plupart sont grimpantes et ont des feuilles ou des parties de feuilles transformées en vrilles (Benselama, 2015 ; Ghalem, 2009 ;Sebihi, 2008). Les légumineuses se caractérisent par un fruit en gousse uniloculaire avec deux valves séparées et qui renferme de nombreuses graines. En fonction des différences morphologiques de leurs fleurs, elle est divisée en trois sous-familles. La famille des *Caesalpinioideae*, *Mimosoideae* et *Papilionoideae* (Doyle et Luckow, 2003). Seuls Les *Papilionoideae* sont utilisées pour la production des graines alimentaires comme le pois (*Pisum sativum* L.) et le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) ; mais aussi pour l'alimentation du bétail, sous forme de fourrage tels que la luzerne (*Medicago sativa* L.) et le Sulla (*Hedysarum coronarium* L.).

D'un point de vue agronomique et écologique, les légumineuses jouent un rôle crucial en raison de leur capacité à fixer biologiquement l'azote grâce à leur association symbiotique avec des bactéries fixatrices d'azote, communément appelées

*Rhizobia*, appartenant à la famille des *Rhizobiaceae* et à la sous-classe alpha des *Protéobactéries*.

Cette association est un avantage considérable par rapport aux autres plantes. Elle permet aux légumineuses de revégétaliser les écosystèmes à faible teneur en azote (**Giraud, 2007**). En raison de la demande croissante à l'échelle mondiale pour la production alimentaire et de la nécessité de réduire les émissions de carbone, il est prévu que l'utilisation de la fixation biologique de l'azote soit de plus en plus utilisée comme alternative aux engrais azotés (**Black et al., 2012**).

Les légumineuses fournissent 33 % de l'azote nécessaire à l'alimentation humaine. Parmi elles, on retrouve le haricot (*Phaseolus vulgaris*), le pois (*Pisum sativum L.*), le pois chiche (*Cicer arietinum*), la fève (*Vicia faba*), le pois d'Angole (*Cajanus cajan*), le pois à vache (*Vigna unguiculata*) et la lentille (*Lens culinaris*) (**Graham et Vance, 2003**). En raison de la demande croissante à l'échelle mondiale pour la production alimentaire et de la nécessité de réduire les émissions de carbone, il est prévu que l'utilisation de la fixation biologique de l'azote soit de plus en plus utilisée comme alternative aux engrais azotés (**Black et al., 2012**).

### 2.1.2. La plante légumineuse *Pisum sativum L.*

Les pois frais, sont plus couramment appelés « petits pois » sont une espèce de plante annuelle de la famille des légumineuses (*Fabacées*), largement cultivée pour ses graines.

**Tableau 01** : La classification botanique de cette plante *Pisum sativum L.* (**Coussin, 1974**).

Règne	Végétal
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Ordre	<i>Fabales</i>
Famille	<i>Fabaceae</i>

On trouve particulièrement le petit pois dans les régions tempérées (Cousin, 2003). C'est une plante annuelle, grimpante autogame qui peut atteindre une hauteur de 0,5 à 2 mètres (Coussin, 1997). Son système racinaire pivotant, qui est ramifié et surtout dans les couches superficielles du sol, présente des nodosités. La tige, qui est peu ramifiée, peut atteindre 2 mètres et se distingue par des nœuds végétatifs et reproducteurs. La feuille alterne est constituée de folioles opposées, terminées par une vrille simple ou ramifiée, avec de grandes stipules à leur base (Carrouee et Girad, 1994).



**Figure 02 :** Plante de *Pisum sativum* L. (1 : schéma ; 2 : monographie) : branche d'une plante portant fleur et des vrilles (A), fleur (B), fleur en coupe longitudinale (C), jeune gousse ou cosse (D) et jeune gousse ouverte montrant les graines (E). (Zohary et Hopf, 1988)

## 2.2. Les bactéries *Rhizobia*

Les *Rhizobia* sont des bactéries du sol qui forment des nodules sur les racines ou les tiges des légumineuses, ce qui permet de fixer l'azote atmosphérique à l'intérieur de ces organes. Ces bactéries se distinguent par la présence des gènes nécessaires à la formation d'un complexe enzymatique nitrogénase/hydrogénase qui favorise la fixation d'azote Menadi (2016).

### 2.2.1. Caractéristiques des *Rhizobia*

#### 2.2.1.1. Caractéristiques morphologiques

Les *Rhizobia* sont des bâtonnets réguliers mesurant entre 2 et 3  $\mu\text{m}$  de long et 0,5 à 0,9  $\mu\text{m}$  de large, avec un flagelle polaire ou plusieurs flagelles péritriches.

Dans les nodules, les *Rhizobia* se métamorphosent en bactéroïdes de forme régulière ou irrégulière. Les individus sont irréguliers chez *Rhizobium trifolii*, *Rhizobium meliloti*, *Rhizobium leguminosarum*, avec une taille à peu près dix fois supérieure à celle de la forme végétative.

#### 2.2.1.2. Caractéristiques biochimiques

Les *Rhizobia* sont des bactéries hétérotrophes, se nourrissent de glucose, de saccharose, de mannitol et de composés aminés. Les vitamines sont nécessaires pour certaines espèces (**Somasegaran et Hoben, 1994**).

#### 2.2.1.3. Caractéristiques physiologiques

Selon **Somasegaran et Hoben (1994)**, les *Rhizobia* ont des bactéries aérobies ou microaérophiles qui peuvent vivre avec une faible pression d'oxygène (pression de 0,01 atmosphérique). Ils ont une température de croissance optimale de 28 °C et un pH optimal de 6 à 7 (plus précisément 6,8). Cependant, certaines souches peuvent survivre dans des environnements acides (pH = 4), comme *Rhizobium japonicum*.

#### 2.2.1.4. Caractères cultureux

Les *Rhizobia*, qui se développent rapidement, génèrent une turbidité dans le milieu liquide en 2 à 3 jours. Dans un délai de 3 à 5 jours, les *Bradyrhizobiums* à croissance lente génèrent une turbidité dans le milieu liquide. Le milieu de culture requis pour la culture des *Rhizobiums* est composé de carbone, d'azote et de sels minéraux. Les *Rhizobiums* peuvent être cultivés dans un milieu solide comme le yeast mannitol agar (YMA). La colonie peut être ronde, blanche, opaque ou blanche laiteuse, humide, translucide, et peut être lisse et brillante ou rugueuse. Les colonies jaunes présentent une couleur pâle, notamment dans les cultures plus anciennes (**Somasegaran et Hoben, 1994 ; Vincent, 1970**).

## 2.3. La symbiose *Rhizobium*-légumineuse

La symbiose entre les *Rhizobia* et les légumineuses est un processus positif et réciproque qui permet aux légumineuses (macrosymbiontes) de capter l'azote atmosphérique grâce aux bactéries *Rhizobium* (microsymbiontes). Ces bactéries sont attirées par les composés phénoliques sécrétés par les légumineuses. Le résultat de cette association est la création d'un petit organe spécifique au niveau des racines, le nodule, où les bactéries, grâce à leur activité nitrogénase, fixent l'azote atmosphérique et le transfèrent à la plante sous une forme combinée assimilable. En revanche, la plante apporte les nutriments nécessaires au développement de la bactérie. Il s'agit donc d'une véritable harmonie avec un échange positif pour les deux individus (Gibson *et al.*, 2008).

La nodulation est perçue comme la principale caractéristique de l'association symbiotique, qui est entièrement régulée par des mécanismes d'autorégulation internes de la plante hôte (Figueiredo *et al.*, 2008b ; Lohar *et al.*, 2009).

### 2.3.1. Morphologie des nodules

Le type de nodosité développée et la morphologie des nodules sont déterminés par la plante hôte dans la famille des légumineuses (Fitouri, 2011).

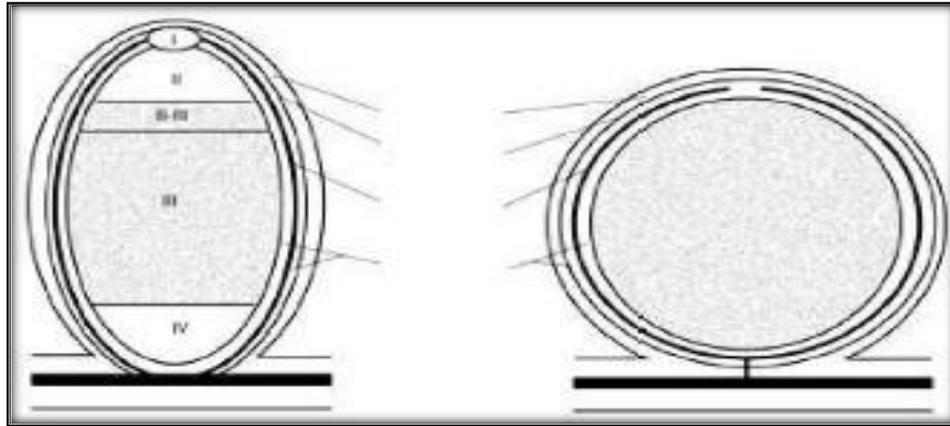
Les nodosités à forme indéterminée où l'activité méristématique se maintient. De nouvelles cellules apicales sont continuellement infectées. Cela résulte en une forme cylindrique de la nodosité. Ces nodosités sont connues chez les légumineuses des zones tempérées (*sulla*, *pois*, *Vicia sp.*, *Medicagosativa* L., etc).

Les nodosités à forme déterminée où l'activité méristématique cesse tôt. Les cellules infectées engendrent d'autres cellules infectées et la nodosité en grandissant par expansion acquiert une forme sphérique. Ce type de nodosité existe seulement chez les légumineuses des zones tropicales telles que le soja et le haricot (Hirsch *et al.*, 2001).

La structure générale des deux types de nodosités est la même, avec un tissu central entouré de plusieurs tissus périphériques. Le tissu central est à la fois composé de cellules infectées par les *Rhizobia* et de cellules non infectées. Les tissus

périphériques sont principalement constitués d'un cortex interne et d'un autre externe isolés par l'endoderme nodulaire (Fitouri, 2011).

Un type intermédiaire troisième a été découvert chez les espèces de *Lupinus* et de *Sesbania* (*Sesbania rostrata* Brem.) (Hirsch *et al.*, 2001).



**Figure03:** Structure des nodules de légumineuses. A: nodule de type indéterminé. B: nodule de type déterminé. I: zone méristématique; II: zone d'infection; II-III: interzone II-III; IV: zone de sénescence. (Fitouri, 2011).

### 2.3.2. Étapes de la nodulation

La nodulation débute pendant la période pré-infection, avec une phase de reconnaissance entre les deux partenaires, suivie de deux phases presque simultanées : l'infection des racines par la bactérie et l'organogenèse du nodule (Patriarca *et al.*, 2004).

#### 2.3.2.1. Pré-infection

Les signaux entre la plante hôte et la bactérie sont à l'origine du processus de nodulation. Différentes substances attirent les *Rhizobia* vers les poils racinaires, y compris des flavonoïdes (Rasanen, 2002 ;Saoudi, 2008). Quand le *Rhizobium* reçoit ce signal, il incite à la production de facteurs Nod (Patriarca *et al.*, 2004).

#### 2.3.2.2. Infection

Les facteurs Nod ont un impact sur la morphologie, la physiologie et la biologie moléculaire de la plante hôte pendant l'étape d'infection. Les poils absorbants modifient la croissance des *Rhizobia*, créant une structure en forme de crosse de berger autour de ces derniers (Esseling *et al.*, 2003 ; Saoudi, 2008). Ensuite, les *Rhizobia* pénètrent dans la racine en altérant la paroi des cellules du poil absorbant,

créant ainsi un filament infectieux qui s'étend comme une intrusion dans les cellules hôtes (Torche, 2006).

### **2.3.2.3. Développement du nodule et maturation des bactéroïdes**

À l'intérieur du cordon, les bactéries se multiplient et se libèrent dans le cytoplasme des cellules corticales, par le biais du cordon, ce qui entraîne la formation du méristème, dont l'activité est responsable de la formation du nodule, où les bacilles se divisent irréversiblement en bactéroïdes ou endosymbiose. Ces dernières, de forme irrégulière, ont un volume supérieur à des formes libres. Leur division et la production de protéines Nod sont arrêtées, tandis que les bactéroïdes se concentrent sur la production de nitrogénases nécessaires à la fixation de l'azote atmosphérique (Dupuy et Nougier, 2005).

Le nodule se forme lorsque les cellules du cortex se multiplient. Il est responsable de la production de pigments tels que la leghémoglobine, qui sont fabriqués à l'intérieur du cytoplasme des cellules de la plante (Fitouri, 2011). La leghémoglobine a pour fonction de maintenir une concentration élevée d'oxygène dans l'environnement de l'enzyme, ce qui est compatible avec le processus de fixation de l'azote.

Pendant la transition vers l'état symbiotique, les gènes responsables du métabolisme basal des bactéries sont fortement réprimés et ceux responsables de la fixation et de l'assimilation de l'azote sont surexprimés (Becker *et al.*, 2004).

Il y a quelques rares cellules bactériennes quiescentes, de forme bacillaire, dans le nodule. La survie et la multiplication de ces cellules dans le sol après la mort de la plante hôte sont possibles. Elles ont la capacité de contaminer ensuite les racines des plantes introduites dans le même milieu (Perry *et al.*, 2004).

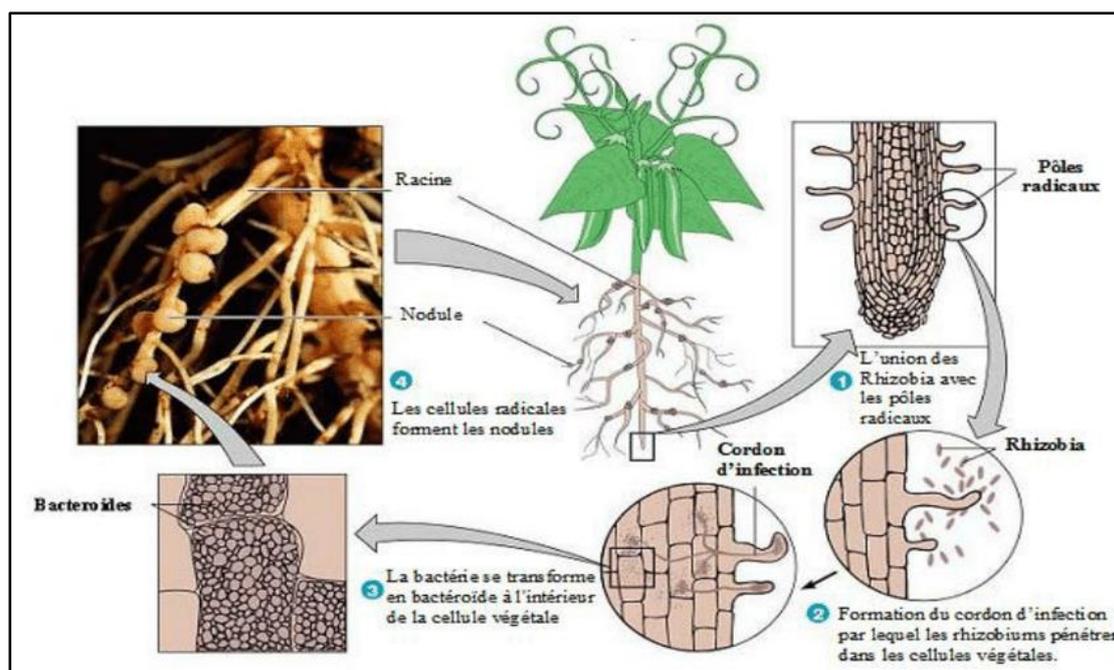


Figure 04 : Différentes étapes de l'établissement de la symbiose *Rhizobia* -légumineuse. [3]

### 3. Effet du stress thermique et du stress hydrique sur les plantes

Le stress thermique est décrit comme une augmentation prolongée de la température au-delà d'un seuil critique, entraînant des dommages irréversibles et une réduction de la croissance et du rendement des cultures. (Wahid *et al.*, 2007) Le stress hydrique se produit lorsque la transpiration dépasse l'absorption d'eau, principalement en raison de la sécheresse, mais aussi de la salinité, de la toxicité ou du stress oxydatif (Herrero *et al.*, 2019 ; Loveland, 2011). Ces variations de température et d'eau affectent les processus morphologiques, physiologiques et biochimiques des plantes, avec des impacts variant selon l'espèce et les conditions de stress (Prasad *et al.*, 2018).

#### 3.1. Effet sur la germination

La température régule la germination et la dormance des graines. Dans les régions tempérées, des températures élevées sont nécessaires pour rompre cette dormance (Vandelook et Van Assche, 2008). Cependant, des températures élevées peuvent réduire, entraver ou inhiber la germination, comme chez *Arabidopsis* (Toh *et al.*, 2008), et affectent négativement l'émergence des plantes, la vitalité des semis et la

croissance des radicules et des plumules (Johkan *et al.*, 2011 ; Kumar *et al.*, 2011 ; Piramila *et al.*, 2012). Le manque d'eau diminue également le potentiel de germination et affecte la croissance des semis, notamment chez le riz (*Oryzasativa L.*)(Farooq *et al.*, 2009)

### 3.2. Effet sur la croissance végétative

Le stress thermique élevé entraîne un retard de croissance, des perturbations phénologiques et une réduction des cycles de croissance, diminuant ainsi la productivité des plantes. Les racines subissent également une réduction de leur nombre, de leur masse et de leur croissance, ce qui limite l'apport d'eau et de nutriments aux parties aériennes (Barnabás *et al.*, 2008 ; Ouzounidou, 2012). De plus, les fruits et les feuilles présentent des signes de chaleur tels que des brûlures et des dommages dus aux coups de soleil (Ismail & Hall, 1999 ; Mitra & Bhatia, 2008 ; Vollenweider & Günthardt-Goerg, 2005 ; Wahid *et al.*, 2007).

### 3.3. Effet sur la reproduction

Le stade de reproduction des plantes est particulièrement sensible au stress thermique, affectant l'initiation des boutons floraux et la nouaison, réduisant ainsi le rendement des cultures (Hedhly, 2009 ; Nava *et al.*, 2008 ; Saha *et al.*, 2010). Le stress hydrique diminue également le nombre de graines et prolonge leur période de maturation, affectant leur remplissage enzymatique (Barnabás *et al.*, 2008 ; Prasad *et al.*, 2008). Les conditions de sécheresse et de chaleur combinées entraînent une diminution du développement des épis et de la période de remplissage des graines, affectant négativement leur croissance et leur viabilité (Prasad *et al.*, 2008). Cette combinaison de facteurs réduit le rendement des cultures, comme en témoigne l'indice de récolte, qui est la corrélation entre le rendement et la biomasse produite (Cohen *et al.*, 2021 ; Munns *et al.*, 2014).

### 3.4. Effet sur la nodulation des légumineuses

La nodulation insuffisante des légumineuses dans les sols arides est associée à la diminution des taux de *Rhizobium* pendant la saison sèche (Sadowsky, 1995). Les nodules et la fixation de l'azote sont sensibles à la sécheresse, ce qui altère leur

fonctionnement et diminue la quantité d'azote fixée (**Dommergues *et al.*, 1999**). De plus, les températures élevées impactent la formation et le fonctionnement des nodules, réduisant notamment la synthèse de la nitrogénase, essentielle pour la fixation de l'azote (**Hungria et Vargas, 2000 ; Brooks *et al.*, 1984**).

La température optimale pour la croissance des souches rhizobiennes varie de 28 à 31 °C, et leur tolérance à des températures élevées est cruciale pour des interactions symbiotiques efficaces (**Mabrouk *et al.*, 2018 ; Kishinevsky *et al.*, 1992 ; Hashem *et al.*, 1998 ; Kulkarni et Nautiyal, 1999**).

## 4. Mécanisme d'adaptation des plantes au stress hydrique

Les plantes des zones arides développent diverses stratégies pour faire face au manque d'eau.

### 4.1. Adaptations phonologiques

Certaines espèces débutent leur cycle de développement avant la période de pénurie d'eau pour maximiser l'utilisation de l'eau disponible. La précocité favorise une meilleure utilisation de l'eau et est corrélée à un rendement plus élevé (**Monneveux et Nemmar, 1986 ; Bajji, 1999**).

### 4.2. Adaptations morphologiques

L'adaptation peut se concrétiser, après des ajustements d'ordre.

#### 4.2.1. Au niveau de la plante

Chez le blé tendre, l'enroulement des feuilles est un mécanisme d'évitement de la déshydratation. La hauteur de la plante est un critère de sélection important dans les zones arides, car elle est liée à un système racinaire profond (**Amokrane *et al.*, 2002 ; Bagga *et al.*, 1970**).

#### 4.2.2. Au niveau de la structure

Les plantes soumises au stress hydrique présentent des altérations physico-chimiques au niveau des parois cellulaires, affectant leur croissance et leur épaisseur (Paiva et Dixon, 1995).

#### 4.3. Adaptation physiologique

En réponse à la sécheresse, les plantes maintiennent l'hydratation des cellules et réduisent la perte d'eau grâce à des mécanismes de tolérance, incluant la fermeture stomatique et la modification du potentiel osmotique (Brisson et Dellcolle, 1992). Les osmolytes, tels que le sucre et la proline, jouent un rôle crucial dans cette adaptation (Zhang *et al.*, 1999).

En période de sécheresse, la diminution du potentiel hydrique du sol réduit la turgescence des plantes, mais les mécanismes de tolérance leur permettent de maintenir l'hydratation cellulaire et de réduire la perte d'eau pour favoriser le développement des feuilles (Hench, 1987 ; Sorrells *et al.*, 2000).

Cette adaptation peut varier intra-spécifiquement, offrant la possibilité de sélectionner des génotypes performants en conditions de stress hydrique (Bergarréche *et al.*, 1993).

### 5. Rôle des bactéries symbiotiques dans l'adaptation

L'adaptation des plantes au stress hydrique est essentielle grâce aux bactéries symbiotiques. Les *Rhizobia* transforment l'azote atmosphérique en ammoniac, ce qui offre aux plantes une source d'azote assimilable, ce qui favorise leur croissance et leur résistance au stress hydrique (Sprent *et al.*, 2017). En outre, les nodules provoqués par les *Rhizobia* favorisent l'apparition d'un système racinaire plus profond et plus vaste. Ceci favorise une exploration plus efficace du sol et une extraction plus efficace de l'eau, ce qui accroît la résistance des plantes à la sécheresse (Guinet *et al.*, 2019). De plus, les bactéries symbiotiques ont un impact sur la synthèse d'hormones végétales comme l'acide abscissique (ABA). Cette hormone joue un rôle essentiel dans la fermeture des stomates et la diminution de la transpiration, ce qui permet aux

plantes de maintenir l'eau en période de stress hydrique (**Farooq *et al.*, 2009**). Les bactéries symbiotiques jouent un rôle important dans la résistance des plantes aux conditions arides grâce à ces mécanismes.

# **Chapitre 02**

## **Matériel et Méthodes**

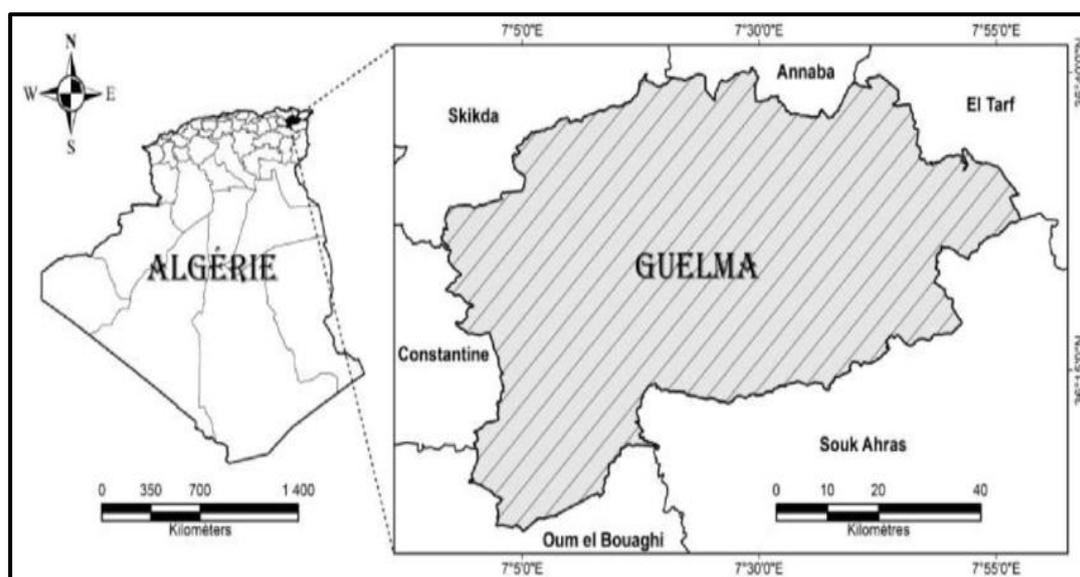
---

## 1. Aperçu de la région de Guelma

### 1.1. Situation géographique

D'un point de vue géographique, Guelma se situe dans le Nord-est de l'Algérie à 36° 28'00" Nord et 7°26'00" Est. Avec une superficie de 3,686.84 km<sup>2</sup>. La wilaya a les limites suivantes :

Annaba au Nord, Oum El-Bouaghi au Sud, Souk-Ahras à l'est, Constantine à l'Ouest, El Taraf au nord-est, et Skikda au Nord-Ouest (**Mendjel et al., 2012**).



**Figure 05** : Carte de localisation géographique de la wilaya de Guelma [4]

Cette wilaya présente un relief varié, principalement marqué par une forte couverture forestière et le cours d'eau principal de la Seybouse. Ce relief est structuré comme suit :

- **Montagnes** : 37,82 %, parmi lesquelles les principales sont les :

- L'altitude de Mahouna (Ben Djerrah) est de 1.411 mètres.
- Taya (Bouhamdane) : altitude de 1.208m
- Houara (Ain Ben Beidha) : altitude de 1.292m
- Le hamam de D'bagh : à une altitude de 1.060 mètres.

- **Plaines et Plateaux** : 27,22 % seulement

- **Altitude et montagnes** : 26,29 % D'autres : 8,67 % (**DCWG, 2021**).[5]

## 1.2. Situation géologique

La géologie de la région se distingue par une variété de sols, tels que l'argile, la marne et le schiste, qui se trouvent sur des pentes différentes (**Mendjel et al., 2012**). Elle a un réseau hydrographique dense et comprend plusieurs Oueds tel que (**Sadaoui Hamlaoui, 2018**) :

**Oued Seybouse** : (57.15 km), qui draine la partie Nord et Est du territoire, c'est-à-dire presque toute la wilaya de Guelma, avec une superficie de 6471 km<sup>2</sup>, avant de se jeter dans la Méditerranée à l'Est de la ville d'Annaba. Son apport total est estimé à 408 millions m<sup>3</sup>/an à la station de Bouderoua (commune d'Ain Ben Beida).

**Oued Bouhamdane** : (45.37 km) prend sa source dans la Commune de Bouhamdane, située à l'Ouest de la Wilaya. Elle contribue avec 96 millions de m<sup>3</sup>/an à la station de Medjez Amar.

**Oued Mellah** : en provenance du Sud-Est, l'oued apporte un total de 151 millions de m<sup>3</sup>/an à la station de Bouchegouf.

**Oued Charef** : (36.46 m) Elle prend sa source dans le sud de la Wilaya et apporte environ 107 millions de m<sup>3</sup>/an à la station de Medjez Amar.

## 1.3. Situation agricole

La répartition globale des terres dans la wilaya de Guelma met en évidence l'importance de la surface agricole totale (SAT), qui représente 264618 hectares, soit 70,99% de la superficie totale de la wilaya, dont 70,80% sont des hectares de surface agricole utile (SAU), soit 187 338 hectares (**Brahmia, 2016**).

L'approvisionnement en eau est suffisamment important pour irriguer une superficie totale de 16 150 hectares, ce qui représente un taux d'irrigation de 8,62% par rapport à la SAU. Les routes couvrent une superficie de 50 875 hectares, ce qui représente 19,23 % de la surface agricole totale et 13,65 % de la surface totale de la wilaya. Seulement 7,08% de la surface totale de la wilaya est occupée par des terres improductives, soit 26 405 hectares (**Brahmia, 2016**).

## 1.4. Situation climatologique

Le climat de la wilaya de Guelma est subhumide dans son centre et son Nord, et semi-aride dans le Sud. Le climat de cette région est doux et pluvieux pendant l'hiver et chaud en été (Kafi, 2015).

### 1.4.1. Température

La température est l'un des éléments les plus importants du climat. Elle influence les écoulements d'eau qui se produisent par l'évapotranspiration (Bensouilah, 2015). La wilaya enregistre des températures moyennes allant de 4°C en hiver à plus de 35°C en été, avec une moyenne annuelle de 17,3°C (DCWG, 2021). [5]

En ce qui concerne le climat de la ville de Guelma, nous avons collecté toutes les données climatiques pendant la période de 2013 à 2023 (Annexe II) selon les coordonnées de la région. Nous avons utilisé le « Climatetool box », un site internet qui regroupe les données climatiques à l'échelle mondiale.

Ces données sont cruciales pour l'agriculture, en particulier pour la culture des légumineuses, qui sont sensibles aux variations climatiques. Les températures augmentent progressivement de janvier à août, avec une moyenne de 9,16°C en janvier atteignant un maximum de 27,89°C en juillet. Les mois d'été, de juin à août, affichent les températures les plus élevées, dépassant généralement les 25°C. En revanche, les températures commencent à diminuer à partir de septembre, atteignant un creux en décembre avec une moyenne de 10,54°C. Cette variation saisonnière témoigne des cycles climatiques typiques de la région, avec des hivers relativement doux et des étés chauds. Cette variation saisonnière est cruciale pour les agriculteurs planifiant les périodes de semis et de récolte des légumineuses, car elle influence directement leur rendement et leur qualité (Figure 06, 07).

### 1.4.2. Précipitations

Les précipitations annuelles fluctuent entre 400 et 1000 mm, avec une proportion d'environ 57% concentrée pendant la période humide, qui s'étend d'Octobre à Mai (DCWG, 2021). [5]

Les précipitations commencent à augmenter en Octobre, culminant en Décembre avec une moyenne de 80,95 mm, marquant ainsi le début de la première période pluvieuse. Cette période se poursuit jusqu'en Mars, où les précipitations restent relativement élevées, avec une moyenne de 63,87 mm en Mars. En Avril, les précipitations commencent à diminuer considérablement, marquant le début de la deuxième période avec des moyennes plus modérées allant jusqu'à mai, où elles atteignent 53,58 mm. La troisième période, caractérisée par des mois chauds d'été, montre une baisse drastique des précipitations, avec des valeurs minimales enregistrées en Juin, Juillet et Août, atteignant respectivement 14,73 mm, 2,46 mm et 11,75 mm. Ces données soulignent la saisonnalité marquée des précipitations à Guelma, mettant en évidence la dureté de sa saison estivale et son degré d'aridité (figure 06,07).

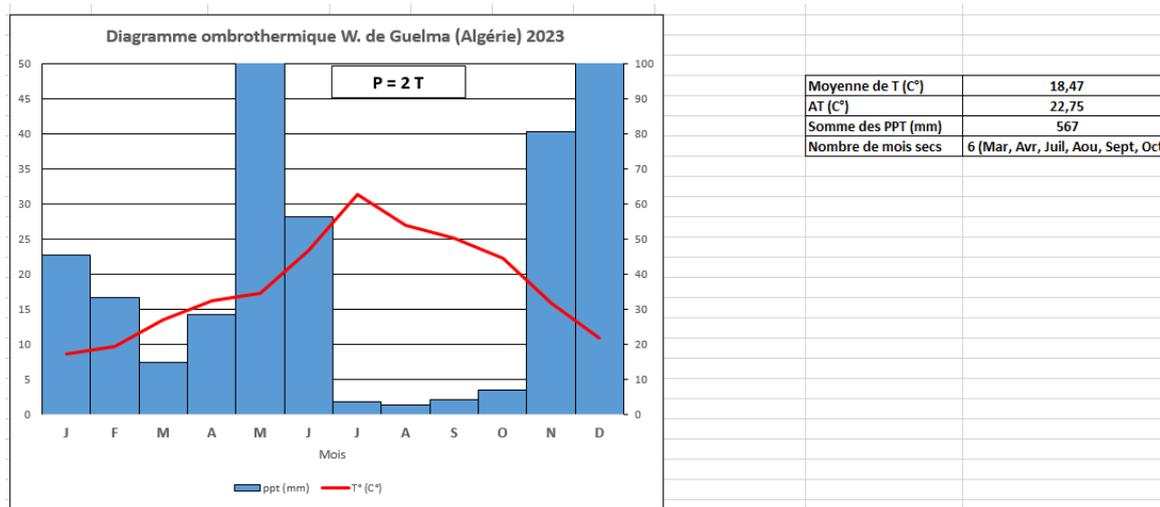


Figure 06 : Diagramme ombrothermique de la wilaya de Guelma pour l'année 2023

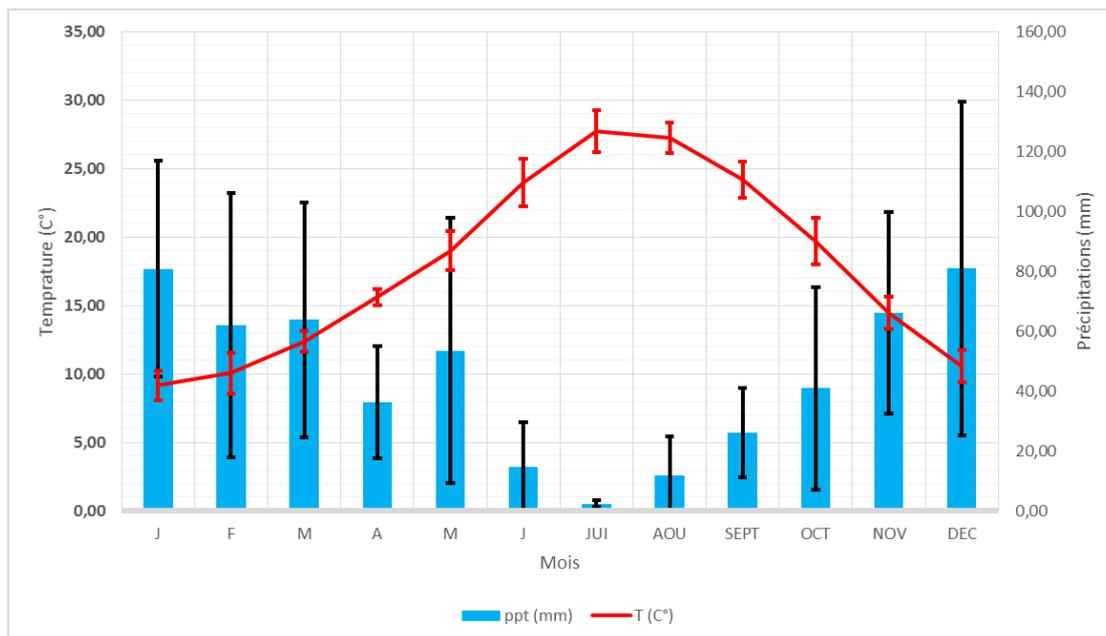


Figure 07 : Histogramme de température et de précipitation pour la période (2013-2023)

## 2. Collecte des nodules

La collecte de *Pisum sativum* L. a été réalisée dans la commune de « Oued El Maiz » située au Sud-Est de la ville de Guelma. Situé à 2 km de la sortie de la ville vers Sadrata, le site est situé aux coordonnées GPS suivantes : 36°27'06"N 7°26'29"E.



Figure 08 : Site d'échantillonnage de *Pisum sativum* L. (Photo personnelle).

Les nodules sont prélevés à partir du système racinaire de la plante *Pisum sativum* L.

Selon **Vincent (1970)** et **Somasegaran et Hobin (1994)**, la récolte est réalisée en creusant une zone d'environ 15 cm autour de la plante et 20 cm dans le sol pour extraire la plante avec son système racinaire. Ensuite, il est primordial de retirer avec précaution le sol et de briser avec précaution les blocs de terre afin d'éviter tout dommage aux racines et aux racines secondaires, où de nombreux nodules sont souvent présents. Ensuite, on rince les racines avec précaution sous un courant d'eau afin d'éliminer les résidus de terre, puis on les sèche avec du papier filtre. Enfin, la plante est délicatement placée dans un sachet en plastique pour le transport ou le stockage ultérieur.

En laboratoire, il est conseillé de couper les racines près des nodules en laissant entre 1 et 2 mm de site d'attache, afin de préserver les nodules et d'augmenter les chances d'obtenir des cultures de bactéries viables et propres.



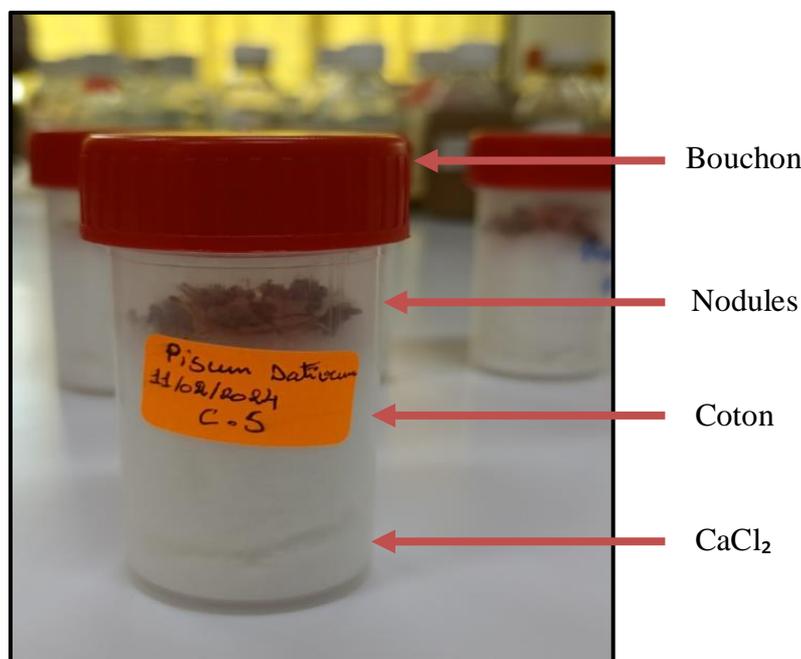
**Figure 09** : Les nodules collectés de la plante. (Photo personnelle)

(A) : Plante *Pisum sativum* L.      (B) : les racines de la plante.      (C) : nodule de la plante.

## 2.1. Conservation des nodules

Pour conserver les nodules frais et les utiliser immédiatement, ils sont conservés dans le réfrigérateur à 4°C pendant 24 à 48 heures. Il est recommandé de procéder à la dessiccation pour une durée de stockage de 6 à 12 mois. On utilise la

méthode évoquée par **Vincent (1970)** et **Somasegaram et Hoben (1994)**, qui consiste à remplir la moitié des flacons stériles avec du chlorure de calcium  $\text{CaCl}_2$  (pour améliorer l'absorption de l'humidité). Ensuite, on applique une quantité de coton sur laquelle on dispose les nodules. Chaque flacon doit contenir le nom de la plante, le lieu et la date de prélèvement (**Vincent, 1970**).



**Figure 10** : Conservation des nodules sous  $\text{CaCl}_2$  (Photo personnelle)

## 2.2. Isolement des bactéries à partir des nodules

Les nodules frais sont utilisés immédiatement, tandis que ceux qui sont préalablement conservés dans du  $\text{CaCl}_2$  sont placés dans un tube contenant de l'eau distillée pendant 24 heures à 4 °C. Ensuite, ils sont exposés à une température ambiante pendant une heure, conformément à la méthode recommandée par **Vincent (1970)**.



**Figure 11** : Réhydratation des nodules dans de l'eau distillée (Photo personnelle).

L'isolement se fait selon les étapes suivantes :

### **2.2.1. Stérilisation des nodules**

Les nodules sont mis dans des tubes stériles et immergés dans l'éthanol à 95 % pendant 10 secondes, puis dans une solution de chlorure de mercure acidifié  $\text{HgCl}_2$  (1 g  $\text{HgCl}_2$  + 5 ml de  $\text{HCl}$  + 1 L d'eau distillée) pendant 3 minutes. Ensuite, les nodules sont rincés 10 fois à l'eau distillée stérile.

Il est essentiel que la surface externe des nodules soit parfaitement stérile, car l'objectif est d'isoler les bactéries dans ces nodosités.

### **2.2.2. Extraction des bactéries à partir des nodules**

A proximité du bec Bunsen, à l'aide d'une pince stérile préalablement désinfectée à l'éthanol et flambée, les nodules sont écrasés individuellement dans une goutte d'eau distillée stérile, dans une boîte de Pétri stérile, jusqu'à obtenir un jus nodulaire de couleur blanchâtre.

En utilisant une anse de platine préalablement flambée et refroidie, on applique le jus nodulaire sur la surface du milieu Yeast-Mannitol-Agar additionné de rouge Congo (YMA-RC), ainsi que sur la surface du milieu Glucose peptone agar additionné de pourpre de Bromocrésol (GPA-BCP) (Annexe I). On procède à l'ensemencement en utilisant la méthode des quatre quadrants (Vincent, 1970). De 24 à 72 heures, toutes les boîtes sont incubées à une température de 30 °C.

### 2.3. Caractères cultureux

Pour faire l'identification, plusieurs milieux de culture sont utilisés (Annexe I). L'ensemencement sur les milieux solides et liquides se fait à partir d'une culture d'YMA.

#### 2.3.1. Sur milieu liquide

Les isolats sont ensemencés dans des tubes à essai contenant chacun 5 ml du milieu liquide YMB et sont incubés pendant 24 à 48 heures à 30°C.

#### 2.3.2. Sur milieux solides

Afin de déterminer les caractères cultureux, les isolats sont ensemencés sur les milieux solides suivant

YMA (Yeast Mannitol Agar)

YMA+RC (Yeast Mannitol Agar +Rouge Congo)

GPA+BCP (Glucose Peptone Agar+ Bromocrésol Pourpre)

### 2.4. Vitesse de croissance

Le milieu utilisé est le YMA+BTB (Yeast Mannitol Agar+ Bleu de Bromothymol). Ce milieu permet de distinguer les bactéries à croissance rapide (genre *Rhizobium*) et des bactéries à croissance lente (genre *Bradyrhizobium*) (Jordan, 1984 ; Vincent, 1970).

### 2.5. Examen microscopique par coloration de Gram

La coloration de Gram est effectuée afin de mettre en évidence les caractéristiques de la paroi bactérienne et de différencier les bactéries Gram + des bactéries Gram -. Après préparation du frottis, les étapes de la coloration sont :

- Appliquer le violet de gentiane sur le frottis et laisser agir pendant une minute.
- Ajouter le lugol et laisser agir 30 secondes.
- Incliner la lame et laisser tomber goutte à goutte l'alcool acétone.

- Laver avec l'eau distillée.
- Recolorer avec de la fuschine sur la lame pendant une minute.
- Après avoir rincé avec de l'eau distillée, séchez la lame avec du papier absorbant et observer à immersion

## 2.6. Conservations des souches

Les souches qui ont été obtenues sont conservées à une température de 4°C dans des tubes contenant du milieu YMA incliné et additionné de CaCO<sub>3</sub> (3g/l). Cette méthode permet la conservation des bactéries pour une période de 6 à 12 mois.



Figure 12 : Conservation des souches. (Photo personnelle)

## 3. Etude de l'effet des facteurs abiotiques sur la croissance bactérienne

### 3.1. Effet du pH

Le test est réalisé dans le milieu YMB avec différentes valeurs du pH : 4, 5, 6, 6.8, 7, 8, 9, et 10. Incuber les tubes à une température de 30°C pendant 24 heures. La mesure de croissance est évaluée par la lecture de la densité optique à une longueur d'onde de 620 nm.

### 3.2. Effet du NaCl

Toutes les souches sont cultivées etensemencées sur le milieu YMA dans des boîtes de pétri à des concentrations variées de NaCl : 0.1%, 1%, 2%, 3%, 5 %, et 10 %. Incuber les tubes à une température de 30°C pendant 24 et 48 heures.

### 3.3. Effet de la température

Afin d'évaluer les conditions de croissance optimales et maximales des souches, elles sontensemencées sur la surface du milieu YMA à des températures variées : 4°C, 20°C, 30°C, 40°C et 50°C. On procède à la lecture des boîtes après 24 et 48 heures. Les boîtes à 4°C sont observées quotidiennement jusqu'à dix jours.

## 4. Effet du stress thermique sur l'interaction symbiotique

### 4.1. Sur la germination des graines

#### 4.1.1. Stérilisation des graines

Avant de procéder à la stérilisation des graines, il faut tout d'abord les sélectionner, elles doivent être non endommagées et de taille identique. La stérilisation se fait selon la méthode de **Vincent (1970)** et **Somasegaran et Hoben (1994)**.

La stérilisation des graines en les plongeant dans de l'eau de Javel diluée à 10% pendant 15 minutes. Par la suite, les graines sont rincées à 10 reprises avec de l'eau distillée stérile.



**Figure 13 :** Stérilisation des graines (Photo personnelle).

#### 4.1.2. Germination

La détermination de la température optimale de germination est effectuée en plaçant les graines stérilisées dans un milieu Tryptone Yeast Agar (TYA) (Annexe I) dans des boîtes de Pétri. Les boîtes sont enveloppées avec du papier aluminium et mises à germer dans l'obscurité aux températures suivantes : 4°C, Température ambiante, et 44°C, pendant 8 à 10 jours jusqu'à l'apparition des radicelles. Chaque traitement a été répété 2 fois.



**Figure 14 :** Germination des graines (Photo personnelle).

Une graine est considérée comme germée lorsque la radicule a émergé. Effectivement, on calcule le taux de germination en utilisant la formule suivante :

$$\text{Taux de germination \%} = \frac{\text{Nombre de graines germées}}{\text{Nombre de graines testées}} \times 100$$

## 4.2. Effet de la température sur la nodulation

Ce test vise à identifier nos isolats et à évaluer leur aptitude à former des nodules avec la plante hôte dans des conditions bactériologiquement contrôlées (Vincent, 1970). L'objectif de ce test est d'inoculer des graines germées de la plante hôte avec divers isolats.

### 4.2.1. Préparation des plantules

Les jeunes plantules ayant germé à température ambiante sont transférées dans des tubes à essai spécifiques appelés tubes Gibson de 30mm x 70mm, préalablement remplis avec le milieu de culture Jensen. Chaque tube contient une seule plantule. Ensuite, pour assurer l'obscurité autour des racines, les tubes sont recouverts de papier aluminium.

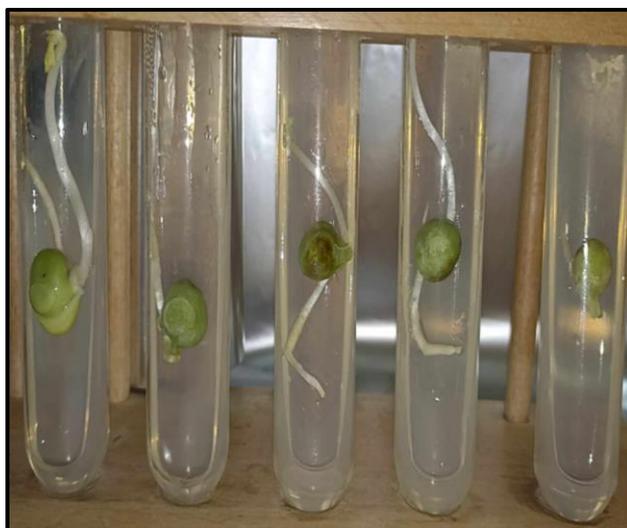
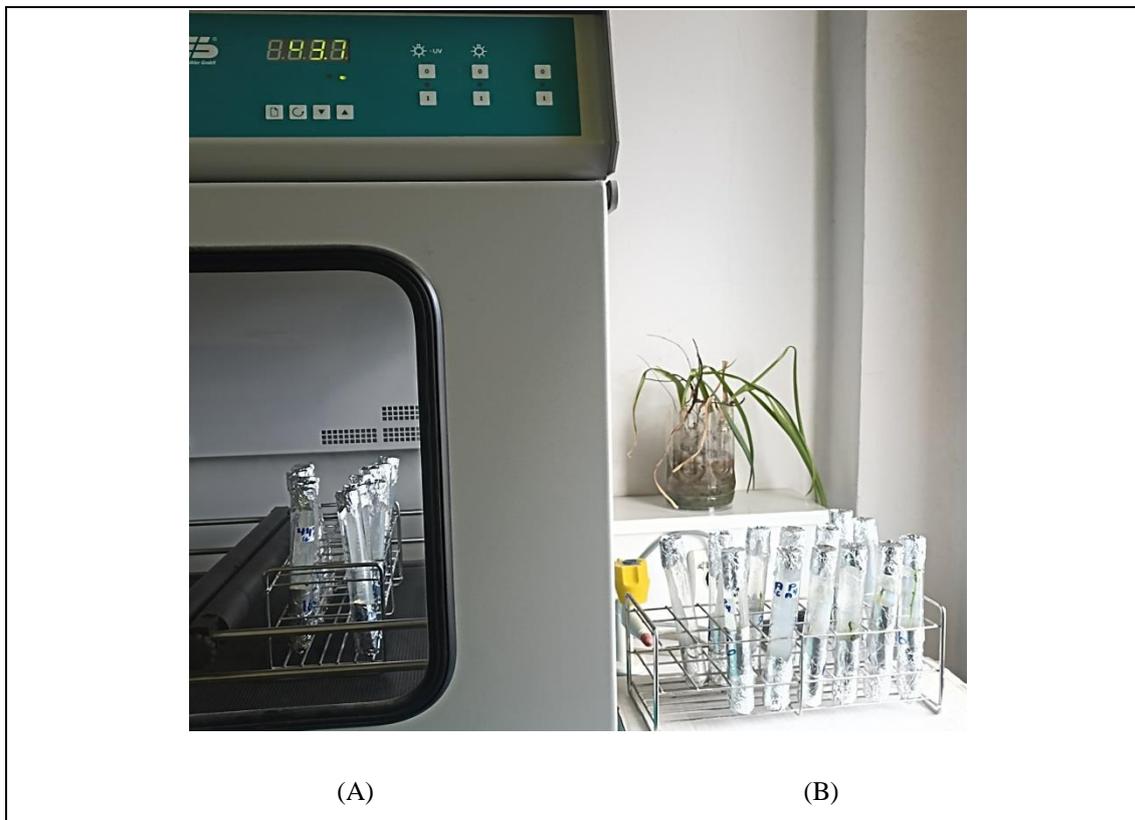


Figure 15 : Préparation des plantules dans le milieu Jensen.

### 4.2.2. Inoculation des plantules

Après 6 jours, les plantules transférées sont inoculées avec des suspensions bactériennes des souches à tester, à raison de 1 ml par tube. Les tubes inoculés sont ensuite incubés à deux températures différentes, soit 44°C et température ambiante,

avec un tube témoin pour chaque température. Chaque traitement a été répliqué 2 fois. Ces tubes sont placés dans une zone exposée à la lumière (Vincent, 1970).



**Figure 16 :** Test de nodulation

(A) incubation des tubes à 44°C.

(B) incubation des tubes à température ambiante.

## **5. Enquête sur les méthodes d'adaptation aux stress hydrique dans la région de Guelma**

Cette étude vise à déterminer si la température affecte réellement la nodulation des légumineuses en général, et à identifier s'il existe une variété de légumineuses plus tolérante que d'autres aux conditions de température et de sécheresse. La recherche est de nature qualitative, car elle permet de mieux comprendre le cadre pratique de l'étude.

### **5.1. Description des Répondants**

Les répondants ciblés pour cette étude sont des agriculteurs de la région de Guelma. Nous avons interrogé cinq agriculteurs, chacun cultivant une légumineuse différente : haricots, petits pois, fèves, pois chiches et lentilles. Les entretiens ont été réalisés soit par téléphone, soit sur place, selon les disponibilités et les préférences des agriculteurs.

### **5.2. Considérations Éthiques**

Afin de garantir l'anonymat des participants, les noms des agriculteurs ne seront pas divulgués. Ils seront désignés uniquement par la première lettre de leur nom lors de la présentation des résultats de l'interview. Cette mesure a été mise en place pour protéger la confidentialité des participants et respecter les principes éthiques de la recherche.

### **5.3. Méthodologie de l'Enquête**

Le questionnaire a été conçu pour recueillir des informations sur les pratiques agricoles (Annexe VI), les perceptions des agriculteurs concernant les effets de la température et de la sécheresse sur la nodulation des légumineuses, et les stratégies d'adaptation mises en place. Dans ce document, les interviewers seront désignés par "Q" (pour questionnaire) et les répondants (agriculteurs) seront désignés par "R" (pour répondant).

# **Chapitre 03**

## **Résultats et discussion**

---

Dans cette étude, nous avons pris en considération 6 isolats de la légumineuse *Pisum sativum* L. : P1, P2, P3, P4a, P4b, P5.

## 1. Caractères morphologiques et culturaux

### 1.1. Croissance sur milieu liquide YMB

Après ensemencement et 24 heures d'incubation à 30 °C, un trouble apparaît dans le bouillon, indiquant la croissance des bactéries. Ce phénomène a été observé chez tous nos isolats.



**Figure 17** : croissance des souches isolées dans le milieu YMB (Photo personnelle).

### 1.2. Croissance sur milieux solides

#### 1.2.1. Croissance sur YMA

Après une incubation de 2 jours, les 6 boîtes de Pétri ont montré des caractéristiques culturelles variées. Des observations ont été réalisées en se basant sur des critères essentiels tels que la forme des colonies (rondes, irrégulières), la coloration (chromogénie) des colonies, ainsi que la texture de leur surface (lisse, rugueuse, sèche, ou dentelée). Ces observations ont été effectuées à l'œil nu. Cette description est en accord avec celles déjà faites pour les *Rhizobia*. (Vincent, 1970 ; Jordan, 1984).

Tableau 02 : Résultat des souches étudiées sur milieu YMA

	Forme des colonies	La coloration	Texture de leurs surfaces	Consistance	Texture
P1	Arrondie	blanchâtre	Lisses, bombées	Crémeuse	Translucide, homogène, brillante
P2	Irrégulières, convexes	blanchâtre	Lisses, bombées	Crémeuse et visqueuse	Translucide, homogène, brillante
P3	Irrégulières, convexes	blanchâtre	Lisses, bombées	Crémeuse et visqueuse	Translucide, homogène, brillante
P4a	Irrégulières, convexes	blanchâtre	Lisses, bombées	Crémeuse et visqueuse	Translucide, homogène, brillante
P4b	Irrégulières, convexes	blanchâtre	Lisses, bombées	Crémeuse et visqueuse	Translucide, homogène, brillante
P5	Irrégulières, convexes	blanchâtre	Lisses, bombées	Crémeuse et visqueuse	Translucide, homogène, brillante

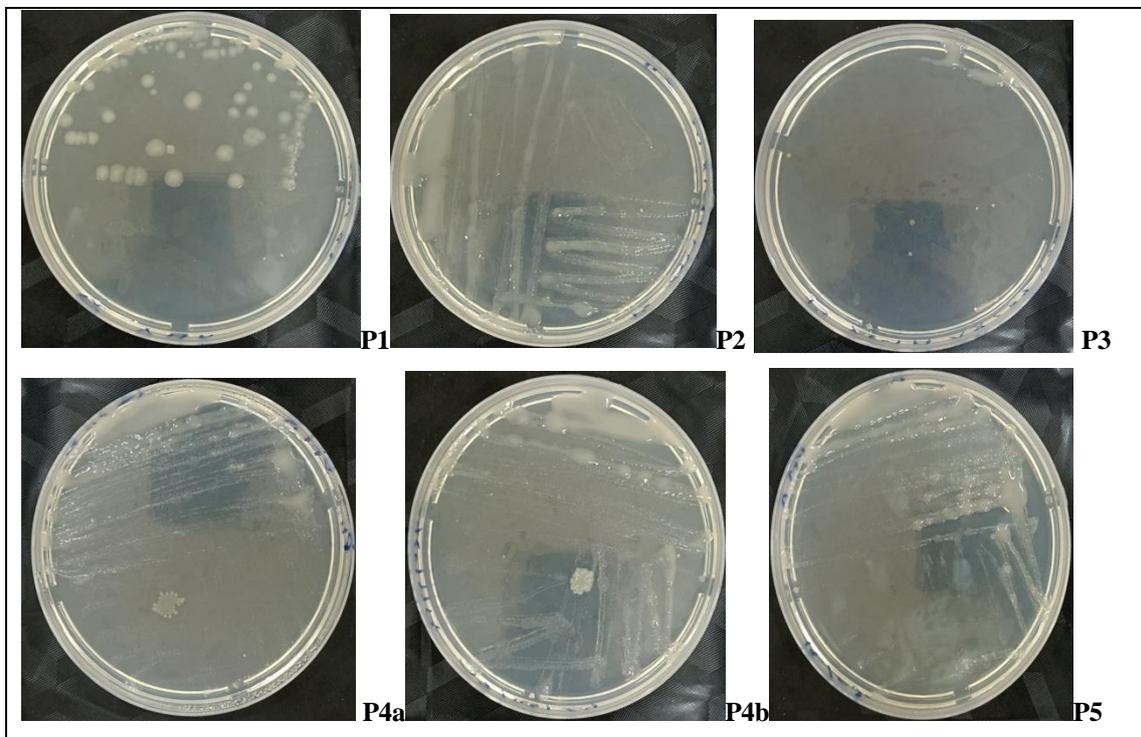
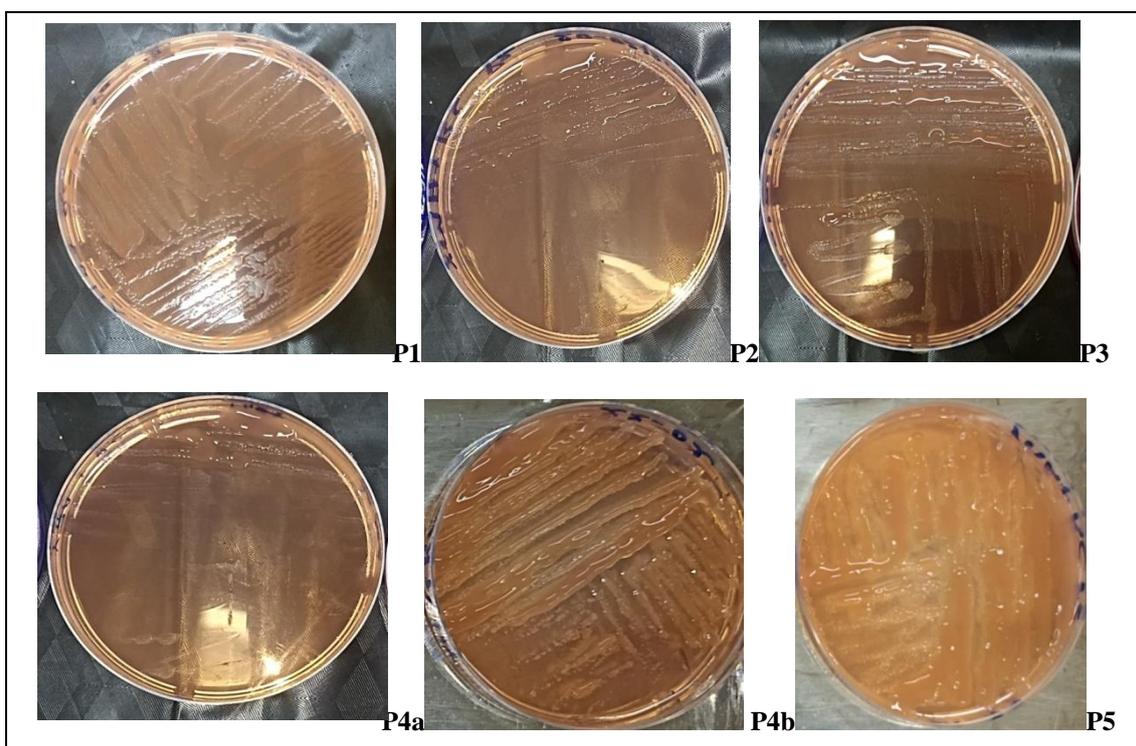


Figure 18 : Croissance des souches isolées sur milieu YMA (Photo personnelle).

### 1.2.2. Croissance sur YMA+RC

Au bout de 48 à 72 heures, la culture du broyât nodulaire sur un milieu YMA-rouge Congo a présenté des colonies qui absorbent très peu ou pas le rouge Congo (Figure 19). Seules les colonies qui ne l'absorbent pas sont prises en compte lors des manipulations ultérieures. De même **Shetta et al., (2011)** ont mentionné que les souches de *Rhizobia* n'absorbent pas le rouge Congo. Elles sont de couleur rose claire, ceci a été observé chez la majorité des *Rhizobia* par **Vincent (1970)**. Par contre les contaminants absorbent fortement ce colorant (**Jordan, 1984**).



**Figure 19** : Aspect des colonies bactériennes sur milieu YMA + Rouge Congo (Photo personnelle).

### 1.2.3. Croissance sur milieu PGA+BCP

À l'exception d'un seul isolat P2, tous nos isolats n'ont pas entraîné une acidification du milieu ou une modification du pH, ni un virage de couleur du violet vers le jaune.

Tous les isolats et les souches de référence ne changent pas de couleur du milieu après 24 heures d'incubation, contrairement à certains contaminants tels que les bactéries à Gram positif (**Beck et al., 1993 ; Somasegaran et Hoben, 1994**).

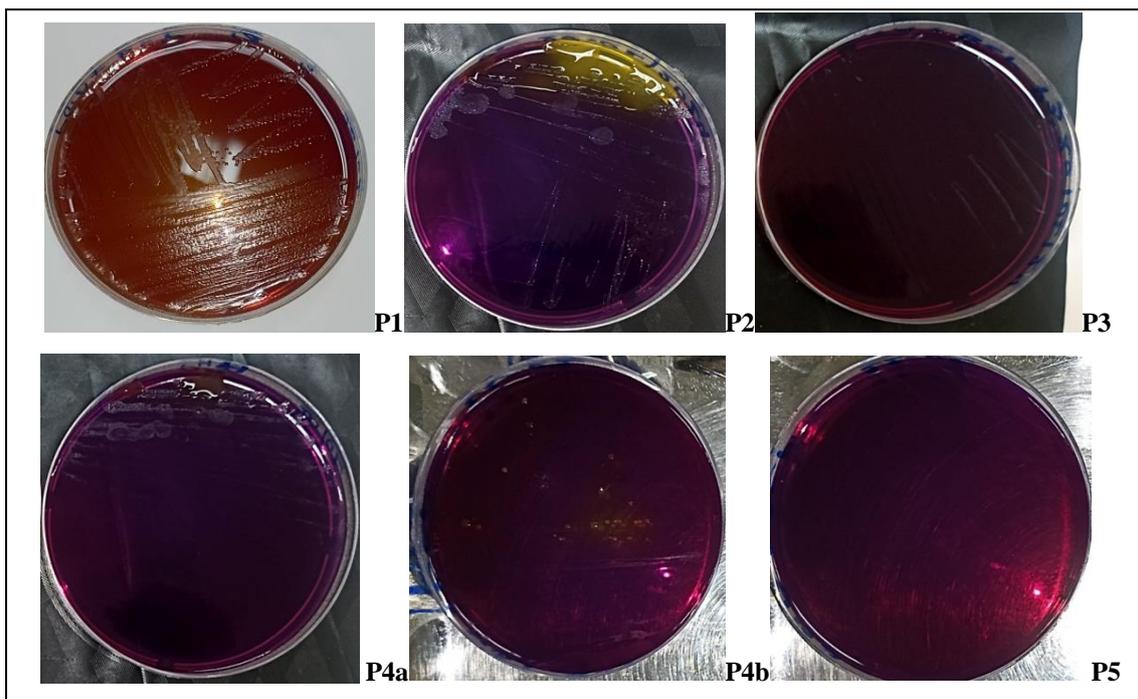


Figure 20 : Aspect des colonies bactériennes sur milieu PGA+BCP (Photo personnelle).

### 1.3. Vitesse de croissance

Après 24 heures, tous les isolats ont une modification partielle du pH, mais après 48h la plupart d'entre eux entraînent une réaction acide avec un changement de l'indicateur de pH, ce qui se traduit par un changement de la coloration du BTB vers le jaune, ce qui présente une croissance rapide.

En général, on considère les souches à croissance rapide comme des bactéries acidifiantes. Ainsi, il est prévu qu'elles modifient la couleur du BTB en jaune, à la différence des souches à croissance lente qui sont perçues comme des bactéries alcalinisantes du milieu de culture (Jordan, 1984 ; Beck *et al.*, 1993 ; Pagano, 2008).

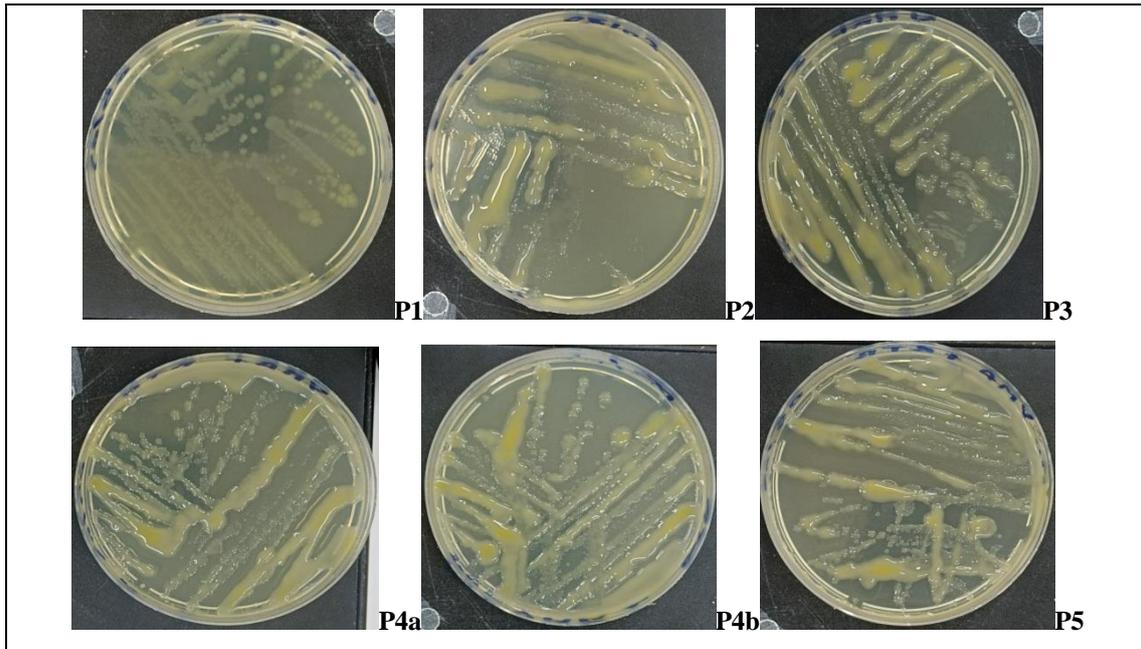


Figure 21 : Aspect des colonies bactériennes sur milieu YMA + BTB (Photo personnelle).

#### 1.4. Examen microscopique par coloration de Gram

Après coloration, l'observation microscopique démontre des bâtonnets et des microbacilles roses, donc nos isolats sont à Gram négatif, ce qui correspond à l'aspect microscopique des *Rhizobia*.

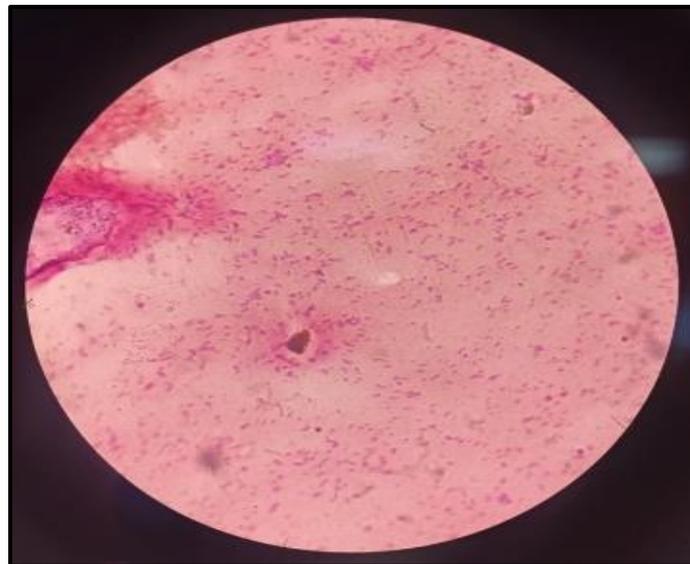


Figure 22 : Examen microscopique par la coloration de Gram (Photo personnelle).

## 2. Etude de l'effet des facteurs abiotiques sur la croissance bactérienne

### 2.1. Effet du pH

Globalement, les *Rhizobia* sont des bactéries neutrophiles, mais leur pH de croissance optimal peut différer (El-Hilali, 2006).

En analysant le tableau de densité optique à différents pH pour les souches P1 à P5, plusieurs observations peuvent être faites. Tout d'abord, on remarque que les densités optiques varient selon le pH, ce qui suggère une réponse différentielle des souches bactériennes aux variations de pH.

Contrairement à l'observation à pH 4, où les valeurs de densité optique sont assez faibles pour toutes les souches, ce qui suggère une croissance suboptimale, les résultats indiquent une croissance plus favorable à des pH plus élevés. Parmi les souches étudiées, on observe notamment l'optimum de croissance à pH 7, comme le confirment les densités optiques maximales mesurées pour chaque souche à ce pH. Ces résultats correspondent aux recherches de Torche (2006) qui ont démontré que la plupart des souches de *Rhizobia* peuvent se développer dans une plage de pH comprise entre 4 et 10, avec un taux de croissance optimal entre 6,5 et 7,5.

Il est intéressant de noter que les souches présentent une certaine tolérance à l'alcalinité et à l'acidité, comme le montre leur capacité à croître sur une plage de pH allant de 4 à 10. Cependant, il est important de souligner que les densités optiques varient d'une souche à l'autre à différents pH, ce qui suggère des variations dans la réponse des souches aux conditions environnementales. Ceci est conforme aux observations de Zahran (1999), qui a noté que les *Rhizobiums* adoptent des mécanismes différents pour survivre dans les conditions acides du sol.

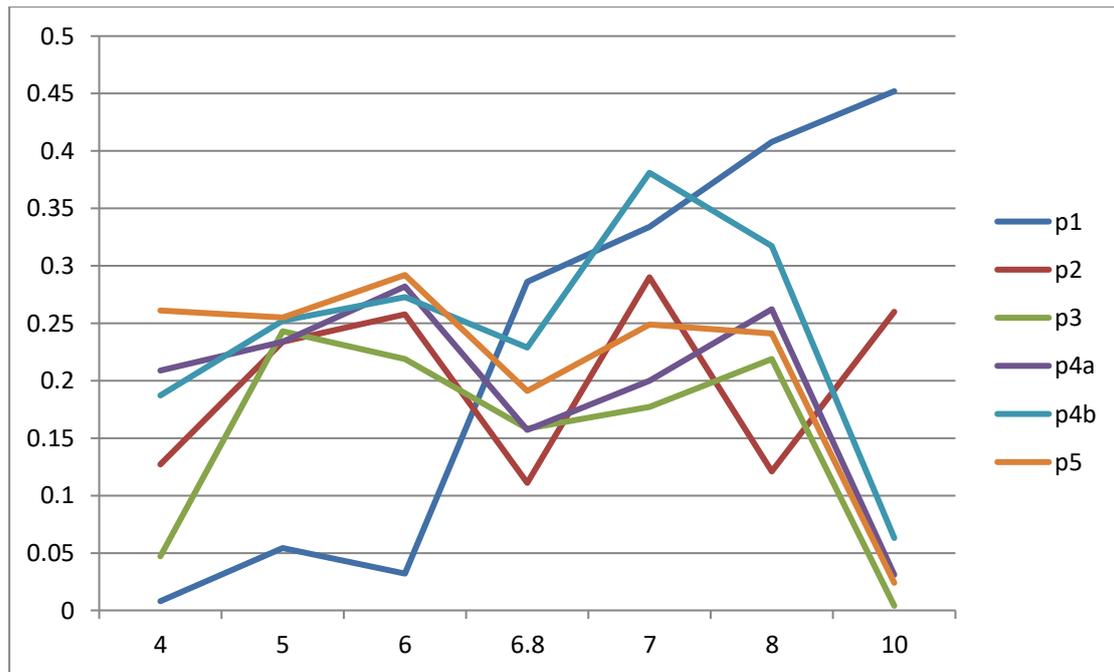


Figure 23 : Croissance a différentes valeurs de pH.

## 2.2. Effet du NaCl

Tableau 03 : Effet du NaCl sur la croissance de toutes souches testées après 24h d’incubation

Souche \ NaCl	NaCl					
	0.1%	1%	2%	3%	5%	10%
P1	++	++	+	+	+	-
P2	+	-	-	-	-	-
P3	++	-	-	-	-	-
P4a	+	-	-	-	-	-
P4b	+	-	-	-	-	-
P5	++	-	-	-	-	-

Tableau 04 : Effet du NaCl sur la croissance de toutes souches testées après 48h d'incubation

Souche \ NaCl	NaCl					
	0.1%	1%	2%	3%	5%	10%
P1	+++	+++	++	++	+	-
P2	+++	-	-	-	-	-
P3	+++	-	-	-	-	-
P4a	+++	-	-	-	-	-
P4b	+++	-	-	-	-	-
P5	+++	-	-	-	-	-

Après 24 heures et 48 heures d'incubation tous les isolats ont démontré une bonne croissance à une concentration de NaCl de 0,1%. Pour l'isolat P1, une croissance significative a été observée à 1 % de NaCl, jusqu'à 5 % de NaCl ; cette souche n'a pas pu pousser à une concentration de 10 %.

En revanche, pour les souches P2, P3, P4a, P4b et P5, la croissance était négative pour les concentrations (1 %, 2 %, 3 %, 5 % et 10 % de NaCl) avec un optimum de croissance à 0,1 % de NaCl.

Les *Rhizobia* peuvent présenter des limites de tolérance à la salinité qui peuvent être très différentes d'une espèce à l'autre (Elsheikh et Wood, 1989 ; Rai *et al.*, 2012) et même entre les souches de la même espèce (Kassem *et al.*, 1985). Par contre différentes espèces de bactéries ont la capacité de s'adapter aux conditions de salinité élevée en accumulant des solutés organiques de faible poids moléculaire, dits osmoprotecteurs (Csonka et Hanson 1991).

### 2.3. Effet de la température

Tableau 05 : Effet de la température sur la croissance de toutes souches testées après 24h d'incubation

Souche \ T°	T°				
	4°C	20°C	30°C	40°C	50°C
P1	-	+	++	+	-
P2	-	-	+	-	-

<b>P3</b>	-	-	++	-	-
<b>P4a</b>	-	-	+	-	-
<b>P4b</b>	-	-	++	-	-
<b>P5</b>	+ (1j)	-	+	-	-

**Tableau 06 :** Effet de la température sur la croissance de toutes souches testées après 48h d'incubation

Souche \ T°	T°				
	4°C	20°C	30°C	40°C	50°C
<b>P1</b>	-	++	+++	++	-
<b>P2</b>	-	+	+++	+	-
<b>P3</b>	-	+	+++	+	-
<b>P4a</b>	-	+	+++	+	-
<b>P4b</b>	+ (2j)	+	+++	+	-
<b>P5</b>	+ (1j)	+	+++	+	-

Après 48 heures d'incubation sur le milieu YMA, les résultats montrent une croissance bactérienne dans l'intervalle 20 à 40 °C avec une forte croissance de tous les isolats à une température de 30°C. Les seules souches qui ont démontré une croissance à la température de 4 °C sont P4b après deux jours et P5 après un jour. Cependant, aucune des souches n'a pu pousser à une température de 50 °C.

Ces observations sont en accord avec les travaux de **Beck *et al.*, (1993)**, **Jordan (1984)** et **Graham *et al.*, (2003)**, qui ont démontré que les espèces de *Rhizobium* présentent une croissance optimale dans une fourchette de température située entre 20°C et 40°C.

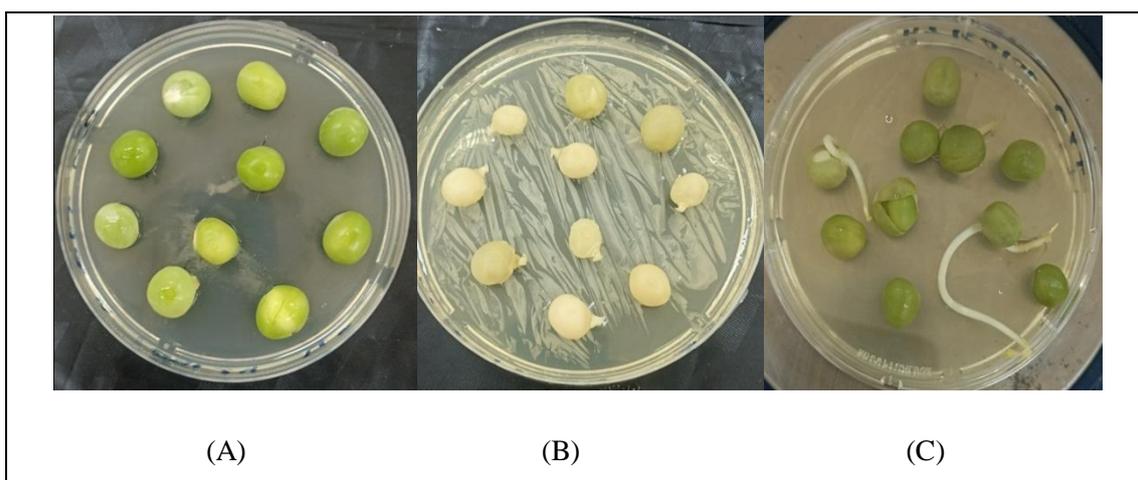
### 3. Effet du stress thermique sur l'interaction symbiotique

#### 3.1. Sur la germination des graines

Après huit jours d'incubation à différentes températures, le taux de germination des graines de *Pisum sativum* L. est évalué. En effet, aucune germination n'a été observée à 4°C, ce qui suggère que cette température n'est pas favorable pour

la germination de ces graines. La même observation est enregistrée pour la température 44 °C, ce qui laisse supposer que des températures trop élevées sont également néfastes pour la germination des graines de pois. Toutefois, la température ambiante a favorisé la germination de 30 % de graines ce qui suggère que la température ambiante offre des conditions propices à l'activation des processus de germination et de croissance des graines de pois,

Ces constatations correspondent aux données concernant les conditions de température nécessaires à la germination des graines de pois, où des températures inférieures à la plage optimale peuvent entraîner une inhibition de la germination (Estrelles *et al.*, 1999). Selon Kadis et Georghiou (2010), des températures extrêmes peuvent causer la mort des graines ou altérer leur viabilité. Les graines peuvent être germées à des températures allant de 10 °C à 30 °C (Estrelles *et al.*, 1999 ; Kadis et Georghiou, 2010).



**Figure 24** : Résultats de germination sur milieu TYA dans 3 différentes températures (Photo personnelle).

(A) : 4°C.

(B) : 44° C.

(C) : Température ambiante.

### 3.2. Effet de la température sur la nodulation

Le test de nodulation a été effectué dans des tubes Gibson contenant un milieu Jensen afin de favoriser le développement adéquat du système racinaire et d'évaluer la capacité des souches bactériennes à former des nodules sur les racines de différents échantillons de *Pisum sativum* L.

Afin d'évaluer l'effet de la température sur la croissance des plantes et la nodulation, le test est réalisé à deux températures différentes ; une température ambiante et une température de 44 °C.

Quatre semaines après l'inoculation, les premiers nodules sont apparus. Pour la température ambiante, la souche, P4a, a réussi de former des nodules racinaires (environ 20 nodules).

Une croissance des plantes a été jugée satisfaisante, où on a observé un bon développement aérien avec des feuilles vertes ainsi une bonne stimulation de la partie racinaire pour toutes les plantes inoculées par les différentes souches. Cela suggère une interaction bénéfique même en absence de nodules, contrairement au témoin où les racines n'étaient pas très développées.

Le faible taux de nodulation observé pourrait être attribué à l'inadéquation de la technique de nodulation utilisée. **Zehrari (2000)** a noté qu'il n'existe pas de technique de nodulation universelle applicable à toutes les légumineuses et à tous les *Rhizobiaceae*, certaines étant efficaces pour certaines espèces et non pour d'autres. De plus, il est possible que les souches, bien que présentant des caractères externes suggérant leur appartenance aux *Rhizobiaceae*, aient perdu leur pouvoir infectif au cours des repiquages et de la conservation.



**Figure 25 :** Formation des nodules pour la souche P4a à T° ambiante (Photo personnelle).



**Figure 26** : Partie aérienne et racinaire d'une plante inoculée par les isolats à T° ambiante (Photo personnelle).



**Figure 27** : Partie racinaire et aérienne du témoin (non inoculé) à T° ambiante (Photo personnelle).

À 44°C, aucune souche n'a réussi à induire la nodulation. De plus, le développement des racines était limité et un changement de couleur des plantes a été observé, passant d'un vert normal à un jaune pâle, indiquant un stress thermique sévère. Ces observations suggèrent que les hautes températures affectent non

seulement la nodulation mais aussi la croissance globale des plantes et des bactéries symbiotiques.

Conformément aux observations de **Vincent (1970)**, les bactéries symbiotiques sont souvent sensibles aux conditions de stress environnemental, ce qui compromet leur capacité à former des nodules et à maintenir une symbiose efficace. L'absence de développement racinaire et la décoloration des plantes à 44°C témoignent de l'impact négatif des conditions de stress thermique sur les bactéries et les plantes hôtes.

Les recherches antérieures, comme celles de **Hungria et al., (2006)**, ont montré que le stress thermique limite l'efficacité des interactions symbiotiques en affectant la sensibilité des bactéries symbiotiques aux températures élevées. Nos résultats confirment cette observation en démontrant l'incapacité des souches bactériennes à noduler efficacement à des températures élevées, soulignant ainsi l'impact significatif des conditions environnementales défavorables sur ces interactions.



**Figure 28** : Graine mise à 44 °C (Photo personnelle).

#### **4. Enquête sur les méthodes d'adaptation aux stress hydrique dans la région de Guelma**

L'analyse de l'influence de la température et de la sécheresse sur la nodulation des légumineuses dans la région de Guelma repose sur les réponses des agriculteurs.

Cette analyse offre une meilleure compréhension des difficultés rencontrées et des méthodes utilisées pour y faire face.

#### **4.1. Gestion de la sécheresse**

La sécheresse constitue un défi majeur pour les agriculteurs de la région de Guelma. Chaque agriculteur interrogé a utilisé différentes approches pour réduire les conséquences de la sécheresse. Les techniques les plus fréquemment employées sont l'irrigation artificielle et l'irrigation goutte-à-goutte. À titre d'exemple, l'exploitant de pois chiches (S.) a évoqué l'exploitation de puits et la conservation des eaux de pluie par la création de puits. Malgré ces tentatives, l'efficacité de ces solutions demeure restreinte. Selon l'agriculteur de fèves (F.), malgré l'irrigation artificielle et la collecte des eaux de pluie, la sécheresse demeure un problème important. Cette contrainte s'explique par le manque de disponibilité de l'eau et la capacité limitée des infrastructures de stockage de l'eau.

#### **4.2. Gestion de la température**

Les changements climatiques ont une influence importante sur les cultures, Les températures élevées ont entraîné des pertes importantes et une réduction du nombre de nodules, selon l'agriculteur de haricots (R.). Cette observation est corroborée par les réponses des autres agriculteurs, qui rapportent également des pertes de rendement significatives.

#### **4.3. Types d'irrigation**

La méthode d'irrigation goutte-à-goutte est largement utilisée pour économiser l'eau et réduire l'évaporation. À titre d'exemple, l'agriculteur de lentilles (M.) utilise principalement cette méthode, mettant l'accent sur son efficacité dans les zones arides. Néanmoins, quelques agriculteurs, tels que celui de pois chiches (S.), ont constaté que même avec l'irrigation goutte-à-goutte, les périodes de sécheresse prolongée ont un effet néfaste. On utilise aussi l'irrigation artificielle, mais celle-ci est souvent conditionnée par la disponibilité de l'eau.

#### **4.4. Périodes de cultures**

Les périodes de plantation et de récolte sont définies par les agriculteurs et ne sont pas modifiées par les conditions météorologiques extrêmes. Les fèves sont par

exemple plantées en Novembre et Décembre et récoltées en Mars et Avril. Ce manque de souplesse pendant les périodes de culture peut restreindre la capacité des agriculteurs à s'ajuster aux variations climatiques.

#### **4.5. Variétés de semis et résistance des graines**

Aucun des producteurs interrogés n'a trouvé de légumineuses spécifiquement adaptées aux conditions de sécheresse ou de température élevée. Certains ont opté pour des cultures alternatives, comme le blé, qui sont plus résistantes aux fortes températures. Toutefois, le blé ne fait pas partie des légumineuses, ce qui ne correspond pas directement aux exigences particulières de cette étude.

# Conclusion

---

## **Conclusion**

Au cours de cette étude, nous avons isolé et étudié les bactéries nodulant le petit pois (*Pisum sativum* L.) cultivé dans la région de Guelma, située à l'est de l'Algérie, ainsi que la climatographie de cette région. L'analyse des données climatiques nous a permis de constater que Guelma est classée dans le climat semi-aride, en se référant aux données climatiques de la période 2013-2023. Selon les résultats, Guelma se distingue par deux saisons différentes, l'une humide et pluvieuse avec des précipitations élevées et des températures basses, tandis que l'autre sèche est moins pluvieuse et avec des températures élevées. La moyenne annuelle de température dans la région d'étude est d'environ 17,85 °C, tandis que la moyenne annuelle des précipitations est de 44,96 mm.

Après isolement à partir des nodules, les isolats ont subi une étude morphologique et culturale. L'examen microscopique révèle des bâtonnets Gram négatif. Ces souches ont montré une croissance rapide sur milieu YMA avec bleu de bromothymol et une faible absorption du colorant rouge Congo sur le milieu YMA+RC. Elles ne modifient pas le pH sur GPA + BCP. Les traits morphologiques et de croissance des souches étudiées, sont conformes à ceux déjà mentionnés dans la littérature sur les *Rhizobia*. (**Vincent, 1970 ; Jordan, 1984**).

Nous avons également étudié l'effet des facteurs abiotiques sur la croissance des isolats. En ce qui concerne le pH, on a constaté une croissance optimale à pH 7 avec une tolérance allant de pH 4 à 10. En ce qui concerne la salinité, on a observé une croissance optimale à 0,1 % de NaCl, tandis qu'une diminution de croissance a été constatée à des concentrations supérieures à 1 %. La croissance optimale a été observée à une température de 30 °C, avec une capacité d'adaptation limitée à 4 °C et aucune croissance à une température de 50 °C.

Le test de germination des graines a montré des différences importantes en fonction de la température. Il n'y a pas eu de germination à 4 °C ni à 44 °C, ce qui confirme que ces températures extrêmes sont défavorables à la germination des graines de *Pisum sativum* L. Une germination de 30 % a été observée à la température ambiante, ce qui suggère que les conditions optimales pour la germination entre 10 °C et 30 °C.

Pour le test de nodulation nous avons observé qu'à température ambiante, seule la souche P4a a montré une capacité notable à induire la formation de nodules, tandis que les autres souches ont démontré une interaction bénéfique avec la plante hôte accompagnée d'un

bon développement des parties racinaires et aériennes sans former de nodules. En revanche à 44°C, aucune souche n'a réussi à former des nodules, et les plantes ont présenté des signes de stress thermique, confirmant que les températures élevées affectent négativement à la fois la nodulation et la croissance des légumineuses et de leurs bactéries symbiotiques et par conséquent, sur la productivité des cultures.

Les réponses des agriculteurs montrent que la température et la sécheresse ont un impact significatif sur la nodulation et la productivité des légumineuses. Les méthodes actuelles de gestion, bien qu'utiles, ne suffisent pas à atténuer complètement les effets négatifs de ces facteurs climatiques. Pour améliorer la résistance des cultures face aux conditions climatiques extrêmes, il est essentiel de continuer à chercher des variétés de légumineuses plus efficaces et de développer des techniques d'irrigation et de gestion des sols plus performantes.

Au fil du temps, il serait pertinent de continuer ce travail en :

- Explorant d'autres facteurs environnementaux. L'objectif est d'étudier l'influence d'autres éléments abiotiques tels que l'humidité, le pH du sol, la disponibilité des nutriments et les interactions avec d'autres microorganismes du sol sur la nodulation et la croissance des légumineuses des plantes de *Pisum sativum* L.
- Étudiant la diversité génétique des *Rhizobium*. L'objectif est d'analyser la diversité génétique des souches de *Rhizobium* présente dans la région de Guelma pour identifier des souches plus résistantes aux conditions de stress thermique. Cela pourrait inclure l'étude de la plasticité phénotypique des souches et leur capacité à s'adapter à des variations climatiques extrêmes.

# Références bibliographiques

---

### A

- Amokrane, A., Bouzerzour, H., Benmahammed, A., & Djekoun, A. (2002). Caractérisation des variétés locales, syriennes et européennes de blé dur évaluées en zone semi-aride d'altitude. *Sciences et Technologie, Université Mentouri Constantine*, N° spécial D, 33-38 p.
- Azani, N., Babineau, M., Bailey, C.D., Banks, H., Barbosa, A.R., Pinto, R.B., Boatwright, J.S., Borges, L.M., Brown, G.K., Bruneau, A., et al. (2017). A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *Taxon*, 66(1), 44–77.

### B

- Bagga, A., Ruwal, K., & Asana, R. D. (1970). Comparaison de certains blés nains indiens et mexicains pour la culture en non-irrigué. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 40, 421-427.
- Bajji, M. (1999). Étude des mécanismes de résistance au stress hydrique chez le blé dur : caractérisation de cultivars différant par leurs niveaux de résistance à la sécheresse et de variants somaclonaux sélectionnés in vitro. Thèse de doctorat. Univ. Louvain.
- Barnabás, B., Jäger, K., & Fehér, A. (2008). L'effet de la sécheresse et du stress thermique sur les processus de reproduction chez les céréales. *Plant, cell & environment*, 31(1), 11-38.
- Beck, D. P., Materon, L. A., & Afandi, F. (1993). Manuel pratique sur la technologie Rhizobium-Légumineuses. ICARDA, Syrie.
- Becker, A., Berges, H., Krol, E., Bruand, C., Ruberg, S., Capela, D., Lauber, E., Meilhoc, E., Ampe, F., de Bruijn, F.J., Fourment, J., Francez-Charlot, A., Kahn, D., Kuster, H., Liebe, C., Puhler, A., Weidner, S., & Batut, J. (2004). Global changes in gene expression in *Sinorhizobium meliloti* 1021 under microoxic and symbiotic conditions. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 17(3), 292-303. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2004.17.3.292>
- Benselama, A. (2015). Réhabilitation de la culture du *lablabpurpureus* L. ex Sweet et études de son partenaire symbiotique. Thèse de doctorat en interaction plante-microorganisme. Université d'Oran es-senia, Algérie.

- Bensouilah, T. (2015). Contribution à l'étude écologique des passereaux nicheurs dans le Nord-Est de l'Algérie. Thèse de doctorat, Université de Badji Mokhtar, Annaba.
- Berg, L. R., Raven, P. H., Hassenzahl, D. M. (2009). Environnement. Paris : De Boeck Supérieur.
- Bergareche, C., Llusia, Febrero, A., Bort, J., & Araus, J. (1993). Effet du stress hydrique sur la teneur en proline et en nitrate de l'orge : relations avec le potentiel osmotique, le rapport isotopique du carbone et le rendement en grain. Colloque Diversité génétique et amélioration variétale, Montpellier (France), Les colloques, Inra Paris.
- Black, M., Paula, M., Brett, C., Roberto, B., John H., H., Mariangela, H., & Matthew, B. (2012). The genetics of symbiotic nitrogen fixation: Comparative genomics of 14 Rhizobia strains by resolution of protein clusters. *Genes*, 3(2), 138-166.
- Brahmia, H. (2016). Écologie de la reproduction de la Tourterelle maillée *Streptopelia senegalensis* dans la région de Guelma (Nord-Est de l'Algérie). Thèse de doctorat, Université de Badji Mokhtar, Annaba.
- Brisson, N., & Delecolle, R. (1992). Utilisation des modèles mécanistes de la culture comme outils de raisonnement de la composante génétique de la résistance à la sécheresse. Inra Paris, 64.
- Brooks, S. J., Collins, J. J., & Brill, W. J. (1984). Répression de la fixation de l'azote chez *Klebsiella pneumoniae* à haute température. *Journal of Bacteriology*, 157, 460-464.

### C

- Calvet, R. (2003). Le sol propriété et fonction - Tome 2. France : Editions France Agricole, 511p.
- Carrouee, A., & Girad, M. (1994). Pois protéagineux. Techniques agricoles, Editions Techniques - Techniques Agricoles. Fascicule 2212.
- Cohen, I., Zandalinas, S. I., Huck, C., Fritschi, F. B., & Mittler, R. (2021). Méta-analyse de l'impact combiné du stress dû à la sécheresse et à la chaleur sur le rendement des cultures et ses composants. *Physiologia Plantarum*, 171(1), 66-76.
- Cousin, R. (2003). Pois dans : histoires de légumes, des origines à l'orée du XXI<sup>e</sup> siècle. m. pitrat et C. foury, coord., INRA édition, Paris, 347-361.

- Coussin, R. (1974). Le pois : annales de l'amélioration des plantes. INRA, 10, 117.
- Csonka, L.N., & Hanson, A.D. (1991). Osmorégulation procaryote : génétique et physiologie. *Revue annuelle de physiologie végétale*, 45: 569-606.

### D

- Dixon, R., & Paiva, N. (1995). Métabolisme du phénylpropanoïde induit par le stress. *The Plant Cell*, 7, 1085-1097.
- Dixon, R.O.D., & Wheeler, C.T. (1986). *Nitrogen Fixation in Plants*. New York: Chapman et Hall Press.
- 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 avec référence particulière aux zones subhumides et arides. Paris: Éditions Espaces 34.
- Doyle, J.J., & Luckow, M.A. (2003). The Rest of the Iceberg. Legume Diversity and Evolution in a Phylogenetic Context. *Plant Physiology*, 131(3), 900–910.
- Dupuy Y., Nougier P., 2005. Les microorganismes. Du gène à la biosphère. Edition Ellipses.Paris.

### E

- El-Hilali, I. (2006). La symbiose Rhizobium-Lupin : Biodiversité des microsymbiotes et mise en évidence d'une multi-infection nodulaire chez *Lupinus luteus*. Thèse de doctorat, Université Mohammed V Agdal Rabat, Maroc.
- El-sheikh, E., & Wood, M. (1989). Réponse des rhizobia de pois chiches et de soja au sel : effets osmotiques et spécifiques des ions des sels. *Biologie et biochimie du sol*, Vol 21, 889-895 pp.
- Esseling, J.J., Lhuissier, F.G.P., & Emons, A.M.C. (2003). Nod Factor-Induced Root Hair Curling: Continuous Polar Growth towards the Point of Nod Factor Application. *Plant Physiology*, 132(4), 1982-1988. <https://doi.org/10.1104/pp.103.021634>
- Estrelles E., Albert F., Navarro A., Prieto J., & Ibars A.M. (1999). Comportement de germination des Labiées distribuées dans la péninsule ibérique. LIFE 99 NAT/E/006417, Commission européenne et Generalitat Valenciana.

**F**

- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009). Stress hydrique chez les plantes : effets, mécanismes et gestion. *Agronomie pour le développement durable*, 29(1), 185-212.
- Figueiredo, M.V.B., Martinez, C.R., Burity, H.A., & Chanway, C.P. (2008). Plant growth promoting rhizobacteria for improving nodulation and nitrogen fixation in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 1187-1193.
- Fitouri, S. (2011). Diversités phénotypique et moléculaire des microsymbiotes du *Sulla* du nord (*Hédysarum Coronarium* L.) et sélection de souches rhizobiales efficaces. Thèse de Doctorat. Tunisie : Institut national agronomique. 109p.

**G**

- Geddes, B. A., Ryu, M., Mus, F., Garcia Costas, A., Peters, J. W., Voigt, C. A., & Poole, P. (2015). Use of plant colonizing bacteria as chassis for transfer of N<sub>2</sub>-fixation to cereals. *Current Opinion in Biotechnology*, 32, 216-222. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.01.004>
- Ghalem, M. (2009). Contribution à l'étude du développement de la culture du soja ; effets du sol et l'inoculation, rendement et caractérisation des bactéries associées. Thèse de magistère en biotechnologie. Université de d'Oran es-senia, Algérie.
- Gibson, K.E., Kobayashi, H., & Walker, G.C. (2008). Molecular determinants of a symbiotic chronic infection. *Annual Review of Genetics*, 42, 413-441.
- Giraud, E. (2007). Symbiose Rhizobium/légumineuse : un nouveau sésame. *Médecine/sciences*, 23(6-7), 663-666.
- Graham, P., Vance, C. (2003). Legumes: importance and constraints to greater use. *Plant physiology*, 131, 872-87.
- Guinet, M., Nicolardot, B., Durey, V., Revellin, C., Lombard, F., Pimet, E., ... & Voisin, A. S. (2019). Fixation symbiotique de l'azote et effet précédent : toutes les légumineuses à graines se valent-elles ? *Innovations Agronomiques*, 74, 55-68.

**H**

- Hashem, F. M., Swelim, D. M., Kuykendall, L. D., Mohamed, A. I., Abdel-Wahab, S. M., & Hegazi, N. 1. (1998). Identification et caractérisation de souches de

Rhizobium nodulant le Leucaena tolérantes au sel et à la chaleur. *Biology and Fertility of Soils*, 27(4), 335-341. <https://doi.org/10.1007/s003740050440>

- Hedhly, A. (2011). Sensibilité des gamétophytes des plantes à fleurs aux fluctuations de température. *Environmental and Experimental Botany*, 74, 9-16.
- Henchi, B. (1987). Effets des contraintes hydriques sur l'écologie et l'écophysologie de *Plantagoalbicans*. Thèse de doctorat d'État, Université de Tunis.
- Herrero, A. D., Loicq, J., & Laborde, V. (2019). Étude d'un imageur infrarouge à double bande embarqué sur un CubeSat pour l'observation du stress hydrique depuis l'espace.
- Hirsch, A. M., Lum, M. R., & Downie, J. A. (2001). What makes the rhizobial-legume symbiosis so special? *Plant Physiology*, 127(4), 1484-1492.
- Hopkins, W. G. (2003). *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur, pp. 99-112.
- Hungria, M., & Vargas, M. A. (2000). Facteurs environnementaux influençant la fixation de N<sub>2</sub> chez les légumineuses grainières dans les tropiques, avec une emphase sur le Brésil. *Field Crops Research*, 65(2-3), 151-164. [https://doi.org/10.1016/s0378-4290\(99\)00084-2](https://doi.org/10.1016/s0378-4290(99)00084-2)
- Hungria, M., Campo, R.J., Mendes, I., & Graham, P.H. (2006). Contribution de la fixation biologique de l'azote à la nutrition en N des cultures de céréales dans les tropiques : le succès du soja (*Glycine max L. Merr.*) en Amérique du Sud. *Nutrition en azote et productivité végétale durable*, 43-93.

### I

- Ismail, A. M., & Hall, A. E. (1999). Reproductive-stage heat tolerance, leaf membrane thermostability and plant morphology in cowpea. *Crop Science*, 39(6), 1762-1768.

### J

- Johkan, M., Oda, M., Maruo, T., & Shinohara, Y. (2011). Crop production and global warming. In M. Johkan, M. Oda, T. Maruo, & Y. Shinohara (Eds.), *Global Warming Impacts: Case Studies on the Economy, Human Health, and on Urban and Natural Environments* (pp. 139-152).

- Jordan, D. (1984). Rhizobiaceae. Dans N. R. Krieg & J. G. Holt (éds), Manuel systématique de bactériologie de Bergey, vol. 1. The Williams & Wilkins Co., Baltimore. p: 234-245.

### K

- Kadis C.C., & Georghiou K. (2010). Dispersion des graines et comportement de germination de trois labiées endémiques menacées de Chypre. *Biologie des espèces végétales*. 25 : 77-84.
- Kafî, F. (2015). Structure et écologie des Tourterelles nicheuses dans l'extrême Nord-est de l'Algérie. Thèse de doctorat, Université du 08 Mai 1945, Guelma.
- Kassem, M., Cappelano, A., & Gounot, A.M. (1985). Effet du chlorure de sodium sur la croissance in vitro, l'infectivité et l'efficacité de *Rhizobium meliloti*. *Journal Mircen*. Vol 1, 63-75 pp.
- Kishinevsky, B. D., Sen, D., & Weaver, R. W. (1992). Effet de la température élevée des racines sur la symbiose *Bradyrhizobium-arachide*. *Plant and Soil*, 143(2), 275-282. <https://doi.org/10.1007/BF00007883>
- Kulkarni, S., Surange, S., & Shekhar Nautiyal, C. (2000). Dépasser les limites de l'existence des Rhizobia dans des conditions extrêmes. *Current Microbiology*, 41(6), 402-409.
- Kumar, S., Kaur, R., Kaur, N., Bhandhari, K., Kaushal, N., Gupta, K., et al. (2011). Heat-stress induced inhibition in growth and chlorosis in mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) is partly mitigated by ascorbic acid application and is related to reduction in oxidative stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(6), 2091-2101.

### L

- Lazrek-Ben Friha, F. (2008). Analyse de la diversité génétique et symbiotique des populations naturelles tunisiennes de *Medicago truncatula* et recherche de QTL liés au stress salin. *Innovations Agronomiques*, 22.
- Lohar, D., Stiller, J., Kam, J., Stacey, G., & Gresshoff, P.M. (2009). Ethylene insensitivity conferred by a mutated *Arabidopsis* ethylene receptor gene alters nodulation in transgenic *Lotus japonicus*. *Annals of Botany*, 104, 277-285.
- Loveland, P. (2011). Encyclopedia of Agrophysics. In J. Glinski, J. Horabik, & J. Lipiec (Eds.), *European Journal of Soil Science*, 62(6), 913-913.

### M

- Mabrouk, Y., Hemissi, I., Salem, I. B., Mejri, S., & Saidi, M., Belhadj, O. (2018). Potentiel des Rhizobia dans l'amélioration de la fixation de l'azote et des rendements des légumineuses. *Symbiosis*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.73495>
- Menadi, O., & B. A. (2016). Analyse du micro-symbiote isolé à partir des racines de la légumineuse *Trigonellaglabrata* Stev. In *Mémoire de Master, Ecologie Microbienne* (p. 7). Université de Constantine.
- Mendjel, I., Laid, B., & Lidoughi, M. (2012). *Projet de Pôle d'Excellence Sportif à Rasel Agba / Guelma. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'Architecte d'État, département d'architecture, Université Badji Mokhtar d'Annaba.* pp. 104.
- Miloud, Y., (2018). *Etude du potentiel bénéfique des souches de Rhizobium pour Medicago truncatula: symbiose, solubilisation du phosphate et lutte contre la verticilliose. Thèse pour obtenir le grade de docteur. University de Toulouse.* p:27.
- Mitra, R. K., & Bhatia, C. (2008). Bioenergetic cost of heat tolerance in wheat crop. *Current Science*, 94, 1049-1053.
- Monneveux, P., & Nemmar, M. (1986). Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum*. L) et chez le blé dur (*Triticum durum* Desf). *Etude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. Agronomie*, p590.
- Morot-Gaudry, J. F. (1997). *Assimilation de l'azote chez les plantes: Aspects physiologique, biochimique et moléculaire.* Editions Quae.
- Munns, R., Schmidt, S., Beveridge, C., Mathesius, U. (2014). *Plantes en action. Société australienne des scientifiques en biologie végétale.*

### N

- Nava, G. A., Dalmago, G. A., Bergamaschi, H., Paniz, R., dos Santos, R. P., & Marodin, G. A. B. (2009). Effet des températures élevées pendant les périodes précédant la floraison et la floraison sur la formation des ovules, les grains de pollen et le rendement du pêcher 'Granada'. *Scientia Horticulturae*, 122(1), 37-44.

**O**

- Ouzounidou, G., Vekiari, S., Asfi, M., Gork, M., Sakcali, M., & Ozturk, M. (2012). Caractéristiques photosynthétiques du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) et composition chimique de son fruit sur une base diurne et saisonnière. *Pakistan journal of botany*, 44(5), 1689-1695.

**P**

- Pagano, M. C. (2008). Rhizobia associés à l'arbre néotropical *Centrolobium*.
- Patriarca, E.J., Tate, R., Ferraioli, S., & Iaccarino, M. (2004). Organogenesis of legume root nodules. *International Review of Cytology*, 234, 201-262.
- Perry, J.J., Stalex, J.T., & Lory, S. (2004). *Microbiologie : Cours et questions de révision*. Paris, France : Éditions Dunod. (pp. 180-201).
- Pidello, A. (2014). *Principes de chimie redox en écologie microbienne*. Editions Quae.
- Piramila, B. H. M., Prabha, A. L., Nandagopalan, V., & Stanley, A. L. (2012). Effect of heat treatment on germination, seedling growth and some biochemical parameters of dry seeds of black gram. *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research*, 1, 194-202.
- Prasad, P. V. V., Staggenborg, S. A., & Ristic, Z. (2008). Impacts of drought and/or heat stress on physiological, developmental, growth, and yield processes of crop plants. In P. Prasad, S. A. Staggenborg, & Z. Ristic (Eds.), *Response of Crops to Limited Water: Understanding and Modeling Water Stress Effects on Plant Growth Processes* (pp. 301-355).

**R**

- Rai, R., Dash, P.K., Mohapatra, T., & Singh, A. (2012). Caractérisation phénotypique et moléculaire de rhizobia indigènes nodulant le pois chiche en Inde. *Journal indien de biologie expérimentale*, 50, 340-350.
- Raven, P. H., Eichhorn, S. E., & Evert, R. F. (2014). *Biologie végétale*. De Boeck Supérieur.

### S

- Sadaoui Hamlaoui, B. (2018). Étude et écologie des oiseaux nicheurs dans la ville de Guelma (Nord-est de l'Algérie). Thèse de doctorat, Université Larbi Ben Mhidi, Oum El Bouaghi. pp. 10.
- Sadowsky, M. J. (1995). Facteurs de stress du sol influençant la fixation symbiotique de l'azote. *Nitrogen Fixation : Origins, Applications*, [https://doi:10.1007/1-4020-3544-6\\_6](https://doi:10.1007/1-4020-3544-6_6) et *Progrès de la recherche*, 89-112.
- Saha, S. R., Hossain, M. M., Rahman, M. M., Kuo, C. G., & Abdullah, S. (2010). Effet du stress thermique élevé sur la performance de douze géotypes de poivron doux. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, 35(3), 525-534.
- Saoudi, M. (2008). Les bactéries nodulant les légumineuses (B.N.L) : caractérisation des bactéries associées aux nodules de la légumineuse *Astragalus armatus*. [Magister dissertation]. Université Mentouri Constantine. p. 13.
- Shetta, N. D., Al-Shaharani, T. S., & Abdel-Aalm. (2011). Identification et caractérisation de *Rhizobium* associés aux arbres légumineux ligneux cultivés dans les conditions de l'Arabie saoudite. *Revue américano-urasienne des sciences agricoles et environnementales*, 10(3), 410-418.
- Smil V., 2002. Biofixation and nitrogen in the biosphere and in global food production. In : *Nitrogen fixation: global perspectives*. T.M. Brogan et al. ed., CAB International, New York, 7-9.
- Somasegaran, P., & Hoben, H.J. (1994). *Handbook for Rhizobia*. Springer-Verlag. Berlin.
- Sorrells, M., Diab, A., & Nachit, M. (2000). Génétique comparative de la tolérance à la sécheresse. *Options méditerranéennes série A (Séminaires méditerranéens)*, 40, 191-201.
- Sprent, J. I., Ardley, J., & James, E. K. (2017). Biogéographie des légumineuses nodulées et de leurs symbiotes fixateurs d'azote. *New Phytol.* 215, 40–56. <https://doi.org/10.1111/nph.14474>
- Suty, L. (2015). *Les végétaux : Des symbioses pour mieux vivre*. Editions Quae.

**T**

- Toh, S., Imamura, A., Watanabe, A., Nakabayashi, K., Okamoto, M., Jikumaru, Y., et al. (2008). High temperature-induced abscisic acid biosynthesis and its role in the inhibition of gibberellin action in Arabidopsis seeds. *Plant Physiology*, 146(3), 1368-1385.
- Torche, A. (2006). Isolement et caractérisation des bactéries nodulants les légumineuses du genre *Hedysarum*. Thèse de magistère en Biochimie et Microbiologie Appliquée. Université Mentouri Constantine, Algérie.

**V**

- Vandeloos, F., & Van Assche, J. A. (2008). Temperature requirements for seed germination and seedling development determine timing of seedling emergence of three monocotyledonous temperate forest spring geophytes. *Annals of Botany*, 102(5), 865-875.
- Vertes, F., Jeuffroy, M. H., Louarn, G., Voisin, A. S., & Justes, E. (2015). Légumineuses et prairies temporaires : des fournitures d'azote pour les rotations. *Fourrages*, 223, 221-232.
- Vincent, J.M. (1970). A manual for practical study of root nodule bacteria. IBP Handbook 15. Blackwell Sci. Publ. Oxford.
- Vollenweider, P., & Günthardt-Goerg, M. S. (2005). Diagnostic des facteurs de stress abiotiques et biotiques à l'aide des symptômes visibles sur le feuillage. *Environmental Pollution*, 137(3), 455-465.

**W**

- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M. A., & Foolad, M. R. (2007). Heat tolerance in plants: An overview. *Environmental and Experimental Botany*, 61, 199-223.

**Z**

- Zahran, H.H. (1999). Symbiose Rhizobium-Légumineuse et fixation de l'azote dans des conditions sévères et dans un climat aride. *Revue de microbiologie et de biologie moléculaire*, 63(4), 968-989.
- Zehrari K., (2000). Diversité phénotypique et génotypique des rhizobia isolés de régions arides et sahariennes du Maroc nodulant quatre espèces d'Acacia : *A. cyanophylla*, *A. gummifera*, *A. horrida* et *A. tortilis* sub-espèce *raddiana*. Thèse de

doctorat en sciences biologiques, microbiologie, Université Mohammed V-AGDAL de Rabat, Maroc.

- Zhang, J., Nguyen, H., & Blum, A. (1999). Analyse génétique de l'ajustement osmotique chez les plantes cultivées. *Journal of Experimental Botany*, 50, 291-302.

## Références bibliographiques (sites Web)

- [1] ITIS. (2024). Integrated Taxonomic Information System (ITIS). Rhizobium. ITIS Report. Retrieved from [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=26867#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=26867#null)
- [2].[https://babel.csfoyc.ca/profs/gbourbonnais/pascal/nya/botanique/notesnutrition/note\\_snutrition4.htm](https://babel.csfoyc.ca/profs/gbourbonnais/pascal/nya/botanique/notesnutrition/note_snutrition4.htm)(Consulté le : 04/05/2024)
- [3]. Rôle des microorganismes symbiotiques (cas de rhizobia) dans l'amélioration de la production agricole de *Phaseolus vulgaris* sous stress salin. - Scientific Figure on ResearchGate. Available from: [https://www.researchgate.net/figure/1-Differentes-etapes-de-letablissement-de-la-symbiose-rhizobia-legumineuse\\_fig1\\_256456838](https://www.researchgate.net/figure/1-Differentes-etapes-de-letablissement-de-la-symbiose-rhizobia-legumineuse_fig1_256456838) [accessed 8 May, 2024] (Consulté le: 08/05/2024)
- [4].Interferences des polluants endogènes et exogènes dans les eaux des puits et de l'Oued seybose : cas de plaine de Guelma - Scientific Figure on ResearchGate. Available from: [https://www.researchgate.net/figure/Carte-de-localisation-geographique-de-wilaya-de-Guelma\\_fig1\\_366580457](https://www.researchgate.net/figure/Carte-de-localisation-geographique-de-wilaya-de-Guelma_fig1_366580457) [Consulte le 8 May, 2024]
- [5]Climat. (2021). Direction du commerce Guelma. <https://www.dcwguelma.dz/fr/index.php/10- menu-principal/15-climat> (Consulté le 20/03/2024)

# Annexes

---

## **ANNEXE I**

### **Milieux de culture et solutions utilisés**

#### **Composition de milieu YMB (Yeast Mannitol broth) en g/l (Vincent, 1970)**

Mannitol 10.00

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.50

Mg SO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.20

NaCl 0.10

Extrait de levure 0.50

Eau distillée 1000ml

pH 6.8

Autoclavage 120°C pendant 20 minutes.

#### **Composition de milieu YMA (Yeast mannitol agar) en g/l (Vincent, 1970)**

YMB 1000 ml

Agar 15

pH 6.8

Autoclavage 120°C pendant 20 minutes.

#### **Composition de milieu YMA+ rouge Congo en g/l**

YMB 1000 ml

Solution stock de rouge Congo 10 ml

Agar 15

pH 6.8

Autoclavage 120°C pendant 20 minutes.

Après ajustement de pH on ajoute 10ml de rouge Congo (0.25g rouge Congo dans 100ml d'eau distillée), puis on ajoute l'agar.

#### **Composition de milieu YMA+ bleu de bromothymol en g/l**

YMB 1000ml

Solution stock de bleu de bromothymol 5 ml

Agar 15

pH 6.8

Autoclavage 120°C pendant 20 minutes. Après ajustement de pH on ajoute 10ml de bleu de bromothymol (0.5g BTB dans 100ml d'éthanol), puis on ajoute l'agar.

**Composition de milieu GPA (Glucose peptone agar) + pourpre de Bromocrésol  
(g/l) (Vincent, 1970)**

Glucose 10

Peptone 5

Solution stock de pourpre de Bromocrésol 10ml

Eau distillée 1000ml

Agar 15

pH 6.8

Autoclavage 120°C pendant 20 minutes.

Ajouter du pourpre de Bromocrésol (1g BCP dans 100 ml d'éthanol), après stérilisation et refroidissement de milieu.

**Composition de milieu de culture TYA**

Tryptone 5g

Extrait de levure 3g

CaCl<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O 0.87g

Agar 15g

Le pH est ajusté à 6.8 Le milieu est stérilisé par autoclavage pendant 20 minutes à 120°C.

**Composition de milieu de culture Jensen**

CaHPO<sub>4</sub>, 2H<sub>2</sub>O 1g

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.2g

Mg SO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O 0,2g

NaCl 0,2g

Solution stock 1ml

FeCl<sub>3</sub>, 6H<sub>2</sub>O 0,1g

Agar 5g

Eau distillée. 1000ml

Le pH est ajusté à 6,8 Stérilisé à 120°C pendant 20min.

**Composition du Solution HgCl<sub>2</sub> acidifié 0,1%**

HgCl<sub>2</sub> 0.1g

HCl 0.5ml

Eau distillée 100ml.

## ANNEXE II : Données climatographiques

Année et Mois	T °C Max	T °C Min	Ppt (mm)	Année et mois	T °C Max	T °C Min	Ppt (mm)	Année et mois	T °C Max	T °C Min	Ppt (mm)
2013/1	14,79	4,06	100,8	2014/6	31.8	14.9	15.8	2015/11	19.33	8.98	66.2
2013/2	14	2,49	122,8	2014/7	34.0	18.1	1.7	2015/12	15.09	4.7	6.6
2013/3	19,42	7,14	53,7	2014/8	34.8	18.9	1.2	2016/1	16	5	62.2
2013/4	22,39	8,96	46,7	2014/9	31.7	18.9	12.3	2016/2	16.8	5.8	37
2013/5	24.63	11.5	23.2	2014/10	26.5	13.8	35.5	2016/3	18.2	5.5	76.1
2013/6	29.42	13.2	9.7	2014/11	21.0	11.1	30.1	2016/4	23.1	9.4	47.9
2013/7	34.46	18.0	4.1	2014/12	15.0	4.98	156.3	2016/5	25.8	12.2	77.8
2013/8	33.8	18.2	36.2	2015/1	14.6	3.02	130	2016/6	31.4	15.1	9.4
2013/9	28.9	16.7	23	2015/2	13.4	3.07	155.6	2016/7	34.9	18.1	0.7
2013/10	27.7	15.4	44.3	2015/3	17.5	5.85	83.8	2016/8	33.7	17.8	1.9
2013/11	18.4	8.4	127	2015/4	22.4	8.56	2.5	2016/9	29.5	16.8	32.6
2013/12	15.0	4.06	62	2015/5	27.3	12.9	36.3	2016/10	27.1	14.7	23.7
2014/1	15.3	4.8	80.5	2015/6	31.4	14.9	6.6	2016/11	20.9	7.5	7
2014/2	16.4	5.31	40.1	2015/7	35.8	18.2	2.3	2016/12	16.6	5.7	93
2014/3	17.4	4.81	135.7	2015/8	34.7	19.6	20.2	2017/1	13.2	2	117.6
2014/4	22.0	8.84	21.6	2015/9	30.1	17.3	33.8	2017/2	16.6	5.3	62.2
2014/5	24.9	11.8	34	2015/10	25.3	13.8	60.8	2017/3	19.6	6.4	10.7

Année et mois	T °C Max	T °C Min	Ppt (mm)	Année et mois	T °C Max	T °C Min	Ppt (mm)	Année et mois	T °C Max	T °C Min	Ppt (mm)
2017/4	21.9	8.7	35.8	2018/9	30.7	18	36.2	2020/2	17	5.9	3.5
2017/5	27.2	13.3	3.1	2018/10	24.2	12.5	128.9	2020/3	18.4	6.1	92.9
2017/6	32.9	16.7	19.9	2018/11	19	9	43.3	2020/4	22.7	9.8	74.8
2017/7	36	19.5	3.1	2018/12	15.6	5.2	26.4	2020/5	27.7	13.8	10.8
2017/8	36.2	20.2	0.4	2019/1	13.3	2.5	137.7	2020/6	31.2	15.1	11.9
2017/9	29.1	16.8	12	2019/2	13.9	3	59.4	2020/7	35.4	18.5	1.8
2017/10	24.2	12	55.7	2019/3	17.7	5.4	82.5	2020/8	35.8	19.8	5.7
2017/11	18.2	8.2	101.7	2019/4	20.8	7.9	43.2	2020/9	29.1	16.1	50.6
2017/12	14.2	3.9	64.3	2019/5	23.4	9.4	70.8	2020/10	23.3	11.20	17.1
2018/1	15.8	5.1	32.1	2019/6	33.7	17.9	2.9	2020/11	20.7	10.7	87.7
2018/2	14.1	3.4	87.5	2019/7	36.8	19.9	1.6	2020/12	15.20	5.1	175.3
2018/3	18.6	7	74.5	2019/8	36.4	20.3	28.5	2021/1	15.8	5.1	68.7
2018/4	22.6	9.4	28.7	2019/9	30.1	17.1	34.4	2021/2	18.1	7.1	35.7
2018/5	25	11.2	80.1	2019/10	25.3	13.1	10.4	2021/3	18.5	6.51	9
2018/6	30.7	14.8	11	2019/11	18.2	7.9	68.5	2021/4	22.1	9.3	46.6
2018/7	36.4	19.6	4.3	2019/12	17	6.8	85.4	2021/5	27	13.1	45.7
2018/8	33.1	18	24.4	2020/1	17.7	3.9	28.7	2021/6	33.4	17.3	14.6

Année et mois	T °C Max	T °C Min	Ppt (mm)	Année et mois	T °C Max	T °C Min	Ppt (mm)
2021/7	36.90	20.1	2.3	2022/12	18.3	8.1	10.4
2021/8	37.1	21.1	4	2023/1	14	3.2	45.6
2021/9	32.7	19.7	9.3	2023/2	15.3	4.2	33.4
2021/10	24	11.9	20	2023/3	19.7	7.2	14.9
2021/11	18.7	8.7	68.2	2023/4	22.8	9.8	28.5
2021/12	14.8	48	83.8	2023/5	24.3	10.4	162.6
2022/1	13.1	2.3	85.6	2023/6	31.3	15.3	56.6
2022/2	15.8	4.7	44.1	2023/7	39.7	23	3.7
2022/3	18.9	6.4	68.8	2023/8	35	19.1	2.8
2022/4	21.7	8.7	23.4	2023/9	31.6	18.9	4.4
2022/5	27.3	13.4	45	2023/10	28.1	16.6	6.9
2022/6	35.6	19.6	3.7	2023/11	21	10.9	80.6
2022/7	37	20.3	1.5	2023/12	16	5.8	127
2022/8	35.7	19.8	4.2				
2022/9	32.3	19.6	39.3				
2022/10	27.2	15.1	16.6				
2022/11	20.29	10.8	47.2				

### ANNEXE III

#### Les résultats de la mesure de la densité optique des différents pH

<b>Souche pH</b>	<b>P1</b>	<b>P2</b>	<b>P3</b>	<b>P4a</b>	<b>P4b</b>	<b>P5</b>
<b>4</b>	<b>0.008</b>	<b>0.127</b>	<b>0.047</b>	<b>0.209</b>	<b>0.187</b>	<b>0.261</b>
<b>5</b>	<b>0.054</b>	<b>0.234</b>	<b>0.243</b>	<b>0.234</b>	<b>0.252</b>	<b>0.255</b>
<b>6</b>	<b>0.032</b>	<b>0.258</b>	<b>0.219</b>	<b>0.282</b>	<b>0.273</b>	<b>0.292</b>
<b>6.8</b>	<b>0.286</b>	<b>0.111</b>	<b>0.158</b>	<b>0.157</b>	<b>0.229</b>	<b>0.191</b>
<b>7</b>	<b>0.334</b>	<b>0.29</b>	<b>0.177</b>	<b>0.200</b>	<b>0.381</b>	<b>0.249</b>
<b>8</b>	<b>0.408</b>	<b>0.121</b>	<b>0.219</b>	<b>0.262</b>	<b>0.317</b>	<b>0.241</b>
<b>10</b>	<b>0.452</b>	<b>0.260</b>	<b>0.004</b>	<b>0.031</b>	<b>0.063</b>	<b>0.024</b>

## **ANNEXE VI**

### **Questionnaire sur les Facteurs Affectant la Nodulation des Légumineuses**

#### **1. Culture du petit pois**

##### **A. Informations générales**

a. Nom de l'agriculteur : **K.**

b. Lieu de la ferme : Boumahra Ahmed (BOURJIMA Said)

##### **B. Gestion de la sécheresse**

**Q.** Quelles sont les mesures principales que vous avez mises en place pour faire face à la sécheresse ces dernières années ?

**R.** Irrigation artificielle.

**Q.** Avez-vous adopté des méthodes particulières afin de prévenir ou de réduire les conséquences de la sécheresse sur vos cultures ?

**R.** Oui, certaines solutions incluent l'utilisation d'irrigation artificielle et la rotation du sol.

**Q.** Comment jugez-vous l'efficacité de ces solutions ?

**R.** Pas très bien car la température était extrêmement élevée

##### **C. Gestion de la température**

**Q.** Quelle a été l'incidence de la variation de la température sur vos cultures ces dernières années ?

**R.** Des pertes significatives des rendements.

**Q.** Comment avez-vous procédé à la réduction des conséquences des températures extrêmes sur la nodulation des légumineuses ?

**R.** Remuer la terre

**Q.** Avez-vous observé des variations dans la nodulation en fonction des changements de température ?

**R.** On ne sait pas s'il existe des différences dans les nodules, mais on sait qu'il existe des différences dans la plante.

##### **D. Types d'irrigation**

**Q.** Quel(s) type(s) d'irrigation avez-vous principalement employé(s) au cours des cinq dernières années ? Précipitation naturelle, goutte à goutte, irrigation artificielle, ou autres

**R.** On fait d'abord goutte à goutte puis irrigation artificielle

**Q.** Pour quelle raison avez-vous opté pour ces techniques particulières d'irrigation ?

**R.** Nous n'avons pas d'autres options.

### **E. Périodes de cultures**

**Q.** Quelles sont les périodes de l'année pendant lesquelles vous cultivez et récoltez habituellement vos légumineuses ?

**R.** A propos du petit pois la récolte est réalisée en mars et avril, puis elle est plantée à l'automne, du 15 novembre au 15 décembre.

**Q.** Avez-vous ajusté ces périodes en raison de conditions météorologiques spécifiques ?

**R.** Non on ne peut pas changer.

### **F. Variétés de Semis**

**Q.** Avez- vous découvert des variétés particulièrement adaptées aux conditions de sécheresse ou de haute température ?

**R.** Non, nous n'avons pas trouvé d'autres qui peuvent s'adapter et faire face.

### **G. Résistance des Graines**

**Q.** Connaissez-vous des variétés de légumineuses ou des techniques de culture réputées pour leur résistance à la sécheresse ou aux températures élevées ?

**R.** non il n'y en a pas

**Q.** Avez-vous déjà utilisé de telles variétés ou techniques dans votre exploitation

**R.** On a utilisé le blé et on a trouvé qu'il résiste bien aux hautes températures et aux conditions de sécheresse

## **2. Culture d'Haricot**

### **A. Informations générales**

**a.** Nom de l'agriculteur : **R.**

**b.** Lieu de la ferme : Medjez Amar

### **B. Gestion de la sécheresse**

**Q.** Quelles sont les mesures principales que vous avez mises en place pour faire face à la sécheresse ces dernières années ?

**R.** Principalement l'irrigation

**Q.** Avez-vous adopté des méthodes particulières afin de prévenir ou de réduire les conséquences de la sécheresse sur vos cultures ?

**R.** En effet, j'ai utilisé des méthodes particulières comme l'irrigation artificielle et le labour du sol afin de minimiser les conséquences de la sécheresse sur mes cultures.

**Q.** Comment jugez-vous l'efficacité de ces solutions ?

**R.** Je considère que ces solutions ont une efficacité moyenne, car même en utilisant ces méthodes, les températures élevées ont eu un effet néfaste sur mes cultures.

### **C. Gestion de la température**

**Q.** Quelle a été l'incidence de la variation de la température sur vos cultures ces dernières années ?

**R.** Récemment, les changements de température ont causé des pertes significatives dans mes cultures.

**Q.** Comment avez-vous procédé à la réduction des conséquences des températures extrêmes sur la nodulation des légumineuses ?

**R.** Afin de réduire les conséquences des températures extrêmes sur la nodulation des légumineuses, j'ai principalement employé la méthode de fertilisation du sol par exemple de produits riches en azote, comme les engrais azotés.

**Q.** Avez-vous observé des variations dans la nodulation en fonction des changements de température ?

**R.** Oui, j'ai remarqué une différence car il y avait moins de nodules de façon importante.

#### **D. Types d'Irrigation**

**Q.** Quel(s) type(s) d'irrigation avez-vous principalement employé(s) au cours des cinq dernières années ? Précipitation naturelle, goutte à goutte, irrigation artificielle, ou autres

**R.** J'ai principalement utilisé l'irrigation goutte à goutte au cours des cinq dernières années, puis l'irrigation artificielle.

**Q.** Pour quelle raison avez-vous opté pour ces techniques particulières d'irrigation ?

**R.** J'ai choisi ces méthodes d'irrigation car je n'avais pas d'autres options disponibles dans ma région.

#### **E. Périodes de Cultures**

**Q.** Quelles sont les périodes de l'année pendant lesquelles vous cultivez et récoltez habituellement vos légumineuses ?

**R.** La récolte de l'haricot se déroule en mai, tandis que la plantation se déroule à l'automne, habituellement entre mai et juin.

**Q.** Avez-vous ajusté ces périodes en raison de conditions météorologiques spécifiques ?

**R.** Ces périodes n'ont pas été adaptées en raison des conditions météorologiques spécifiques, car je n'ai pas la capacité de le faire.

#### **F. Variétés de Semis**

**Q.** Avez-vous découvert des variétés particulièrement adaptées aux conditions de sécheresse ou de haute température ?

**R.** Non, nous n'avons pas trouvé d'autres qui peuvent s'adapter et faire face.

#### **G. Résistance des Graines**

**Q.** Connaissez-vous des variétés de légumineuses ou des techniques de culture réputées pour leur résistance à la sécheresse ou aux températures élevées ?

**R.** Dans ma région, je n'ai pas découvert de variétés spécifiquement adaptées aux conditions de sécheresse ou de température élevée.

**Q.** Avez-vous déjà utilisé de telles variétés ou techniques dans votre exploitation ?

**R.** Nous n'avons pas expérimenté l'utilisation de telles variétés ou techniques dans notre exploitation.

### **3. Culture pois chiches**

#### **A. Informations générales**

- a. Nom de l'agriculteur : **S.**
- b. Lieu de la ferme :Hadjar Mengoub

#### **B. Gestion de la sécheresse**

**Q.**Quelles sont les mesures principales que vous avez mises en place pour faire face à la sécheresse ces dernières années ?

**R.** Creuser des puits et rechercher les eaux souterraines, l'irrigation goutte à goutte pour réduire l'évaporation de l'eau, la conservation des eaux de pluie par la construction de petits barrages ou des puits

**Q.**Avez-vous adopté des méthodes particulières afin de prévenir ou de réduire les conséquences de la sécheresse sur vos cultures ?

**R.**J'ai utilisé les méthodes qu'on a mentionné précédemment mais aussi particulières comme l'irrigation artificielle et le labour du sol afin de minimiser les conséquences de la sécheresse sur mes cultures.

**Q.** Comment jugez-vous l'efficacité de ces solutions ?

**R.**Non je n'ai pas trouvé d'efficacité car je n'ai pas trouvé d'eau à l'endroit où j'ai creusé

#### **C. Gestion de la température**

**Q.** Comment la variation de la température a-t-elle affecté vos cultures récemment ?

**R.** Oui elle a eu un très gros impact sur les légumineuses car cela nécessite beaucoup d'eau ce qui a affecté la production

**Q.**Comment avez-vous procédé à la réduction des conséquences des températures extrêmes sur la nodulation des légumineuses ?

**R.** En raison de manque d'équipement nous n'avons pas utilisé de stratégie particulière nous avons seulement intensifié les opérations d'irrigation

**Q.** Avez-vous observé des variations dans la nodulation en fonction des changements de température ?

**R.**Oui, nous avons observé une diminution du nombre de nodules ainsi qu'une réduction de la partie racinaire.

#### **D. Types d'Irrigation**

**Q.** Quel(s) types d'irrigation avez-vous principalement employé(s) au cours des cinq dernières années ? Précipitation naturelle, goutte à goutte, irrigation artificielle, ou autres

**R.** On a utilisé la méthode goutte à goutte

**Q.** Pour quelle raison avez-vous opté pour ces techniques particulières d'irrigation ?

**R.** Car la méthode la plus économique pour préserver l'eau et l'empêcher de s'évaporer particulièrement pour l'arrosage.

#### **E. Périodes de Cultures**

**Q.** Quelles sont les périodes de l'année pendant lesquelles vous cultivez et récoltez habituellement vos légumineuses ?

**R.** La récolte du pois chiches se déroule en juin, tandis que la plantation se déroule en novembre

**Q.** Avez-vous ajusté ces périodes en raison de conditions météorologiques spécifiques ?

**R.** Oui car il a besoin beaucoup d'eau il est cultivé en automne et en hiver en raison de l'abondance des pluies

#### **F. Variétés de Semis**

**Q.** Est-ce que vous avez découvert des variétés particulièrement adaptées aux conditions de sécheresse ou de haute température ?

**R.** Selon ce que je sais, il n'existe aucune variété spécifique connue pour sa résistance à la chaleur. En tout cas, je n'en connais pas.

#### **G. Résistance des Graines**

**Q.** Connaissez-vous des variétés de légumineuses ou des techniques de culture réputées pour leur résistance à la sécheresse ou aux températures élevées ?

**R.** Non je ne connais pas

**Q.** Avez-vous déjà utilisé de telles variétés ou techniques dans votre exploitation ?

**R.**Nous n'avons pas expérimenté l'utilisation de telles variétés ou techniques dans notre exploitation.

## 4. Cultures de Lentilles

### A. Informations générales :

a. Nom de l'agriculteur : **M.**

b. Endroit de la ferme : Ain Hassainia, Houari Boumédiène

### B. Gestion de la Sécheresse

**Q.** Quelles sont les principales solutions que vous avez utilisées pour faire face à la sécheresse au cours des dernières années ?

**R.** J'ai principalement utilisé l'irrigation goutte à goutte pour économiser l'eau.

**Q.** Avez-vous mis en œuvre des pratiques spécifiques pour prévenir ou atténuer les effets de la sécheresse sur vos cultures ?

**R.** En plus de l'irrigation goutte à goutte, j'ai choisi d'appliquer du paillis pour limiter l'évaporation de l'eau. Le paillis, couche protectrice de matériau posée sur le sol, a été utilisé dans le but de modérer les effets du climat local.

**Q.** Comment évaluez-vous l'efficacité de ces solutions ?

**R.** L'efficacité est moyenne, car bien que l'évaporation soit réduite, les périodes de sécheresse prolongée ont encore un impact négatif.

### C. Gestion de la Température

**Q.** Comment la variation de la température a-t-elle affecté vos cultures récemment ?

**R.** Les variations de température ont entraîné des réductions significatives de rendement.

**Q.** Quelles stratégies avez-vous adoptées pour atténuer les effets des températures extrêmes sur la nodulation des légumineuses ?

**R.** Les mêmes méthodes mentionnées précédemment.

**Q.** Avez-vous observé des variations dans la nodulation en fonction des changements de température ?

**R.** En ce qui concerne la nodulation, je n'ai pas remarqué de changement, mais concernant la plante, j'ai observé un changement de couleur.

### D. Types d'Irrigation

**Q.** Au cours des cinq dernières années, quel(s) type(s) d'irrigation avez-vous principalement utilisé(s) ? Précipitation naturelle, goutte à goutte, irrigation artificielle, ou autres

**R.** J'ai utilisé principalement l'irrigation goutte à goutte.

**Q.** Pourquoi avez-vous choisi ces méthodes spécifiques d'irrigation ?

**R.** C'est la méthode la plus efficace pour économiser l'eau dans notre région aride.

### **E. Périodes de Cultures**

**Q.** Quelles sont les périodes de l'année où vous plantez et récoltez généralement vos cultures de légumineuses ?

**R.** Les lentilles sont plantées novembre et récoltés en juin

**Q.** Avez-vous ajusté ces périodes en raison de conditions météorologiques particulières ?

**R.** Oui, j'ai avancé la plantation pour éviter les périodes de chaleur extrême.

### **F. Variétés de Semis**

**Q.** Y a-t-il des variétés que vous avez trouvées particulièrement adaptées aux conditions de sécheresse ou de température élevée ?

**R.** Non, je n'ai pas trouvé de variétés particulièrement adaptées.

### **G. Résistance des Graines**

**Q.** Connaissez-vous des variétés de légumineuses ou des techniques de culture réputées pour leur résistance à la sécheresse ou aux températures élevées ?

**R.** Non, je ne connais pas de variétés spécifiques pour les lentilles.

**Q.** Avez-vous expérimenté l'utilisation de telles variétés ou techniques dans votre exploitation ?

**R.** Non.

## **5. Culture de Fèves**

### **A. Informations générales :**

- a. Nom de l'agriculteur : **F.**
- b. Endroit de la ferme : Ain el Arbi

### **B. Gestion de la Sécheresse**

**Q.** Quelles sont les principales solutions que vous avez utilisées pour faire face à la sécheresse au cours des dernières années ?

**R.** L'irrigation artificielle combinée à la collecte des eaux de pluie.

**Q.** Avez-vous mis en œuvre des pratiques spécifiques pour prévenir ou atténuer les effets de la sécheresse sur vos cultures ?

**R.** Oui, j'ai utilisé l'irrigation artificielle et la couverture végétale pour réduire l'évaporation.

**Q.** Comment évaluez-vous l'efficacité de ces solutions ?

**R.** L'efficacité est modérée, car même avec ces pratiques, la sécheresse reste un problème majeur.

### **C. Gestion de la Température**

**Q.** Comment la variation de la température a-t-elle affecté vos cultures récemment ?

**R.** Les températures extrêmes ont entraîné d'importantes pertes de rendement ainsi qu'une diminution de la qualité et de la quantité de la récolte.

**Q.** Quelles stratégies avez-vous adoptées pour atténuer les effets des températures extrêmes sur la nodulation des légumineuses ?

**R.** J'ai intensifié l'irrigation et utilisé des écrans d'ombrage pour protéger les plantes.

**Q.** Avez-vous observé des variations dans la nodulation en fonction des changements de température ?

**R.** Oui, la nodulation diminue significativement à des températures élevées et au manque d'eau.

### **D. Types d'Irrigation**

**Q.** Au cours des cinq dernières années, quel(s) type(s) d'irrigation avez-vous principalement utilisé(s) ? Précipitation naturelle, goutte à goutte, irrigation artificielle, ou autres

**R.** J'ai utilisé principalement l'irrigation goutte à goutte et artificielle.

**Q.** Pourquoi avez-vous choisi ces méthodes spécifiques d'irrigation ?

**R.** Elles sont les plus adaptées pour économiser l'eau et gérer la sécheresse.

### **E. Périodes de Cultures**

**Q.** Quelles sont les périodes de l'année où vous plantez et récoltez généralement vos cultures de légumineuses ?

**R.** Les fèves sont plantées en novembre, décembre et récoltées en fin mars, avril.

**Q.** Avez-vous ajusté ces périodes en raison de conditions météorologiques particulières ?

**R.** Non, les périodes de plantation et de récolte sont restées les mêmes malgré les conditions météorologiques.

### **F. Variétés de Semis**

**Q.** Y a-t-il des variétés que vous avez trouvées particulièrement adaptées aux conditions de sécheresse ou de température élevée ?

**R.** Non, il n'y a pas de variétés de fèves particulièrement adaptées aux conditions extrêmes.

### **G. Résistance des Graines**

**Q.** Connaissez-vous des variétés de légumineuses ou des techniques de culture réputées pour leur résistance à la sécheresse ou aux températures élevées ?

**R.** Non, il n'y a pas de variétés spécifiques connues pour leur résistance aux conditions extrêmes.

**Q.** Avez-vous essayé d'utiliser de telles variétés ou techniques dans votre exploitation ?

**R.** Non.