



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche
Scientifique
Université des Frères Mentouri Constantine I



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Ecologie Végétale

N° d'ordre :
Série :

Thèse Présentée en Vue de l'Obtention du Diplôme de Doctorat
3ème cycle
Filière : sciences biologiques
Option : Biotechnologie végétale et environnement- Biologie et génomique végétale

Mécanismes de tolérance de la symbiose fève-rhizobium au déficit hydrique

Sélection des associations performantes et impact sur les cultures céréalières en rotation.

Par : Ihsein Rokia AMINE-KHODJA - KHOUADJIA

Soutenu le : 28/09/2022

Devant le jury

Pr. Nadia YKHLEF	Président	Université des Frères Mentouri Constantine I
Pr. Abdelhamid DJEKOUN	Directeur de thèse	Université des Frères Mentouri Constantine I
Dr. Alexandre BOSCARI	Co-directeur de thèse	Chargé de recherche INRA, Sophia- Antipolis, Nice, France
Pr. Ratiba BOUSBAA	Examineur	Université des Frères Mentouri Constantine I
Dr. Abdelkader BENBELKACEM	Examineur	Directeur de recherche INRA Constantine
Pr. Amar BENMAHAMED	Examineur	Professeur Université Ferhat Abbas Sétif

Dédicaces

*À mes chers parents, **Karim et Fairouz**, ma source de valeurs, pour leurs sacrifices, leurs soutiens et leurs encouragements, puisse le tout puissant vous donner santé, bonheur et longue vie.*

*À Mon mari **Lyes KHOUDJA**, ma source d'inspiration et le pilier sur lequel je me repose dans les moments difficiles, pour son aide, ses conseils, sa patience, ses encouragements et son soutien, qu'il retrouve dans ce travail toute ma gratitude*

*À mes deux filles, **Dalia et Darine**, les prunelles de mes yeux, que dieux vous protège et vous accorde bonheur, santé et longue vie*

*À mon Frère **Mohsen** et ma sœur **Sara**, pour toute la complicité et les souvenirs qui nous unissent, ce travail est un témoignage de mon amour*

À ma belle-mère pour sa bonne écoute, son soutien et ses précieux conseils,

À ma grand-mère mama Zoubeida, pour ses prières et son soutien

À toute ma belle-famille pour leurs encouragements et leur amour,

À tous les membres de ma famille, sans aucune exception, mes tantes, mes oncles, mes cousins et cousines ainsi qu'à toutes mes amies.

À la mémoire de Mes grands Parents

M. Abdelhamid AMINE-KHODJA et Mme. Aicha AMINE-KHODJA

M. Said ABDAOUI

Remerciement

En premier lieu, je remercie le bon dieu, clément et miséricordieux qui m'a permis de mener à bien ce travail.

Cette thèse a été réalisée sous la direction de M. le Professeur Abdelhamid DJEKOUN, professeur à l'Université des frères Mentouri- Constantine 1, Algérie et la co-direction de M. le docteur Alexandre BOSCARI, chargé de recherche au centre INRAE, Sophia Antipolis, Nice, France, au sein du projet PHC Maghreb.

Je tiens à remercier M. le professeur Abdelhamid DJEKOUN, mon directeur de thèse, pour son aide, son écoute, ses conseils ainsi que pour l'apport de ses connaissances qui ont énormément enrichi ma formation.

Je remercie également le Dr. Alexandre BOSCARI, pour tous les conseils, tout le temps et les efforts qu'il m'a consacré tout au long de cette thèse.

Je tiens à remercier les membres du jury :

Mme. Le professeur Nadia YKHLÉF, professeur à l'Université des frères Mentouri Constantine I, pour avoir accepté d'évaluer ce travail et d'en présider le jury de soutenance. Je la remercie également pour ses conseils, sa bienveillance et son soutien tout le long de notre cursus, de la License jusqu'au doctorat.

Merci à Mme. Le professeur Ratiba BOUSBAA, professeur à l'Université des frères Mentouri Constantine I, pour avoir accepté d'évaluer ce travail, et de m'avoir fait confiance pour diriger les travaux pratiques.

Mes vifs remerciements vont à M. le Dr. Abdelkader BENBELKACEM, Directeur de recherche de l'Institut national de la recherche agronomique d'Algérie (INRAA) pour sa disponibilité, ses conseils, sa générosité, le partage sans limite de ses connaissances et de son savoir-faire.

Je remercie également M. le Pr. Amar BENMOHAMMED, professeur à l'Université Ferhat Abbas-Sétif, qui a accepté de juger ce travail et nous a fait l'honneur de faire partie du jury en tant qu'examineur.

Merci à tout le personnel des laboratoires GBBV tant ingénieurs que chercheurs :

M. Nadir BELBEKRI et Mmes, Rym BOULDJEJ, Chafika ZAHRAOUI, Radhia DJEGHAR pour leurs aides précieuses, disponibilités et encouragements sur tous les plans tout au long de ces années.

Merci aussi aux enseignants : M. Kamel KELLOU, Rym MAOUGAL, Maya KECHID, Adra MOUËLÉF, Sandra KACEM et Mahmoud TAMAGOULT pour leurs soutiens et encouragements.

Je remercie chaleureusement mes amies de promotion : Houda, Zeineb et Meriem pour leurs encouragements et tous les moments qu'on a pu partager durant tout notre cursus. Un grand merci pour la génération qui nous a précédés, rassuré, aidé et soutenu : Zoheira, Karima, Wassila, Mouna et Chourouk,

Je remercie également l'équipe Symbiosis de l'Institut de Sophia Agrobiotech à Nice et le Dr. Renaud BROUQUISSE, Marie PACOUD et Marc BOSSENO pour leurs disponibilités, leurs conseils et leurs aides au labo. Sans oublier mes chères amies tunisiennes, Sabrina BENMOUSSA et Fatma ARIDI qui m'ont été d'un grand soutien moral pendant cette période.

Mes remerciements les plus sincères à mon mari le Dr. Lyes KHOUADJIA, qui m'a orienté et a su guider mes choix et m'a fait profiter de ses connaissances en tant qu'enseignant-chercheur.

Merci enfin à mes chers parents pour leur amour, leur patience et leur précieux appui en toutes circonstances et à tous les niveaux, un grand merci à ma sœur, mon frère, ma belle-famille, ma famille et mes amis pour leurs encouragements et leur dévouement.

Résumé

Les ressources naturelles de la planète ont été surexploitées afin de répondre à la population humaine croissante, conduisant à une perte importante de biodiversité, un changement climatique et une perturbation du cycle de l'azote. Dès lors, le déficit hydrique est devenu l'une des contraintes les plus incontrôlées et les plus imprévisibles de la production agricole. Par ailleurs, les micro-organismes du sol sont connus pour leur capacité d'atténuer le stress abiotique et de favoriser le développement des plantes seraient des outils très précieux pour l'agriculture durable dans l'ère du changement climatique. A cette fin, le présent travail visait à évaluer en premier lieu les impacts de deux souches différentes de *Rhizobium leguminosarum* (3841 et OL13) sur l'induction de la tolérance terminale à la sécheresse chez deux génotypes de *Vicia faba*, Aquadulce (AQD) et Maltais (MLT) cultivés en Algérie. En second lieu, l'effet PGPR (rhizobactéries favorisant la croissance des plantes) de ces deux souches a été évalué pour deux variétés de *Triticum durum*, Waha (WH) et Oued zenati (OZ) sous déficit hydrique. À cette fin, nous avons mesuré des paramètres morphologiques, physiologiques, accumulation d'osmoprotectants, marqueurs de stress oxydatif et activités enzymatiques pour évaluer l'effet de l'inoculation de *R. leguminosarum* sur *V. faba* et *T. durum* dans des conditions de déficit hydrique terminale lors d'essais en serre. D'une part, la régulation à la hausse des mécanismes antioxydants et la production de solutés compatibles chez *V. faba* ont été activées différemment selon la souche de *Rhizobium*. La tolérance au déficit hydrique de la variété Maltais a été améliorée en utilisant la souche de *Rhizobium* locale OL13 par rapport à la souche commune 3841. La symbiose avec la souche OL13 conduit notamment à une bien meilleure production de proline et de sucre soluble dans les nodosités mais aussi dans les racines et les feuilles du génotype Maltais. D'autre part, les plantes de blé dur inoculées ont également enregistrées une meilleure teneur relative en eau, une augmentation de l'accumulation d'osmoprotectant et des réponses antioxydantes (peroxydase), et une diminution de l'accumulation de marqueurs de stress oxydatif similaires pour les deux souches de *Rhizobium*, par rapport aux plantes non inoculées. Cependant, sous déficit hydrique, la co-inoculation par les deux souches de *Rhizobium* a grandement amélioré ces paramètres en comparaison avec la simple inoculation pour l'un des génotypes étudiés (OZ), ce qui nous laisse supposer que cette variation de réactivité indique un effet génotype possible. Au total, même si des travaux supplémentaires sont encore nécessaires pour décrypter le mécanisme par lequel une souche de *Rhizobium* peut affecter l'accumulation d'osmoprotectants ou le statut redox cellulaire dans toutes les plantes, l'inoculation avec des souches de *Rhizobium* sélectionnées pourrait être une stratégie écologique prometteuse pour améliorer la gestion du déficit hydrique à l'ère de changement climatique pour les légumineuses ainsi que pour les céréales.

Mots clés : *Vicia faba* L. ; *Triticum durum*, *Rhizobium leguminosarum* ; déficit hydrique ; symbiose ; activités enzymatiques antioxydantes ; osmoprotectants.

Abstract

The planet's natural resources have been overexploited in order to handle the growing human population, leading to significant loss of biodiversity, climate change and disruption of the nitrogen cycle. Since then, the water deficit has become one of the most uncontrolled and unpredictable constraints for agricultural production. Furthermore, soil microorganisms are known for their ability to mitigate abiotic stress and promote plant development which would be very valuable tools for sustainable agriculture in the era of climate change. To this end, the present work aimed to first evaluate the impacts of two different strains of *Rhizobium leguminosarum* (3841 and OL13) on the induction of terminal drought tolerance in two genotypes of *Vicia faba*, Aquadulce (AQD) and Maltait (MLT) grown in Algeria. Secondly, the PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacterial) effect of these two strains was evaluated for two varieties of *Triticum durum*, Waha (WH) and Oued zenati (OZ) under water deficit. To this end, we measured morphological, physiological parameters, accumulation of osmoprotectants, oxidative stress markers and enzymatic activities to evaluate the effect of *R. leguminosarum* inoculation on *V. faba* and *T. durum* under terminal water deficit conditions in greenhouse trials. On the first hand, the upregulation of antioxidant mechanisms and the production of compatible solutes in *V. faba* were activated differently depending on the *Rhizobium* strain. The MLT variety's tolerance to water deficit was improved by using the local *Rhizobium* strain OL13 compared to the common strain 3841. The symbiosis with the OL13 strain leads in particular to a much better production of proline and soluble sugar in the nodules, but also in the roots and leaves of MLT genotype. On the other hand, inoculated durum wheat plants also recorded better relative water content, increased osmoprotectant accumulation and antioxidant (peroxidase) responses, and decreased oxidative stress marker accumulation for both *Rhizobium* strains, compared to the un-inoculated plants. However, under water deficit, the co-inoculation by the two strains of *Rhizobiums* improved these parameters in comparison with the simple inoculation for only one of the two studied genotypes (OZ), which leads us to suppose that this variation in reactivity indicates a possibility of genotype effect. Overall, even if further research is still needed to understand how a *Rhizobium* strain can affect the accumulation of osmoprotectants or the cellular redox status in all plants, inoculation with selected *Rhizobium* strains could be a promising ecological strategy for legumes and cereals in the face of climate change.

Keywords: *Vicia faba* L.; *Triticum durum*, *Rhizobium leguminosarum*; water deficit; symbiosis; antioxidant enzymatic activities; osmoprotectants.

ملخص

لقد تم استغلال الموارد الطبيعية للأرض بشكل مفرط من أجل إدراك النمو السكاني المتزايد، مما أدى إلى خسارة كبيرة في التنوع البيولوجي وتغير المناخ وتعطيل دورة النيتروجين. منذ ذلك الحين، أصبح نقص المياه أحد أكثر العوامل التي لا يمكن السيطرة عليها و التنبؤ بها على الإنتاج الزراعي. زيادة على ذلك، فإن الكائنات الحية الدقيقة في التربة معروفة بقدرتها على التخفيف من الإجهاد اللاأحيائي وتعزيز تنمية النباتات وستكون أدوات قيمة للغاية للزراعة المستدامة في عصر تغير المناخ. تحقيقاً لهذه الغاية، يهدف العمل الحالي أولاً إلى تقييم تأثيرات سلالتين مختلفتين (OL13, 3841) من *Rhizobium leguminosarum* على تحريض تحمل الجفاف النهائي في نمطين وراثيين من الفول *Vicia faba* أكوادولس والمالطي المزروعة في الجزائر. ثانيًا، تم تقييم تأثير PGPR لهاتين السلالتين لنوعين من القمح الصلب *Triticum durum* واحة (WH) وواد زناتي (OZ) تحت نقص المياه. تحقيقاً لهذه الغاية، قمنا بقياس المعاملات المورفولوجية والفسولوجية وتراكم المواد الحافظة للتناضح وعلامات الإجهاد التأكسدي والأنشطة الأنزيمية لتقييم تأثير تطعيم بالريزوبيوم من ناحية، تم تنشيط آليات مضادات الأكسدة وإنتاج السكر القابل للذوبان في *V. faba* بشكل مختلف اعتماداً على سلالة *Rhizobium*. تم تحسين تحمل صنف المالطي لنقص الماء باستخدام سلالة *Rhizobium* المحلية OL13 مقارنة بالسلالة الشائعة 3841. يؤدي التعايش مع سلالة OL13 على وجه الخصوص إلى إنتاج أفضل بكثير من البرولين والسكر القابل للذوبان في عقيدات وجذور وأوراق النمط الجيني المالطي. من ناحية أخرى، سجلت نباتات القمح الصلب الملقحة أيضاً محتوى مائياً نسبياً أفضل وزيادة في تراكم المواد الواقية للأكسدة والاستجابات المضادة للأكسدة (البيروكسيداز)، وانخفاض تراكم علامات الإجهاد التأكسدي، بشكل مشابه لسلالتين *Rhizobium*، مقارنة بالنباتات غير الملقحة. ومع ذلك، في ظل نقص الماء، أدى التلقيح المشترك بواسطة سلالاتي *Rhizobia* إلى تحسين هذه المعاملات بشكل كبير مقارنة بالتلقيح البسيط لأحد الأنماط الجينية المدروسة (OZ)، مما يقودنا إلى افتراض أن هذا الاختلاف في التفاعل يشير إلى تأثير محتمل للنمط الوراثي. الكل في الكل، حتى لو كانت هناك حاجة إلى مزيد من العمل لفك شفرة الآلية التي يمكن أن تؤثر بها سلالة من *Rhizobium* على تراكم المواد الواقية من الأكسدة أو حالة الأكسدة الخلوية في جميع النباتات، فإن التلقيح بسلالات مختارة من *Rhizobium* يمكن أن يكون استراتيجية بيئية واعدة لتحسين إدارة نقص المياه في عصر تغير المناخ بالنسبة للبقوليات وكذلك للحبوب.

الكلمات المفتاحية: *Vicia faba* L.؛ *Triticum durum*؛ *Rhizobium leguminosarum*؛ الإجهاد المائي؛ تكافل؛ الأنشطة الأنزيمية المضادة للأكسدة. و اقيات الأسمو.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	I
LISTE DES FIGURES.....	VI
LISTE DES TABLEAUX	VIII
LISTE DES ABREVIATIONS	IX
<i>Introduction générale</i>	1

Chapitre I : Revue bibliographique

I.1. L'azote, un élément essentiel majeur des plantes	4
I.2. Le cycle de l'azote	4
I.3. Rhizobia	6
I.3.1. La symbiose rhizobienne fixatrice d'azote.....	7
I.3.2. Rhizobium et non-légumineuses	8
I.4. Les Rotations de cultures	9
I.4.1. Les légumineuses dans les Rotations de cultures.....	10
I.4.1.1. Effet des rotations des cultures sur l'azote du sol	11
I.4.1.2. Effet des rotations des cultures sur la fertilité et le carbone organique des sols	12
I.4.1.3. Effet des rotations des cultures sur les microorganismes du sol	13
I.4.1.4. Effets des rotations de cultures sur l'érosion du sol.....	14
I.4.1.5. Effet des rotations des cultures sur la rétention d'eau du sol	15
I.4.1.6. Effets des rotations de cultures sur l'élimination des ravageurs	16
I.4.1.7. Effets des rotations des cultures sur l'environnement.....	16
I.4.1.8. Effets des rotations des cultures sur les cultures suivantes : cas des céréales.....	17
I.5. Cas d'études : Rotation fève – Blé dur	19
I.5.1. Fève (<i>Vicia faba</i> L.)	19
I.5.1.1. Origine, génétique et taxonomie de <i>Vicia faba</i> L	19
I.5.1.2. Physiologie de <i>Vicia faba</i>	20
I.5.1.3. Environnements appropriés.....	22
I.5.1.4. Importances de <i>Vicia faba</i>	22
I.5.1.5. Fève en Algérie	24
I.5.1.6. Symbiose rhizobienne fixatrice d'azote et <i>V. faba</i>	24
I.5.1.7. La fève dans les rotations de cultures	25
I.5.2. Blé dur (<i>Triticum durum</i>)	28
I.5.2.1. Origine, génétique et taxonomie du <i>Triticum durum</i>	28
I.5.2.2. Importance du blé dur	29
I.5.2.3. Blé dur en Algérie	30
I.6. Déficit hydrique	30
I.6.1. Effets du déficit hydrique sur la croissance et le développement des plantes.....	32
I.6.2. Effet du déficit hydrique sur la conductance stomatique et la photosynthèse	34
I.6.3. Effet du stress hydrique sur le statut hydrique	35
I.6.4. Effet du stress hydrique sur l'intégrité membranaire	36

I.6.5. Ajustement Osmotique	36
I.6.6. Espèces réactives à l'oxygène (ERO) et défense antioxydante chez les plantes soumises à un stress abiotique	38
I.6.7. Système antioxydants	39
I.6.8. Les Rhizobium et le déficit hydrique	43
I.6.9. La symbiose Rhizobium-légumineuse et le déficit hydrique	44

Chapitre II : Matériels et Méthodes

II.1. Matériels biologiques	46
II.1.1. Fève (<i>Vicia faba</i> L. major).....	46
II.1.2. Blé dur (<i>Triticum durum</i>)	46
II.1.3. Rhizobiums (<i>Rhizobium leguminosarum</i>)	46
II.2. Réponse physiologique et génétique de <i>Vicia faba</i> en symbiose avec <i>Rhizobium leguminosarum</i> (souche 3841) au déficit hydrique sous conditions contrôlées	46
II.2.1. Stérilisation des graines	46
II.2.2. Inoculation des graines	47
II.2.2.1. Préparation des inoculum	47
II.2.2.2. Inoculations des graines	47
II.2.3. Conduite des essais et application du déficit hydrique	47
II.2.4. Détermination de la hauteur et des biomasses fraîches et sèches des plantes	48
II.2.5. Détermination de la teneur absolue en eau des plantes	49
II.2.6. Analyse de l'expression relative de gènes par RT-PCR	49
II.2.6.1. Extraction et quantification de l'ARN	49
II.2.6.2. Electrophorèse des ARN sur gel d'agarose	50
II.2.6.3. Synthèse des ADN complémentaires (ADNc)	50
II.2.6.4. Polymerase Chain Reaction : PCR	50
II.2.6.5. Choix des amorces	51
II.2.6.6. PCR Quantitative en temps réel	51
II.2.6.7. Quantification relative	51
II.2.7. Analyses statistiques	52
II.2.8. Aperçu synthétisé de l'expérimentation	52
II.3. Réponses morphologique, physiologique et biochimique de la symbiose <i>Vicia faba</i> - <i>Rhizobium leguminosarum</i> au déficit hydrique	54
II.3.1. Stérilisation des graines	54
II.3.2. Inoculation des graines	54
II.3.2.1. Préparation des inoculum	54
II.3.2.2. Inoculations des graines de fève	54
II.3.3. Conduite des essais et application du déficit hydrique	54
II.3.4. Teneur en chlorophylle totale (SPAD Index)	55
II.3.5. Détermination de la hauteur et du nombre de nœuds	56
II.3.6. Conductance stomatique	56
II.3.7. Détermination de biomasses fraîche et sèches	56
II.3.8. Réponse de croissance (%)	56
II.3.9. Dosage des pigments photosynthétiques	56

II.3.10. Dosage des <i>osmoprotectants</i>	57
II.3.10.1. Teneur en proline	57
II.3.10.2. Contenu en sucres solubles	57
II.3.11. Evaluation des indicateurs du stress oxydatifs	57
II.3.11.1. Dosage du contenu en Malondialdéhyde	57
II.3.11.2. Dosage du peroxyde d'hydrogène	58
II.3.12. Evaluation de la défense antioxydante sous déficit hydrique	58
II.3.12.1. Préparation des extraits enzymatiques pour le dosage des activités d'enzymes antioxydantes	58
II.3.12.2. Dosage des protéines totales	58
II.3.12.3. Dosage des activités enzymatiques par spectrophotométrie	59
a. Détermination de l'activité Superoxyde dismutase (EC 1.15.11)	59
b. Détermination de l'activité Catalase (EC 1.11.1.6)	60
c. Détermination de l'activité Ascorbate peroxydase (EC 1.11.1.11)	60
d. Détermination de l'activité Gaïacol peroxydase (EC 1.11.1.7)	60
II.3.13. Analyses statistiques	60
II.3.14. Aperçu synthétisé de l'expérimentation	60
II.4. Réponse morphologique, physiologique et biochimique de la symbiose <i>Triticum durum</i> - <i>Rhizobium leguminosarum</i> au déficit hydrique	62
II.4.1. Stérilisation des graines de blé dur	62
II.4.2. Inoculation des graines	62
II.4.2.1. Préparation des inoculums	62
II.4.2.2. Inoculations des graines de blé dur	62
II.4.3. Conduite des essais et application du déficit hydrique	62
II.4.4. Détermination de la hauteur des plantes	64
II.4.5. Conductance stomatique	64
II.4.6. Teneur relative en eau	64
II.4.7. Dosage des pigments photosynthétiques	64
II.4.8. Dosage des osmoprotectants	65
II.4.8.1. Teneur en proline	65
II.4.8.2. Contenu en sucre soluble	65
II.4.9. Evaluation des indicateurs du stress oxydatifs	65
II.4.9.1. Dosage du contenu en Malondialdéhyde	65
II.4.9.2. Dosage du peroxyde d'hydrogène	66
II.4.10. Evaluation de la défense antioxydante sous déficit hydrique	66
II.4.10.1. Préparation des extraits enzymatiques pour le dosage des activités d'enzymes antioxydantes	66
II.4.10.2. Dosage des protéines totales	66
II.4.10.3. Dosage des activités enzymatiques par spectrophotométrie	67
a. Détermination de l'activité Catalase (EC 1.11.1.6)	67
b. Détermination de l'activité Gaïacol peroxydase (EC 1.11.1.7)	67
II.4.11. Analyses statistiques	68
II.4.12. Aperçu synthétisé de l'expérimentation	68

Chapitre III : Réponse physiologique et génétique de *Vicia faba* en symbiose avec *Rhizobium leguminosarum* au déficit hydrique sous conditions contrôlées

III.1. Introduction	70
III.2. Résultats	71
III.2.1. Effets du déficit hydrique sur la biomasse sèche, la hauteur et le contenu relatif en eau	71
III.2.2. Effets du stress hydrique sur l'expression de gènes liés au déficit hydrique	72
III.3. Discussion	74
III.4. Conclusion	75

Chapitre IV : Réponses morphologique, physiologique et biochimique de la symbiose *Vicia faba* - *Rhizobium leguminosarum* au déficit hydrique

IV.1. Introduction	77
IV.2. Résultats	79
IV.2.1. Effet des <i>R. leguminosarum</i> sur la hauteur, le nombre de feuilles et le poids sec de <i>V. faba</i> sous déficit hydrique	79
IV.2.2. Effet des <i>R. leguminosarum</i> sur la conductance stomatique, la teneur totale en chlorophylle et les pigments photosynthétiques sous déficit hydrique	82
IV.2.3. Effet des <i>R. leguminosarum</i> sur l'accumulation des osmoprotectants sous déficit hydrique	84
IV.2.4. Effet des <i>R. leguminosarum</i> sur les indicateurs du stress oxydatif sous déficit hydrique	87
IV.2.5. Effet des <i>R. leguminosarum</i> sur les activités enzymatiques sous déficit hydrique	88
IV.3. Discussion	92
IV.4. Conclusion	99

Chapitre V : Réponse morphologique, physiologique et biochimique de la symbiose *Triticum durum* - *Rhizobium leguminosarum* au déficit hydrique

V.1. Introduction	100
V.2. Résultats	102
V.2.1. Effet des <i>R. leguminosarum</i> sur la hauteur, la teneur relative en eau et la conductance stomatique du blé dur sous déficit hydrique	
V.2.2. Effet des <i>R. leguminosarum</i> sur l'accumulation de la proline et des sucres solubles chez le blé dur sous déficit hydrique	104
V.2.3. Effet des <i>R. leguminosarum</i> sur la peroxydation lipidique et la teneur en peroxyde d'hydrogène chez blé dur sous déficit hydrique	106
V.2.4. Effet des <i>R. leguminosarum</i> sur les activités enzymatique chez blé dur sous déficit hydrique	107
V.3. Discussion	109
V.4. Conclusion	112

Conclusions et perspectives	114
Références bibliographiques	116
Annexes	142

LISTE DES FIGURES

Figure I.1:Le cycle de l'azote	5
Figure I.2:Les différentes étapes de la symbiose rhizobienne.....	8
Figure I.3:Racines de fève bien nodulées.....	20
Figure I.4:Fleur de fève pollinisée par une abeille	21
Figure I.5:Les graines de <i>V. Faba</i>	22
Figure I.6:Réponses physiologiques, biochimiques et moléculaires au stress hydrique chez les plantes supérieures	31
Figure II.1:Plantes de <i>Vicia Faba</i> cultivées en chambre climatique.....	48
Figure II.2:Schéma récapitulatif de l'expérimentation en chambre de culture de la fève.....	53
Figure II.3:Plantes de <i>Vicia Faba</i> cultivées sous serre	55
Figure II.4:Schéma récapitulatif de l'expérimentation sous serre de la fève	61
Figure II.5:Plantes de <i>Triticum durum</i> cultivées sous serre	63
Figure II.6:Schéma récapitulatif de l'expérimentation sous serre du blé dur	69
Figure III.1:Variation de la biomasse sèche et de la hauteur des plantes sous déficit hydrique	71
Figure III.2:Variation du contenu absolu en eau des plantes sous déficit hydrique.....	72
Figure III.3:Expression relative de gènes liés au stress dans les feuilles de <i>Vicia faba</i>	73
Figure IV.1:Hauteur des plantes de fève.....	79
Figure IV.2:Nombre de nœuds par plante de fève	80
Figure IV.3:Réponses du rendement en matière sèche au déficit hydrique	81
Figure IV.4:Réponse de croissance % influencé par <i>R. leguminosarum</i> et par le déficit hydrique.....	82
Figure IV.5:Conductance stomatique influencé par <i>R. leguminosarum</i> et par le déficit hydrique.....	83
Figure IV.6:Effet de <i>R. leguminosarum</i> et du déficit hydrique sur la teneur en chlorophylle totale (SPAD)	83
Figure IV.7:Contenu des pigments photosynthétiques	84
Figure IV.8:Contenu en Proline des feuilles, racines et nodosités.....	85
Figure IV.9:Contenu en sucres solubles dans les feuilles et les racines de <i>Vicia faba</i>	86
Figure IV.10:Activité de la Superoxyde dismutase au niveau des feuilles, racines et nodosités	89

Figure IV.11:Activité de la Catalase au niveau des feuilles, racines et nodosités	89
Figure IV.12:Activité de l'Ascorbate peroxydase au niveau des feuilles, racines et nodosités	90
Figure IV.13:Activité de la gaïacol peroxydase au niveau des feuilles, racines et nodosités ..	91
Figure IV.14:Sommaires des réponses de <i>Vicia faba</i> inoculé par deux souches de <i>R. leguminosarum</i> au déficit hydrique.....	91
Figure V.1:Effet du stress hydrique et de l'inoculation par les rhizobiums sur la hauteur des plantes chez les deux génotypes de blé dur étudiés.....	102
Figure V.2:Effet du stress hydrique et de l'inoculation par les rhizobiums sur la teneur en eau relative des feuilles étendard chez les deux génotypes de blé dur étudiés	103
Figure V.3:Conductance stomatique influencée par l'inoculation de <i>R. Leguminosarum</i> et le déficit hydrique chez les deux génotypes de blé dur étudiés	104
Figure V.4:Teneur en proline influencée par l'inoculation de <i>R. Leguminosarum</i> et le déficit hydrique chez les deux génotypes de blé dur étudiés.....	105
Figure V.5:Teneur en sucre soluble influencée par l'inoculation de <i>R. Leguminosarum</i> et le déficit hydrique chez les deux génotypes de blé dur étudiés	106
Figure V.6:Activité catalase (CAT) influencée par l'inoculation de <i>R. Leguminosarum</i> et le déficit hydrique chez les deux génotypes de blé dur étudiés	108
Figure V.7:Activité guaiacol peroxydase (GPX) influencée par l'inoculation de <i>R. Leguminosarum</i> et le déficit hydrique chez les deux génotypes de blé dur étudié	108

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1: Systèmes enzymatiques et non enzymatique présents chez les plantes, leurs fonctions et leurs localisations	40
Tableau II.1: Amorces utilisées pour la quantification de transcrits par RT-qPCR	Tableau ..52
Tableau IV.1: Teneurs en malondialdéhyde dans les feuilles et les racines de <i>V. faba</i>	87
Tableau IV.2: Teneur en peroxyde d'hydrogène dans les feuilles et les racines de <i>V. faba</i>	88
Tableau. V.1: Teneurs en malondialdéhyde (MDA) et en peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂) dans les feuilles étendards du blé dur	107

LISTE DES ABREVIATIONS

°C	degré celsius
µg	microgramme
µL	microlitre
µM	micromole par litre
ABA	acide abscissique
ADN	acide désoxyribonucléique
ADNc	acide désoxyribonucléique complémentaire
AO	ajustement osmotique
APX	ascorbate peroxydase
AQD	Aquadulce
ARN	acide ribonucléique
ARNm	acide ribonucléique messenger
AsA	acide ascorbique
BNF	fixation biologique de l'azote
BSA	albumine de sérum bovin
CAT	catalase
cm	centimètre
CO ₂	Dioxyde de carbone
DHAR	déhydroascorbate réductase
EDTA	acide éthylène diamine
DEPC	diéthylpyrocarbonate
EROs	Espèces réactives de l'oxygène
GPX	gaïacol peroxydase
GR	glutathion réductase
GSH	glutathion réduit
GSHT	glutathion total
GSSG	glutathion oxydé
H ₂	hydrogène gazeux
H ₂ O ₂	peroxyde d'hydrogène
L	litre
LEA	late embryogenesis abundant;
M	mole par litre
MDA	malondialdehyde
MDAR	monodéhydroascorbate réductase
MF	matière fraîche
mg	milligramme
min	minute
mL	millitre
MLT	Maltais
mM	millimole par litre
MS	matière sèche
N	azote
N ₂	azote atmosphérique
NBT	nitroblue tetrazolium
NH ₄ ⁺	ammonium

nm	nanomètre
NO ₃ ⁻	nitrate
OZ	Oued Zenati
P	phosphore
<i>p/v</i>	poids par volume
pb	paires de bases
PCR	réaction de polymérisation en chaîne (polymerase chain reaction)
PGPR	rhizobactéries favorisant la croissance des plantes
PMSF	fluorure de phénylméthanesulfonyle
PSA	poids sec de la partie aérienne
PSR	poids sec racinaire
RBOH	Respiratory burst oxydase homologs
RT	Reverse Transcriptase
RT-PCR	Reverse Transcription-qPCR
RT-PCR	Reverse Transcription-qPCR
SOD	superoxyde dismutase
TCA	acide trichloroacétique
TCA	acide trichloroacétique
UE	unité enzymatique
V	volume
<i>v/v</i>	volume par volume
WH	Waha
ε	coefficient d'extinction molaire

Introduction générale

Introduction générale

L'azote (N) est un minéral important nécessaire à la vie et à la croissance des plantes. Bien que 80% de l'air atmosphérique soit constitué d'azote, les plantes ne peuvent pas assimiler directement cette forme gazeuse. Dans l'agriculture moderne, la limitation de l'azote est contournée par l'application d'engrais dérivés du procédé Haber-Bosch qui permet la fixation du N₂ inorganique. Les taux modernes d'application d'engrais azotés ont doublé le flux dans les cycles d'azote terrestre (Galloway *et al.* 2008). Une perturbation aussi importante n'est pas durable et a entraîné des conséquences environnementales, notamment la production de puissants gaz à effet de serre et l'eutrophisation des systèmes aquatiques (Rockstrom *et al.* 2009). Désormais, il est impératif de concevoir des systèmes de culture qui prennent en compte les préoccupations sociales, économiques, écologiques ou environnementales émergentes. La conservation du sol et de l'eau et le maintien de la productivité du sol à long terme dépendent en grande partie de la gestion des systèmes de culture, qui influencent l'ampleur de l'érosion et la dynamique de la matière organique du sol (Blanco-Canqui et Lal, 2010).

Ces facteurs ont potentialisé un regain d'intérêt pour les microorganismes ayant la capacité de fixer biologiquement l'azote en établissant des interactions symbiotiques avec les légumineuses. Ces microorganismes sont des diazotrophes appelés rhizobiums, qui induisent des nodosités sur les racines des légumineuses et y fixent le N₂ en ammoniac biologiquement accessible à l'aide de l'enzyme nitrogénase (Oldroyd *et al.* 2011), une enzyme qui n'est présente que chez les procaryotes (Dos Santos *et al.* 2012). Cependant, ces symbioses fixatrices d'azote, importantes sur le plan agricole, sont largement limitées aux légumineuses (Werner *et al.* 2014).

Récemment, plusieurs chercheurs ont démontré leur potentiel pour améliorer la croissance des non-légumineuses (céréales) via des mécanismes ou des stratégies indirectes et directes. En effet, lorsque les rhizobiums colonisent les racines d'une plante non légumineuse dans une relation non spécifique, les souches de ce genre peuvent se comporter comme des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) (Saharian et Nehra 2011). Les rhizobiums atténuent également les effets néfastes des stress et induisent une tolérance chez les plantes en adoptant différents mécanismes, notamment l'induction d'une tolérance systémique par certains changements chimiques ou physiques (Hussain *et al.* 2014b).

Afin de bénéficier des avantages procuré par ces microorganismes, l'une des pratiques culturales les plus utilisée figure la rotation des cultures, un système de culture qui remonte à la dynastie Han de Chine il y a plus de 3000 ans (MacRae et Mehuys, 1985). La rotation des

cultures est la culture de différents types de cultures sur le même terrain à différentes saisons (Liebman et Dyck, 1993). En effet, la rotation des cultures impliquant des légumineuses améliore les propriétés du sol et réduit les besoins en engrais minéraux des cultures céréalières (Bagayako *et al.* 2000). La rotation des cultures influence l'efficacité de l'utilisation de l'azote et affecte également la disponibilité de l'azote pour la plante (Rafael *et al.* 2001).

D'un côté, parmi les légumineuses, la fève (*Vicia faba* L.) est l'une des cultures les plus importantes au monde (Karkanis *et al.* 2018), en raison de sa teneur élevée en protéines (allant de 20 à 41 %) (Chavan *et al.* 1989). Récemment, l'intérêt mondial s'est accru pour cette culture, mais elle est connue pour être relativement sensible à la sécheresse par rapport aux autres légumineuses à grains (Khazaei *et al.* 2013). La sécheresse terminale présente l'une des contraintes les plus importantes à la production de fève en région méditerranéenne, où les précipitations sont insuffisantes et réparties de manière erratique au cours de l'année (Ricciardi *et al.* 2001 ; Fouad *et al.* 2013). Cependant, les variétés de fève diffèrent largement en termes de tolérance à la sécheresse (Girma et Haile, 2014). De l'autre côté, le blé dur (*Triticum turgidum* L. var *durum* Desf.) est la 10^{ème} céréale la plus importante et la plus couramment cultivée dans le monde avec une production annuelle moyenne de 40 millions de tonnes (MT) (2016/17) (Beres *et al.* 2020). En général, dans la plupart des systèmes agricoles et en particulier chez les céréales, l'azote est le nutriment mobile limitant commun qui affecte la croissance et le rendement des cultures (Mia et Shamsuddin 2010). En effet, la production agricole a été soumise à une multitude de stress abiotiques à la suite du réchauffement climatique à travers le monde (Hussain *et al.* 2018). Les sécheresses représentent un sérieux défi pour la productivité agricole dans les régions arides et semi-arides du monde (Ullah *et al.* 2017). Cependant, les interactions bénéfiques des plantes avec les microbes peuvent améliorer la condition physique des plantes cultivées sous divers stress environnementaux (Khan *et al.* 2017), y compris le stress lié au déficit hydrique (Nadeem *et al.* 2014). De plus, l'inoculation avec des bactéries bénéfiques pour les plantes est restée avantageuse par rapport aux traitements chimiques ou physiques, que ce soit en termes de rendement économique ou de durabilité environnementale (Hussain *et al.* 2018).

Le but principal de cette thèse a été d'analyser une partie de la variabilité disponible au sein de variétés de fève pour identifier des symbioses *Vicia faba-Rhizobium* plus adaptées au déficit hydrique ainsi que l'effet PGPR des rhizobia sélectionné sur le blé dur.

Cette identification était basée sur l'étude des aspects morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires impliqués dans la réponse de cette symbiose au déficit hydrique.

L'accent a été, plus particulièrement mis sur certains aspects du système redox associés à la tolérance de ces symbioses à cette contrainte hydrique.

Ainsi, les travaux ont été mis en place selon l'approche suivante :

- ❖ Evaluation de la tolérance de deux génotypes de fève au déficit hydrique sous conditions contrôlées.
- ❖ Evaluation de la tolérance de différentes combinaisons symbiotiques génotypes de fève-souche de rhizobia au déficit hydrique sous serre.
- ❖ Caractérisation morphologique, physiologique et biochimique des réponses des symbioses fève-rhizobia au déficit hydrique.
- ❖ Evaluation de la tolérance de différentes combinaisons symbiotiques génotypes de blé dur -souche de rhizobia au déficit hydrique sous serre.
- ❖ Caractérisation morphologique, physiologique et biochimique des réponses des symbioses blé dur -rhizobia au déficit hydrique.

Chapitre I :
Revue bibliographique

Chapitre I : Revue bibliographique

I.1. L'azote, un élément essentiel majeur des plantes

L'azote (N) est un élément essentiel majeur pour les plantes, présent dans la plupart des macromolécules et de nombreux composés secondaires et de signalisation, notamment les protéines, les acides nucléiques, les composants de la paroi cellulaire, les hormones, les vitamines et d'autres composés organiques indispensables (Krapp, 2015 ; Ohyama, 2017).

Les principales formes d'azote inorganique présentes dans le sol sont l'ammonium (NH_4^+) et le nitrate (NO_3^-), et qui sont absorbées par les racines des plantes, cependant les animaux dépendent de la matière organique produite par les plantes et les humains consomment des aliments provenant de produits végétaux ou animaux (Ohyama, 2017).

I.2. Le cycle de l'azote

Le cycle de l'azote du sol est entraîné par la matière organique du sol, qui contient environ 50% de carbone (C) et 5% de N, dont généralement <5% est sous forme labile (Jackson *et al.* 2008). Une grande quantité de N dans le sol existe sous des formes organiques, qui, en fonction des rapports C/N et de la composition chimique de la matière organique du sol, peuvent être minéralisées par les microorganismes du sol, les transformant en formes disponibles pour les plantes, NH_4^+ et NO_3^- (minéralisation), ou utilisées par les microorganismes du sol des formes N minérales et reprennent ainsi la forme organique inaccessible par les plantes (immobilisation) (Figure.I.1) (Singh, 2011 ; Ohyama, 2017).

Au cours des processus de nitrification et de dénitrification à médiation microbienne, une partie du NO_3^- est réduite en protoxyde d'azote N_2O , un puissant gaz à effet de serre. Le cycle N (Figure.I.1) est complété par le processus de dénitrification, dans lequel de nombreux micro-organismes du sol utilisent le NO_3^- comme accepteur d'électrons et libèrent les molécules de N_2 dans l'atmosphère, en particulier dans des conditions hautement anaérobies (Singh, 2011 ; Ohyama, 2017).

Alors que 78,08% de l'atmosphère terrestre est constituée de N, celui-ci n'est pas facilement disponible pour la majorité des organismes vivants, car étant sous forme inerte, les molécules de N_2 n'entrent pas facilement dans des réactions chimiques (Singh, 2011), ce qui fait que la disponibilité de N est souvent un facteur limitant pour la production agricole et la croissance naturelle des plantes (Ohyama, 2017).

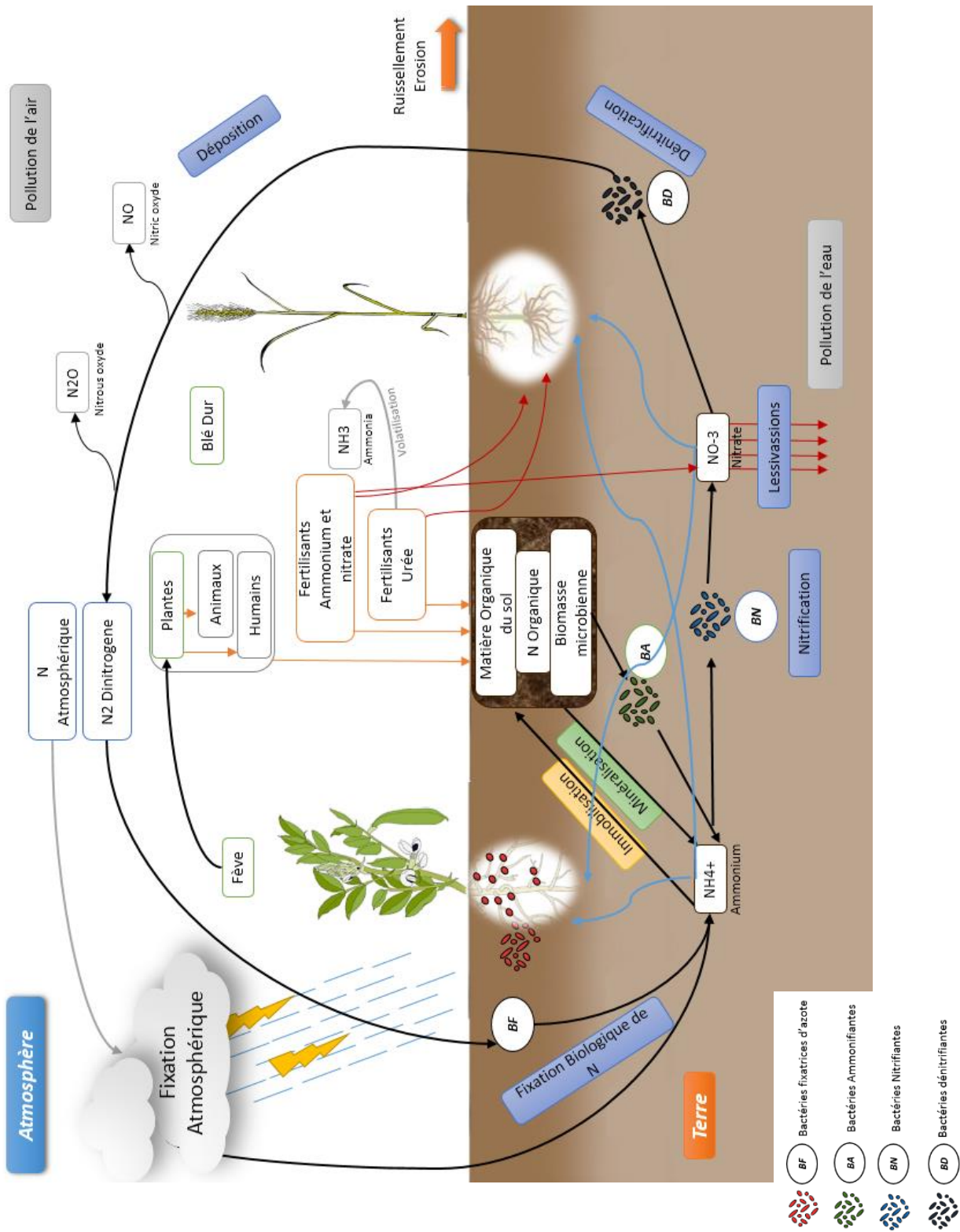


Figure 1.1. Le cycle de l' azote

Modifié depuis (Ohyama 2017 ; Singh, 2011 ; Jakson *et al.* 2008)

L'exception à cela est la fixation biologique de l'azote (BNF), qui jusqu'à l'ère préindustrielle était le seul processus où les molécules de N_2 étaient converties en formes réactives N, telles que l'ammonium (NH_4^+) et le nitrate (NO_3^-) (Singh, 2011). En effet, seule une grande variété de «procaryotes», qui possèdent des enzymes du «complexe de la nitrogénase», peuvent fixer le N_2 atmosphérique en ammoniac, et utiliser cet NH_4^+ pour la synthèse de composés organiques (Herridge *et al.* 2008). La fixation biologique de l'azote (N_2) est un processus entrepris par des bactéries, vivant dans le sol ou en symbiose dans les nodosités des racines des plantes (Singh, 2011). Cependant, à l'ère post-industrielle, la production d'engrais azotés par la conversion Haber-Bosch a été multipliée par 20 depuis 1950 (Glass, 2003) et la quantité de N_2 fixée artificiellement pour produire des engrais (environ $9,5 \times 10^{12}$ mol/an) dépasse désormais la fixation biologique totale de l'azote dans les systèmes terrestres ($7,5 \times 10^{12}$ mol/an) (Canfield *et al.* 2010). Cet excès de N réactif provenant de l'utilisation d'engrais constitue une menace pour la qualité du sol, de l'eau et de l'air en raison du lessivage des nitrates et de l'émission de N_2O , également impliqué dans la destruction de la couche d'ozone (Montzka *et al.* 2011). De plus, les dépôts anthropiques d'azote peuvent avoir un impact néfaste sur les écosystèmes terrestres en raison de l'acidification des sols et d'une réduction consécutive de la biodiversité végétale (Galloway *et al.* 2003). Il y a donc un besoin critique d'augmenter l'efficacité de l'acquisition d'azote par les plantes et de réduire la dépendance aux engrais azotés dans les systèmes agricoles durables (Jones *et al.* 2013; Philippot et Hallin, 2011; Sutton *et al.* 2011).

I.3. Rhizobia

L'azote (N) est un minéral important nécessaire à la vie et à la croissance des plantes. Bien que 80% de l'air atmosphérique soit constitué d'azote, les plantes ne peuvent pas assimiler directement cette forme gazeuse. Les plantes assimilent l'azote disponible dans le sol par leurs racines sous forme d'ammonium (NH_4^+) et de nitrates (NO_3^-). En effet, dès 1838, il a été documenté que les légumineuses pouvaient restaurer l'azote dans le sol et être capables de le créer directement (Geddes & Oresnik 2016). Plus de 50 ans plus tard, il a été démontré que la participation active des microorganismes vivants était nécessaire à la création d'azote par les légumineuses (Smil, 2001). Ce n'est qu'en 1888 que la première bactérie nodulant une légumineuse a été isolée en par Beijerinck, initialement nommée *Bacillus radicola* puis renommée *Rhizobium leguminosarum* où le genre *Rhizobium* a été décrit pour la première fois par Frank en 1889.

Ces bactéries Gram-négatives sont membres du sous-groupe alpha du phylum protéobactéries, et ces espèces appartiennent à un groupe de bactéries de la famille des

Rhizobiaceae, de nature symbiotique, fixant l'azote 50-100 kg/ha avec les légumineuses uniquement (Mazid et Khan 2014). Ces rhizobiums sont capables d'établir des associations symbiotiques avec des plantes de la famille des légumineuses (*Fabaceae* ou *Leguminosae*) constituée de plus de 700 genres. De plus, chaque légumineuse nécessite une espèce spécifique de *Rhizobium* pour former des nodosités efficaces (Doyle et Luckow 2003; Ramesh 2008).

En effet, les rhizobiums sont capables de provoquer la formation de nouveaux organes appelés nodosités racinaires sur les racines des plantes hôtes (Geddes & Oresnik 2016). Dans un environnement microaérobie fourni par les nodosités racinaires, les rhizobiums entraînent la fixation intracellulaire de 40 à 50% de l'azote atmosphérique en ammoniac assimilé par la plante (Terpolilli *et al.* 2012; Udvardi et Poole, 2013). Deux ensembles de gènes largement distribués codent ces fonctions dans la plupart des rhizobiums: les gènes nod (nodulation) et les gènes nif (fixation d'azote) (Masson-Boivin *et al.* 2009).

1.3.1. La symbiose rhizobienne fixatrice d'azote

La nodulation par les rhizobiums est un processus en plusieurs étapes qui est initié par des événements de pré-infection dans la rhizosphère avant l'entrée des rhizobiums dans les poils absorbants. Les légumineuses libèrent plusieurs flavonoïdes, dont certains peuvent être spécifiques à un *Rhizobium* particulier. *Bradyrhizobium* et *Rhizobium* spp. sont attirés par les flavonoïdes (Denarie *et al.* 1992). Les gènes nod rhizobiens sont importants dans la détermination de la spécificité de l'hôte, de l'infection et de la nodulation et sont impliqués dans l'échange de signaux entre la plante et les bactéries (Denarie *et al.* 1992). Les rhizobiums réagissent par chimiotaxie positive aux exsudats des racines des plantes contenant des acides aminés, des acides dicarboxyliques, des rhizopines, des flavonoïdes, etc., et se dirigent vers les racines des légumineuses. Par la suite, les rhizobiums se fixent à la surface des racines de la plante, de préférence les jeunes poils absorbants en croissance par un processus de fixation en deux étapes.

Par la suite, la perception de ces signaux conduit à des modifications dans l'expression de certains gènes aboutissant à des changements spécifiques et adaptatifs au niveau de la physiologie bactérienne qui sont nécessaires pour la mise en place de cette association. A partir de là, la reconnaissance spécifique entre les protéines NodD (facteurs de transcription présents de manière constitutive chez les rhizobia) et les flavonoïdes activateurs constitue le premier niveau de spécificité dans la symbiose rhizobienne. Il faut souligner que les protéines NodD entraînent alors une induction de l'expression des gènes bactériens Nod codant pour les enzymes nécessaires à la production des lipochitoooligosaccharides (LCOs), appelés facteurs Nod ou NFs (Oldroyd and Downie, 2004). La transcription de ces gènes de nodulation conduit à la

synthèse de facteurs Nod spécifiques à l'hôte provoquant la ramification, la déformation et le bouclage des poils absorbants (Long, 1996).

Par la suite, les rhizobiums présents dans la rhizosphère pénètrent dans les poils absorbants de la plante via les fissures racinaires puis migrent et colonisent la structure nodulaire via les fils d'infection (Gage, 2004). Lorsqu'ils sont présents à l'intérieur du nodule, les rhizobiums se différencient en un état bactéroïde, une forme spécialisée de type organite symbiotique qui potentialise le processus de fixation de l'azote (Haag *et al.* 2013). En tant que bactéroïdes, les rhizobiums fixent le N_2 atmosphérique par l'action de l'enzyme nitrogénase, fournissant du NH_4 à la plante hôte en échange de carbone fixé par photosynthèse (Liu *et al.* 2018) (Figure.I.2). On estime que la fixation biologique de l'azote (BNF) légumineuses-rhizobia représente globalement environ 200 millions de tonnes d'azote fixe par an (Ferguson *et al.* 2010), jouant un rôle vital dans les cycles de l'azote du sol et la productivité agricole globale.

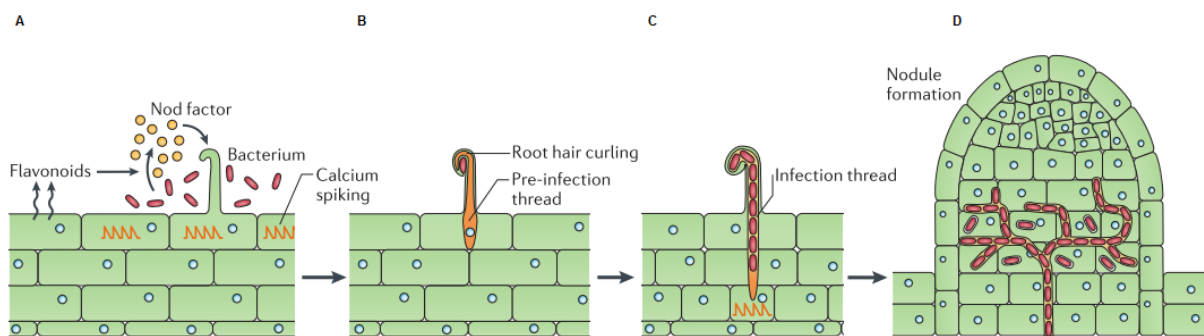


Figure.I. 2. Les différentes étapes de la symbiose rhizobienne. (A) Reconnaissance entre les deux partenaires. Des flavonoïdes sont libérés en réponse de la racine à la présence des rhizobia dans la rhizosphère, qui à leur tour produisent des facteurs de nodulation (facteurs Nod) reconnus par la plante. La perception des facteurs Nod active la voie de signalisation de la symbiose, conduisant à des oscillations de calcium, initialement dans les cellules épidermiques, mais plus tard aussi dans les cellules corticales précédant leur colonisation. (B) Les bactéries s'attachant à la surface racinaire réussissent à pénétrer dans la racine via les poils absorbants qui croissent en les entourant, les piégeant dans des structures appelées pré-cordons d'infection. (C) Les cordons d'infection sont des invaginations de la cellule végétale qui permettent l'infection des cellules végétales par les rhizobia. (D) Ramification du cordon d'infection et développement du méristème nodositaire. Dans certains cas, les rhizobia restent à l'intérieur des cordons d'infection, mais plus souvent, les bactéries sont libérées dans les cellules du primordium nodositaire. Les rhizobia se différencient en bactéroïdes, devenant capables de réduire l'azote atmosphérique. D'après (Oldroyd, 2013).

1.3.2. *Rhizobium et non-légumineuses*

En général, dans la plupart des systèmes agricoles et en particulier chez les céréales, l'azote est le nutriment mobile limitant commun qui affecte la croissance et le rendement des cultures (Mia et Shamsuddin 2010). De ce fait, il devient important de trouver des alternatives pour réduire et optimiser l'utilisation des engrais chimiques N appliqués aux cultures céréalières. En effet, de nombreux rapports décrivent l'utilisation d'espèces bactériennes

appartenant au genre *Rhizobium* en association avec les céréales en raison de leur capacité à fixer l'azote atmosphérique et à améliorer la croissance des non-légumineuses (Ullah *et al.* 2017, voir dans l'article).

Lorsque les rhizobiums colonisent les racines d'une plante non légumineuse dans une relation non spécifique, les souches de ce genre peuvent se comporter comme des PGPR (Saharan et Nehra 2011). Les Rhizobiums agissent également comme PGPR sous forme d'endophytes ou de rhizobactéries dans les plantes céréalières et non légumineuses. Cette interaction produit des phytohormones, des sidérophores et de l'acide cyanhydrique. Pour une meilleure association symbiotique, les non-légumineuses exsudent des acides aminés, des vitamines, des acides organiques, des enzymes, des nucléotides, des sucres et des métabolites végétaux (Rovira 1956), tandis que les rhizobiums exsudent des sources de nutriments et exercent une activité PGPR.

Les études *in vitro* sur les racines de céréales infectées par les rhizobiums ont révélé que les rhizobiums sont mis en contact plus étroit avec les racines des céréales pendant les rotations légumineuses-céréales et/ou les cultures intercalaires mixtes et peuvent entraîner une infection des racines non légumineuses par les populations rhizobiennes indigènes dans le sol (Singh *et al.* 2017). Divers chercheurs ont isolé l'endophyte naturel *Rhizobium* des racines d'espèces non légumineuses, notamment le riz (Yanni *et al.* 1997), le coton, le maïs doux (McInroy et Kloepper 1995) et le blé (Biederbeck *et al.* 2000) cultivés soit en rotation avec des légumineuses, soit dans un système de culture mixte impliquant des légumineuses symbiotiques.

1.4. Les Rotations de cultures

De nombreuses études ont démontré que les cultures produisent généralement de meilleurs rendements lorsqu'elles sont cultivées après des espèces non apparentées (Angus *et al.* 2015). Cet avantage en termes de rendement est maintenant connu sous le nom « d'effet de rotation » ou de « culture de rupture ».

Par définition, les rotations des cultures sont des systèmes dans lesquels différentes cultures sont cultivées séquentiellement sur le même champ en alternant les saisons ou les années (Blanco-Canqui et Lal, 2010). Plus précisément, la rotation fait référence à une séquence culturale qui contient des jachères, ou des cultures de fourrages en plus de l'espèce localement dominante (Angus *et al.* 2015). Selon Altieri (1995), la rotation organique est divisée en deux phases, celle qui augmentent le niveau d'azote du sol et celle qui l'épuisent. D'après Karlen *et*

al. (1994), en fonction de la culture et des espèces végétales utilisées, les rotations culturales sont classées comme suit :

1. *Annuel*. Se réfère principalement à la monoculture (par exemple, le maïs).
2. *Annuel-pérenne*. Comprend des rotations avec des cultures en rangs et des plantes vivaces (par exemple, maïs-luzerne)
3. *Divers*. Comprend plus de trois cultures (par exemple, maïs- avoine- blé- foin).

Tout compte fait, la rotation de différentes cultures est une alternative écologiquement viable à la monoculture et est pertinente pour répondre aux préoccupations agricoles et environnementales. Elle représente aussi l'une des stratégies les plus simples et les plus souhaitables de conservation des sols et de l'eau (Blanco-Canqui et Lal, 2010).

1.4.1. Les légumineuses dans les Rotations de cultures

La quantification de l'effet de rotation des légumineuses à grains sur les cultures suivantes est importante pour comprendre le potentiel d'adoption des technologies des légumineuses ainsi que leur impact sur la durabilité de la production (Franke *et al.* 2018). L'effet de la culture de céréales après les légumineuses à grains a probablement été plus étudié que les avantages de rotation d'autres cultures, et il existe 300 comparaisons des séquences légumineuses-blé et blé-blé dans l'ensemble de données (Angus *et al.* 2015). Par rapport aux céréales, les légumineuses à grains sont considérées comme un substitut des engrais azotés et des augmentateurs de la teneur en matière organique du sol en raison du processus de fixation du N₂. En raison de cette caractéristique unique des légumineuses à grains, la rotation des cultures avec des légumineuses à grains améliore la santé du sol, diversifie les systèmes de culture et maintient la fertilité du sol, ce qui se traduit par de nombreux avantages économiques, agronomiques et environnementaux (Preissel *et al.* 2015).

Selon Baloyi *et al.* (2009), un système de rotation bien planifié comprenant une culture de légumineuses contribuera non seulement à reconstituer les éléments nutritifs du sol, mais réduira également la demande en engrais chimiques. Cela aidera également à briser le cycle de la maladie et de l'accumulation de parasites dans le sol, une condition qui caractérise la monoculture. Cependant, l'impact des légumineuses sur les céréales suivantes est très variable, en fonction de l'état de fertilité du sol, des conditions agro-écologiques, du type de culture et de la gestion, qui à leur tour sont affectés par les diverses conditions socio-économiques des agriculteurs (Ojiem *et al.* 2006).

Les divers effets de rotation des légumineuses à grains sur les cultures ultérieures peuvent être divisés en «effets azote» et «effets sans azote» ou «effet de culture de rupture», également appelés «autres effets de rotation» (People *et al.* 2009 ; Franke *et al.* 2018). L'«effet azote» est le résultat de l'apport en azote de la fixation symbiotique. Les « effets sans azote » des légumineuses font référence aux impacts induits par des facteurs biotiques tels que l'apparition de ravageurs, de mauvaises herbes et de maladies, et des facteurs abiotiques tels que des changements dans la disponibilité de l'eau ou des nutriments autres que N, des changements du pH du sol, ou les changements dans la matière organique et la structure du sol (People *et al.* 2009 ; Franke *et al.* 2018). En revanche, l'importance relative des avantages N et non-N des légumineuses variera clairement dans des expériences spécifiques en fonction de nombreux facteurs pédologiques et climatiques (Kirkegaard *et al.* 2008).

1.4.1.1. Effet des rotations des cultures sur l'azote du sol

Les effets de l'azote se réfèrent à l'amélioration de la nutrition azotée d'une culture non légumineuse ultérieure et à la réduction associée de la demande d'engrais azotés en raison des capacités de fixation de N₂ des légumineuses (Franke *et al.* 2018). La quantité de N₂ fixée dépend du potentiel génétique de la légumineuse, du *rhizobium* et de la symbiose, et de la capacité des légumineuses à établir leur symbiose qui dépend de l'environnement et de la gestion (Giller, 2001). Concernant la quantité de N₂ apportée au sol par une légumineuse au profit d'autres cultures, cultivées en association ou en rotation, elle dépend de la quantité totale fixée et de la proportion d'azote fixé qui est extraite du champ lors de la récolte (graine et chaume) (Ennin *et al.* 2004). En effet, dans le cas où la majeure partie du N₂ fixé est éliminée lors de la récolte, le bilan de N au champ d'une légumineuse est proche de zéro, voire négatif. Néanmoins, dans une telle situation, plus de N peut être disponible pour la récolte suivante qu'après une céréale (Chen *et al.* 2014). Cela peut être dû à une utilisation réduite de l'azote minéral par la légumineuse (N épargné), de la décomposition ultérieure des résidus de légumineuses, ou d'une immobilisation réduite de l'azote minéral existant dans le sol en raison d'un rapport C:N plus faible des légumineuses (Kirkegaard *et al.* 2008).

Les espèces et variétés de légumineuses à grains poussant au même endroit diffèrent de manière significative en termes de production de matière sèche, d'accumulation d'azote, de fixation de l'azote, d'équilibre d'azote et de qualité des résidus (Beck *et al.* 1991; Haynes *et al.* 1993; Evans *et al.* 2001). Ces différences peuvent être les principaux facteurs déterminant la contribution résiduelle de N aux cultures suivantes (Hood *et al.* 1999). Par ailleurs, les conditions environnementales, en particulier l'eau du sol et une gamme de constituants dans les

tissus des légumineuses (par exemple la lignine, les polyphénols, le carbone soluble et les composés azotés) peuvent modifier l'activité microbienne et affecter la vitesse de libération de l'azote organique des légumineuses (Kumar et Goh 2000; Bolger *et al.* 2003).

Plusieurs études ont soutenu le fait que les engrais azotés peuvent compenser une grande partie, mais pas la totalité, des avantages de la rotation avec des légumineuses. La partie du rendement qui ne peut pas être compensée par des produits chimiques synthétiques est l'effet de rotation (Bullock, 1992), et l'avantage de rendement est dû plus communément à une combinaison des deux (Chalk, 1998 ; Gan *et al.* 2003 ; Kirkegaard *et al.* 2008).

1.4.1.2. Effet des rotations des cultures sur la fertilité et le carbone organique des sols

La rotation peut également apporter des avantages en termes d'amélioration de la qualité du sol, d'une meilleure répartition des éléments nutritifs dans le profil de sol et d'une activité biologique accrue (Ogungbile *et al.* 1998). Au cours des dernières années, les légumineuses à grains ont suscité un nouvel intérêt en tant que cultures à faibles intrants à introduire en rotation avec des céréales, car elles sont capables d'améliorer la fertilité et les propriétés des sols (Garofalo *et al.* 2009). Carsky *et al.* (2002) ont signalé que la rotation des légumineuses et les jachères sont la clé d'une gestion des sols durable et productive.

Les impacts de la rotation des cultures sur les paramètres de fertilité du sol tels que la teneur en matière organique du sol, la structure du sol et la capacité de rétention d'eau ne sont généralement visibles que dans des expériences à plus long terme comprenant plusieurs cycles de culture (Franke *et al.* 2018).

Le carbone organique du sol est un indicateur important de la qualité du sol car il influence sa structure. Cette dernière affecte la stabilité du sol ainsi que sa capacité à retenir l'eau (Perucci *et al.* 1997). Sundermeier *et al.* (2004) ont signalé que le carbone est un ingrédient clé de la matière organique du sol. Il a également été souligné que la séquestration du carbone dans les sols est un processus naturel, rentable et écologique. L'avantage de l'agriculture biologique sur le carbone du sol découle du fait que le système repose sur l'apport de matière organique dans le sol et sur sa décomposition par l'activité microbienne du sol. Cela libère des nutriments pour la production agricole et ce processus produit également de l'humus qui élève le niveau de carbone du sol. Il a été conclu qu'il existait une association positive entre les niveaux de carbone et les niveaux microbiens dans le sol, car ce sont les microorganismes du sol qui produisent l'humus (Sundermeier *et al.* 2004).

D'autres parts, la rotation des cultures augmente le C du sol suite à la diversité des résidus végétaux remis dans le sol (Varvel, 2000 ; Friedel *et al.* 1996). L'étude de Moore *et al.* (2000) a montré que la rotation des cultures affectait de manière significative le C de la biomasse du sol. En effet, des études à long terme ont démontré de façon constante l'avantage de la rotation des cultures sur le maintien de la productivité agronomique en augmentant les apports de C dans le sol (Reeves, 1997).

Cependant, le principal agent de destruction de la matière organique par la production agricole est le travail du sol. Un travail intensif du sol, qui inverse ou mélange le sol, introduit de grandes quantités d'oxygène dans le sol et incite les microorganismes aérobies à consommer la matière organique comme source de nourriture (Bullock, 1992) et la décomposition des agrégats du sol accélèrent l'érosion (Sundermeier *et al.* 2004). Des améliorations de la stabilité structurelle du sol se produisent lorsque les rotations sont utilisées en combinaison avec l'agriculture sans labour en raison d'interactions positives entre la diversité des cultures et l'absence de perturbation du sol (Blanco-Canqui et Lal, 2010). Nelson et Spaner (2010) ont signalé que les systèmes qui pratiquent un travail du sol réduit, des cultures variées ou des cultures associées et une faible application d'engrais inorganique ont tendance à encourager une communauté microbienne large et diversifiée.

1.4.1.3. Effet des rotations des cultures sur les microorganismes du sol

Les légumineuses peuvent influencer les activités d'autres organismes de la rhizosphère qui stimulent ou suppriment la croissance des plantes ou la disponibilité des éléments nutritifs du sol (Franke *et al.* 2018). Les activités enzymatiques du sol sont souvent utilisées comme indices de l'activité microbienne. L'effet de la rotation sur l'activité enzymatique du sol est fortement corrélé aux changements de la teneur en matière organique, et l'effet est plus prononcé dans l'horizon supérieur du sol (Dick, 1989). En effet, Gantzer *et al.* 1987 ont conclu dans leur étude que les changements dans la stabilité du sol étaient probablement liés à des processus biologiques. Ainsi, les rotations qui augmentent la matière organique ou au moins fournissent de grandes quantités de résidus conduisent généralement à une activité microbienne accrue. Les rotations qui conduisent à moins de matière organique et/ou de résidus n'entraînent pas d'activité microbienne. D'autres parts, l'étude de Gupta *et al.* (2004) a démontré que les populations bactériennes peuvent être influencées par les cultures précédentes, ou même par les variétés de cultures, d'une manière qui influence considérablement la croissance des cultures suivantes, ce qui peut expliquer certains des avantages apparents des cultures de rupture en l'absence d'organismes pathogènes majeurs connus.

Lupwayi et Kennedy (2007) ont passé en revue les effets des légumineuses à grains sur certains processus biologiques du sol et ont signalé la présence d'un plus grand nombre des *rhizobia* endophytes et d'autres bactéries dans les racines d'orge, de blé et de canola après les cultures de pois par rapport à celles qui suivent le blé. Ils ont aussi rapporté des preuves de divers avantages, notamment la stimulation de la croissance, la protection contre les maladies, des changements dans l'architecture des racines et l'acquisition de nutriments.

Parmi les autres effets bénéfiques induits par les légumineuses, la production d'hydrogène gazeux (H₂) en tant que sous-produit obligatoire de l'enzyme nitrogénase fixatrice de N₂ dans les nodosités de légumineuses (Dong *et al.* 2003). La production de H₂ induit une multiplication rapide de micro-organismes du sol, encore non identifiés, capables d'utiliser le H₂ comme source d'énergie (Kirkegaard *et al.* 2008 ; Angus *et al.* 2015). L'exposition à H₂ à des niveaux similaires à ceux qui se produisent à côté des nodosités a considérablement augmenté la croissance des légumineuses (14%) et des non-légumineuses (18–32%) (Dong *et al.* 2003).

D'autres exemples d'impacts significatifs des cultures de rupture sur le rendement ultérieur du blé via des changements spécifiques des populations microbiennes du sol sont rares (Kirkegaard *et al.* 2008). En effet l'impact biotique des ravageurs et des maladies se produisant sous terre est difficile à quantifier, ce qui explique pourquoi ils reçoivent peu d'attention dans les études de terrain (Franke *et al.* 2018).

1.4.1.4. Effets des rotations de cultures sur l'érosion du sol

L'érosion du sol comporte deux étapes : (1) le détachement des particules du sol et (2) le transport du matériau du sol par des agents érosifs tels que l'eau ou le vent. Les pratiques de gestion des sols telles que le placement des résidus, le fumage et la rotation des cultures peuvent avoir des effets directs et indirects sur les propriétés physiques du sol (Bullock, 1992). En effet, les rotations qui incluent une biomasse aérienne et souterraine élevée, produisant des fourrages et des cultures, réduisent les risques d'érosion du sol (Blanco-Canqui et Lal, 2010).

Des rotations avec diverses cultures fourragères et céréalières en association avec d'autres pratiques de conservation des sols doivent être établies dans les sols où les risques d'érosion sont graves (Blanco-Canqui et Lal, 2010). Les expériences de rotation des cultures à long terme (> 100 ans) au champs Sanborn, l'un des plus anciens champs de recherche agricole au monde établi en 1888 à l'Université du Missouri, à Columbia, illustrent les avantages

distincts de la gestion de la rotation des cultures pour réduire les risques d'érosion des sols (Gantzer *et al.* 1991).

1.4.1.5. Effet des rotations des cultures sur la rétention d'eau du sol

Différentes espèces de cultures nécessitent différentes quantités d'eau ; par conséquent, la quantité d'eau résiduelle du sol à maturité est susceptible de varier, avec des conséquences pour l'approvisionnement en eau pour la culture suivante et son rendement lorsque l'eau est limitée (Angus *et al.* 2015). L'eau résiduelle du sol à la maturité d'une culture de rupture peut être utilisée par la culture suivante à condition qu'elle ne soit pas d'abord perdue par évaporation ou utilisée par les mauvaises herbes pendant la période de jachère entre les cultures (Miller *et al.* 2002 ; Hunt et Kirkegaard 2011; Hunt *et al.* 2013). Le chaume de la culture de rotation peut affecter la rétention de l'eau du sol et peut affecter l'infiltration et la rétention des précipitations entre le moment de la récolte d'une culture de rupture et le semis de la culture de blé suivante (Kirkegaard *et al.* 2001 ; Hunt *et al.* 2013 ; Kirkegaard et Ryan 2014).

Selon Kirkegaard *et al.* (2008), dans des conditions de faible disponibilité en eau, de faible pression de maladie et de faible potentiel de rendement, la quantité d'eau du sol avant le semis, qui est généralement plus élevée après les légumineuses que les oléagineux, dicte le rendement du blé suivant qui peut être relativement insensible aux autres intrants. Cependant, d'autres réponses ont été signalées dans ces environnements plus secs. Miller *et al.* (2002) ont constaté que les rendements du blé étaient 21% plus élevés après une gamme de cultures de rupture de légumineuses par rapport au blé, mais aucune différence n'a été enregistré après les cultures d'oléagineux. Les effets étaient liés à la fois à l'augmentation de l'eau du sol et de l'azote après les légumineuses.

Ces impacts des cultures précédentes sur l'utilisation de l'eau par le blé peuvent également résulter d'une utilisation plus efficace de l'eau par des racines saines, même dans des environnements à fortes précipitations comme le nord de l'Allemagne (Sieling *et al.* 2005), et peuvent y contribuer en partie à une fraction des effets de rotation inexplicables car ils sont transitoires et difficiles à mesurer (Kirkegaard *et al.* 2008). Néanmoins, les réponses de rendement positives sont nettement moins fiables et généralement plus faibles dans les zones semi-arides (Gan *et al.* 2003).

Un sol plus sec peut également offrir des avantages environnementaux avec moins de ruissellement et un drainage moins profond. Une plus grande prise de conscience de l'état du sol et de l'eau sera nécessaire pour gérer les systèmes de culture des terres arides qui n'ont pas

le tampon de sol humide fourni par les céréales continues (Angus *et al.* 2015). Par conséquent, la culture de légumineuses à grains est un domaine de recherche prioritaire dans les zones non irriguées. Les légumineuses à grains entraînent des effets positifs significatifs sur le rendement des non-légumineuses subséquentes par rapport aux rotations avec des non-légumineuses (Chalk, 1998; Sanginga, 2003).

1.4.1.6. Effets des rotations de cultures sur l'élimination des ravageurs

Les rotations de cultures avec des légumineuses pourraient fournir des stratégies efficaces pour la suppression des adventices (mauvaises herbes), des insectes et des maladies en raison de la perturbation des conditions propices à leur développement et peuvent conduire à réduire les applications de pesticides et de fongicides par rapport aux rotations céréalières continues (Liebman et Dyck 1993 ; Blanco-Canqui et Lal, 2010)

L'efficacité des rotations culturales pour lutter contre les ravageurs dépend de la nature et de la spécificité des ravageurs. Les rotations sont des mesures efficaces lorsque les ravageurs sont : (1) spécifiques à une culture et à un champ, (2) peu répandus entre les cultures, et (3) n'augmentent pas en l'absence de cultures hôtes (Blanco-Canqui et Lal, 2010).

1.4.1.7. Effets des rotations des cultures sur l'environnement

Il existe plusieurs avantages environnementaux potentiels découlant de l'intégration de cultures de rupture appropriées dans le système agricole, et dans de nombreux cas, ceux-ci se produisent en même temps que les avantages en termes de rendement et de qualité des céréales déjà discutés (Kirkegaard *et al.* 2008).

Les légumineuses peuvent jouer un rôle critique dans les écosystèmes naturels, l'agriculture et l'agroforesterie en raison de leur capacité à fixer le N₂ atmosphérique, ce qui en fait des cultures économiques et respectueuses de l'environnement (Graham et Vance 2003). La capacité des légumineuses à grains à fixer l'azote atmosphérique économise les ressources énergétiques non renouvelables utilisées pour la synthèse des engrais azotés, car la fabrication d'engrais azotés est un processus très consommateur d'énergie (Evans *et al.* 2001 ; Nemecek et Erzinger 2005). Wery et Ahlawat (2007) ont déclaré que les légumineuses à grains peuvent économiser de 20 à 60 kg/ha d'azote pour la céréale suivante avec un rendement supplémentaire de 1 t. ha⁻¹. Nemecek *et al.* (2008) ont également noté que pour le même rendement, la quantité d'azote appliquée à la récolte de blé après le pois était de 14% inférieure à la rotation de blé unique. Une étude menée en Allemagne, en France, en Suisse et en Espagne a conclu que l'introduction de légumineuses à grains dans les rotations céréalières intensives est susceptible de réduire la consommation d'énergie, le potentiel de réchauffement planétaire, la formation

d'ozone et l'acidification ainsi que la toxicité écologique et humaine par unité de surface cultivée (Nemecek *et al.* 2008).

La suppression des mauvaises herbes, des insectes et des maladies dues à la rupture de leurs cycles (Stevenson et van Kessel, 1997), la rotation des cultures a pour effet de réduire les impacts environnementaux négatifs des applications d'insecticides et de pesticides (Reckling *et al.* 2014). Nemecek *et al.* (2008) ont montré que l'introduction des pois dans les rotations céréalières a réduit l'utilisation de pesticides de 10%. Cette réduction de l'utilisation des pesticides a entraîné des avantages environnementaux importants, car elle a réduit l'écotoxicité terrestre de 7%.

Dans les systèmes semi-arides, dans lesquels la culture de rupture est introduite pour remplacer la jachère, les principaux avantages découlent d'une utilisation plus efficace de l'eau, d'une réduction du risque de drainage profond, du maintien de la couverture du sol et d'un risque d'érosion réduit (Tanaka *et al.* 1997 ; Johnston *et al.* 2002). Les avantages les plus importants dans les zones plus humides sont l'amélioration des nutriments (existants et appliqués) et l'efficacité de l'utilisation de l'eau résultant des niveaux inférieurs du sol (Cook, 1986).

Finalement, l'introduction de légumineuses dans les systèmes de culture continue à base de céréales peut contribuer à la conservation et l'amélioration de la biodiversité en favorisant la diversité des cultures (Nemecek *et al.* 2008) bien que comme indiqué par Munier-Jolain et Collard (2006), cet effet ne soit pas spécifique aux légumineuses à grains.

1.4.1.8. Effets des rotations des cultures sur les cultures suivantes : cas des céréales

La culture continue du blé dur est l'un des systèmes de culture les plus répandus dans les régions méditerranéennes, en particulier lorsque l'eau d'irrigation est rare ou totalement absente (Garofalo *et al.* 2009). Ce système de culture peut avoir des effets négatifs sur les propriétés chimiques du sol, telles qu'une modification de la qualité de la matière organique et du contenu en macro-nutriments (Blair et Crocker, 2000). Mazaheri *et al.* 2006, ont signalé qu'en termes d'écologie et d'environnement, les monocultures ont posé une série de problèmes sérieux qui ne peuvent être résolus que par une activité agricole basée sur des principes écologiques, afin d'aboutir à un écosystème stable. De nombreuses études ont démontré que les cultures produisent généralement de meilleurs rendements lorsqu'elles sont cultivées après des espèces non apparentées, dont le cas du blé (Angus *et al.* 2015). Cet avantage en termes de rendement est maintenant connu sous le nom « d'effet de rotation » ou de « culture de rupture ».

L'un des avantages immédiats et directs de la rotation des cultures est l'augmentation des rendements des cultures (Bauder, 1999) et des bénéfices nets, tout en réduisant les intrants

(par exemple, les engrais, les pesticides) ainsi que les coûts de production (Blanco-Canqui et Lal, 2010). Plusieurs scientifiques ont signalé des effets positifs de la rotation des légumineuses sur les rendements ultérieurs en céréales (Lopez-Bellido *et al.* 2000; Rafael *et al.* 2001 ; Angus *et al.* 2015). En effet, la valeur des légumineuses à grains en tant que culture précédente est bien connue, notamment dans les rotations avec les céréales (Pahl, 2001). Néanmoins les rotations légumineuses - céréales n'ont pas été largement adoptées (Garofalo *et al.* 2009). Selon Angus *et al.* (2015), la quantification de l'augmentation du rendement et l'explication des facteurs qui affectent l'augmentation aideront les agriculteurs à décider de la séquence des cultures. La sélection des cultures pour une séquence de rotation varie selon les caractéristiques locales et régionales. Cela dépend du type de sol, de la fertilité du sol, de la pente du sol, des objectifs économiques et commerciaux, de la présence de ravageurs et du type de bétail (Blanco-Canqui et Lal, 2010).

Haque *et al.* (1995) ont expliqué cette augmentation de rendement par l'effet positif des légumineuses sur les propriétés chimiques, physiques et biologiques du sol. Cependant, l'effet positif sur le rendement de la culture ultérieure dans les rotations de légumineuses à grains à base de céréales dépendra de l'espèce, des quantités d'azote fixées et des conditions environnementales (Zander *et al.* 2016). En effet, l'augmentation du rendement du blé dur après la vesce dans un environnement semi-aride méditerranéen n'était que de 14 à 15% (Giambalvo *et al.* 2004). Une situation de faible fertilité est également l'un des facteurs importants des effets de rendement liés à l'azote sur la culture suivante (Preissel *et al.* 2015). Des sols fertiles avec un apport suffisant en N peuvent conduire à une augmentation du rendement de la culture après une légumineuse dans une rotation (Bachinger et Zander 2007; Kirkegaard *et al.* 2008). Selon une enquête auprès des agriculteurs en Allemagne, le rendement a augmenté de 0,5 et 1 t.ha⁻¹ pour le blé et l'orge cultivés après les légumineuses à grains (Alpmann *et al.* 2013). Cependant, dans les conditions semi-arides du centre de l'Espagne, les augmentations de rendement n'étaient que de 0,2 t.ha⁻¹ pour l'orge après la vesce (López-Fando et Almendros 1995).

En effet, Stevenson et van Kessel (1996) ont constaté que 91% des bénéfices du rendement du blé après une culture de pois précédente provenaient de la réduction des maladies foliaires et de l'infestation des mauvaises herbes, tandis que seulement 9% étaient estimés provenir directement de N (Kirkegaard *et al.* 2008).

I.5. Cas d'études : Rotation fève – Blé dur

I.5.1. Fève (*Vicia faba* L.)

I.5.1.1. Origine, génétique et taxonomie de *Vicia faba* L.

La fève (*Vicia faba* L.) est considérée comme l'une des premières légumineuses alimentaires cultivées dans le monde, à la lumière des nombreuses découvertes archéologiques en Eurasie et en Afrique qui remontent au début du Néolithique (Metayer 2004 ; Duc *et al.* 2015). En effet, le Proche-Orient est considéré comme un centre d'origine de la fève (Cubero, 1974), tandis que la Chine semble être un centre secondaire de la diversité génétique de la fève (Zong *et al.* 2009, 2010).

Vicia faba est une espèce diploïde ($2x = 12$) possédant l'un des plus grands génomes décrits (13 Gb) parmi les légumineuses cultivées, avec au moins 85% d'ADN répétitif (Flavell *et al.* 1974 ; Al-Ghamdi *et al.* 2014). Elle possède une grande diversité génétique. Selon Duc *et al.* (2010, 2015a), > 38.000 accessions de matériel génétique de *V. faba* sont conservées dans le monde dans de nombreuses banques de gènes, ainsi qu'au Centre international de recherche agricole dans les zones arides (ICARDA).

Sur la base de la taille des graines, deux sous-espèces de *V. faba* ont été reconnues, *paucijuga* et *faba* (Muehlbauer et Tullu 1997). La sous-espèce *faba*, a été divisée sur la base de la taille des graines en 3 variétés botaniques principales, bien qu'il n'y ait pas de discontinuité dans la taille des graines entre elles (Kolev, 1976 ; Cubero, 1974; Crépon *et al.* 2010; Pietrzak *et al.* 2016):

- *Vicia faba minor* à petites graines appelées couramment fêverole utilisée pour l'alimentation du bétail ;
- *Vicia faba equina* à graines moyennes appelées couramment févette et également destinée à l'alimentation du bétail ;
- *Vicia faba major* à grosses graines appelées couramment fève destinées à la consommation humaine.

D'après Cubero (2011) et NFB (2014), la classification scientifique est comme suit :

Règne	<i>Plantae</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Fabales</i>
Famille	<i>Fabaceae</i>
Sous-famille	<i>Faboideae</i>
Tribue	<i>Fabeae</i>
Genre	<i>Vicia</i>
Espèce	<i>Vicia faba</i>

I.5.1.2. Physiologie de Vicia faba

V. faba est une légumineuse annuelle de saison fraîche (Bilalis *et al.* 2003) présentant une tige rugueuse et dressée, creuses et non ramifiée, se dressant entre 0,1 et 2 m de haut (Peron, 2006 ; Duc *et al.* 2015 ; Heuzé *et al.* 2016). La taille de l'espèce varie en fonction de nombreux facteurs dont la température, la pluviométrie et autre. Les feuilles de *V. Faba* sont alternes, composées et pennées ; Les feuilles des premiers stades de croissance ont deux folioles, tandis que les feuilles formées après le début de la floraison sont constituées de 2 à 7 folioles, mesurant chacune jusqu'à 8 cm et d'une couleur gris-vert glauque distincte (Bond *et al.* 1985 ; Matthews & Marcellos 2003 ; Heuzé *et al.* 2016 ; GRDC, 2017). Les folioles se replient et deviennent molles dans des conditions sèches et chaudes pour minimiser la transpiration (GRDC, 2017). Les tiges de *V. Faba* n'ont pas de branches mais produisent des talles qui poussent à partir des nœuds à la base de la plante, juste au-dessus de la tige principale. Ci-après, les talles seront appelées branches (GRDC, 2017).



Figure.I.3. Racines de fève bien nodulées (O'Hara *et al.* 2014).

V. faba présente une racine pivotante robuste avec des racines latérales fréquentes à partir du sommet de la racine pivotante dans les 30 premiers centimètres du sol (Figure.I.3) et

des nodosités symbiotiques avec les bactéries rhizobiennes *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae*, une espèce capable de fixer l'azote atmosphérique (N₂). La plante fournit des hydrates de carbone pour les bactéries en échange de N₂ fixé à l'intérieur des nodosités. Ces nodosités sont visibles environ un mois après l'émergence de la plante, et forment éventuellement des lobes en éventail légèrement aplatis. Presque toutes les nodosités sont confinées aux 30 cm supérieurs du sol et 90% à 15 cm de la surface. La fixation de l'azote commence généralement à l'émergence des nodosités, jusqu'à ce que la plante repose sur de grandes quantités de N minérale. Les grandes variétés de fèves de 40 plantes. m⁻² peuvent contenir jusqu'à 10 kg N. ha⁻¹ (Bond *et al.* 1985 ; Matthews et Marcellos, 2003 ; Jensen *et al.* 2010 ; GRDC, 2017). Les systèmes racinaires sont forts, mais ne pénètrent pas toujours en profondeur. Les racines des fèves peuvent laisser l'humidité en profondeur tard dans la saison, ce qui peut réduire leur capacité à résister à des conditions sèches. La croissance des racines est la plus rapide avant la floraison mais se poursuivra jusqu'à maturité dans des conditions favorables (GRDC, 2017).



Figure.I.4. Fleur de fève pollinisée par une abeille.
Agriculture et Environnement ADEME Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie. Fiche N° 5.

Les fleurs ont une structure typiquement papilionacée et sont regroupées en inflorescences ; elles sont composées de cinq pétales, le pétale standard (blanc), les pétales de l'aile (blanc avec une tache noire) et les pétales de quille (blanc) (Figure.I.4) (Bond *et al.* 1985; Duc *et al.* 2015; Heuzé *et al.* 2016 ; GRDC, 2017). *V. faba* est en partie fécondée par des abeilles mellifères et des bourdons. Environ 40% à 50% de l'allo-fécondation dépendent fortement du génotype, de la consanguinité et de l'environnement (Palmer *et al.* 2009).

Les graines de fèves sont oblongues à largement ovales et plates, parfois avec un tégument strié, alvéolé ou lisse. Les couleurs de la robe des graines varient également considérablement (Duc *et al.* 2015 ; GRDC, 2017) (Figure.I.5). Les gousses de fèves sont vertes et coriaces, devenant brun noirâtre avec une surface interne duveteuse et dense. La gousse peut contenir 3 à 8 ovules, dont la plupart se développent habituellement en graines (GRDC, 2017).



Figure.I. 5. Les graines de *V. Faba* (Pulse Australia)

1.5.1.3. Environnements appropriés

V. faba est une plante de journée longue et nécessite une saison fraîche pour un meilleur développement et peut être semé tôt (Jensen *et al.* 2010), plantée en automne et récoltée à la fin du printemps et au début de l'été. La performance des fèves est augmentée lorsqu'elles sont établies dans des sols à pH plus élevé. De faibles niveaux de pH entraîneront un retard de croissance de la culture et un jaunissement des feuilles dans toute la canopée (FAR, 2012). Les meilleurs sols pour la fève sont donc des sols profonds, neutres à alcalins (pH dans H₂O 6,5-9,0, ou pH dans CaCl₂ 5,2-8,0), bien structurés et riches en argile (Matthews et Marcellos, 2003 ; Jensen *et al.* 2010).

La température optimale pour la croissance des plantes est de 18°C - 27°C, en particulier pendant les phases de reproduction du développement des fleurs et des gousses. La fève tolère mieux le gel que les autres légumineuses (Link *et al.* 2010 ; GRDC 2017). Cependant, elles ne tolèrent pas les conditions chaudes et sèches pendant la floraison, car ceci entraîne habituellement une réduction importante du rendement.

1.5.1.4. Importances de Vicia faba

Intérêts Alimentaire

Dans la nutrition humaine, seules les graines de *V. faba* sont utilisées, tandis que la plante entière est utilisée comme nourriture pour les animaux (Allam *et al.* 2018). La fève joue un rôle important dans les régimes alimentaires traditionnels, en particulier au Moyen-Orient, au Maghreb, en Amérique du Sud et en Asie (Lacampagne, 2007). En effet, l'inclusion de

protéines végétales dans l'alimentation humaine a un effet bénéfique sur la santé humaine (Moorthi *et al.* 2015).

V. faba est l'une des légumineuses à grains les plus importantes, principalement parce qu'elle représente une source importante de protéines (27-34%) pour la nutrition humaine et l'alimentation animale (Inci et Toker, 2011 ; López-Bellido, 2005). Les bienfaits pour la santé de la fève résident dans le fait qu'elle soit une bonne source de fibres, de glucides, de minéraux (fer, calcium, magnésium et potassium), d'oligo-éléments essentiels (cuivre, manganèse, molybdène, sélénium et zinc) ainsi que des vitamines essentielles (vitamines B, thiamine, niacine et l'acide folique) (Ofuya et Akhidue, 2006 ; Multari *et al.* 2015 ; GRDC 2017). De plus, elle a un potentiel thérapeutique qui rentre dans le traitement des diabétiques, dans l'hypertension, dans la maladie de Parkinson et pourraient aider à prévenir les maladies cardiovasculaires (Madar et Starck 2002 ; Ramya et Thaakur 2007 ; Mohseni Mehran et Golshani 2013). Elle est également utilisée dans la médecine populaire comme antihyperlipidémique pour contrôler le cholestérol (Bouchenak et Lamri-Senhadjji, 2013; Du *et al.* 2016).

Néanmoins, *V. Faba* (grains, pellicules et farines) contient des composés antinutritionnels tels que des saponines, des lectines, des tanins, les inhibiteurs de la protéase, les α -galactosides, de la vicine, de la convicine et de l'acide phytique (Vidal-Valverde *et al.* 1998 ; Hendawey et Younes, 2013; Multari *et al.* 2015). Cependant, les procédés domestiques simples tels que le trempage et la cuisson sont capables de réduire leur quantité jusqu'à 100%, limitant ainsi toute conséquence préjudiciable potentielle (Luo *et al.* 2009). La consommation de produits à base de fève contenant des niveaux élevés de vicine et de convicine provoque un favisme chez l'homme, qui est associé à un déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase (Khamassi *et al.* 2013).

Intérêts Agronomique

La fève réagit et modifie son environnement en améliorant la fertilité du sol, le microclimat et les co-habitats de la flore et de la faune sauvages (Köpke et Nemeck, 2010). Outre son utilisation mondiale pour l'alimentation humaine et animale, la fève délivre de nombreux services éco-systémiques. En effet, il existe de vastes connaissances sur sa capacité à fixer et à ajouter de l'azote au sol de manière symbiotique, ce qui rend l'azote du sol disponible et améliore ainsi la productivité du sol (Köpke et Nemeck 2010 ; Briat et Job 2017). Ainsi, en permettant de réduire les apports en intrants, la fève est souvent considérée comme une culture

de rupture précieuse dans une rotation dominée par les céréales (GRDC 2017). D'autre part, la fève permet de mobiliser des nutriments du sol autres que l'azote (Köpke et Nemeck 2010).

Autres avantages environnementaux de la fève se résument en (1) la diversification des agroécosystèmes, soit dans le temps (rotation des cultures) ou dans l'espace (culture intercalaire), augmentant ainsi la biodiversité associée et conduisant à une diminution des maladies, des ravageurs et des mauvaises herbes, (2) grâce à la pollinisation, elle fournit de la nourriture aux pollinisateurs et aux insectes bénéfiques et (3) permet de réduire l'intensité du travail du sol (Köpke et Nemeck 2010 ; Jensen *et al.* 2010).

1.5.1.5. Fève en Algérie

C'est la légumineuse alimentaire la plus cultivée en Algérie avec près de 60.000 hectares (<https://agrichem.dz/>). Elle présente des intérêts agronomiques, économiques et nutritionnels. Sa culture est pratiquée essentiellement au niveau des plaines côtières mais aussi dans les plaines d'intérieur (Tlemcen, Guelma, Mascara, Boumerdès et Constantine), les hauts plateaux (Médéa, Relizane, Ain Defla, M'sila et Bouira) et les zones du sud du pays (Biskra, Adrar et Ghardaïa). En Algérie, la fève est retenue surtout pour la consommation humaine sous forme de gousses fraîches, ou en grains secs. En cas de fortes productions, l'excédent en grains secs peut être incorporé dans l'alimentation du bétail (Lebbal, 2010).

1.5.1.6. Symbiose rhizobienne fixatrice d'azote et *V. faba*

Il est communément admis que les plantes cultivées appartenant aux genres *Vicia*, *Lathyrus*, *Pisum* et *Lens* sont nodulées par des souches de *Rhizobium leguminosarum biovar viciae* (Vincent, 1982). Cependant, au départ, la fève a besoin d'une certaine quantité d'azote pour démarrer sa croissance. En effet, les grands cultivars de fève peuvent contenir jusqu'à 10 kg de N. ha⁻¹ dans leurs réserves de graines, lorsqu'elles sont semées à une population de 40 graines. m⁻² et ce N est important pour soutenir la croissance précoce jusqu'à ce que des nodosités se forment et fonctionnent 10 à 12 jours après la levée des plantules (Jensen *et al.* 2010). Ceci est possible à condition que le sol contienne des populations suffisantes et efficaces de *Rhizobium* de *V. faba* (Jensen *et al.* 2010). La plupart des sols cultivés contiennent d'importantes populations de rhizobia indigènes et pour la fève, l'inoculation n'est généralement pas nécessaire, en particulier si une culture de la même espèce avait précédé (Jensen, 1987). De plus, il a été démontré qu'il peut exister une interaction spécifique entre les souches de rhizobium et les génotypes de fève, une souche pouvant être très efficace avec un génotype donné, mais peut-être inefficace avec un autre (Mytton *et al.* 1977). Dans la plupart des cas, la plante sera infectée par de nombreuses souches différentes, dont certaines sont susceptibles

d'être efficaces. De plus, la fixation symbiotique de l'azote chez les légumineuses est un procédé à forte intensité énergétique et nécessite de grandes quantités de phosphore (P). Ainsi, la fertilisation au P peut souvent améliorer le processus de nodulation et de fixation du N₂, et augmenter le rendement (Bolland *et al.* 2000; Adak et Kibritci, 2016).

D'autre part, selon l'étude de Jensen (1986), en raison de leur croissance indéterminée, les fèves continuent à assimiler le N pendant une période plus longue que le pois, atteignant environ 315 kg N. ha⁻¹ après 110 jours. En effet, *V. faba* accumule le N de la fixation de N₂ à un taux croissant jusqu'à l'initiation du processus de maturation à moins que d'autres facteurs tels que la disponibilité de l'eau restreignent le processus de fixation de N₂ plus tôt dans la croissance (Jensen *et al.* 2010). Cependant, la disponibilité de l'eau au niveau du sol est un facteur clé pour le fonctionnement des nodosités et la fixation de l'azote (Sprent and Bradford, 1977). Il a été démontré que *V. Faba* fixe systématiquement plus d'azote que le pois (*Pisum sativum L.*) ou le pois chiche (*Cicer arietinum L.*), même dans des conditions de sécheresse. Néanmoins, dans les situations où la déshydratation de la couche supérieure du sol survient tardivement dans la saison, et que la fixation de N₂ est nécessaire pour apporter une teneur significative en azote pour le remplissage des grains, l'application d'inoculum efficacement livré au niveau des sillons peut constituer un avantage pour les cultures de légumineuses confrontées à la contrainte hydrique (Denton *et al.* 2013 ; Denton *et al.* 2017). Les mêmes auteurs soulignent que dans des conditions où la nutrition et l'humidité du sol ne limitent pas la croissance, la fixation de N₂ chez la fève augmente avec l'augmentation de la masse des nodosités.

1.5.1.7. La fève dans les rotations de cultures

Le principal avantage agronomique et économique fourni par la fève et d'autres légumineuses dans la rotation des cultures est la fixation symbiotique de l'azote (Köpke et Nemecek, 2010). Selon l'étude de Jensen (1986), en raison de leur croissance indéterminée, les fèves continuent à assimiler le N pendant une période plus longue que le pois, atteignant environ 315 kg N. ha⁻¹ après 110 jours. En effet, *V. faba* accumule le N de la fixation de N₂ à un taux croissant jusqu'à l'initiation du processus de maturation des graines à moins que d'autres facteurs tels que la disponibilité de l'eau ne restreignent le processus de fixation de N₂ plus tôt dans la croissance (Jensen *et al.* 2010). Néanmoins, les auteurs ont aussi montré que la fève avait également récupéré moins d'engrais azoté que le pois et l'orge de printemps à maturité, et elle a compensé la plus faible absorption d'engrais et de N dans le sol par une plus grande fixation de N₂ par rapport aux cultivars de pois (Jensen, 1986). Il a été démontré que *V. Faba*

fixe systématiquement plus d'azote que le pois (*Pisum sativum L.*) ou le pois chiche (*Cicer arietinum L.*), même dans des conditions de sécheresse. De plus l'incorporation des résidus de récolte dans le sol (partie aérienne et racinaire) se traduit par une augmentation nette significative de l'azote du sol, à condition qu'il y ait des contraintes nutritionnelles majeures (Carranca *et al.* 1999). Néanmoins, il existe certains risques environnementaux, tels que l'augmentation du lessivage de N ou des émissions de N₂O, associés à l'utilisation de la fève dans la rotation des cultures ; ces risques peuvent cependant être limités par une conception appropriée du système de rotation (Huth *et al.* 2010).

L'impact de *V. faba* sur la dynamique de l'azote après les cultures est bien documenté. Par exemple, McEwen *et al.* (1989) ont constaté que l'avantage résiduel de N d'un blé d'hiver provenant d'une fève semée au printemps précédent représentait une économie de 30 kg d'engrais N. ha⁻¹ par rapport à une séquence blé-blé. Une étude canadienne sur la rotation en cinq cycles comparant une rotation fève-orge-blé et une rotation orge-orge-blé a montré que la fève a amélioré le rendement moyen des cultures suivantes d'orge et de blé de 21 et 12%, respectivement, ce qui équivaut à fournir aux céréales environ 120 kg d'engrais N. ha⁻¹ (Wright, 1990).

D'autres part, les quelques études qui ont directement suivi le devenir du N de la fève en utilisant des résidus marqués au 15N indiquent qu'une récolte suivante de blé, d'orge ou de coton peut récupérer entre 11 et 17% de l'azote végétal restant après la fève, bien que cela ne représente que 2 – 19% des besoins totaux en N des cultures suivantes (Muller et Sundman, 1988; Peoples *et al.* 2009a). Néanmoins, les avantages de la culture de la fève en pré-culture sont généralement plus élevés que ceux calculés sur la base de la récupération des cultures de résidus marqués au 15N (Peoples *et al.* 2009a).

D'après l'analyse de Jensen *et al.* (2010), la contribution de *V. faba* à l'économie de N pour le système de culture suivant peut être dérivée: (1) de l'azote minéral du sol inutilisé (« épargné ») et des rhizodépôts de N restant après la croissance de la culture, (2) du N minéralisé à partir de résidus organiques aériens et des racines nodulées après la récolte des graines, ou (3) via N dans les fumiers et l'urine d'animaux lorsque le grain de fève est utilisé comme alimentation animale ou que ses résidus sont pâturés. Ainsi, l'inclusion de la fève dans la rotation des cultures réduit le besoin d'engrais azoté inorganique et par conséquent réduit les émissions de CO₂ (Jensen *et al.* 2012).

Cependant, l'effet de rotation avec la fève ne se résume pas qu'aux avantages fournis par l'apport de l'azote. En effet, *V. Faba* peut également offrir une gamme d'autres avantages potentiels de rotation qui ne sont pas directement liés à l'azote, tels que la réduction de

l'incidence des herbes graminées, la perturbation des cycles des ravageurs et des maladies, le maintien de la fertilité du sol, l'amélioration des propriétés physiques du sol ou le transfert de l'eau disponible dans le sol (Kirkegaard *et al.* 2008; Peoples *et al.* 2009a, b ; Stoddard *et al.* 2010 ; Adekiya *et al.* 2017). On sait que *V. Faba* est capable de briser les cycles de maladies transmises par le sol chez les céréales telles que le Piétin-échaudage (*Gaeumannomyces graminis*), et l'effet semble être similaire à celui d'autres légumineuses et non légumineuses en cultures de rupture (McEwen *et al.* 1989).

Les légumineuses en rotation entraînent également une plus grande activité et diversité de la population des sols (Lupwayi et Kennedy, 2007). Certains de ces changements dans la composition de la population microbienne dans la rhizosphère de la légumineuse peuvent être liés à la libération d'hydrogène moléculaire (H₂) (Dong *et al.* 2003). Des expériences menées en Australie ont suggéré que les fèves étaient démunies du système de récupération du H₂ et que leurs nodosités présentaient des taux beaucoup plus élevés d'évolution de H₂ à partir de symbioses formées avec huit souches rhizobiennes testées que lorsque ces mêmes souches ont été testées sur la lentille ou le pois (Jensen *et al.* 2010). Des expériences menées à la fois dans des conditions de croissance contrôlées et sur le terrain ont montré des améliorations de la productivité des plantes dans des sols précédemment exposés à l'H₂ (par exemple Dong *et al.* 2003; Dean *et al.* 2006; Peoples *et al.* 2008). Par conséquent, (Jensen *et al.* 2010) ont supposé que les changements qui devraient être induits dans les populations microbiennes du sol en réponse aux émissions généralement plus élevées de H₂ provenant des nodosités de fève seraient bénéfiques pour les cultures suivantes.

Par ailleurs, *V. faba* est généralement utilisé comme culture de rupture dans la production céréalière car elle s'est avérée bénéfique pour augmenter le rendement et la teneur en protéines des graines des cultures céréalières successives (Zou *et al.* 2015).

En résumé, les principaux avantages de l'inclusion de la fève dans les systèmes de rotation des cultures sont les suivants : (1) réduction de l'utilisation d'engrais azotés inorganiques et des émissions de CO₂, (2) amélioration des propriétés physiques du sol et le maintien de sa fertilité, (3) la réduction des maladies et des ravageurs (4) un effet positif sur la composition de la population microbienne dans la rhizosphère et finalement (5) un rendement plus élevé et une meilleure qualité des cultures suivantes.

1.5.2. Blé dur (*Triticum durum*)

1.5.2.1. Origine, génétique et taxonomie du *Triticum durum*

Origine géographique

La découverte du blé remonte à 15.000 ans avant Jésus-Christ dans la région du croissant fertile, vaste territoire comprenant, la vallée du Jourdain et des zones adjacentes de Palestine, de la Jordanie, de l'Iraq, et la bordure Ouest de l'Iran (Feldman et Sears, 1981). Selon Grignac (1978), c'est à partir de cette zone d'origine que l'espèce s'est différenciée vers trois différentes régions : le bassin occidental de la méditerranée, le sud de l'ex URSS et le proche orient, chaque centre de différenciation donne des caractères morphologiques et physiologiques particuliers.

Origine génétique

En effet, la découverte des progéniteurs sauvages des blés cultivés aboutit à la première classification naturelle des espèces de blé par Schultz (1913) qui, bien vite, a été renforcée par l'étude cytologique pionnière de Sakamura (1918). Ces études ont démontré l'existence de trois différents types de blés du genre *Triticum* ;

- les blés diploïdes (engrain ou petit épeautre $2n = 2x = 14$, génome AA),
- les blés tétraploïdes (amidonnier, blé dur, blé poulard, blé de Pologne, blé de Perse $2n = 4x = 28$, génomes AA et BB) et
- les blés hexaploïdes (épeautre, blé tendre, blé hérisson, blé compact $2n = 6x = 42$, génomes AA, BB et DD).

D'autres études de cytogénétique mirent en évidence que les différents blés formaient une série allopolyploïde avec $x = 7$ (Feldman, 2001 ; Feldman et Levy, 2005). En effet, les espèces de blé tirent leur origine génétique de croisements naturels entre *Triticum monococcum*, *Triticum urartu* et des espèces sauvages apparentées appartenant à *Aegilops* (*Aegilops speltaoides*). *Triticum monococcum* et *Triticum urartu* sont les premières formes de céréales cultivées, elles sont de constitution génomique ($2n = 14$). Ainsi le génome A vient de *Triticum urartu*, alors que le génome B vient de l'*Aegilops speltaoides*. Ces deux génomes, ensemble, forment la constitution génomique du blé dur (*Triticum durum* Desf.) (Feldman et Sears, 1981). Le blé dur est dit allotetraploïde (allo, du grec, signifiant «différent»). En termes historiques, le blé allotetraploïde s'est développé il y a environ 300 000 à 500 000 ans (Huang *et al.* 2002).

Classification taxonomique

Le blé dur est une plante annuelle, monocotylédone, appartenant au genre *Triticum* et à l'espèce *durum* (Desfontaines). Selon Brouillet *et al.* (2006) la classification du blé dur est la suivante :

Kingdom	<i>Plantae</i>
Subkingdom	<i>Tracheobionta</i>
Superdivision	<i>Spermatophyta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Class	<i>Liliopsida</i>
Subclass	<i>Commelinidae</i>
Order	<i>Cyperales</i>
Family	<i>Poaceae</i>
Genus	<i>Triticum L</i>
Species	<i>Triticum durum Desf</i>

1.5.2.2. Importance du blé dur

Bien que le blé tendre (*Triticum aestivum* L.), le maïs (*Zea mays* L) et le riz (*Oryza sativa* L.) soient les céréales les plus produites à travers le monde, il n'en demeure pas moins que le blé dur (*Triticum durum* Desf.) occupe une place importante dans certaines régions du monde, notamment les zones semi-arides dont le climat est de type méditerranéen (Pena et Pfeiffer, 2005). Le blé est principalement utilisé pour l'alimentation humaine, mais sert aussi à l'alimentation du bétail. Le grain du blé dur est connu pour sa dureté, ses protéines, sa couleur jaune intense, son goût de noisette et ses excellentes qualités culinaires (Kneipp, 2008). Il a également une grande valeur nutritionnelle, suite à sa richesse en protéine et la présence du gluten qui donne aux pâtes alimentaires une meilleure tenue à la cuisson (Troccoli *et al.* 2000). En effet, il sert à la production de pâtes alimentaires, du couscous, et à bien d'autres mets comme le pain, et divers gâteaux (Troccoli *et al.* 2000). La paille est utilisée comme litière et comme aliment pour les animaux (Abbas et Abdelguerfi, 2005).

Cependant, le blé dur a besoin d'être cultivé sur des sols très fertiles et riche en azote où des céréales riches en protéines peuvent être produites, car des teneurs en protéines supérieures à 12% sont requises pour satisfaire aux qualités du marché. Les niveaux de protéines inférieurs à 10% ne peuvent être commercialisés que comme aliments pour animaux (DAFF 2012).

I.5.2.3. Blé dur en Algérie

En Algérie la céréaliculture constitue la principale activité, notamment dans les zones arides et semi-arides. Les terres annuellement emblavées représentent 3,6 millions d'hectares. Le blé dur est une ancienne culture dont l'origine remonte à la venue des arabes (Ducellier, 1931). Connus sous le nom de « Guemh », ils étaient les seuls blés cultivés par les populations algériennes locales avant l'installation des colons européens. Selon Bœuf (1932) la multitude des formes rencontrées en Afrique du Nord serait due aux hybridations et aux croisements qui se produisaient spontanément. Cette diversité, rencontrée en Algérie et dans d'autres régions nord-africaines, a fait considérer le Nord de l'Afrique comme l'un des principaux centres secondaires d'origine du *Triticum durum* (Abdelguerfi et Laouar, 2000).

Malgré l'importance de cette culture, les rendements de la céréaliculture algérienne sont très bas, comparativement à la moyenne mondiale, et celles des pays voisins (Fao stat, 2010), par contre la consommation augmente sans cesse et rapidement. Ces deux facteurs de production/consommation situent l'Algérie comme premier importateur mondial de blé dur avec un taux d'achat de 40 à 50 % des quantités échangées sur le marché mondial (2 à 2,5 millions de tonnes sur 5 à 6 millions de tonnes échangées) (Rachedi, 2003). L'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) prévoit une diminution de 38% de la récolte céréalière en Algérie en 2021 par rapport à l'année précédente. En parallèle, l'organisation onusienne prévoit une augmentation des importations algériennes de céréales qui devraient connaître une hausse de 25% par rapport à l'année précédente.

I.6. Déficit hydrique

La sécheresse constitue un sérieux défi pour la productivité agricole dans les régions arides et semi-arides du monde (Ullah *et al.* 2017). C'est l'un des facteurs environnementaux les plus importants affectant la croissance et le rendement des plantes dans le monde (Gollmack *et al.* 2014) en affectant leurs morphologies, physiologies et biochimies (Anjum *et al.* 2011). Globalement, la sécheresse est un intervalle de carence en eau (Borlaug et Dowsell, 2005), entraînant un déficit en eau du sol et, par conséquent, un déficit hydrique. Le manque d'eau dans l'environnement constitue un stress lorsqu'il induit des dommages chez la plante (Figure I.6). Le déficit hydrique de la plante perturbe de nombreuses fonctions de la cellule et de la plante entière, ce qui a un impact négatif sur la croissance et la reproduction des plantes (Bray,

2001). La sécheresse devrait causer de graves problèmes de croissance de plantes pour plus de 50% des terres arables d'ici 2050 (Kasim *et al.* 2012).

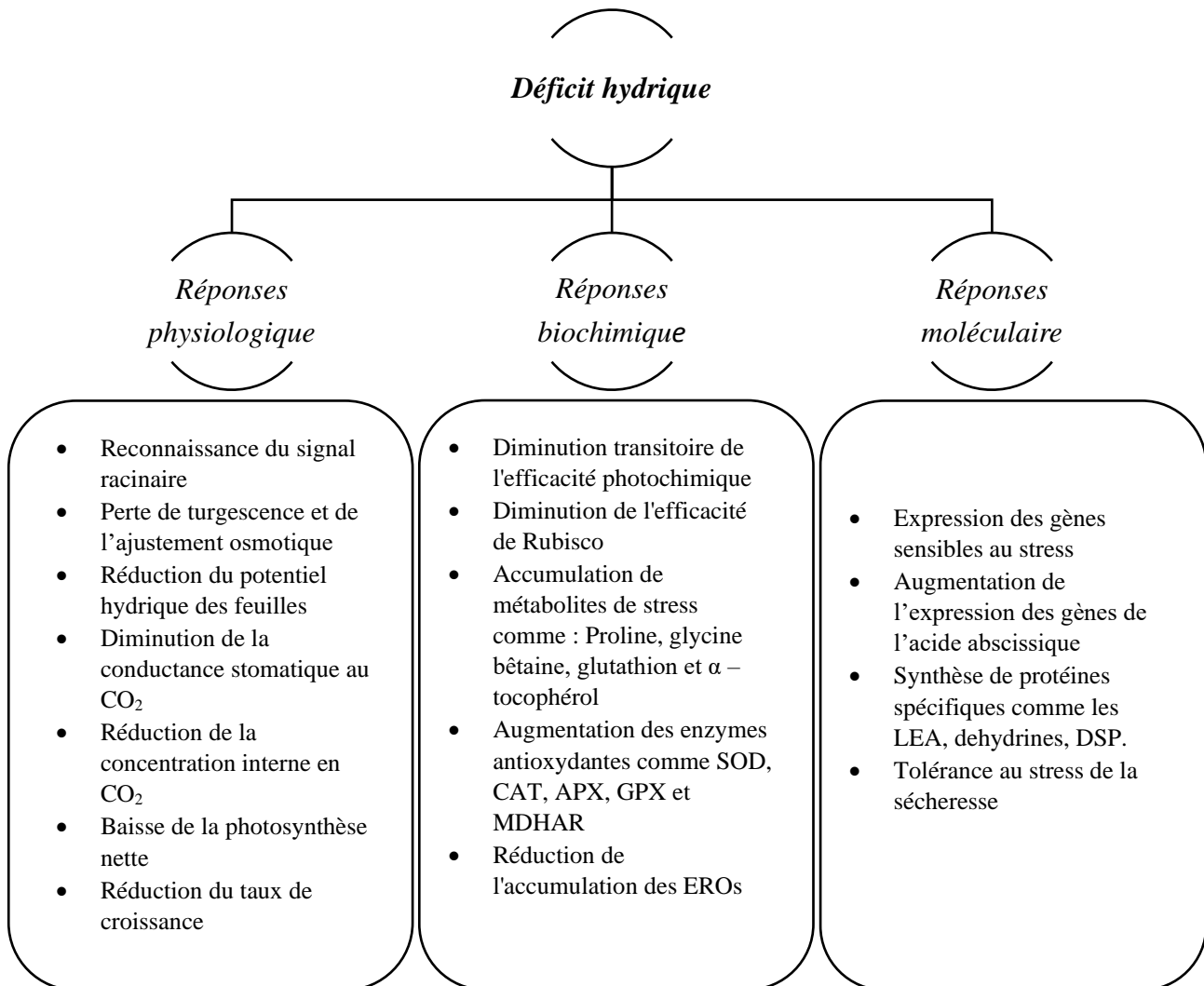


Figure I.6. Réponses physiologiques, biochimiques et moléculaires au stress hydrique chez les plantes supérieures (Reddy *et al.* 2004).

Toutefois, la diversité même des espèces de plantes cultivées dans toutes les régions climatiques qui comprennent des conditions sèches extrêmes suggère que, dans la nature, les plantes ont évolué pour supporter le stress dû à la sécheresse grâce à un éventail d'adaptations morphologiques, physiologiques et biochimiques (Basu *et al.* 2016). Le génotype détermine la capacité de la plante à survivre et à prospérer dans des environnements à faible disponibilité en eau. En outre, la durée du stress hydrique, le taux d'imposition du stress et le stade de développement de la plante au moment de l'imposition du stress affectent également la croissance des plantes (Bray, 2001). Un mécanisme de détection initie les réponses au déficit hydrique, qui se produisent aux niveaux moléculaire, métabolique, physiologique et développemental.

1.6.1. Effets du déficit hydrique sur la croissance et le développement des plantes

L'effet principal de la sécheresse est une germination altérée et un mauvais établissement du peuplement (Kaya *et al.* 2006). Le déficit hydrique affecte aussi la croissance et la production des plantes en abaissant le statut hydrique et la turgescence des tissus (Farooq *et al.* 2014). Ainsi, la gravité, la durée et le moment du déficit hydrique, ainsi que les réponses des plantes après l'élimination du stress, et l'interaction entre le stress et d'autres facteurs sont extrêmement importants (Plaut, 2003).

En effet, La croissance est accomplie par la division cellulaire, l'agrandissement et la différenciation cellulaires, et implique des événements génétiques, physiologiques, écologiques et morphologiques et leurs interactions complexes. La qualité et la quantité de la croissance des plantes dépendent de ces événements, qui sont affectés par le déficit hydrique. La croissance cellulaire est l'un des processus physiologiques les plus sensibles à la sécheresse en raison de la réduction de la pression de turgescence (Taiz et Zeiger, 2006). En cas de carence sévère en eau, l'élongation cellulaire des plantes supérieures peut être inhibée par l'interruption du flux d'eau du xylème vers les cellules allongées environnantes (Nonami, 1998). Une mitose, un allongement et une expansion cellulaires réduits entraînent une réduction de la hauteur des plantes, de la surface foliaire et de la croissance des cultures en période de sécheresse (Nonami, 1998 ; Kaya *et al.* 2006 ; Hussain *et al.* 2008). Le poids frais et la teneur en eau sont donc des paramètres de croissance courants qui sont affectés par la sécheresse (Jaleel *et al.* 2009). Par ailleurs, le stress hydrique influence la disponibilité et le transport des nutriments du sol, car les nutriments sont transportés jusqu'aux racines par l'eau. Le déficit hydrique diminue donc la diffusion des nutriments et le débit massique des nutriments hydrosolubles tels que le nitrate, le sulfate, le Ca, le Mg et le Si (Barber, 1995 ; Selvakumar *et al.* 2012). En effet, la croissance des plantes est aussi altérée par un déficit hydrique sévère en raison d'une diminution de l'ouverture des stomates, ce qui limite l'absorption de CO₂ et réduit donc l'activité photosynthétique (Osakabe *et al.* 2014). Par exemple, chez la luzerne (*Medicago sativa*), le potentiel de germination, la longueur des hypocotyles et les poids frais et secs des pousses et des racines ont été réduits par le déficit en eau induit par le polyéthylène glycol, tandis que la longueur des racines a augmenté (Zeid et Shedeed, 2006). Cependant, chez le riz, le stress hydrique pendant le stade végétatif a considérablement réduit la croissance et le développement de la plante (Tripathy *et al.* 2000 ; Manikavelu *et al.* 2006).

À mesure que la turgescence cellulaire approche de zéro, la croissance sera inhibée. L'expansion cellulaire ou la croissance dépend de la turgescence cellulaire. La pression du contenu cellulaire contre la paroi cellulaire est la force motrice de l'expansion cellulaire et la turgescence dépend

de l'absorption d'eau. Le stade de développement de la plante au moment de l'apparition du déficit hydrique modifiera le résultat. La croissance reviendra si la turgescence est rétablie au fur et à mesure que la plante s'acclimate au stress hydrique.

Par ailleurs, une sécheresse importante est capable non seulement de réduire la croissance et le développement des plantes, mais également d'altérer la production des fleurs et le remplissage des grains, donnant lieu souvent à des grains moins nombreux et de taille inférieure. Sans oublier qu'une réduction du remplissage des grains se produit généralement en raison d'une réduction des assimilats photosynthétiques et une altération de l'activité des enzymes de synthèse du saccharose et de l'amidon (Farooq *et al.* 2009). A cet égard, un impact induit par la sécheresse sur le rendement a été observé chez de nombreuses espèces cultivées et dépend considérablement de la sévérité et la durée de la période d'exposition au stress. Bien que chez le blé la sécheresse affecte sa croissance à tous les stades phénologiques, les phases de reproduction et de remplissage du grain sont les plus sensibles (Pradhan *et al.* 2012). Les épisodes de sécheresse terminale du blé sont courants dans les climats méditerranéens et entraînent des réductions substantielles du rendement en grains (Loss et Siddique, 1994 ; Araus *et al.* 2002 ; Turner, 2004). Par exemple, une légère sécheresse post anthèse a réduit les rendements en blé de 1 à 30 % tandis qu'une légère sécheresse prolongée à la floraison et au remplissage des grains a réduit les rendements en grains de 58 à 92 %. Les effets de la sécheresse terminale sur les rendements du blé sont susceptibles d'augmenter dans un proche avenir (Araus *et al.* 2002 ; Dias de Oliveria *et al.* 2013). Chez l'orge (*Hordeum vulgare*), le stress hydrique a réduit le rendement en grains en réduisant le nombre de talles, d'épis et de grains par plante et le poids individuel des grains. Le stress hydrique post-anthèse a été préjudiciable au rendement en grains quelle que soit la sévérité du stress (Samarah, 2005).

Tout compte fait, le déficit hydrique tant que stress multidimensionnel affecte divers compartiments sub-cellulaires, organes cellulaires et plante entière (Choluj *et al.* 2004 ; Rahdari *et al.* 2012). Ainsi, la sécheresse affecte négativement la quantité et la qualité de la croissance des plantes. Par conséquent, afin de produire plus de nourriture, il est capital de comprendre les divers mécanismes de régulation qui contrôlent et améliorent les réponses adaptatives au stress chez différentes espèces végétales pour atteindre les objectifs fixés (Osakabe *et al.* 2014). Dès lors, dans le monde entier, des recherches approfondies sont menées pour développer des stratégies pour faire face au déficit hydrique grâce au développement de variétés tolérantes à la sécheresse, en modifiant les calendriers de culture, les pratiques de gestion des ressources, etc. (Venkateswarlu et Shanker, 2009) et la plupart de ces technologies sont coûteuses. Des études

récentes indiquent que les micro-organismes peuvent également aider les plantes à faire face au stress de la sécheresse (Vurukonda *et al.* 2015).

1.6.2. Effet du déficit hydrique sur la conductance stomatique et la photosynthèse

La première réponse, de pratiquement toutes les plantes, à un déficit hydrique aigu est la fermeture de leurs stomates pour empêcher la perte d'eau par transpiration (Mansfield et Atkinson, 1990) et de maintenir ainsi le potentiel hydrique foliaire le plus haut possible. La conductance stomatique est reliée au mouvement stomatique : une diminution de la conductance traduit une fermeture stomatique, et à l'inverse une augmentation de la conductance traduit une ouverture stomatique. Les stomates permettent une régulation fine des échanges de vapeur d'eau et de CO₂ contrôlant ainsi le taux de transpiration et de photosynthèse (Farquhar & Sharkey, 1982). De façon générale, la conductance stomatique et l'assimilation carbonée sont étroitement liées. En effet, la fermeture stomatique réduit l'absorption de CO₂ et de nutriments, modifiant ainsi les voies métaboliques telles que la photosynthèse (Xiong et Zhu 2002). Selon la durée du déficit hydrique, cela peut réduire la production agricole et endommager les chloroplastes par le processus de photoinhibition (Bray, 2001). L'acide abscissique (ABA) a été identifié comme un des signaux chimiques impliqués dans la régulation stomatique (Tardieu *et al.* 2010).

Diverses expériences ont montré que les réponses stomatiques sont souvent plus étroitement liées à la teneur en eau du sol qu'à l'état hydrique des feuilles. Cela suggère que les stomates répondent aux signaux chimiques, par ex. l'acide abscissique, produit par la déshydratation des racines, tandis que l'état hydrique des feuilles est maintenu constant (Turner *et al.* 2001). D'autres hormones peuvent être impliquées dans la régulation stomatique, par exemple, une concentration accrue de cytokinine dans la sève du xylème favorise directement l'ouverture des stomates et affecte la sensibilité des stomates à l'acide abscissique (Wilkinson et Davies, 2002).

Il est donc clair que les stomates se ferment progressivement à mesure que la sécheresse progresse, suivi d'un déclin parallèle de la photosynthèse nette. Cependant, la conductance stomatique n'est pas contrôlée par la seule disponibilité en eau du sol, mais par une interaction complexe de facteurs intrinsèques et extrinsèques (Farooq *et al.* 2009).

L'exposition prolongée des plantes à un stress hydrique important peut conduire à de plus sérieuses inhibitions du processus photosynthétique. Un effet majeur de la sécheresse est la réduction de la photosynthèse, qui résulte d'une diminution de l'expansion des feuilles, d'une

altération de la machinerie photosynthétique, d'une sénescence prématurée des feuilles et d'une réduction associée de la production alimentaire (Wahid et Rasul, 2005).

Le taux de photosynthèse réduit est principalement dû à la fermeture stomatique dès les premiers stades de déshydratation ou à une altération métabolique (23). La fermeture des stomates entraîne une privation de carbone et il s'en suit, par conséquent, une surcharge de la capacité photochimique (Chaves, 1991). Un tel scénario se traduit généralement par une quantité de lumière absorbée qui dépasse la capacité des chloroplastes à utiliser les produits des réactions photochimiques. Faute d'une activation de mécanismes de protection, l'excès d'énergie absorbée peut induire des dommages photo-oxydatifs irréversibles. De telles dérégulations peuvent diminuer significativement le taux photosynthétique, la teneur en chlorophylle et l'efficacité photochimique maximale du PSII (F_v / F_m) (Xiang *et al.* 2013). De plus, la poursuite des réactions lumineuses photosynthétiques sous concentration intercellulaire limitée en CO_2 conduit à la perte d'équilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (EROs) et la défense antioxydante (Fu et Huang, 2001 ; Reddy *et al.* 2004), provoquant une accumulation d'EROs qui induisent un stress oxydatif qui endommagent l'appareil photosynthétique, les protéines, les lipides membranaires et d'autres composants cellulaires (Lawlor *et al.* 2002). Chez des plantes stressées de fève, par exemple, une diminution significative des paramètres tels que le taux de photosynthèse, la teneur en chlorophylle, l'efficacité photochimique maximale du PSII (F_v / F_m) ont été mis en évidence en conditions de déficit hydrique (Xiang *et al.* 2013).

1.6.3. Effet du stress hydrique sur le statut hydrique

Suite à la diminution de la disponibilité en eau dans l'environnement au cours d'une période de sécheresse, le statut hydrique de la plante se retrouve perturbé. A cette perturbation s'ajoute l'altération des teneurs en ions et de l'absorption en eau causée par la déshydratation cellulaire.

Il faut souligner que la teneur relative en eau (TRE), le potentiel hydrique des feuilles, l'ouverture des stomates, le taux de transpiration, la température des feuilles sont des caractéristiques importantes déterminant le statut hydrique des plantes. En effet, la diminution du potentiel hydrique des feuilles entraîne la fermeture des stomates et contribue au maintien de la turgescence (Morgan, 1984). Il convient d'ajouter que la turgescence est principalement maintenue par ajustement osmotique, suite à la fois d'une accumulation nette de solutés inorganiques (Chaves et Oliveira 2004) et des solutés compatibles dits osmolytes (Farooq *et al.* 2009). Ces derniers constituent de petits groupes de composés organiques qui contribuent au

maintien de l'ajustement osmotique et comprennent la proline, la glycine bêtaïne ainsi que les sucres. La contrainte hydrique entraîne souvent, chez une grande majorité de plantes une considérable chute de la TRE. Plusieurs travaux ont démontré que la contrainte hydrique diminue le potentiel d'eau foliaire et le taux de transpiration, avec une augmentation concomitante de la température des feuilles chez le blé et le riz (Siddique *et al.* 2000) ainsi que chez la fève (Ammar *et al.* 2017).

1.6.4. Effet du stress hydrique sur l'intégrité membranaire

Le déficit hydrique à n'importe quel stade de développement de la plante augmente la peroxydation des lipides membranaires (Hasanuzzaman *et al.* 2018). L'oxydation de ces lipides donne naissance à un certain nombre de produits secondaires, délétères pour la plupart et dont le produit principal est le malondialdéhyde (MDA). Ce dernier est le produit plus étudié de la peroxydation des acides gras polyinsaturés. Cet aldéhyde est une molécule hautement toxique, considéré comme un indicateur de dégât oxydatif (Nahar *et al.* 2015; Nahar *et al.* 2016) et dont l'accumulation accrue en conditions de stress est associée à une faible tolérance (Hossain *et al.* 2016). En effet, éviter les dommages causés aux membranes cellulaires est un point clé pour que la plante résiste au stress hydrique (Camaille *et al.* 2021). Dès lors, face au déficit hydrique les cellules végétales se trouvent contraintes à préserver l'intégrité de leurs membranes cellulaires (plasmiques et intracellulaires) pour assurer le bon déroulement des processus vitaux. Entre autres, les phospholipides membranaires sont les principaux composants des interfaces entre les milieux intra et extracellulaires chez les plantes. Les radicaux libres tels que les EROs, engendrés par la perturbation de l'homéostasie cellulaire sous contrainte hydrique peuvent provoquer une peroxydation des lipides membranaires. L'oxydation de ces lipides donne naissance à un certain nombre de produits secondaires, délétères pour la plupart, dont le MDA. Le stress hydrique, subit à différents degrés de sévérité chez différentes espèces de plantes, augmente la peroxydation lipidique membranaire, indiquée par la teneur élevée en MDA (Iqbal *et al.* 2015 ; Hasanuzzaman *et al.* 2018).

1.6.5. Ajustement Osmotique

L'une des stratégies de tolérance au stress les plus courantes chez les plantes est la surproduction de différents types de solutés organiques compatibles (Serraj et Sinclair, 2002). On parle alors d'ajustement osmotique (AO) qui est défini comme un processus d'accumulation de soluté dans les cellules en division lorsque le potentiel hydrique est réduit, contribuant ainsi au maintien de la turgescence (Chaves et Oliveira 2004). Ces solutés compatibles qui s'accumulent, appelés osmolytes, comprennent des sucres solubles, des alcools de sucre, de la

proline, de la glycine-bétaïne, des acides organiques, du calcium, du potassium, des ions chlorure, etc (Farooq *et al.* 2009). Ils sont généralement considérés comme neutres pour les processus métaboliques et ne perturbent donc pas le fonctionnement des plantes (Bray 2001). En cas de déficit hydrique et d'accumulation de soluté, le potentiel osmotique de la cellule diminue, ce qui attire l'eau dans la cellule et contribue au maintien de la turgescence. Grâce à l'AO, les organites et les activités cytoplasmiques ont un rythme normal et aident les plantes à mieux se comporter en termes de croissance, de maintien de la conductance stomatique, de photosynthèse, à la répartition des assimilats et au remplissage des grains (Subbarao *et al.* 2000 ; Chaves et Oliveira 2004 ; Farooq *et al.* 2009).

Des études antérieures ont montré que les variétés de blé résistantes à la sécheresse, avec une stabilité de rendement en cas de sécheresse, ont une plus grande capacité d'osmorégulation que les variétés moins résistantes (Serraj et Sinclair 2002). L'accumulation de solutés compatibles tels que la proline et la glycine bétaïne aide à protéger les plantes des effets néfastes du stress hydrique non seulement par l'AO, mais également par la détoxification des ERO, la protection de l'intégrité membranaire et la stabilisation des enzymes ou des protéines (Ashraf et Foolad 2007). Cependant, il y a certaines plantes dans lesquelles les sucres sont les principaux osmolytes qui jouent un rôle important dans l'AO, y compris le saccharose, le tréhalose, le glucose et le fructose (Basu *et al.* 2016).

Comme mentionné ci-dessus, l'AO est accompli avec l'accumulation de solutés compatibles. Parmi ceux-ci, la proline est l'un des cytosolutes les plus importants et son accumulation libre est une réponse généralisée chez les plantes supérieures (Wahid et Close, 2007). L'accumulation de la proline en réponse au déficit hydrique se produit par une synthèse accrue et une diminution de la dégradation (Bray 2001). Il a été rapporté que la proline contribue à l'AO et à la protection des composants subcellulaires (Camaille *et al.* 2021), cependant, son accumulation contribue légèrement à l'AO mais est principalement impliquée dans la protection des organes et des fonctions cellulaires (Blum 2007). La concentration cellulaire en autres acides aminés augmente également lors d'un stress hydrique, en raison de la dégradation des protéines, qui est une réaction contribuant à l'AO, mais aussi en raison d'une synthèse de novo d'acides aminés (Blum 2007 , Kaushal et Wani 2016). De nombreuses études ont rapportées l'augmentation de la teneur en proline sous l'effet du stress hydrique, chez les cultivars de fève (Abid *et al.* 2017 ; Kabadj *et al.* 2017).

Le sucre agit soit comme un substrat pour la respiration cellulaire, soit comme un osmolyte pour maintenir l'homéostasie cellulaire (Gupta et Kaur, 2005). La concentration de sucres solubles chez les plantes est affectée à la fois par les conditions environnementales et les

caractéristiques variétales (Camaille *et al.* 2021). De nombreux stress environnementaux, dont la sécheresse, entraînent des altérations majeures du métabolisme des glucides et les voies de signalisation des sucres interagissent avec les voies de stress pour moduler le métabolisme (Gong *et al.* 2015). Indirectement, les sucres jouent un rôle important au cours de la croissance et du développement des plantes sous stress abiotique dans la régulation du métabolisme des glucides. Un grand nombre de gènes sensibles au stress ont été signalés comme étant induits par le glucose, indiquant le rôle des sucres dans les réponses environnementales (Yue *et al.* 2015). Chez le blé, les sucres solubles contribuent le plus à l'AO lorsqu'ils sont soumis à un déficit hydrique (Camaille *et al.* 2021). La teneur totale en sucres solubles peut augmenter de 80 % chez le blé sept jours après l'exposition au stress hydrique [Blum 2007 ; Gontia-Mishra *et al.* 2016).

En fait, les plantes peuvent résister au stress de la sécheresse en conservant l'eau des cellules et des tissus principalement par ajustement osmotique, en maintenant le système de défense antioxydant pour éliminer les espèces réactives de l'oxygène et en stabilisant les membranes cellulaires. Les régulateurs de croissance des plantes et les polyamines, l'acide γ -aminobutyrique, les acides aminés libres et les sucres jouent également un rôle essentiel dans la tolérance à la sécheresse en contrôlant les espèces oxygénées réactives, la régulation stomatique et la protection des macromolécules vitales.

1.6.6. Espèces réactives à l'oxygène (ERO) et défense antioxydante chez les plantes soumises à un stress abiotique

La sécheresse provoque la fermeture des stomates, une entrée réduite de CO₂ et un taux de photosynthèse altéré, ainsi qu'un déséquilibre dans l'utilisation de la lumière et une photochimie altérée dans les chloroplastes, provoquant un stress oxydatif par une surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Hasanuzzaman *et al.* 2020). Le "stress oxydant" est une terminologie généralement utilisée pour désigner toute agression ayant pour conséquence une concentration accrue d'EROs. Parmi les EROs on trouve les radicaux libres (anion superoxyde, (O₂^{•-}); radical hydroperoxyde, HO₂ ; radical alcoxy, RO[•] ; et radical hydroxyle, [•]OH) et des molécules non radicalaires (peroxyde d'hydrogène, H₂O₂ et oxygène singulet, ¹O₂) (Mehla *et al.* 2017 ; Hasanuzzaman *et al.* 2019). La limitation de la fixation du CO₂ diminuera la régénération du NADP⁺ au cours du cycle de Calvin, déclenchant ainsi un déclin de la chaîne de transport d'électrons photosynthétique (Camaille *et al.* 2021). En effet, il y a une plus grande fuite d'électrons vers l'O₂ par la réaction de Mehler à travers la photosynthèse sous stress hydrique, atteignant 50 % chez le blé stressé par la sécheresse (Biehler and Fock 1996). Les

principaux sites de génération de ROS cellulaires sont les chloroplastes, les mitochondries, les peroxysomes, les apoplastes et les membranes plasmiques (Singh *et al.* 2019). Bien que les ERO se forment à une certaine concentration dans la plante dans le cadre du métabolisme cellulaire normal, une suraccumulation due au stress endommage gravement les composants cellulaires nécessaires, notamment les glucides, les protéines, les lipides, l'ADN, etc. en raison de leur nature hautement réactive (Raja *et al.* 2017). Chronologiquement, il y a d'abord une augmentation de la teneur en EROs dans les cellules végétales, puis une augmentation de l'expression des gènes codant pour les antioxydants et, enfin, une intensification des systèmes antioxydants conduisant à une meilleure tolérance au stress hydrique (Mano, 2002).

1.6.7. Système antioxydants

Pour faire face au stress oxydatif, un grand nombre de molécules antioxydantes est produit chez les plantes, se chargeant d'éliminer directement ou indirectement les EROs et/ou de contrôler leur production afin de maintenir l'homéostasie cellulaire (Jubany-mari *et al.* 2010 ; Carocho et Ferreira 2013 ; Pandey *et al.* 2017) et dans les circonstances les plus extrêmes de garantir la survie de ces dernières. Le système de défense antioxydant est constitué d'antioxydants non enzymatiques de bas poids moléculaire et de certaines enzymes antioxydantes (Hasanuzzaman *et al.* 2019). Parmi les molécules non enzymatique on trouve l'acide ascorbique (AsA), le glutathion (GSH), les acides phénoliques ; les alcaloïdes ; les flavonoïdes ; les caroténoïdes ; les α -tocophérol ; les acides aminés non protéiques ; les sucres ; etc (Gill et Tuteja 2010 ; Kaur *et al.* 2019). Ces composés non enzymatiques fonctionnent de manière coordonnée avec les enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase (SOD) ; la catalase (CAT) ; l'ascorbate peroxydase (APX) ; la guaiacol peroxydase (GPX) ; glutathion réductase (GR) ; monodéhydroascorbate réductase (MDHAR) ; déhydroascorbate réductase (DHAR) ; glutathion réductase (GR) ; monodéhydroascorbate réductase (MDHAR) ; déhydroascorbate réductase (DHAR) ; etc. La réaction catalytique des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques et les sites de réaction dans les organes cellulaires sont représentés dans le tableau 1.

Tableau I.1. : Systèmes enzymatiques et non enzymatique présents chez les plantes, leurs fonctions et leurs localisations (Pandey et al. 2017 ; Kabbadj, 2019).

Antioxydants Non enzymatique	Réaction catalysée	Sites des réactions catalytiques
Acide Ascorbique (AsA)	Elimine Le H ₂ O ₂ via l'action de l'APX Elimine O ₂ ^{•-} , H ₂ O ₂ , [•] OH, and ¹ O ₂	Peroxisomes, Mitochondries, Cytosol, Chloroplaste, apoplasme
Glutathion (GSH)	Agit comme un co-substrat détoxifiant pour les enzymes (POX, GST, GR...) Elimine H ₂ O ₂ , [•] OH, and ¹ O ₂	Peroxisomes, Mitochondries, Cytosol, Chloroplaste, apoplasme
Tocophérol	Protège et détoxifie la membrane des produits de la peroxydation lipidique Elimine [•] OH, ¹ O ₂ , ROO [•] and ROOH	Membrane thylacoïdienne du chloroplaste
Caroténoïdes	Elimine principalement ¹ O ₂	Chloroplaste
Flavonoïdes	Elimine/capteurs d'O ₂ ^{•-} , H ₂ O ₂ , and ¹ O ₂	Chloroplaste et vacuole
Acides phenoliques	Capteurs d'O ₂ ^{•-} , [•] OH, ROO [•] and ONOO [•]	Paroi cellulaire
Proline	Epurateur efficacities des radicaux [•] OH, et ¹ O ₂	Mytochondries, cytosol et chloroplastes
Antioxydants enzymatique	Réaction catalysée	Sites des réactions catalytiques
Superoxyde dismutase (SOD ; EC 1.15.1.1)	$2 O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$	Chloroplaste, Peroxisome, Mitochondrie, Cytosol
Catalase (CAT ; EC 1.11.1.6)	$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$	Peroxisome
Ascorbate peroxidase (APX ; EC 1.11.1.11)	$H_2O_2 + AsA \rightarrow 2H_2O + MDHA$	Chloroplaste, peroxysome, cytosol, Mitochondrie, apoplast
Guaiacol peroxydase (GPX ; EC 1.11.1.7)	$H_2O_2 + GSH \rightarrow H_2O + GSSG$	Mitochondries, cytoplasme, chloroplastes et RE
Glutathion réductase (GR ; EC 1.6.4.2)	$GSSG + NADPH + H^+ \rightarrow GSH + NADP^+$	Chloroplast, Cytosol, Mitochondrie
Monodehydroascorbate reductase (MDHAR; EC 1.6.5.4)	$MDHA + NAD(P)H \rightarrow AsA + NAD(P)^+$	Chloroplast, Cytosol, Mitochondrie
Polyphenol oxidase (PPO; EC 1.14.18.1)	$PhOH + O_2 \rightarrow Catechols$ $Catechols + O_2 \rightarrow Q + H_2O$	Membrane thylacoïde du chloroplaste, du cytosol et de la vacuole

La majorité de ces enzymes de détoxification, sont présentes sous forme de familles multigéniques chez les plantes supérieures. Différentes formes de leurs isoenzymes, qui sont classées sur la base de leur localisation sub-cellulaire, se caractérisent par des propriétés structurales et cinétiques différentes (Noctor *et al.* 2018 ; Pandey *et al.* 2017).

La métallo-enzyme SOD est l'antioxydant enzymatique intracellulaire le plus efficace qui est omniprésent dans tous les organismes aérobies et dans tous les compartiments subcellulaires sujets au stress oxydatif médié par les EROs (Gill et Tuteja, 2010). Les SOD sont classés par leurs cofacteurs métalliques en trois types connus : le cuivre/zinc (Cu/Zn-SOD), le manganèse (Mn-SOD) et le fer (Fe-SOD), qui sont localisés dans différents compartiments cellulaires (Mittler, 2016). L'activité des isozymes SOD peut être détectée par coloration négative et identifiée sur la base de leur sensibilité au KCN et au H₂O₂. La SOD joue un rôle clefs dans la tolérance au stress des plantes car elle constitue la première ligne de défense contre les effets toxiques des niveaux élevés des EROs. En effet, il a bien été noté que l'O₂^{•-} est généralement le premier EROs à être généré (Gill et Tuteja, 2010). L'excès d'O₂^{•-} active la SOD qui élimine l'O₂^{•-} en catalysant sa dismutation en le réduisant en H₂O₂ et un autre oxydé en O₂ (tableau 1). Bien que le radical O₂^{•-} a une durée de vie de l'ordre de quelques secondes, mais ceci lui permet quand même de diffuser au-delà de son lieu de production pour atteindre ses cibles (Parent *et al.* 2008). La génération d'O₂ peut déclencher la formation des EROs plus réactifs comme OH, et plus probablement ¹O₂ (Halliwell, 2006 ; Elstner, 1987), dont chacun peut provoquer une peroxydation des lipides membranaires et un affaiblissement cellulaire (Gill et Tuteja, 2010).

Le peroxyde d'hydrogène ainsi formé n'est pas un radical libre, car tous ses électrons sont appariés, mais c'est malgré tout un intermédiaire toxique réduit qui possède une durée de vie relativement longue (quelques minutes) et comme le radical O₂^{•-}, il possède la capacité de diffuser loin de son site de production (Halliwell, 2006 ; del Rio *et al.* 2006). Ce H₂O₂ généré peut être davantage converti en H₂O par les enzymes APX, CAT, GPX, ou catalysé dans le cycle AsA-GSH. En effet, la toxicité du H₂O₂ est principalement liée à sa capacité à produire le radical [•]OH durant les réactions de Fenton et d'Haber-Weiss. Ce radical, comme les autres EROs, est particulièrement délétère vis-à-vis de tous les constituants cellulaires (ADN, protéines, lipides...), mais sa durée de vie est de l'ordre de la microseconde (Parent *et al.* 2008).

Les CAT sont des enzymes tétramériques contenant de l'hème ayant le potentiel de dismuter directement H₂O₂ en H₂O et O₂ (tableau 1) et sont indispensables à la détoxification des EROs dans des conditions de stress (Garg et Manchanda 2009). La CAT a l'un des taux de

renouvellement les plus élevés de toutes les enzymes : une molécule de CAT peut convertir \approx 6 millions de molécules de H_2O_2 en H_2O et O_2 par minute. Les CAT sont considérées, de loin, comme étant les principaux acteurs du métabolisme de l' H_2O_2 dans les peroxysomes (Noctor *et al.* 2014). Par ailleurs, la réaction de dismutation de l' H_2O_2 en molécules d'eau et d'oxygène, catalysée par la catalase ne fait pas appel à d'autres substrats (Foyer and Noctor, 2016). Contrairement à la CAT, l'APX nécessite un cycle de régénération de l'acide ascorbique (AsA) et / ou du glutathion (GSH) impliquant les MDHAR, DHAR et GR (Noctor *et al.* 2018).

On pense que l'APX joue le rôle le plus essentiel dans l'élimination des EROs et la protection des cellules des plantes supérieures (Gill et Tuteja, 2010). L'APX est impliqué dans le piégeage du H_2O_2 dans les cycles eau-eau et AsA-GSH et utilise AsA comme donneur d'électrons (tableau 1). L'APX a une plus grande affinité pour H_2O_2 (plage μM) que la CAT (plage mM) et elle peut avoir un rôle plus crucial dans la gestion des EROs pendant le stress. Une expression améliorée de l'APX dans les plantes a été démontrée dans différentes conditions de stress. Une augmentation significative de l'activité APX a été notée sous stress hydrique chez trois cultivars de *P. vulgaris* (Zlatev *et al.* 2006) et *P. asperata* (Yang *et al.* 2008).

L'APX peut être distinguée de la guaiacol peroxydase isolée des plantes (GPX) en termes de différences de séquences et de fonctions physiologiques (Gill et Tuteja, 2010). GPX décompose l'acide indole-3-acétique (IAA) et a un rôle dans la biosynthèse de la lignine et la défense contre les stress biotiques en consommant H_2O_2 . La GPX préfère les donneurs d'électrons aromatiques tels que le gâïacol et le pyragallol oxydant généralement l'ascorbate à un taux d'environ 1% de celui du gâïacol (Asada, 1996). L'activité de la GPX varie considérablement en fonction des espèces végétales et des stresses. Une augmentation concomitante de l'activité GPX dans les tissus foliaires et racinaires de *Vigna radiate* (Panda *et al.* 2001), *O. sativa* (Yamane *et al.* 2009) a été rapportée sous un stress salin.

l'ensemble de ces systèmes antioxydants collaborent, à différentes échelles, pour éliminer l'excès d'EROs non nécessaire aux processus basiques de la plante et pour stabiliser l'état biochimique interne de la cellule lors de divers stress abiotiques, conduisant à l'acclimatation et à la tolérance de la plante (Noctor *et al.* 2018).

Les plantes qui sont capables d'induire leur système antioxydant enzymatique lors d'un déficit hydrique, sont capables par ce biais de protéger la machinerie cellulaire et limiter les dommages causés par les EROs (Sofa *et al.* 2015). Par ailleurs, la fonction de certaines enzymes antioxydantes peut être non seulement de contrôler la concentration en EROs, mais aussi de

permettre à la cellule de détecter leurs variations de niveau ainsi que les perturbations du redox tout en déclenchant le processus de signalisation (Noctor *et al.* 2018).

1.6.8. Les Rhizobiums et le déficit hydrique

La température élevée, la faible humidité relative, le taux d'évaporation élevé et les précipitations rares sont les principales caractéristiques des régions arides et semi-arides. Les sols de ces régions sont généralement carencés en azote et en matière organique (Rajasekar *et al.* 2015). Ces écosystèmes sont caractérisés par un manque d'humidité et d'azote, mais la sécheresse et les stress salins sont probablement les principaux facteurs qui inhibent la croissance des organismes dans les régions arides et semi-arides (Fita *et al.* 2015 ; Rajasekar *et al.* 2015).

Dans des conditions de carence en eau, le rhizobium modifie sa structure morphologique et la morphologie modifiée entraîne une réduction de l'infection rhizobienne et de la nodulation des légumineuses et une restriction du développement et de la fonction des nodules (Pathak *et al.* 2017). En effet, les rhizobiums peuvent exister dans les sols arides et semi-arides, mais leur densité est la plus faible dans les conditions les plus desséchées ; cependant, elle augmente à mesure que le stress hydrique est atténué (Jenkins *et al.* 1989).

Cependant, certaines espèces rhizobiennes ont montré leur capacité à tolérer et à survivre dans des conditions de sécheresse et de déficit hydrique sévère (Abolhasani *et al.* 2010 ; Ullah *et al.* 2017). Ces souches peuvent supporter des conditions de sécheresse sévère par diverses stratégies d'adaptation et la production d'un certain nombre de composés, notamment des chaperons et des sucres, la synthèse de l'enzyme de stress 1-aminocyclopropane-1-acide carboxylique et la production d'exopolysaccharides, de tréhalose, d'agents solubilisants de phosphate, de sidérophores, des phytohormones, etc. (Hussain *et al.* 2014). Ces souches peuvent être utilisées pour améliorer l'impact de la sécheresse sur les plantes et pour les aider à tolérer des conditions défavorables en produisant des changements physiques et chimiques (Yang *et al.* 2009). Des études sur la symbiose *Rhizobium*-légumineuse montrent que la teneur en trehalose des nodules soumis à un stress hydrique est positivement corrélée à une augmentation de la tolérance des plantes à ce stress. Wadisirisuk *et al.* (1989) ont observé que les rhizobiums osmotolérants peuvent migrer même dans des conditions d'humidité faible. Zahran (1999) a amélioré la nodulation et la fixation de l'azote chez *M. sativa* en inoculant les plantes avec des rhizobiums résistants à la sécheresse. Athar et Johnson (1996) ont signalé que les souches osmotolérantes de *R. meliloti* se comportent mieux que celles des rhizobiums non tolérants de la luzerne et forment une relation symbiotique efficace dans des conditions de

sécheresse. Il a été rapporté que les souches rhizobiennes ayant la capacité d'augmenter l'accumulation de solutés compatibles sont plus performantes dans les sols stressés (Straub *et al.* 1997).

1.6.9. La symbiose *Rhizobium*-légumineuse et le déficit hydrique

La symbiose *Rhizobium*-légumineuse est l'association la plus populaire dans n'importe quel écosystème et a un rôle important dans l'enrichissement en azote des sols par rapport à d'autres systèmes biologiques fixateurs d'azote et est largement utilisée pour le rendement durable des cultures et la fertilité du sol dans les pratiques agricoles (Egamberdieva *et al.* 2015). Mais encore, les systèmes de culture de légumineuses augmentent améliorent la productivité des plantes et préviennent l'érosion et la désertification (Egamberdieva *et al.* 2014). Or, cette symbiose est sensible à divers stress environnementaux, à savoir la sécheresse, le pH du sol, la température, l'engorgement, la faible teneur en phosphore et d'autres limitations en nutriments (Zahran 1999).

Par ailleurs, les légumineuses ont la capacité de modifier la composition de la communauté bactérienne du sol (Lorenzo *et al.* 2010 ; Bakhoun *et al.* 2012) et peuvent changer les communautés responsables de la fixation symbiotique de l'azote (Rodríguez-Echeverri'a 2010). La nodulation est également influencée par un certain nombre de facteurs, à savoir, le stress salin et hydrique, les températures, le type de sol, le pH, la teneur en matière organique, les populations rhizobiennes, la nature de l'hôte, etc. Dudeja *et al.* 2012; Bansal *et al.* 2014). Des études révèlent que les symbioses *Rhizobium*-légumineuse peuvent se produire dans des conditions environnementales sévères, notamment une exposition au sel, à l'aridité, à un sol acide ou alcalin, à des températures plus élevées, à une carence en éléments nutritifs et à la toxicité du sol (Zahran 1999; Sadowsky 2005). Les stress environnementaux associés à la symbiose *Rhizobium*-légumineuse ont été étudiés chez plusieurs espèces de légumineuses (Abd-Alla *et al.* 2014 ; Laranjo *et al.* 2014). Fujishige *et al.* (2006, 2008) ont rapporté que les rhizobiums établissent des biofilms sur des surfaces biotiques ou abiotiques pour leur aptitude globale dans le sol et la rhizosphère, contribuant à une symbiose efficace (Rinaudi *et al.* 2006). Les biofilms sont essentiellement des communautés bactériennes fixées à la surface d'espèces uniques ou multiples recouvertes d'une matrice extracellulaire autoproduite (Stanley et Lazazzera 2004). Dans ce biofilm, les rhizobiums sont protégés de divers stress environnementaux en raison d'un taux métabolique plus faible et d'une matrice exopolymère. Plusieurs exemples prouvent que malgré le fait que les rhizobiums ne sont pas des sporulés, ils restent viables sous un stress sévère (Gorbushina *et al.* 2007). Certaines espèces rhizobiennes

survivent dans le sol au moins 4 à 5 ans sans leur hôte (Hirsch 2010). Figueiredo *et al.* (1999) ont signalé que l'inoculation avec *Bradyrhizobium* peut améliorer l'effet négatif d'une carence en eau sur le niébé (*Vigna unguiculata*). Le déficit hydrique a affecté négativement les paramètres de croissance et de nodulation dans les combinaisons luzerne-rhizobium, tandis que les combinaisons impliquant la souche rhizobienne RhL9 ont exprimé plus de niveaux de tolérance que les autres combinaisons (Mouradi *et al.* 2016).

Alors que les études menées sur *R. phaseoli* et *R. leguminosarum* bv *phaseoli* ont montré une efficacité réduite dans la nodulation des cultures, certains de ces organismes sont connus pour avoir des attributs adaptatifs qui leur permettent de faire face aux stress grâce à la production de protéines telles que les lipopolysaccharides, les exopolysaccharides et les protéines de choc thermique (Nandal *et al.* 2005). Les rhizobiums sont capables de résister aux climats arides grâce à une meilleure capacité de rétention des nutriments et de l'eau dans la rhizosphère en raison des EPS et des catalases sécrétés. *R. phaseoli* (MR-2), *R. leguminosarum* (LR-30) et *M. ciceri* (CR-30 et CR-39) ont pu augmenter le rendement et la croissance dans les zones sujettes à la sécheresse grâce à la production de déterminants. L'une des raisons possibles de l'efficacité de ces souches peut résider dans la capacité de produire de l'acide indole acétique (IAA), ce qui améliore la longueur des racines des plantes et augmente l'efficacité de l'acquisition d'eau (Hussain *et al.* 2015).

Chapitre II :
Matériel et Méthodes

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1. Matériels biologiques

II.1.1. Fève (*Vicia faba* L. major)

Deux variétés de fèves (*Vicia faba* L. Var. Major), Aquadulce (AQD) et Maltais (MLT), introduite en Algérie en 1953, ont été sélectionnées pour cette étude. La variété AQD a été sélectionnée pour être, selon la littérature, tolérante vis-à-vis du stress hydrique (Kabbadj *et al.* 2017), tandis que la variété MLT a été sélectionnée pour sa fréquente utilisation par les agriculteurs locaux en Algérie.

II.1.2. Blé dur (*Triticum durum*)

Deux variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.), Waha (WH) et Oued Zenati368 (OZ) ont été sélectionnées pour cette étude. WH est une variété améliorée (Cimmyt - Icarda), à chaume et cycle courts, sensible à la sécheresse et aux gelées printanières. Au contraire, OZ est une variété locale ancienne à haut potentiel de production, à paille haute et à cycle végétatif relativement long avec une bonne qualité semoulière, elle est assez bonne tolérance à la sécheresse. Les graines des deux variétés étudiées, ont été obtenues auprès de l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) de Constantine.

II.1.3. Rhizobiums (*Rhizobium leguminosarum*)

Pour cette étude, deux souches de *Rhizobium leguminosarum* ont été sélectionnées. La première souche de *Rhizobium* était *Rhizobium Leguminosarum* bv. *viciae* 3841, capable de noduler les légumineuses de la tribu *Viciae* - *Vicia*, *Pisum*, *Lathyrus*, *Lens*. Elle a été reçue de l'Institut Sophia Agrobiotech, Nice, France. La seconde souche de *Rhizobium* a été isolée des nodosités de *Lens culinaris* d'une région algérienne semi-aride, la souche OL13 (Riah, 2015).

II.2. Réponse physiologique et génétique de *Vicia faba* en symbiose avec *Rhizobium leguminosarum* (souche 3841) au déficit hydrique sous conditions contrôlées.

II.2.1. Stérilisation des graines

Les graines des deux génotypes de fève ont été stérilisées en surface en les immergeant dans de l'éthanol 70% pendant 2 minutes tout en agitant. Les graines ont été rincées avec de l'eau stérile déminéralisée puis couvertes d'une solution contenant 5% d'hypochlorite de Calcium, pendant 10 min sous agitation. La solution a été éliminée et les graines ont été rincées 3 fois à l'eau stérile déminéralisée. Les graines ont ensuite été laissées à germer dans du coton stérile à 23°C à l'obscurité pendant six jours.

II.2.2. Inoculation des graines

II.2.2.1. Préparation des inoculums

Afin d'obtenir les inoculums nécessaires pour l'inoculation des graines, les souches de rhizobiums sélectionnées ont été cultivées sur un milieu spécifique solide, le Yeast Extract Mannitol (YEM) (Annexe 1) pendant 48h à 28°C. Les colonies isolées ont été prélevées et transférées dans du bouillon YEM à 30°C pendant 24h sous agitation permanente de 150 rpm. Les souches de *Rhizobium* ont ensuite été collectés par centrifugation à 5000×g pendant 20 min (deux fois 10 min). Ensuite, les cellules bactériennes (culot) ont été lavées et mises en suspension dans de l'eau distillée stérilisée et une densité cellulaire bactérienne uniforme de 10⁸ CFU (UFC= Unité Formant Colonie).mL⁻¹ a été obtenue en maintenant la densité optique à une longueur d'onde de 600 nm par un spectrophotomètre. Ces suspensions de *Rhizobium* ont été utilisées comme inoculum.

II.2.2.2. Inoculations des graines

Les plantes de toutes les variétés ont été inoculées au 3^{ème} et 8^{ème} jour après leur semis, avec la souche référence *Rhizobium leguminosarum* *bv. viciae* (souche 3841) à 0.05 à une DO 600nm.

II.2.3. Conduite des essais et application du déficit hydrique

L'essai a été mené en chambre de culture au laboratoire de l'institut Sophia Agrobiotech, Université Côte d'Azur - Nice, France. La chambre de culture a été maintenue à une température diurne de 23°C et une température nocturne de 20°C avec une photopériode de 16 heures. L'humidité relative a été maintenue entre 50 et 60%. Six jours après leur germination, les jeunes plantules ayant un stade de développement homogène ont été transplantées dans des pots de 2L contenant chacun 2,150 Kg d'un mélange tourbe (Floratorf®, Floragard GmbH, [Germany](#)) et sable (sable extra siliceux de Biot, Ref. B5) avec un rapport 4 :1 (v/v) (Fig II.1). Ensuite, l'inoculation a été répétée deux fois pour s'assurer de la mise en place de la symbiose.

Les plantes ont été irriguées avec de l'eau osmosée et une fois par semaine avec une solution nutritive dépourvue azote (Annexe 2). Aucun engrais supplémentaire n'a été ajouté aux plantes tout au long de l'expérience. Le mélange (sable/tourbe, 4:1 v/v) utilisé avait une capacité au champ (CC) de 610 ml d'eau, en utilisant un plan factoriel complètement randomisé avec 4 répétitions. Chaque pot a été amené à 80% de la capacité au champ en ajoutant 488 ml d'eau. Les pots ont été pesés tous les 2 jours et des quantités d'eau égales à la perte de poids ont été ajoutées.

Les plantes ont été arrosées à 80% CC jusqu'au stade 3 feuilles. Ensuite, deux traitements d'irrigation, stressé et bien irrigué, ont été appliqués dans cet essai en chambre de culture. Dans le traitement bien arrosé, les pots ont été irrigués comme décrit ci-dessus jusqu'à la récolte (34^{ème} jour après le semis). La moitié des plantes ont été exposées à un stress hydrique de 40% à partir du 20^{ème} jour (stade 2 à 3 feuilles) en diminuant l'apport en eau afin de réduire le niveau d'humidité de la capacité au champ au niveau du stress hydrique (40%). Les pots ont été pesés et les quantités d'eau perdues ont été ajoutées. Les mesures ont été effectuées 14 jours après le début du stress hydrique.

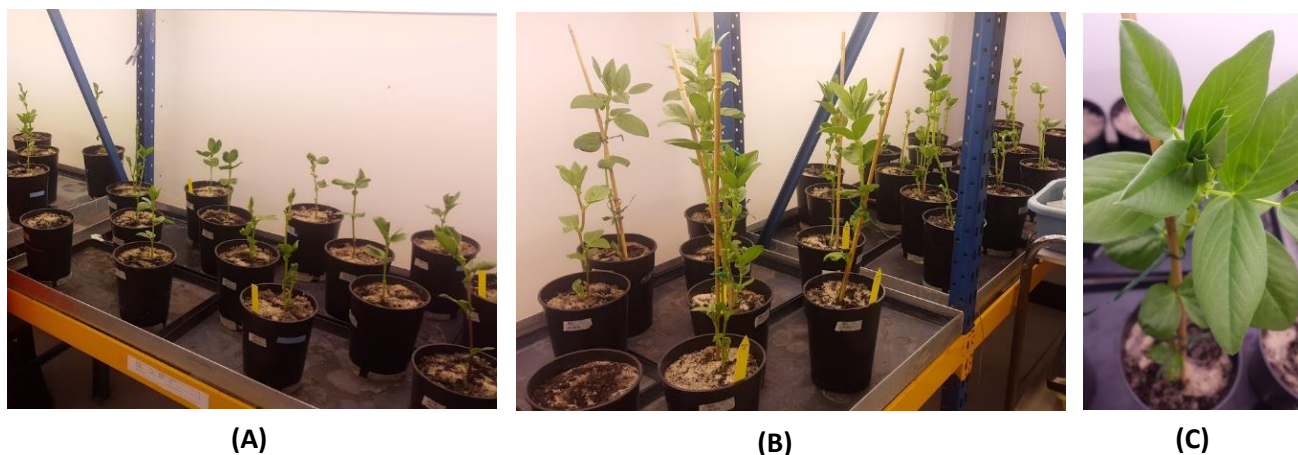


Figure II.1. Plantes de *Vicia Faba* cultivées en chambre de culture. Stade trois feuilles (A), stade fin de la phase végétative/Début floraison (B) et plante de *Vicia faba* (C).

Capacité au champ

Afin de maintenir un stress hydrique adéquat, nous avons estimé la capacité au champ (CC) du dispositif expérimental, la CC étant la quantité d'eau dans le sol qui reste après élimination de l'eau par gravité après la saturation en eau. Le poids sec du substrat (tourbe : sable) utilisé a été déterminé et les pots ont été arrosés à saturation, couverts et laissés s'écouler librement pendant 24 heures. Les pots ont ensuite été pesés et la quantité d'eau contenue a été supposée correspondre à la capacité au champ.

II.2.4. Détermination de la hauteur et des biomasses fraîches et sèches des plantes

Juste avant la récolte, la longueur de la partie aérienne de la fève a été mesurée en (cm). Immédiatement après la récolte, les plantes de fève ont été séparées en partie aériennes, partie racinaire et nodosités pour déterminer les poids frais (PF) de chaque partie. Une fois les mesures des PF terminées, le matériel végétal (parties aériennes et racinaires) a été placé dans une étuve à 60°C jusqu'à obtention d'un poids fixe. Ensuite, le poids sec (PS) a été mesuré pour chacune des fractions mentionnées précédemment.

II.2.5. Détermination de la teneur absolue en eau des plantes

La teneur absolue en eau (CAE) a été déterminée selon la formule suivante :

$$\text{CAE (\%)} = \frac{(\text{PF} - \text{PS})}{(\text{PF})} \times 100$$

PF étant le poids frais de la plante et le PS le poids est le poids sec après séchage des échantillons à 80°C pendant 48h.

II.2.6. Analyse de l'expression relative de gènes par RT-PCR

II.2.6.1. Extraction et quantification de l'ARN

Les échantillons de feuilles collectées ont été broyées dans de l'azote liquide afin d'éviter tout réchauffement des tissus afin d'éviter la dégradation des ARN par les ARNases. 100 mg de la poudre obtenue a été mélangé avec 1 ml de RNazol® RT (Sigma) et 400 µl d'eau DEPC dans un tube Eppendorf de 2 mL, vortexé et incubé à température ambiante pendant 15 min. Le mélange obtenu est centrifugé à 12.000×g pendant 15 min à 4°C, et le surnageant (environ 1 ml) est récupéré dans de nouveaux tubes Eppendorf. Ensuite, 500 µl d'isopropanol à 100% sont ajoutés à ce dernier afin de précipiter l'ARN. Le mélange est ensuite délicatement mélangé et laissé incubé à température ambiante pendant 10 min.

Après une centrifugation, on obtient un culot d'ARN qui a été lavé à l'éthanol 70% afin d'éliminer les traces de sels et permettre un séchage rapide du culot. Après élimination du surnageant, 500 µl d'éthanol à 75% sont ainsi ajoutés pour laver le culot et retirés des tubes après une centrifugation à 12.000×g pendant 5 min. Une deuxième étape de lavage est réalisée en ajoutant 400 µl d'éthanol et en centrifugeant à nouveau pendant 10 min à 12.000×g. L'éthanol est finalement entièrement éliminé, puis le culot d'ARN est brièvement séché à l'air à température ambiante pendant 10 minutes sous hotte. Le culot est ensuite resuspendu dans un volume minimum d'eau DEPC à déterminer. Une nouvelle centrifugation est réalisée afin d'éliminer les dernières insolubilités. Le culot d'ARN purifiés est solubilisé dans 50 µl d'eau DEPC pour une concentration finale de 200-300 ng/µl. La concentration d'ARN est déterminée par spectrophotométrie à l'aide d'un Nanodrop 1000 (Thermo Scientific, Wilmington, DE, USA) et seuls les ARN présentant une grande qualité ont été utilisés pour la synthèse de l'ADNc. L'intégrité des ARN est vérifié sur gel d'agarose avant que ces derniers puissent être stockés à -80°C. Tout au long de la procédure, l'eau ultrapure stérile traitée auparavant avec du DEPC (diéthylpyrocarbonate) a été utilisée.

II.6.2. Electrophorèse des ARN sur gel d'agarose

1 µg d'ARN est mis en présence de 5 µL de tampon de charge sur un gel d'agarose 1%. Les ARN sont visualisés sur une table UV grâce au bromure d'éthidium (BET) ajouté lors de la préparation du gel. Cet agent intercalant s'insère entre les bases des acides nucléiques et présente dans son état intercalé la fluorescence orange observée en UV court (~300 nm). La visualisation nette des sous-unités ribosomiques 28S, 18S et 5S démontre la qualité des ARN.

II.2.6.3. Synthèse des ADN complémentaires (ADNc)

Un traitement préalable à la DNase est effectué pour empêcher la contamination par l'ADN génomique. Ainsi, 500 ng de chaque échantillon sont traités avec 1 µl de RNase-Free DNase (Promega) RQ1 additionnés de 1 µl du tampon réactionnel 10X dans 10 µl d'eau DEPC. La réaction est incubée pendant 30 min à 37°C puis arrêtée suite à l'ajout de 1 µl de la solution d'arrêt de la RQ1 DNase et une incubation à 65°C pendant 10 min.

La transcription inverse de l'ARN total (1000 ng/échantillon) est effectuée avec le système de transcription inverse GoScript™. Premièrement, les échantillons sont incubés avec des amorces Oligo(dT) et des amorces aléatoires à 70°C pendant 5 minutes. Ensuite le mélange est placé directement sur la glace pendant 5 min. Après, un mélange réactionnel comprenant le tampon GoScript™ 5X, le mélange nucléotidique 0,5 mM, l'inhibiteur de la ribonucléase RNasin® ribonucléase et l'enzyme Reverse Transcriptase GoScript™ est ajouté au premier. De l'eau est ajoutée pour obtenir un volume final de 20 µl. Une première étape à 25°C pendant 5 minutes est suivie d'une seconde étape à 42°C pendant 1 heure. Pour inactiver la réaction, un choc thermique réalisé à 70°C pendant 15 minutes est nécessaire. Après les échantillons sont dilués 40 fois.

II.2.6.4. Polymerase Chain Reaction : PCR

La PCR correspond à l'amplification de fragments d'ADN matrice liés par des amorces qui lui sont spécifiques. La réaction se déroule en 3 étapes : dans un premier temps, l'ADN est dénaturé afin de séparer les deux brins complémentaires. Il s'ensuit l'hybridation des amorces sens et antisens à la matrice d'ADN du fait de leur température thermodynamiquement adéquate, désignée par la Tm ("melting temperature"), qui est déterminée selon une formule qui tient compte du pourcentage de GC : $T_m = 2(A+T) + 4(G+C)$. Une dernière étape consiste en l'élongation des amorces et permet à l'ADN polymérase thermostable de synthétiser le brin complémentaire de l'ADN matrice à une température qui lui est optimale. Ce brin est synthétisé à partir des dNTPs libres présents dans le milieu réactionnel.

II.2.6.5. Choix des amorces

Les amorces utilisées ont été sélectionnées dans le cadre d'une thèse précédente (Kabbadj, 2019), vu leur implication dans la réponse au déficit hydrique (gènes des voies de biosynthèse de la proline et ceux impliqués dans la réponse antioxydante). Elles ont été sélectionnées de deux façons : soit elles ont été directement sélectionnées sur la séquence des gènes spécifiques de *Vicia faba* dans les banques de données génomiques NCBI, soit sélectionnées sur la base d'un alignement de séquences de gènes d'espèces différentes (*Pisum sativum*) pour localiser les séquences conservées. Dans le cas de ces séquences conservées, les amorces "sens" et "anti-sens" (25 pb) sont désignées à partir de gènes de *Pisum sativum*, l'espèce la plus proche génétiquement de *Vicia faba* chez la Famille des Fabacées.

II.2.6.6. PCR Quantitative en temps réel

Lors de nos travaux, cette réaction est réalisée dans un volume total de 15 µl composé de : 7,5 µl de qPCR Master Mix GoTaq® (Promega) (contenant l'ADN polymérase, un colorant fluorescent SYBR Green 2x), 0,45 µl des amorces sens et anti-sens (10 µM), 0.15 µl du colorant fluorescent ROX, 5 µl d'ADNc 40 fois dilués et 1.45 µl d'eau DNase free. Le système de PCR en temps réel conçu par le Thermocycle AriaMx (Agilent) qui est utilisé, est programmé pour réaliser une première étape de dénaturation à 95°C pendant 2 minutes et 40 cycles d'amplification (3 sec 95 °C, 30 sec 60 °C). Le signal fluorescent est mesuré après chaque cycle. Les courbes de fusion sont déterminées en lisant le signal fluorescent de 65°C à 95°C par une étape de 0,5°C pour vérifier la qualité de chaque amplification. Chaque réaction est répétée trois fois pour chaque gène.

II.2.6.7. Quantification relative

La quantification relative nécessite le calcul du rapport entre la quantité du gène cible étudié et un gène de référence pour chaque échantillon. Le choix de ces gènes de référence dit de ménage est une étape cruciale. Il faut en effet que ces gènes montrent une expression qui ne varie pas entre les deux conditions comparées. De plus, l'avantage de cette technique est que l'utilisation d'un gène de référence peut minimiser les variations potentielles dans la préparation et la manipulation des échantillons. Dans notre cas, deux gènes de référence présents chez *Vicia faba* ont été choisis (*VfAct* et *VfCYP*). Le tableau II. 1 affiche l'ensemble des gènes étudiés ainsi que les séquences nucléiques des amorces sens et anti-sens choisis afin de les amplifier.

Tableau II.1. Amorces utilisées pour la quantification de transcrits par RT-qPCR

Gènes identifiés chez <i>Vicia faba</i>	Amorces sens (5'–3')	Amorces anti-sens (5'–3')
Ascorbate peroxidase <i>VfAPX1</i> <i>VfAPX2</i>	GGTCCTACTATCCAAGTTTCAC CAACCACCCACCCATTAC	TCAAACCAGAAGCATCAAGAG ATTCTGCGTCAACCACCAC
Superoxyde dismutase <i>VfSOD</i>	CTGCCGCCAAGAAAGCC	GGTCCTGTTGAGATACACCCATT
Catalase <i>VfCAT</i>	GATTTTGACCCACTTGATGTAACC	AGGCACGATAATGGCAGGAC
Glutathione reductase <i>VfGR1</i> <i>VfGR2</i>	GACCCTTCATTCTGATATTCTT CAATATGGCGTGGGATGG	CCATTAAAGATACCAGCAAACCTCC AACTACAGCTCTCATTTCGTC
Gamma-Glutamylcystéine Synthétase <i>VfYEC1</i>	AGTGTTTGTGCGCAAGGAG	CATTACCACAGTCCCCTAACC
Monodehydroascorbate reductase <i>VfMDAR1</i> <i>VfMDAR2</i>	CGCCTTTCTTCCACTTCC CTTCTATTCCCGTTCATTGACC	CCGCCAACAATCACATACTC CCTCTTAATCCAGTATGTCCCA
Pyrroline-5-Carboxylase Synthase <i>VfPC5S1</i>	TTCTCATTCTTCTCTACCAACGAC	TCTTTGACGAAATCTCTACAAGGG
Pyrroline-5-Carboxylase Réductase <i>VfPC5R1</i>	ATCAATGGCAACCCTTAGTG	CATTCATCAGTGTCCACGG
Ornithine amino-transférase <i>VfAOT1</i>	CTCCAATAAACAAACCTCTTCCC	GTGAACTTCTCGGTCTGCTG
Betaine aldehyde dehydrogenase <i>VfBAD</i>	AGCAAGTGACTCGGTATATCTC	GTATTACCCAACCTTATTCTCGTG
Respiratory burst oxidase homologue <i>VfRbohD</i>	TAAATCACCAAGACCATCACAACC	TTCAGCCACTTCATTATTACCC
Gènes de ménage <i>VfACT</i> <i>VfCYP</i>	GCTGTCCTCTCCCTCTATGCA TGCCGATGTCCTCCAGAA	GCCGAGGTGGTGAACATATACC CAGCGAACTTGAACCGTAGA

Les quantités relatives de transcrits sont déterminés par le biais du calcul des $2^{-\Delta(\Delta Ct)}$. Selon la formule : $R = N'_1/N'_2 = 2^{-[(Ct_{gène1} - Ct_{ref1}) - (Ct_{gène2} - Ct_{ref2})]}$

Où :

- R est la quantité relative de transcrits
- N'_1 est la quantité normalisée d'ADNc du gène d'intérêt dans la condition 1
- N'_2 est la quantité normalisée d'ADNc du gène d'intérêt dans la condition 2
- $Ct_{gène1}$ est le Ct obtenu lors de l'amplification du gène d'intérêt dans la condition 1
- $Ct_{gène2}$ est le Ct obtenu lors de l'amplification du gène d'intérêt dans la condition 2
- Ct_{ref1} est le Ct obtenu lors de l'amplification du gène de référence dans la condition 1
- Ct_{ref2} est le Ct obtenu lors de l'amplification du gène de référence dans la condition 2

II.2.7. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel XLSTAT Version 2016.02.28451 (Addinsoft, Paris, France) et d'une analyse de variance (ANOVA I). Les données ont été exprimées sous forme de moyenne \pm erreur standard. Les moyennes ont été statistiquement comparées par le post-test de Student-Newman-Keuls. La signification statistique a été acceptée à $p < 0,05$.

II.2.8. Aperçu synthétisé de l'expérimentation

Un aperçu synthétique des objectifs et de l'expérimentation est présenté dans la figure II.2.

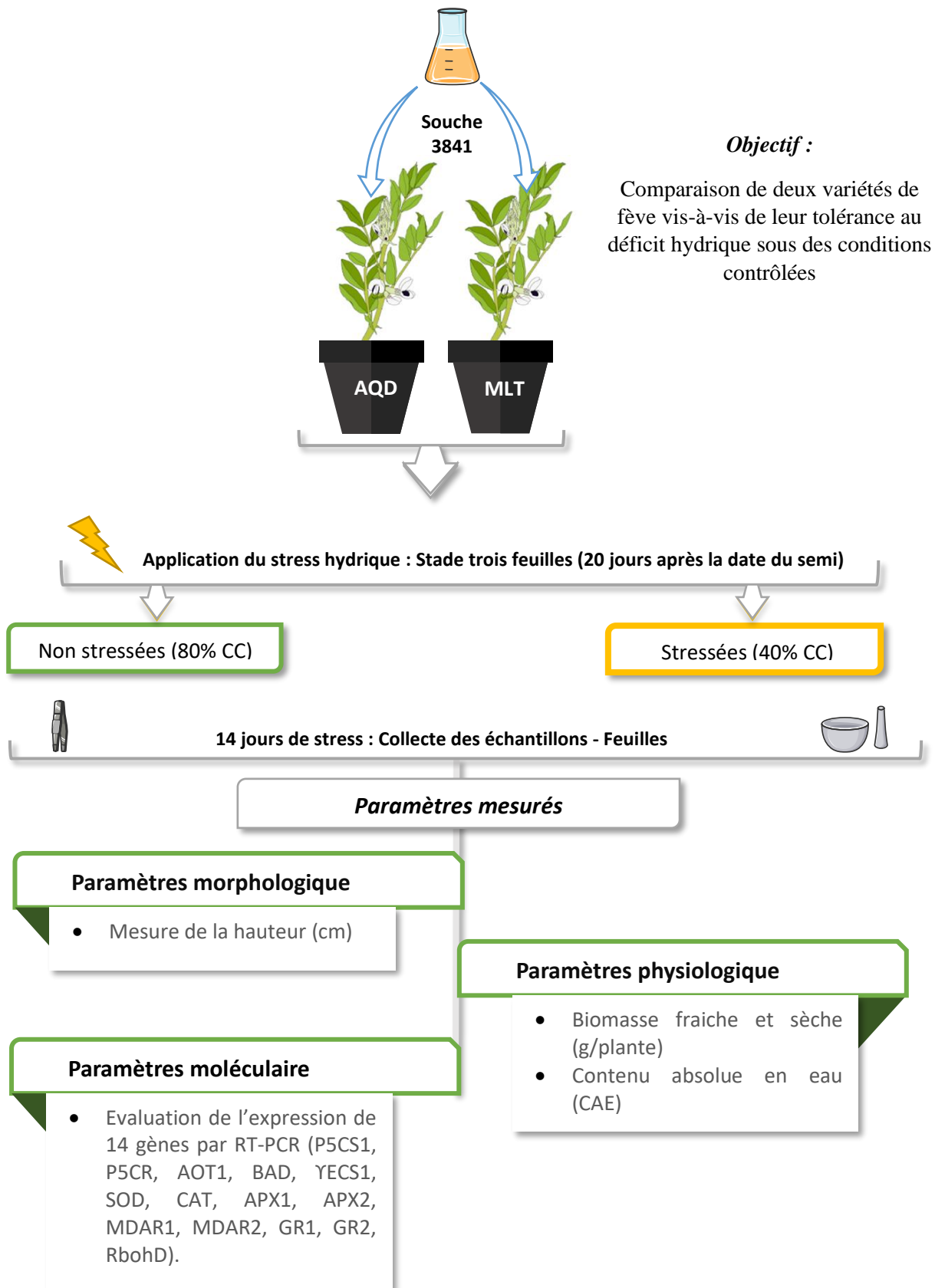


Figure II.2. Schéma récapitulatif de l'expérimentation en chambre de culture de la fève.

II.3. Réponses morphologique, physiologique et biochimique de la symbiose *Vicia faba* - *Rhizobium leguminosarum* au déficit hydrique.

II.3.1. Stérilisation des graines

Les graines des deux génotypes de fève ont été stérilisées en surface en les immergeant dans de l'éthanol 70% pendant 2 minutes tout en agitant. Les graines ont été rincées avec de l'eau stérile déminéralisée puis couvertes d'une solution contenant 5% d'hypochlorite de Calcium et 0.1% de tween 20, pendant 10 min sous agitation. La solution a été éliminée et les graines ont été rincées 3 fois à l'eau stérile déminéralisée. Les graines ont ensuite été couvertes de nouveaux d'eau stérile distillée et placée à 4°C pendant 48h. Les graines ont ensuite été laissées à germer dans du coton stérile à 23°C à l'obscurité pendant six jours.

II.3.2. Inoculation des graines

II.3.2.1. Préparation des inoculums

La méthode suivie est décrite dans le titre : II.2.2.1. Préparation des inoculums.

II.3.2.2. Inoculations des graines de fève

Pour cet essai, deux souches de *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* (3841 et OL13) ont été sélectionnées afin de déterminer leur effet sur les deux génotypes de fève, sous les deux conditions hydrique étudiées (80% et 40% CC). Trois jours après le semis des graines de fève en pots, 10 mL/plante de chaque solution d'inoculums ont été ajoutés individuellement aux plantes. L'essai a été divisé en 3 traitements bactériens différents. Le premier 1/3 a été inoculé par la souche 3841, le deuxième 1/3 par la souche OL13 et le dernier 1/3 a servi de témoins non inoculé. Pour les plantes témoins, 10 mL d'eau distillée stérilisée lui ont été ajouté.

II.3.3. Conduite des essais et application du déficit hydrique

L'expérience a été menée sous serre au laboratoire de Génétique Végétale, Biochimie et Biotechnologie, Université Mentouri Frères-Constantine I, Algérie, durant l'hiver 2019 sous lumière naturelle, température de l'air entre 22°C ± 4°C (nuit/jour), 50±80 % d'humidité relative et 16 h de photopériode. Six jours après leur germination, les jeunes plantules ayant un stade de développement homogène ont été transplantées dans des pots contenant 3,5 Kg d'un mélange stérile de sable et tourbe (4:1 v/v). Les plantes ont été inoculées un jour après le transfert avec les souches de rhizobia 3841 et OL13, préparés comme décrit précédemment. Ensuite, l'inoculation a été répétée deux fois pour s'assurer de la mise en place de la symbiose. Les plantes ont été arrosées avec une solution nutritive dépourvue d'azote (Annexe 2) une fois par semaine.

Le déficit hydrique a été initié lorsque les plantes avaient atteint le stade début floraison (50% de plantes ont émis leur première fleur) (Fig. II.3). Le stress a été appliqué sur la moitié des plantes de chaque traitement bactériens, et cela en réduisant le niveau d'humidité disponible de la capacité aux champs jusqu'à 40%. L'autre moitié a été maintenue à 80% de CC. L'application du stress hydrique a duré jusqu'à ce que le premier génotype montre les symptômes de flétrissement visuel permanent, soit 28 jours après le début du déficit hydrique. Après 28 jours de déficit hydrique, des paramètres morphologiques et physiologiques ont été évalués *in vivo*. Tout le matériel végétal a été récolté à la fin de l'expérimentation, soit à 70 jours après le semis. La 3^{ème} feuille (la feuille la plus jeune complètement déployée) de chaque plante, des échantillons de racines fraîches et les nodosités ont été prélevés et congelés immédiatement dans de l'azote liquide puis placés au -80°C pour le dosage des osmoprotectants et des enzymes antioxydantes.

Toutes les observations physiologiques ont été enregistrées sur la plus jeune feuille complètement déployée entre 12h et 14h. Cette période a été choisie parce que le potentiel hydrique de la fève à la mi-journée a été signalé comme l'indicateur le plus sensible de l'état hydrique des plantes (Karamanos, 1982). Il s'appuie sur des observations similaires concernant d'autres cultures (Rascio *et al.* 1987).

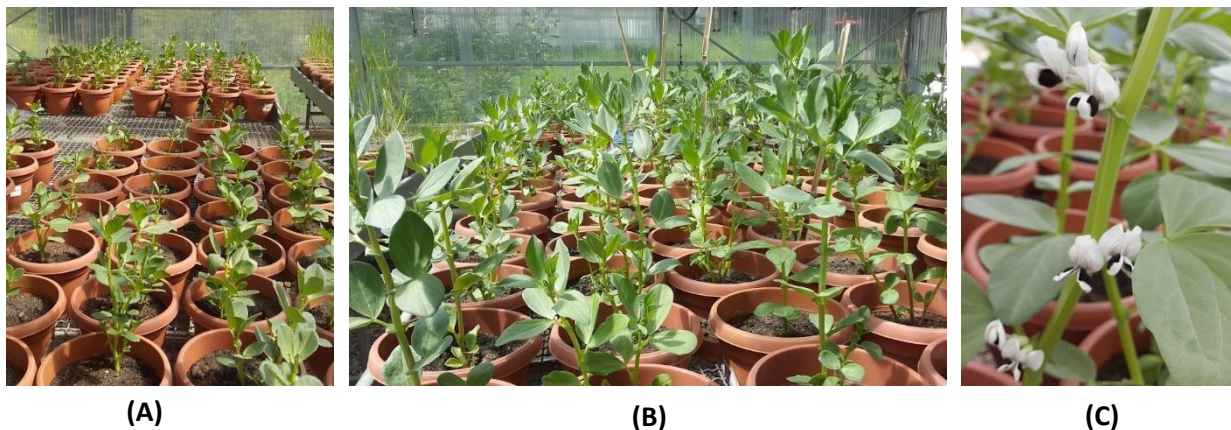


Figure II.3. Plantes de *Vicia Faba* cultivées sous serre. Stade trois feuilles (A), stade fin de la phase végétative (B) et fleurs de *Vicia faba* (C).

II.3.4. Teneur en chlorophylle totale (SPAD Index)

La teneur en chlorophylle totale a été déterminée à l'aide d'un chlorophylle mètre SPAD (Soil Plant Analysis Development, modèle 502 Minolta). La mesure donnée est la moyenne de 3 lectures effectuées le long de la feuille la plus jeune complètement déployée pour la fève et la feuille étandard pour le blé dur. La teneur en chlorophylle totale de deux feuillettes par feuilles a été mesurée.

II.3.5. Détermination de la hauteur et du nombre de nœuds

Juste avant la récolte, la longueur de la partie aérienne a été mesurée en (cm) pour la fève et le blé dur. Le nombre de nœuds a été compté pour les plants de fève.

II.3.6. Conductance stomatique

La conductance stomatique a été mesurée à l'aide d'un poromètre (AP4 Delta-T Devices, Cambridge, Angleterre). Seules les feuilles entièrement éclairées ont été utilisées pour enregistrer la conductance. Ce paramètre a été mesuré entre 12h et 14h.

II.3.7. Détermination de biomasses fraîche et sèches

Juste après la récolte, les plantes de fève ont été séparées en partie aériennes, partie racinaire pour déterminer les PF et PS de chaque partie séparément. Une fois les mesures des PF terminées, le matériel végétal a été placé dans une étuve à 60°C jusqu'à obtention d'un poids fixe. Ensuite, le PS a été mesuré pour chacune des fractions mentionnées précédemment.

II.3.8. Réponse de croissance (%)

La réponse de croissance (RC) (%) des plantes inoculées par rapport aux plantes non inoculées a été calculée pour déterminer l'effet de l'inoculation par les souches étudiées sur la croissance des plantes de fèves en utilisant la formule suivante donnée par Hetrick *et al.* (1995):

$$RC\% = \frac{(\text{Poids sec total inoculés} - \text{Poids sec total non-inoculés})}{\text{Poids sec total non-inoculés}} \times 100$$

II.3.9. Dosage des pigments photosynthétiques

Les pigments photosynthétiques ont été mesurés comme décrit par (Takele, 2010). Les teneurs en chlorophylle et en caroténoïde ont été déterminées à partir de 0,2 g d'échantillons de feuilles. Ces feuilles ont été découpées en petits morceaux et immergées dans 4 ml d'acétone à 80% pendant 48 h à 4 °C. L'absorbance des échantillons est déterminée à 645, 663 et 470 nm au spectrophotomètre UV-visible, modèle Biomate 3. Les teneurs en pigments sont calculées en µg.ml⁻¹ selon les équations suivantes (Lichtenthaler et Wellburn 1983) :

- Chlorophylle a: $\text{Chl a} = 12,21 \text{ DO}_{663} - 2,81 \text{ DO}_{645}$
- Chlorophylle b: $\text{Chl b} = 20,13 \text{ DO}_{645} - 5,03 \text{ DO}_{663}$
- Chlorophylles totales : $\text{Chl} = \text{Chl a} + \text{Chl b}$
- Caroténoïdes totaux (xanthophylles + β-carotènes) :
 $\text{Ca} = (1000 \text{ DO}_{470} - 3,27 \text{ Chl a} - 104 \text{ Chl b}) / 229$

II.3.10. Dosage des osmoprotectants

II.3.10.1. Teneur en proline

Les plantes ont été récoltées et des échantillons de feuilles, de racines et de nodosités ont été prélevés pour mesurer les teneurs en osmoprotectants. La proline libre a été extraite d'échantillons de matériel végétal frais selon la méthode de Troll et Lindsley (1955), modifiée par Monneveux et Nemmar (1986). 0,1 g de matières fraîches de chaque partie ont été extraits dans du méthanol à 40 % pendant 1 heure à 85 °C. Ensuite, de l'acide acétique, de la ninhydrine et de l'acide orthophosphorique ont été ajoutés à 1 ml de l'extrait obtenu et le mélange réactionnel a été incubé à 100°C dans un bain-marie pendant 30 min. Après refroidissement des mélanges réactionnels, 5 ml de toluène ont été ajoutés. Après avoir mélangé délicatement, les chromosphères contenant du toluène ont été aspirées et son absorbance lue à 520 nm dans un spectrophotomètre, contre un blanc de toluène. La teneur en proline libre dans l'échantillon a été estimée en se référant à une courbe standard et a été exprimée en mol de proline. g FW⁻¹. Trois répétitions par génotype et par traitement ont été réalisées.

II.3.10.2. Contenu en sucres solubles

La teneur en sucres solubles a été définie selon la méthode décrite par Dubois *et al.* (1956). 0,1 g de matières fraîches de chaque partie (aérienne et racinaire) ont été extraits dans de l'éthanol à 80 % pendant 48 heures puis séchés sous un courant d'air chaud. Les résidus ont été homogénéisés dans 20 ml d'eau. Un millilitre d'extrait alcoolique a été traité avec 1 ml de phénol à 5% (v/v) et 5 ml d'acide sulfurique. Le mélange a été maintenu 20 min à 30°C. Les teneurs en sucres solubles ont été révélées par la lecture de l'absorbance à 485 nm. La teneur en sucres solubles a été estimée en se référant à une courbe standard, construite en utilisant le glucose, et a été exprimée en mg de sucre soluble. g FW⁻¹. Trois répétitions par génotype et par traitement ont été réalisées.

II.3.11. Evaluation des indicateurs du stress oxydatifs

II.3.11.1. Dosage du contenu en Malondialdéhyde

La peroxydation lipidique a été déterminée en mesurant la quantité de malondialdéhyde (MDA) produite par la réaction à l'acide thiobarbiturique (TBA) comme décrit par Heath et Packer (1968). 0,1 g de feuilles ont été homogénéisés dans un mortier et un pilon avec de l'acide trichloracétique (TCA) à 0,1 % (p/v) glacé et centrifugés à 12.000×g pendant 15 min. Le surnageant a été utilisé pour la détermination de la teneur en MDA. Une solution à 0,5 % TBA (p/v) contenant 20 % TCA (p/v) a été ajoutée au surnageant. Le mélange a été chauffé à 95 °C pendant 30 min, refroidi rapidement dans un bain de glace, puis centrifugé à 5000×g pendant 5

min pour clarification. La concentration de MDA a été calculée à partir de l'absorbance à 532 nm (la turbidité non spécifique a été corrigée en soustrayant l'absorbance à 600 nm) en utilisant un coefficient d'extinction de $155 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ et les résultats exprimés en $\text{nmol MDA} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$. Trois répétitions par traitement et par génotype ont été réalisées.

II.3.11.2. Dosage du peroxyde d'hydrogène

Les teneurs en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ont été mesurées comme décrit par (Velikova *et al.* 2000). Des échantillons de matière végétale fraîche (0,1 g) ont été homogénéisés dans 5 mL de TCA à 0.1% (*p/v*). L'homogénat a ensuite été centrifugé à $13000 \times g$ pendant 15 minutes à 4 °C. Un volume du surnageant est prélevé et incubé en présence de l'iodure de potassium (1 M) additionné à 10 mM de tampon phosphate ($\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$; pH 7). L'absorbance du surnageant a été mesurée à 390 nm. La teneur en H_2O_2 a été calculée par son coefficient d'extinction molaire ($0,28 \mu\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) et les résultats exprimés en $\text{nmol H}_2\text{O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$. Chaque traitement comprenait trois répétitions.

II.3.12. Evaluation de la défense antioxydante sous déficit hydrique

II.3.12.1. Préparation des extraits enzymatiques pour le dosage des activités d'enzymes antioxydantes

Des extraits enzymatiques bruts à partir de feuilles, de racines et de nodosités ont été utilisés pour déterminer les activités des enzymes antioxydantes. Le matériel végétal (0,2 g) est broyé et homogénéiser dans un tampon d'extraction (0,1 mM d'EDTA, 0,1 % (*v/v*) de Triton X-100, 1 mM de fluorure de phénylméthanesulfonyle (PMSF), dans un tampon de phosphate de potassium 50 mM, pH 7,8) à l'aide d'un mortier maintenu dans la glace. Le broyat est ensuite centrifugé à $15.000 \times g$ pendant 30 min à 4°C. Le surnageant récupéré constitue la fraction des protéines solubles ou extrait brut. Tous les extraits ont été manipulés à 4°C afin de mesurer de la quantité des protéines et celles des activités des enzymes antioxydantes.

II.3.12.2. Dosage des protéines totales

La teneur totale en protéines des extraits enzymatiques a été déterminée selon la méthode de Bradford (1976) en utilisant de l'albumine de sérum bovin (BSA) comme standard. Le principe de cette méthode réside dans la liaison du Bleu de Coomassie G-250 aux liaisons peptidiques entraînant un changement de couleur bleue dont l'intensité est mesurée par l'absorbance à 595 nm. Le Bleu de Coomassie Brillant G-250 est préparé en dissolvant 100mg de poudre dans 50 mL d'éthanol (95%) auxquels sont ajoutées 100 ml d'acide ortho-phosphorique (85%). Le mélange résultant est ajusté à un volume final d'un litre par de l'eau distillée puis filtré et conservé à froid (4°C).

Une aliquote de l'extrait protéique est additionnée à 2,5 mL du colorant. La coloration se développe dans un intervalle de temps allant de 5 à 30 min. L'absorbance est lue à 595 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible, modèle Biomate 3, et la concentration en protéines est calculée selon une gamme étalon réalisée avec des concentrations croissantes de BSA.

II.3.12.3. Dosage des activités enzymatiques par spectrophotométrie

Toutes les activités enzymatiques, à l'exception de la Superoxyde Dismutase, ont été calculées avec la formule suivante, et été exprimées en $\mu\text{Mol. Min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ de protéines :

$$\text{Activité enzymatique} = \frac{\Delta\text{abs} \times \text{VT}}{\varepsilon \times \lambda \times \text{VE} \times [\text{Cp}]}$$

Δabs : Différence d'absorbance,

ε : coefficient d'extinction ($\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$),

λ : Largeur de la cuve (cm),

VT : Volume de la réaction (ml),

VE: volume de l'extrait enzymatique,

[Cp]: Concentration en protéines de l'échantillon (mg/ml).

(pour les blancs le tampon d'extraction a été utilisé)

a. Détermination de l'activité Superoxyde dismutase (EC 1.15.11)

L'activité de la superoxyde dismutase (SOD) a été dosée à l'aide de la méthode au nitrobleu de tétrazolium (NBT) de Beauchamp et Fridovich (1971). Le mélange réactionnel de dosage était constitué de 50 mM de tampon phosphate (pH 7,8), 2 mM d'EDTA, 9,9 mM de méthionine, 55 μM de NBT, 2 μM de riboflavine et d'extrait enzymatique. La réaction a été initiée en éclairant les échantillons sous une source lumineuse pendant 20 min, les échantillons ont ensuite été placés dans l'obscurité pendant 20 min. L'absorbance des échantillons a été mesurée à 560 nm. Le maximum de réduction photochimique du NBT, A max, est déterminé à partir d'un tube témoin en l'absence d'extrait enzymatique. Une unité d'activité SOD a été définie comme la quantité d'enzyme nécessaire pour provoquer une inhibition de 50 % de la réduction de la photoréduction du NBT à 25°C et calculé comme selon la formule suivante :

$$\text{Le pourcentage d'inhibition} = \frac{\text{A560 max} - \text{A560 échantillon}}{\text{A560 max}} \times 100$$

Une unité SOD/g de protéines : U.SOD = pourcentage d'inhibition / (n x 50)

n : quantité de protéines dans la réaction

b. Détermination de l'activité Catalase (EC 1.11.1.6)

L'activité catalase (CAT) a été dosée en suivant la diminution de la densité optique à 240 nm ($\epsilon = 0,036 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) selon la méthode de Chance et Maehly (1955). La diminution de l'absorbance à 240 nm a été mesurée en conséquence de la consommation de H_2O_2 Havir et McHale (1987). Dans cet essai, 25 mM de tampon phosphate $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ (pH 7,0) et 30 mM de H_2O_2 ont été utilisés dans la solution réactionnelle. La réaction est déclenchée par l'ajout de l'extrait protéique.

c. Détermination de l'activité Ascorbate peroxydase (EC 1.11.1.11)

L'activité ascorbate peroxydase (APX) a été dosée selon la méthode de Chen et Asada (1992), en mesurant la diminution d'absorbance à 290 nm provoquée par l'oxydation de l'acide ascorbique. Dans cet essai, 50 mM de tampon phosphate $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ (pH 7,0), 0,1 mM d'EDTA, 5 mM de H_2O_2 et 0,5 mM d'ascorbate de sodium ont été utilisés dans la solution réactionnelle. L'activité de l'enzyme est calculée selon le coefficient d'extinction molaire $\epsilon = 2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

d. Détermination de l'activité Gaiacol peroxydase (EC 1.11.1.7)

L'activité Gaiacol Peroxydase (GPX) (EC 1.11.1.7) a été déterminée selon la méthode de Fielding et Hall (1978). Cette activité est mesurée en suivant l'augmentation de l'absorbance à 470 nm qui est due à la polymérisation du gaiacol en tétragaiacol en présence de peroxyde d'hydrogène. La réaction est initiée par l'addition de l'extrait protéique au milieu réactionnel composé de tampon 25 mM de tampon phosphate $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ (pH 7,0), 9 mM de gaiacol et 10 mM d' H_2O_2 . Le coefficient d'extinction molaire du tétragaiacol est de $26,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

II.3.13. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel XLSTAT Version 2016.02.28451 (Addinsoft, Paris, France) et d'une analyse de variance à deux facteurs (ANOVA II). Les données ont été exprimées sous forme de moyenne \pm erreur standard. Les moyennes ont été statistiquement comparées par le post-test de Student-Newman-Keuls. La signification statistique a été acceptée à $p < 0,05$.

II.3.14. Aperçu synthétisé de l'expérimentation

Un aperçu synthétique de l'expérimentation est présenté dans la figure II.4.

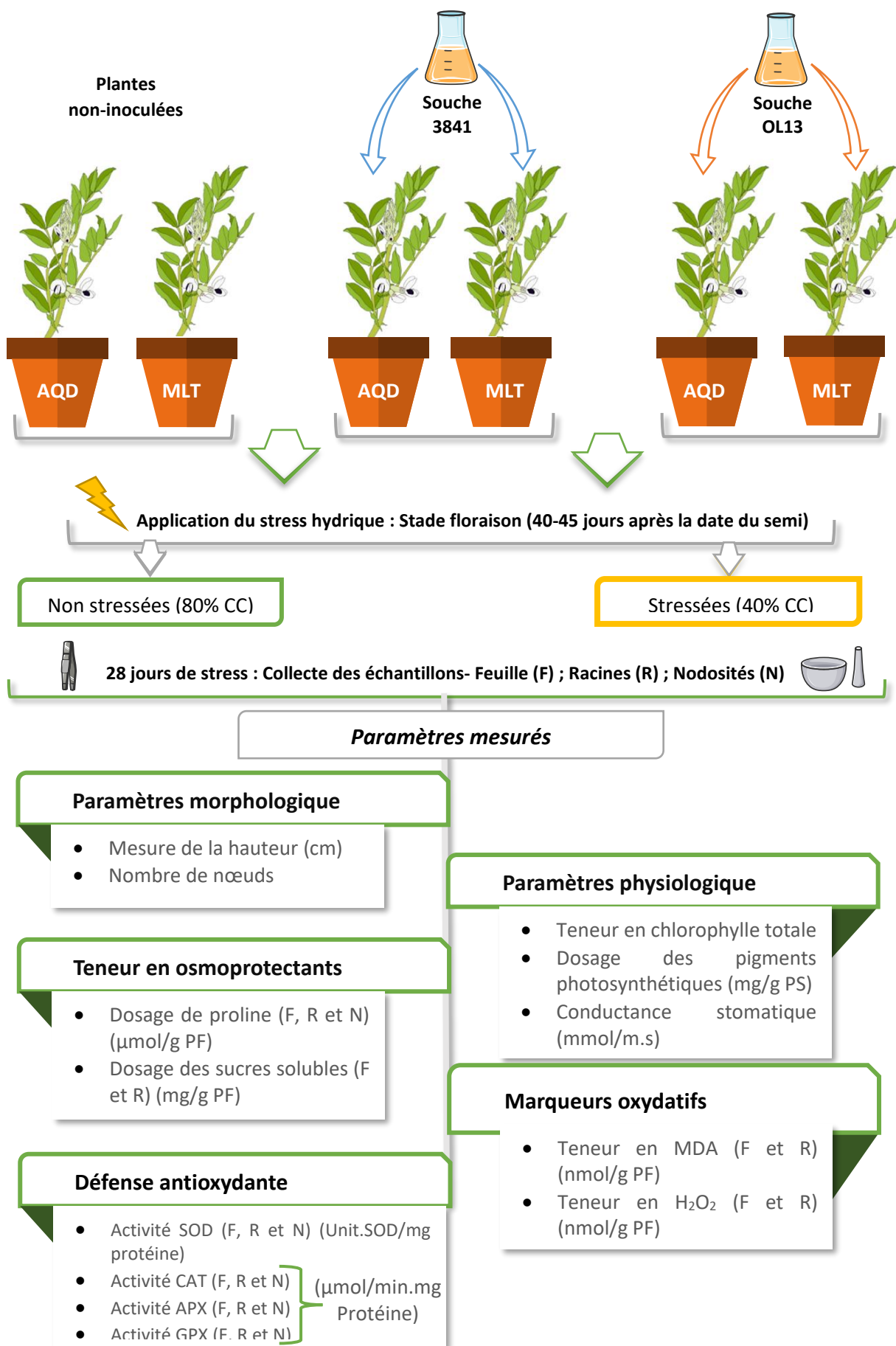


Figure II.4. Schéma récapitulatif de l'expérimentation sous serre de la fève.

II.4. Réponse morphologique, physiologique et biochimique de la symbiose *Triticum durum* - *Rhizobium leguminosarum* au déficit hydrique

II.4.1. Stérilisation des graines de blé dur

Les graines des deux génotypes de blé dur ont été stérilisées en surface en les immergeant dans de l'éthanol 70% pendant 2 minutes tout en agitant. Les graines ont été rincées avec de l'eau stérile déminéralisée puis couvertes d'une solution contenant 5% d'hypochlorite de Calcium et 0.1% de tween 20, pendant 10 min sous agitation. La solution a été éliminée et les graines ont été rincées 3 fois à l'eau stérile déminéralisée. Les graines ont ensuite été laissées à germer dans du coton stérile à 23°C à l'obscurité pendant cinq jours.

II.4.2. Inoculation des graines

II.4.2.1. Préparation des inoculum

La méthode suivie est la même méthode décrite dans le titre : II.2.2.1. Préparation des inoculum.

II.4.2.2. Inoculations des graines de blé dur

Pour cet essai, deux souches de *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* (3841 et OL13) ont été utilisées afin de déterminer leur effet sur les deux génotypes de fève, sous les deux conditions hydrique étudiées (80% et 40% CC). Les graines de blé ont été inoculées par trempage pendant 20 minutes dans l'inoculum de la souche de *Rhizobium* sélectionnée contenant 5% d'amidon soluble comme agent adhésif. Des graines de blé témoins (plantes non inoculées) ont été imbibées du même agent adhésif, mais une solution saline stérilisée (0,9 % de NaCl) a été utilisée à la place des cellules bactériennes vivantes. Les graines des deux génotypes ont été inoculées individuellement avec les deux souches de *Rhizobium*. Dans le cas de la co-inoculation, les deux inoculum des souches de *Rhizobium* ont été mélangés en proportions égales et vortexés pendant 5 min pour assurer l'homogénéisation de la densité cellulaire avant le trempage des graines. Après le semis des graines, l'inoculation a été répétée deux fois pour s'assurer de l'efficacité des bactéries.

II.4.3. Conduite des essais et application du déficit hydrique

L'expérience a été menée sous serre au laboratoire de Génétique Végétale, Biochimie et Biotechnologie, Université Mentouri Frères-Constantine I, Algérie, de janvier à juillet 2020 sous lumière naturelle, température de l'air entre 22°C ± 4°C (nuit/jour), 50±80 % d'humidité relative et 16 h de photopériode. Six jours après leur germination, les jeunes plantules ayant un

stade de développement homogène ont été transplantées dans des pots contenant 5 Kg d'un mélange stérile de sable et tourbe (4:1 v/v). Les plantes ont été inoculées un jour après le transfert avec les souches de rhizobia 3841 et OL13 pour les inoculations simple et par les deux souches pour la co-inoculation, préparés comme décrit précédemment. L'inoculation a été répétée deux fois sur les plantes semées, en ajoutant 10 mL/plante de l'inoculum adéquat.

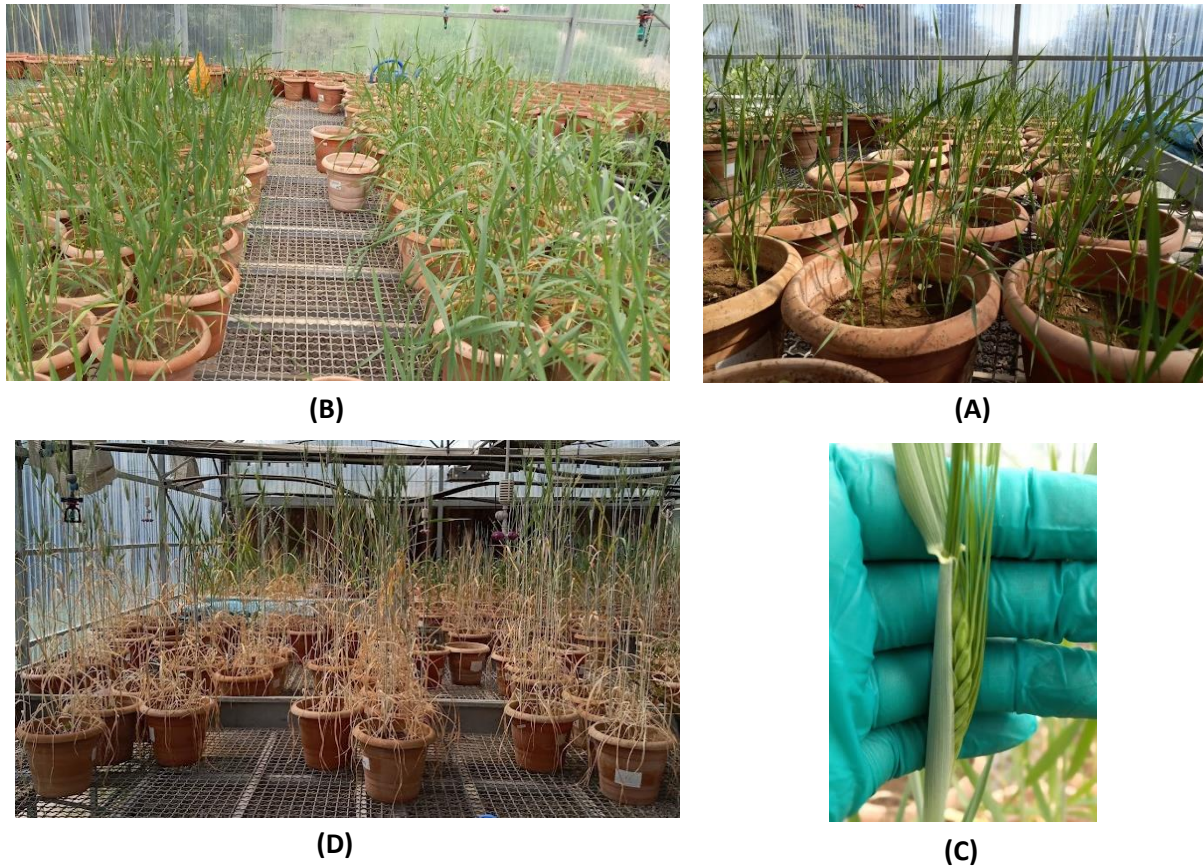


Figure II.5. Plantes de *Triticum durum* cultivées sous serre. Stade tallage (A) ; stade montaison (B) ; stade gonflement (C) ; stade maturité (D) (Zadoks *et al.* 1974).

Le déficit hydrique a été initié lorsque les plantes avaient atteint le stade épiaison (stade de croissance Zadoks) (Fig II.5). Le stress a été appliqué sur la moitié des plantes de chaque traitement bactériens, et cela en réduisant le niveau d'humidité disponible de la capacité aux champs jusqu'à 40%. L'autre moitié a été maintenue à 80% de CC. À la fin du stade d'émergence de l'épi GS 50-59 (stade de croissance Zadoks) ; 60-65 jours après semis (JAS), le déficit hydrique a été appliqué en maintenant l'humidité du sol à 40% du substrat CC pour les plantes stressées, et à 80% CC pour les plantes bien arrosées. Après 20 jours de déficit hydrique, des paramètres morphologiques et physiologiques ont été évalués *in vivo*. Les feuilles étendards

ont été récoltées et conservées à -80°C pour le reste des analyses physiologiques et biochimiques.

II.4.4. Détermination de la hauteur des plantes

Juste avant la récolte, la longueur de la partie aérienne, barbes non incluses, a été mesurée en (cm).

II.4.5. Conductance stomatique

La conductance stomatique a été mesurée à l'aide d'un poromètre (AP4 Delta-T Devices, Cambridge, Angleterre). Seules les feuilles entièrement éclairées ont été utilisées pour enregistrer la conductance.

II.4.6. Teneur relative en eau

La teneur relative en eau (TRE) a été déterminée selon la méthode décrite par Barrs et Weatherley (1962) sur des feuilles étendards du blé dur et calculée comme suit :

$$\text{TRE (\%)} = \frac{(\text{PF} - \text{PS})}{(\text{PT} - \text{PS})} \times 100$$

PF étant le poids frais, PT le poids à la turgescence après saturation en eau des feuilles étendards pendant 24 h à l'obscurité, au frais à 4 °C et enfin le PS est le poids sec après séchage des échantillons à 80°C pendant 48h.

II.4.7. Dosage des pigments photosynthétiques

Les pigments photosynthétiques ont été mesurés comme décrit par (Takele, 2010). Les teneurs en chlorophylle et en caroténoïde ont été déterminées à partir de 0,2 g d'échantillons de feuilles. Ces feuilles ont été découpées en petits morceaux et immergées dans 4 ml d'acétone à 80% pendant 48 h à 4 °C. L'absorbance des échantillons est déterminée à 645, 663 et 470 nm au spectrophotomètre UV-visible, modèle Biomate 3. Les teneurs en pigments sont calculées en µg.ml⁻¹ selon les équations suivantes (Lichtenthaler et Wellburn 1983) :

- Chlorophylle a: $\text{Chl a} = 12,21 \text{ DO}_{663} - 2,81 \text{ DO}_{645}$
- Chlorophylle b: $\text{Chl b} = 20,13 \text{ DO}_{645} - 5,03 \text{ DO}_{663}$
- Chlorophylles totales : $\text{Chl} = \text{Chl a} + \text{Chl b}$
- Caroténoïdes totaux (xanthophylles + β-carotènes) :
- $\text{Ca} = (1000 \text{ DO}_{470} - 3,27 \text{ Chl a} - 104 \text{ Chl b}) / 229$

II.4.8. Dosage des osmoprotectants

II.4.8.1. Teneur en proline

Les plantes ont été récoltées et des échantillons de feuilles ont été prélevés pour mesurer les teneurs en osmoprotectants. La proline libre a été extraite d'échantillons de matériel végétal frais selon la méthode de Troll et Lindsley (1955), modifiée par Monneveux et Nemmar (1986). 0,1 g de matières fraîches de chaque partie ont été extraits dans du méthanol à 40 % pendant 1 heure à 85 °C. Ensuite, de l'acide acétique, de la ninhydrine et de l'acide orthophosphorique ont été ajoutés à 1 ml de l'extrait obtenu et le mélange réactionnel a été incubé à 100°C dans un bain-marie pendant 30 min. Après refroidissement des mélanges réactionnels, 5 ml de toluène ont été ajoutés. Après avoir mélangé délicatement, les chromosphères contenant du toluène ont été aspirées et son absorbance lue à 520 nm dans un spectrophotomètre, contre un blanc de toluène. La teneur en proline libre dans l'échantillon a été estimée en se référant à une courbe standard et a été exprimée en mol de proline. g FW⁻¹. Trois répétitions par génotype et par traitement ont été réalisées.

II.4.8.2. Contenu en sucre soluble

La teneur en sucres solubles a été définie selon la méthode décrite par Dubois *et al.* (1956). 0,1 g de feuilles étendards ont été extraits dans de l'éthanol à 80 % pendant 48 heures puis séchés sous un courant d'air chaud. Les résidus ont été homogénéisés dans 20 ml d'eau. Un millilitre d'extrait alcoolique a été traité avec 1 ml de phénol à 5% (v/v) et 5 ml d'acide sulfurique. Le mélange a été maintenu 20 min à 30°C. Les teneurs en sucres solubles ont été révélées par la lecture de l'absorbance à 485 nm. La teneur en sucres solubles a été estimée en se référant à une courbe standard, construite en utilisant le glucose, et a été exprimée en mg de sucre soluble. g FW⁻¹. Trois répétitions par génotype et par traitement ont été réalisées.

II.4.9. Evaluation des indicateurs du stress oxydatifs

II.4.9.1. Dosage du contenu en Malondialdéhyde

La peroxydation lipidique a été déterminée en mesurant la quantité de malondialdéhyde (MDA) produite par la réaction à l'acide thiobarbiturique (TBA) comme décrit par Heath et Packer (1968). 0,1 g de feuilles ont été homogénéisés dans un mortier avec de l'acide trichloracétique (TCA) à 0,1 % (p/v) glacé et centrifugés à 12.000×g pendant 15 min. Le surnageant a été utilisé pour la détermination de la teneur en MDA. Une solution à 0,5 % TBA (p/v) contenant 20 % TCA (p/v) a été ajoutée au surnageant. Le mélange a été chauffé à 95 °C pendant 30 min, refroidi rapidement dans un bain de glace, puis centrifugé à 5000×g pendant 5 min pour clarification. La concentration de MDA a été calculée à partir de l'absorbance à 532

nm (la turbidité non spécifique a été corrigée en soustrayant l'absorbance à 600 nm) en utilisant un coefficient d'extinction de $155 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ et les résultats exprimés en $\text{nmol MDA} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$. Trois répétitions par traitement et par génotype ont été réalisées.

II.4.9.2. Dosage du peroxyde d'hydrogène

Les teneurs en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ont été mesurées comme décrit par (Velikova *et al.* 2000). Des échantillons de matière végétale fraîche (0,1 g) ont été homogénéisés dans 5 mL de TCA à 0.1% (*p/v*). L'homogénat a ensuite été centrifugé à $13.000 \times g$ pendant 15 minutes à 4°C . Un volume du surnageant est prélevé et incubé en présence de l'iodure de potassium (1 M) additionné à 10 mM de tampon phosphate ($\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$; pH 7). L'absorbance du surnageant a été mesurée à 390 nm. La teneur en H_2O_2 a été calculée par son coefficient d'extinction molaire ($0,28 \mu\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) et les résultats exprimés en $\text{nmol H}_2\text{O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$. Chaque traitement comprenait trois répétitions.

II.4.10. Evaluation de la défense antioxydante sous déficit hydrique

II.4.10.1. Préparation des extraits enzymatiques pour le dosage des activités d'enzymes antioxydantes

Des extraits enzymatiques bruts à partir de feuilles, de racines et de nodosités ont été utilisés pour déterminer les activités des enzymes antioxydantes. Le matériel végétal (0,2 g) est broyé et homogénéiser dans un tampon d'extraction (0,1 mM d'EDTA, 0,1 % (*v/v*) de Triton X-100, 1 mM de fluorure de phénylméthanesulfonyle (PMSF), dans un tampon de phosphate de potassium 50 mM, pH 7,8) à l'aide d'un mortier maintenu dans la glace. Le broyat est ensuite centrifugé à $15.000 \times g$ pendant 30 min à 4°C . Le surnageant récupéré constitue la fraction des protéines solubles ou extrait brut. Tous les extraits ont été manipulés à 4°C afin de mesurer de la quantité des protéines et celles des activités des enzymes antioxydantes.

II.4.10.2. Dosage des protéines totales

La teneur totale en protéines des extraits enzymatiques a été déterminée selon la méthode de Bradford (1976) en utilisant de l'albumine de sérum bovin (BSA) comme standard. Le principe de cette méthode réside dans la liaison du Bleu de Coomassie G-250 aux liaisons peptidiques entraînant un changement de couleur bleue dont l'intensité est mesurée par l'absorbance à 595 nm. Le Bleu de Coomassie Brillant G-250 est préparé en dissolvant 100mg de poudre dans 50 mL d'éthanol (95%) auxquels sont ajoutées 100 ml d'acide ortho-phosphorique (85%). Le mélange résultant est ajusté à un volume final d'un litre par de l'eau distillée puis filtré et conservé à froid (4°C).

Une aliquote de l'extrait protéique est additionnée à 2,5 mL du colorant. La coloration se développe dans un intervalle de temps allant de 5 à 30 min. L'absorbance est lue à 595 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible, modèle Biomate 3, et la concentration en protéines est calculée selon une gamme étalon réalisée avec des concentrations croissantes de BSA.

II.4.10.3. Dosage des activités enzymatiques par spectrophotométrie

Toutes les activités enzymatiques, , ont été calculées avec la formule suivante, et été exprimées en $\mu\text{Mol. Min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ de protéines :

$$\text{Activité enzymatique} = \frac{\Delta\text{abs} \times \text{VT}}{\varepsilon \times \lambda \times \text{VE} \times [\text{Cp}]}$$

Δabs : Différence d'absorbance,

ε : coefficient d'extinction ($\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$),

λ : Largeur de la cuve (cm),

VT : Volume de la réaction (ml),

VE: volume de l'extrait enzymatique,

[Cp]: Concentration en protéines de l'échantillon (mg/ml).

(pour les blancs le tampon d'extraction a été utilisé)

a. Détermination de l'activité Catalase (EC 1.11.1.6)

L'activité catalase (CAT) a été dosée en suivant la diminution de la densité optique à 240 nm ($\varepsilon = 0,036 \text{ mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$) selon la méthode de Chance et Maehly (1955). La diminution de l'absorbance à 240 nm a été mesurée en conséquence de la consommation de H_2O_2 Havir et McHale (1987). Dans cet essai, 25 mM de tampon phosphate $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ (pH 7,0) et 30 mM de H_2O_2 ont été utilisés dans la solution réactionnelle. La réaction est déclenchée par l'ajout de l'extrait protéique.

b. Détermination de l'activité Gaiacol peroxydase (EC 1.11.1.7)

L'activité Gaiacol Peroxydase (GPX) (EC 1.11.1.7) a été déterminée selon la méthode de Fielding et Hall (1978). Cette activité est mesurée en suivant l'augmentation de l'absorbance à 470 nm qui est due à la polymérisation du gaiacol en tétragaïacol en présence de peroxyde d'hydrogène. La réaction est initiée par l'addition de l'extrait protéique au milieu réactionnel composé de tampon 25 mM de tampon phosphate $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ (pH 7,0), 9 mM de gaiacol et 10 mM d' H_2O_2 . Le coefficient d'extinction molaire du tétragaïacol est de $26,6 \text{ mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$.

II.4.11. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel XLSTAT Version 2016.02.28451 (Addinsoft, Paris, France) et d'une analyse de variance à deux facteurs (ANOVA II). Les données ont été exprimées sous forme de moyenne \pm erreur standard. Les moyennes ont été statistiquement comparées par le post-test de Student-Newman-Keuls. La signification statistique a été acceptée à $p < 0,05$.

II.4.12. Aperçu synthétisé de l'expérimentation

Un aperçu synthétique de l'expérimentation est présenté dans la figure II.6.

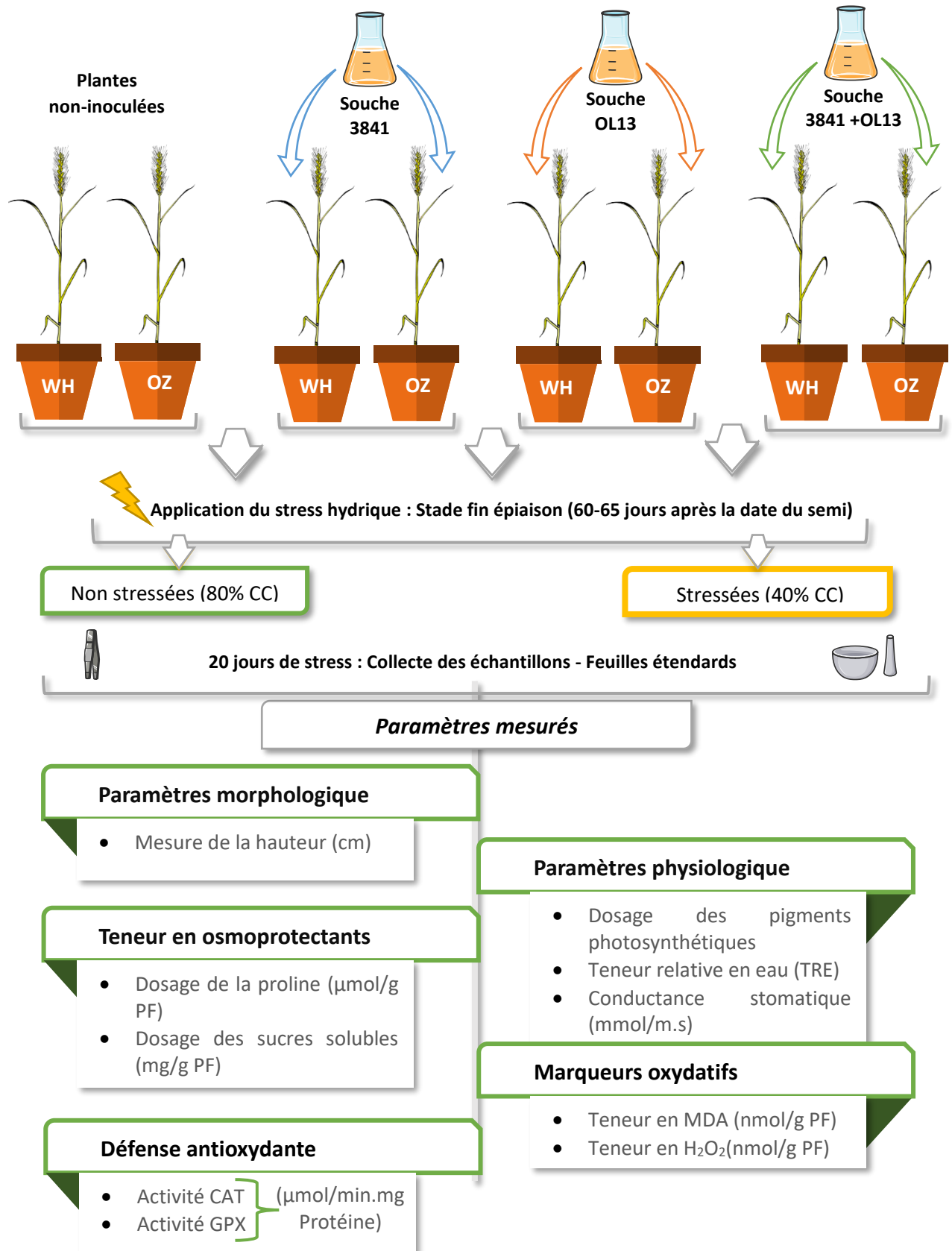


Figure II.6. Schéma récapitulatif de l'expérimentation sous serre du blé dur.

Chapitre III :
**Réponse physiologique et
génétique de *Vicia faba* en
symbiose avec *Rhizobium
leguminosarum* au déficit
hydrique sous conditions
contrôlées**

Chapitre III : Réponse physiologique et génétique de Vicia faba en symbiose avec Rhizobium leguminosarum au déficit hydrique sous conditions contrôlées

III.1. Introduction

En raison du changement climatique mondial, la sécheresse est devenue l'une des contraintes les plus fréquentes et les plus imprévisibles, avec des effets néfastes sur la production agricole dans le monde entier (Golldack *et al.* 2014 ; Hussain *et al.* 2018). La sensibilité des plantes à la sécheresse est un phénomène complexe et dépend de nombreux facteurs dont le stade de croissance de la plante, le potentiel génétique, la durée et la gravité du stress (Nadeem *et al.* 2019). L'accumulation de solutés compatibles tels que la proline et la glycine bêtaïne est associée à une tolérance accrue à la sécheresse chez les plantes (Bhaskara *et al.*, 2015 ; Trovato *et al.*, 2019). Ces dernières présentent diverses réponses morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires pour lutter contre les stress abiotiques.

Aux niveaux physiologique et moléculaire, le déficit hydrique altère l'homéostasie redox en perturbant les processus métaboliques essentiels (Joshi *et al.* 2014). Le métabolisme de la plante entière se retrouve considérablement affecté par la surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (EROs) qui sont responsables de l'oxydation des composants multicellulaires comme les protéines, les lipides, l'ADN et l'ARN, entraînant la nécrose et la mort cellulaires (Raja *et al.* 2017).

Ainsi, pour faire face au déficit hydrique, les cellules végétales modifient l'expression de certains gènes responsables de la synthèse des protéines intervenant dans la réponse à cette contrainte et ceci grâce à divers antioxydants enzymatiques et non enzymatiques qui agissent dans différents organites cellulaires pour éliminer les EROs (Foyer et Noctor, 2016).

Les légumineuses sont une source nourrissante et peu coûteuse de protéines, qui jouent un rôle vital dans l'agriculture en raison de leur capacité de fixation de l'azote atmosphérique (Siddique *et al.* 1999 ; Rubiales *et al.* 2015). La fève (*Vicia faba* L.) est l'une des légumineuses les plus importantes au monde (Karkanis *et al.* 2018), en raison de sa teneur élevée en protéines (allant de 20 à 41 %) (Chavan *et al.* 1989), en glucides, en fibres, et des vitamines et pour son effet hypocholestérolémiant (Macarulla *et al.* 2001). Récemment, l'intérêt mondial s'est accru pour cette culture, mais elle est réputée d'être relativement sensible à la sécheresse que les autres légumineuses à grains dont le haricot commun, le pois et le pois chiche (Amede et Schubert, 2003 ; Khan *et al.* 2010 ; Khazaei *et al.* 2013). Cependant, les variétés de fève diffèrent considérablement en termes de tolérance à la sécheresse (Girma et Haile, 2014).

Dans ce chapitre, l'effet du déficit hydrique sur la biomasse, la hauteur, le contenu relatif en eau et l'expression d'un certain nombre de gènes marqueurs au niveau des feuilles ont été étudiés chez les variétés de *V. faba*, Aquadulce (AQD) et Maltais (MLT) qui ont été inoculés par la souche de *Rhizobium leguminosarum* (3841) et cultivées sous contrainte hydrique (40% CC) pendant environ 34 jours dans des enceintes climatiques contrôlées.

L'identification des gènes dont les niveaux d'expression changent au cours du déficit hydrique est une étape importante pour mieux comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires qui sous-tendent la résistance à ce stress. Dans ce chapitre, nous nous intéressons également à l'étude de la dérégulation de l'expression des 14 gènes de défense identifiés chez *V. faba*.

III.2. Résultats

III.2.1. Effets du déficit hydrique sur la biomasse sèche, la hauteur et le contenu absolu en eau

Au niveau morphologique, nous avons observé une diminution de la biomasse sèche sous l'effet du déficit hydrique chez les deux variétés étudiées (Figure III.1-A). Cependant, la variété AQD a enregistré une faible réduction du poids sec par rapport à la variété MLT. Les résultats enregistrés pour la hauteur des plantes montrent que la hauteur des deux variétés diffère dans les conditions bien arrosées, et que MLT présente une hauteur plus importante que celle de AQD (Figure III.1-B). Cependant, ce paramètre est réduit de manière significative chez la variété MLT dans la condition limitante en eau. Néanmoins, ce paramètre est moins affecté par le stress chez la variété AQD.

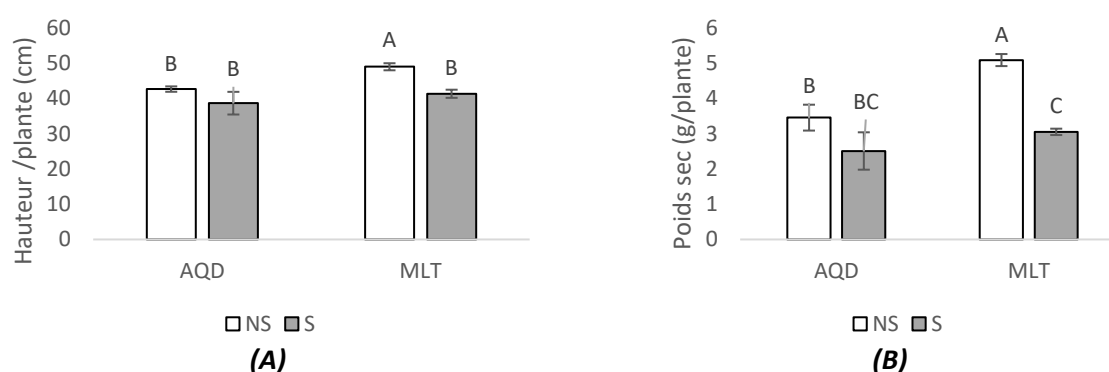


Figure III.1. Variation de la biomasse sèche et de la hauteur des plantes sous déficit hydrique. Des plantes de *Vicia faba* âgées de 34 jours, ont été cultivées dans des conditions témoins (barres blanches) ou dans des conditions limitées en eau, (barres grises). Biomasse sèche des plantes (A), hauteur des plantes (B). La biomasse et la hauteur des plantes ont été déterminées au stade de début de la floraison. AQD: Aquadulce; MLT : Maltais. Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de trois répétitions indépendantes. Les différences dans les données ont été considérées comme significativement différentes au niveau de probabilité de 0,05 par le test de Student-Newman-Keuls (indiqué par des lettres différentes).

Concernant le contenu absolu en eau, les résultats montrent qu'il n'y a pas de différences significatives entre les plantes témoins des deux variétés (Figure III.2). Cependant, ce paramètre a diminué sous déficit hydrique pour les deux génotypes étudiés, mais cette diminution est beaucoup plus accentuée chez le génotype MLT, ou dans des conditions de déficit hydrique.

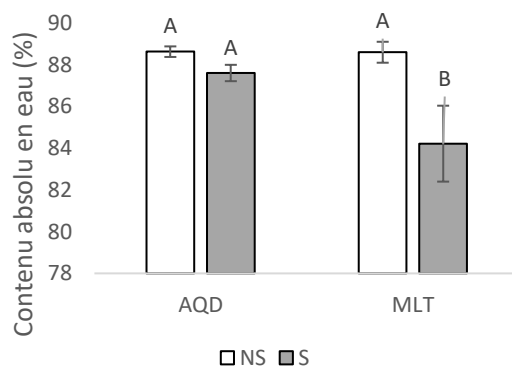


Figure III.2. Variation du contenu absolu en eau des plantes sous déficit hydrique. Des plantes de *Vicia faba* âgées de vingt huit jours, ont été cultivées dans des conditions témoins (barres blanches) ou dans des conditions limitées en eau, (barres grises). La hauteur des plantes a été déterminée au stade de la floraison. AQD: Aquadulce; MLT : Maltais. Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de trois répétitions indépendantes. Les différences dans les données ont été considérées comme significativement différentes au niveau de probabilité de 0,05 par le test de Student-Newman-Keuls (indiqué par des lettres différentes).

Pris ensemble, les résultats ont montré que les altérations de moindre importance des paramètres mesurés enregistrées chez la variété AQD ont accompagné une plus faible réduction du poids sec, la hauteur et du contenu relatif en eau, suggérant qu'une atténuation des altérations des paramètres morphologique et physiologiques permettait de meilleures conditions de croissance dans un environnement limité en eau.

III.2.2. Effets du stress hydrique sur l'expression de gènes liés au déficit hydrique

Les plantes sont exposées à une multitude de contraintes environnementales, et ont dû développer des mécanismes complexes pour éviter ou faire face aux conséquences des stress extrêmes. Afin de faire face à ces contraintes, les génomes végétaux ont évolué au fil du temps et de nombreux gènes sont dédiés aux mécanismes de protection mis en jeu lors de l'exposition aux stress. De plus, en raison du changement climatique mondial, la sécheresse est devenue l'une des contraintes les plus incontrôlées et imprévisibles, avec des effets néfastes sur la production agricole dans le monde entier. Parmi les mécanismes de protection communément connus pour intervenir en réponse au stress hydrique on trouve deux groupes de molécules impliquées dans la détoxification des EROs ; enzymatiques (SOD, CAT, peroxydases, enzymes du cycle ascorbate-glutathion) et non enzymatiques (comme les osmoprotectants dont la proline, la glycine bêtaïne et les sucres solubles).

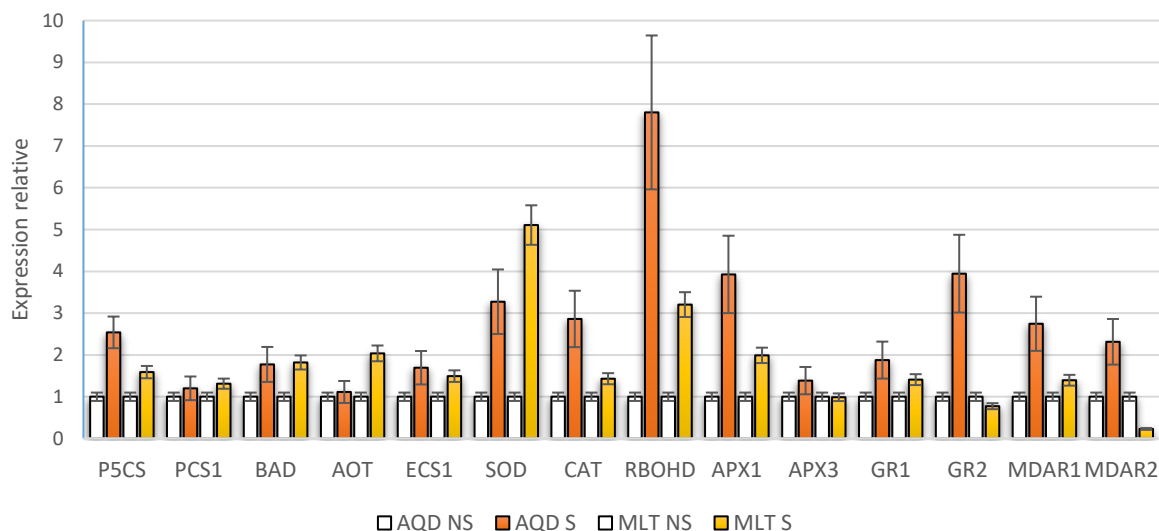


Figure III.3. Expression relative de gènes liés au stress dans les feuilles de *Vicia faba*. Les niveaux d'expression ont été déterminés par RT-qPCR au stade de début floraison sur les feuilles de plantes appartenant à la variété Aquadulce (AQD) et Maltais (MLT) qui ont été cultivées dans des conditions témoins (barres grises) ou dans des conditions limitées en eau (barres oranges (AQD) et barres jaunes (MLT)). Le niveau d'expression est ramené à 1 chez les plantes contrôles. Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de 6/9 répétitions indépendantes.

Les amorces des gènes sélectionnés sont les gènes putatifs de la voie de biosynthèse de la proline (*VfP5CS1*, *VfP5CR*, *VfAOT1*), de la glycine bétaine (*VfBAD*), d'un anti-oxydant principal qui est le glutathion (*VfYECS1*) ont été analysés dans notre travail. Nous nous sommes également intéressés à des gènes codant des enzymes anti-oxydantes (superoxyde dismutase (*VfSOD*), catalase (*VfCAT*)) et des enzymes du cycle Ascorbate-Glutathion telles que des ascorbate peroxydases (*VfAPX1*, *VfAPX3*), les monodehydroascorbate reductase (*VfMDAR1*, *VfMDAR2*) et les glutathion réductase (*VfGR1*, *VfGR2*). Nous avons également analysé l'expression de Rboh (*VfRbohD*) qui est potentiellement productrice d'EROs.

L'analyse de la quantité de transcrit a été réalisée par RT-PCR quantitative chez les deux variétés de fève (AQD et MLT) inoculées par la souche 3841. L'analyse de variance a révélé des différences significatives ($p < 0,05$) entre les différentes expressions des gènes étudiés.

Les résultats de la figure III.3 nous montrent que le profil d'expression des gènes de défense étudiés est très différent dans les feuilles des deux génotypes étudiés, sous contrainte hydrique. À l'échelle moléculaire une surexpression globale des gènes *VfP5CS*, *VfCAT*, *VfGR2*, *VfAPX1*, *VfRbohD*, *VfMDAR1* et *VfMDAR2* a été enregistré chez la variété AQD par rapport à la variété MLT. Ces surexpressions sont plus faibles ou inexistantes chez la variété MLT. Cependant, MLT a enregistré une importante expression pour les gènes *VfAOT* et *VfSOD*.

III.3. Discussion

D'un côté, les résultats des paramètres morphologiques et physiologiques étudiés ont montré de faibles réductions chez la variété AQD entre les deux conditions hydriques contrairement à la variété MLT. Ceci suggère qu'une atténuation des altérations de ces paramètres a permis de meilleures conditions de croissance dans un environnement limité en eau chez la variété AQD.

D'un autre côté, d'après cette étude moléculaire, nous avons montré que les marqueurs utilisés présentaient globalement une plus forte accumulation des transcrits codant pour les protéines impliquées dans la défense antioxydante. Cette surexpression est différente entre les deux génotypes étudiés. En effet, elle est corrélée avec une augmentation significative par rapport au témoin de l'accumulation de proline (*P5CS*), des activités catalase (*CAT*), ascorbate peroxydase (*APXI*), glutathion réductase (*GR2*) et monodéhydroascorbate réductase (*MDAR1*, *MDAR 2*) dans les feuilles de la variété AQD par rapport aux feuilles de la variété MLT. Cependant, les feuilles de la variété MLT ont enregistré une surexpression pour les gènes de voie de biosynthèse de la proline (*AOT*) et pour la (*SOD*). Les transcrits du gène *Rboh D* ont enregistré une accumulation plus importante au niveau des feuilles de AQD par rapport à la variété MLT.

Deux voies de biosynthèse de la proline chez les plantes supérieures ont été mises en évidence par Delauney et Verma (1993), l'une à partir du glutamate, l'autre à partir de l'ornithine. La voie du glutamate est la voie principale dans des conditions de stress et d'azote limité, tandis que la voie de l'ornithine semble prédominante dans des conditions d'apport élevé d'azote (Delauney et Verma 1993). En effet, chez les plantes supérieures, l'enzyme la plus limitante pour la synthèse de la proline est la *P5CS* (Trovato *et al.* 2019); où l'accumulation de la proline sous déficit hydrique s'accompagne d'une expression accrue du gène *P5CS* (Muzammil *et al.* 2018). L'accumulation d'osmolytes tels que la proline est une stratégie végétale permettant de réguler le potentiel osmotique des cellules sous stress hydrique (Zhang *et al.* 2010). De même, plusieurs études ont rapporté que les variétés de *V. faba* tolérantes au déficit hydrique enregistrent une plus forte accumulation de la proline sous des conditions limitées en eau que les variétés sensibles (Abid *et al.* 2016 ; Kabbadj *et al.* 2017 ; Abid *et al.* 2017). Ainsi, la surexpression du gène *P5CS* chez la variété AQD peut être un indicateur de tolérance au déficit hydrique de cette variété. En parallèle, la variété MLT a enregistré une surexpression du gène de l'ornithine aminotransférase (*OAT*). En effet, L'*OAT* catalyse la deuxième voie de biosynthèse de la proline à partir de l'ornithine. Cependant, le mécanisme

d'accumulation de la proline via OAT sous des conditions de stress n'est pas entièrement compris (Anwar *et al.* 2018).

La complexité des réponses des espèces réactives de l'oxygène (EROs) à divers stress environnementaux est attribuée, au moins en partie, à des mécanismes distincts régulant la production des EROs par l'intermédiaire de la NADPH oxydase (RBOH) (Respiratory burst oxydase homologs), dont la présence et la fonction varient selon le type de tissu et le stade de développement dans divers conditions environnementales. Ben Rejeb *et al.* (2015) ont pu apporter des informations très intéressantes sur la régulation du métabolisme de la proline en réponse à un stress abiotique, mettant en évidence l'implication de la NADPH oxydase et du H₂O₂. Les auteurs ont réussi à montrer que, contrairement aux plantes témoins, sous le même stress, les mutants "knock-out" chez lesquels le gène *AtRbohD* était désactivé accumulaient moins de proline. Ce travail précise le rôle que peuvent jouer les Rbohs (systèmes de production d'H₂O₂) en réponse au stress abiotiques par le biais de l'accumulation de proline chez d'autres plantes.

Étant donné que les EROs produits par les Rbohs entraînent des modifications du potentiel redox cellulaire, des composants de signalisation sensibles au redox ou des facteurs de transcription peuvent être activés et affecter l'expression des gènes de biosynthèse de la proline (Ben Rejeb *et al.* 2015). De même, dans les travaux réalisés avec les mêmes amorces dans Kabbadj (2019), la variété AQD a également enregistré une surexpression des gènes (*P5CS*) et (*Rboh D*) contrairement aux autres variétés sensibles au déficit hydrique étudiées.

Les résultats obtenus démontrent un moindre effet du déficit hydrique sur les performances de croissance et le contenu relatif en eau chez la variété AQD. En parallèle, au niveau des feuilles, la variété AQD a enregistré une surexpression des gènes de la proline et des enzymes antioxydantes (CAT, APX, GR et MDAR) ainsi que pour le gène codant la Rboh D en condition de stress par rapport à la variété MLT.

L'ensemble des données dont nous disposons sur la réponse et le comportement de la variété AQD face au déficit hydrique nous incite fortement à stipuler que la variété AQD est plus tolérante que la variété MLT et que des mécanismes génétiques sont mis à l'œuvre pour participer à la résistance de AD à ladite contrainte.

III.4. Conclusion

Dans l'étude présentée dans ce chapitre, deux génotypes de fève ont été inoculés par la souche de *R. leguminosarum* 3841, et ont subi un déficit hydrique au stade trois feuilles afin

d'étudier leur niveau de tolérance à ce stress. Notre étude a démontré que le génotype AQD présenté une meilleur tolérance au déficit hydrique par rapport au génotype MLT. Les résultats obtenus indiquent qu'une plus grande tolérance au déficit hydrique chez les génotypes de la fève dépend principalement du maintien de performance de croissance et de la surexpression de gènes codant pour des enzymes antioxydants et de solutés compatibles tel que la proline. En effet, ces derniers ont été moins exprimés chez le génotype MLT. Cependant, il est nécessaire d'étudier l'effet d'autres souches de *R. leguminosarum* sur les génotypes de fève ainsi que leur effet sous déficit hydrique.

Chapitre IV :
**Réponses morphologique,
physiologique et
biochimique de la symbiose
Vicia faba - *Rhizobium
leguminosarum* au déficit
hydrique**

Chapitre IV : Réponses morphologique, physiologique et biochimique de la symbiose Vicia faba - Rhizobium leguminosarum au déficit hydrique

IV.1. Introduction

Le maintien d'une population humaine croissante avec des ressources en sols dégradé, dans un climat changeant est un défi majeur du 21^e siècle. Cela a conduit à une surexploitation des ressources naturelles de la planète, avec une perte massive de biodiversité, un changement climatique et une perturbation du cycle de l'azote (Rockstrom *et al.* 2009). Un élément important de cet effort sera le développement de cultures capables de donner de bons rendements avec une disponibilité limitée d'eau et d'azote (N) (Lynch et Wojciechowski 2015). De plus, en raison du changement climatique mondial, la sécheresse est devenue l'une des contraintes les plus incontrôlées et les plus imprévisibles, avec des effets néfastes sur la production agricole dans le monde (Golldack *et al.* 2014 ; Hussain *et al.* 2018). Globalement, la sécheresse est un intervalle de carence en eau et elle a été le catalyseur des grandes famines du passé (Borlaug et Dowsell, 2005 ; Farooq *et al.* 2009). La sensibilité des plantes à la sécheresse est un phénomène complexe et dépend de nombreux facteurs dont le stade de croissance de la plante, le potentiel génétique, la durée et la gravité du stress (Nadeem *et al.* 2019).

Le stress de la sécheresse induit une réduction significative des paramètres de croissance des plantes (Hayatu *et al.* 2014), de la biomasse des pousses et des racines (Shao *et al.* 2008 ; Benjamin *et al.* 2014). En effet, la sécheresse affecte de nombreux aspects de la physiologie des plantes, diminuant les taux de photosynthèse, la teneur en chlorophylle et en caroténoïdes, la conductance stomatique et perturbe les relations hydriques des plantes, entraînant une réduction de la croissance et de la productivité des plantes (Xiang *et al.* 2013, Pandey et Shukla, 2015). Parmi divers mécanismes défensifs, l'ajustement osmotique, fourni par l'accumulation d'osmoprotecteurs, peut conférer une tolérance aux dégâts causées par le déficit hydrique en maintenant un potentiel hydrique tissulaire élevé (Mohammadkhani et Heidari, 2008 ; Siddiqui *et al.* 2008). Dans de nombreuses plantes, les solutés osmotiquement actifs permettent un maintien partiel des processus dépendants de la turgescence dans des conditions de stress hydrique (Gholami *et al.* 2012).

De plus, en raison du stress hydrique, le métabolisme de la plante entière est considérablement affecté par la surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (EROs) qui sont responsables de l'oxydation des composants multicellulaires comme les protéines, les lipides, l'ADN et l'ARN, entraînant la nécrose et la mort cellulaires (Raja *et al.* 2017). Avec l'évolution,

les plantes se sont adaptées aux environnements changeants et ont développé des moyens d'éliminer les effets létaux des EROs grâce à divers antioxydants enzymatiques et non enzymatiques qui agissent dans différents organites cellulaires pour éliminer les EROs (Foyer et Noctor, 2016). Parmi les enzymes importantes impliquées dans l'élimination des ERO, on trouve la superoxyde dismutase, les peroxydases et la catalase (Mittler, 2016).

Les légumineuses sont une source importante de protéines adaptées à l'alimentation du bétail et à la consommation humaine (Furlan *et al.* 2017). Parmi les légumineuses, la fève (*Vicia faba* L.) est l'une des cultures de légumineuses les plus importantes au monde (Karkanis *et al.* 2018), en raison de sa teneur élevée en protéines (jusqu'à 35 % dans les graines sèches), en glucides, en fibres et en vitamines (Furlan *et al.* 2017 ; Longobardi *et al.* 2015). Récemment, l'intérêt pour cette culture a augmenté, mais elle est réputée être relativement plus sensible à la sécheresse que les autres légumineuses à grains, notamment le haricot commun, le pois et le pois chiche (Amede et Schubert 2003 ; Khan *et al.* 2010 ; Khazaei *et al.* 2013). En effet, les stades de croissance de la fève les plus sensibles à la sécheresse sont la floraison, la formation précoce des gousses et le remplissage des grains (Mwanamwenge *et al.* 1999 ; Katerji *et al.*, 2011 ; Karkanis *et al.* 2018 ; Li *et al.* 2018). La sécheresse terminale est alors l'une des contraintes les plus importantes à la production de la fève en région méditerranéenne, où les précipitations sont insuffisantes et irrégulièrement réparties au cours de l'année (Ricciardi *et al.* 2001 ; Fouad *et al.* 2013). Cependant, les variétés de fève diffèrent considérablement en termes de tolérance à la sécheresse (Girma et Haile, 2014). Comme d'autres légumineuses, elle peut établir une symbiose fixatrice d'azote avec les bactéries du sol de la famille des *Rhizobium*, l'ajoute au sol si elle est incluse dans les systèmes de culture, et contribue ainsi à améliorer et à maintenir la productivité des sols (Omar *et al.* 2002, Köpke et Nemecek 2010). Les rhizobiums atténuent les effets néfastes des stress et induisent une tolérance chez les plantes en adoptant différents mécanismes, dont l'induction d'une tolérance systémique par certains changements chimiques ou physiques (Hussain *et al.* 2014).

Compte tenu de l'importance de cette culture pour l'homme ainsi que pour les animaux, le but de cette étude était d'évaluer les impacts de deux souches différentes de *Rhizobium leguminosarum* sur l'induction de la tolérance terminale à la sécheresse chez deux génotypes de fève cultivés en Algérie. À cette fin, nous avons mesuré les paramètres physiologiques, l'accumulation d'osmolytes, les marqueurs du stress oxydatif et les activités enzymatiques en tant que paramètres pour évaluer l'effet de l'inoculation de *R. leguminosarum* sur *V. faba* en cas de déficit hydrique terminal dans des essais en serre.

IV.2. Résultats

IV.2.1. Effet des *R. leguminosarum* sur la hauteur, le nombre de feuilles et le poids sec de *V. faba* sous déficit hydrique

Les performances de croissance de deux génotypes différents de fève couplés individuellement à deux souches différentes de *Rhizobium Leguminosarum* ont été analysées sous deux conditions hydriques, bien arrosées et limitées en eau. Les résultats ont montré que la hauteur des plantes, le nombre de nœuds, le poids sec des parties aériennes, racinaires et totale des deux génotypes étaient significativement réduits dans des conditions de déficit hydrique. Cependant, les résultats ont montré que l'inoculation par les *R. Leguminosarum* augmentait significativement ces paramètres pour les deux génotypes par rapport aux plantes non inoculées. En comparant l'effet des isolats de *Rhizobium*, les deux souches ont montré une hauteur de plante, les poids secs des parties aériennes et racinaires maximum pour le génotype AQD que les contrôles non inoculés. En revanche, la souche OL13 a montré une hauteur de plante, les poids secs des parties aériennes et racinaires maximum pour le génotype MLT.

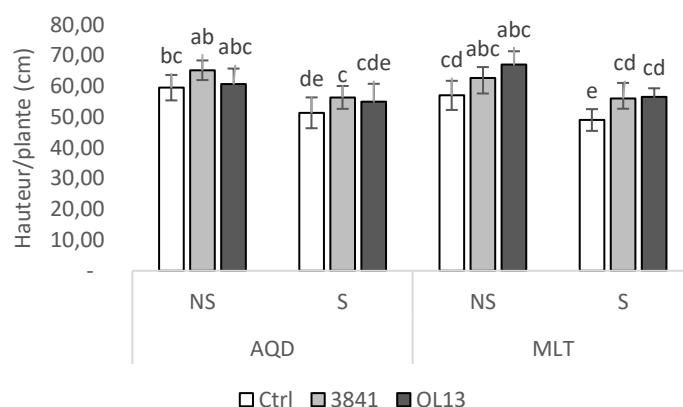


Figure IV.1. Hauteur des plantes de fève (cm). Des plantes de *Vicia faba* âgés de 70 jours, préalablement inoculées individuellement avec des souches de *Rhizobium* (3841) et (OL13) et non inoculées (Ctrl), ont été cultivés dans des conditions témoins bien arrosées (Noté : NS) ou sous conditions limitées en eau (noté : S). Les hauteurs des plantes ont été mesurées juste avant la récolte. AQD : Aquadulce ; MLT : Maltais. Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de trois répétitions indépendantes. Les différences dans les données ont été considérées comme significativement différentes au niveau de probabilité de 0,05 par le test de Student-Newman-Keuls (indiqué par des lettres différentes).

La hauteur des plantes n'était pas significativement différente entre les plantes non inoculées et les plantes inoculées pour le génotype AQD. Cependant, pour le génotype MLT, dans des conditions bien arrosées, les plantes inoculées OL13 ont montré une augmentation significative de la hauteur des plantes. Dans des conditions d'eau limitées, les deux plantes inoculées MLT ont enregistré une augmentation significative de la hauteur de la plante par rapport aux plantes non inoculées (Fig. IV.1). Pour le nombre de nœuds, dans des conditions bien arrosées, l'effet d'inoculation n'est enregistré que pour la souche 3841 couplée au génotype

AQD, aucune différence significative n'a été enregistrée pour les autres plantes. Cependant, dans des conditions de déficit hydrique, les deux souches augmentent le nombre de nœuds pour le génotype AQD, tandis que seule la souche OL13 a montré une augmentation significative pour le génotype MLT, par rapport aux plantes non inoculées et à la souche 3841 (Fig. VI.2).

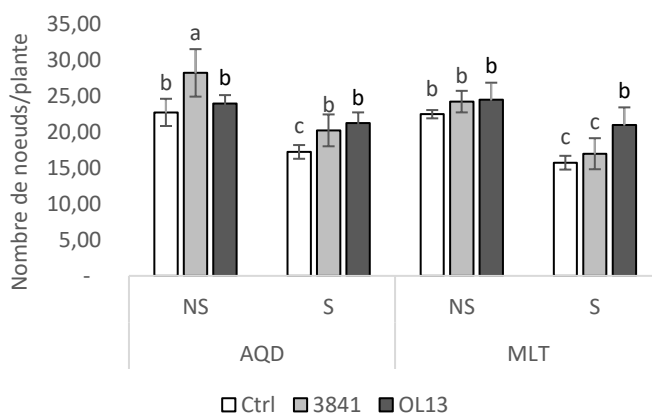


Figure IV.2. Nombre de nœuds par plante de fève. Des plantes de *Vicia faba* âgés de 70 jours, préalablement inoculées individuellement avec des souches de *Rhizobium* (3841) et (OL13) et non inoculées (Ctrl), ont été cultivés dans des conditions témoins bien arrosées (Noté : NS) ou sous conditions limitées en eau (noté : S). Le nombre de nœuds par plante a été mesuré juste avant la récolte. AQD : Aquadulce ; MLT : Maltais. Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de trois répétitions indépendantes. Les différences dans les données ont été considérées comme significativement différentes au niveau de probabilité de 0,05 par le test de Student-Newman-Keuls (indiqué par des lettres différentes).

L'inhibition de la croissance, qui se traduit par une diminution du rendement en matière sèche, est l'un des symptômes les plus courants de la déshydratation (El-Tayeb et Hassanein 2000 ; Le Thiec et Manninen 2003). En cas de déficit hydrique, le PS des parties aériennes et racinaires ainsi que le PS total ont été significativement réduits par rapport à ceux obtenus dans des conditions de contrôle. Cependant, le PS des parties aériennes et racinaires était significativement moins réduit dans AQD que dans MLT, montrant que la croissance des plantes AQD est moins affectée par le déficit hydrique que MLT (Figures IV.3-A, B et C). Les plantes inoculées ont montré une meilleure réponse de croissance pour les deux conditions hydriques pour les deux génotypes étudiés, par rapport aux plantes non inoculées. Cependant, la souche 3841 a enregistré un meilleur poids sec pour AQD dans des conditions bien arrosées, alors que la souche OL13 a enregistré le poids sec le plus élevé pour MLT, dans les deux conditions hydriques.

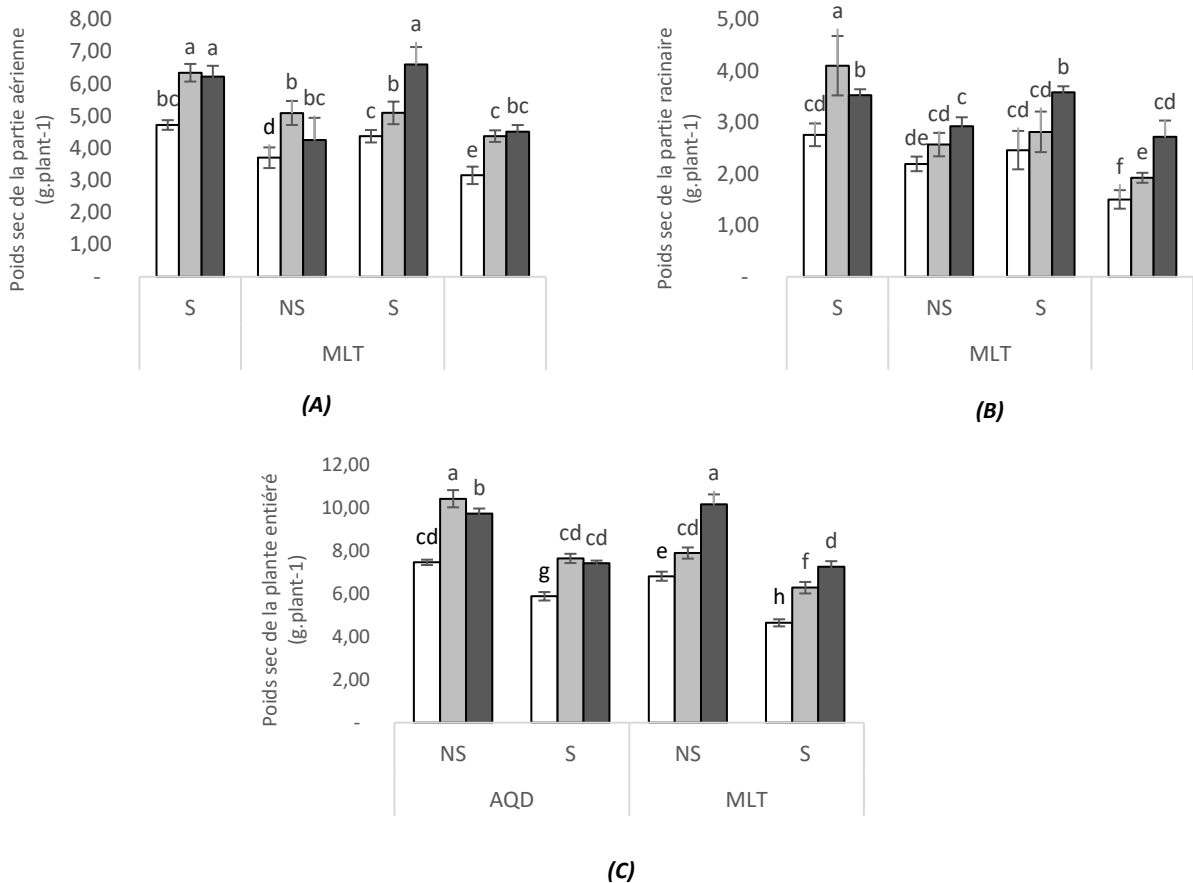


Figure IV.3. Réponses du rendement en matière sèche au déficit hydrique. Des plantes de *Vicia faba* âgés de 70 jours, préalablement inoculées individuellement avec des souches de *Rhizobium* (3841) et (OL13) et non inoculées (Ctrl), ont été cultivés dans des conditions témoins bien arrosées (Noté : NS) ou sous conditions limitées en eau (noté : S). Poids sec de la partie aérienne (A) ; Poids sec de la partie racinaire (B) ; Poids sec de la plante entière (C). AQD : Aquadulce ; MLT : Maltais. Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de trois répétitions indépendantes. Les différences dans les données ont été considérées comme significativement différentes au niveau de probabilité de 0,05 par le test de Student-Newman-Keuls (indiqué par des lettres différentes).

Les plantes inoculées ont montré une meilleure réponse de croissance (RC %) pour les deux conditions hydriques pour les deux génotypes étudiés, par rapport aux plantes non inoculées respectives (Fig. IV.4.). Le PS de AQD a été amélioré de manière similaire par les deux souches de rhizobium étudiées, dans les deux conditions hydriques. Les deux souches étudiées ont amélioré le PS de MLT, mais les souches OL13 a augmenté plus fortement le PS de ce génotype, dans les deux conditions hydriques. L'augmentation des paramètres de croissance pour les plantes inoculées par rapport aux plantes non inoculées pour AQD et MLT a montré que l'inoculation des *Rhizobium* améliore les paramètres de croissance des plantes, dans les deux conditions d'eau étudiées.

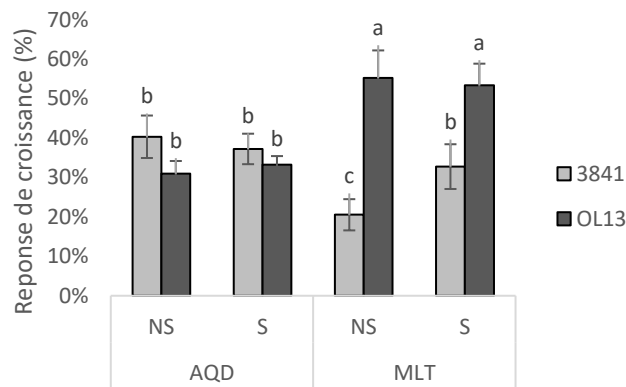


Figure IV.4. Réponse de croissance % influencé par *R. leguminosarum* et par le déficit hydrique. Des plantes de *Vicia faba* âgés de 70 jours, préalablement inoculées individuellement avec des souches de *Rhizobium* (3841) et (OL13) et non inoculées (Ctrl), ont été cultivés dans des conditions témoins bien arrosées (Noté : NS) ou sous conditions limitées en eau (noté: S). AQD : Aquadulce ; MLT : Maltais. Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de trois répétitions indépendantes. Les différences dans les données ont été considérées comme significativement différentes au niveau de probabilité de 0,05 par le test de Student-Newman-Keuls (indiqué par des lettres différentes).

Pris ensemble, ces résultats ont montré que les paramètres de croissance étaient significativement réduits dans les deux organes considérés pour les deux génotypes étudiés sous déficit hydrique (Fig. IV.14). Cependant, l'augmentation de ces paramètres pour les plantes inoculées par rapport aux plantes non inoculées pour les deux génotypes étudiés, a montré que l'inoculation par les *Rhizobium* améliore les paramètres de croissance des plantes, dans les deux conditions hydriques étudiées.

IV.2.2. Effet des *R. leguminosarum* sur la conductance stomatique, la teneur totale en chlorophylle et les pigments photosynthétiques sous déficit hydrique

Les réponses de la fève au déficit hydrique ont été analysées en mesurant des marqueurs physiologiques et biochimiques. La conductance stomatique est considérée comme un marqueur physiologique important pour le dépistage des génotypes de la fève dans des conditions de déficit hydrique. En tant que marqueurs biochimiques, la teneur en chlorophylle (Chl) et en caroténoïdes (Car) a été mesurée pour estimer les dommages causés par le déficit hydrique sur les feuilles.

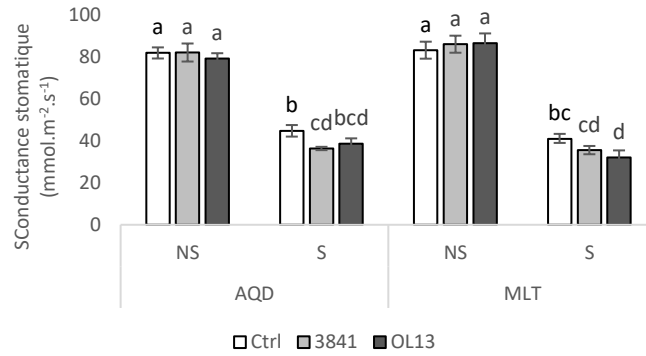


Figure IV.5. Conductance stomatique influencé par *R. leguminosarum* et par le déficit hydrique. Des plantes de *Vicia faba* âgés de 70 jours, préalablement inoculées individuellement avec des souches de *Rhizobium* (3841) et (OL13) et non inoculées (Ctrl), ont été cultivés dans des conditions témoins bien arrosées (Noté : NS) ou sous conditions limitées en eau (noté : S). AQD : Aquadulce ; MLT : Maltais. Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de trois répétitions indépendantes. Les différences dans les données ont été considérées comme significativement différentes au niveau de probabilité de 0,05 par le test de Student-Newman-Keuls (indiqué par des lettres différentes).

La conductance stomatique n'était pas significativement différente entre les deux cultivars et entre les différentes inoculations de rhizobium dans des conditions bien arrosées (Fig. IV.5). Dans des conditions de déficit hydrique, la conductance stomatique a diminué pour les deux génotypes et tous les traitements bactériens. La plus forte diminution a été observée pour le génotype MLT inoculé par la souche OL13 avec 62,90 % et pour l'AQD inoculé par la souche 3841. Cependant, le génotype MLT enregistre la plus forte diminution par rapport au génotype AQD, mais cette diminution n'était pas statistiquement significative.

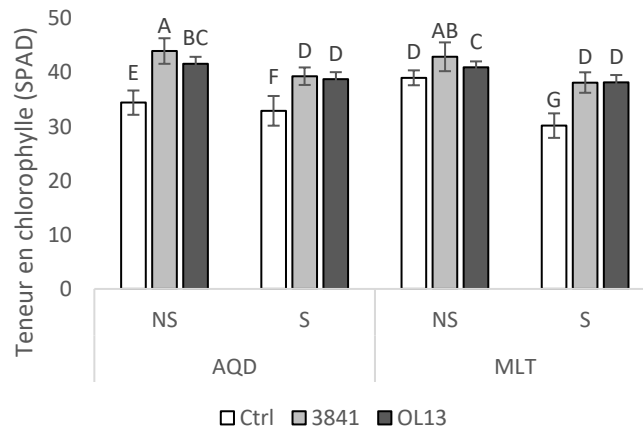


Figure IV.6. Effet de *R. leguminosarum* et du déficit hydrique sur la teneur en chlorophylle totale (SPAD). Des plantes de *Vicia faba* âgés de 70 jours, préalablement inoculées individuellement avec des souches de *Rhizobium* (3841) et (OL13) et non inoculées (Ctrl), ont été cultivés dans des conditions témoins bien arrosées (Noté : NS) ou sous conditions limitées en eau (noté : S). AQD : Aquadulce ; MLT : Maltais. Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de trois répétitions indépendantes. Les différences dans les données ont été considérées comme significativement différentes au niveau de probabilité de 0,05 par le test de Student-Newman-Keuls (indiqué par des lettres différentes).

Les résultats des taux de chlorophylle totale (Figure IV.6) montrent une diminution chez les plantes soumises au déficit hydrique par rapport aux plantes bien arrosées. Cependant, les plantes inoculées par les deux souches ont enregistré un plus grand taux de chlorophylle pour les deux situations hydriques.

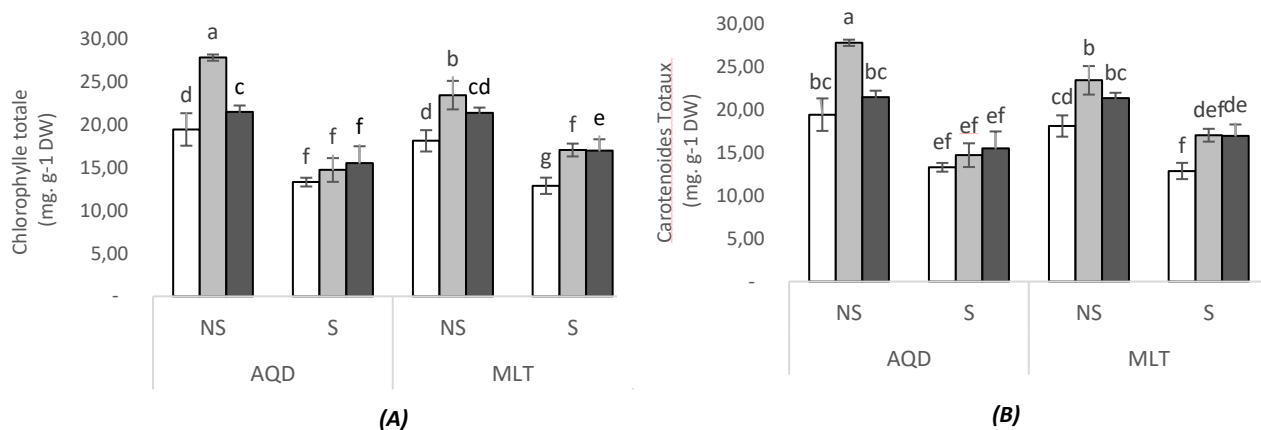


Figure IV.7. Contenu des pigments photosynthétiques. Des plantes de *Vicia faba* âgés de 70 jours, préalablement inoculées individuellement avec des souches de *Rhizobium* (3841) et (OL13) et non inoculées (Ctrl), ont été cultivés dans des conditions témoins bien arrosées (Noté : NS) ou sous conditions limitées en eau (noté : S). Contenu en chlorophylle totale (A) ; Contenu en Caroténoïdes totaux(B). AQD : Aquadulce ; MLT : Maltais. Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de trois répétitions indépendantes. Les différences dans les données ont été considérées comme significativement différentes au niveau de probabilité de 0,05 par le test de Student-Newman-Keuls (indiqué par des lettres différentes).

Les contenus totaux en Chl et Car ont été significativement réduits dans des conditions de déficit hydrique (Fig. IV.7). Dans des conditions bien arrosées, les teneurs en Chl et Car augmentent significativement dans les plantes inoculées par rapport aux plantes non inoculées. Cependant, dans des conditions d'eau limitée, aucun changement significatif n'a été enregistré pour l'AQD, mais une augmentation significative a été enregistrée pour les plantes inoculées pour le génotype MLT.

IV.2.3. Effet des *R. leguminosarum* sur l'accumulation des osmoprotectants sous déficit hydrique

La proline et les sucres solubles sont des indicateurs biochimiques importants de la tolérance au stress chez les plantes. Leur accumulation par les tissus végétaux dans des conditions de déficit hydrique est une réponse adaptative (Devi et Sujatha, 2014). Nous avons mesuré la teneur en Proline dans les feuilles, les racines et les nodules (Fig.IV.8) et la teneur en sucres solubles dans les feuilles et les racines (Fig.IV.9). Les teneurs en proline n'étaient pas significativement différentes dans les organes des deux plantes inoculées et non inoculées dans

des conditions bien arrosées. En revanche, sous déficit hydrique, la teneur en proline a fortement augmenté dans tous les organes des deux génotypes étudiés. Les plantes inoculées présentaient des valeurs plus élevées, en comparaison avec les mêmes traitements dans des plantes non inoculées (Fig. IV.8.A-B-C). Les accumulations les plus élevées de proline ont été observées dans les racines et les nodules sous déficit hydrique par rapport aux plantes non inoculées. Les accumulations les plus élevées ont été observées chez MLT inoculé par la souche OL13 au niveau des feuilles, des racines et des nodules avec respectivement 391%, 390% et 630%. L'augmentation de l'accumulation de proline était significativement plus élevée chez le génotype MLT que chez le génotype AQD (Fig. IV.14).

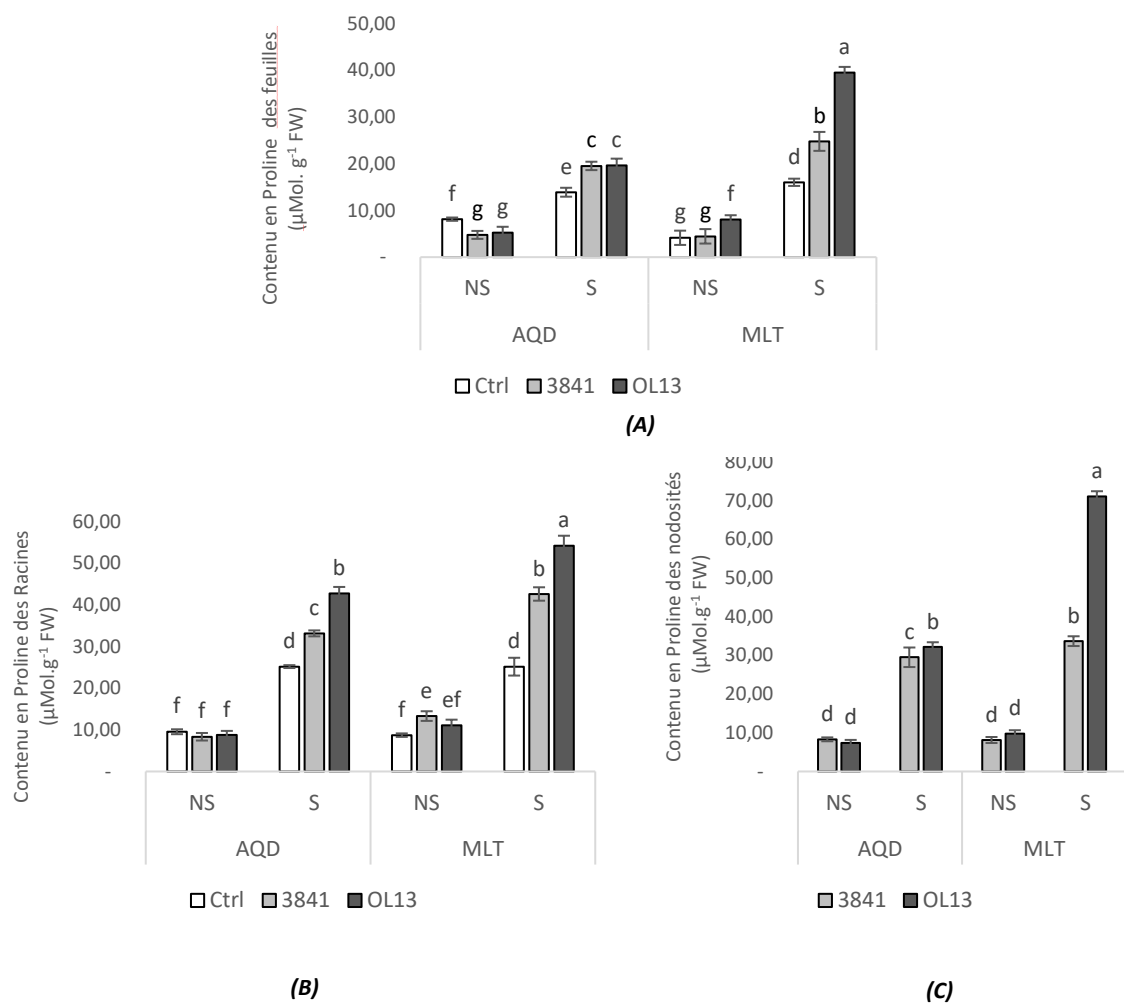


Figure IV.8. Contenu en Proline des feuilles, racines et nodosités. Des plantes de *Vicia faba* âgés de 70 jours, préalablement inoculées individuellement avec des souches de *Rhizobium* (3841) et (OL13) et non inoculées (Ctrl), ont été cultivés dans des conditions témoins bien arrosées (Noté : NS) ou sous conditions limitées en eau (noté : S). Contenu en proline des feuilles (A), racines (B) et nodosités (C). AQD : Aquadulce ; MLT : Maltais. Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de trois répétitions indépendantes. Les différences dans les données ont été considérées comme significativement différentes au niveau de probabilité de 0,05 par le test de Student-Newman-Keuls (indiqué par des lettres différentes).

L'accumulation de sucres solubles sous forme d'osmolytes est une autre méthode d'acclimatation à l'ajustement osmotique sous stress hydrique (Gontia-Mishra *et al.* 2017) et a également été étudiée dans les feuilles et les racines des deux génotypes étudiés. Dans notre étude, une différence significative a été observée dans l'accumulation de sucre dans les plantes dans des conditions de déficit hydrique chez les plantes non inoculées et inoculées par rapport aux conditions bien arrosées. Dans les feuilles, une accumulation intense de sucres solubles a été observée dans des conditions de stress hydrique chez les deux génotypes, étant significativement plus élevée chez AQD que chez MLT (Fig. IV.9). Pour les racines des deux génotypes, la teneur en sucre augmente de manière significative sous déficit hydrique par rapport aux plantes sous des conditions bien arrosées. Cependant, les plantes inoculées ont montré une augmentation importante de l'accumulation de sucres solubles par rapport aux plantes non inoculées, pour les deux génotypes, où la souche 3841 a enregistré la plus forte accumulation pour AQD et la souche OL13 pour le génotype MLT (Fig. IV.9). Dans des conditions bien arrosées, les racines inoculées présentaient une teneur en sucres solubles plus élevée que les racines non inoculées. Ces résultats suggèrent que dans les conditions expérimentales actuelles, les métabolites du sucre contribuent de manière significative au maintien du potentiel osmotique dans les feuilles et les racines sous déficit hydrique.

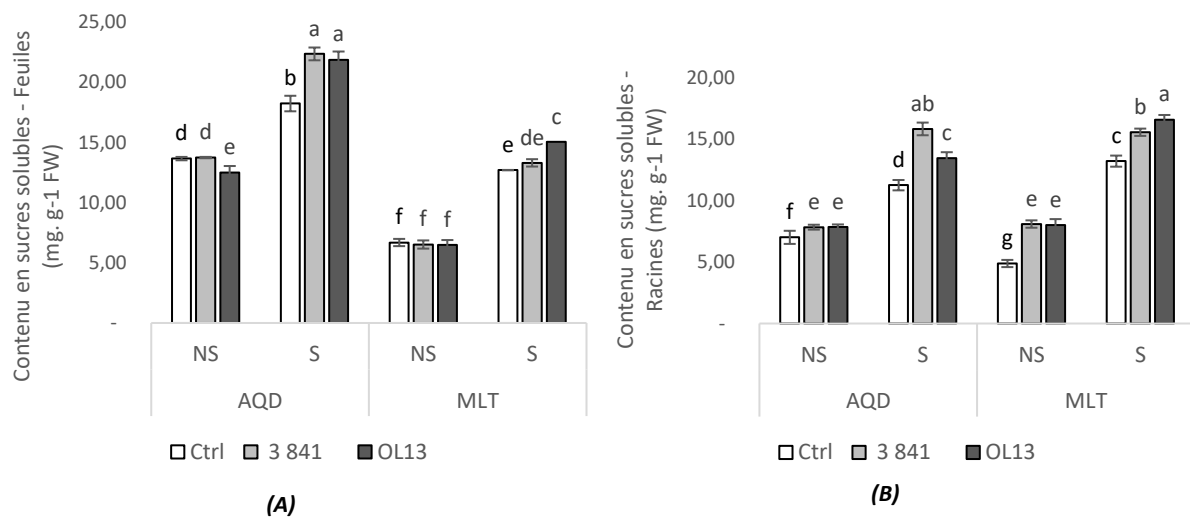


Figure IV.9. Contenu en sucres solubles dans les feuilles et les racines de *Vicia faba*. Des plantes de *Vicia faba* âgés de 70 jours, préalablement inoculées individuellement avec des souches de *Rhizobium* (3841) et (OL13) et non inoculées (Ctrl), ont été cultivés dans des conditions témoins bien arrosées (Noté : NS) ou sous conditions limitées en eau (noté : S). Contenu en sucres solubles des feuilles (A), des racines (B) AQD : Aquadulce ; MLT : Maltais. Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de trois répétitions indépendantes. Les différences dans les données ont été considérées comme significativement différentes au niveau de probabilité de 0,05 par le test de Student-Newman-Keuls (indiqué par des lettres différentes).

IV.2.4. Effet des *R. leguminosarum* sur les indicateurs du stress oxydatif sous déficit hydrique

L'exposition des plantes au stress hydrique provoque une augmentation du niveau cellulaire des espèces réactives de l'oxygène (ERO) comme le radical superoxyde (O_2^-), les radicaux hydroxyles (OH) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), entraînant des dommages oxydatifs aux protéines, à l'ADN et aux lipides (Sgherri *et al* 2000 ; Apel et Hirt 2004). La teneur en MDA et H_2O_2 sont des déterminants du stress oxydatif chez les plantes dans des conditions de déficit hydrique, c'est pourquoi nous avons mesuré la teneur en MDA (Tableau IV.1) et en H_2O_2 dans les feuilles et les racines (Tableau IV.2). Dans des conditions bien arrosées, les plantes non inoculées et inoculées ont enregistré des niveaux similaires de teneur en MDA à la fois pour les feuilles et les racines, alors qu'une augmentation significative a été enregistrée lorsque les plantes étaient soumises à des conditions de déficit hydrique (Tableau IV.1). Cependant, une augmentation significative a été observée chez les plantes non inoculées par rapport aux inoculées pour les deux génotypes étudiés. En revanche, l'accumulation de MDA était significativement plus faible dans les feuilles et les racines d'AQD que dans de celles de MLT.

Tableau IV.1. Teneurs en malondialdéhyde dans les feuilles et les racines. Des plants de *Vicia faba* âgés de soixante-dix jours, préalablement inoculés individuellement avec les souches de rhizobium 3841 et OL13, ont été cultivés dans des conditions témoins (noté: NS) ou dans des conditions limitées en eau (noté: S). AQD : Aquadulce ; MLT : Maltais.

		<i>Contenu en MDA (nmol. g⁻¹ FW)</i>			
Organes		<i>Feuilles</i>		<i>Racines</i>	
Genotype	Traitmnt.Rhiz	<i>80% FC (NS)</i>	<i>40% FC (S)</i>	<i>80% FC (NS)</i>	<i>40% FC (S)</i>
AQD	<i>Non-inoculées</i>	2,84 ^e ± 0,28	5,27 ^a ± 0,42	1,70 ^c ± 0,04	2,49 ^b ± 0,15
	<i>3841</i>	2,75 ^e ± 0,21	4,26 ^c ± 0,28	1,68 ^c ± 0,19	2,32 ^b ± 0,20
	<i>OL13</i>	2,69 ^e ± 0,21	3,76 ^d ± 0,23	1,65 ^c ± 0,17	2,35 ^b ± 0,10
MLT	<i>Non-inoculées</i>	3,16 ^e ± 0,13	5,31 ^a ± 0,48	1,68 ^c ± 0,06	2,90 ^a ± 0,06
	<i>3841</i>	3,08 ^e ± 0,10	4,86 ^{ab} ± 0,23	1,66 ^c ± 0,16	2,69 ^{ab} ± 0,16
	<i>OL13</i>	2,97 ^e ± 0,13	4,56 ^{bc} ± 0,32	1,61 ^c ± 0,17	2,52 ^b ± 0,23

Dans des conditions bien arrosées, la teneur en H_2O_2 était similaire dans les feuilles et les racines des deux génotypes (Tableau IV.2). Sous le déficit hydrique, la teneur en H_2O_2 a augmenté dans les feuilles et les racines des deux génotypes étudiés par rapport aux plantes bien arrosées. Cependant, cette augmentation était toujours significativement plus faible chez AQD que chez MLT. De plus, les plantes inoculées ont présenté une augmentation plus faible par rapport aux plantes non inoculées sous déficit hydrique. De plus, les deux souches étudiées diminuent de manière similaire la teneur en H_2O_2 pour les feuilles sous déficit hydrique, alors que, pour les racines, la souche 3841 a enregistré une différence non significative par rapport

au témoin bien arrosé. Pris ensemble, les résultats ont montré qu'une meilleure performance de croissance du génotype AQD dans des conditions limitées en eau est corrélée à la plus faible accumulation de H₂O₂ et de MDA dans les feuilles et les racines par rapport au génotype MLT, et la même conclusion pourrait être prise pour les plantes inoculées par rapport aux plantes non inoculées.

Tableau IV.2. Teneur en peroxyde d'hydrogène dans les feuilles et les racines. Des plants de *Vicia faba* âgés de soixante-dix jours, préalablement inoculés individuellement avec les souches de rhizobium 3841 et OL13, ont été cultivés dans des conditions de contrôle (noté: NS) ou dans des conditions limitées en eau (noté: S). AQD : Aquadulce ; MLT : Maltais.

		<i>Contenu en H₂O₂ (nmol. g⁻¹ FW)</i>			
Organes		Feuilles		Racines	
Genotype	Traitmt.Rhiz	80% FC (NS)	40% FC (S)	80% FC (NS)	40% FC (S)
AQD	<i>Non-inoculées</i>	37,14 ^e ±2,86	63,81 ^b ±2,89	18,33 ^e ±1,09	39,29 ^b ±2,58
	3841	32,62 ^f ±3,22	51,19 ^d ±2,30	15,95 ^e ±1,09	20,24 ^e ±1,49
	OL13	29,05 ^{fg} ±3,38	50,24 ^d ±0,82	14,29 ^e ±0,71	24,29 ^d ±3,11
MLT	<i>Non-inoculées</i>	27,62 ^{fg} ±1,49	72,38 ^a ±2,30	17,86 ^{fg} ±1,89	54,52 ^a ±3,38
	3841	26,43 ^g ±1,89	60,71 ^{bc} ±3,27	15,71 ^g ±0,71	31,90 ^{bc} ±3,93
	OL13	25,48 ^g ±2,30	57,14 ^c ±1,89	15,71 ^g ±2,47	26,43 ^c ±2,58

IV.2.5. Effet des *R. leguminosarum* sur les activités enzymatiques sous déficit hydrique

Afin de se protéger des effets du stress hydrique, les plantes développent des systèmes de défense antioxydantes constitués à la fois de composants enzymatiques et non enzymatiques (Miller *et al.*, 2010). Les activités des enzymes antioxydantes superoxyde dismutase (SOD), catalases (CAT), ascorbate peroxydase (APX) et gâiacol peroxydase (GPX) ont été mesurées en tant que paramètres de défense antioxydante dans les feuilles, les racines et les nodules. La SOD est une enzyme clé dans la régulation des concentrations intracellulaires de ERO ; il convertit les radicaux superoxydes en H₂O₂, puis APX, CAT et GPX convertissent H₂O₂ en H₂O (Rasool *et al.* 2013, Chihoub *et al.* 2019). L'action combinée de la SOD, APX, CAT et GPOX est essentielle pour atténuer les effets du stress oxydatif (Wang *et al.* 2016).

Dans la présente expérience, aucune différence significative n'a été enregistrée entre les plantes non inoculées et inoculées pour les feuilles et les racines et entre les deux génotypes étudiés dans des conditions bien arrosées (Figures IV.10-11-12-13). Cependant, l'activité de toutes les enzymes antioxydantes, dans les trois organes et pour les deux génotypes étudiés, a augmenté de manière significative dans des conditions limitées en eau (Fig. IV.14). De plus, sous le déficit hydrique, dans les feuilles, les activités enzymatiques étaient fortement induites par la souche 3841 pour le génotype AQD et par la souche OL13 pour le génotype MLT. Pour la partie Feuilles, en comparant les activités enzymatiques étudiées, la SOD, APX et CAT ont montré une activité significativement plus élevée pour le génotype AQD que pour le génotype

MLT. En revanche, MLT a enregistré une augmentation significative de l'activité GPX par rapport au génotype AQD.

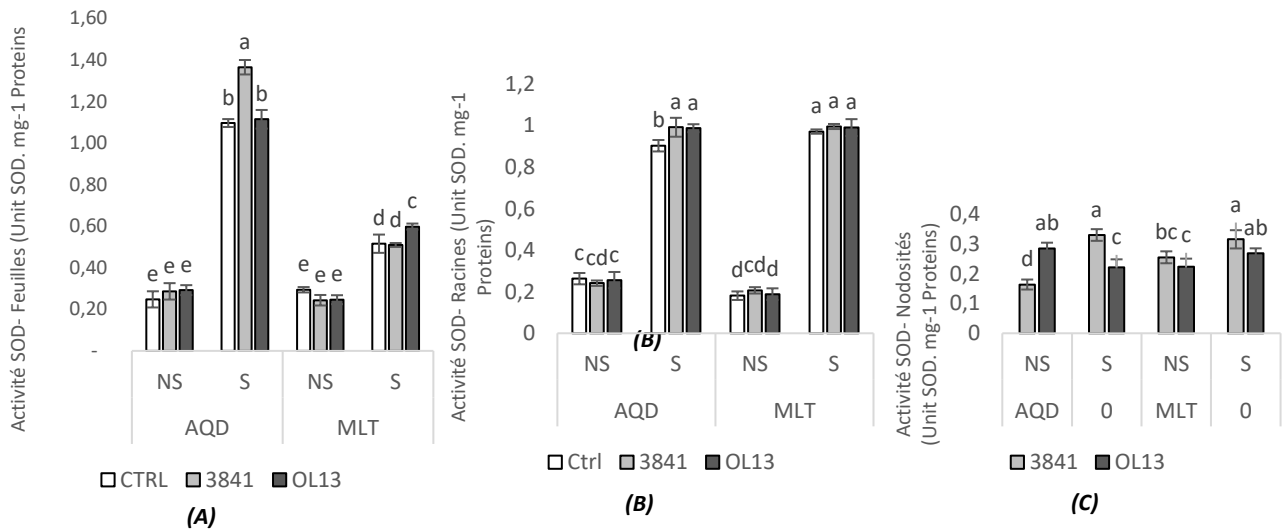


Figure. IV. 10. Activité de la Superoxyde dismutase au niveau des feuilles, racines et nodosités. Des plantes de *Vicia faba* âgés de 70 jours, préalablement inoculées individuellement avec des souches de *Rhizobium* (3841) et (OL13) et non inoculées (Ctrl), ont été cultivés dans des conditions témoins bien arrosées (Noté : NS) ou sous conditions limitées en eau (noté : S). Activité SOD des feuilles (A), des racines (B) et des nodosités (C). AQD : Aquadulce ; MLT : Maltais. Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de trois répétitions indépendantes. Les différences dans les données ont été considérées comme significativement différentes au niveau de probabilité de 0,05 par le test de Student-Newman-Keuls (indiqué par des lettres différentes).

Sous le déficit hydrique, pour les racines, l'activité SOD était significativement induite par les deux souches étudiées pour le génotype AQD, et aucune différence significative entre les plantes MLT non inoculées et inoculées (Figure IV.10). De plus, aucune différence significative n'a été enregistrée entre les deux génotypes étudiés.

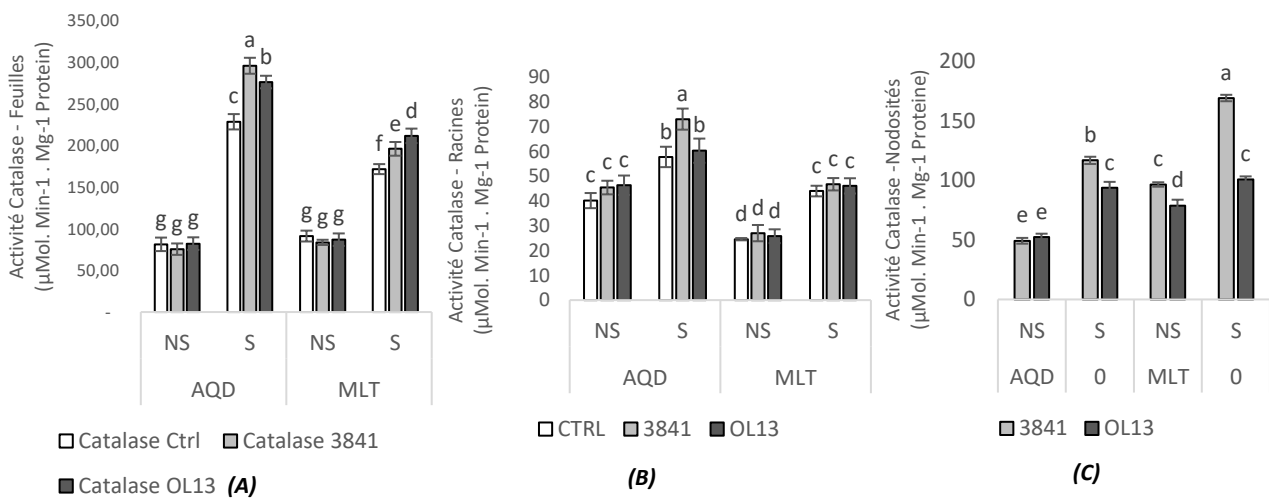


Figure. IV. 11. Activité de la Catalase au niveau des feuilles, racines et nodosités. Des plantes de *Vicia faba* âgés de 70 jours, préalablement inoculées individuellement avec des souches de *Rhizobium* (3841) et (OL13) et non inoculées (Ctrl), ont été cultivés dans des conditions témoins bien arrosées (Noté : NS) ou sous conditions limitées en eau (noté : S). Activité CAT

Chapitre IV : Réponses morphologique, physiologique et biochimique de la symbiose *Vicia faba* - *Rhizobium leguminosarum* au déficit hydrique

des feuilles (A), des racines (B) et des nodosités (C). AQD : Aquadulce ; MLT : Maltais. Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de trois répétitions indépendantes. Les différences dans les données ont été considérées comme significativement différentes au niveau de probabilité de 0,05 par le test de Student-Newman-Keuls (indiqué par des lettres différentes).

Pour l'activité CAT, dans des conditions de déficit hydrique, pour les feuilles, l'activité des enzymes CAT a été significativement induite par les deux souches de rhizobium pour les deux génotypes, où l'activité la plus élevée a été enregistrée pour AQD inoculé par la souche 3841 et l'activité la plus élevée pour MLT a été enregistrée pour les plantes inoculées par la souche OL13 (Figure IV.11). En revanche, pour les racines, aucune différence significative n'a été enregistrée entre les plantes non inoculées et inoculées pour le génotype MLT, tandis que les seules différences significatives ont été enregistrées pour le génotype AQD inoculé par la souche 3841. Au niveau des nodules, la souche 3841 a montré une activité plus élevée que la souche OL13.

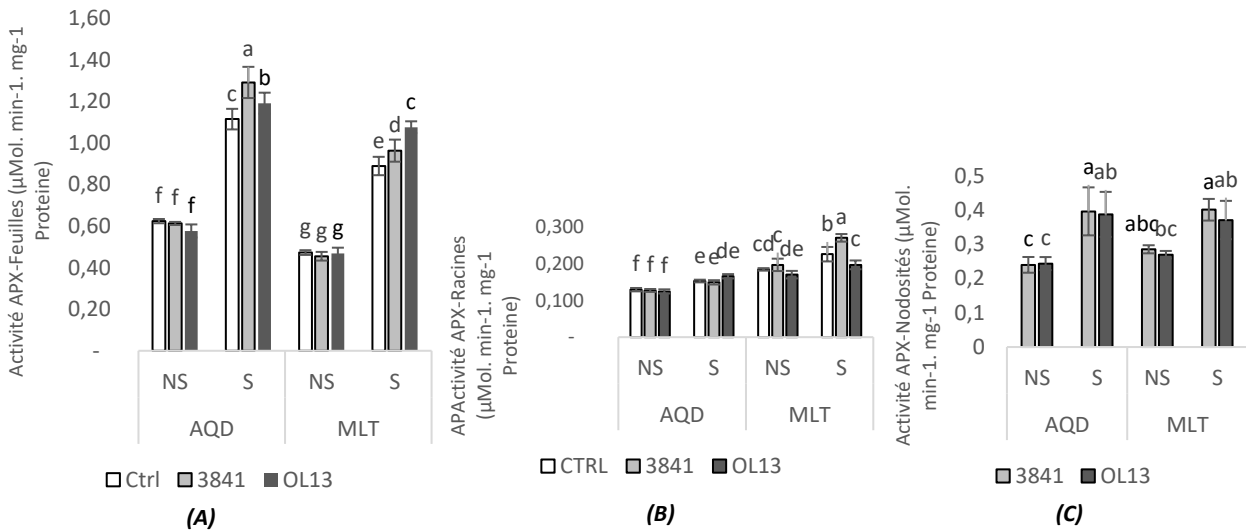


Figure. IV. 12. Activité de l'Ascorbate peroxydase au niveau des feuilles, racines et nodosités. Des plantes de *Vicia faba* âgés de 70 jours, préalablement inoculées individuellement avec des souches de *Rhizobium* (3841) et (OL13) et non inoculées (Ctrl), ont été cultivés dans des conditions témoins bien arrosées (Noté : NS) ou sous conditions limitées en eau (noté : S). Activité APX des feuilles (A), des racines (B) et des nodosités (C). AQD : Aquadulce ; MLT : Maltais. Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de trois répétitions indépendantes. Les différences dans les données ont été considérées comme significativement différentes au niveau de probabilité de 0,05 par le test de Student-Newman-Keuls (indiqué par des lettres différentes).

Pour l'activité APX, dans des conditions de déficit hydrique, les racines du génotype MLT ont montré l'activité la plus élevée par rapport à AQD, où l'activité la plus élevée a été enregistrée pour MLT inoculé par la souche 3841, et aucune différence significative n'a été enregistrée pour AQD entre les plantes non inoculées et inoculées (Figure IV.12). Pour les nodules, aucune différence significative entre les deux souches étudiées n'a été enregistrée.

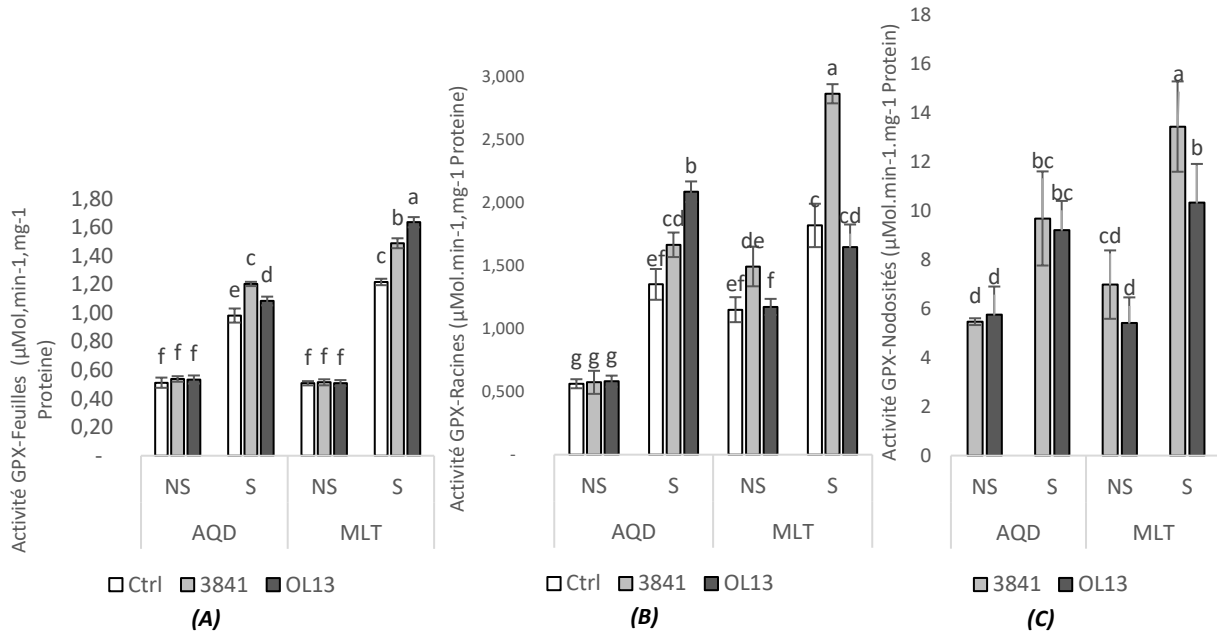


Figure. IV. 13. Activité de la gaïacol peroxydase au niveau des feuilles, racines et nodosités. Des plantes de *Vicia faba* âgés de 70 jours, préalablement inoculées individuellement avec des souches de *Rhizobium* (3841) et (OL13) et non inoculées (Ctrl), ont été cultivés dans des conditions témoins bien arrosées (Noté : NS) ou sous conditions limitées en eau (noté : S). Activité GPX des feuilles (A), des racines (B) et des nodosités (C). AQD : Aquadulce ; MLT : Maltais.

Contrairement aux trois enzymes précédentes, la GPX présentait une activité enzymatique opposée, où l'activité GPX était plus élevée dans les racines et les nodules que dans les feuilles (Figure IV.13). Même pour les racines, l'activité GPX a été renforcée par OL13 pour AQD et par 3841 pour MLT, ce qui est l'inverse pour les trois enzymes précédentes.

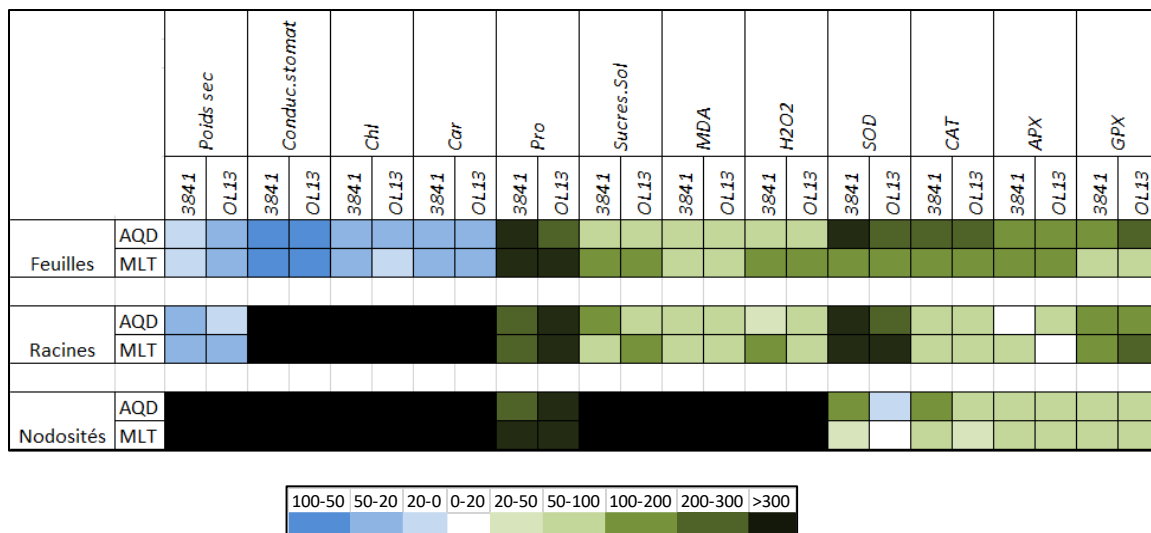


Figure. IV.14. Sommaires des réponses de *Vicia faba* inoculé par deux souches de *R. leguminosarum* au déficit hydrique. La modification des marqueurs physiologiques et biochimiques chez les plantes *V. faba* inoculées par les deux souches étudiées dans des conditions limitées en eau par rapport aux plantes non-inoculées est indiquée en pourcentage du niveau du marqueur concerné. PS : poids sec ; Conduc.stomat : conductance stomatique ; Chl : Chlorophylle ; Car : Caroténoïdes ; Pro : Proline ; Sucres.sol : Sucres solubles ; MDA : malondialdéhyde ; H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène ; SOD : superoxyde dismutase ; CAT : catalase ; APX : ascorbate peroxydase ; GPX : gaïacol peroxydase ; AQD, Aquadulce ; MLT : Maltais.

De tous les résultats examinés, la faible augmentation de la teneur en MDA et surtout en H₂O₂ observée dans les feuilles et les racines des deux génotypes étudiés, compte tenu des plantes non inoculées et inoculées avec les deux souches étudiées, est corrélée à l'augmentation de activités des enzymes antioxydantes SOD, APX et CAT détectées dans ces différents traitements.

IV.3. Discussion

Les stress environnementaux contraignent les plantes, les rhizobiums et les symbioses à fonctionner de manière optimale (Hungria et Vargas, 2000) ; et le changement climatique ne fera qu'aggraver les périodes et l'intensité des stress, y compris le stress hydrique. Relativement, peu d'informations sont disponibles sur la manière dont la sécheresse affecte la relation symbiotique entre les rhizobiums du sol fixateurs d'azote et la plante hôte (Ferguson *et al.*, 2010). Cependant, pour rendre la symbiose efficace en cas de déficit hydrique, les légumineuses doivent être associées à des souches de *Rhizobium* efficaces adaptées à chaque espèce de légumineuses afin d'obtenir les combinaisons les plus efficaces (Dwivedi *et al.* 2015).

Nos résultats ont montré que le stress hydrique affecte significativement les paramètres de croissance des plantes pour les deux génotypes étudiés et pour les plantes inoculées et non inoculées. Cependant, pour la hauteur des plants et le nombre de nœuds, l'effet d'inoculation est plus marqué pour AQD inoculé par la souche 3841 et pour MLT inoculé par la souche OL13. Selon Tadesse *et al.* (2011), la hauteur de la plante est une composante importante du rendement. Pour la fève, une association positive entre le rendement et la hauteur de la plante a déjà été documentée pour les deux var. *minor* et *major* (Ulukan *et al.*, 2003 ; Al Rifae *et al.*, 2004) et pour d'autres légumineuses (ex : pois chiche : Toker et Ilhan Cagircan, 2004). Cela pourrait être lié à une relation entre la hauteur et le nombre de nœuds portant des gousses le long de la tige principale, un facteur important dans la production de rendement (Graf et Rowland, 1987). De plus, il n'y a pas de différences significatives entre les deux génotypes étudiés. Néanmoins, dans des conditions de déficit hydrique, AQD présentait une diminution significativement faible du PS des feuilles et des racines que MLT, montrant que parmi les deux génotypes étudiés, AQD est celui qui présente la meilleure croissance dans des conditions de déficit hydrique (Fig. IV.3). Le PS des parties aériennes et racinaires était significativement augmenté lors de l'inoculation avec les deux souches de *R. Leguminosarum* pour les deux génotypes étudiés. En comparant l'effet de l'inoculation des Rhizobium, pour AQD, la souche 3841 a montré un PS maximal pour les parties racinaires et aériennes par rapport aux plantes inoculées par la souche OL13 et au témoin non inoculé (Fig. IV.3). En revanche, la souche

OL13 a augmenté le PS des parties aériennes et racinaires pour le génotype MLT. Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par Saghafi *et al.* (2018) sur *Brassica napus* inoculé par différentes souches de *R. Leguminosarum* sous stress salin. Mayak *et al.* (2004) ont également rapporté que l'augmentation de la biomasse végétale dans des conditions de stress est due au développement du système racinaire, qui facilite l'absorption des nutriments et de l'eau. En effet, les *R. leguminosarum* produisent de nombreuses phytohormones, notamment les gibbérellines (Boiero *et al.* 2007) et les cytokinines (Noel *et al.* 1996), où les gibbérellines sont responsables de l'allongement des tiges et de l'expansion des feuilles (Patil *et al.* 2017), et les cytokinines stimulent la division cellulaire, l'agrandissement des cellules et la croissance des parties aériennes (Kaushal et Wani 2016).

Nos données ont indiqué que la symbiose avec différents rhizobiums modifiait différemment les réponses physiologiques et biochimiques de la fève dans les deux conditions hydriques, offrant une tolérance à la sécheresse pendant un stress hydrique à long terme. La mesure de la teneur totale en Chl et en Car a montré que l'effet d'inoculation était plus prononcé pour les deux génotypes dans des conditions bien arrosées, et était plus marqué par les plantes inoculées par la souche 3841. Dans des conditions de déficit hydrique, l'effet d'inoculation n'est enregistré que pour le génotype MLT, et est le même pour les deux souches étudiées. Les teneurs en Chl et Car étaient plus élevées dans les plantes inoculées par 3841 par rapport à OL13, suggérant que la souche 3841 avait un effet efficace sur la photosynthèse.

L'une des premières lignes de défense contre la sécheresse est la fermeture des stomates, qui peut permettre à la plante d'échapper à la déshydratation et de maintenir un état hydrique plus élevé même dans des conditions de sécheresse prolongée (Amede et Schubert 2005). En effet, dans des conditions de déficit hydrique, les plantes inoculées ont montré une conductance stomatique significativement plus faible par rapport aux plantes non inoculées, pour les deux génotypes. Ces résultats indiquent que l'inoculation de *Rhizobium* confère une tolérance à la sécheresse grâce à la régulation stomatique. Plusieurs études sur la fève ont montré qu'une grande efficacité d'utilisation de l'eau, principalement due à une faible conductance stomatique, minimise les pertes d'eau et maintient le rendement dans des conditions de sécheresse (Nerkar *et al.* 1981 ; Khan *et al.*, 2007 ; Khazaei *et al.* 2018). Boiero *et al.* (2007) ont rapporté que *Rhizobium* sp. ont été capables de produire de l'acide abscissique, qui stimule la fermeture des stomates, ce qui peut expliquer la diminution de la conductance stomatique chez les plantes inoculées afin de protéger les plantes contre les pertes d'eau et les autres dégâts. Les deux génotypes étudiés présentaient une corrélation positive entre la teneur en pigment

photosynthétique et la conductance stomatique, et les deux variables diminuaient significativement dans des conditions de déficit hydrique. Cependant, les deux souches étudiées affectent de manière similaire la conductance stomatique dans des conditions d'eau limitées.

Notre analyse biochimique a montré que les deux souches de rhizobium étudiées affectent différemment l'accumulation d'osmolytes et la réponse antioxydante. L'accumulation d'osmolytes tels que la proline, les sucres solubles ou d'autres acides aminés est une stratégie végétale permettant de réguler le potentiel osmotique des cellules sous stress hydrique (Zhang *et al.* 2010). La proline et les sucres peuvent aider à stabiliser les protéines et les structures cellulaires, en particulier lorsque le stress devient sévère ou persiste plus longtemps (Camaille *et al.* 2021).

La proline a été identifiée comme un osmoprotecteur (Delauney et Verma, 1993), et elle s'accumule en réponse à une variété de stress abiotiques, y compris le stress hydrique, comme le démontre cette étude (Fig. IV.8). Dans des conditions de déficit hydrique, la proline s'est accumulée dans tous les différents organes des deux génotypes étudiés. Cependant, cette accumulation était significativement plus élevée dans le génotype MLT que dans le génotype AQD. Cependant, les plantes inoculées ont montré une teneur en proline significativement plus élevée pour tous les organes, par rapport aux plantes non inoculées. Ces résultats sont en accord avec les données précédemment rapportées pour les plantes *Glycine max* inoculées avec *Bradyrhizobium japonicum* (Kohl *et al.* 1991). Selon Ramos *et al.* (2005), l'augmentation des taux de proline induite par l'inoculation est probablement due à une meilleure utilisation des acides aminés, en particulier l'acide glutamique et l'arginine. L'acide glutamique est le précurseur de la proline, tandis que l'arginine peut subir une réaction médiée par l'enzyme pyrroline-5-carboxylate réductase (P5CR) et ainsi libérer la proline. Malgré les nombreuses études sur la proline, le rôle de l'accumulation de la proline est encore controversé car il est décrit comme un piègeur de radicaux, un antioxydant et est impliqué dans la régulation de l'apoptose et dans le développement des graines (Kocsy *et al.* 2005 ; Kavi Kishor *et al.* 2014). Selon Hanson & Hitz (1983), l'accumulation de la proline est un symptôme d'un déficit hydrique interne sévère et non une réponse métabolique adaptative au stress. Nous émettons l'hypothèse que l'accumulation de proline peut avoir un rôle dans la tolérance de la fève au stress hydrique, mais elle ne peut pas être considérée comme un marqueur fiable de la résistance de la fève au déficit hydrique. Ces faits sont en désaccord avec les données précédemment rapportées pour

la fève où les génotypes tolérants à la sécheresse accumulent plus de proline que les génotypes sensibles (Siddiqui *et al.*, 2015 ; Abid *et al.*, 2017 ; Kabbadj *et al.* 2017).

Chez *Medicago sativa*, Trinchant *et al.* (2004) ont mesuré une augmentation de 15 fois la concentration en proline, atteignant ainsi une concentration de 11,8 mM au niveau des bactéroïdes lors du stress salin. En effet, il a été démontré que la proline joue un rôle d'osmoprotectant, plutôt que de source d'énergie pour la fixation bactéroïde de N₂ dans les légumineuses telles que la fève (Trinchant *et al.* 1998). La quantité plus élevée de proline dans les nodosités de MLT inoculé par la souche OL13 devrait être un marqueur d'une plus grande tolérance au stress hydrique qu'avec la souche 3841.

En effet, les cellules bactériennes préviennent généralement la déshydratation en accumulant des osmolytes, dont la proline, qui est l'un des osmolytes majeurs de l'osmo-adaptation des rhizobiums pour équilibrer le potentiel hydrique interne et externe (Kibido *et al.* 2020). Ce résultat pourrait être la conséquence de la plus grande tolérance de la souche OL13 au stress hydrique ; une tolérance plus élevée qui pourrait être due à la capacité de la souche OL13 à accumuler une concentration plus élevée de proline dans des situations de stress. De plus, une étude récente a démontré que les nodosités du cultivar de soja tolérant à la sécheresse accumulaient des niveaux plus élevés de proline par rapport au cultivar sensible (Furlan *et al.* 2017). Une autre caractéristique frappante était le fait que les *Rhizobium* dans les nodosités pouvaient influencer la concentration de proline dans les racines et dans les feuilles, un mécanisme qui reste à élucider mais qui a déjà été observé (Irshad *et al.* 2021). En effet, Irshad *et al.* (2021) ont observé des solutés compatibles plus élevés (proline, acides aminés libres, glycine bêtaïne, sucres solubles et protéines) sur les organes végétaux de *Medicago truncatula* avec des nodosités actives par rapport à ceux non nodulées dans le processus de tolérance au stress salin. La conclusion des auteurs était que l'inoculation de *Rhizobium meliloti* joue un rôle clé contre le stress salin par l'induction du système antioxydant et l'accumulation de solutés compatibles (Irshad *et al.* 2021). Le niveau élevé de proline était également corrélé positivement avec le niveau élevé de H₂O₂ enregistré pour le génotype MLT. Verslues *et al.* (2007) suggèrent que H₂O₂ peut stimuler l'accumulation de proline induite par l'ABA et peut être un facteur dans l'induction des niveaux élevés d'accumulation de proline qui peuvent se produire sous un faible stress hydrique. D'autre part, le niveau élevé de H₂O₂ enregistré chez le génotype MLT suggère que ce génotype est plus sensible à la sécheresse.

Le sucre agit soit comme substrat pour la respiration cellulaire, soit comme osmolyte pour maintenir l'homéostasie cellulaire (Gupta et Kaur, 2005). Nos résultats soutiennent

l'hypothèse que les sucres solubles jouent un rôle important pour l'ajustement osmotique chez les plantes. Ce résultat est cohérent avec les données obtenues par Ali *et al.* (2016) et Abid *et al.* (2017), qui ont signalé une augmentation de la teneur en sucres solubles dans les feuilles des plantes stressées par le manque d'eau, même si la teneur en sucre des racines n'a pas été évaluée auparavant. Nos résultats contredisent ceux de Khalafallah *et al.* (2008), qui ont découvert que le stress hydrique n'avait aucun effet sur la teneur en sucres solubles de la fève. Cependant, selon Gopalakrishnan *et al.* (2015), la plante transporte des glucides vers les nodules qui sont utilisés comme source d'énergie et également comme source d'hydrogène pour la conversion de l'azote atmosphérique en ammoniac par les rhizobiums, ce qui peut expliquer la forte teneur en sucres solubles enregistrée dans les racines inoculées par rapport aux racines non inoculées, dans des conditions bien arrosées. Par conséquent, nous suggérons que le sucre soluble est un bon marqueur de sélection pour la fève en réponse au déficit hydrique, conduisant à un ajustement osmotique chez cette espèce. Cependant, il convient de noter que l'accumulation de sucres solubles a été décrite comme plus efficace que l'accumulation de la proline pour contrer le stress osmotique et une interaction putative entre la proline et les sucres solubles a été mise en avant (Kavi Kishor *et al.* 2014 ; Gurrieri *et al.* 2020).

Dans des conditions de déficit hydrique, le MDA et le H₂O₂ ont montré une accumulation significative dans les deux organes étudiés. Cependant, l'accumulation de MDA était plus faible dans les feuilles de plantes inoculées des deux génotypes par rapport aux plantes non inoculées, ce qui n'est pas le cas pour les racines. En revanche, le contenu en H₂O₂ a montré une plus grande variation entre les deux génotypes étudiés et les différents traitements bactériens, où AQD a enregistré les plus faibles taux d'accumulation de H₂O₂ pour les deux organes étudiés. Le résultat du contenu en H₂O₂ suggère que le stress oxydatif est moins marqué chez AQD que chez MLT, et chez les plantes inoculées que chez les plantes non inoculées. Il est intéressant de noter que l'accumulation du H₂O₂ était similaire dans les racines de AQD dans des conditions bien arrosées et sous déficit hydrique chez les plantes inoculées par la souche 3841 (Tableau IV.2). L'accumulation de H₂O₂ dans les feuilles et les racines devrait permettre de distinguer les génotypes résistants des génotypes sensibles dans l'exploration de bons marqueurs de sélection. Nos résultats suggèrent que la symbiose entre la souche de rhizobium et la plante hôte protège les plantes contre les dommages oxydatifs causés par le stress hydrique, mais à un niveau différent selon le génotype de la plante hôte.

Le fait qu'un niveau inférieur de H₂O₂ dans les feuilles était associé à une plus grande adaptation au déficit hydrique suggère que les mécanismes de détoxification du génotype AQD

sont plus efficaces que ceux du génotype MLT. L'activation de la machinerie antioxydante cellulaire est essentielle pour la protection contre le stress oxydatif induit par la sécheresse. Dans nos expériences, les activités SOD, CAT et APX étaient significativement plus élevées dans les feuilles et les racines d'AQD que dans MLT sous déficit hydrique.

L'augmentation significative du niveau d'activité SOD dans les feuilles de AQD par rapport aux feuilles de MLT indique que AQD a une meilleure capacité à augmenter l'activité SOD pour piéger l'O₂⁻ induite par le déficit hydrique que MLT. Quoi qu'il en soit, dans les feuilles de *Vicia faba* inoculées, l'effet *R. leguminosarum* a été remarqué pour AQD inoculé avec la souche 3841 et MLT inoculé par la souche OL13, montrant la plus grande capacité donnée par cette souche à améliorer l'activité SOD pour piéger O₂⁻ dans des conditions de déficit hydrique. Notre étude de l'augmentation de l'activité SOD corrobore également les conclusions de Siddiqui *et al.* (2015) et Abid *et al.* (2017), qui ont démontré la capacité de l'activité SOD à améliorer la tolérance à la sécheresse des génotypes de *V. faba*. De même, Kumari *et al.* (2018), ont démontré que le pois chiche inoculé par des bactéries endophytes présentait une régulation à la hausse significative de l'expression des gènes de SOD et de proline, indiquant que les endophytes bactériens peuvent aider à protéger les plantes dans des conditions de stress hydrique en régulant à la hausse l'expression des gènes au niveau moléculaire.

Le principal système de détoxification du peroxyde d'hydrogène dans les cellules végétales est le cycle ascorbate-glutathion, dans lequel APX joue un rôle clé en catalysant la conversion de H₂O₂ en H₂O, en utilisant l'ascorbate comme donneur d'électrons spécifique (Caverzan *et al.* 2012). Dans nos expériences, l'APX a augmenté significativement dans les feuilles de AQD puis dans MLT, dans des conditions limitées en eau. Cependant, l'augmentation de l'activité APX des racines a également été observée, même si ce n'était pas aussi fort que dans les feuilles. Dans des études récentes sur la fève, Kabbadj et ses collègues (2017) ont également trouvé une amélioration significative de l'activité APX pour AQD par rapport aux deux autres cultivars étudiés, et reliant cela à la grande tolérance à la sécheresse du cultivar AQD. Ces résultats sont en désaccord avec Abid *et al.* (2017), qui n'ont pas trouvé de différence significative pour cette activité enzymatique.

Dans les cellules foliaires, la CAT est l'une des protéines à rotation la plus rapide, notamment sous stress, et est nécessaire à l'élimination de l'H₂O₂ généré dans les peroxysomes par photorespiration (Noctor *et al.* 2018). Pour l'activité CAT, une augmentation significative a été enregistrée dans les feuilles et les nodules des deux génotypes ; cependant, l'activité CAT

des feuilles de AQD était plus élevée que l'activité CAT des feuilles de MLT. Néanmoins, les plantes inoculées ont montré un niveau plus élevé d'activité CAT par rapport aux plantes non inoculées. Le niveau élevé d'activité CAT dans les plantes AQD inoculées suggère une forte capacité de détoxification du H₂O₂. L'augmentation de l'activité de la CAT dans des conditions de déficit hydrique a également été signalée dans des études antérieures pour les génotypes tolérants à la sécheresse dans Siddiqui *et al.* (2015), Abid *et al.* (2017) et Kabbadj *et al.* (2017).

Enfin, l'activité GPX est également une enzyme vitale pour la détoxification de H₂O₂ (Hasanuzzaman *et al.* 2020). Cependant, malgré l'augmentation importante enregistrée pour les deux génotypes et dans tous les organes étudiés, cette augmentation est significativement plus importante chez le génotype MLT que chez le génotype AQD, contrairement aux trois enzymes précédentes.

La découverte qu'un niveau inférieur de H₂O₂ était associé à une plus grande adaptation au déficit hydrique suggère que les mécanismes de détoxification dans le génotype AQD et les plantes inoculées des deux génotypes sont plus efficaces que chez les plantes MLT et les plantes non inoculées. L'augmentation des activités SOD, APX et CAT était corrélée à la diminution de l'accumulation de H₂O₂, ce qui souligne l'importance de ces trois enzymes dans le piégeage des ERO et la détoxification des cellules.

Le résultat a montré la capacité des *R. leguminosarum* à améliorer les paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques dans les deux conditions hydriques étudiées. Ils améliorent l'activité des enzymes végétales qui atténuent les dommages oxydatifs induits par le déficit hydrique. Cependant, les deux souches étudiées n'ont pas présenté la même amélioration de la tolérance pour les deux génotypes étudiés. En effet, selon Perret *et al.* (2000), la relation symbiotique entre les bactéries des nodules racinaires et les légumineuses à un degré élevé de spécificité pour une nodulation efficace, elle opère aux deux niveaux de la symbiose, c'est-à-dire la nodulation et la fixation de l'azote par l'échange de signaux chimiques spécifiques entre les deux partenaires. Le génotype MLT représente la variété la plus cultivée en Algérie, ce qui peut expliquer l'amélioration significative de tous les paramètres étudiés lorsqu'il est inoculé par la souche OL13, qui a été isolée d'une rhizosphère algérienne. Cette souche a montré une amélioration significative du génotype AQD mais pas au même niveau que celui du génotype MLT. En revanche, le génotype AQD a montré une grande tolérance lorsqu'il est inoculé par la souche 3841 par rapport à la souche OL13.

IV.4. Conclusion

Dans la présente étude, deux génotypes de fève ont été inoculés individuellement avec deux souches différentes de *R. leguminosarum*, et exposés à une sécheresse terminale afin d'étudier leur niveau de tolérance au déficit hydrique. Notre étude démontre le rôle important du symbiote dans les nodosités pour augmenter la tolérance des plantes au déficit hydrique. Les résultats obtenus indiquent qu'une plus grande tolérance au stress hydrique chez les génotypes de la fève dépend principalement de la régulation à la hausse de différents mécanismes antioxydants et de la production de solutés compatibles qui sont activés différemment selon le *Rhizobium* nodulant la plante. La variété MLT, largement cultivée en Algérie, s'avère bien mieux tolérante au stress hydrique en symbiose avec la souche locale de *Rhizobium* OL13. Cette souche OL13 conduit notamment à une bien meilleure production de proline et de sucre soluble chez le génotype MLT. Cette souche a également montré une amélioration significative chez le génotype AQD mais pas au même niveau et pour les mêmes paramètres exposés lorsqu'elle a été inoculée avec la souche 3841. Il est nécessaire d'explorer davantage pour déchiffrer le mécanisme par lequel une souche de *Rhizobium* peut affecter la tolérance au stress hydrique des légumineuses. Cependant, l'inoculation de *Rhizobium* sélectionné pourrait être une stratégie prometteuse pour améliorer la gestion du stress hydrique dans l'ère à venir du changement climatique.

Chapitre V :
**Réponse morphologique,
physiologique et
biochimique de la symbiose
Triticum durum -
Rhizobium leguminosarum
au déficit hydrique**

Chapitre V : Réponse morphologique, physiologique et biochimique de la symbiose Triticum durum - Rhizobium leguminosarum au déficit hydrique

V.1. Introduction

La production agricole a été soumise à une multitude de stress abiotiques en raison du réchauffement de la planète et du changement climatique à travers le monde (Hussain *et al.* 2018). Les sécheresses constituent un sérieux défi pour la productivité agricole dans les régions arides et semi-arides du monde (Ullah *et al.* 2017). C'est l'un des facteurs environnementaux les plus importants affectant la croissance et le rendement des plantes dans le monde (Gollmack *et al.* 2014) en affectant la morphologie, la physiologie et la biochimie des plantes cultivées (Anjum *et al.*, 2011). Le blé dur (*Triticum turgidum* L. var *durum* Desf.) est la 10ème céréale la plus importante et la plus cultivée dans le monde avec une production annuelle moyenne de 40 millions de tonnes (MT) (2016/17). En règle générale, la production de blé dur représente 5 % de la production totale de blé avec une superficie de plantation de 16 millions d'hectares dans le monde (International Grains Council [IGC], 2020). Le déficit hydrique affecte négativement le développement et la croissance du blé comme la floraison et la maturité physiologique (Farooq *et al.* 2012) et diminue le poids frais et sec des plantules de blé (Li et Ma 2013 ; Yan et Shi 2013). De plus, il inhibe la croissance des plantes en perturbant divers processus biochimiques et physiologiques, y compris le métabolisme des nutriments, l'absorption des ions essentiels, la respiration, la translocation des glucides et la photosynthèse (Farooq *et al.* 2008) et en abaissant le taux de transpiration et la conductance stomatique (Zhan *et al.* 2011). De plus, les plantes soumises au stress hydrique sont sérieusement affectées par les dommages secondaires causés par les stress oxydatifs. Ces dommages oxydatifs sont les conséquences des espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui sont capables de réagir rapidement avec une large gamme de biomolécules provoquant ainsi des dommages irréversibles conduisant à la nécrose et à la mort cellulaire (Raja *et al.* 2017). Compte tenu du problème, divers chercheurs ont essayé différentes stratégies physiques, chimiques et biologiques pour améliorer ou réduire l'impact de la sécheresse sur la croissance et le rendement des plantes (Hussain *et al.*, 2011).

Cependant, les interactions bénéfiques des plantes avec les microbes peuvent améliorer la tolérance des plantes cultivées sous divers stress environnementaux (Nadeem *et al.* 2016 ; Khan *et al.* 2017 ; Ali *et al.* 2017), y compris le stress hydrique (Nadeem *et al.* 2014). De plus, l'inoculation avec des bactéries bénéfiques pour les plantes reste avantageuse par rapport aux traitements chimiques ou physiques que ce soit en termes de rentabilité économique ou de durabilité environnementale (Hussain *et al.* 2018). Les *Rhizobium* font partie d'un grand groupe

de bactéries formant des nodules, connues pour leur association symbiotique bénéfique avec les légumineuses. Ils fixent l'azote en développant des nodules sur les racines des légumineuses, où ils utilisent des nitrogénases pour fixer le diazote atmosphérique. On croyait que les *Rhizobium* étaient exclusivement avantageux pour les légumineuses, mais plusieurs chercheurs ont récemment démontré leur potentiel pour améliorer la croissance des non-légumineuses (céréales) via des mécanismes ou des stratégies indirectes et directes. Parmi les céréales étudiées figurent le blé (Hussain *et al.*, 2014b ; Asghar *et al.* 2015 ; Ullah *et al.* 2017), le riz (Hussain *et al.*, 2009) et le maïs (Mehboob *et al.* 2012 ; Hussain *et al.* 2016).

Lorsque les rhizobiums colonisent les racines d'une plante non légumineuse dans une relation non spécifique, les souches de ce genre peuvent se comporter comme des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) (Saharan et Nehra 2011). Les *Rhizobium* agissent également comme PGPR sous forme d'endophytes ou de rhizobactéries dans les plantes céréalières et non légumineuses (Zaim *et al.* 2017). Les rhizobiums améliorent également les effets néfastes des stress et induisent une tolérance chez les plantes en adoptant différents mécanismes, notamment l'induction d'une tolérance systémique par certains changements chimiques ou physiques (Hussain *et al.*, 2014a). Ces caractéristiques peuvent inclure la production de composés organiques comme le tréhalose (Zahran 1999), les phytohormones (Chandra *et al.*, 2007), les sidérophores (Saidi *et al.*, 2013), la régulation des activités antioxydantes enzymatiques/non enzymatiques (Berjak, 2006), la biosynthèse de solutés/osmolytes compatibles avec les plantes (Grover *et al.*, 2010) et l'amélioration de la disponibilité des nutriments essentiels (Hussain *et al.* 2009 ; Hassan *et al.*, 2017) par des mécanismes tels que la solubilisation du phosphate (Flores-Felix *et al.* 2013). De plus, Les *Rhizobium* spp. Produisent aussi des composés de lumichrome, qui agissent comme un activateur de la croissance des plantes avant le début de la fixation de l'azote (Cooper 2007).

Cette étude visait à étudier l'impact de deux souches différentes de *Rhizobium leguminosarum* sur la tolérance à la sécheresse de deux génotypes de *Triticum durum*. Cela pourrait potentiellement conduire à explorer un côté des rotations de cultures de la séquence céréales-légumineuses. Ainsi, il existe un potentiel considérable pour les rhizobiums résiduels de coloniser le système racinaire des plantules de blé en germination (Ullah *et al.* 2017). Nous avons proposé d'étudier l'impact de l'inoculation de *R. leguminosarum* sous déficit hydrique et leurs effets sur les réponses morphologiques, physiologiques et biochimiques dans les feuilles de *T. durum*. Nous avons mesuré des paramètres morphologiques pour examiner l'effet sur la croissance des plantes, physiologiques pour déterminer l'état de l'eau (IRE et conductance

stomatique), l'accumulation d'osmolyte (sucre soluble), les marqueurs de stress oxydatif (MDA et teneur en H₂O₂), les activités enzymatiques (catalase et peroxydase) comme paramètres pour évaluer l'effet de l'inoculation de *R. leguminosarum* sur *T. durum* en cas de carence en eau dans des expériences en serre.

V.2. Résultats

V.2.1. Effet des *R. leguminosarum* sur la hauteur, la teneur relative en eau et la conductance stomatique du blé dur sous déficit hydrique

Les performances de croissance de deux génotypes de blé dur différents inoculés individuellement et co-inoculés avec deux souches différentes de *Rhizobium leguminosarum* ont été analysées dans des conditions bien arrosée et limitée en eau. Les résultats ont montré que la hauteur des plantes et le TRE (%) des deux génotypes étaient significativement réduits dans les conditions de déficit hydrique. Cependant, les résultats ont montré que l'inoculation avec le *R. leguminosarum* augmentait significativement ces paramètres pour les deux génotypes par rapport aux plantes non inoculées, pour les deux génotypes étudiés.

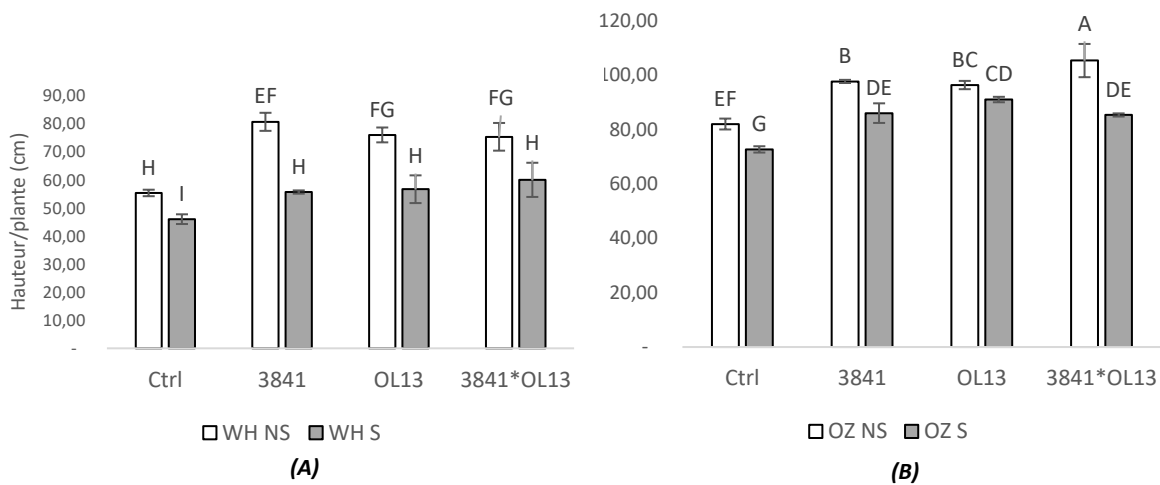


Figure V.1. Effet du stress hydrique et de l'inoculation par les rhizobiums sur la hauteur des plantes chez les deux génotypes de blé dur étudiés. Plantes de *Triticum Durum* de 80 jours, préalablement inoculées par des souches de rhizobium (Ctrl : non inoculées, 3841 : inoculées par la souche 3841, OL13 : inoculées par la souche OL13, 3841*OL13 : co-inoculées par les deux souches), Variété Waha : WH (A) ; variété Oued zenati : OZ (B). Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de trois répétitions indépendantes. Les différences dans les données ont été considérées comme significativement différentes au niveau de probabilité de 0,05 par le test de Student-Newman-Keuls (indiqué par des lettres différentes).

Dans les conditions de déficit hydrique, les plantes inoculées ont montré une augmentation de la hauteur des plantes par rapport aux plantes non inoculées. En comparant l'effet des isolats de *Rhizobium* sur le génotype WH, dans des conditions bien arrosées, les deux souches ont présenté la même augmentation à la fois pour l'inoculation unique et la co-inoculation (Fig. V.1). En revanche, dans des conditions hydriques déficitaires, aucun changement significatif n'a été enregistré entre les plantes inoculées. Pour le génotype OZ, dans des conditions bien arrosées, les deux inoculations simples ont montré la même augmentation de la hauteur de la plante, lorsque la co-inoculation enregistre une augmentation significativement plus élevée par rapport aux deux inoculations simples.

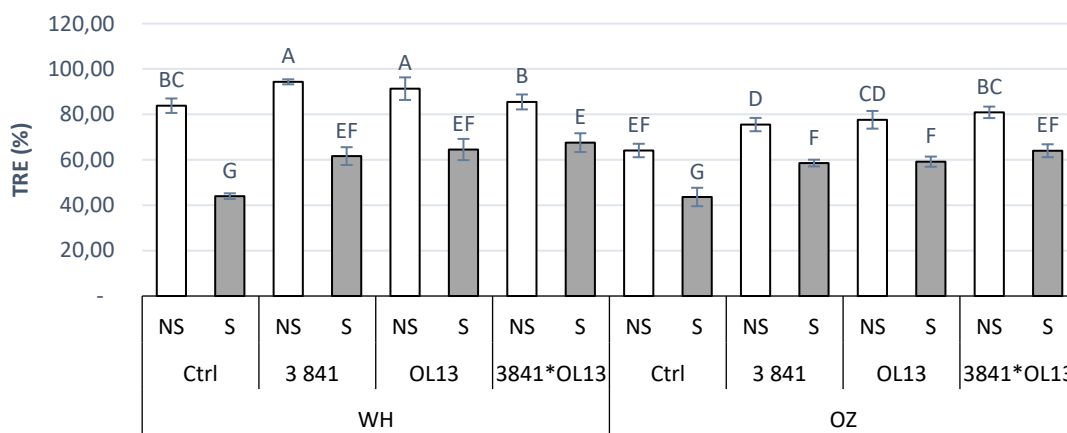


Figure V.2. Effet du stress hydrique et de l'inoculation par les rhizobiums sur la teneur en eau relative des feuilles étandard chez les deux génotypes de blé dur étudiés. Plantes de *Triticum Durum* de 80 jours, préalablement inoculées par des souches de rhizobium (Ctrl : non inoculées, 3841 : inoculées par la souche 3841, OL13 : inoculées par la souche OL13, 3841*OL13 : co-inoculées par les deux souches), Variété Waha : WH (A) ; variété Oued zenati : OZ (B). Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de trois répétitions indépendantes. Les différences dans les données ont été considérées comme significativement différentes au niveau de probabilité de 0,05 par le test de Student-Newman-Keuls (indiqué par des lettres différentes).

La TRE (%) est couramment utilisée pour caractériser le bilan hydrique d'une plante. Dans les deux conditions hydriques, les deux génotypes étudiés ont montré une TRE plus élevée chez les plantes inoculées par rapport aux plantes non inoculées (Fig. V.2). Cependant, entre les deux conditions hydriques, le pourcentage de décroissance est plus important chez les plantes WH non inoculés que chez les plantes OZ non inoculés, avec respectivement -47,54 % et -31,95 %. Lorsque l'on compare l'effet des isolats de *Rhizobium* sur les génotypes WH et OZ, le pourcentage de diminution entre les deux conditions hydriques est plus faible chez les plantes co-inoculées que chez les plantes inoculées seules. Pour les deux génotypes étudiés, la diminution la plus faible est enregistrée chez les plantes co-inoculées.

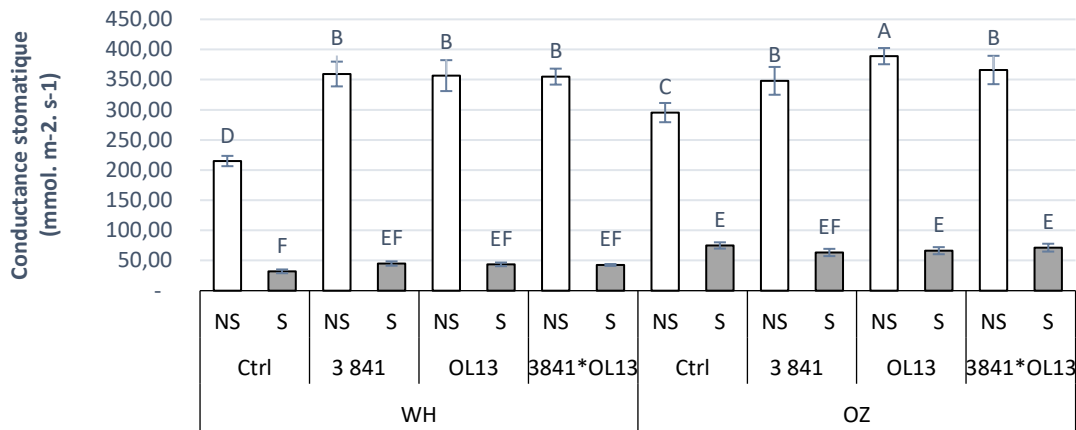


Figure V.3. Conductance stomatique ($\text{mmol. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) influencée par l'inoculation de *R. Leguminosarum* et le déficit hydrique chez les deux génotypes de blé dur étudiés. Plantes de *Triticum Durum* de 80 jours, préalablement inoculées par des souches de rhizobium (Ctrl : non inoculées, 3841 : inoculées par la souche 3841, OL13 : inoculées par la souche OL13, 3841*OL13 : co-inoculées par les deux souches), Variété Waha : WH ; variété Oued zenati : OZ. Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de trois répétitions indépendantes. Les différences dans les données ont été considérées comme significativement différentes au niveau de probabilité de 0,05 par le test de Student-Newman-Keuls (indiqué par des lettres différentes).

L'induction d'un stress hydrique a réduit de manière significative la conductance stomatique chez les deux génotypes étudiés (Fig. V.3). La conductance stomatique n'était pas significativement différente entre les inoculations de *Rhizobium* et les plantes non inoculées dans des conditions de déficit hydrique (Fig. V.3). En revanche, dans les conditions bien arrosées, les plantes inoculées ont montré une conductance stomatique plus élevée, pour les deux génotypes étudiés, par rapport aux plantes non inoculées. Cependant, aucune différence significative n'a été enregistrée entre les plantes simples et co-inoculées, pour les deux génotypes.

V.2.2. Effet des *R. leguminosarum* sur l'accumulation de la proline et des sucres solubles chez le blé dur sous déficit hydrique

La proline et les sucres solubles sont des marqueurs biochimiques importants de la tolérance au stress chez les plantes. Leur accumulation par les tissus végétaux dans des conditions de déficit hydrique est une réponse adaptative (Sheela Devi et Sujatha, 2014). Nous avons mesuré la teneur en Proline (Fig. V.4) et la teneur en sucres solubles dans les feuilles de blé dur (Fig. V.5). Les teneurs en proline n'étaient pas significativement différentes entre les deux variétés ainsi qu'entre les différents traitements bactériens dans des conditions bien arrosées. En revanche, sous déficit hydrique, la teneur en proline a fortement augmenté chez les deux génotypes étudiés. Chez la variété WH, les plantes inoculées présentaient des valeurs

plus élevées, en comparaison avec les mêmes traitements dans des plantes non inoculées, et où les accumulations les plus élevées de proline ont été observées chez les plantes WH co-inoculées (Fig. V.4). Cependant, chez la variété OZ, la seule différence d'accumulation entre les traitements bactériens a été seulement enregistré chez les plantes co-inoculées. L'augmentation de l'accumulation de proline était significativement plus élevée chez le génotype WH que chez le génotype OZ.

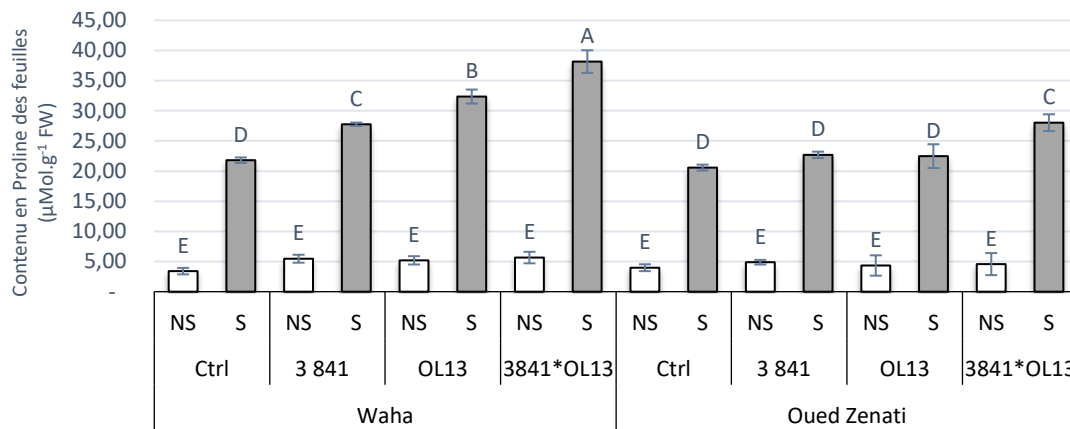


Figure V.4. Teneur en proline ($\mu\text{Mol.g}^{-1}$ FW) influencée par l'inoculation de *R. Leguminosarum* et le déficit hydrique chez les deux génotypes de blé dur étudiés. Plantes de *Triticum Durum* de 80 jours, préalablement inoculées par des souches de rhizobium (Ctrl : non inoculées, 3841 : inoculées par la souche 3841, OL13 : inoculées par la souche OL13, 3841*OL13 : co-inoculées par les deux souches), Variété Waha : WH (A); variété Oued zenati : OZ (B). Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de trois répétitions indépendantes. Les différences dans les données ont été considérées comme significativement différentes au niveau de probabilité de 0,05 par le test de Student-Newman-Keuls (indiqué par des lettres différentes).

Comme de nombreux stress environnementaux, la sécheresse entraîne des altérations majeures du métabolisme des glucides et les voies de signalisation des sucres interagissent avec les voies de stress pour moduler le métabolisme (Gong *et al.* 2015). Les sucres jouent un rôle indirect dans le contrôle du métabolisme des glucides pendant la croissance et le développement des plantes sous stress abiotique (Jha et Subramanian 2018). Dans notre étude, une accumulation significative de sucre soluble a été observée dans des conditions limitées en eau chez les plantes non inoculées et inoculées par rapport aux conditions bien arrosées. Une accumulation intense de sucres solubles a été observée dans des conditions de déficit hydrique chez les deux génotypes, étant significativement plus élevée chez le génotype OZ que chez le génotype WH (Fig. V.5).

Cependant, les plantes inoculées ont montré une augmentation significativement plus élevée de l'accumulation de sucre soluble par rapport aux plantes non inoculées, pour les deux génotypes. Néanmoins, les plantes simples et co-inoculées ont enregistré la même augmentation dans des conditions de déficit hydrique. Ces résultats montrent que les métabolites du sucre

jouent un rôle important dans le maintien du potentiel osmotique pendant le stress hydrique dans les paramètres expérimentaux actuels.

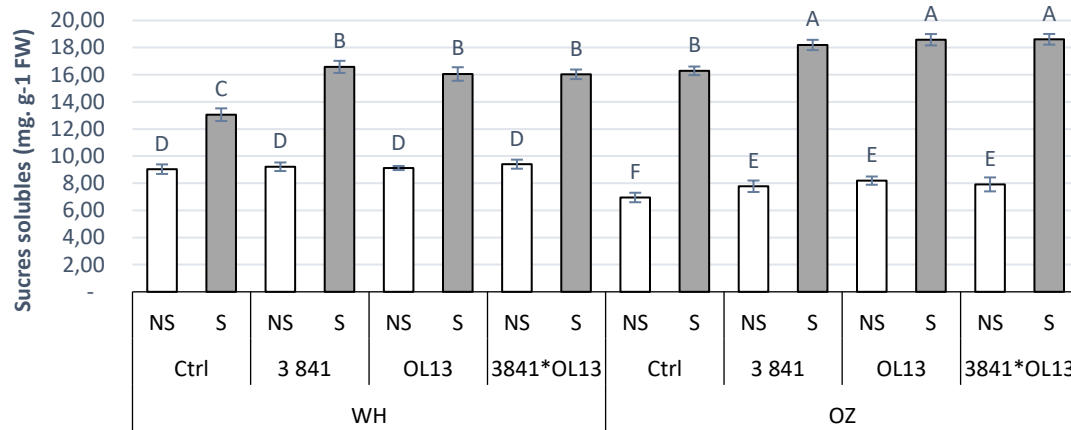


Figure. V.5. Teneur en sucre soluble (mg. g⁻¹ FW) influencée par l'inoculation de *R. Leguminosarum* et le déficit hydrique chez les deux génotypes de blé dur étudiés. Plantes de *Triticum Durum* de 80 jours, préalablement inoculées par des souches de rhizobium (Ctrl : non inoculées, 3841 : inoculées par la souche 3841, OL13 : inoculées par la souche OL13, 3841*OL13 : co-inoculées par les deux souches), Variété Waha : WH (A) ; variété Oued zenati : OZ (B). Les valeurs indiquées sont la moyenne ± SD de trois répétitions indépendantes. Les différences dans les données ont été considérées comme significativement différentes au niveau de probabilité de 0,05 par le test de Student-Newman-Keuls (indiqué par des lettres différentes).

V.2.3. Effet des *R. leguminosarum* sur la peroxydation lipidique et la teneur en peroxyde d'hydrogène chez blé dur sous déficit hydrique

Les plantes exposées au stress hydrique produisent et sur-accumulent des espèces réactives de l'oxygène (ERO), telles que le radical superoxyde (O₂), les radicaux hydroxyle (OH) et le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), qui causent des dommages oxydatifs aux ingrédients cellulaires, notamment les glucides, les protéines, les lipides, ADN, etc. (Raja *et al.* 2017; Hasanuzzaman *et al.* 2020). Les teneurs en MDA et H₂O₂ sont des déterminants du stress oxydatif chez les plantes dans des conditions de stress hydrique, c'est pourquoi nous avons mesuré la teneur en MDA et en H₂O₂ dans les feuilles étendards (Tableau V.1).

Dans les conditions bien arrosées, les plantes non inoculées et inoculées présentaient des niveaux similaires de teneur en MDA et en H₂O₂, mais lorsque les plantes étaient exposées au déficit hydrique, il y avait une augmentation considérable à la fois de la teneur en MDA et en H₂O₂ (Tableau V.1). L'accumulation du MDA était significativement plus faible dans les feuilles d'OZ que dans les feuilles de WH, avec respectivement 113,26 % et 656,27 %. Concernant la teneur en H₂O₂, cette augmentation était également significativement plus faible chez le génotype OZ que chez le génotype WH avec respectivement 76,78 % et 105,61 %. De plus, pour la teneur en MDA et en H₂O₂, une augmentation significative a été observée chez les

plantes non inoculées par rapport aux plantes inoculées pour les deux génotypes étudiés. De plus, les deux souches étudiées diminuent de manière similaire la teneur en H₂O₂ sous déficit hydrique, alors que l'augmentation la plus faible a été enregistrée chez les plantes co-inoculées du génotype OZ.

Tableau. V.1. Teneurs en malondialdéhyde (MDA) et en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) dans les feuilles étendards influencées par l'inoculation de *R. Leguminosarum* et le déficit hydrique chez les deux génotypes de blé dur étudiés. Plantes de *Triticum Durum* de 80 jours, préalablement inoculées par des souches de rhizobium (Ctrl : non inoculées, 3841 : inoculées par la souche 3841, OL13 : inoculées par la souche OL13, 3841*OL13 : co-inoculées par les deux souches), Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de trois répétitions indépendantes.

Genotypes	Traitement Rhizobium	Contenu en MDA (nMol. g ⁻¹ FW)		Contenu en H ₂ O ₂ (nMol. g ⁻¹ FW)	
		80% FC (NS)	40% FC (S)	80% FC (NS)	40% FC (S)
WH	Non-inoculées	17,10 \pm 1,32 ^F	129,33 \pm 6,35 ^A	28,02 \pm 2,32 ^{EF}	57,62 \pm 1,62 ^A
	Souche 3841	17,39 \pm 0,87 ^F	91,36 \pm 4,88 ^B	28,95 \pm 1,70 ^{EF}	52,26 \pm 3,36 ^B
	Souche OL13	17,97 \pm 0,53 ^F	65,28 \pm 3,48 ^D	28,95 \pm 3,69 ^{EF}	50,00 \pm 1,99 ^B
	3841*OL13	16,87 \pm 1,06 ^F	66,14 \pm 1,48 ^D	29,57 \pm 1,78 ^{EF}	50,24 \pm 1,97 ^B
OZ	Non-inoculées	42,84 \pm 4,93 ^E	91,36 \pm 2,09 ^B	23,38 \pm 1,21 ^{GH}	41,33 \pm 2,21 ^C
	Souche 3841	43,94 \pm 5,37 ^E	82,96 \pm 4,60 ^C	24,57 \pm 0,71 ^{FGH}	32,67 \pm 1,94 ^{DE}
	Souche OL13	46,03 \pm 1,76 ^E	76,75 \pm 6,18 ^C	24,57 \pm 1,17 ^{FGH}	38,67 \pm 4,21 ^D
	3841*OL13	39,48 \pm 6,06 ^E	60,06 \pm 2,90 ^D	22,00 \pm 1,59 ^H	27,38 \pm 0,97 ^{EF}

V.2.4. Effet des *R. leguminosarum* sur les activités enzymatique chez blé dur sous déficit hydrique

Les plantes possèdent des systèmes de défense antioxydants qui incluent à la fois des composants enzymatiques et non enzymatiques pour se défendre contre les impacts du stress hydrique (Hasanuzzaman *et al.* 2020). Les antioxydants sont définis comme des produits chimiques capables de bloquer ou d'éteindre les processus de radicaux libres, de retarder ou de prévenir les dommages cellulaires et de retarder ou d'entraver considérablement l'oxydation du substrat potentiel à des concentrations inférieures à celles du substrat potentiel à oxyder (Nimse et Pal, 2015 ; Dumont et Rivoal, 2019). Les activités des enzymes antioxydantes catalases (CAT) et gaiacol peroxydase (GPX) ont été mesurées en tant que paramètres de défense antioxydante dans les feuilles étendards des deux génotypes étudiés. Les enzymes CAT et GPX convertissent le H₂O₂ en H₂O (Rasool *et al.* 2013). Dans la présente étude, pour les deux enzymes antioxydantes étudiées, aucune différence significative n'a été enregistrée entre les plantes non inoculées et inoculées pour les deux génotypes étudiés dans des conditions bien arrosées (Fig. V.7 - 8). Cependant, l'activité des deux enzymes antioxydantes mesurées pour les deux génotypes a augmenté de manière significative dans des conditions limitées en eau.

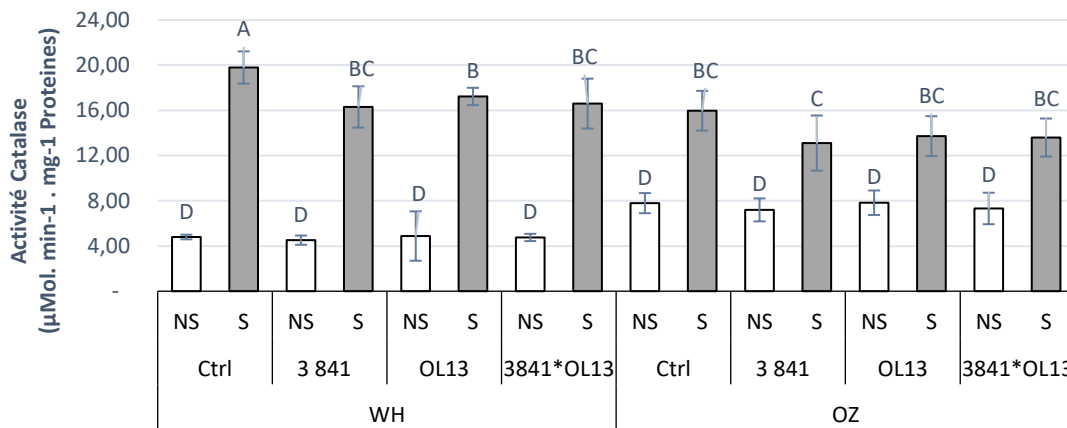


Figure V.6. Activité catalase (CAT) ($\mu\text{Mol. min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \text{Protéines}$) influencée par l'inoculation de *R. Leguminosarum* et le déficit hydrique chez les deux génotypes de blé dur étudiés. Plantes de *Triticum Durum* de 80 jours, préalablement inoculées par des souches de rhizobium (Ctrl : non inoculées, 3841 : inoculées par la souche 3841, OL13 : inoculées par la souche OL13, 3841*OL13 : co-inoculées par les deux souches), Variété Waha : WH (A) ; variété Oued zenati : OZ (B). Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de trois répétitions indépendantes. Les différences dans les données ont été considérées comme significativement différentes au niveau de probabilité de 0,05 par le test de Student-Newman-Keuls (indiqué par des lettres différentes).

L'activité CAT la plus élevée a été détectée dans les plantes non inoculées chez les deux génotypes étudiés, soumises à des conditions de déficit hydrique (Fig. V.6). En revanche, l'activité GPX a été fortement induite dans les plantes inoculées par rapport aux plantes non inoculées pour les deux génotypes étudiés, dans des conditions limitées en eau. Cependant, cette augmentation était plus importante chez les plantes co-inoculées pour le génotype OZ avec 119,68 %, 129,77 % et 162,52 % pour l'inoculation unique (3841 et OL13) et la co-inoculation respectivement (Fig. V.7).

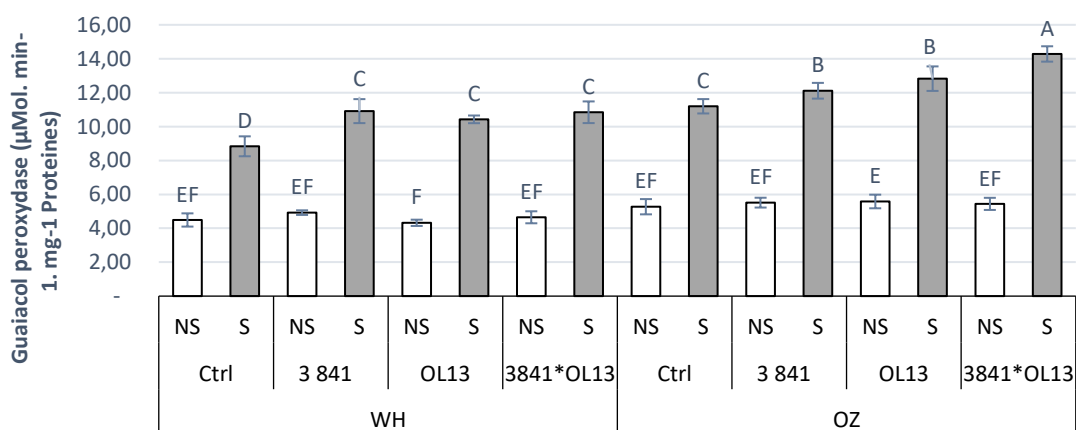


Figure V.7. Activité guaiacol peroxidase (GPX) ($\mu\text{Mol. min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \text{Protéines}$) influencée par l'inoculation de *R. Leguminosarum* et le déficit hydrique chez les deux génotypes de blé dur étudiés. Plantes de *Triticum Durum* de 80 jours, préalablement inoculées par des souches de rhizobium (Ctrl : non inoculées, 3841 : inoculées par la souche 3841, OL13 : inoculées par la souche OL13, 3841*OL13 : co-inoculées par les deux souches), Variété Waha : WH (A) ; variété Oued zenati : OZ (B). Les valeurs indiquées sont la moyenne \pm SD de trois répétitions indépendantes. Les différences dans les données ont été considérées comme significativement différentes au niveau de probabilité de 0,05 par le test de Student-Newman-Keuls (indiqué par des lettres différentes).

V.3. Discussion

Certains micro-organismes, tels que les bactéries, ont des processus complexes qui leur permettent de survivre dans des conditions défavorables et d'améliorer la croissance et le développement des cultures grâce à des interactions directes et indirectes avec les plantes (Khan *et al.* 2017). Selon nos résultats, le stress hydrique a un impact considérable sur le développement des plantes pour les deux génotypes étudiés, ainsi que sur les plantes non inoculées et inoculées. Selon Khan *et al.*, (2010) et Bogale et Tesfaye (2016), la hauteur de la plante est positivement corrélée avec le rendement en grains sous stress hydrique du tallage à la maturité de la culture, ce qui suggère que dans cette condition le rendement dépend de l'obtention d'une meilleure développement végétative et une plus grande mobilisation des réserves des tiges. Au cours de cette période, un événement de déficit hydrique limite l'absorption d'eau par les plantes, ce qui entraîne une diminution de la pression de turgescence dans les cellules végétales, ce qui réduit l'expansion cellulaire et résulte, par conséquent, en des plantes plus courtes (Buffier, 2014). Nos résultats ont montré une augmentation significative de la longueur des tiges chez les plantes inoculées par rapport aux plantes non inoculées dans les deux conditions hydriques. De plus, l'effet d'inoculation le plus prononcé a été enregistré chez les plantes co-inoculées du génotype OZ, dans des conditions bien arrosées. Ces résultats sont en accord avec les études précédentes sur le blé inoculé par *R. leguminosarum* (Höflich, 2000 ; Mehboob *et al.* 2011). Les *Rhizobium* en tant que PGPR sont censés produire des gibbérellines (Boiero *et al.* 2007), qui sont des phytohormones (GA1-GA89) responsables de l'allongement de la tige et de l'expansion des feuilles (Patil *et al.* 2017), ce qui peut expliquer l'augmentation de la longueur des pousses chez le blé inoculé.

La TRE et la conductance stomatique sont des paramètres physiologiques importants fréquemment utilisés pour mesurer l'état de l'eau car ils correspondent à l'absorption d'eau par les racines, à la perte d'eau par transpiration et à la fermeture des stomates. La TRE est considérée comme un excellent indicateur de la tolérance au déficit hydrique, elle est utilisée pour évaluer le bilan hydrique des plantes et c'est un moyen fiable pour mesurer l'état du stress osmotique (Zarick *et al.* 2016). Selon de nombreuses études sur le blé dur (Sultan *et al.*, 2012 ; Aprile *et al.*, 2013 ; Habash *et al.*, 2014) ; Les valeurs de la TRE dans des conditions de déficit hydrique sont plus élevées dans les génotypes tolérants à la sécheresse. Ainsi, dans cette étude, l'inoculation avec les deux souches de *Rhizobium* a pu augmenter la TRE par rapport aux plantes non inoculées pour les deux génotypes étudiés et dans les deux conditions hydrique. Cela a donné une indication que les *Rhizobia* pourraient aider le blé à tolérer des conditions de déficit

hydrique. L'atténuation de la sécheresse par des bactéries qui possédaient également des mécanismes de PGPR a été rapportée plus tôt par certains chercheurs (Tank et Saraf 2010, Chakraborty *et al.* 2013). Les mécanismes associés à cette augmentation des TRE par inoculation rhizobienne peuvent être liés à leur mécanisme PGPR de mise à disposition aux plantes du phosphore insoluble (Antoun *et al.* 1998) et de régulation stomatique par des signaux hormonaux (Boiero *et al.* 2007), comme l'a rapporté Zarik *et al.* (2016) pour application mycorhizienne.

Dans des conditions bien arrosées, les plantes inoculées ont montré une conductance stomatique plus élevée que les plantes non inoculées. Ces résultats sont en accord avec les résultats de Ullah *et al.* (2017), qui ont trouvé une augmentation significative de la conductance stomatique des plants de blé inoculés avec *R. leguminosarum*. Selon Noël *et al.* (1996), la synthèse des phytohormones, qui comprennent les cytokinines, est l'un des mécanismes de croissance des plantes des *R. leguminosarum*. Kaushal et Wani (2016) ont rapporté que les cytokinines stimulent la division cellulaire, l'agrandissement des cellules, la croissance des pousses et provoquent l'ouverture des stomates, ce qui peut expliquer l'augmentation de la conductance stomatique dans les plantes inoculées par rapport aux plantes non inoculées dans des conditions bien arrosées.

La production et l'accumulation de sucres solubles sous forme d'osmolytes est une autre méthode d'acclimatation vers l'ajustement osmotique sous déficit hydrique afin de limiter les pertes d'eau en favorisant la rétention d'eau dans la plante sans interférer avec un métabolisme normal (Farooq *et al.* 2014; Gontia-Mishra *et al.* 2016 ; Camaille *et al.* 2021). Chez le blé, les sucres solubles contribuent le plus à l'ajustement osmotique lorsqu'ils sont soumis au stress hydrique (Camaille *et al.* 2021). Cependant, une augmentation significative des sucres solubles chez les plantes inoculées a été notée par rapport aux plantes non inoculées dans des conditions limitées en eau. Ces résultats sont en accord avec les résultats de Wang *et al.* (2016) qui ont enregistré une augmentation significative des sucres solubles dans les feuilles de *Medicago truncatula* nodulées par rapport aux feuilles des plantes non nodulées après le début du choc salin. Les résultats que nous avons observés pour les sucres solubles sont également cohérents avec ceux de Feng *et al.* (2002), qui ont rapporté que chez le maïs, les plantes mycorhizées maintenaient un taux de sucre soluble total plus élevé que les plantes non mycorhizées. Selon Camaille *et al.* (2021) les sucres peuvent aider à stabiliser les protéines et les structures cellulaires, en particulier lorsque le stress devient sévère ou persiste pendant de plus longues

périodes. Ces résultats peuvent soutenir l'idée que l'inoculation par les Rhizobium aide les plantes de blé à maintenir un meilleur ajustement osmotique, pour faire face au stress hydrique.

La teneur en MDA, un produit de la peroxydation lipidique, est un indicateur fiable des dommages oxydatifs de la membrane chez les plantes exposées au stress. Eviter les dommages causés aux membranes cellulaires est un point clé pour que la plante résiste au stress hydrique (Camaille *et al.* 2021). Dans cette étude, une baisse significative de la teneur en MDA et en H₂O₂ a été observée dans les plantes inoculées contrairement aux plantes non inoculées soumises au déficit hydrique, suggérant que les Rhizobium a aidé à protéger l'intégrité des membranes cellulaires des plantes contre les effets néfastes de la sécheresse (Fig. 5 - 6). De plus, l'effet de diminution provoqué par l'inoculation le plus prononcé sur la teneur en MDA et en H₂O₂ a été enregistré chez les plantes co-inoculées du génotype OZ, dans les conditions de déficit hydrique. Ces résultats sont conformes aux études précédentes (Gontia-Mishra *et al.* 2016) enregistrant la plus faible teneur en MDA et en H₂O₂ dans les semis de blé inoculés avec du PGPR par rapport aux semis non inoculés soumis à un stress hydrique. Selon Gusain *et al.* (2015), il est possible que les plantes inoculées de PGPR n'aient pas subi beaucoup de stress et aient par conséquent eu une production de H₂O₂ plus faible en cas de stress hydrique. Nos résultats sont également en accord avec des études antérieures affirmant que l'inoculation de PGPR combat les dommages oxydatifs causés par le stress hydrique (Gusain *et al.* 2015 ; Tiwari *et al.* 2016).

Afin d'améliorer leur tolérance au stress abiotique, les plantes ont développé un certain nombre de mécanismes biochimiques. Ceux-ci peuvent inclure l'emploi de divers mécanismes antioxydants qui sont de nature enzymatique ou non enzymatique. Certains mécanismes antioxydants incluent les enzymes de la voie ascorbate-glutathion, la guaiacol peroxydase, la catalase et la superoxyde dismutase (Hasanuzzaman *et al.* 2020). Dans cette étude, une augmentation significative de la teneur en CAT et GPX a été observée chez les plantes non inoculées et inoculées soumises au déficit hydrique (Fig. 7-8). Dans les conditions limitées en eau, une augmentation de l'activité CAT dans les deux génotypes étudiés et tous les traitements rhizobiums a été enregistrée. Cependant, l'augmentation a été plus prononcée dans les plantes non inoculées. Le fait que les plantes inoculées au Rhizobium aient une activité CAT faible ou égale par rapport aux plantes non inoculées, dans des conditions limitées en eau, exclut une implication directe de cette enzyme dans la prévention des dommages oxydatifs. L'activité CAT s'est avérée augmenter en particulier dans les variétés de blé sensibles à la sécheresse (Simova-Stoilova *et al.*, 2010). Néanmoins, un autre mode de destruction de H₂O₂ est la production de

peroxydase, qui se trouve dans toute la cellule et a une affinité beaucoup plus élevée pour H₂O₂ que la CAT (Wu *et al.* 2007). Cependant, le gaiacol présente un substrat universel pour la majorité des peroxydases (Murphy *et al.*, 2012).

Dans des conditions limitées en eau, une augmentation significative a également été enregistrée dans l'activité GPX chez les deux génotypes étudiés et tous les traitements rhizobiums. En revanche, l'augmentation était plus prononcée chez les plants inoculés que chez les plants non inoculés. De plus, l'augmentation était plus prononcée chez les plantes co-inoculés du génotype OZ. Selon Zarick *et al.* 2016, la différence de ces activités antioxydantes (activité peroxydase élevée et activité CAT faible) reflétait une diversité physiologique et une tolérance intrinsèque au stress osmotique nécessaire au complexe mycorhizien arbusculaire, qui leur permet de s'adapter et de survivre au stress oxydatif produit par un stress hydrique sévère. Ainsi, l'inoculation par les Rhizobiums a aidé les cellules végétales de blé à se protéger contre les effets néfastes des ERO dans des conditions de déficit hydrique.

Ensemble, ces résultats nous permettent de confirmer la tolérance à la sécheresse du génotype OZ par rapport au génotype WH, ce qui est en ligne avec les résultats de Bouchemal *et al.* 2016. De plus, les deux souches de *Rhizobium leguminosarum* étudiées ont amélioré de manière similaire les paramètres de croissance, physiologiques et biochimiques des deux génotypes étudiés. Cette amélioration a été enregistrée non seulement pour l'inoculation unique, mais aussi en co-inoculation pour le génotype OZ. Les effets de co-inoculation n'étant cohérents que pour le génotype OZ dans des conditions limitées en eau, suggérons que cette différence de réponse indique un effet génotypique possible.

V.4. Conclusion

Il a été démontré que le stress de la sécheresse a un effet délétère sur la croissance et le développement des plantes en modifiant les équilibres nutritionnels et hormonaux. Cependant, l'impact d'un tel stress peut être atténué et/ou minimisé par un micro-organisme naturel, tel que *Rhizobium leguminosarum*. Comme l'a révélé notre étude, *R. leguminosarum* peut être utilisé comme bactérie favorisant la croissance des plantes pour induire une tolérance systémique chez *Triticum Durum* dans des conditions de déficit hydrique. Il est suggéré que l'atténuation du stress hydrique est due à l'amélioration des défenses antioxydantes et à une accumulation plus élevée d'osmoprotecteurs tels que les sucres solubles. De plus, nos recherches suggèrent que la co-inoculation de divers rhizobiums (acquis à partir de différentes légumineuses) peut être une meilleure alternative que l'inoculation d'une seule souche pour augmenter le développement des

plantes dans des conditions limitées en eau. Une des implications de cette étude est de démontrer l'effet PGPR bénéfique des rhizobiums sur le blé dur dans le cadre de rotations céréalières-légumineuses afin de protéger l'environnement en minimisant les intrants chimiques et de conserver la biodiversité des cultures.

Conclusions et perspectives

Conclusion générale

Le réchauffement et le changement climatique que subit la planète soumet la production agricole à une multitude de stress abiotiques, dont le déficit hydrique. Ce dernier constitue un sérieux défi pour la productivité agricole dans les régions arides et semi-arides du monde et représente l'un des facteurs environnementaux les plus importants affectant la croissance et le rendement des plantes dans le monde. Dans cette optique, la mise au point de cultivars ayant une importance alimentaire humaine et animale et ayant une meilleure tolérance au déficit hydrique tout en minimisant les intrants chimique, s'avère être la solution la plus durable et écologique pour optimiser la productivité des cultures dans le contexte climatique actuel.

Vu l'importance des légumineuses, il est devenu primordial de les insérer dans les systèmes de culture afin de bénéficier des avantages multiples qu'elles offrent à l'environnement et aux autres cultures qui la suivent. Ainsi, mieux comprendre les mécanismes naturels qui leur permettent de tolérer davantage le déficit hydrique, tel que la symbiose établie avec *Rhizobium leguminosarum* serait un élément clé pour gérer durablement la tolérance au déficit hydrique et conserver la biodiversité.

En effet, *Vicia faba*, cette légumineuse particulièrement riche en éléments nutritifs aussi bien pour l'être humain que pour les animaux, demeure malheureusement marginalisée dans de large régions du monde, y compris en Algérie, et ainsi non pleinement exploitée, bien qu'elle soit une culture de rotation idéale à intégrer dans les séquences légumineuses-céréales. En effet, la symbiose établie avec *R. leguminosarum* lui permet de fixer de l'azote libre jusqu'à 300 Kg N ha⁻¹ et lui permet aussi d'augmenter sa tolérance vis-à-vis du déficit hydrique. Comme culture suivante, le blé dur pourrait largement bénéficier des avantages conférés par la fève en elle-même et par les *Rhizobiums* du sol qui vont jouer le rôle de bactéries favorisant la croissance des plantes pour induire une tolérance systémique chez le blé dans des conditions de déficit hydrique. Ainsi, l'inoculation par des *Rhizobium* sélectionnés pourrait être une stratégie prometteuse pour améliorer la gestion du stress hydrique dans l'ère à venir du changement climatique.

Dans cette optique, il est fortement souhaitable d'étudier plus en détails les mécanismes régissant les interactions entre les nodosités fixatrices d'azote et leur environnement et ceux impliqués dans le phénomène de l'adaptation et la tolérance afin de mieux comprendre la spécificité entre la plante et le symbiote aussi bien sur le plan biochimique que moléculaire. Par ailleurs, des essais de rotation sur le long terme entre les deux cultures sur le terrain sont

nécessaires pour évaluer de manière critique les multiples effets de la fève sur les cultures de blé, en mettant particulièrement l'accent sur la fixation symbiotique de l'azote, leur croissance et leur tolérance pendant toute la durée de vie.

Annexes

Annexe 01

Composition du milieu Yeast Extract Mannitol (YEM)

Ce milieu est utilisé pour la culture des espèces de *Rhizobium*. Sa composition est présentée dans le tableau suivant.

Tableau : Composition du milieu LB en g.l⁻¹.

Composants	Milieu Solide (1l)	Milieu Liquide (1l)
<i>Extrait de levure</i>	0.4 g/l	0.4 g/l
<i>Solution minérale De Bergensen 10m</i>	100 ml	100 ml
<i>Mannitol</i>	10 g	10 g
<i>Agar agar</i>	15 g	-

Dissoudre ces composants dans 1 L d'eau distillée. Ajuster le pH de la solution à 6.8.

Ajouter 15g de poudre d'agar au mélange pour le milieu solide.

Autoclaver le milieu pendant 15 minutes sous pression de 1.5 bar à 121°C.

Repartir environ 25 ml par boîte de Pétri et laisser solidifier.

Solution minérale de Bergensen 10M

- KCl 1 g
- FeCl₃ 0.2 ml
- CaCl₂- 2H₂O 0.53 g
- Na₂HPO₄-12H₂O 4.5 g
- MgSO₄-7H₂O 1 g

Dissoudre chaque composant dans 100 ml d'eau distillée.

Conserver à 5°C.

Annexe 02

Composition de la solution nutritive dépourvue d'azote

	<i>Quantité</i>	<i>Volume final</i>
<i>Solution 1</i>		
KH ₂ PO ₄	200 g	1000 mL
<i>Solution 2</i>		
MgSO ₄ ·7H ₂ O	98.59 g	1000 mL
KCl	100.64 g	
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	2.42 g	
<i>Solution 3</i>		
EDTA-Fe-Na	24.99 g	1000 mL
<i>Solution 4</i>		
CaCl ₂ ·2H ₂ O	34.11 g	1000 mL
<i>Milieu de Heller</i>		
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	1000 mg	1000 mL
H ₃ BO ₃	1000 mg	
MnSO ₄ ·H ₂ O	75.8 mg	
CuSO ₄ ·5H ₂ O	30 mg	
AlCl ₃ ·6H ₂ O	54 mg	
NiCl ₂ ·6H ₂ O	30 mg	
KI	10 mg	
<i>Milieu nutritif</i>		
<i>Solution 1</i>	50 mL	50 L
<i>Solution 2</i>	100 mL	
<i>Solution 3</i>	50 mL	
<i>Solution 4</i>	1500 mL	
<i>Solution de Heller</i>	50 mL	

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abbas, K., & Abdelguerfi, A. (2005). Perspectives d'avenir de la jachère pâturée dans les zones céréalières semi-arides. *Fourrages*, 184, 533-546.
- Abd-Alla, M. H., Issa, A. A., & Ohyama, T. (2014). Impact of harsh environmental conditions on nodule formation and dinitrogen fixation of legumes. *Advances in biology and ecology of nitrogen fixation*, 9, 1.
- Abdelguerfi A. & Laouar M., (2000). Les ressources génétiques des blés en Algérie : passé, présent et avenir. In "Blé 2000... Enjeux et Stratégie", Actes du 1er Symposium International sur la Filière Blé, OAIC, Alger, 7-9/02/2000. 133-148.
- Abid, G., Hessini, K., Aouida, M., Aroua, I., Baudoin, J. P., Muhovski, Y., ... & Jebara, M. (2017). Agro-physiological and biochemical responses of faba bean (*Vicia faba* L. var.'minor') genotypes to water deficit stress. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 21(2).
- Abid, G., M'hamdi, M., Mingeot, D., Aouida, M., Aroua, I., Muhovsk, Y., et al. (2016). Effect of drought stress on chlorophyll fluorescence, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in faba bean (*Vicia faba* L.). *Arch Agron. Soil Sci.* 63, 536–552.
- Abolhasani, M., Lakzian, A., Tajabadipour, A., & Haghnia, G. (2010). The study salt and drought tolerance of *SinoRhizobium* bacteria to the adaptation to alkaline condition. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4(5), 882-886.
- Adak, M. S., and Kibritci, M. (2016). Effect of nitrogen and phosphorus levels on nodulation and yield components in faba bean (*Vicia faba* L.). *Legume Res.* 39, 991–994.
- Adekiya, A. O., Agbede, T. M., Aboyeji, C. M., Dunsin, O., and Ugbe, J. O. (2017). Green manures and NPK fertilizer effects on soil properties, growth, yield, mineral and vitamin C composition of okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* (in press).
- Alghamdi, S. S., Al-Shameri, A. M., Migdadi, H. M., Ammar, M. H., El-Harty, E. H., Khan, M. A., et al. (2015). Physiological and molecular characterization of Faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes for adaptation to drought stress. *J. Agron. Crop Sci.* 201, 401–409.
- Ali, M. B., Welna, G. C., Sallam, A., Martsch, R., Balko, C., Gebser, B., ... & Link, W. (2016). Association analyses to genetically improve drought and freezing tolerance of faba bean (*Vicia faba* L.). *Crop Science*, 56(3), 1036-1048.
- Camaille, M., Fabre, N., Clément, C., & Ait Barka, E. (2021). Advances in Wheat Physiology in Response to Drought and the Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria to Trigger Drought Tolerance. *Microorganisms*, 9(4), 687.
- Allam A.E., Nafady A.M., Khedr A.I.M., Nakagawa T. and Shimizu K. (2018). Potential activities for constituents from *Vicia faba* L.. *Trends in Phytochemical Research (TPR)*. Vol 2(1) pp 21-26.
- Alpmann D, Braun J, Schäfer BC, (2013) Analyse einer Befragung unter erfolgreichen Körnerleguminosenanbauern im konventionellen Landbau. Erste Ergebnisse aus dem Forschungsprojekt LeguAN. In: Wintertagung DLG (ed) Im Fokus: Heimische Körnerleguminosen vom Anbau bis zur Nutzung Berlin, p 20
- Al-Rifae, M. O. H. D., Turk, M. A., & Tawaha, A. R. M. (2004). Effect of seed size and plant population density on yield and yield components of local faba bean (*Vicia faba* L. Major). *International Journal of Agriculture and Biology*, 6(2), 294-299.
- Altieri, M.A. (1995). *Agroecology: the science of sustainable agriculture*. Intermediate Technology Publications, London UK.
- Amede, T., & Schubert, S. (2003). Mechanisms of drought resistance in grain: II Stomatal regulation and root growth. *SINET: Ethiopian Journal of Science*, 26(2), 137-144.

Références bibliographiques

- Ammar, M. H., Khan, A. M., Migdadi, H. M., Abdelkhalek, S. M., & Alghamdi, S. S. (2017). Faba bean drought responsive gene identification and validation. *Saudi journal of biological sciences*, 24(1), 80-89.
- Angus, J. F., Kirkegaard, J. A., Hunt, J. R., Ryan, M. H., Ohlander, L., & Peoples, M. B. (2015). Break crops and rotations for wheat. *Crop and pasture science*, 66(6), 523-552.
- Anjum, S. A., Xie, X. Y., Wang, L. C., Saleem, M. F., Man, C., & Lei, W. (2011). Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African journal of agricultural research*, 6(9), 2026-2032.
- Antoun, H., Beauchamp, C. J., Goussard, N., Chabot, R., & Lalande, R. (1998). Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: effect on radishes (*Raphanus sativus* L.). In *Molecular microbial ecology of the soil* (pp. 57-67). Springer, Dordrecht.
- Anwar, A., She, M., Wang, K., Riaz, B., & Ye, X. (2018). Biological roles of ornithine aminotransferase (OAT) in plant stress tolerance: present progress and future perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11), 3681.
- Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55, 373-399.
- Aprile, A., Havlickova, L., Panna, R., Marè, C., Borrelli, G. M., Marone, D., Perrotta, C., Rampino, P., De Bellis, L., Curn, V., Mastrangelo, A., Rizza F., Cattivelli L., (2013). Different stress responsive strategies to drought and heat in two durum wheat cultivars with contrasting water use efficiency. *BMC genomics*, 14(1): 1-18.
- Araus, J. L., Slafer, G. A., Reynolds, M. P., & Royo, C. (2002). Plant breeding and drought in C3 cereals: what should we breed for?. *Annals of botany*, 89(7), 925-940.
- Asada, K. (1999). The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual review of plant biology*, 50(1), 601-639.
- Asghar, H. N., Zahir, Z. A., Akram, M. A., Ahmad, H. T., & Hussain, M. B. (2015). Isolation and screening of beneficial bacteria to ameliorate drought stress in wheat. *Soil Environ*, 34(1), 100-110.
- Ashraf M., Foolad M.R. (2007) Roles of glycinebetaine and proline in improving plant abiotic stress resistance, *Environ. Exp. Bot.* 59, 206–216.
- Athar, M., & Johnson, D. A. (1996). Influence of drought on competition between selected *Rhizobium meliloti* strains and naturalized soil rhizobia in alfalfa. *Plant and soil*, 184(2), 231-241.
- Bachinger, J., & Zander, P. (2007). ROTOR, a tool for generating and evaluating crop rotations for organic farming systems. *European Journal of Agronomy*, 26(2), 130-143.
- Bakhoun, N., Le Roux, C., Diouf, D., Kane, A., Ndoeye, F., Fall, D., ... & Galiana, A. (2014). Distribution and diversity of rhizobial populations associated with *Acacia senegal* (L.) Willd. provenances in senegalese arid and semiarid regions.
- Baloyi, T.C., Thobakgale, M.D. and Kutu, F.R. (2009). Crop rotation and fertilizer effect on productivity and nutritional demands of small scale farmers in dry land areas of South Africa. *African Crop Science Conference Proceedings* 9: 17-21.
- Bansal, M., Kukreja, K., Sunita, S., & Dudeja, S. S. (2014). Symbiotic effectivity of high temperature tolerant mungbean (*Vigna radiata*) rhizobia under different temperature conditions. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*, 3, 807-821.
- Barber, S. A. (1995). *Soil nutrient bioavailability: a mechanistic approach*. John Wiley & Sons.

Références bibliographiques

- Basu, S., Ramegowda, V., Kumar, A., & Pereira, A. (2016). Plant adaptation to drought stress. *F1000Research*, 5.
- Bauder J (1999) The benefits of crop rotations. <http://www.montana.edu/wwwpb/ag/baudr181.html>. Cited 8 Jan 2008.
- Beauchamp, C., & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical biochemistry*, 44(1), 276-287.
- Beck, D. P., Wery, J., Saxena, M. C., & Ayadi, A. (1991). Dinitrogen fixation and nitrogen balance in cool-season food legumes. *Agronomy journal*, 83(2), 334-341.
- Ben Rejeb, K., Vos, D.L., Disquet, I. Le, Leprince, A., Bordenave, M., (2015). Hydrogen peroxide produced by NADPH oxidases increases proline accumulation during salt or mannitol stress in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol.* 208, 1138–1148.
- Benjamin, J. G., Nielsen, D. C., Vigil, M. F., Mikha, M. M., & Calderon, F. (2014). Water deficit stress effects on corn (*Zea mays*, L.) root: shoot ratio. *Open Journal of Soil Science*, 2014.
- Beres, B. L., Rahmani, E., Clarke, J. M., Grassini, P., Pozniak, C. J., Geddes, C. M., ... & Ransom, J. K. (2020). A systematic review of durum wheat: Enhancing production systems by exploring genotype, environment, and management (G× E× M) synergies. *Frontiers in Plant Science*, 11, 568657.
- Berjak, P. (2006). Unifying perspectives of some mechanisms basic to desiccation tolerance across life forms. *Seed Science Research*, 16(1), 1-15.
- Bhaskara, G. B., Yang, T. H., & Verslues, P. E. (2015). Dynamic proline metabolism: importance and regulation in water limited environments. *Frontiers in Plant Science*, 6, 484.
- Biederbeck, V.O., N.Z. Lupwayi, K.G. Hanson, W.A. Rice, and R.P. Zentner. (2000). Effect of long-term rotation with lentils on rhizosphere ecology and on endophytic rhizobia in wheat. p. 80. In Abstracts, North Am. Conf. on Symbiotic Nitrogen Fixation, 17th, Laval Univ., Sainte-Foy, QC, Canada. 23–28 July 2000. Laval Univ., Sainte-Foy, QC, Canada.
- Biehler, K., & Fock, H. (1996). Evidence for the contribution of the Mehler-peroxidase reaction in dissipating excess electrons in drought-stressed wheat. *Plant physiology*, 112(1), 265-272.
- Bilalis, D., Sidoras, N., Economou, G., and Vakali, C. (2003). Effect of different levels of wheat straw soil surface coverage on weed flora in *Vicia faba* crops. *J. Agron. Crop Sci.* 189, 233–241.
- Blair, N., & Crocker, G. J. (2000). Crop rotation effects on soil carbon and physical fertility of two Australian soils. *Soil Research*, 38(1), 71-84.
- Blanco-Canqui, H., & Lal, R. (2010). Cropping systems. In *Principles of soil conservation and management* (pp. 165-193). Springer, Dordrecht.
- Blum, A. (2017). Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production. *Plant, cell & environment*, 40(1), 4-10.
- Boeuf F. (1932). Le blé en Tunisie. *Ann. Serv. Botanique et Agronomique Tunisie*. Tunis. 1-454.
- Bogale, A., & Tesfaye, K. (2016). Relationship between grain yield and yield components of the Ethiopian durum wheat genotypes at various growth stages. *Tropical and subtropical agroecosystems*, 19(1), 81-91.
- Boiero, L., Perrig, D., Masciarelli, O., Penna, C., Cassán, F., & Luna, V. (2007). Phytohormone production by three strains of *Bradyrhizobium japonicum* and possible physiological and technological implications. *Applied microbiology and biotechnology*, 74(4), 874-880.
- Bolger TP, Angus JF, Peoples MB (2003) Nitrogen mineralisation from root residues of subterranean

Références bibliographiques

- clover and lucerne. *Biology and Fertility of Soils* 38, 296–300.
- Bolland, M. D. A., Siddique, K. H. M., and Brennan, R. F. (2000). Grain yield responses of faba bean (*Vicia faba* L.) to applications of fertilizer phosphorus and zinc. *Austral. J. Exp. Agric.* 40, 849–85.
- Bond, D. A., Lawes, D. A., Hawtin, G. C., Saxena, M. C. and Stephens, J. S. (1985). “Faba bean (*Vicia faba* L.),” in *Grain Legume Crops*, eds R.J. Summerfield and E.H. Roberts (London:William Collins Sons), 199–265.
- Borlaug, N. E., & Dowsell, C. R. (2003, May). Feeding a world of ten billion people: a 21st century challenge. In *Proceedings of the international congress in the wake of the double helix: From the green revolution to the gene revolution* (Vol. 27, p. 31). Avenue Media.
- Bouchemal, K., Bouldjadj, R., Belbekri, M. N., Ykhlef, N., & Djekoun, A. (2017). Differences in antioxidant enzyme activities and oxidative markers in ten wheat (*Triticum durum* Desf.) genotypes in response to drought, heat and paraquat stress. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 63(5), 710-722.
- Bouchenak, M., Lamri-Senhadji, M., (2013). Nutritional quality of legumes and their role in cardiometabolic risk prevention: a review. *J. Med. Food.* 16(3), 1-14.
- Bouffier, B. (2014). Genetic and ecophysiological dissection of tolerance to drought and heat stress in bread wheat: from environmental characterization to QTL detection (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II).
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Bray, E. A. (2001). *Plant Response to Water-deficit Stress*. eLS.
- Briat J-F. & Job D. (2017). *Les sols et la vie souterraine : Des enjeux majeurs en agroécologie*. Editions Quae, pp.328, 978-2-7592-2651-1.
- Brouillet L., F. Coursol, M. Favreau. (2006). VASCAN. The database of Canadian vascular plants . Herbar Marie-Victorin, Institut de recherche en biologie végétale, Université de Montréal <http://data.canadensys.net/vascan/about>
- Bullock, D. G. (1992). Crop rotation. *Critical reviews in plant sciences*, 11(4), 309-326.
- Camaille, M., Fabre, N., Clément, C., Ait Barka, E., 2021. Advances in wheat physiology in response to drought and the role of plant growth promoting rhizobacteria to trigger drought tolerance. *Microorganisms*, 9(4): 687.
- Canfield, D.E., A.N. Glazer, and P.G. Falkowski. (2010). The evolution and future of earth’s nitrogen cycle. *Rev. Sci.* 330:192-196.
- Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and chemical toxicology*, 51, 15-25.
- Carranca C, De Varennes A, Rolston D (1999). Biological nitrogen fixation by fababean, pea and chickpea, under field conditions, estimated by the 15N isotope dilution technique. *European Journal of Agronomy* 10(1):49-56.
- Carsky, R. J., Sanginga, N., Schulz, S., & Vanlauwe, B. (2003). Promising practices for sustainable intensified systems in the savannah zone of West Africa. In *Savanes africaines: des espaces en mutation, des acteurs face à de nouveaux défis. Actes du colloque, Garoua, Cameroun* (pp. 10-p). Cirad-Prasac.
- Caverzan, A., Passaia, G., Rosa, S. B., Ribeiro, C. W., Lazzarotto, F., & Margis-Pinheiro, M. (2012).

Références bibliographiques

- Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. *Genetics and molecular biology*, 35(4), 1011-1019.
- Chakraborty, U., Chakraborty, B. N., Chakraborty, A. P., & Dey, P. L. (2013). Water stress amelioration and plant growth promotion in wheat plants by osmotic stress tolerant bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(5), 789-803.
- Chalk PM (1998) Dynamics of biologically fixed N in legume–cereal rotations: a review. *Australian Journal of Agricultural Research* 49, 303–316.
- Chance, B., & Maehly, A. C. (1955). [136] Assay of catalases and peroxidases.
- Chandra, S., Choure, K., Dubey, R. C., & Maheshwari, D. K. (2007). Rhizosphere competent *Mesorhizobium loti* MP6 induces root hair curling, inhibits *Sclerotinia sclerotiorum* and enhances growth of Indian mustard (*Brassica campestris*). *Brazilian Journal of Microbiology*, 38, 124-130.
- Chavan, J. K., & Kute, L. S. (1989). Broad bean In: Salunkhe DD, and Kadam SS, eds. *Handbook of World Food Legumes: Nutritional, Processing, Technology and Utilization*, vol. I.
- Chaves M.M., Oliveira M.M. (2004) Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture, *J. Exp. Bot.* 55, 2365–2384.
- Chaves, M. M. (1991). Effects of water deficits on carbon assimilation. *Journal of experimental Botany*, 42(1), 1-16.
- Chen, B., Liu, E., Tian, Q., Yan, C., & Zhang, Y. (2014). Soil nitrogen dynamics and crop residues. A review. *Agronomy for sustainable development*, 34(2), 429-442.
- Chen, G. X., & Asada, K. (1992). Inactivation of ascorbate peroxidase by thiols requires hydrogen peroxide. *Plant and Cell Physiology*, 33(2), 117-123.
- Chiboub, M., Jebara, S. H., Abid, G., & Jebara, M. (2020). Co-inoculation effects of *Rhizobium sultae* and *Pseudomonas* sp. on growth, antioxidant status, and expression pattern of genes associated with heavy metal tolerance and accumulation of cadmium in *Sulla coronaria*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 39(1), 216-228.
- Choluj, D., Karwowska, R., Jasinska, M., & Haber, G. (2004). Growth and dry matter partitioning in sugar beet plants (*Beta vulgaris* L.) under moderate drought. *PLANT SOIL AND ENVIRONMENT.*, 50(6), 265-272.
- Cook, R.J., (1986). Interrelationships of plant health and the sustainability of agriculture, with special reference to plant diseases. *Am. J. Altern. Agric.* 1, 19–24.
- Cooper, J. E. (2007). Early interactions between legumes and rhizobia: disclosing complexity in a molecular dialogue. *Journal of applied microbiology*, 103(5), 1355-1365.
- Crépon, K. – Marget, P. – Peyronnet, C. – Carrouée, B. – Arese, P. – Duc, G. (2010). Nutritional value of faba bean (*Vicia faba* L.) seeds for feed and food. *Field Crops Research.*, 115, pp. 329–339.
- Cubero J.I. (2011). The faba bean: A historic perspective. *Grain Legumes* No 56, April 2011.
- Cubero, J. I. (1974). On the evolution of *Vicia faba* L. *Theor. Appl Genet.* 45, 47–51.
- DAFF (2012) Durum wheat in Queensland. Queensland Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, <http://www.daff.qld.gov.au/plants/field-crops-and-pastures/broadacre-field-crops/wheat/durum-wheat>
- Dean, C.A., Sun, W., Dong, Z., Caldwell, C.D., (2006). Soybean nodule hydrogen metabolism affects soil hydrogen uptake and growth of rotation crops. *Can. J. Plant Sci.* 86, 1355–1359.
- del Río, L. A., Sandalio, L. M., Corpas, F. J., Palma, J. M., & Barroso, J. B. (2006). Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell

- signaling. *Plant physiology*, 141(2), 330-335.
- Delauney, A. J., & Verma, D. P. S. (1993). Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *The plant journal*, 4(2), 215-223.
- Denarie J, Debelle F, Rosenberg C. (1992). Signaling and host range variation in nodulation. *Annual Review of Microbiology* 46: 497-531.
- Denton, M.D., Pearce, D.J., Peoples, M.B., (2013). Nitrogen contributions from faba bean (*Vicia faba* L.) reliant on soil rhizobia or inoculation. *Plant Soil* 365, 363–374.
- Denton, M.D., Phillips, L.A., Peoples, M.B., Pearce, D.J., Swan, A.D., Mele, P.M., (2017). Legume inoculant application methods : effects on nodulation patterns , nitrogen fixation , crop growth and yield in narrow-leaf lupin and faba bean.
- Devi, S. P. S., & Sujatha, B. (2014). Drought-induced accumulation of soluble sugars and proline in two pigeon pea (*Cajanus Cajan L. Millsp.*) cultivars. *International Journal of Innovative Research and Development*, 3(4).
- Dias de Oliveria, E., Bramley, H., Siddique, K.H.M., Henty, S., Berger, J., and Palta, J.A. (2013). Can elevated CO₂ combined with high temperature ameliorate the effect of terminal drought in wheat? *Func. Plant Biol.* 40: 160–171.
- Dick W.A. (1989). Influence of long-term tillage and crop rotation combinations on soil enzyme activities, *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 48, 569.
- Dong, Z., Wu, L., Kettlewell, B., Caldwell, C.D., Layzell, D.B., (2003). Hydrogen ferti- lization of soils—is this a benefit of legumes in rotation? *Plant Cell Environ.* 26, 1875–1879.
- Dos Santos, P. C., Fang, Z., Mason, S. W., Setubal, J. C., & Dixon, R. (2012). Distribution of nitrogen fixation and nitrogenase-like sequences amongst microbial genomes. *BMC genomics*, 13(1), 1-12.
- 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.
- Du, G., Sun, L., Zhao, R., Du, L., Song, J., Zhang, L., He, G., Zhang, Y., Zhang, J., (2016). Polyphenols: Potential source of drugs for the treatment of ischaemic heart disease. *Pharmacol. Ther.* 162, 23-34.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.
- Duc, G., Aleksić, J. M., Marget, P., Mikić, A., Paull, J., Redden, R. J., et al. (2015). “Faba bean,” in *Grain Legumes*, ed. A.M. De Ron (New York, NY: Springer), 141–178.
- Ducellier L. (1930). Espèces et variétés de céréales cultivées en Algérie. *Direction de l’agriculture et de la colonisation*, 130 pages.
- Dudeja, S. S., Sheokand, S., & Kumari, S. (2012). Legume root nodule development and functioning under tropics and subtropics: perspectives and challenges. *Legume Research-An International Journal*, 35(2), 85-103.
- Dumont, S., and Rivoal, J., (2019). Consequences of oxidative stress on plant glycolytic and respiratory metabolism. *Frontiers in Plant Science*, 10: 166.
- Dwivedi, S. L., Sahrawat, K. L., Upadhyaya, H. D., Mengoni, A., Galardini, M., Bazzicalupo, M., ... & Ortiz, R. (2015). Advances in host plant and *Rhizobium* genomics to enhance symbiotic nitrogen fixation in grain legumes. *Advances in agronomy*, 129, 1-116.
- Egamberdieva, D., Abdiev, A., & Khaitov, B. (2015). Synergistic interactions among root-associated bacteria, rhizobia and chickpea under stress conditions. *Plant Environment Interaction: Responses*

Références bibliographiques

- and Approaches to Mitigate Stress, MM Azooz, P. Ahmad (Eds.), John Wiley & Sons, Ltd, 250-261.
- Egamberdieva, D., Shurigin, V., Gopalakrishnan, S., & Sharma, R. (2014). Growth and symbiotic performance of chickpea (*Cicer arietinum*) cultivars under saline soil conditions. *Journal of Biological and Chemical Research*, 1-10.
- El-Tayeb, M., & Hassanein, A. M. (2000). Germination, seedling growth, some organic solutes and peroxidase expression of different *Vicia faba* lines as influenced by water stress. *Acta agronomica hungarica*, 48(1), 11-20.
- Ennin, S.A., Dapaah, H.K. and Abaidoo, R.E. (2004). Nitrogen credits from cowpea, soybean, groundnut and mucuna to maize in rotation. *West African Journal of Applied Ecology* 6: 65-74
- Evans, J., McNeill, A. M., Unkovich, M. J., Fittell, N. A. and Heenan, D. P. (2001) 'Net nitrogen balances for cool-season grain legume crops and contributions to wheat nitrogen uptake: a review', *Australian Journal of Experimental Agriculture*, vol. 41, no. 3, pp. 347–359.
- FAO (2010) FAOSTAT. Food and agriculture organisation of the United Nations <http://faostat.fao.org/faostat>.
- FAR. (2012). Faba beans- A growers' guide. *FAR FOCUS*, 52.
- Farooq, M., Basra, S.M.A., Wahid, A., Cheema, Z.A., Cheema, M.A., Khaliq, A., (2008). Physiological role of exogenously applied glycinebetaine to improve drought tolerance in fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194(5): 325-333.
- Farooq, M., Hussain, M., & Siddique, K. H. (2014). Drought stress in wheat during flowering and grain-filling periods. *Critical reviews in plant sciences*, 33(4), 331-349.
- Farooq, M., Hussain, M., Wahid, A., Siddique, K.H.M., (2012). Drought stress in plants: an overview. *Plant Responses to Drought Stress*, 1-33.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N. S. M. A., Fujita, D. B. S. M. A., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Sustainable agriculture*, 153-188.
- Farquhar, G. D., & Sharkey, T. D. (1982). Stomatal conductance and photosynthesis. *Annual review of plant physiology*, 33(1), 317-345.
- Feldman M. · Levy A.A. (2005). Allopolyploidy – a shaping force in the evolution of wheat genomes. *Chromosome Evolution, Cytotaxonomy. Cytogenet Genome Res* 109:250–258.
- Feldman M. et Sears E. (1981). Les ressources génétiques naturelles du blé. *Science*, N°41, 79- 89.
- Feldman, M. (2001). Origin of Cultivated Wheat. Dans Bonjean A.P. et W.J. Angus (éd.) *The World Wheat Book: a history of wheat breeding*. Intercept Limited, Andover, Angleterre, p 3-58.
- Feng, G., Zhang, F., Li, X., Tian, C., Tang, C., Rengel, Z., (2002). Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. *Mycorrhiza*, 12(4): 185-190.
- Ferguson, B. J., Indrasumunar, A., Hayashi, S., Lin, M. H., Lin, Y. H., Reid, D. E., & Gresshoff, P. M. (2010). Molecular analysis of legume nodule development and autoregulation. *Journal of integrative plant biology*, 52(1), 61-76.
- Fielding, J. L., & Hall, J. L. (1978). A biochemical and cytochemical study of peroxidase activity in roots of *Pisum sativum*: II. Distribution of enzymes in relation to root development. *Journal of Experimental Botany*, 29(4), 983-991.
- Figueiredo, M. V. B., Vilar, J. J., & Burity, H. A. (1999). Alleviation of water stress effects in cowpea by *Bradyrhizobium* spp. inoculation. *Plant and soil*, 207(1), 67-75.

Références bibliographiques

- Fita, A., Rodríguez-Burruezo, A., Boscaiu, M., Prohens, J., & Vicente, O. (2015). Breeding and domesticating crops adapted to drought and salinity: a new paradigm for increasing food production. *Frontiers in Plant Science*, 6, 978.
- Flavell, R. B., Bennett, M. D., Smith, J. B., & Smith, D. B. (1974). Genome size and the proportion of repeated nucleotide sequence DNA in plants. *Biochemical genetics*, 12(4), 257-269.
- Flores-Felix, J. D., Carro, L., Velazquez, E., Valverde, A., Cerda-Castillo, E., García-Fraile, P., & Rivas, R. (2013). *Phyllobacterium endophyticum* sp. nov., isolated from nodules of *Phaseolus vulgaris*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 63(Pt_3), 821-826.
- Fouad, M., Mohammed, N., Aladdin, H., Ahmed, A., Xuxiao, Z., Shiyong, B., & Tao, Y. (2013). Faba bean. In *Genetic and Genomic Resources of Grain Legume Improvement* (pp. 113-136). Elsevier.
- Foundation for Arable Research (FAR) Focus – 08 Decembre (2012). Faba beans - A growers' guide. Issue 08. ISBN 978-0-9876673-3-5
- Foyer, C. H., & Noctor, G. (2016). Stress-triggered redox signalling: what's in pROSpect?. *Plant, cell & environment*, 39(5), 951-964.
- Franke, A. C., Van den Brand, G. J., Vanlauwe, B., & Giller, K. E. (2018). Sustainable intensification through rotations with grain legumes in Sub-Saharan Africa: A review. *Agriculture, ecosystems & environment*, 261, 172-185.
- Friedel, J.K., Munch, J.C., Fischer, W.R., (1996). Soil microbial properties and the assessment of available soil organic matter in a Hapic Luvisol after several years of different cultivation and crop rotation. *Soil Biol. Biochem.* 28, 479–488.
- Fu, J., & Huang, B. (2001). Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environmental and experimental Botany*, 45(2), 105-114.
- Fujishige, N. A., Kapadia, N. N., De Hoff, P. L., & Hirsch, A. M. (2006). Investigations of *Rhizobium* biofilm formation. *FEMS microbiology ecology*, 56(2), 195-206.
- Fujishige, N. A., Lum, M. R., De Hoff, P. L., Whitelegge, J. P., Faull, K. F., & Hirsch, A. M. (2008). *Rhizobium* common nod genes are required for biofilm formation. *Molecular microbiology*, 67(3), 504-515.
- Furlan, A. L., Bianucci, E., Castro, S., & Dietz, K. J. (2017). Metabolic features involved in drought stress tolerance mechanisms in peanut nodules and their contribution to biological nitrogen fixation. *Plant Science*, 263, 12-22.
- Gage DJ (2004) Infection and invasion of roots by symbiotic, nitrogen-fixing rhizobia during nodulation of temperate legumes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 68, 280–300.
- Galloway JN, Aber JD, Erismann JW, Seitzinger SP, Howarth RW, Cowling EB, Cosby BJ. (2003). The nitrogen cascade. *Bioscience* 53, 341–356.
- Gan YT, Miller PR, McConkey BG, Zentner RP, Stevenson FC, McDonald CL (2003) Influence of diverse cropping sequences on durum yield and protein in the semiarid northern Great Plains. *Agronomy Journal* 95, 245–252.
- Gantzer, C. J., & McCarty, T. R. (1987). Predicting corn yields on a claypan soil using a soil productivity index. *Transactions of the ASAE*, 30(5), 1347-1352.
- Gantzer, C. J., Anderson, S. H., Thompson, A. L., & Brown, J. R. (1991). Evaluation of Soil Loss after 100 Years of Soil and Crop Management. *Agronomy Journal*, 83(1), 74-77.
- Garg, N., & Manchanda, G. (2009). ROS generation in plants: boon or bane?. *Plant Biosystems*, 143(1), 81-96.

Références bibliographiques

- Garofalo P., Di Paolo E., and Rinaldi M. (2009). Durum wheat (*Triticum durum* Desf.) in rotation with faba bean (*Vicia faba* var. minor L.): long-term simulation case study. *Crop Pasture Sci.* 60, 240–250.
- Geddes, B. A., & Oresnik, I. J. (2016). The mechanism of symbiotic nitrogen fixation. *The Mechanistic Benefits of Microbial Symbionts*, 69-97.
- Gholami, M., Rahemi, M., & Rastegar, S. (2012). Use of rapid screening methods for detecting drought tolerant cultivars of fig (*Ficus carica* L.). *Scientia Horticulturae*, 143, 7-14.
- Giambalvo, D., Stringi, L., Durante, G., Amato, G., Frenda, A.S., (2004). Nitrogen efficiency component analysis in wheat under rainfed Mediterranean conditions: effects of crop rotation and nitrogen fertilization. In: Cantero-Martínez, C., Gabiña, D. (Eds.), *Mediterranean rainfed agriculture: Strategies for sustainability = Agriculture pluviale méditerranéenne: stratégies de durabilité*. Zaragoza (Spain): International Centre for Advanced Mediterranean Agronomic Studies-Mediterranean Agronomic Institute of Zaragoza (CIHEAM-IAMZ) 2004, 169–173.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930.
- Giller, K.E., (2001). *Nitrogen Fixation in Tropical Cropping Systems*, 2nd edn. CAB International, Wallingford, UK.
- Girma, F., & Haile, D. (2014). Effects of supplemental irrigation on physiological parameters and yield of faba bean (*Vicia faba* L.) varieties in the highlands of Bale, Ethiopia. *Journal of Agronomy*, 13(1), 29-34.
- Glass ADM. (2003). Nitrogen use efficiency of crop plants: physiological constraints upon nitrogen absorption. *Critical Reviews in Plant Sciences* 22, 453–470.
- Gollack, D., Li, C., Mohan, H., & Probst, N. (2014). Tolerance to drought and salt stress in plants: unraveling the signaling networks. *Frontiers in plant science*, 5, 151.
- Gong, X., Liu, M., Zhang, L., Ruan, Y., Ding, R., Ji, Y., Zhang, N., Zhang, S., Farmer, J., Wang, C., (2015). Arabidopsis AtSUC2 and AtSUC4, encoding sucrose transporters, are required for abiotic stress tolerance in an ABA-dependent pathway. *Physiologia plantarum*, 153(1), 119-136.
- Gontia-Mishra, I., Sapre, S., Sharma, A., & Tiwari, S. (2016). Amelioration of drought tolerance in wheat by the interaction of plant growth-promoting rhizobacteria. *Plant Biology*, 18(6), 992-1000.
- Gopalakrishnan, S., Sathya, A., Vijayabharathi, R., Varshney, R. K., Gowda, C. L., & Krishnamurthy, L. (2015). Plant growth promoting rhizobia: challenges and opportunities. *3 Biotech*, 5(4), 355-377.
- Gorbushina, A. A., Kort, R., Schulte, A., Lazarus, D., Schnetger, B., Brumsack, H. J., ... & Favet, J. (2007). Life in Darwin's dust: intercontinental transport and survival of microbes in the nineteenth century. *Environmental Microbiology*, 9(12), 2911-2922.
- Graf, R. J., & Rowland, G. G. (1987). Effect of plant density on yield and components of yield of faba bean. *Canadian journal of plant science*, 67(1), 1-10.
- Graham, P.H., Vance, C.P., (2003). Legumes: Importance and Constraints to Greater Use. *Plant Physiol.* 131, 872–877.
- GRDC (2014). *GrowNotes™: Faba bean (northern region)*. Grains Research and Development Corporation, <https://grdc.com.au/Resources/GrowNotes™>
- GRDC (2016). *Growth Stages for Faba Bean (unpublished)*. Grains Research and Development Corporation.
- GRDC (2017). *GrowNotes™: Faba bean (southern region)*. Grains Research and Development Corporation, <https://grdc.com.au/Resources/GrowNotestm>

Références bibliographiques

- Grignac P., (1978). Le blé dur : Techniques agricoles. Tome I, 6-10.
- Grover, M., Ali, S. Z., Sandhya, V., Rasul, A., & Venkateswarlu, B. (2011). Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(5), 1231-1240.
- Gupta, A.K., Kaur, N., (2005). Sugar signalling and gene expression in relation to carbohydrate metabolism under abiotic stresses in plants. *J. Biosci.* 30, 761–776.
- Gupta, V.V.S.R., Roget, D.K., Coppi, J.A., (2004). Identification of a previously unrecognized biological constraint to yield in sequential wheat crops. In: Proceedings of the 3rd Australasian Soilborne Disease Symposium, Ophel Keller, K.M. and Hall, B.H. (Eds) SARDI, Adelaide 2004 pp. 15–16.
- Gurrieri, L., Merico, M., Trost, P., Forlani, G., & Sparla, F. (2020). Impact of drought on soluble sugars and free proline content in selected *Arabidopsis* mutants. *Biology*, 9(11), 367.
- Gusain, Y.S., Singh, U.S., Sharma, A.K., (2015). Bacterial mediated amelioration of drought stress in drought tolerant and susceptible cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). *African Journal of Biotechnology*, 14(9): 764-773.
- Haag, A. F., Arnold, M. F., Myka, K. K., Kerscher, B., Dall'Angelo, S., Zanda, M., ... & Ferguson, G. P. (2013). Molecular insights into bacteroid development during *Rhizobium*–legume symbiosis. *FEMS microbiology reviews*, 37(3), 364-383.
- Habash, D.Z., Baudo, M., Hindle, M., Powers, S.J., Defoin-Platel, M., Mitchell, R., Saqi, M., Rawlings, C., Latiri, K., Araus, J. L., Abdulkader A., Tuberosa, R., Lawlor, D. W., Nachit, M.M., (2014). Systems responses to progressive water stress in durum wheat. *PLoS One*, 9(9): e108431.
- Halliwell, B. (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant physiology*, 141(2), 312-322.
- Hansen, A.P., Choudhary, D.K., Agrawal, P.K., Varma, A., (2017). *Rhizobium* biology and biotechnology. Springer, 50.
- Hanson, A. D., & Hitz, W. D. (1983). Whole-Plant Response to Water Deficits: Water Deficits and the Nitrogen Economy. Limitations to efficient water use in crop production, 331-343.
- Haque I, Powell JM, Ehui SK (1995) Improved crop-livestock production strategies for sustainable soil management in tropical Africa. In: Lal R, Stewart BA (eds) Soil management: experimental basis for sustainability and environmental quality. CRC Press, Boca Raton, pp 293–345.
- Hasanuzzaman, M., Alam, M. M., Nahar, K., Mohsin, S. M., Bhuyan, M. B., Parvin, K., ... & Fujita, M. (2019). Silicon-induced antioxidant defense and methylglyoxal detoxification works coordinately in alleviating nickel toxicity in *Oryza sativa* L. *Ecotoxicology*, 28(3), 261-276.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., ... & Fotopoulos, V. (2020). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, 9(8), 681.
- Hasanuzzaman, M.; Nahar, K.; Rahman, A.; Inafuku, M.; Oku, H.; Fujita, M. (2018). Exogenous nitric oxide donor and arginine provide protection against short-term drought stress in wheat seedlings. *Physiol. Mol. Biol. Plants*, 24, 993–1004.
- Hassan, W., Bashir, S., Hanif, S., Sher, A., Sattar, A., Wasaya, Atif H. and Hussain M. (2017). Phosphorus solubilizing bacteria and growth and productivity of mung bean (*Vigna radiata*). *Pak. J. Bot*, 49(3), 331-336.
- Havir, E. A., & McHale, N. A. (1987). Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant physiology*, 84(2), 450-455.

Références bibliographiques

- Hayatu, M., Muhammad, S. Y., & Abdu, H. U. (2014). Effect of water stress on the leaf relative water content and yield of some cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp.) genotype. *International Journal of Scientific & Technology Research* 3 (7).
- Haynes, R.J., R.J Martin and K.M. Goh. (1993). Nitrogen fixation, accumulation of soil nitrogen and nitrogen balance for some field-grown legume crops. *Field Crops Res.*, 35: 85-92.
- Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of biochemistry and biophysics*, 125(1), 189-198.
- Hendawey, M. H., and Younes, A. M. A. (2013). Biochemical evaluation of some faba bean cultivars under rainfed conditions at El-Sheikh Zuwayid. *Ann. Agric. Sci.* 58, 183–193.
- Herridge, D. F., Peoples, M. B., and Boddey, R. M. (2008). Global inputs of biological nitrogen fixation in agri-cultural systems. *Plant Soil* 311, 1–18.
- Hetrick, B. A. D., Wilson, G. W. T., Gill, B. S., & Cox, T. S. (1995). Chromosome location of mycorrhizal responsive genes in wheat. *Canadian Journal of Botany*, 73(6), 891-897.
- Heuzè V., Tran G., Delagarde R., Lessire M., Lebas F. (2016) Faba bean (*Vicia faba*). Feedipedia, a programme by INRA, CIRAD, AFZ and FAO, www.feedipedia.org/node/4926
- Hirsch, A. M. (2010). How rhizobia survive in the absence of a legume host, a stressful world indeed. In *Symbioses and stress* (pp. 375-391). Springer, Dordrecht.
- Hoagland, D. R., & Arnon, D. I. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. *Circular. California agricultural experiment station*, 347(2nd edit).
- Hoflich, G. (2000). Colonization and growth promotion of non-legumes by *Rhizobium* bacteria. In *Microbial Biosystems: New Frontiers. Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology*, Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax, Canada (p. 827).
- Hood, R.C., K. N’Goran, M. Aigner and G. Hardason. (1999). A comparison of direct and indirect ¹⁵N isotope techniques for estimating crop N uptake from organic residues. *Plant Soil*, 208: 259-270.
- Hossain, M. A., Wani, S. H., Bhattacharjee, S., Burritt, D. J., & Tran, L. S. P. (Eds.). (2016). *Drought stress tolerance in plants, vol 2: Molecular and genetic perspectives*. Springer.
- Huang S, Sirikhachornkit A, Su X, Faris J, Gill B, Haselkorn R, Gornicki P (2002). Genes encoding plastid acetyl-CoA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase of the Triticum/Aegilops complex and the evolutionary history of polyploid wheat. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:8133–8138
- Hungria, M., & Vargas, M. A. (2000). Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. *Field crops research*, 65(2-3), 151-164.
- Hunt JR, Browne C, McBeath TM, Verburg K, Craig S, Whitbread AM (2013) Summer fallow weed control and residue management impacts on winter crop yield through soil water and N accumulation in a winter- dominant, low rainfall region of southern Australia. *Crop & Pasture Science* 64, 922–934.
- Hunt JR, Kirkegaard JA (2011) Re-evaluating the contribution of summer fallow rain to wheat yield in southern Australia. *Crop & Pasture Science* 62, 915–929.
- Hussain, A., Shah, S. T., Rahman, H., Irshad, M., & Iqbal, A. (2015). Effect of IAA on in vitro growth and colonization of *Nostoc* in plant roots. *Frontiers in plant science*, 6, 46.
- Hussain, M. B., Mahmood, S. A. J. I. D., Ahmed, N. I. A. Z., & Nawaz, H. (2018). Rhizobial inoculation for improving growth physiology, nutrition and yield of maize under drought stress conditions. *Pakistan Journal of Botany*, 50(5), 1681-1689.

Références bibliographiques

- Hussain, M., Malik, M. A., Farooq, M., Ashraf, M. Y., & Cheema, M. A. (2008). Improving drought tolerance by exogenous application of glycinebetaine and salicylic acid in sunflower. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194(3), 193-199.
- Hussain, M.B., Mehboob, I., Zahir, Z.A., Naveed, M., Asghar, H.N., (2009). Potential of *Rhizobium* spp. for improving growth and yield of rice (*Oryza sativa* L.). *Soil Environ*, 28(1): 49-55.
- Hussain, M.B., Zahir, Z.A., Arshad, M., (2011). Microbial strategies for inducing drought tolerance in crops. *Farming Outlook*, 10: 24-30.
- Hussain, M.B., Zahir, Z.A., Asghar, H.N., Asgher, M., (2014a). Can catalase and exopolysaccharides producing rhizobia ameliorate drought stress in wheat? *International Journal of Agriculture and Biology*, 16(1).
- Hussain, M.B., Zahir, Z.A., Asghar, H.N., Mahmood, S., (2014b). Scrutinizing rhizobia to rescue maize growth under reduced water conditions. *Soil Science Society of America Journal*, 78(2): 538-545.
- Hussain, M.B., Zahir, Z.A., Asghar, H.N., Mubaraka, R., Naveed, M., (2016). Efficacy of rhizobia for improving photosynthesis, productivity, and mineral nutrition of maize. *CLEAN-Soil, Air, Water*, 44(11): 1564-1571.
- Huth, N. I., Thorburn, P. J., Radford, B. J., and Thornton, C. M. (2010). Impacts of fertilisers and legumes on N₂O and CO₂ emissions from soils in subtropical agricultural systems: a simulation study. *Agric. Ecosyst. Environ.* 136, 351–357.
- Inci, N. E., & Toker, C. (2011). Screening and selection of faba beans (*Vicia faba* L.) for cold tolerance and comparison to wild relatives. *Genet Resour Crop Evol*, 58, 1169-1175.
- International Grains Council [IGC], 2020. World Grain Statistics 2016. Available: <https://www.igc.int/en/subscriptions/subscription.aspx> (accessed May 21, 2020).
- Iqbal, N., Nazar, R., Khan, N.A., 2015. Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment : Emerging Omics Technologies.
- Irshad, A., Rehman, R. N. U., Abrar, M. M., Saeed, Q., Sharif, R., & Hu, T. (2021). Contribution of rhizobium–legume symbiosis in salt stress tolerance in *Medicago truncatula* evaluated through photosynthesis, antioxidant enzymes, and compatible solutes accumulation. *Sustainability*, 13(6), 3369.
- Jackson, L.E., Burger, M., Cavagnaro, T.R., (2008). Roots, nitrogen transformations, and ecosystem services. *Annual Review of Plant Biology* 59, 341e363.
- Jaleel, C.A., P. Manivannan, A. Wahid, M. Farooq, H.J. Al-juburi, R. Somasundaram and R. Panneerselvam, 2009. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *Int. J. Agric. Biol.*, 11: 100–105
- Jenkins, M. B., Virginia, R. A., & Jarrell, W. M. (1989). Ecology of fast-growing and slow-growing Mesquite-nodulating rhizobia in Chihuahuan and Sonoran desert ecosystems. *Soil Science Society of America Journal*, 53(2), 543-549.
- Jensen, E., Peoples, M. B., and Hauggaard-Nielsen, H. (2010). Faba bean in cropping systems. *Field Crops Res.* 115, 203–216.
- Jensen, E., Peoples, M. B., Boddey, R. M., Gressho, P. M., Hauggaard-Nielsen, H., Alves, B. J. R., et al. (2012). Legumes for mitigation of climate change and the provision of feedstock for biofuels and bioreneries. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 32, 329–364.
- Jensen, E.S., (1986). Symbiotic N₂ fixation in pea and field bean estimated by ¹⁵N fertilizer dilution in field experiments with barley as a reference crop. *Plant Soil* 92, 3–13.
- Jha, Y., and Subramanian, R.B., (2018). Effect of root-associated bacteria on soluble sugar metabolism

Références bibliographiques

- in plant under environmental stress. In *Plant Metabolites and Regulation Under Environmental Stress*, Academic Press: 231-240.
- Johnston, A.M., Tanaka, D.L., Miller, P.R., Brandt, S.A., Nielsen, D.C., Lafond, G.P., Riveland, N.R., (2002). Oilseed crops for semi-arid cropping systems in the northern Great Plains. *Agron. J.* 94, 231–240.
- Jones DL, Clode PL, Kilburn MR, Stockdale EA, Murphy DV (2013) Competition between plant and bacterial cells at the microscale regulates the dynamics of nitrogen acquisition in wheat (*Triticum aestivum*). *New Phytol* 200(3):796–807.
- Joshi, R.; Ramanarao, M.V.; Lee, S.; Kato, N.; Baisakh, N. (2014), Ectopic expression of ADP ribosylation factor 1 (SaARF1) from smooth cordgrass (*Spartina alterniflora* Loisel) confers drought and salt tolerance in transgenic rice and *Arabidopsis*. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 117, 17–30. [CrossRef]
- Jubany-Mari, T., Prinsen, E., Munné-Bosch, S., & Alegre, L. (2010). The timing of methyl jasmonate, hydrogen peroxide and ascorbate accumulation during water deficit and subsequent recovery in the Mediterranean shrub *Cistus albidus* L. *Environmental and experimental botany*, 69(1), 47-55.
- Kabbadj, A., (2016). Adaptation de la symbiose Fève (*Vicia faba*)/rhizobia au déficit hydrique: Aspects agrophysiologiques et système redox. These de Doctorat Centre d'Etudes Doctorales (CED): Sciences et Techniques.
- Kabbadj, A., Makoudi, B., Mouradi, M., Pauly, N., Frendo, P., & Ghoulam, C. (2017). Physiological and biochemical responses involved in water deficit tolerance of nitrogen-fixing *Vicia faba*. *PLoS one*, 12(12), e0190284.
- Karkanis A, Ntatsi G, Lepse L, Fernández JA, Vågen IM, Rewald B, Alsin, a I, Kronberga A, Balliu A, Olle M, Bodner G, Dubova L, Rosa E and Savvas D (2018) Faba Bean Cultivation – Revealing Novel Managing Practices for More Sustainable and Competitive European Cropping Systems. *Front. Plant Sci.* 9:1115.
- Karlen, D.L. , Varvel,G. E., BullockD. G. and Cruse, R. M. , (1994), Crop rotations for the 21st century, *Advances in agronomy*, vol 53, Pages 1-45.
- Kasim, W. A., Osman, M. E., Omar, M. N., Abd El-Daim, I. A., Bejai, S., & Meijer, J. (2013). Control of drought stress in wheat using plant-growth-promoting bacteria. *Journal of plant growth regulation*, 32(1), 122-130.
- Katerji, N., Mastrorilli, M., Lahmer, F. Z., Maalouf, F., & Oweis, T. (2011). Faba bean productivity in saline–drought conditions. *European Journal of Agronomy*, 35(1), 2-12.
- Kaur, N., Kaur, J., Grewal, S. K., & Singh, I. (2019). Effect of Heat Stress on Antioxidative defense system and its amelioration by heat acclimation and salicylic acid pre-treatments in three pigeonpea genotypes. *Indian Journal of Agricultural Biochemistry*, 32(1), 106-110.
- Kaushal, M., and Wani, S.P., (2016). Plant-growth-promoting rhizobacteria: drought stress alleviators to ameliorate crop production in drylands. *Annals of Microbiology*, 66(1): 35-42.
- Kavi Kishor, P. B., & Sreenivasulu, N. (2014). Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue?. *Plant, cell & environment*, 37(2), 300-311.
- Kaya, M. D., Okçu, G., Atak, M., Cıkılı, Y., & Kolsarıcı, Ö. (2006). Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *European journal of agronomy*, 24(4), 291-295.
- Khalafallah, A. A., Tawfik, K. M., & Abd El-Gawad, Z. A. (2008). Tolerance of seven faba bean varieties to drought and salt stresses. *Research. J of Agriculture and Biological Sciences*, 4(2), 175-

186.

- Khamassi, K., Ben Jeddi, F., Hobbs, D., Irigoyen, J., Stoddard, F., O'sullivan, D. M., et al. (2013). A baseline study of vicine-convicine levels in faba bean (*Vicia faba* L.) germplasm. *Plant Genetic Res.* 11, 250–257.
- Khan, H. R., Link, W., Hocking, T. J., & Stoddard, F. L. (2007). Evaluation of physiological traits for improving drought tolerance in faba bean (*Vicia faba* L.). *Plant and Soil*, 292(1), 205-217.
- Khan, H. R., Paull, J. G., Siddique, K. H. M., & Stoddard, F. L. (2010). Faba bean breeding for drought-affected environments: A physiological and agronomic perspective. *Field Crops Research*, 115(3), 279-286.
- Khan, M.Y., Zahir, Z.A., Asghar, H.N., Waraich, E.A., (2017). Preliminary investigations on selection of synergistic halotolerant plant growth promoting rhizobacteria for inducing salinity tolerance in wheat. *Pak. J. Bot*, 49(4): 1541-1551.
- Khazaei, H., Link, W., Street, K., & Stoddard, F. L. (2018). ILB 938, a valuable faba bean (*Vicia faba* L.) accession. *Plant Genetic Resources*, 16(5), 478-482.
- Khazaei, H., Street, K., Santanen, A., Bari, A., & Stoddard, F. L. (2013). Do faba bean (*Vicia faba* L.) accessions from environments with contrasting seasonal moisture availabilities differ in stomatal characteristics and related traits?. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 60(8), 2343-2357.
- Kibido, T., Kunert, K., Makgopa, M., Greve, M., & Vorster, J. (2020). Improvement of rhizobium-soybean symbiosis and nitrogen fixation under drought. *Food and Energy Security*, 9(1), e177.
- Kirkegaard, J. A., & Ryan, M. H. (2014). Magnitude and mechanisms of persistent crop sequence effects on wheat. *Field Crops Research*, 164, 154-165.
- Kirkegaard, J., Christen, O., Krupinsky, J., & Layzell, D. (2008). Break crop benefits in temperate wheat production. *Field crops research*, 107(3), 185-195.
- Kirkegaard, J.A., Howe, G.N., Pitson, G., (2001). Agronomic interactions between drought and crop sequence. In: *Proceedings of the 10th Australian Agronomy Conference Hobart*.
- Kneipp J. (2008). Durum wheat production. NSW Department of Primary Industries, November 2008, http://www.dpi.nsw.gov.au/_data/assets/pdf_file/0010/280855/Durum-wheat-production-report.pdf
- Kocsy, G., Laurie, R., Szalai, G., Szilágyi, V., Simon-Sarkadi, L., Galiba, G., & De Ronde, J. A. (2005). Genetic manipulation of proline levels affects antioxidants in soybean subjected to simultaneous drought and heat stresses. *Physiologia Plantarum*, 124(2), 227-235.
- KOHL, D. H., KENNELLY, E. J., ZHU, Y., SCHUBERT, K. R., & SHEARER, G. (1991). Proline accumulation, nitrogenase (C₂H₂ reducing) activity and activities of enzymes related to proline metabolism in drought-stressed soybean nodules. *Journal of experimental botany*, 42(7), 831-837.
- Kolev N.,(1976). *Les cultures maraichères en Algérie ; légume, fruit*, Ed J. BAILLIÈRE.Paris. Vol I , 207p.
- Köpke, U., & Nemecek, T. (2010). Ecological services of faba bean. *Field crops research*, 115(3), 217-233.
- Krapp, A. (2015). Plant nitrogen assimilation and its regulation: a complex puzzle with missing pieces. *Current opinion in plant biology*, 25, 115-122.
- Kumar K, Goh KM (2000) Crop residues and management practices: effects of soil quality, soil nitrogen dynamics, crop yield and nitrogen recovery. *Advances in Agronomy* 68, 197–319.
- Kumari, V., Germida, J., & Vujanovic, V. (2018). Legume endosymbionts: Drought stress tolerance in

Références bibliographiques

- second-generation chickpea (*Cicer arietinum*) seeds. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 204(6), 529-540.
- Lacampagne, J.-P., (2007). An insufficient supply of faba beans for human consumption in 2006/07. *Grain Legume*. Issue 48, pp14–15.
- Laranjo, M., Alexandre, A., & Oliveira, S. (2014). Legume growth-promoting rhizobia: an overview on the *MesoRhizobium* genus. *Microbiological research*, 169(1), 2-17.
- Lawlor, D. W., & Cornic, G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, cell & environment*, 25(2), 275-294.
- Le Thiec, D., & Manninen, S. (2003). Ozone and water deficit reduced growth of Aleppo pine seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41(1), 55-63.
- Lebbal Salim (2010). Contribution à l'étude de la résistance naturelle de la fève au puceron noir de la luzerne *Aphis crarae*. Magister en Agronomie, Option: Entomologie Agricole et Forestière
- Li, M., & Ma, J. L. (2013). Influences of salt and drought stress on proline content in three poplar varieties. *Hunan Agric Sci*, 1, 105-107.
- Li, P., Zhang, Y., Wu, X., & Liu, Y. (2018). Drought stress impact on leaf proteome variations of faba bean (*Vicia faba* L.) in the Qinghai–Tibet Plateau of China. *3 Biotech*, 8(2), 1-12.
- Lichtenthaler, H. K., & Wellburn, A. R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents.
- Liebman, M., Dyck, E., (1993). Crop rotation and intercropping strategies for weed management. *Ecological Applications* 3, 92e122.
- Link, W., Balko, C., Stoddard, F.L., (2010). Winter hardiness in faba bean: physiology and breeding. *Field Crops Res.* 115, 287–296.
- Liu, Y., Yin, X., Xiao, J., Tang, L., & Zheng, Y. (2019). Interactive influences of intercropping by nitrogen on flavonoid exudation and nodulation in faba bean. *Scientific Reports*, 9(1), 1-11.
- Long SR. (1996). *Rhizobium* symbiosis: Nod factors in perspective. *The Plant Cell* 8, 1885–1898.
- López-Bellido, F. J., López-Bellido, L., & López-Bellido, R. J. (2005). Competition, growth and yield of faba bean (*Vicia faba* L.). *European Journal of Agronomy*, 23(4), 359-378.
- López-Bellido, L., López-Bellido, R. J., Castillo, J. E., & López-Bellido, F. J. (2000). Effects of tillage, crop rotation, and nitrogen fertilization on wheat under rainfed Mediterranean conditions. *Agronomy Journal*, 92(6), 1054-1063.
- López-Fando C, Almendros G (1995) Interactive effects of tillage and crop Rotations on yield and chemical properties of soils in semi-arid Central Spain. *Soil Tillage Res* 36:45–57
- Lorenzo, P., Rodríguez-Echeverría, S., González, L., & Freitas, H. (2010). Effect of invasive *Acacia dealbata* Link on soil microorganisms as determined by PCR-DGGE. *Applied Soil Ecology*, 44(3), 245-251.
- Loss, S. P., & Siddique, K. H. M. (1994). Morphological and physiological traits associated with wheat yield increases in Mediterranean environments. *Advances in agronomy*, 52, 229-276.
- Luo Y., Xie W., Xie C., Li Y., Gu Z. (2009). Impact of soaking and phytase treatments on phytic acid, calcium, iron and zinc in faba bean fractions. *Int J Food Sci Tech* 44(12):2590–2597
- Lupwayi, N.Z., Kennedy, A.C., (2007). Grain legumes in Northern Great Plains: impacts on selected biological soil processes. *Agron. J.* 99, 1700–1709.
- Macarulla, M. T., Medina, C., De Diego, M. A., Chavarri, M., Zulet, M. Á., Martínez, J. A., ... & Portillo,

Références bibliographiques

- M. P. (2001). Effects of the whole seed and a protein isolate of faba bean (*Vicia faba*) on the cholesterol metabolism of hypercholesterolaemic rats. *British Journal of Nutrition*, 85(5), 607-614.
- MacRae, R. J., & Mehuys, G. R. (1985). The effect of green manuring on the physical properties of temperate-area soils. In *Advances in soil science* (pp. 71-94). Springer, New York, NY.
- Madar, Z. ; Stark, A. H. (2002). New legume sources as therapeutic agents. *British Journal of Nutrition*, 88, , pp. 287–292.
- Manickavelu, A., Nadarajan, N., Ganesh, S. K., Gnanamalar, R. P., & Babu, R. C. (2006). Drought tolerance in rice: morphological and molecular genetic consideration. *Plant Growth Regulation*, 50(2), 121-138.
- Mano, J. Early events in environmental stresses in plants Finduction mechanisms of oxidative stress. In *Oxidative Stress Plants*; U.S. National Library of Medicine: Bethesda, MD, USA, 2002; pp. 217–245.
- Mansfield, T. A., & Atkinson, C. J. (1990). Stomatal behaviour in water stressed plants. *Plant biology (USA)*.
- Masson-Boivin, C., Giraud, E., Perret, X., & Batut, J. (2009). Establishing nitrogen-fixing symbiosis with legumes: how many *Rhizobium* recipes?. *Trends in microbiology*, 17(10), 458-466.
- Matthews, P. and Marcellos, T. (2003). Faba bean. *Agfact P4.2.7*, second edition, 1 - 24.
- Mayak, S., Tirosh, T., & Glick, B. R. (2004). Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant physiology and Biochemistry*, 42(6), 565-572.
- Mazaheri, D.; ZEINALI, H.; MADANI, A. (2005). Influence of planting dates and plant densities on photosynthesis capacity, grain and biological yield of soybean in Karaj, Iran. *Journal of Agronomy*, v. 4, n. 3, p. 230-237.
- Mazid, M., & Khan, T. A. (2015). Future of bio-fertilizers in Indian agriculture: an overview. *International Journal of Agricultural and Food Research*, 3(3).
- McEwen J, Darby RJ, Hewitt MV, Yeoman DP (1989) Effects of field beans, fallow, lupin, oats, oilseed rape, peas, ryegrass, sunflower and wheat on nitrogen residues in the soil and on the growth of a subsequent wheat crop. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 115, 209–219.
- McInroy, J. A., & Kloepper, J. W. (1995). Survey of indigenous bacterial endophytes from cotton and sweet corn. *Plant and soil*, 173(2), 337-342.
- Mehboob, I., Zahir, Z. A., Arshad, M., Tanveer, A., & Azam, F. (2011). Growth promoting activities of different *Rhizobium* spp. in wheat. *Pak. J. Bot*, 43(3), 1643-1650.
- Mehboob, I., Zahir, Z. A., Arshad, M., Tanveer, A., & Khalid, M. (2012). Comparative effectiveness of different *Rhizobium* sp. for improving growth and yield of maize (*Zea mays* L.). *Soil & Environment*, 31(1).
- Mehla, N.; Sindhi, V.; Josula, D.; Bisht, P.; Wani, S.H. (2017); An introduction to antioxidants and their roles in plant stress tolerance. In *Reactive Oxygen Species and Antioxidant Systems in Plants: Role and Regulation under Abiotic Stress*; Khan, M.I.R., Khan, N.A., Eds.; Springer: Singapore, pp. 1–23.
- Metayer, N. (2004). *Vicia faba* breeding for sustainable agriculture in EUROPE. D7: WP 1-EUFABA.
- Mia, M. B., & Shamsuddin, Z. H. (2010). *Rhizobium* as a crop enhancer and biofertilizer for increased cereal production. *African journal of Biotechnology*, 9(37), 6001-6009.
- Miller PR, Waddington J, McDonald CL, Derksen DA (2002) Cropping sequence affects wheat productivity on the semiarid northern Great Plains. *Canadian Journal of Plant Science* 82, 307–318.

Références bibliographiques

- Miller, G. A. D., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S. U. L. T. A. N., & Mittler, R. O. N. (2010). Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant, cell & environment*, 33(4), 453-467.
- Mittler, R., (2016). ROS are good. *Trends Plant Sci.*
- Mohammadkhani, N., & Heidari, R. (2008). Effects of drought stress on soluble proteins in two maize varieties. *Turkish Journal of Biology*, 32(1), 23-30.
- Mohseni Mehran, S. M. ; Golshani, B. (2013). Simultaneous determination of Levodopa and Carbidopa from fava bean, green peas and green beans by high Performance liquid gas chromatography. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 7, , pp. 1004–1007.
- 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.): étude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. *Agronomie*, 6(6), 583-590.
- Montzka, S. A., Dlugokencky, E. J., & Butler, J. H. (2011). Non-CO₂ greenhouse gases and climate change. *Nature*, 476(7358), 43-50.
- Moore, J.M., Klose, S. and Tabatabai, M.A. (2000). Soil microbial biomass carbon and nitrogen as affected by cropping systems. *Biology and Fertility of Soil* 3: 200-210.
- Moorthi, R. N., Armstrong, C. L. H., Janda, K., Ponsler-Sipes, K., Asplin, J. R., and Moe, S. M. (2015). The effect of a diet containing 70% protein from plants on mineral metabolism and musculoskeletal health in chronic kidney disease. *Am. J. Nephrol.* 40, 582–591.
- Morgan, J.M., (1984). *PLANTS* 299–319.
- Mouradi, M., Farissi, M., Bouizgaren, A., Makoudi, B., Kabbadj, A., Very, A. A., ... & Ghoulam, C. (2016). Effects of water deficit on growth, nodulation and physiological and biochemical processes in *Medicago sativa*-rhizobia symbiotic association. *Arid Land Research and Management*, 30(2), 193-208.
- Muehlbauer F. J. and Tullu Abebe (1997). *Vicia faba* L. Purdue University New crop Fact Sheet, <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/cropfactsheets/fababean.html>
- Muller, M.M., Sundman, V., (1988). The fate of nitrogen (15N) released from different plant materials during decomposition under field conditions. *Plant Soil* 105, 133–139.
- Multari, S., Stewart, D., and Russell, W. R. (2015). Potential of fava bean as future protein supply to partially replace meat intake in the human diet. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14, pp. 511–522.
- Murphy, E. J., Metcalfe, C. L., Nnamchi, C., Moody, P. C., & Raven, E. L. (2012). Crystal structure of guaiacol and phenol bound to a heme peroxidase. *The FEBS journal*, 279(9), 1632-1639.
- Muzammil, S., Shrestha, A., Dadshani, S., Pillen, K., Siddique, S., Léon, J., & Naz, A. A. (2018). An ancestral allele of Pyrroline-5-carboxylate synthase1 promotes proline accumulation and drought adaptation in cultivated barley. *Plant Physiology*, 178(2), 771-782.
- Mwanamwenge, J., Loss, S. P., Siddique, K. H. M., & Cocks, P. S. (1999). Effect of water stress during floral initiation, flowering and podding on the growth and yield of faba bean (*Vicia faba* L.). *European Journal of Agronomy*, 11(1), 1-11.
- Mytton, L. R., El-Sherbeeney, M. H., & Lawes, D. A. (1977). Symbiotic variability in *Vicia faba*. 3. Genetic effects of host plant, *Rhizobium* strain and of host× strain interaction. *Euphytica*, 26(3), 785-791.
- Nadeem, M., Li, J., Yahya, M., Sher, A., Ma, C., Wang, X., & Qiu, L. (2019). Research progress and perspective on drought stress in legumes: a review. *International journal of molecular sciences*,

Références bibliographiques

- 20(10), 2541.
- Nadeem, S. M., Naveed, M., Ayyub, M., Khan, M. Y., Ahmad, M., & Zahir, Z. A. (2016). Potential, limitations and future prospects of *Pseudomonas* spp. for sustainable agriculture and environment: A Review. *Soil & Environment*, 35(2).
- Nadeem, S.M., Ahmad, M., Zahir, Z.A., Javaid, A., Ashraf, M., (2014). The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnology Advances*, 32(2): 429-448.
- Nahar, K., Hasanuzzaman, M., Alam, M., Fujita, M., (2015). Glutathione-induced drought stress tolerance in mung bean: coordinated roles of the antioxidant defence and methylglyoxal detoxification systems 1–18.
- Nahar, K., Hasanuzzaman, M., Alam, M., Rahman, A., (2016). Ecotoxicology and Environmental Safety Polyamine and nitric oxide crosstalk : Antagonistic effects on cadmium toxicity in mung bean plants through upregulating the metal detoxification , antioxidant defense and methylglyoxal detoxification systems. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 126, 245–255.
- Nandal, K., Sehrawat, A. R., Yadav, A. S., Vashishat, R. K., & Boora, K. S. (2005). High temperature-induced changes in exopolysaccharides, lipopolysaccharides and protein profile of heat-resistant mutants of *Rhizobium* sp.(Cajanus). *Microbiological research*, 160(4), 367-373.
- Nelson, A.G. and Spaner, D. (2010). Cropping systems management, soil microbial communities and soil biological fertility. *Genetic Engineering, Bio-fertilisation, Soil Quality and Organic Farming. Sustainable Agriculture Reviews* 4: 217-242.
- Nemecek, T., & Erzinger, S. (2005). Modelling representative life cycle inventories for Swiss arable crops (9 pp). *The International Journal of Life Cycle Assessment*, 10(1), 68-76.
- Nemecek, T., von Richthofen, J. S., Dubois, G., Casta, P., Charles, R., & Pahl, H. (2008). Environmental impacts of introducing grain legumes into European crop rotations. *European journal of agronomy*, 28(3), 380-393.
- Nerkar, Y.S., Wilson, D., Lawes, D.A., (1981). Genetic variation in stomatal characteristics and behaviour , water use and growth of five vicia pabla l . Genotypes under contrasting soil moisture 30, 335–345.
- Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC advances*, 5(35), 27986-28006.
- Noctor, G., Mhamdi, A., & Foyer, C. H. (2014). The roles of reactive oxygen metabolism in drought: not so cut and dried. *Plant physiology*, 164(4), 1636-1648.
- Noctor, G., Reichheld, J. P., & Foyer, C. H. (2018, August). ROS-related redox regulation and signaling in plants. In *Seminars in Cell & Developmental Biology* (Vol. 80, pp. 3-12). Academic Press.
- Noel, T. C., Sheng, C., Yost, C. K., Pharis, R. P., & Hynes, M. F. (1996). *Rhizobium leguminosarum* as a plant growth-promoting rhizobacterium: direct growth promotion of canola and lettuce. *Canadian Journal of Microbiology*, 42(3), 279-283.
- Nonami, H. (1998). Plant water relations and control of cell elongation at low water potentials. *Journal of Plant Research*, 111(3), 373-382.
- Northern Faba Bean (NFB)- Best Management Practices Training Course (2014). Pulse Australia.
- O’Hara G., Howieson J., Drew E, Ballard R., Herridge D., Gemmeil G., Hartley E., Phillips L., Deaker R., Denton M., Yates R., Seymour N. and Ballard N. (2014). *Inoculating Legumes: A Practical Guide*. GRDC: UMU000322. ISBN 978-1-921779-45-9.
- Ofuya ZM, Akhidue V. (2006). The role of pulses in human nutrition: a review. *J Appl Sci Environ*

Références bibliographiques

- Manag 9(3):99–104.
- Ogungbile, A.O., Tabo, R., Van Dutenbooden, N. and Debrah, S.K. 1998. Analysis of constraints to agricultural production in the Sudan savannah zone of Nigeria using multi scale characterization. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 46: 27-38.
- Ohyama, T. (2017). The role of legume-*Rhizobium* symbiosis in sustainable agriculture. In *Legume nitrogen fixation in soils with low phosphorus availability* (pp. 1-20). Springer, Cham.
- Ojiem, J. O., de Ridder, N., Vanlauwe, B. and Giller, K. E. (2006) ‘Socio-ecological niche: a conceptual framework for integration of legumes in smallholder farming systems’, *International Journal of Agricultural Sustainability*, vol. 4, pp. 79–93.
- Oldroyd, G. E., Murray, J. D., Poole, P. S., & Downie, J. A. (2011). The rules of engagement in the legume-rhizobial symbiosis. *Annual review of genetics*, 45, 119-144.
- Oldroyd, G.E.D., (2013). Speak, friend, and enter: signalling systems that promote beneficial symbiotic associations in plants. *Nat. Rev. Microbiol.* 11, 252–263.
- Oldroyd, G.E.D., Downie, J.A., (2004). Calcium, kinases and nodulation signalling in legumes. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 5, 566–576.
- Omar, M. N. A., Mostafa, A. T., & Ahmed, A. S. (2000). Concentrated vinasse as a novel diazotrophs growth medium (biovinasse inoculant) and soil conditioner to improve faba bean yield under dripping irrigation system. In *Proceedings of The Tenth Microbiology Conference, Cairo, Egypt* (pp. 100-109).
- Osakabe, Y., Osakabe, K., Shinozaki, K., & Tran, L. S. P. (2014). Response of plants to water stress. *Frontiers in plant science*, 5, 86.
- Pahl, H. (2001). Suitability of grain legumes for European farming systems. p. 41–45. In *Proc. Eur. Conf. on Grain Legumes*, 4th,
- Palmer, R.G., Perez, Æ.P.T., Æ, E.O.Æ.F.M., (2009). The role of crop-pollinator relationships in breeding for pollinator-friendly legumes : from a breeding perspective 35–52.
- Panda, S. K. (2001). Oxidative response of green gram seeds under salinity stress. *Indian Journal of Plant Physiology*, 6(4), 438-440.
- Pandey, S., Fartyal, D., Agarwal, A., Shukla, T., James, D., Kaul, T., ... & Reddy, M. K. (2017). Abiotic stress tolerance in plants: myriad roles of ascorbate peroxidase. *Frontiers in plant science*, 8, 581.
- Pandey, V., & Shukla, A. (2015). Acclimation and tolerance strategies of rice under drought stress. *Rice Science*, 22(4), 147-161.
- Parent, C., Capelli, N., & Dat, J. (2008). Formes réactives de l'oxygène, stress et mort cellulaire chez les plantes. *Comptes Rendus Biologies*, 331(4), 255-261.
- Pathak, R., Singh, S. K., & Gehlot, P. (2017). Diversity, nitrogen fixation, and biotechnology of rhizobia from arid zone plants. In *Rhizobium biology and biotechnology* (pp. 61-81). Springer, Cham.
- Patil, A., Kale, A., Ajane, G., Sheikh, R., & Patil, S. (2017). Plant growth-promoting Rhizobium: mechanisms and biotechnological prospective. In *Rhizobium biology and biotechnology* (pp. 105-134). Springer, Cham.
- Pena R.J., W.H. Pfeiffer. (2005). Breeding methodologies and strategies for durum wheat quality improvement. In Conxita, R., Nachit, M., di Fonzo, N., Araus, J.L., Pfeiffer, W.H., & Slafer, G.A. (eds.). *Durum wheat breeding: current approaches and future strategies*. Food product press. 663-686.
- Peoples, M.B., Brockwell, J., Herridge, D.F., Rochester, I.J., Alves, B.J.R., Urquiaga, S., Boddey, R.M.,

Références bibliographiques

- Dakora, F.D., Bhattari, S., Maskey, S.L., Sampet, C., Rerkesam, B., Khan, D.F., Hauggaard-Nielsen, H., Jensen, E.S., (2009a). Review article. The contributions of nitrogen-fixing crop legumes to the productivity of agricultural systems. *Symbiosis* 48, 1–17.
- Peoples, M.B., Hauggaard-Nielsen, H., Jensen, E.S., (2009b). Chapter 13. The potential environmental benefits and risks derived from legumes in rotations. In: Emerich, D.W., Krishnan, H.B. (Eds.), *Agronomy Monograph 52. Nitrogen Fixation in Crop Production* Am. Soc. Agron., Crop Sci. Soc. Am., and Soil Sci. Soc. Am. Madison, Wisconsin, USA. pp. 349–385.
- Peoples, M.B., McLennan, P.D., Brockwell, J., (2008). Hydrogen emission from nodulated soybeans [*Glycine max* (L.) Merr.] and consequences for the productivity of a subsequent maize (*Zea mays* L.) crop. *Plant Soil* 307, 67–82.
- Peron J-Y, (2006). *Production légumières*. 2ème Ed. DUC, Paris, 613p.
- Perucci, P., Bonciarelli, U., Santilocchi, R. and Bianchi, A.A. (1997). Effects of rotation, nitrogen fertilization and management of crop residues on some chemical, microbiological and biochemical properties of soil. *Biology and Fertility of Soil* 24: 311-316.
- Philippot, L., & Hallin, S. (2011). Towards food, feed and energy crops mitigating climate change. *Trends in plant science*, 16(9), 476-480.
- Pietrzak, W., Kawa-Rygielska, J., Król, B., Lennartsson, P. R., and Taherzadeh, M. J. (2016). Ethanol, feed components and fungal biomass production from field bean (*Vicia faba* var. equina) seeds in an integrated process. *Bioresour. Technol.* 216, 69–76.
- Plaut, Z. (2003). Plant exposure to water stress during specific growth stages, *Encyclopedia of Water Science*.
- Pradhan, G. P., Prasad, P. V., Fritz, A. K., Kirkham, M. B., & Gill, B. S. (2012). Effects of drought and high temperature stress on synthetic hexaploid wheat. *Functional Plant Biology*, 39(3), 190-198.
- Preissel S, Reckling M, Schläfke N, Zander P (2015) Magnitude and farm-economic value of grain legume pre-crop benefits in Europe. *Field Crops Research* 175,64–79.
- Rachedi M., (2003). Les céréales en Algérie, problématique et option de réforme, *Céréaliculture* 38, 1-7.
- Rafael, J., Lopez-Bellido, G. and Lopez-Bellido, L. (2001). Effects of crop rotation and nitrogen fertilization on soil nitrate and wheat yield under rainfed Mediterranean conditions. *Agro. Sustain. Dev* 21: 509-516.
- Rahdari P, Hoseini SM, Tavakoli S, (2012). The studying effect of drought stress on germination, proline, sugar, lipid, protein and chlorophyll content in Purslane (*Portulaca oleraceae* L.) leaves. *J. of Medicinal Plants. Res.*, Vol. 6(9): 1539-1547.
- Raja, V., Majeed, U., Kang, H., Andrabi, K. I., & John, R. (2017). Abiotic stress: Interplay between ROS, hormones and MAPKs. *Environmental and Experimental Botany*, 137, 142-157.
- Rajasekar, M., Rabert, G. A., & Manivannan, P. (2015). Triazole induced changes on biochemical and antioxidant metabolism of *Zea mays* L.(Maize) under drought stress. *Journal of Plant Stress Physiology*, 1, 35-42.
- Ramesh, P. (2008). Organic Farming Research in Madhya Pradesh. *Organic Farming in Rainfed Agriculture: Opportunities and Constraints*, 12.
- Ramos, M. L. G., Parsons, R., & Sprent, J. I. (2005). Differences in ureide and amino acid content of water stressed soybean inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* and *B. elkanii*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40, 453-458.
- Ramya, K. B., & Thaakur, S. (2007). Herbs containing L-Dopa: an update. *Ancient science of life*, 27(1),

50.

- Rasool, S., Ahmad, A., Siddiqi, T. O., & Ahmad, P. (2013). Changes in growth, lipid peroxidation and some key antioxidant enzymes in chickpea genotypes under salt stress. *Acta physiologiae plantarum*, 35(4), 1039-1050.
- Reckling, M., Preissel, S., Zander, P., Topp, C. F. E., Watson, C. A., Murphy-Bokern, D., & Stoddard, F. L. (2014). Effects of legume cropping on farming and food systems. *Legume Futures Report* 1.6.
- Reddy, A. R., Chaitanya, K. V., & Vivekanandan, M. (2004). Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of plant physiology*, 161(11), 1189-1202.
- Reeves, D.W. 1997. The role of soil organic matter in maintaining soil quality in continuous cropping systems. *Soil and Tillage Research* 43: 131-167.
- Riah, N. (2015). Diversité et structure génétique des populations de *Rhizobium leguminosarum* symbiovar viciae isolées du pois (*Pisum sativum*) et de la lentille (*Lens culinaris*) cultivés dans deux zones éco-climatiques subhumide et semi-aride de l'est Algérien.
- Ricciardi, L., Polignano, G. B., & De Giovanni, C. (2001). Genotypic response of faba bean to water stress. *Euphytica*, 118(1), 39-46.
- Rinaudi, L., Fujishige, N. A., Hirsch, A. M., Banchio, E., Zorreguieta, A., & Giordano, W. (2006). Effects of nutritional and environmental conditions on Sino*Rhizobium* meliloti biofilm formation. *Research in microbiology*, 157(9), 867-875.
- Rockström, J., Steffen, W., Noone, K., Persson, Å., Chapin, F. S., Lambin, E. F., ... & Foley, J. A. (2009). A safe operating space for humanity. *nature*, 461(7263), 472-475.
- Rodríguez-Echeverría, S. (2010). Rhizobial hitchhikers from Down Under: invasional meltdown in a plant–bacteria mutualism?. *Journal of Biogeography*, 37(8), 1611-1622.
- Rovira, A. D. (1956). Plant root excretions in relation to the rhizosphere effect. *Plant and soil*, 7(2), 178-194.
- Rubiales, D., Fondevilla, S., Chen, W., Gentzbittel, L., Higgins, T. J., Castillejo, M. A., ... & Rispaill, N. (2015). Achievements and challenges in legume breeding for pest and disease resistance. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34(1-3), 195-236.
- Sadowsky, M. J. (2005). Soil stress factors influencing symbiotic nitrogen fixation. In *Nitrogen fixation in agriculture, forestry, ecology, and the environment* (pp. 89-112). Springer, Dordrecht.
- Saghafi, D., Ghorbanpour, M., & Lajayer, B. A. (2018). Efficiency of *Rhizobium* strains as plant growth promoting rhizobacteria on morpho-physiological properties of *Brassica napus* L. under salinity stress. *Journal of soil science and plant nutrition*, 18(1), 253-268.
- Saharan, B. S., & Nehra, V. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *Life Sci Med Res*, 21(1), 30.
- Saïdi, S., Chebil, S., Gtari, M., & Mhamdi, R. (2013). Characterization of root-nodule bacteria isolated from *Vicia faba* and selection of plant growth promoting isolates. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(6), 1099-1106.
- Sakamura (1918). L'origine des blés. In: Gallais A, Bannerot H eds (1992). *Amélioration des espèces végétales cultivées*. INRA Editions : 13-7 1.p23.
- Samarah, N. H. (2005). Effects of drought stress on growth and yield of barley. *Agronomy for sustainable development*, 25(1), 145-149.

Références bibliographiques

- Sanginga, N., Okogun, J., Vanlauwe, B., Dashiell, K., (2002). The contribution of nitrogen by promiscuous soybeans to maize based cropping in the moist savanna of Nigeria. *Plant Soil* 251, 1–9.
- Schultz, W. (1913). *Rätsel aus dem hellenischen Kulturkreise* (Vol. 3, No. 1). JC Hinrichs.
- Selvakumar G, Panneerselvam P, Ganeshamurthy AN (2012) Bacterial mediated alleviation of abiotic stress in crops. In: *Bacteria in agrobiolgy: Stress management*. Springer: 205-224.
- Serraj R., Sinclair T.R. (2002) Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant Cell Environ.* 25, 333–341.
- Sgherri, C. L. M., Maffei, M., & Navari-Izzo, F. (2000). Antioxidative enzymes in wheat subjected to increasing water deficit and rewatering. *Journal of Plant Physiology*, 157(3), 273-279.
- Shao, H. B., Chu, L. Y., Jaleel, C. A., & Zhao, C. X. (2008). Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *Comptes rendus biologies*, 331(3), 215-225.
- Siddique, K. H. M., Loss, S. P., Regan, K. L., & Jettner, R. L. (1999). Adaptation and seed yield of cool season grain legumes in Mediterranean environments of south-western Australia. *Australian Journal of Agricultural Research*, 50(3), 375-388.
- Siddique, M.R.B., Hamid, A., Islam, M.S., (2000). Drought stress effects on water relations of wheat. *Pakistan J. Biol. Sci.* 41, 19–444.
- Siddiqui, M. H., Khan, M. N., Mohammad, F., & Khan, M. M. A. (2008). Role of nitrogen and gibberellin (GA3) in the regulation of enzyme activities and in osmoprotectant accumulation in *Brassica juncea* L. under salt stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194(3), 214-224.
- Siddiqui, M.H., Al-Khaishany, M.Y., Al-Qutami, M.A., Al-Wahaibi, M.H., Grover, A., Ali, H.M., Al-Wahibi, M.S., Bukhari, N.A., (2015). Response of different genotypes of faba bean plant to drought stress. *Int. J. Mol. Sci.* 16, 10214–10227.
- Sieling, K., Stahl, C., Winkelmann, C., Christen, O., (2005). Growth and yield of winter wheat in the first three years of a monoculture under varying N fertilisation in NW Germany. *Eur. J. Agron.* 22, 71–84.
- Simova-Stoilova, L., Vaseva, I., Grigorova, B., Demirevska, K., Feller, U., (2010). Proteolytic activity and cysteine protease expression in wheat leaves under severe soil drought and recovery. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(2-3): 200-206.
- Singh, B. P., Cowie, A. L., & Chan, K. Y. (2011). *The nitrogen cycle: Implications for management, soil health, and climate change. Soil health and climate change (soil biology)*. Springer, Berlin Heidelberg, Berlin, Germany, 107-129.
- Singh, K., Choudhary, O. P., Singh, H. P., Singh, A., & Mishra, S. K. (2019). Sub-soiling improves productivity and economic returns of cotton-wheat cropping system. *Soil and Tillage Research*, 189, 131-139.
- Singh, S. K., Pathak, R., & Pancholy, A. (2017). Role of root nodule bacteria in improving soil fertility and growth attributes of leguminous plants under arid and semiarid environments. In *Rhizobium Biology and Biotechnology* (pp. 39-60). Springer, Cham.
- Smil, V. (2001). *Enriching the earth: Fritz Haber, Carl Bosch, and the transformation of world food production*. MIT press.
- Sofo, A., Scopa, A., Nuzzaci, M., & Vitti, A. (2015). Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(6), 13561-13578.
- Sprent, J.I., Bradford, A.M., (1977). Nitrogen fixation in field beans (*Vicia faba*) as affected by

Références bibliographiques

- population density, shading and its relationship with soil moisture 303–310.
- Stanley, N. R., & Lazazzera, B. A. (2004). Environmental signals and regulatory pathways that influence biofilm formation. *Molecular microbiology*, 52(4), 917-924.
- Stevenson FC, van Kessel C (1996) The nitrogen and non-nitrogen benefits of pea to succeeding crops. *Canadian Journal of Plant Science* 76, 735–745.
- Stoddard, F.L., Nicholas, A., Rubiales, D., Thomas, J., Villegas, A.M., (2010). Integrated pest management in faba bean. *Field Crops Res.* 115, 308–318.
- Straub, P. F., Shearer, G., Reynolds, P. H., Sawyer, S. A., & Kohl, D. H. (1997). Effect of disabling bacteroid proline catabolism on the response of soybeans to repeated drought stress. *Journal of experimental botany*, 48(6), 1299-1307.
- Subbarao G.V., Nam N.H., Chauhan Y.S., Johansen C. (2000) Osmotic adjustment, water relations and carbohydrate remobilization in pigeonpea under water deficits, *J. Plant Physiol.* 157, 651–659.
- Sultan, M. A. R. F., Hui, L., Yang, L. J., & Xian, Z. H. (2012). Assessment of drought tolerance of some *Triticum L.* species through physiological indices. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 48(4), 178-184.
- Sundermeier, A., Reeder, R. and Lal, R. (2004). Soil carbon sequestration fundamentals. Extension fact sheet. Food, Agricultural and Biological Engineering. The Ohio State University.
- Sutton M.A., Howard C.M., Erisman J.W., Billen G., Bleeker A., Grennfelt P., Van Grinsven H. et Grizzetti B. (2011). *The European Nitrogen Assessment: Sources, Effects and Policy Perspectives.* Cambridge University Press.
- Tadesse, T., Fikere, M., Legesse, T., & Parven, A. (2011). Correlation and path coefficient analysis of yield and its component in faba bean (*Vicia faba L.*) germplasm. *International Journal of Biodiversity and Conservation*, 3(8), 376-382.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Fisiologia vegetal* (Vol. 10). Universitat Jaume I.
- Takele, A. (2010). Differential responses of electrolyte leakage and pigment compositions in maize and sorghum after exposure to and recovery from pre-and post-flowering dehydration. *Agricultural Sciences in China*, 9(6), 813-824.
- Tanaka, D.L., Bauer, A., Black, A.L., (1997). Annual legume cover crops in spring wheat- fallow systems. *J. Prod. Agric.* 10, 251–255.
- Tank, N., & Saraf, M. (2010). Salinity-resistant plant growth promoting rhizobacteria ameliorates sodium chloride stress on tomato plants. *Journal of Plant Interactions*, 5(1), 51-58.
- Tardieu, F., Parent, B., Simonneau, T., (2010). Control of leaf growth by abscisic acid: hydraulic or non-hydraulic processes. *Plant Cell Environ.* 33, 636–647.
- Terpolilli, N. A., Kim, S. W., Thal, S. C., Kataoka, H., Zeisig, V., Nitzsche, B., ... & Plesnila, N. (2012). Inhalation of nitric oxide prevents ischemic brain damage in experimental stroke by selective dilatation of collateral arterioles. *Circulation research*, 110(5), 727-738.
- Tiwari, S., Lata, C., Chauhan, P.S., Nautiyal, C.S., (2016). *Pseudomonas putida* attunes morphophysiological, biochemical and molecular responses in *Cicer arietinum L.* during drought stress and recovery. *Plant Physiology and Biochemistry*, 99: 108-117.
- Toker, C., & Ilhan Cagiran, M. (2004). The use of phenotypic correlations and factor analysis in determining characters for grain yield selection in chickpea (*Cicer arietinum L.*). *Hereditas*, 140(3), 226-228.
- Trinchant, J. C., Boscari, A., Spennato, G., Van de Sype, G., & Le Rudulier, D. (2004). Proline betaine

Références bibliographiques

- accumulation and metabolism in alfalfa plants under sodium chloride stress. Exploring its compartmentalization in nodules. *Plant physiology*, 135(3), 1583-1594.
- Trinchant, J. C., Yang, Y. S., & Rigaud, J. (1998). Proline accumulation inside symbiosomes of faba bean nodules under salt stress. *Physiologia Plantarum*, 104(1), 38-49.
- Tripathy, J. N., Zhang, J., Robin, S., Nguyen, T. T., & Nguyen, H. T. (2000). QTLs for cell-membrane stability mapped in rice (*Oryza sativa* L.) under drought stress. *Theoretical and Applied Genetics*, 100(8), 1197-1202.
- Trocchi A., G.M. Borelli, P. De Vita, C. Fares, N. Di Fonzo. (2000). Durumwheatquality: A multi-disciplinary concept. *J. Cereal Sci.* 32: 99-113.
- Troll, W., & Lindsley, J. (1955). A photometric method for the determination of proline. *Journal of biological chemistry*, 215(2), 655-660.
- Trovato, M., Forlani, G., Signorelli, S., and Funck, D. (2019). "Proline metabolism and its functions in development and stress tolerance," in *Osmoprotectant- Mediated Abiotic Stress Tolerance in Plants: Recent Advances and Future Perspectives*, eds
- Turner, N. C. (2004). Sustainable production of crops and pastures under drought in a Mediterranean environment. *Annals of Applied Biology*, 144(2), 139-147.
- Turner, N. C., Wright, G. C., & Siddique, K. H. M. (2001). Adaptation of grain legumes (pulses) to water-limited environments.
- Udvardi, M., & Poole, P. S. (2013). Transport and metabolism in legume-rhizobia symbioses. *Annual review of plant biology*, 64, 781-805.
- Ullah, S., Khan, M.Y., Asghar, H.N., Akhtar, M.J., Zahir, Z.A., (2017). Differential response of single and co-inoculation of *Rhizobium leguminosarum* and *MesoRhizobium ciceri* for inducing water deficit stress tolerance in wheat. *Annals of Microbiology*, 67(11): 739-749.
- Ulukan, H., Guler, M., & Keskin, S. D. D. K. (2003). A path coefficient analysis some yield and yield components in faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes. *Pakistan Journal of Biological Sciences (Pakistan)*.
- Varvel, G. E. (2000). Crop rotation and nitrogen effects on normalized grain yields in a long-term study.
- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant science*, 151(1), 59-66.
- Venkateswarlu, B., & Shanker, A. K. (2009). Climate change and agriculture: adaptation and mitigation strategies. *Indian Journal of Agronomy*, 54(2), 226-230.
- Verslues, P. E., Kim, Y. S., & Zhu, J. K. (2007). Altered ABA, proline and hydrogen peroxide in an *Arabidopsis* glutamate: glyoxylate aminotransferase mutant. *Plant molecular biology*, 64(1), 205-217.
- Vidal-Valverde C., Frias J., Sotomayor C., Diaz-Pollan C., Fernandez M., Urbano G. (1998). Nutrients and antinutritional factors in faba beans as affected by processing. *Z Lebensm Unters Forsch A* 207(2):140-5.
- Vincent, J.M., (1982). Nitrogen fixation in legumes.
- Vurukonda, S. S. K. P., Vardharajula, S., Shrivastava, M., & SkZ, A. (2016). Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological research*, 184, 13-24.
- Wadisirisuk, P., Danso, S. K. A., Hardarson, G., & Bowen, G. D. (1989). Influence of *Bradyrhizobium japonicum* location and movement on nodulation and nitrogen fixation in soybeans. *Applied and*

- environmental microbiology*, 55(7), 1711-1716.
- Wahid A., Close T.J. (2007) Expression of dehydrins under heat stress and their relationship with water relations of sugarcane leaves, *Biol. Plantarum* 51, 104–109.
- Wahid, A., Rasul, E., Rao, R., & Iqbal, R. (2005). Photosynthesis in leaf, stem, flower and fruit. *Handbook of photosynthesis*, 2, 479-497.
- Wang, Y., Zhang, Z., Zhang, P., Cao, Y., Hu, T., & Yang, P. (2016). *Rhizobium* symbiosis contribution to short-term salt stress tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant and soil*, 402(1), 247-261.
- Werner, G. D., Strassmann, J. E., Ivens, A. B., Engelmoer, D. J., Verbruggen, E., Queller, D. C., ... & Kiers, E. T. (2014). Evolution of microbial markets. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(4), 1237-1244.
- Wery J, Ahlawat IPS (2007) Analysing and improving the role of grain legumes in cropping system's sustainability: a system approach illustrated on chickpea in India and Europe. *Proceeding of The Forth International Food Legumes Research Conference (IFLRC-IV)*, New Delhi, India
- Wilkinson, S., & Davies, W. J. (2002). ABA-based chemical signalling: the co-ordination of responses to stress in plants. *Plant, cell & environment*, 25(2), 195-210.
- Wright AT (1990) Yield effects of pulses on subsequent cereal crops in the northern prairies. *Canadian Journal of Plant Science* 70, 1023–1032.
- Wu, Q. S., Zou, Y. N., & Xia, R. X. (2006). Effects of water stress and arbuscular mycorrhizal fungi on reactive oxygen metabolism and antioxidant production by citrus (*Citrus tangerine*) roots. *European Journal of Soil Biology*, 42(3), 166-172.
- Xiang, D. B., Peng, L. X., Zhao, J. L., Zou, L., Zhao, G., & Song, C. (2013). Effect of drought stress on yield, chlorophyll contents and photosynthesis in tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*). *J. Food Agric. Environ*, 11, 1358-1363.
- Xiong L, Zhu J: (2002); Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. *Plant Cell Environ*. 25(2): 131–9.
- Yamane, K., Mitsuya, S., Kawasaki, M., Taniguchi, M., & Miyake, H. (2009). Antioxidant capacity and damages caused by salinity stress in apical and basal regions of rice [*Oryza sativa*] leaf. *Plant Production Science (Japan)*.
- Yang, J., Kloepper, J. W., & Ryu, C. M. (2009). Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in plant science*, 14(1), 1-4.
- Yang, Y., Han, C., Liu, Q., Lin, B., & Wang, J. (2008). Effect of drought and low light on growth and enzymatic antioxidant system of *Picea asperata* seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(4), 433-440.
- Yanni, Y. G., Rizk, R. Y., Corich, V., Squartini, A., Ninke, K., Philip-Hollingsworth, S., ... & Dazzo, F. B. (1997). Natural endophytic association between *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* and rice roots and assessment of its potential to promote rice growth. In *Opportunities for biological nitrogen fixation in rice and other non-legumes* (pp. 99-114). Springer, Dordrecht.
- Yue, C., Cao, H.L., Wang, L., Zhou, Y.H., Huang, Y.T., Hao, X.Y., Wang, Y.C., Wang, B., Yang, Y.J., Wang, X.C., (August 2015). Effects of cold acclimation on sugar metabolism and sugar-related gene expression in tea plant during the winter season. *Plant Mol. Biol*. 88 (6), 591–608.
- Zahran, H. H. (1999). *Rhizobium*-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. *Microbiology and molecular biology reviews*, 63(4), 968-989.
- Zaim, S., Bekkar, A. A., & Belabid, L. (2017). *Rhizobium* as a crop enhancer and biofertilizer for increased non-legume production. In *Rhizobium biology and biotechnology* (pp. 25-37). Springer,

Références bibliographiques

Cham.

- Zander P, Amjath-Babu TS, Preissel S, Reckling M, Bues A, Schläfke N, Kuhlman T, Bachinger J, Uthes S, Stoddard F, Murphy-Bokern D (2016) Grain legume decline and potential recovery in European agriculture: a review. *Agron Sustain Dev* 36(2):26
- Zarik, L., Meddich, A., Hijri, M., Hafidi, M., Ouammou, A., Ouahmane, L.R., Duponnois, A., Boumezzough, (2016). Use of arbuscular mycorrhizal fungi to improve the drought tolerance of *Cupressus atlantica* G. *Comptes Rendus Biologies*, 339(5-6): 185-196.
- Zeid, I. M., & Shedeed, Z. A. (2006). Response of alfalfa to putrescine treatment under drought stress. *Biologia Plantarum*, 50(4), 635-640.
- Zhan, H.X., Chang, Z.J., Wei, A.L., Zhang, X.J., Li, X., (2011). Impact of drought to wheat physiological index. *J. Shanxi Agric. Sci.*, 39: 1049-1051.
- Zhang, Y., Zhong, C. L., Chen, Y., Chen, Z., Jiang, Q. B., Wu, C., & Pinyopusarek, K. (2010). Improving drought tolerance of *Casuarina equisetifolia* seedlings by arbuscular mycorrhizas under glasshouse conditions. *New Forests*, 40(3), 261-271.
- Zlatev, Z. S., Lidon, F. C., Ramalho, J. C., & Yordanov, I. T. (2006). Comparison of resistance to drought of three bean cultivars. *Biologia Plantarum*, 50(3), 389-394.
- Zong, X., Liu, X., Guan, J., Wang, S., Liu, Q., Paull, J. G., et al. (2009). Molecular variation among Chinese and global winter faba bean germplasm. *Theor. Appl. Genet.* 118, 971–978.
- Zong, X., Ren, J., Guan, J., Wang, S., Liu, Q., Paull, J., and Redden, R. (2010). Molecular variation among Chinese and global germplasm in spring faba bean areas. *Plant Breed.* 129, 508–513.
- Zou, L., Yli-Halla, M., Stoddard, F. L., and Mäkelä, P. S. A. (2015). Effects of break crops on yield and grain protein concentration of barley in a boreal climate. *PLoS One* 10:e0130765.

Nom : AMINE-KHODJA

Soutenue le : 28/09/2022

Prénom : Ihsein Rokia

Thèse Présentée en Vue de l'Obtention du Diplôme de Doctorat
3ème cycle

Spécialité : Biotechnologie végétale et environnement- Biologie et génomique végétale

Thème : Mécanismes de tolérance de la symbiose fève-rhizobium au déficit hydrique - Sélection des associations performantes et impact sur les cultures céréalières en rotation.

Résumé

Les ressources naturelles de la planète ont été surexploitées afin de répondre à la population humaine croissante, conduisant à une perte importante de biodiversité, un changement climatique et une perturbation du cycle de l'azote. Dès lors, le déficit hydrique est devenu l'une des contraintes les plus incontrôlées et les plus imprévisibles de la production agricole. Par ailleurs, les micro-organismes du sol sont connus pour leur capacité d'atténuer le stress abiotique et de favoriser le développement des plantes seraient des outils très précieux pour l'agriculture durable dans l'ère du changement climatique. A cette fin, le présent travail visait à évaluer en premier lieu les impacts de deux souches différentes de *Rhizobium leguminosarum* (3841 et OL13) sur l'induction de la tolérance terminale à la sécheresse chez deux génotypes de *Vicia faba*, Aquadulce (AQD) et Maltais (MLT) cultivés en Algérie. En second lieu, l'effet PGPR (rhizobactéries favorisant la croissance des plantes) de ces deux souches a été évalué pour deux variétés de *Triticum durum*, Waha (WH) et Oued zenati (OZ) sous déficit hydrique. À cette fin, nous avons mesuré des paramètres morphologiques, physiologiques, accumulation d'osmoprotectants, marqueurs de stress oxydatif et activités enzymatiques pour évaluer l'effet de l'inoculation de *R. leguminosarum* sur *V. faba* et *T. durum* dans des conditions de déficit hydrique terminale lors d'essais en serre. D'une part, la régulation à la hausse des mécanismes antioxydants et la production de solutés compatibles chez *V. faba* ont été activées différemment selon la souche de *Rhizobium*. La tolérance au déficit hydrique de la variété Maltais a été améliorée en utilisant la souche de *Rhizobium* locale OL13 par rapport à la souche commune 3841. La symbiose avec la souche OL13 conduit notamment à une bien meilleure production de proline et de sucre soluble dans les nodosités mais aussi dans les racines et les feuilles du génotype Maltais. D'autre part, les plantes de blé dur inoculées ont également enregistrées une meilleure teneur relative en eau, une augmentation de l'accumulation d'osmoprotectant et des réponses antioxydantes (peroxydase), et une diminution de l'accumulation de marqueurs de stress oxydatif similaires pour les deux souches de *Rhizobium*, par rapport aux plantes non inoculées. Cependant, sous déficit hydrique, la co-inoculation par les deux souches de *Rhizobium* a grandement amélioré ces paramètres en comparaison avec la simple inoculation pour l'un des génotypes étudiés (OZ), ce qui nous laisse supposer que cette variation de réactivité indique un effet génotype possible. Au total, même si des travaux supplémentaires sont encore nécessaires pour décrypter le mécanisme par lequel une souche de *Rhizobium* peut affecter l'accumulation d'osmoprotectants ou le statut redox cellulaire dans toutes les plantes, l'inoculation avec des souches de *Rhizobium* sélectionnées pourrait être une stratégie écologique prometteuse pour améliorer la gestion du déficit hydrique à l'ère de changement climatique pour les légumineuses ainsi que pour les céréales.

Mots clés : *Vicia faba* L. ; *Triticum durum*, *Rhizobium leguminosarum* ; déficit hydrique ; symbiose ; activités enzymatiques antioxydantes ; osmoprotectants.

Laboratoire de recherche : laboratoire de Génétique Végétale, Biochimie et Biotechnologie

Jury d'évaluation :

Présidente :	Pr. Nadia YKHLEF	Université des Frères Mentouri Constantine I
Directeur de thèse :	Pr. Abdelhamid DJEKOUN	Université des Frères Mentouri Constantine I
Co-directeur de thèse :	Dr. Alexandre BOSCARI	Chargé de recherche INRA, Sophia-Antipolis, Nice
Examineur :	Pr. Ratiba BOUSBAA	Université des Frères Mentouri Constantine I
Examineur :	Dr. Abdelkader BENBELKACEM	Directeur de recherche INRA Constantine
Examineur :	Pr. Amar BENMAHAMED	Professeur Université Ferhat Abbas Sétif