

**Université Abderrahmane Mira de Bejaia**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la vie**  
**Département des sciences Biologiques de l'Environnement**

Mémoire de fin de cycle en vue d'obtention du diplôme de  
Master en Environnement et Sécurité Alimentaire

## Thème

**Etude de l'effet de l'inoculation de la  
féverole (*Vicia faba* L.) par *Rhizobium*  
*leguminosarum* au champ**

### **Membres de Jury :**

Président :	M <sup>r</sup> BOULILA A/G.	Maître Assistant A
Promoteur :	M <sup>r</sup> RAMDANI N.	Maître Assistant A
Co promoteur :	M <sup>r</sup> AIT MEZIANE M/Z.	Chargé d'études à INRA A
Examineurs :	M <sup>r</sup> HAMLET M.	Maître Assistant A
	M <sup>r</sup> AISSAT L.	Maître Assistant B

### **Présenté par :**

M<sup>r</sup> DJABALI Omar  
M<sup>r</sup> ZEBBOUDJI Mouloud

*Promotion 2011/2012*

## **Remerciements**

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos vifs remerciements à notre promoteur M<sup>r</sup> RAMDANI, pour son encadrement, son soutien et son aide. Nous restons reconnaissants pour ses conseils éclairés et ses encouragements tout au long de la réalisation de ce travail. Également nous vous remercions pour votre humeur et humour chaque jour, et votre disponibilité quasi quotidienne.*

*Nos remerciements s'adressent également à notre Co promoteur M<sup>r</sup> AIT MEZIANE pour son aide et ses conseils tout au long de ce travail.*

*Nous tenons à remercier vivement les membres du jury d'avoir consacré de leur temps à la lecture de ce mémoire, et d'accepter de juger et d'évaluer ce travail en l'occurrence messieurs : BOULLLA, HAMELAT et AISSAT.*

*Nos remerciements vont également à M<sup>r</sup> TARAJKT, directeur l'INRA Oued Ghir pour sa collaboration, ainsi à tout le personnel de la station.*

*Nos remerciements s'adressent également aux personnels du laboratoire, M<sup>me</sup> RAMDANI et M<sup>me</sup> ZIANE. D., pour avoir mis à notre disposition le matériel et les moyens nécessaires à la réalisation de ce travail.*

*Nos désirons aussi témoigner notre reconnaissance à M<sup>r</sup> BELHADI, M<sup>r</sup> SAHNOUNE ainsi M<sup>r</sup> BEGDOUCHE pour leurs aides.*

*Nos remerciements s'adressent également à tous ceux qui nous ont aidés de loin et de près à réaliser ce travail.*

## *DEDICACES*

*Je dédie ce modeste travail*

*A la mémoire de ma chère grand mère, mon oncle et ma cousine que  
Dieu les accueille dans son vaste paradis.*

*À mes parents que dieu les protèges.*

*À toute la famille Zebboudji et la famille Deflaoui*

*À tous mes amis sans exception.*

*Mouloud. Z*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail*

*À mes très chers parents*

*À toute ma famille*

*À tous mes amis*

*À tous ceux qui me sont chers*

*Omar.DJ*

## Liste des figures

Numéro	Titres	Page
Figure 01	caractéristiques botaniques d'une plante de féverole ( <i>Vicia faba</i> L.)	5
Figure 02	Cycle de l'azote	12
Figure 03	Schéma descriptif de la fixation de l'azote dans l'écosystème terrestre	13
Figure 04	Echange des signaux entre rhizobiums-légumineuses	15
Figure 05	Les étapes de développement d'un nodule dans une racine	16
Figure 06	Fixation de l'azote par le complexe Nitrogénase	17
Figure 07	Image satellite de la station de l'INRA de Oued-Ghir Bejaïa	21
Figure 08	Pluviométrie (A) et température minimale et maximale (B) mensuelle dans la station INRA Oued- Ghir de Bejaïa durant la période expérimentale	22
Figure 09	Les graines de la féverole ( <i>Vicia faba</i> L.)	24
Figure 10	Histogramme de distribution pondérale des graines de féveroles	25
Figure 11	Test de germination	26
Figure 12	Les graines de féverole : (A) enrobées et (B) non enrobées	27
Figure 13	Schéma du dispositif expérimental utilisé pour l'essai d'inoculation	28
Figure 14	Photo de la parcelle utilisée pour l'essai d'inoculation	28
Figure 15	Les dimensions d'une micro-parcelle et espacement entre les graines de féverole	29
Figure 16	Evolution de la hauteur des tiges chez <i>Vicia faba</i> L.	33
Figure 17	Effet de l'inoculation sur la floraison	34
Figure 18	Evolution du nombre de gousses chez <i>Vicia faba</i> L.	35
Figure 19	Morphologie des racines et des nodules des plantes de <i>Vicia faba</i> L. aux différents traitements	37
Figure 20	Effet d'inoculation de <i>R.leguminosarum</i> sur les poids frais et secs nodulaires des plantes de <i>Vicia faba</i> L.	38
Figure 21	Effet d'inoculation de <i>R.leguminosarum</i> sur le poids frais et les poids secs des parties aériennes des plantes de <i>Vicia faba</i> L.	39
Figure 22	L'effet d'inoculation de <i>R.leguminosarum</i> sur la teneur en azote nodulaire (N) et des parties aériennes (Pa) des plantes de <i>Vicia faba</i> L.	40

## Liste des tableaux

Numéro	Titres	Page
Tableau I	Classification des légumineuses	3
Tableau II	Le nombre d'espèces du genre <i>Rhizobia</i> découvert	10
Tableau III	Classification des organismes fixateurs de l'azote atmosphérique	14
Tableau IV	Les résultats d'analyse physico-chimique du sol	32
Tableau V	Effet de l'inoculation par <i>R.leguminosarum</i> sur la hauteur des tiges, le nombre de nœuds, de gousses et de graines chez <i>Vicia faba</i> L.	35

# Sommaire

## Liste des figures

## Liste des tableaux

## Introduction ..... 1

### Chapitre I : Synthèse bibliographique

#### 1- Légumineuses ..... 2

1-1 Généralités ..... 2

1-2 Caractéristiques botaniques ..... 2

1-3 Classification ..... 3

1-3-1 Mimosacées (*Mimosoideae*) ..... 3

1-3-2 Césalpiniacées (*Cesalpinoideae*) ..... 3

1-3-3 Papillonacées (*Papillonideae*) ..... 3

1-4 Plante étudiée : *Vicia faba* L. .... 4

1-4-1 Caractères botaniques ..... 4

1-4-2 Caractères cultureux ..... 4

1-5 La place des légumineuses en Algérie ..... 6

1-6 Intérêt des légumineuses ..... 6

1-6-1 Intérêt nutritionnel ..... 6

1-6-2 Intérêt économique ..... 7

1-6-3 Intérêt agro-environnemental ..... 7

#### 2-Bactéries Nodulant les Légumineuses (BNL ou Rhizobia) ..... 9

2-1 Généralités ..... 9

2-1-1 Historique ..... 9

2-1-2 Classification ..... 10

2-1-3 *Rhizobium leguminosarum* ..... 10

2-2 Cycle d'azote ..... 11

---

2-2-1 Fixation biologique de l'azote atmosphérique .....	12
2-2-2 Classification des organismes diazotrophes .....	13
2-3 Symbiose Rhizobia-légumineuse .....	14
2-3-1 Etapes de la nodulation .....	15
2-3-2 Nitrogénase.....	17
<b>3-Inoculation .....</b>	<b>19</b>
3-1 Historique .....	19
3-2 Pratique de l'inoculation .....	19
3-3 Objectifs de l'inoculation .....	20
3-4 Nécessité de l'inoculation .....	20

## Chapitre II : Matériel et méthodes

<b>1-Description du site d'étude.....</b>	<b>21</b>
1-1 Données climatiques .....	22
<b>2- Sol... ..</b>	<b>23</b>
2-1 Couleur du sol .....	23
2-2 Mesure du pH du sol .....	23
2-3 Dosage du calcaire total .....	23
2-4 Dosage du calcaire actif .....	23
2-5 Dosage de carbone organique .....	23
2-6 Dosage de l'azote total .....	24
2-7 Analyse granulométrique du sol .....	24
<b>3-Matériel végétal .....</b>	<b>24</b>
3-1 Préparation des graines .....	25
3-2 Test de germination .....	25
<b>4-Matériel bactérien .....</b>	<b>26</b>



---

<b>5-Etude de l'effet de l'inoculation par <i>Rhizobium leguminosarum</i> sur la féverole (<i>Vicia faba</i> L.)</b> .....	26
5-1 Bactérisation des graines .....	26
5-2 Dispositif expérimental .....	27
5-3 Semis .....	29
5-4 Suivi du développement de la culture .....	29
5-5 Paramètres mesurés .....	29
5-6 Traitement et analyse des données .....	30

### **Chapitre III : Résultats et discussion**

<b>1-Caractérisation physico-chimique du sol</b> .....	32
<b>2-Effet de l'inoculation de <i>Rhizobium leguminosarum</i> sur la féverole</b> .....	33
2-1 Effet de l'inoculation sur l'évolution de la croissance de la féverole .....	33
2-2 Effet de l'inoculation sur les paramètres du rendement .....	35
2-3 Effet de l'inoculation sur les paramètres destructifs de la féverole .....	36
2-3-1 Nodulation .....	36
2-3-2 Poids frais et secs des nodules .....	37
2-3-3 Poids frais et secs des parties aériennes .....	39
2-3-4 Teneurs en azote des parties aériennes et nodulaires .....	39
<b>Conclusion</b> .....	41
<b>Références bibliographiques</b> .....	42

**Annexes**

**Résumé**

## Introduction

L'agriculture du XXI<sup>ème</sup> siècle serait confrontée à un défi dont l'enjeu est majeur, car il faudra concilier les nécessités d'une agriculture productive, compétitive et de qualité, la protection et l'amélioration de la qualité des sols, des eaux et de l'atmosphère. L'activité agricole se situe en effet à ce carrefour (Lemaire et Nicolardot, 1997).

Parmi ces défis, est de réduire au maximum l'utilisation des éléments fertilisants d'origine chimique ; car l'agriculture conventionnelle utilise énormément les engrais de synthèse notamment l'azote. Or, l'utilisation excessif d'engrais azoté est une source de pollution qui touche les nappes phréatiques, l'eutrophisation des eaux de surface et provoque aussi des maladies cancérigènes surtout pour ses utilisateurs.

Après l'eau, l'azote est l'élément constitutif le plus important des végétaux. Il est fréquemment le facteur clé de la production agricole car la concentration des formes d'azote assimilables dans le sol est souvent limitant pour la croissance des plantes. L'azote moléculaire ( $N_2$ ), constitue une majeure partie de l'atmosphère mais chimiquement inerte, ne peut être utilisé que par certains micro-organismes procaryotes appelés fixateurs de  $N_2$ .

Environ 175 millions de tonnes d'azote atmosphérique sont réintroduits annuellement dans le cycle de la vie par la fixation biologique. Par comparaison, les engrais azotés utilisés en agriculture correspondent à environ 40 millions de tonnes d'azote par an (Watkins, 2008).

En absence de fertilisation, la fixation d'azote atmosphérique ( $N_2$ ) est pratiquement la seule source d'azote permettant de maintenir la fertilité naturelle du sol. En raison de ce type d'avantage, une attention particulière doit être accordée à la fixation biologique de l'azote au moyen de l'utilisation d'associations légumineuses-*Rhizobium*. En effet l'association des légumineuses avec les bactéries symbiotique enrichit le sol en composé azoté et pouvant être mis à profit par les cultures suivantes.

L'objectif du présent travail rentre dans le cadre de l'amélioration de la production des légumineuses alimentaires et leur utilisation en tant que bio fertilisants.

À cet effet, nous avons mené un essai au champ dans le but d'évaluer l'effet de l'inoculation de la féverole (*Vicia faba* L.) par une souche locale de *Rhizobium leguminosarum*.

## 1- LEGUMINEUSES

### 1-1 Généralités

Les légumineuses ou fabacées ont été cultivées dans les régions d'origine méditerranéenne puis dans les pays tempérés du monde. Les légumineuses avec plus de 17000 espèces répandues dans le monde entier sont, après les *Astéracées*, la seconde famille des Phanérogames (Guignard, 2000).

La spécificité de la famille des légumineuses est leur aptitude à fixer l'azote atmosphérique en symbiose avec les microorganismes du sol (Ben-Friha, 2008).

Les propriétés agronomiques et alimentaires des légumineuses sont connues depuis plus de 2000 ans (Cavaillès, 2009).

L'enrichissement du sol par les légumineuses était déjà connus des Romains qui avaient mis au point la technique de rotation des cultures (Guignard, 2000).

### 1-2 Caractéristiques botaniques

Les légumineuses appartiennent à l'ordre des rosales, dont elles représentent la famille la plus évoluée ; elles se situent dans le prolongement des rosacées auxquelles elles ressemblent par les conformations du réceptacle. Elles se distinguent par leurs caractères plus spécialisés, en particulier :

- La zygomorphie des fleurs (ce dit d'une fleur dont la symétrie n'est pas axiale, le plus souvent bilatérale) ;
- La réduction du nombre des carpelles ;
- Les prédominances des feuilles composées ;
- Les présences des nodosités racinaires (Laumonier, 1979).

La grande famille des fabacées doit son unité à son fruit appelé les gousses ou légumes, d'où le nom des légumineuses sous lequel cette famille est plus connue (Ozenda, 2000).

Fabacées (légumineuses), se trouvent sous forme de plantes herbacées, arbuste, arbre ou plantes grimpantes (Judd et *al.*, 2002).

### 1-3 Classification

Selon Judd et *al.* (2002), la famille des légumineuses comprend plus de 17000 espèces et se subdivise en trois sous-familles : les Mimosacées, les Césalpiniacées et les Papilionacées (tableau I).

#### 1-3-1 Mimosacées (*Mimosoideae*)

Ce sont des plantes à fleurs a peu près régulières, plus évoluées et forment des nodosités (Skermane, 1982). Cette sous famille contient approximativement 2700 espèces et 150 genres. Elles renferment essentiellement des arbres, des arbustes et des herbes repartis dans toutes les régions tropicales et subtropicales (Räsänen, 2002).

#### 1-3-2 Césalpiniacées (*Cesalpinioideae*)

Ce sont des plantes à fleurs régulières, elles sont considérées comme un groupe primitif (Skermane, 1982). Cette sous famille contient approximativement 2500 espèces et environ 40 genres. Ce sont principalement des arbres de savanes des forets tropicales de l’Afrique, de l’Amérique du sud et de l’Asie du sud (Räsänen, 2002).

#### 1-3-3 Papilionacées (*Papillonideae*)

Cette sous famille est la plus abandante, elle renferme plus de 12600 espèces dans 429 genres (Judd et *al.*, 2002). Se sont principalement des plantes herbacées, vivaces ou annuelles et sont largement distribuées dans le monde (Räsänen, 2002).

**Tableau I** : Classification des légumineuses selon Judd et *al.*, 2002.

	Mimosacées	Césalpiniacées	Papilionacées
Genres /Espèces	150/2700	40/2500	429/12615
Principaux genres	Acacia, Albizia, Calliondra, Inga, Leucaena, Mimosa, Parkia, Pithocellibium	Bouhinia, Caesalpinia, Cussia, Chamaecrista, Cercis, Delomia, Cledistia, Parkinsomia, Sonna, Tamaraindus	Arachis, Astragalus, Baptisia, Crotalaria, Desmodium, Glycine, Indegofera, Lupinus, Melilotus, Phaseolus, Pisum, Vicia, Robinia, Tephrosia, Trifolium, Wistria

## 1-4 Plante étudiée : *Vicia faba* L.

*Vicia faba* L. est une légumineuse dont la culture est d'origine méditerranéenne, même si la progéniture et l'origine sauvages de la fève restent inconnues (Shamseldine et al., 2009). C'est une espèce appartenant à la grande famille des papilionacées, du genre *Vicia* et de la sous espèce *eu faba* L. Selon Muratova (1931) et Moule (1972), on distingue trois variétés botaniques :

- *Vicia faba* L. *minor*, fève à grains petits ;
- *Vicia faba* L. *equina*, fève à grains moyens (1 g au maximum);
- *Vicia faba* L. *major*, fève à gros grains de plus de 1 g.

### 1-4-1 Caractères botaniques

C'est une plante annuelle, herbacées à tige quadrangulaire, à racine pivotante portant des nodosités renfermant la bactérie spécifique fixatrice de l'azote atmosphérique (Laumonier, 1979) (figure1).

- La feuille composée de folioles à la base de la tige.
- La tige présente un nombre variable (5 à 10) de nœuds végétatifs à sa base.
- Les fleurs classiques des légumineuses sont portées aux aisselles des nœuds (Benachour, 2008).
- Les fruits sont des gousses contenant de 3 à 12 grains (Gallais et al., 1992).

### 1-4-2 Caractères culturaux

#### ✓ La température

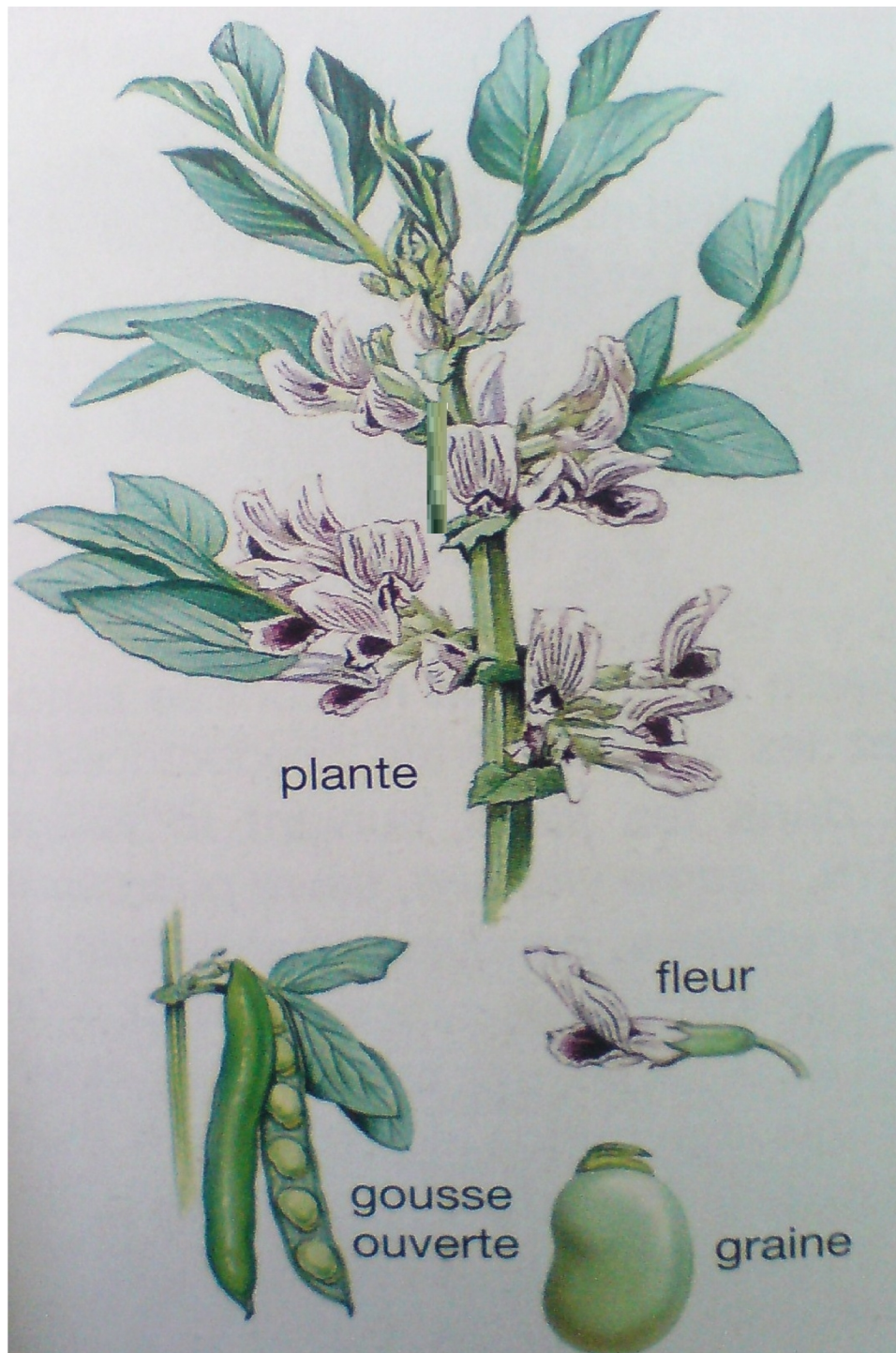
La fève présente des exigences thermiques plus faibles que celle d'autres légumineuses (haricots et pois), la plantule résiste assez bien à des gelées tardives de (-5°C).

#### ✓ L'eau

La fève est très sensible à la sécheresse, elle demande une bonne alimentation en eau tout au long de sa végétation particulièrement durant la phase « début de floraison » (Boussard, 1943).

#### ✓ exigences agro-pédologiques

Compte tenu de ses exigences en eau, la fève a une préférence marquée pour les sols argileux riches en humus (Moule, 1972).



**Figure 1:** Caractéristiques botaniques d'une plante de féverole (*Vicia faba* L.).

(Larousse agricole, 2002)

## 1-5 La place des légumineuses en Algérie

En Algérie, les légumineuses alimentaires constituent après les céréales, la seconde source de protéines pour l'alimentation humaine (Zaghouan, 1991 ; Sellami et Bousnina, 1996).

Par rapport à l'ensemble des grandes cultures, les légumineuses alimentaires en Algérie ont toujours occupé, sur le plan de la superficie, le troisième rang après les céréales et les fourrages :

➤ Céréales	3.000.000 ha
➤ Fourrages	500.000 ha
➤ Légumineuses alimentaires	102.000 ha

Les cultures de légumineuses alimentaires les plus pratiquées durant la période 1986-1996 sont réparties ainsi par espèce (Maatougui, 1999).

➤ Fève et féverole	48.595 ha
➤ Pois-chiche	39.672 ha
➤ Pois sec	10.757 ha
➤ Lentille	1.665 ha
➤ Haricot	940 ha

En Algérie, la fève est cultivée sur les plaines côtières, les plaines sub-littorales, des zones sub-sahariennes (Ouffroukhe et Aggag, 1996). Elle constitue la plus importante culture parmi les légumineuses alimentaires à gousse et dépasse largement la production du pois sec (Maatougui, 1996). La faible production nationale est due essentiellement au très bas rendement (4,8 qx /ha). La superficie moyenne nationale réservée annuellement aux légumineuses alimentaires est de 102.000 ha représentant ainsi 1,5% de la SAU (surface agricole utile) (Maatougui, 1998).

## 1-6 Intérêt des légumineuses

### 1-6-1 Intérêt nutritionnel

#### - Dans l'alimentation humaine

Les légumineuses à graines constituent toujours une part importante de l'alimentation du monde, particulièrement dans les pays en développement où elles sont la principale source de protéines pour l'homme. Citons le Haricot (*Phaseolus vulgaris*) en Amérique Latine, le Pois Chiche (*Cicer arietinum*), la lentille (*Lens culinaris*) et la Fève (*Vicia faba*) dans le bassin méditerranéen, le Soja

(*Glycine max*) en Asie sans oublier l'Arachide (*Arrachis hypogea*) et le Pois (*Pisum sativum*) dans le monde entier (Ben Friha, 2008).

Les graines des protéagineux présentent des caractéristiques intéressantes sur le plan nutritionnel et sur la santé quant elles sont consommées directement par l'homme (Duc et al., 2010).

- ***Dans l'alimentation animale***

Les légumineuses fourragères sont exploitées pour leur partie aérienne riche en protéines et sont essentiellement destinées à l'alimentation animale (Duc et al., 2010) dont on trouve certains genres tels que : *Medicago* (la luzerne), *Mililotus* (le melilot), *Trifolium* (trèfle) et *Vicia* (vesce).

Parmi les protéagineux potentiellement utilisables par la volaille, seul le pois a pu trouver sa place dans les formules alimentaires (Lessine et al., 2005), même si les fèves sont aussi riches en protéines, leurs utilisations dans l'alimentation de volaille reste insuffisante (Crépon et al., 2010) à cause de leurs teneurs en certains constituants tels que les tannins, la vicine et la convicine qui ont des effets antinutritionnels pour les animaux monogastriques (Vilarinos et al., 2008). Mais la fèverole peut remplacer une partie de certains aliments tel que le tourteau du soja utilisé dans l'alimentation de la volaille (Métayer et al., 2003).

**1-6-2 Intérêt économique**

Les légumineuses assurent une bonne partie de leur nutrition azotée grâce à la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique (Labdi, 1991 ; Beck, 1992). Donc elles n'ont pas besoin d'apport d'engrais azotés supplémentaires, exemple dans le cas du pois-chiche d'hiver qui arrive à fixer 40kg d'azote/ha/an, soit l'équivalent de 2 quintaux de sulfate d'ammonium (importés) et d'une économie de 5000DA/ha/an (Maatougui, 1999).

Des espèces ornementales se rencontrent dans le genre *Acacia*, *Albizia*, *Bauhinia*, *Cytus*. Des gommés et des résines d'intérêt commercial sont extraites d'*Acacia* et d'*Hymenea ; indigofera* (indigo) utilisé comme colorant bleue (Judd et al., 2002).

**1-6-3 Intérêt agro-environnemental**

Les légumineuses fourragères et à graines ont joué un rôle historique important dans la naissance de l'agriculture (Duc et al., 2010). Les légumineuses fixatrices d'azote atmosphérique, ont un grand rôle à jouer en tant que culture alimentaire et en tant que précédent garant de la stabilité et de la durabilité d'une production céréalière (Maatougui, 1996).



La culture des légumineuses alimentaires améliore durablement la performance des systèmes de production (Malki, 1999). Les légumineuses sont une source d'engrais organique et biologique pour les régions arides Algériennes (Chafi et Ben Soltane, 2009). Les travaux récents en particuliers au Canada et en Europe, ont montré que la fixation symbiotique de l'azote ne contribue pas à l'émission de protoxyde d'azote (N<sub>2</sub>O) qui est un puissant gaz à effet de serre, beaucoup plus généré par les fertilisants chimiques (Duc et *al.*, 2010).

Certaines légumineuses associées avec des Rhizobia indigènes, peuvent complètement remplacer la fertilisation par l'azote chimique (Mulas et *al.*, 2011). Les légumineuses non cultivées, en plus de leur contribution à la fixation symbiotique de l'azote, constituent un potentiel de reforestation et de contrôle de l'érosion des sols. Des associations symbiotiques avec ces légumineuses peuvent même fournir un couvert végétal pour les terres dégradées (Ben Friha, 2008).

## 2- BACTERIES NODULANT LES LEGUMINEUSES (BNL ou RHIZOBIA)

### 2-1 Généralités

Bien que l'atmosphère soit composée en majeure partie de l'azote (80% de N<sub>2</sub>), ce gaz inerte reste inutilisable par la plupart des êtres (Genève, 1990). Mais il y a certaines plantes telles que les légumineuses qui peuvent acquérir l'azote atmosphérique grâce à leur aptitude à établir une symbiose avec des bactéries du sol (Coutinho et *al.*, 1999). L'interaction bactérie- plante forme des nodules au niveau des racines (Mazur et *al.*, 2011 ; Aserse et *al.*, 2012). Ces bactéries nodulant les légumineuses sont connues sous le nom de « Rhizobia » (Fleischman et Kramer, 1998).

Les Rhizobia sont des bactéries Gram négatif, responsables de la nodulation des légumineuses, vivent dans le sol sous forme des bâtonnets mobiles. Bien que leur morphologie soit pratiquement la même, mais elles relèvent d'espèces différentes (Genevè, 1990 ; Laguerre et *al.*, 1994).

Deux groupes de Rhizobia, le premier comporte les Rhizobiums à croissance rapide qui produisent une turbidité dans le milieu liquide en 2-3 jours et une vitesse de dédoublement chaque 2-4 h. Le deuxième est le groupe des Rhizobia à croissance lente, ce sont les Bradyrhizobiums. Ils produisent une turbidité dans le milieu liquide dans 3-5 jours et ils ont une vitesse de dédoublement de 6-8 h (Willems, 2006).

#### 2-1-1 Historique

Vers la fin du 19<sup>ème</sup> siècle, Beijerinck (1888) réalise que l'azote atmosphérique est assimilé par les nodules racinaires des légumineuses (Rogel et *al.*, 2011). Cette aptitude des légumineuses à utiliser l'azote de l'air est due à la présence des nodosités, sur les racines, induites par des bactéries. Beijerinck les nomma au début *Bacillus radicola*, plus tard Frank en 1889, leur a attribué un nom plus original qui est Rhizobium (Willems, 2006).

L'introduction de la taxonomie moderne, des techniques moléculaires et les différentes études menées sur les légumineuses, ont permis de découvrir de nouveaux genres et de nouvelles espèces de bactéries capables de noduler les légumineuses (Willems, 2006). Le tableau 2 montre les périodes de découverte des espèces de différents genres de Rhizobia.

**Tableau II** : le nombre d'espèces du genre *Rhizobia* découvert (Willems, 2006).

Genres	publications originales	Nombre d'espèces					
		Avant 80	81-85	86-90	91-95	96-00	00-06
Rhizobium	Frank (1889)	4	5	5	10	10	16
Agrobacterium	Cohn (1942)	4	4	5	5	5	5
Bradyrhizobium	Jordan (1982)		1	1	3	3	7
Sinorhizobium	Chen <i>et al.</i> (1988)			2	5	8	11
Azorhizobium	Dreyfus <i>et al.</i> (1988)			1	1	1	2
Mesorhizobium	Jarvis <i>et al.</i> (1997)					7	11
Allorhizobium	de Lajudie <i>et al.</i> (1998)					1	1

### 2-1-2 Classification

Les bactéries nodulant les légumineuses ont vu leur classification sans cesse remaniée, surtout ces dernières années, grâce aux techniques de la taxonomie polyphasique (Zakhia et de Lajudie, 2006). La littérature actuelle décrit environ 60 espèces décrites dans 12 genres de l'ordre des Rhizobiales, de la sous-classe  $\alpha$ -Protéobactéries et 3 genres de l'ordre des Burkholderiales de la sous-classe  $\beta$ -Proteobacteries (Moulin *et al.*, 2001 ; Zakhia et de Lajudie, 2001) et un genre dans l'ordre des Enterobacteriales de la sous-classe des Proteobacteria, un genre de l'ordre des Pseudomonadales de la même sous-classe (Benhizia *et al.*, 2004).

### 2-1-3 *Rhizobium leguminosarum*

C'est une souche bactérienne appartenant au genre *Rhizobium*, capable d'induire une relation symbiotique avec certaines plantes de légumineuses telles que *Pisum sativum*, *Vicia faba* L., *Phaseolus vulgaris*...etc. (Huang *et al.*, 2007).

Mise à part les caractéristiques qu'elle a en commun avec les autres espèces de rhizobiums, elle possède 1 ou 2 flagelles polaires ou 2 à 6 flagelles péritriches.

Elle exige le pantothénate, la thiamine et une gamme de pH entre 4,5 à 9 comme facteurs de croissance. Par ailleurs, sa croissance ne se produit pas à une température qui dépasse les 39°C et dans un milieu contenant 2% de NaCl.

Sur la base de la spécificité de nodulation, trois biovar de *R. leguminosarum* ont été définis :

- *R. leguminosarum* bv. *trifolii* ;
- *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* ;
- *R. leguminosarum* bv. *viciae*. (Bergey, 2005).

## 2-2 Cycle de l'azote

Le cycle biogéochimique de l'azote (N), est le plus complexe. Contrairement au carbone, l'azote est disponible en grande quantité dans l'atmosphère dont il représente 78% des gaz (Meyer *et al.*, 2008), mais il n'est pas directement assimilable par les plantes. Pour qu'il puisse entrer dans la biomasse sous différentes formes et par différentes voies, l'azote subit des transformations et passe par un processus qui permet à cette quantité limitée d'azote de circuler et de recirculer dans le monde vivant, ce qu'on appelle le cycle de l'azote (Raven *et al.*, 2008).

Ce cycle passe par plusieurs principales étapes :

- **L'ammonification** qui se réalise par les bactéries *Nitrosomonas* qui transforment l'azote organique en ammoniac ( $\text{Norg} \rightarrow \text{NH}_4$ ) ;
- **La nitrification** qui se traduit par une transformation des nitrites en nitrates grâce aux *Nitrobacter* ( $\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ ) ;
- **L'assimilation** du Nitrate par les végétaux.

Une partie de ces nitrates peut être perdue par **dénitrification** réalisée par d'autres microorganismes dits dénitrifiant qui transforment ces nitrates en produits gazeux ( $\text{N}_2$  ou  $\text{N}_2\text{O}$ ) restitué à l'atmosphère (Tourtes *et al.*, 2005). Les quantités de l'azote qui retourne à l'atmosphère par dénitrification représentent 93 à 190 millions de tonnes/an (Hopkins, 2003).

La grande majorité de l'azote se trouve sous forme de diazote ( $\text{N}_2$ ) non-assimilable par les plantes. **La fixation biologique** de l'azote par les bactéries en symbiose avec les plantes actinorhiziennes et les Légumineuses permet d'accéder à une source quasi-illimitée d'azote (Pertet, 1998).

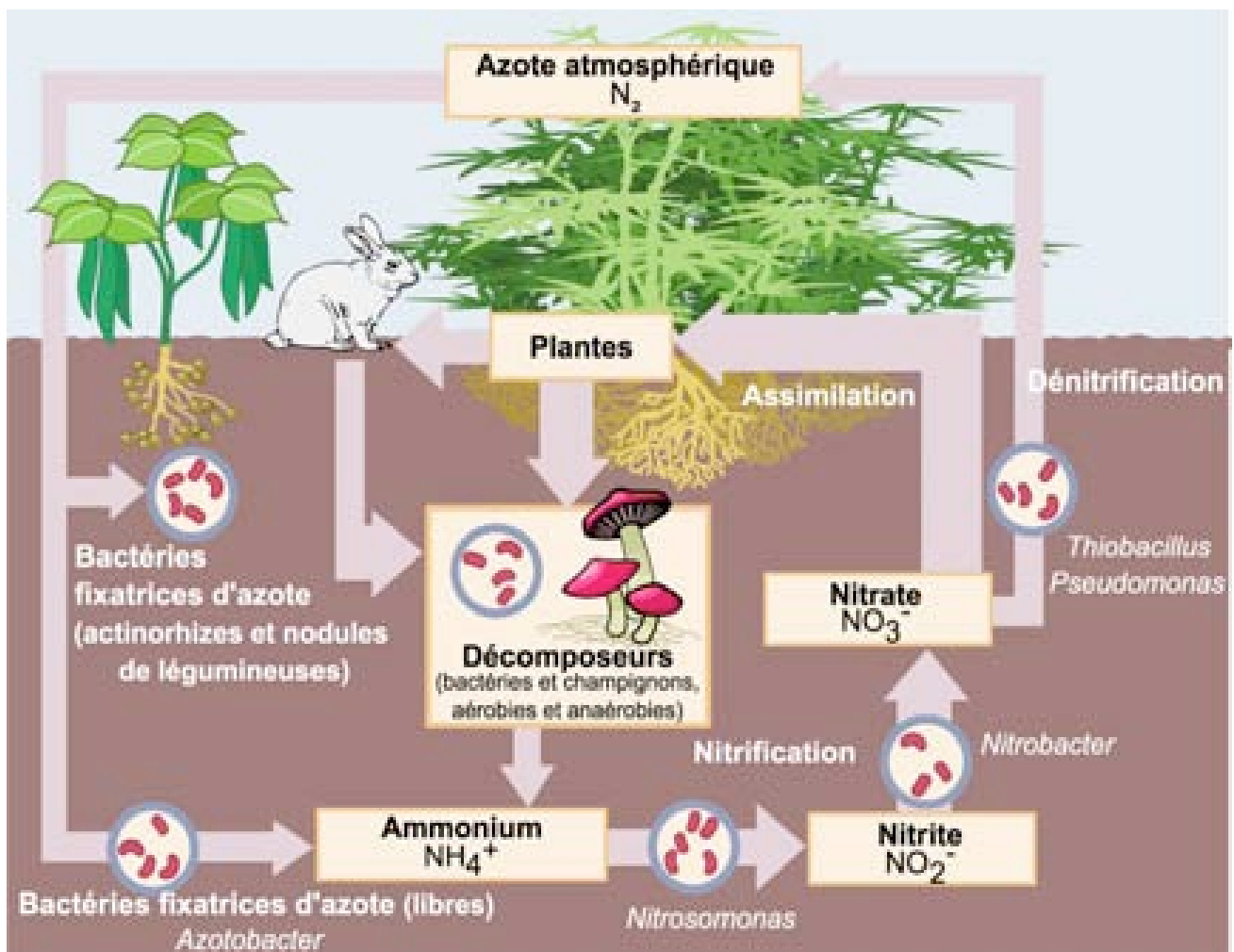
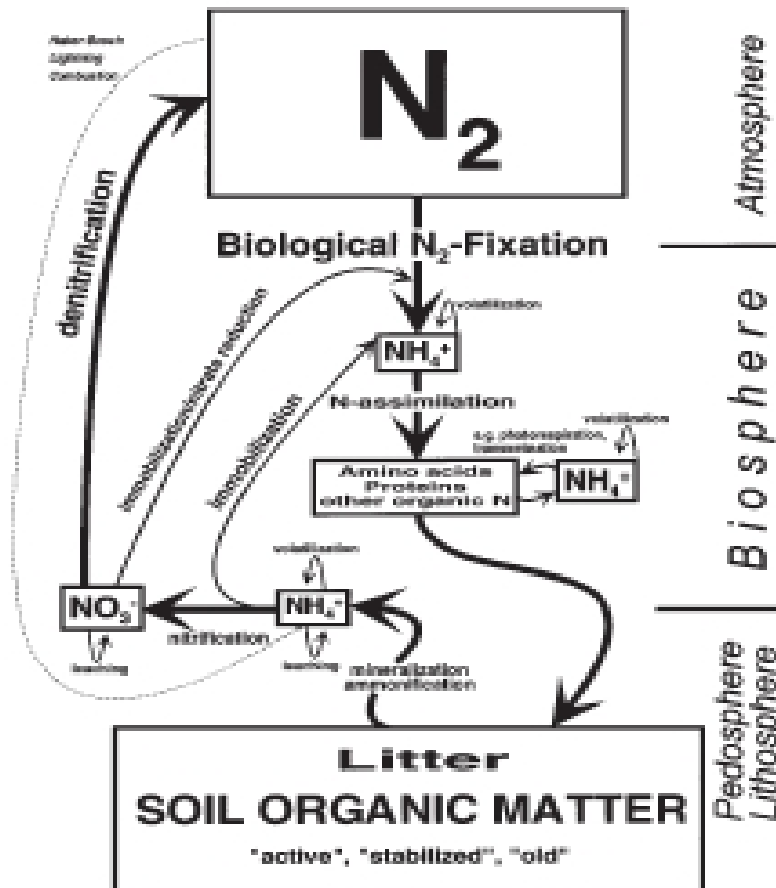


Figure 2. Cycle de l'azote (Pertet, 1998).

### 2-2-1 Fixation biologique de l'azote atmosphérique

La fixation biologique de l'azote atmosphérique ( $N_2$ ), est assurée par les organismes appelés les diazotrophes (organismes utilisant le diazote  $N_2$ ) comportant des bactéries libres, les algues bleues, et les bactéries symbiotiques des légumineuses (Guignard, 2000). Ces diazotrophes sont capables de réduire le diazote  $N_2$  en ammonium qui sera assimilé par les plantes (Morot-Gaudry et Prat, 2009). Il est admis que l'ensemble du processus de fixation biologique de l'azote par les fixateurs libres et les associations symbiotiques, peut s'élever à 175 millions de tonnes/an à l'échelle de la planète. La participation de l'association légumineuses-rhizobiacées à cette fixation atteindrait environ 50% (Morot-Gaudry, 1997).



**Figure 3:** schéma descriptif de la fixation de l'azote dans l'écosystème terrestre (Hartwig, 1998)

### 2-2-2 Classification des organismes diazotrophes

Les différents organismes fixateurs d'azote atmosphérique se regroupent en 4 catégories (Kahindi et al., 1997) :

- 1- Les cyanobactéries (algues bleues), qui se trouvent à l'état libres et en association avec plusieurs variétés de plantes ;
- 2- Les actinomycètes, exemple le genre *Frankia* qui forme des associations symbiotiques avec des plantes à fleurs ;
- 3- Les diazotrophes libres ;
- 4- Les bactéries symbiotiques de la famille des *Rhizobiaceae* qui vivent en symbiose avec les légumineuses.

**Tableau III :** Classification des organismes fixateurs de l'azote atmosphérique (Kahindi et *al.*, 1997).

<b>Types</b>	<b>fixateurs d'azote</b>	<b>plantes hôtes</b>
<b>Hétérotrophes</b>		
• <u>Organismes libres</u>		
Anaérobique	Clostridium	
Microaérophilique	Frankia, Azospirillum	
Aérobique	Azotobacter	
• <u>En association</u>		
Microaérophilique	Azospirillum, Herbaspirillum	
Endophitique	Acetobacter	Saccharum spp
Symbiotique	Frankia	casuarina spp.
	Rhizobium, Bradyrhizobium	Légumineuses
	Azorhizobium	Sesbania rostrata
<b>Autotrophes</b>		
• <u>Organismes libres</u>		
Anaérobique		
Microaérophilique	Rhodospirillum, Bradyrhizobium	
Aérobiques	cyanobacteria	
• Symbiotiques	Cyanobacteria	Fungi (lichens)
	<i>Anabaena azollae</i>	Azolla Spp.
	Cyanobacteria	Cycads
	Bradyrhizobium	Aeschynomene spp

### 2-3 Symbiose Rhizobia-légumineuse

L'interaction intracellulaire qui s'établit entre les légumineuses et les Rhizobia, aboutit à la formation d'une structure appelée nodosité sur les racines des plantes (Kempel et *al.*, 2009). Au niveau des nodosités, les bactéries se transforment en bactéroïdes capables de réduire l'azote atmosphérique en azote assimilable par les plantes hôtes. En contre partie la plante fournit aux bactéries une niche et des composés carbonés (Gough, 2009). Cette interaction constitue donc une symbiose qui est une association à bénéfice réciproque entre les deux partenaires (Morot-Gaudry et Prat, 2009 ; Depret et Laguerre, 2008).

La fixation symbiotique de l'azote peut donner à la plante hôte l'avantage de compétitivité distincte, au même temps responsable d'introduction de l'azote dans l'écosystème terrestre qui est bénéfique pour tous les organismes (Hartwig, 1998).

La symbiose améliore l'activité enzymatique, augmente la biomasse microbienne et la respiration du sol, elle régénère les propriétés microbiologiques et l'activité de la flore impliquée dans la décomposition de la matière organique (Rejili *et al.*, 2012).

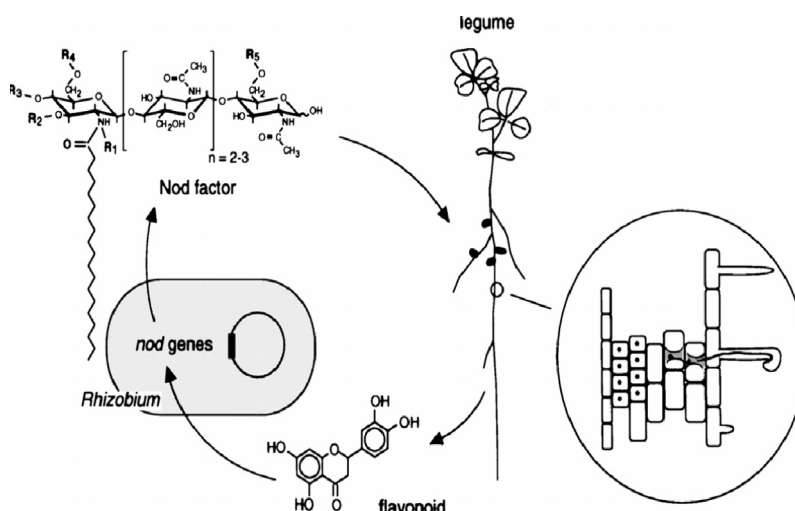
### 2-3-1 Étapes de la nodulation

La formation des nodosités survient quand les Rhizobiums pénètrent à l'intérieur de leurs hôtes d'une manière strictement coordonnée et contrôlée. Les exigences génétiques de la reconnaissance spécifique sont partagées entre le Rhizobium et la plante hôte. Chacun des deux partenaires possède des gènes qui ne sont exprimés qu'en présence de l'autre (Spaink, 1994 ; EL-Hilali, 2006 ;).

Les étapes de formation des nodules sont les suivantes :

#### a- La reconnaissance

- Émission des composés chimiques par la racine (flavonoïdes) ;
  - Attraction et activation des gènes *nod* chez la bactérie, émission des facteurs Nod ;
  - Les poils absorbants se multiplient et se courbent, stimulation de la division cellulaire dans le cortex.
- (Schultze et Kondorosi, 1996 ; Promé, 1999 ; Maj *et al.*, 2010) (Figure 4).



**Figure 4:** Echange des signaux entre rhizobiums-légumineuses. Les flavonoïdes produites par les racines de plante, active les gènes *Nod* des rhizobiums; Ceci mène à l'émission des facteurs Nod (Lindström *et al.*, 2010).

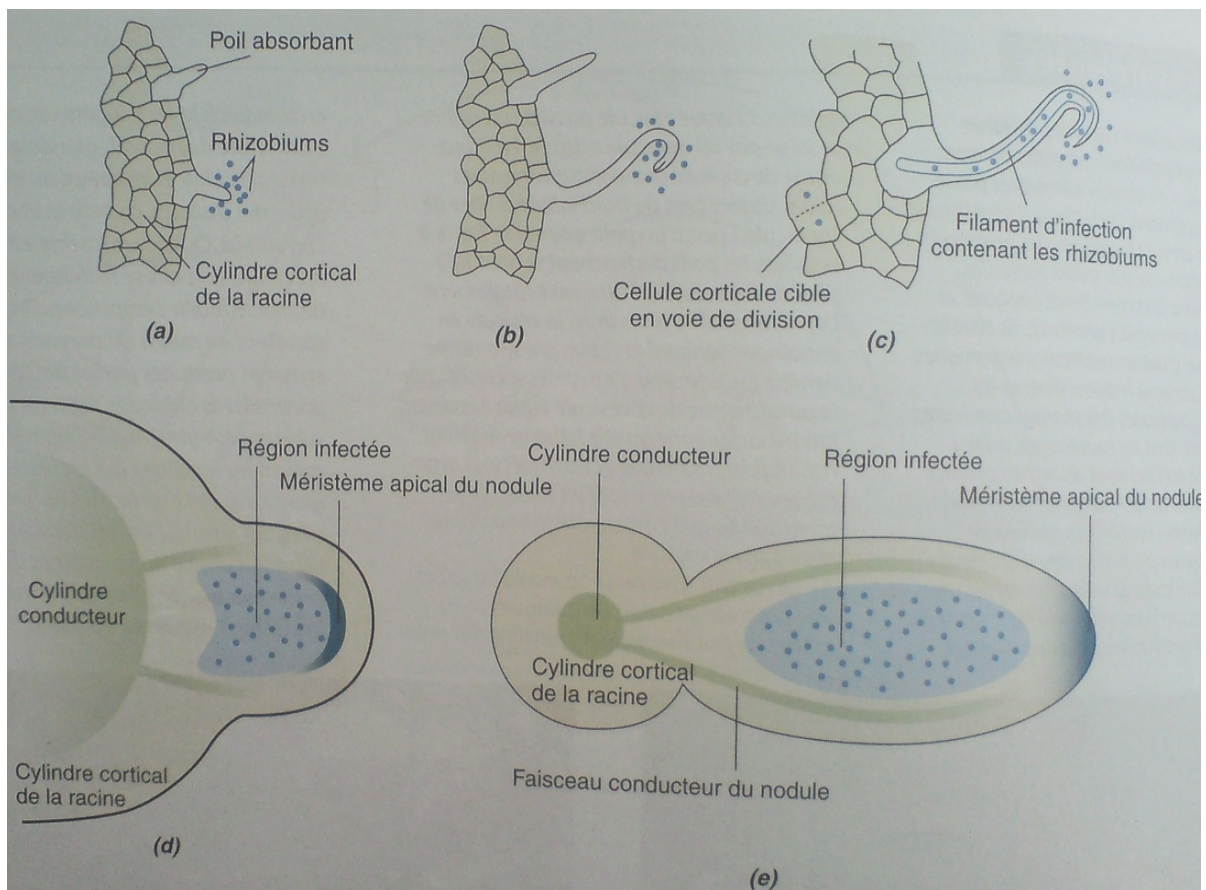


**b- L'infection**

- Formation du cordon infectieux et colonisation par les bactéries ;
- Multiplication des cellules du cortex (Higashi, 1993)

**c- Formation des nodules**

- Ramification du cordon infectieux vers les vaisseaux conducteurs ;
- Multiplication des bactéries et la formation des bacteroides



**Figure 5 :** Les étapes de développement d'un nodule dans une racine (Raven et *al.*,

- (a) les rhizobiums s'unissent à un jeune poil absorbant qui les attire par les flavonoïdes ;
- (b) le poil absorbant se courbe en réponse à des facteurs produits par les rhizobiums ;
- (c) un filament d'infection se forme. Il conduira les rhizobiums en division à la base des poils ;
- (d) un jeune nodule se forme par division rapide des cellules infectées ;
- (e) le nodule se compose d'un cortex relativement étroit entourant une grande région infectée.  
Le faisceau conducteur du nodule est connecté au tissu conducteur de la racine.

### 2-3-2 Nitrogénase

La fixation biologique de l'azote se déroule à 25°C et est catalysée par un complexe enzymatique appelé *Nitrogénase*. Ce complexe est constitué de 2 métallo-protéiniques (figure6) :

- La première est une réductase (encore appelée nitrogénase 1) de 64 k Da renferme 2 sous-unités identiques, contient du fer et elle se comporte comme une réductase. Pour chaque électron récupéré du donneur et cédé à la nitrogénase, il y a consommation de 2 liaisons phosphates riches en énergie (2 ATP).

- La seconde est la nitrogénase (nitrogénase 2), organisée en 2 sous-unités  $\alpha$  identiques et en 2 sous-unités  $\beta$  identiques. Sous forme tétramérique  $\alpha_2 \beta_2$ , elle reçoit les électrons de la réductase pour réduire l'azote atmosphérique (Guignard, 2000).

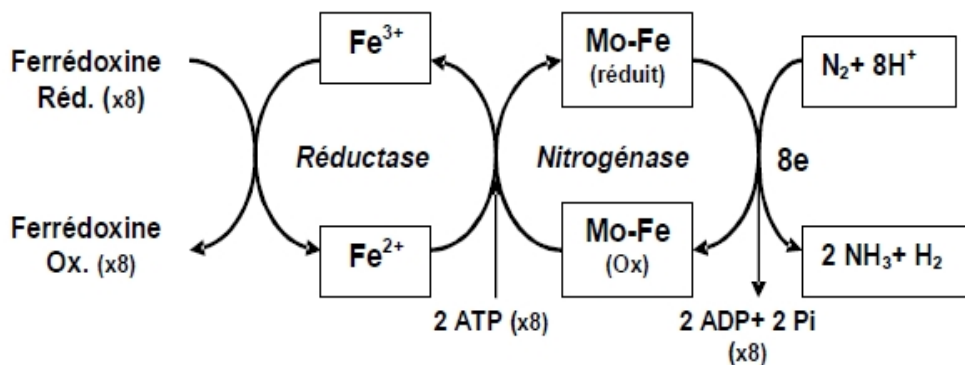
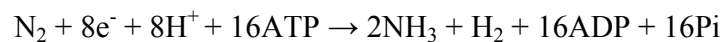


Figure 6 : fixation de l'azote par le complexe Nitrogénase (Morot-Gaudry, 1997).

La réaction réalisée par les fixateurs biologiques, exige 8 électrons et 8 protons pour la réduction d'une molécule de  $N_2$  et 16 ATP pour la fourniture de l'énergie d'activation. La réaction globale devient :



La formation de l'ammoniac s'accompagne toujours de celle d'hydrogène. Les électrons proviennent :

- de NADH,  $H^+$ /et  $FADH_2$  fournis par les processus cataboliques (cycle de Krebs,  $\beta$ -oxydation des acides gras, etc.)
- de la ferrédoxine ou/et de NADPH,  $H^+$  formé au cours de la photophosphorylation acyclique (Meyer et al., 2008).

Dans le cas de la symbiose Rhizobium-légumineuse, l'activité symbiotique met en place des structures racinaires ou caulinaires organisées appelées nodosités, où sont hébergées les bactéries fixatrices de l'azote. Au niveau des nodosités, la formation d'une protéine spécifique appelée *leghémoglobine*. Dans cette molécule la partie « *globine* » est synthétisée par la plante et la partie « *hème* » par le Rhizobium. Le complexe enzymatique Nitrogénase est très sensible à l'oxygène. La fonction de la *leghémoglobine* est de maintenir la pression de l'oxygène à un niveau assez bas dans l'environnement de l'enzyme, compatible avec le fonctionnement de la fixation de l'azote (Gobat et *al.*, 2010).

## 3- INOCULATION

### 3-1 Historique

L'inoculation des graines de légumineuses avec les rhizobia est l'application agrobiotechnologique la plus ancienne (Lindström *et al.*, 2010).

Il y a plus de 100 ans que des recherches ont été entreprises en vue d'améliorer la croissance des plantes. Les chercheurs se sont surtout attachés à élucider les questions de l'apport et la disponibilité d'azote et de phosphate, qui sont les éléments nutritifs les plus indispensables à la croissance des plantes.

Les premiers inoculums, constitués de bactéries telluriques, qui introduits dans les légumineuses, apportaient à celles-ci de l'azote, ont été commercialisés en 1898. Ces bactéries sont encore utilisées aujourd'hui et font l'objet d'importants travaux de recherche (Maougal, 2004).

### 3-2 Pratique de l'inoculation

L'inoculation est une pratique qui consiste à introduire des souches de rhizobia dans l'écosystème plante-sol ; un inoculum étant une formulation des souches en porteur solide ou liquide. Pour qu'un inoculant soit réussi, sa formulation et son application doivent tenir compte des variables et des principes qui affectent la viabilité des bactéries, sauf si l'utilisateur de l'inoculant puisse ne pas être au courant de ces principes (Bogino *et al.*, 2011).

Les graines de légumineuses doivent être inoculées juste avant le semis ; les semences inoculées ne doivent pas être mélangés avec les engrais chimiques (Warman, 1981).

Pour réaliser l'inoculation ou l'enrobage des semences, il est souhaitable d'utiliser un adhésif, non seulement pour coller le Rhizobium, mais parfois aussi pour l'alimenter jusqu'à ce qu'il infecte la plantule. Pour une simple inoculation, de nombreux adhésifs sont efficaces : eau sucrée (10 à 25%), amidon (de blé, maïs, riz, en même quantité que l'inoculum), miel (10%), huile de table (10 ml par kg de semences) (Deaker *et al.*, 2004), ainsi que la gomme arabique qui est recommandée pour l'enrobage des semences non seulement comme adhésif mais aussi pour la protection de l'inoculum durant la plantation et aussi dans le sol (Semasegaran et Hoben, 1985).

### 3-3 Objectifs de l'inoculation

Le but de l'inoculation est de fournir un nombre suffisant de rhizobia viable et efficace pour réaliser la colonisation rapide de la rhizosphère, par lequel la nodulation ait lieu après germination et produire les rendements optima basés sur les bactéries fixatrices d'azote (BNF) (Bogino *et al.*, 2011). L'avantage de l'inoculation est d'avoir le *Rhizobium* approprié dans le sol dans le but de réduire les besoins en engrais inorganiques. Cela a pour effet de réduire les coûts et d'améliorer l'efficacité des nutriments.

L'inoculation qui encourage la diversité microbienne et l'accumulation progressive d'azote résiduelle, améliore également la qualité du sol. Finalement, l'inoculation des légumineuses améliore la qualité des fourrages car l'augmentation de la teneur en azote favorise une augmentation de la teneur en protéines des légumineuses (Watkins, 2008).

### 3-4 Nécessité de l'inoculation

L'inoculation des graines de légumineuses est une pratique simple. Pour répondre à la question quant l'inoculation est nécessaire ?

Quatre cas dans lesquels l'inoculation serait nécessaire (Date, 2000) :

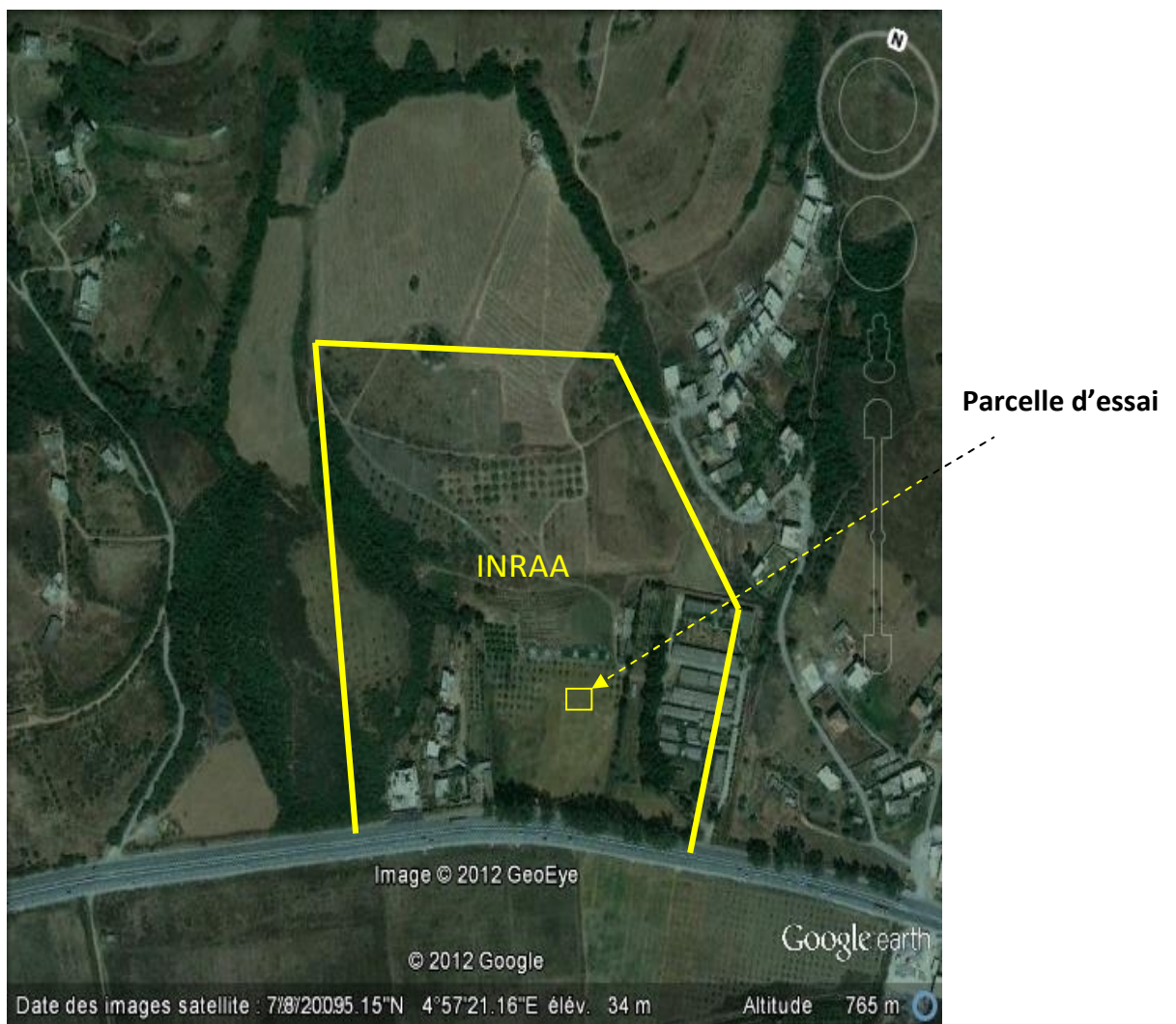
- Quand la plante n'a pas été cultivée précédemment sur le site ;
- Quand la récolte développée sur le site auparavant est mal nodulée ;
- Dans le cas d'une rotation, quand la légumineuse suit une récolte non légumineuse (cas des céréales) qu'est une culture appauvrissante ;
- Quand le sol est pauvre en éléments.

En résumé, l'inoculation des légumineuses est un moyen de s'assurer que la souche de Rhizobia la plus adaptée et en nombre suffisant, soit présente dans la rhizosphère et permette une nodulation abondante assurant une bonne fixation d'azote. Malgré les difficultés qui peuvent survenir pendant l'inoculation des légumineuses, sa pratique est simple. Le but de cette manœuvre est d'assurer une fixation élevée d'azote (Date, 2000).

## 1- DESCRIPTION DU SITE D'ETUDE

L'essai expérimental a été réalisé sur une parcelle de terre au niveau du centre de recherche agronomique (INRA) d'Oued-Ghir, situé à 13 km au sud-ouest du chef lieu de la wilaya de Bejaïa (figure 7).

La station est située sur des terres marginalisées avec un relief accidenté (plus de 60% de la superficie située sur une pente  $\geq 12\%$ ), avec une altitude de 34 mètres en moyenne et reçoit annuellement 600 à 800 mm d'eau de pluie.



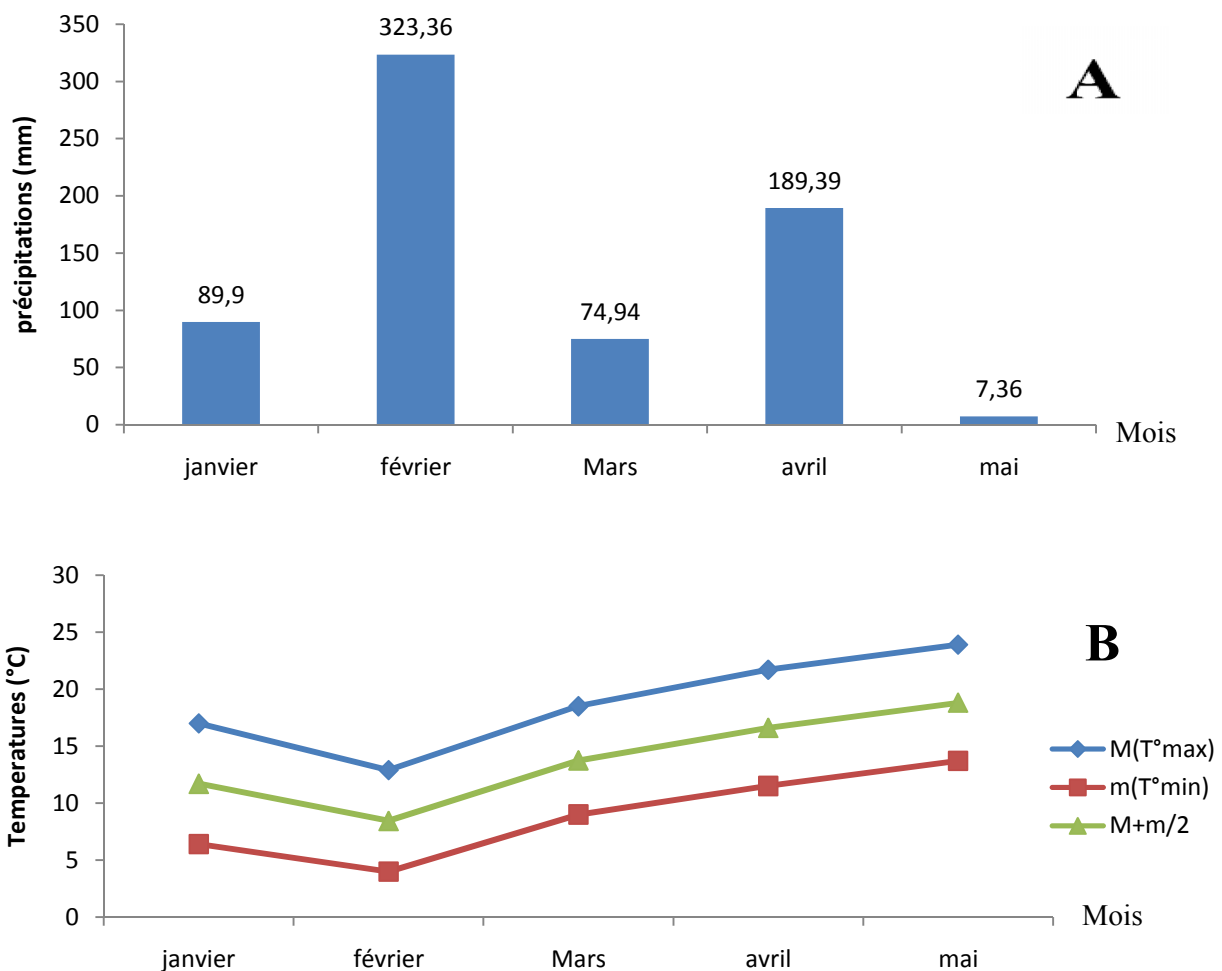
**Figure 7 :** Image satellite de la station de l'INRAA de Oued-Ghir Bejaïa.

## 1-1 Données climatiques

Les données climatiques, caractérisées par la pluviométrie et la température mensuelle dans la station de l'INRA de Oued-Ghir durant la période expérimentale, sont représentées sur la figure (Figure 8, A et B).

Nous constatons que notre essai a été effectué dans une période qui a connu une variation de pluies et de températures. Les précipitations enregistrées au mois de Février, Mars, Avril et Mai sont respectivement de 323 ; 74 ; 189 et 7 mm.

En ce qui concerne les températures enregistrées pour la même période, nous constatons une élévation progressive des températures allant de 18°C au mois de Mars jusqu'à plus de 24°C au mois de Mai 2012.



**Figure 8 :** Pluviométrie (A) et température minimale et maximale (B) mensuelle dans la station INRA Oued- Ghir de Bejaïa durant la période expérimentale (année 2012).

## 2- SOL

Un échantillon du sol de cette parcelle a été prélevé sur une profondeur de 20 cm selon la méthode diagonale à l'aide d'une tarière (Pansu et *al.*, 1998). Cette méthode consiste à prendre cinq prélèvements dans les quatre coins et le milieu de la parcelle. Ces cinq prélèvements sont mélangés afin d'avoir un échantillon de sol homogène. Au laboratoire, le sol est séché à l'air libre pendant une semaine, puis broyé légèrement pour réduire les mottes et passé au tamis à mailles carrées de 2mm de diamètre pour éliminer la fraction grossière. La fraction fine du sol obtenue a subi un ensemble d'analyses physico-chimiques pour déterminer ses principales caractéristiques pédologiques.

### 2-1 Couleur du sol

La couleur du sol a été déterminée à l'aide du code de Munsell.

### 2-2 Mesure du pH du sol

Le pH du sol est déterminé par l'emploi d'un pH-mètre à électrode de verre préalablement étalonné. La réaction du sol est déterminée sur une suspension aqueuse dans laquelle le rapport sol/eau égal à 1/2,5. Deux mesures de pH sont effectuées : pH<sub>eau</sub> (acidité actuelle) et le pH<sub>KCl</sub> (acidité potentielle).

### 2-3 Dosage du calcaire total

On utilise la propriété du carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) de se décomposer sous l'action d'acide (HCl). Le gaz carbonique dégagé est recueilli dans un tube gradué et son volume ainsi facilement mesuré. L'appareil utilisé est le calcimètre de Bernard.

### 2-4 Dosage du calcaire actif

C'est la fraction la plus fine du  $\text{CaCO}_3$ . Elle est déterminée par la méthode Drouineau-Galet. Le calcaire actif se combine à l'oxalate d'ammonium pour former l'oxalate de calcium insoluble. L'excès d'oxalate d'ammonium est ensuite dosé par une solution de  $\text{KMnO}_4$  de titre connu à chaud et en milieu sulfurique.

### 2-5 Dosage du carbone organique

Le carbone organique du sol est dosé par la méthode Anne modifiée. Le carbone organique est ainsi oxydé en milieu sulfurique par le bichromate de potassium. La solution de sel de Mohr



réduit le bichromate en excès. Le taux de la matière organique est donné par la formule suivante :  $MO\% = \%C \times 1,72$ . (Baize, 2000)

## 2-6 Dosage de l'azote total

La teneur en azote du sol est déterminée par la méthode de Kjeldahl. L'azote organique du sol est transformé en azote ammoniacal sous l'action de l'acide sulfurique concentré à l'ébullition en présence d'un catalyseur renfermant du sélénium. On déplace l'ammonium de sa forme combinée par l'addition de soude et en applique une distillation grâce à l'appareil de BUCHII, l'ammonium libéré est recueilli dans une solution d'acide borique, puis titré avec l'acide sulfurique du titre connu.

## 2-7 Analyse granulométrique du sol

La texture du sol est déterminée par la méthode internationale modifiée par l'emploi de la pipette de Robinson. Après destruction de la matière organique à l'eau oxygénée et dispersion des ions flocculant enrobant les particules et les soudant en agrégats, par le pyrophosphate de sodium. Les différentes particules classées selon l'échelle d'Atteberg ont été prélevées au cours de la sédimentation.

## 3- MATERIEL VEGETAL

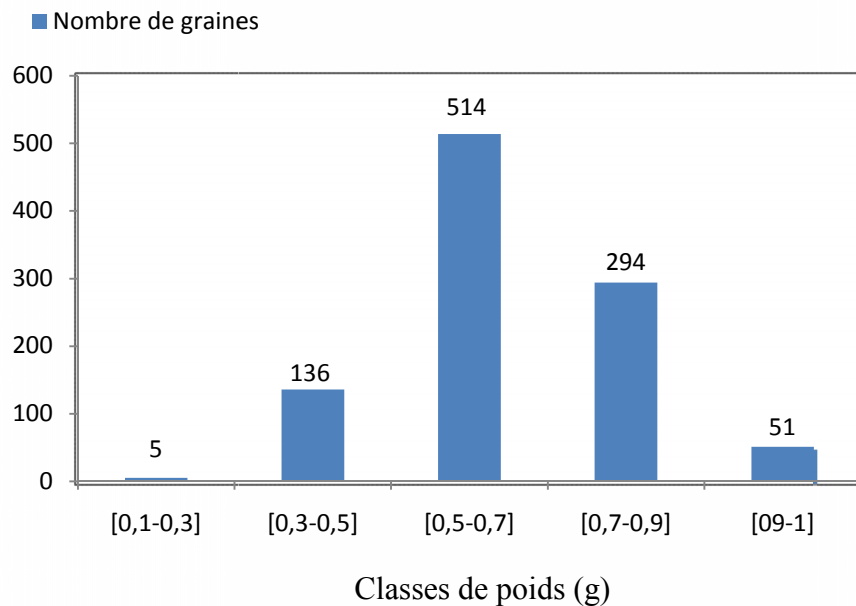
Le matériel végétal utilisé dans cette étude est représenté par les graines de la féverole (*Vicia faba* L.) (Figure 9). Ces graines nous ont été fournies gracieusement par un agriculteur de la région de Timezrit (Bejaia).



**Figure 9:** Les graines de la féverole (*Vicia faba* L.)

### 3-1 Préparation des graines

Afin d'obtenir un échantillon homogène et réduire au maximum la variabilité des résultats due aux réserves des graines, nous avons réparti un lot de mille graines par classe de poids. Les résultats obtenus (Figure 10) nous ont permis de choisir la classe la plus représentative et la plus restreinte possible pour l'ensemble du lot. Dans notre expérience, nous avons retenu les graines de la classe [0,5-0,7].



**Figure 10** : Histogramme de distribution pondérale des graines de féveroles

### 3-2 Test de germination

Afin de déterminer la faculté germinative des graines, nous avons procédé à un test de germination.

Les graines de féverole de la classe modale [0,5-0,7] ont été mises à germer dans des boîtes de Pétri sur du papier filtre imbibé d'eau distillée avec trois répétitions, à raison de 15 graines par boîte. Les boîtes ainsi préparées sont disposées à l'obscurité à 25°C pendant 2 à 7 jours. Le pourcentage de germination est exprimé par le rapport du nombre de graines germées sur le nombre total de graines.

D'après les résultats obtenus (figure 11), nous avons observé la germination de la totalité des graines dans les trois boîtes de Pétri après 4 jours d'incubation.



Figure 11 : Test de germination

#### 4- MATERIEL BACTERIEN

Nous avons retenu dans le cadre de notre étude une souche de *Rhizobium leguminosarum* de la collection du laboratoire de microbiologie appliquée de l'université de Bejaia. Elle a été isolée des racines de *Vicia faba* L. par Belhadi, et conservé à 4°C dans des tubes contenant le milieu Yeast Extract Mannitol Agar (YMA) incliné dont la composition figure en annexe 1. La revivification de la souche est réalisée par repiquage dans le même milieu.

#### 5- ETUDE DE L'EFFET DE L'INOCULATION PAR RHIZOBIUM SUR LA CROISSANCE DE LA FEVEROLE (*Vicia faba* L.)

Cette étude a pour but d'évaluer l'effet d'inoculation par une souche locale de *Rhizobium leguminosarum* sur la croissance, le rendement (en gousses et en graines) et le contenu azoté des parties aériennes et nodulaires de la féverole.

##### 5-1 Bactérisation des graines

###### - Préparation de l'inoculum

L'inoculum de *R. leguminosarum* a été préparé en fioles contenant le milieu Yeast Extract Mannitol Broth (YMB), sous agitation constante (150 tours/min) pendant 72 heures à 28°C. À la fin de la culture, on a procédé à une centrifugation à 6000 tours par minutes pendant 10 minutes. Le culot obtenu est suspendu dans 10 ml d'eau physiologique stérile pour concentrer les bactéries. La suspension bactérienne est conservée dans un tube à essai stérile pour l'enrobage des graines.

- **Préparation de l'adhésif**

L'adhésif utilisé dans le cadre de cette étude est la gomme arabique à (40%). Il est obtenu en chauffant 100 ml d'eau distillée puis en ajoutant par petites quantités de gomme arabique jusqu'à dissolution complète.

- **Enrobage des graines**

Après refroidissement de la gomme arabique, la suspension bactérienne est mélangée à l'adhésif. Le mélange (adhésif-inoculum) est versé dans un flacon stérile contenant les graines de la féverole, ensuite nous avons ajouté 30g de CaCO<sub>3</sub>. Après une homogénéisation par agitation, les graines sont mises à sécher à l'ombre et à la température ambiante du laboratoire, puis elles sont stockées dans un flacon en verre stérile (Figure 12).



**Figure 12** : Les graines de féverole : (A) enrobées et (B) non enrobées

## 5-2 Dispositif expérimental

L'essai est effectué sur une parcelle d'une superficie de 36m<sup>2</sup> répartie en 6 micro-parcelles (figure 13 et 14). Chaque parcelle élémentaire a pour dimension 2,25m de longueur sur 1,25m de largeur comportant chacune 5 lignes espacées de 25 cm. Les parcelles élémentaires sont séparées entre elles par des allées de 0,5 m de large (figure 15).

Le dispositif expérimental est en bloc alterné à 3 répétitions. L'essai comporte deux traitements :

- Le traitement inoculation (**I**), la féverole inoculée avec la souche *R. leguminosarum*
- Le traitement non inoculé (**NI**), la féverole non inoculée

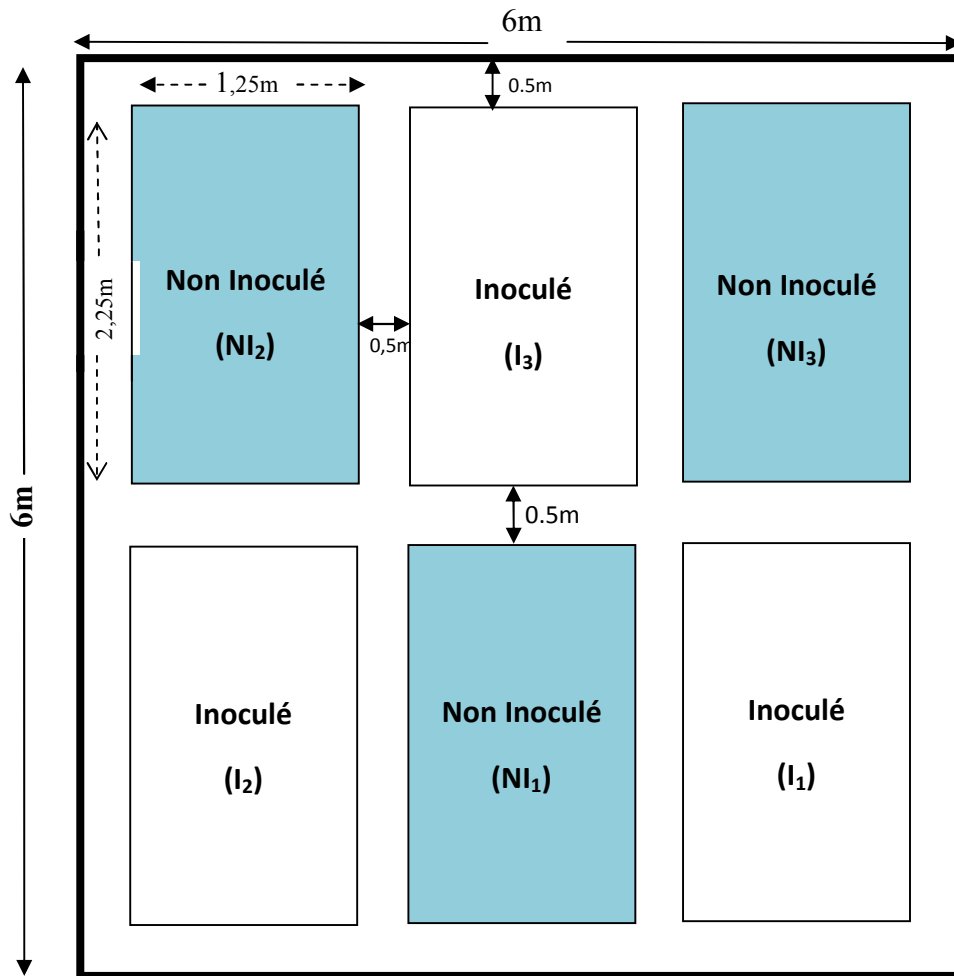


Figure 13: Schéma du dispositif expérimental utilisé pour l'essai d'inoculation

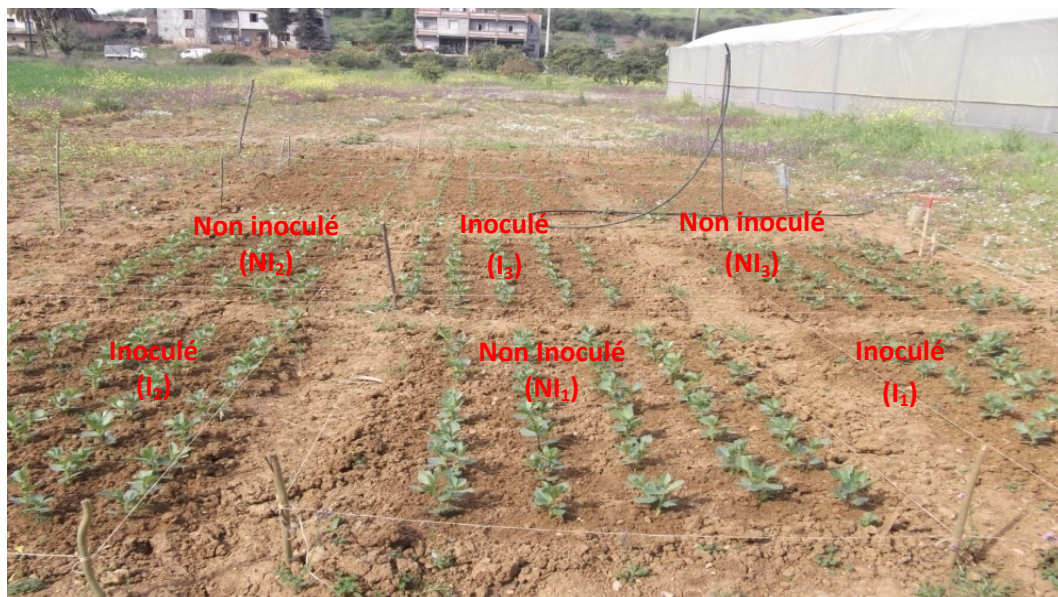


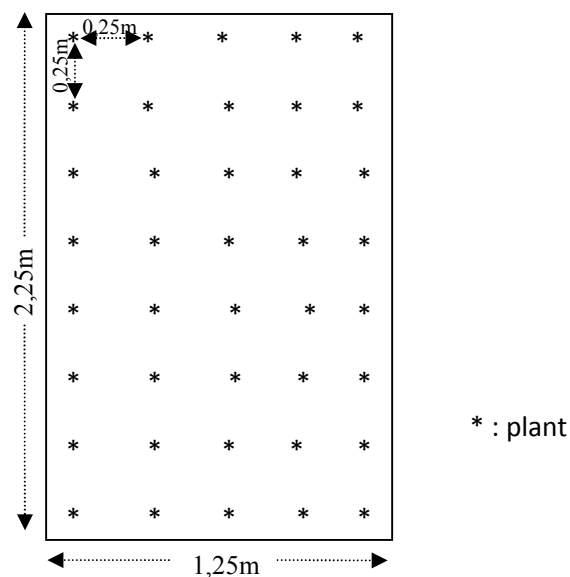
Figure 14 : Photo de la parcelle utilisée pour l'essai d'inoculation

### 5-3 Semis

Cette procédure est effectuée manuellement vers la fin du mois de février 2012.

La densité de semis est de 40 graines par micro-parcelle avec des écartements de 25 cm sur la ligne et 25 cm entre les lignes (figure 15).

**N.B.** 40 jours après le semis, nous avons procédé à une deuxième inoculation en versant sur chaque radicule de chaque plantule 5ml d'une suspension de *Rhizobium leguminosarum* provenant d'une culture pure âgée de 3 jours.



**Figure 15 :** Les dimensions d'une micro-parcelle et espacement entre les graines de féverole

### 5-4 Suivi du développement de la culture

Tout au long de la croissance de la féverole, nous avons procédé à l'irrigation de la culture en cas de besoin et au traitement phytosanitaire contre certains ravageurs, tels que les pucerons. Pour éradiquer ces derniers, nous avons pulvérisé sur les plantes une décoction à base de tabac (à 5%) qui s'est avéré un traitement biologique très efficace.

### 5-5 Paramètres mesurés

Deux mois après le semis (stade début de la floraison), 12 plants de chaque parcelle élémentaire ont été sélectionnés aléatoirement pour mesurer les paramètres non destructifs suivants:

- La longueur des tiges, mesurée à l'aide d'une règle graduée ;
- Le nombre de fleurs par plante ;
- Le nombre de gousse par plante ;
- Le nombre de graines par gousse et par plante ;
- Le nombre de nœuds par plante.

Il y a lieu de signaler que le nombre de graines par gousse/plante et le nombre de nœuds/plante sont évalués une seule fois au stade formation des gousses.

Par ailleurs, au stade début fructification, 03 plants de chaque parcelle élémentaire ont été déterrés et leurs racines lavées à l'eau de robinet, puis séparées de leurs parties aériennes et les nodules sont détachés des racines pour évaluer les paramètres destructifs suivants:

- Les poids frais des parties aériennes (PFPA), déterminés immédiatement après prélèvement des plantes;
- Les poids secs des parties aériennes (PSPA), déterminés après séchage dans l'étuve à 70°C pendant 72 heures ;
- Les nodosités sont prélevées et pesés à l'état frais (PFN), puis séchés à l'étuve à 70° C pendant au moins 72 heures pour déterminer leurs poids secs (PSN).
- Les teneurs en azote des parties aériennes (NPA) et nodulaires (NN) sont déterminées par la méthode de Kjeldahl, sur une poudre végétale obtenue après broyage des deux parties à l'état sec.

**N.B :** *les parties aériennes de la plante comprennent les feuilles, les tiges et quelques gousses en début de formation.*

## **5-6 Traitement et analyse des données**

Une analyse descriptive des résultats est réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Office Excel 2007, afin de calculer les moyennes et les écart-types.

Les données obtenues dans cette expérience ont été traitées par une analyse de variance (ANOVA) à un seul facteur, qui correspond aux deux traitements suivants :

- Traitement inoculé (**I**)
- Traitement non inoculé (**NI**)

Cette analyse est effectuée par un logiciel Statistica 5.5 qui permet de vérifier si le facteur étudié a un effet ou non sur les variables mesurés comme le poids frais des nodules, la hauteur des tiges etc. Ces effets sont considérés comme significatifs quand le risque d'ε

Dans ce cas on admet qu'il existe des différences significatives entre les moyennes des traitements. Le test LSD (Least Significant Différence) permet de savoir les moyennes qui diffèrent réellement lorsque l'analyse de variance révèle un effet. Il nous permet aussi d'utiliser les comparaisons multiples des moyennes pour constituer des groupes homogènes.



## 1- CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DU SOL

Les résultats relatifs à l'analyse physico-chimique du sol figurent dans le tableau IV.

**Tableau IV** : les résultats d'analyse physico-chimique du sol.

Paramètres	Résultats
<b>Analyse Granulométrique</b>	
Argiles (%)	35,08
Limons fins (%)	38,59
Limons grossiers (%)	3,15
Sable fins (%)	10,87
Sable grossiers (%)	12,28
texture	Limono-argileuse
<b>Analyse chimique</b>	
Azote total (%)	0,00
Carbone totale (%)	0,6
Matière organique (%)	1,03
CaCO <sub>3</sub> total (%)	3,02
pH <sub>eau</sub>	7,05
pH <sub>kcl</sub>	6,9
couleur	5YR 4/4 (rouge brun)

D'après le diagramme de texture USDA (1954), le sol étudié présente une texture limono-argileuse avec une teneur élevée en limons (41,74%), suivi par les argiles avec une teneur de (35,08%). Il est caractérisé par sa rétention élevée en eau et sa perméabilité moyenne (Soltner, 1988).

Par sa teneur faible en calcaire totale (3,02 %), ce sol est considéré d'après Calvet et Villemin (1986), pauvre en calcaire. Par ailleurs, en tenant compte de l'échelle de classification établie par Gaucher (Soltner, 1988), le sol est neutre (pH= 7,05). Il représente une très faible teneur en matière organique (1,03%) et très pauvre en azote. D'après Lambert (1975), les sols contenant des teneurs en **MO** < 2% et **N** < 0.5% sont considérés comme des sols très pauvres.

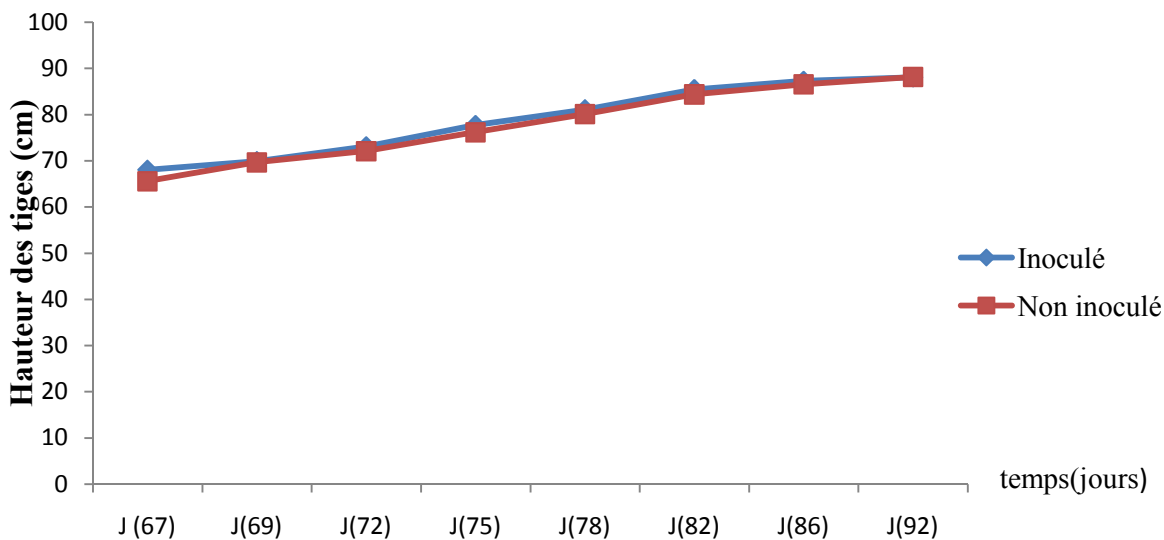
D'après les résultats obtenus, le sol retenu à l'étude présente quelques contraintes; à savoir sa pauvreté en éléments fertilisants notamment l'azote et la matière organique, car à l'origine c'était un sol apporté et non cultivé auparavant.

## 2- EFFET DE L'INOCULATION DE *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* SUR LA FEVEROLE

Afin d'évaluer l'effet de l'inoculation de *R. leguminosarum* sur la féverole *in situ*, nous avons procédé aux mesures des paramètres destructifs et des paramètres non destructifs tels que indiqués au chapitre matériel et méthodes. Les données obtenues sont traitées par une analyse de variance à un seul facteur.

### 2-1 Effet de l'inoculation sur l'évolution de la croissance de la féverole

Les résultats de la figure 16 montrent que la hauteur des tiges est identique pour les deux traitements, même si au début nous avons remarqué que la hauteur des plantes inoculées est légèrement supérieure à celle des plantes non inoculées.



**Figure 16:** Evolution de la hauteur des tiges chez *Vicia faba* L.

*J= le nombre de jours après le semis*

Concernant le nombre de fleurs, la figure 17 montre que le nombre de cette variable est légèrement élevé chez les plantes inoculées que celui observé chez les plantes non inoculées et ce jusqu' au début de formation des gousses.

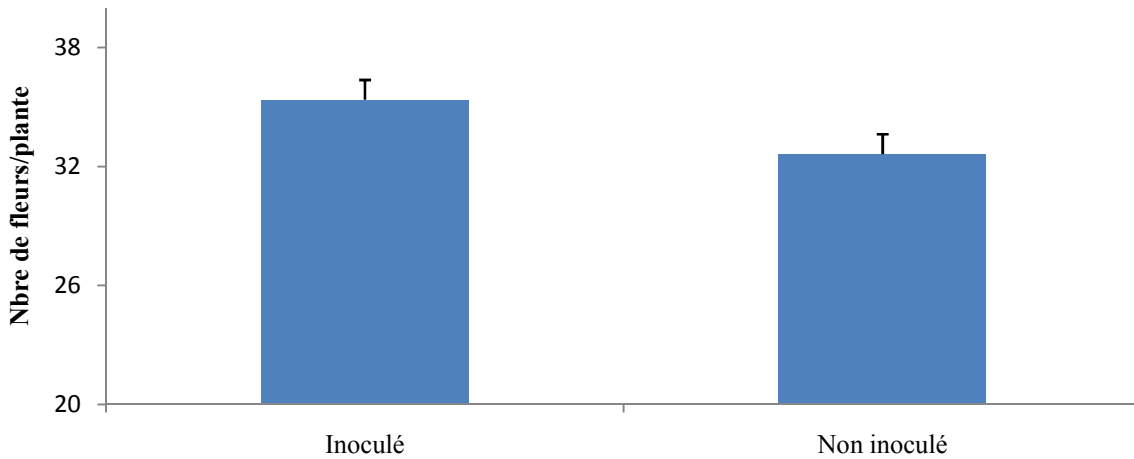


Figure 17 : Effet de l'inoculation sur la floraison

Par rapport au nombre de gousse (figure 18), nous avons constaté, au début de formation de gousses, qu'il n'y a pas eu de différence entre les deux traitements. Cependant, les plantes inoculées présentent une légère augmentation de ce paramètre par rapport aux plantes non inoculées. Le maximum de gousses (14,36 gousses/plantes) est observé chez les plantes inoculées après 86 jours de développement ; alors que celui des plantes non inoculées (12,36 gousses/plantes) est observé après 82 jours.

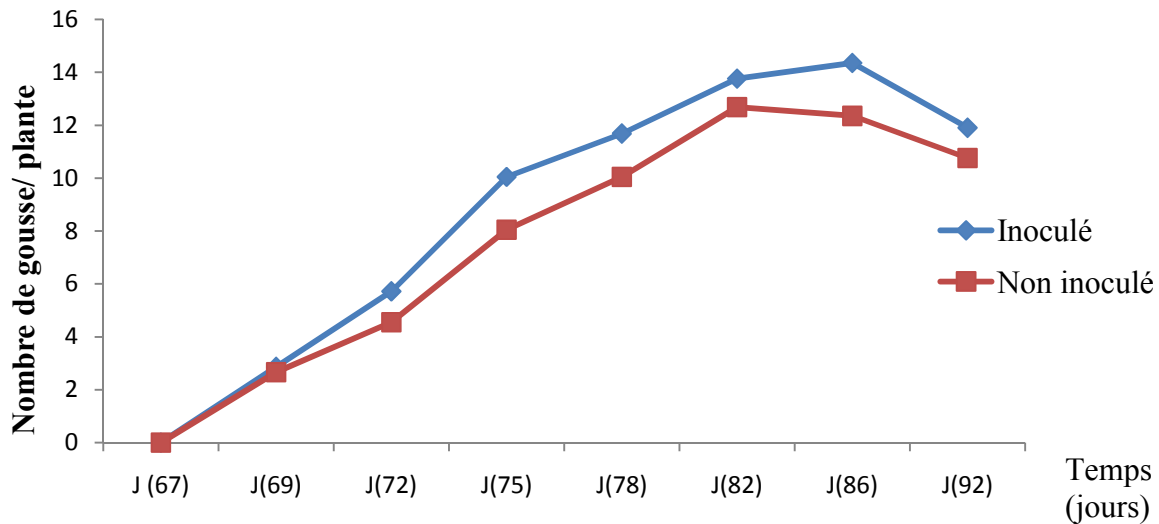


Figure 18 : Evolution du nombre de gousses chez *Vicia faba* L.

J= le nombre de jours après le semis

Il ya lieu de remarquer une légère diminution de ce nombre aussi bien dans le traitement inoculé que dans le traitement non inoculé. Cette chute serait due aux conditions climatiques, notamment aux averses et l'augmentation brutale de la température, survenues durant la semaine du 17 Mai au 20 Mai qui ont touché essentiellement les petites gousses nouvellement formées.

## 2-2 Effet de l'inoculation sur les paramètres du rendement

Sur le Tableau V sont représentées les moyennes des hauteurs des tiges, le nombre de gousses/plante, le nombre de nœuds/plante et le nombre de graines/plante.

**Tableau V** : Effet de l'inoculation par *R.leguminosarum* sur la hauteur des tiges, le nombre de nœuds, de gousses et de graines par plante de *Vicia faba* L.

Paramètres	Hauteur des tiges (cm)	Nombre de nœuds/plante	Nombre de gousses/plante	Nombre de graines/plante
<b>Traitements</b>				
<b>Inoculé</b>	88,0* ± 7,5 <sup>a</sup>	22,0 ± 2,4 <sup>a</sup>	11,9 ± 4,0 <sup>a</sup>	26,8 ± 8,0 <sup>a</sup>
<b>Non Inoculé</b>	88,1 ± 8,2 <sup>a</sup>	15,5 ± 1,9 <sup>b</sup>	10,5 ± 3,2 <sup>a</sup>	23,1 ± 5,3 <sup>b</sup>
<b>LSD (p ≤ 0.05)</b>	NS	S	NS	S

(\*), Représente la valeur moyenne de 12 répétitions ± écart-types.

Les moyennes suivies de la même lettre dans une colonne ne diffèrent pas significativement au risque de 5%.

Il apparait clairement des résultats obtenus que le traitement inoculé n'a pas eu d'effet notable sur les hauteurs des tiges qui sont identiques à celle du témoin. Par contre, même si aucun des traitements n'est significativement différent ( $p < 0,05$ ), l'inoculation a engendré une légère augmentation du nombre de gousses/plante par rapport au traitement non inoculé.

Les résultats de l'analyse de variance effectuée sur ces données, ont montré qu'il n'y a pas de différence significative sur la hauteur des tiges et le nombre de gousses. Ces deux variables n'ont pas été influencées par l'inoculation. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus sur la fève par Salem et El-Massri (1985) et sur le pois chiche par Zaghouane (1995) et L'taief et *al.* (2009). Cette différence non significative pourrait s'expliquer par les conditions climatiques défavorables notamment la variation de la température et de la pluviométrie enregistrées au cours de l'expérimentation. Selon Fitouri et *al.* (2012), ces conditions peuvent affecter la croissance d'une culture légumière. De plus, selon les mêmes auteurs, le semis tardif de la féverole compromet le rendement ; dans notre cas le semis a été effectué tardivement en fin du mo

En ce qui concerne le nombre de nœuds, il apparaît une différence hautement significative ( $p < 0,05$ ) entre les traitements. En effet, l'inoculation par *Rhizobium leguminosarum* a permis une augmentation de cette variable qui est passée de 15,5 nœuds/plant pour le traitement non inoculé à 22 nœuds/plant pour le traitement inoculé, soit une augmentation nette de + 44%. Par ailleurs, l'analyse de variance a révélé un effet significatif concernant le nombre de graines/plant. En effet l'inoculation avec *Rhizobium leguminosarum* a augmenté le rendement grainier de la féverole de +16 %.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Gan et *al.* (2005) sur la lentille, où ils expliquent ces gains par le bon développement des nodules et la texture du sol notamment les argiles et les limons qui favorisent la croissance de rendement en grains.

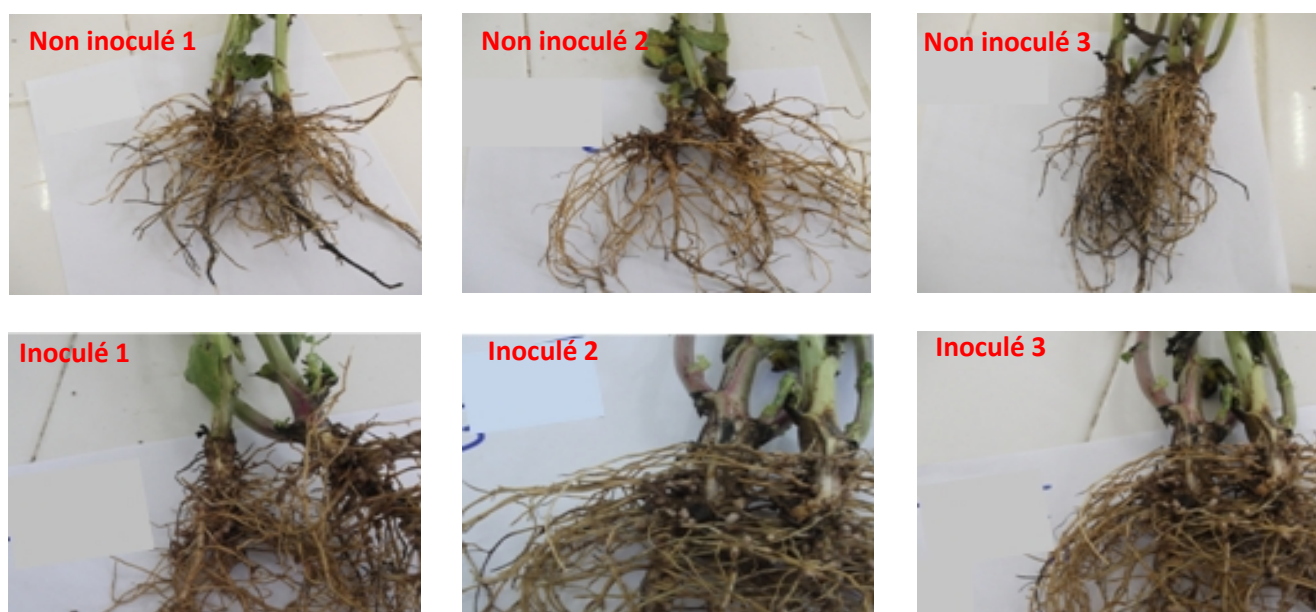
Ces résultats suggèrent également que la bactérie symbiotique utilisée dans cette étude a exprimé son potentiel réel de fixation d'azote moléculaire en améliorant le nombre de nœuds ainsi que le rendement en grains, malgré une forte compétition avec les populations bactériennes indigènes du sol. Elle pourrait aussi être due aussi à son affinité (spécificité) vis-à-vis de la plante hôte d'origine.

## **2-3 Effet de l'inoculation sur les paramètres destructifs de la féverole**

### **2-3-1 Nodulation**

Les figures ci-dessous donnent l'état morphologique des racines et des nodules observé au début de la floraison en fonction des différents traitements. Une grande variabilité morphologique des racines et des nodules a été observée chez *Vicia faba* L. entre les deux traitements. En effet, la partie racinaire des plantes de *Vicia faba* L. inoculées est bien développée que celle des plantes non inoculées (figure 19).

Dans les racines des plantes inoculées, la nodulation est importante. En effet les nodules formés se trouvent beaucoup plus au niveau de la racine principale et aussi dans les ramifications. Ces nodules sont volumineux, de grande taille et de couleur rose indiquant la présence d'une leghémoglobine active. Cependant, dans les racines des plantes non inoculées, les nodules sont moins importants, se trouvent généralement au niveau de la racine principale. Ils sont de petite taille, de forme ronde et d'une couleur blanche à rose pâle. La présence des nodules chez les plantes non inoculées suggère l'existence d'une population indigène de bactéries symbiotique dans le sol.



**Figure 19** : morphologie des racines et des nodules des plantes de *Vicia faba* L. aux différents traitements.

L'efficacité ou l'inféctivité désigne l'aptitude de rhizobium d'induire la nodulation sur la racine de la légumineuse ou sa plante hôte. Ainsi, l'efficacité de la souche testée sur la féverole est appréciée par la masse nodulaire et la couleur rose due à la présence de leghémoglobine qui est un signe d'une nodulation efficace contrairement aux nodules de couleur blanche.

Il a été rapporté dans ce sens, que l'introduction de souches efficaces de rhizobiums favorisait la nodulation et par conséquent la fixation biologique de l'azote (Sultan et *al.*, 2002; Kellman, 2008), mais à condition que la souche introduite soit compétitive (Graham et *al.*, 1994).

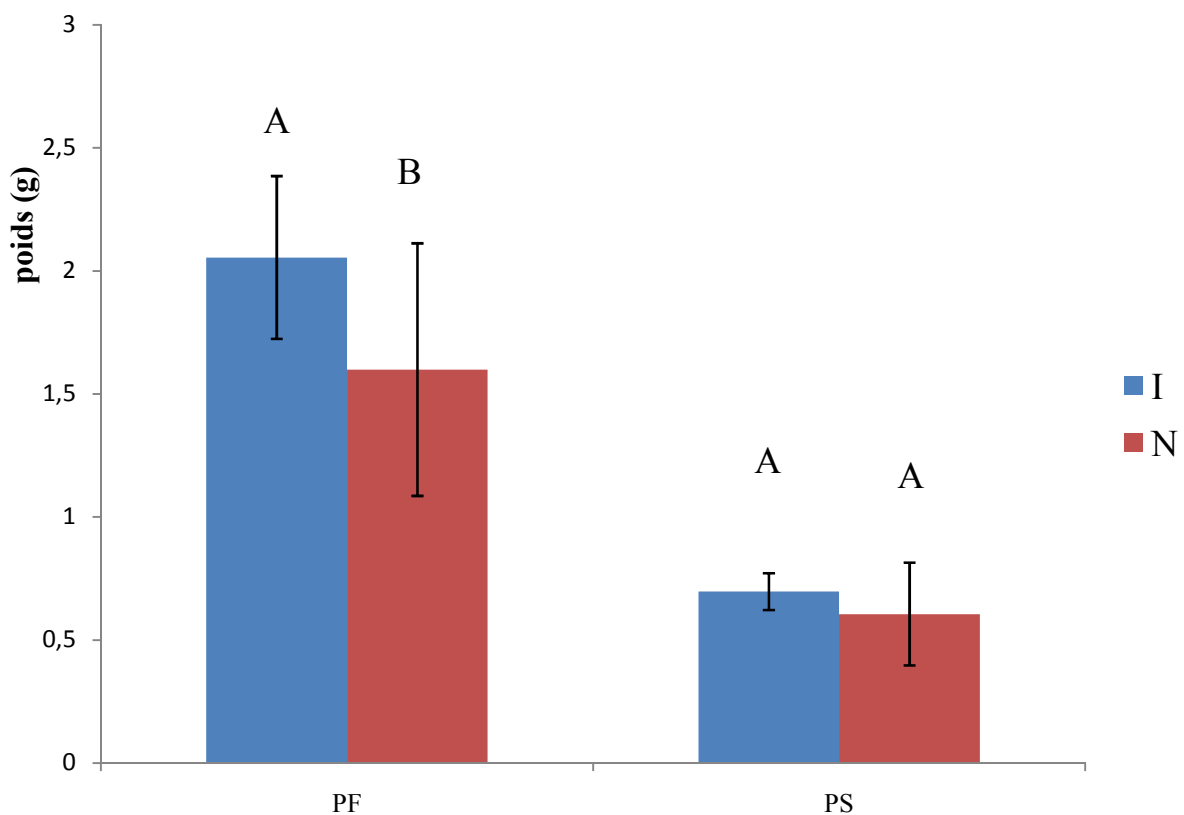
### 2-3-2 poids frais et secs des nodules

D'après la figure 20, les poids frais nodulaires (PFN) des plantes inoculées sont supérieurs à ceux des plantes non inoculées. On remarque aussi que les poids secs nodulaires (PSN) des plantes inoculées sont légèrement supérieurs à ceux des plantes non inoculées.

L'analyse de variance nous confirme qu'il y a une différence significative entre les poids frais nodulaires des plantes inoculées de ceux des plantes non inoculées. L'inoculation par la souche *R. leguminosarum* a entraîné une augmentation de + 28% du poids frais nodulaire, ceci serait dû à l'état hydrique des nodules. En effet, les résultats obtenus sur le dolique par Figueiredo et *al.* (1998) ont montré une efficacité de la souche d'inoculation dans de telles conditions. D'autres travaux effectués auparavant sur le soja (Sprent, 1981) ont souligné l'importanc

nodules et leur capacité à supporter le stress hydrique. Selon les résultats de ces travaux, les petits nodules perdent rapidement leurs réserves en eau, alors que les nodules de grand taille possèdent un parenchyme corticale plus épais qui empêche ou réduit leurs déshydratation.

Malgré l'augmentation de + 15% des poids secs nodulaires notée chez les plantes inoculées, cette différence n'est pas significative. L'inoculum n'a pas amélioré significativement les poids secs nodulaires par rapport au témoin, ceci pourrait s'expliquer par le contenu élevé des réserves en eau dans les nodules des plantes inoculées, comparativement à ceux du traitement non inoculé.

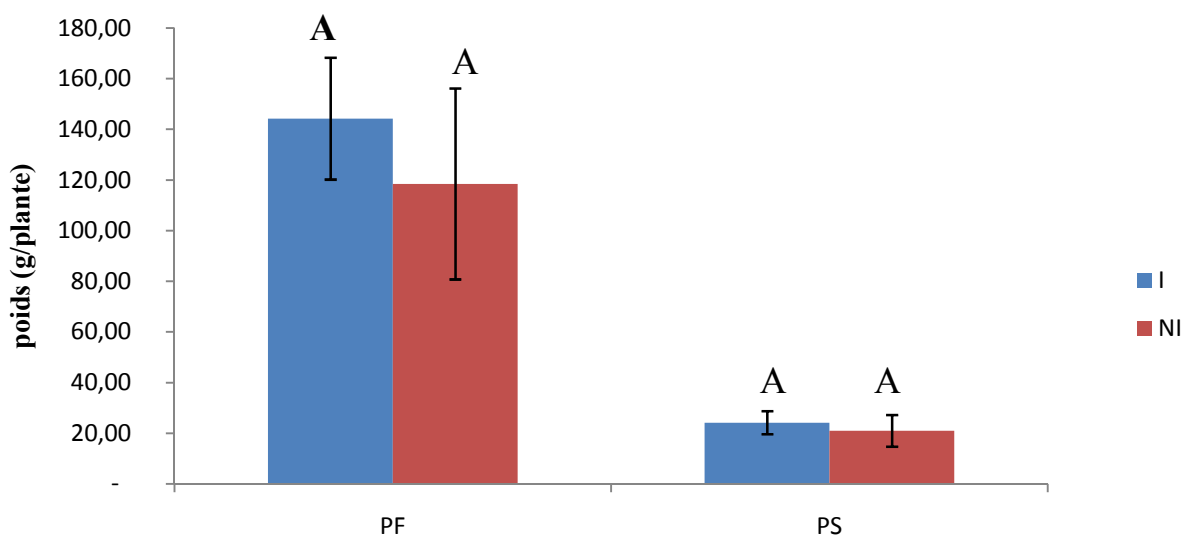


**Figure 20 :** Effet d'inoculation de *R.leguminosarum* sur les poids frais et secs nodulaires des plantes de *Vicia faba* L.

Deux histogrammes ayant la même lettre, leurs moyennes ne sont pas significativement différentes ( $p < 0,05$ ).

### 2-3-3 Poids frais et poids secs des parties aériennes

D'après les résultats de la figure 21, les poids frais (PFPa) et les poids secs (PSPa) des parties aériennes des plantes inoculées sont supérieurs à ceux des plantes non inoculées.



**Figure 21** : effet d'inoculation de *R.leguminosarum* sur le poids frais et les poids sec des parties aériennes des plantes de *Vicia faba* L.

Deux histogrammes ayant la même lettre, leurs moyennes ne sont pas significativement différentes ( $p < 0,05$ ).

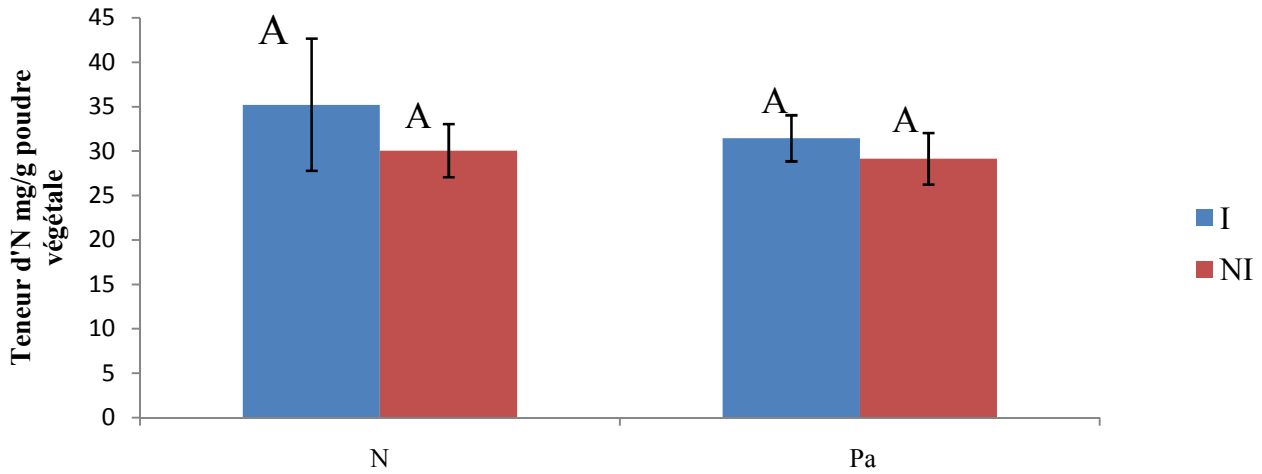
L'inoculation a amélioré les poids frais et secs de la partie aérienne de l'ordre de 22% et 15% respectivement, mais l'analyse de variance a révélé une différence non significative. Ces résultats sont en désaccords avec ceux obtenus sur le soja par Thao (2002) et sur les arachides par Wange (1989) qui ont montré dans leurs travaux que l'inoculation améliore d'une façon significative la biomasse fraîche et sèche de ces légumineuses. Dans notre cas, le nombre insuffisant de répétitions n'a pas permis de révéler des différences significatives, malgré l'amélioration relative de ces deux variables.

### 2-3-4 Teneurs en azote des parties aériennes et nodulaires

Comme l'indique la figure 22, les teneurs en azote (exprimé en mg N/g de poudre végétale sèche), mesurées dans les parties aériennes (NPa) et nodulaires (NN) ; sont nettement supérieures chez les plantes inoculées par rapport à celles enregistrées chez les plantes non inoculées.

Bien qu'il y ait une différence des teneurs en azote des parties aériennes et nodulaires de l'ordre de 17% et 7% respectivement en faveur du traitement inoculé, l'analyse de variance nous montre qu'il n'y a pas un effet significatif.





**Figure 22** : l'effet d'inoculation de *R.leguminosarum* sur la teneur en azote nodulaire (N) et des parties aériennes (Pa) des plantes de *Vicia faba* L.

*Deux histogrammes ayant la même lettre leurs moyennes ne sont pas significativement différentes ( $p < 0,05$ ).*

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par (Greenwood et *al.*, 1999; Gastel et Lemaire, 2002) qui suggèrent que la concentration d'azote dans la plante, diminue pendant son développement lors de la formation des graines. Cette différence non significative révélée par l'analyse de variance serait due, comme nous l'avons déjà indiqué, à l'insuffisance du nombre de répétitions au niveau de chaque Bloc.

---

## Conclusion

Afin d'évaluer le bénéfice de l'inoculation de la féverole par une souche de *Rhizobium leguminosarum* isolée localement, nous avons mené un essai expérimental en plein champ, à l'INRAA de Oued-Ghir (Bejaïa) sur un sol limono-argileux, pauvre en azote et en matière organique.

Les résultats obtenus montrent que l'inoculation n'a pas eu d'effet significatif sur la hauteur des tiges, le nombre de gousses, les poids frais et secs des parties aériennes, les poids secs des nodules, ainsi que leurs teneurs en azote.

Toutefois, l'analyse de variance a montré un effet hautement significatif ( $p < 0,001$ ) concernant le nombre de nœuds/plante (+ 44%) et un effet significatif ( $p < 0,05$ ) aussi bien sur le nombre de graines/plante (+ 16%) que sur le poids frais des nodules (+ 28 %). L'amélioration du rendement en grains et en masse nodulaire de la féverole serait étroitement liée à l'efficacité des nodules.

En perspectives, il serait intéressant :

- de poursuivre cette étude jusqu'au stade de récolte des graines afin d'évaluer la réponse de la féverole à l'inoculation et d'estimer d'autres composantes de rendement.
- d'essayer une double inoculation par la sélection de souches efficaces et complémentaires dans différentes conditions édapho-climatiques.

## Références Bibliographiques

**Aerse A.A., Räsänen L.A., Assefa F., Hailemariam A., Lindström K., 2012.** Phylogeny and genetic diversity of native rhizobia nodulating common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Ethiopia. *Systematic and Applied Microbiology*. (35): 120– 131.

**Baize D., 2000.** Guide des analyses en pédologie. INRA.14, rue de l'université -75338 Paris cedex 07: 33-99

**Beck D.P., 1992.** Yield and nitrogen fixation of chick pea cultivars in response to inoculation with selected rhizobial strains. *Agron. Jour.* (84): 510-516.

**Benachour K., 2008.** Diversité et activité polinisatrice des abeilles (*Hymenoptera Apoidea*) sur les plantes cultivées. Thèse de doctorat, université Mentouri de Constantine, 151pp.

**Ben Friha F.L., 2008.** Analyse de la diversité génétique et symbiotique des populations naturelles tunisiennes de *Medicago truncatula* et recherche de QTL liés au stress salin. Thèse de doctorat, université de Toulouse, 255pp.

**Benhizia Y., Benhizia H., Benguedouor A., Muresur R., Giacomini A., Squartini A., 2004.** Gamma proteobacteria can nodulate legumes of the genus *Hedysarum*. *Syst. Appl. Microbiol.* 27(4): 4462-468.

**Bergey's Manual of Systematic Bacteriology., 2005.** Second Edition Volume Two. The *Proteobacteria*; DJ. Brenner, NR. Krieg, JT. Staley (eds): 326-338.

**Bogino P., Nievas F., Banchio E., Giordano W., 2011.** Increased competitiveness and efficiency of biological nitrogen fixation in peanut via in-furrow inoculation of rhizobia. *European Journal of Soil Biology*. (47): 188-193.

**Boussard O., 1943.** Culture légumière, éd. J-B. Bailliere et fils, Paris: 276-286.

**Calvet et Villemin., 1986.** Interprétation des analyses de terre. I.P.A.S, S.C.P.A, 25pp.

**Cavaillès E., 2009.** La relance des légumineuses dans le cadre protéique: quels bénéfices environnementaux ? éd *Etudes et document*. (15), 44pp.

**Chafi M.H. et Bensoltane A., 2009.** *Vicia faba* est une source d'engrais organique et biologique pour les régions aride Algérienne. *World Journal of Agriculture Science*. 5(6): 699-766.

**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): 329-339.

**Coutinho H.L.C., Oliveira V.O., Lovato A., Maia H.A.N., Manfio G.P., 1999.** Evaluation of the diversity of rhizobia in Brazilian agricultural soils cultivated with soybeans. *Applied Soil Ecology*. (13): 159-167.

**Date R.A., 2000.** Inoculated legumes in cropping systems of the tropics. *Field Crops Research*. (65):123-136.

**Deaker R., Roughly R.J., Kennedy I.R., 2004.** Legume seed inoculation technology-a review. *Soil Biology & Biochemistry*. (36): 1275–1288.

**Duc G., Mignolet C., Carrouée B., Huyghe C., 2010.** Importance économique passé et présent des légumineuses : rôle historique dans les assolements et facteurs d'évolution. *Innovation Agronomique*.(11): 2-24.

**Depret G et Laguerre G., 2000.** Plant phenology and genetic variability in root and nodule development strongly influence genetic structuring of *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* populations nodulating pea. *New Phytologist*. (179): 224–235.

**El Hilali I., 2006.** La symbiose rhizobium légumineuse: biodiversité des micros symbiotiques et mise en évidence d'une multi-infection nodulaire chez *Lupinus luteus*. Thèse de doctorat, université de Mohamed V, AGDAL (Rabat, Maroc), 231pp.

**Fleischman D., Kramer D., 1998.** Photosynthetic rhizobia. *Biochimica et Biophysica Acta*. (1364): 17–36.

**Figueiredo M.V.B., Burity H.A and De França F.P., 1998.** Water deficit stress effects on N<sub>2</sub> fixation in cowpea inoculated with different *Bradyrhizobium* strains. *Can. J. Plant Sci*. (38): 311-321.

**Fitouri D.S., Ben Jeddi F., Zribi K., Rezgui S., Mhamdi R., 2012.** Effet de l'inoculation par une souche osmotolérante de *Rhizobium sultae* sur la croissance et la production en protéine du sulla (*Hedysarum coronarium* L.) sous déficit hydrique. *Journal of Applied Biosciences*. (51): 3642– 3651.

**Gallais A., Bannerot H., Cousin R., 1992.** Amélioration des espèces végétales cultivées : les protéagineux (la féverole), éd INRA ; Paris: 189-203.

**Gan Y., Hanson K.G., Zentner R.P., Selles F., McDonald C.L., 2005.** Response of lentil to microbial inoculation and low rates of fertilization in the semiarid Canadian prairies. *Canadian journal of plant scienc*: 847-855

**Gastal F. et Lemaire G., 2002.** N uptake and distribution in crops: an agronomical and ecophysiological perspective. *Journal of Experimental Botany*. (53): 789-799.

**Genève L., 1990.** Biologie végétale : Thallophytes et microorganisme, Biosciences. Édition Dunod, Paris: 123-134.

**Gobat J.M., Aragno M., Matthew W., 2010.** Sol vivant: Base de pédologie et biologie des sols, 3<sup>ème</sup> édition revue et augmentée : 671-708.

**Gough C., 2009:** *Medicago truncatula*, un modèle pour l'étude des endosymbiose racinaires. *Biofutur*. (298): 29-33.

**Graham P.H., Draeger K., Ferrey M.L., Conroy M.J., Hammer B.E., Martinez E., Naarons S.R., Quinto C., 1994.** Acid pH tolerance in strains of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and initial studies on the basis for acid tolerance of *Rhizobium tropici* UMR1899. *Canadian Journal of Microbiology*. (40): 198-207.

**Greenwood D.J., Gastal F., Lemaire G., Draycott A.P., Millard P., Neeteson J.J., 1991.** Growth rate and % N of field grown crops: theory and experiments. *Annals of Botany*. (67): 181-190.

**Guignard J.L., 2000.** Biochimie végétale, 2<sup>ème</sup> édition Dunod, Paris: 59-63.

**Hartwig U.A., 1998.** The regulation of symbiotic N<sub>2</sub> fixation: a conceptual model of N feedback from the ecosystem to the gene expression level. Perspectives in Plant, *Ecology Evolution and Systematics*. 1(1): 92–120.

**Higashi S., 1993.** (Brady) Rhizobium-Plant Communications Involved in Infection and Nodulation. *Journal of Plant Research*. (106): 201-211.

**Hopkins, 2003.** Physiologie végétale, édition *De Boeck*, université, rue des Minimes, 39 B-1000 Bruxelles: 99-119.

**Huang H.C., Erickson R.S., Hsieh T.F., 2007.** Control of bacterial wilt of bean (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *Flaccumfaciens*) by seed treatment with *Rhizobium leguminosarum*. *Crop Protection*. (26): 1055-1061.

**Hungria M., Louriero M.F., Mendes I.C., Campo R.J., Graham P.H., 2005.** Inoculants preparation production and application, D. Werner and W. E. Newton (eds.), Nitrogen Fixation in Agriculture, *Forestry Ecology and the Environment*: 223-253.

**Kahindi J.H.P., Woome P., George T., de Souza Moreira F.M., karanja N.K., Giller K., 1997.** Agriculture intensification, soil biodiversity and ecosystem function in the tropics: the role of nitrogen-fixing bacteria, *Applied Soil Ecology*. (6): 57-76.

**Kaysi Y. et Melcio J.P., 1992:** traitement technologique des protéagineux pour le monogastrique : exemple d'application à la graine de féverole. *INRA/Prod. Anim.*5 (1):3-17.

**Kellman A.W., 2008.** Rhizobium inoculation, cultivar and management effects on the growth, development and yield of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). A thesis submitted in fulfilment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy at Lincoln University Canterbury New Zealand, 278pp.

**Kempel A., Brandl R., Schadler M., 2009.** Symbiotic soil microorganisms as players in aboveground plant-herbivore interactions-the role of rhizobia. *Oikos*. (118): 634-640.

**Labdi M., 1991.** Perspective de développement des légumineuses annuelles dans les systèmes céréaliers des zones semi-aride. *Céréaliculture*. (25): 12-20.

**Laguerre G., Allard M.R., Revoy F., Amarger N., 1994.** Rapid Identification of Rhizobia by Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of PCR-Amplified 16S rRNA Genes. *Appl. Environ. Microbiol.* 60 (1): 56-71.

**Lambert J., 1975.** Analyse des sols et des végétaux. Manuel d'information, 114pp.

**Larousse agricole., 2002.**

**Laumonier R., 1979.** Culture légumière et maraichère, *édition* .J-B-BAILLIERE, 19 rue Hautefeuille, Paris : 116-134.

**Lessire M., Hallouis J.M., Chagneau A.M., Besnard J., Travel A., Bouvarel I., Crépon K., Duc G., Dulieu P., 2005.** Influence de la teneur en vicine et convicine de la féverole sur les performances de production de la poule pondeuse et la qualité de l'œuf ; *6<sup>ème</sup> journées de la recherche avicole*, S<sup>T</sup> Malo, 30 et 31 mars: 174-178.

**Lemaire G. et Nicolardot B., 1997.** Maitrise de l'azote dans les agrosystèmes. *Edition INRA*, 147, rue de l'université -75338 Paris cedex 07: 10-22.

**Lindstrom K., Murwira M., Willems A., Altier N., 2010:** The biodiversity of beneficial microbe-host mutualism: the case of rhizobia. *Research in Microbiology*. (161): 453-463.

**L'taief B., Sifi B., Zaman-Allah M., Hajji M., Lachaâl M., 2009.** Effets de la fertilisation azotée, de l'inoculation par *Rhizobium sp.* et du régime des pluies sur la production de la biomasse et la teneur en azote du pois chiche. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 13(4): 537-544.

**Maatougui M.E.H., 1996.** Situation de la culture des fèves en Algérie et perspective de relance. *Céréalculture*. (29): 3-17.

**Maatougui M.E.H., 1999.** Situation actuelle des légumineuses alimentaire en Algérie et les perspectives de développement. *Céréalculture*. (31): 2-40.

**Maj D., Wielbo J., Marek-Kozaczuk M., Skorupska A., 2010.** Response to flavonoids as a factor influencing competitiveness and symbiotic activity of *Rhizobium leguminosarum*. *Microbiological Research*. (165) : 50-60.

**Malki M., 1999.** Légumineuses alimentaires et amélioration durable des systèmes de production. *Céréalculture*. (31): 117-124.

**Maougal R., 2004.** Technique de production d'inoculation rhizobial. Étude de cas de pois chiche (*Cicer arietinum* L.) : inoculation et nodulation. Thèse magistère, université Mentouri Constantine, 163pp.

**Mazur A., Stasiak G., Wielbo J., Kubik-Komar A., Marek-Kozaczuk, Skorupska A., 2011.** Intragenomic diversity of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* clover nodule isolates. *BMC Microbiology*. (11): 123-138.

**Métayer J.P., Barrier-Guillot B., Skiba F., Crépon K., Bouvarel I., Marget P., Duc G., Lessire M., 2003.** Valeur alimentaire et utilisation de différents types de féveroles chez le poulet et le coq adulte ; 5<sup>ème</sup> journées de la recherche avicole ; Tours, 26 et 27 mars: 1-4.

**Meyer, Reeb, Rosdeveix., 2008.** BOTANIQUE: biologie et physiologie végétale, 2<sup>ème</sup> édition MALOINE, 27 rue de l'école de médecine. 75006, Paris: 226-227.

**Morot-Gaudry J.F., 1997.** Assimilation de l'azote chez les plantes : aspect physiologique et moléculaire, édition INRA France 147. Rue de l'université-75338, Paris cedex 07: 134-177.

**Morot-Gaudry J.F. et Prat R., 2009.** Biologie végétale: croissance et développement, Dunod, Paris: 205-212.

**Moule C., 1972.** Plantes sarclées et Diverses, édition la MAISON RUSTIQUE, Paris : 4-15.

**Moulin L., Munive A., Dreyfus B., Bovin-Masson C., 2001.** Nodulation of legumes by members of the beta-subclass of proteobacteria. *Nature*. (411): 948-950.

**Mulas D., García-Fraile P., Carro L., Ramírez-Bahena M.H., Casquero P., Velázquez E., González-Andrés F., 2011.** Distribution and efficiency of *Rhizobium leguminosarum* strains nodulating *Phaseolus vulgaris* in Northern Spanish soils: Selection of native strains that replace conventional N fertilization. *Soil Biology and Biochemistry*. (43): 2283-2293.

**Offroukh A et Aggad H., 1996.** Contribution à la connaissance des maladies à virus des légumineuses alimentaires : état actuel sur les recherches des viroses affectant la fève (*Vicia faba*) en Algérie. *Céréalculture*. (29): 35-38.

**Ozenda P., 2000.** Les végétaux : organisation et diversité biologique, 2<sup>ème</sup> édition Dunod, Paris: 417-424.

**Pansu M., Gautheyou J., Ioyer J.Y., 1998.** L'analyse du sol: échantillonnage, instrumentation et contrôle. Ed.Masson 120 bd Saint Germain, 75280 Paris cedex 06: 3-28.



**Peret B., 2007.** Transport de l'auxine et développement du nodule actinorhizien chez l'arbre tropicale *Casuarina glauca*. Thèse de doctorat, université de Montpellier II, 77pp.

**Promé J.C., 1999.** Les facteurs Nod, éléments de reconnaissance entre bactérie et plantes légumineuses, lors de leur symbiose fixatrice d'azote. *Ann. Pharm. Fr*: 240-245.

**Rasanen L.A., 2002.** Biotic and abiotic factors influence the development of N<sub>2</sub> fixing symbiose between rhizobia and the woody legumes acacia and prospis. Thèse de doctorat. Helsinki. Finland, 99pp.

**Raven, Evert, Eichhorn, 2008.** Biologie végétale, 2<sup>ème</sup> édition De Boeck, université, rue des Minimes, 39 B-1000 Bruxelles: 653-661.

**Rejili M., Mahdhi M., Fterich A., Dhaoui S., Guefrachi I., Abdeddayem R., Mars M., 2012.** Symbiotic nitrogen fixation of wild legumes in Tunisia: Soil fertility dynamics, field nodulation and nodules effectiveness. *Agriculture, Ecosystems and Environment*: 1-10.

**Rogel M.R., Ormeno-Orrillo, Romero E.M., 2011.** Symbiovars in rhizobia reflect bacterial adaptation to legumes. *Systematic and Applied Microbiology*. (34): 96–104.

**Salem S.A., EL-Massri M.F., 1985.** Effetc of rhizobium inoculation and phosphorus fertilizer levels on nodulation, seed and other agronomic caracters of Faba bean (*Vicia faba* L.), *Alex.J.agri.res.* 31(3): 115-125.

**Saoudi M., 2008.** Les bactéries nodulant les légumineuses (B.N.L): caractérisation des bactéries associées aux nodules de la légumineuse *Astragalus armatus*. Thèse magistère. Université de Constantine, 99pp.

**Schultze M and Kondorosi A., 1996.** The role of Nod signal structures in the determination of host specificity in the Rhizobium-legume symbiosis. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. (12): 137-149.

**Sellami S. et Bousmina Z., 1996.** Distribution de *Ditylenchus Dipsaci* (KVHN) FILIPEJEV sur fève dans l'Est Algérien. *Céréalculture*. (29): 32-34.

**Semasegaran P., Hoben H.J., 1985.** Methods in legume of technology, university of Hawaii, *NIFTAL*”PROJET and MIRCEN””: 257-274.

**Shamseldin A., El-Saadani M., Sadowsky M.J., Chung Sun An., 2009.** Rapid identification and discrimination among Egyptian genotypes of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* and *Sinorhizobium meliloti* nodulating faba bean (*Vicia faba* L.) by analysis of *nodC*, ARDRA, and rDNA sequence analysis. *Soil Biology & Biochemistry*. (41): 45–53.

**Skerman P.J., 1982.** Les légumineuses fourragères tropicales, *éditions FAO*, 241pp.

**Soltner D., 1988.** Les bases de la production végétale - le sol. Edition: coll. *Sci. Et Tec. Agric. Anger*. Tom 1: 58-72.

**Spaink H.P., 1994.** The molecular basis of the host specificity of the Rhizobium bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*. (65): 81-98.

**Sprent J.I., 1981.** Nitrogen fixation. In: Paleg L.G. & Aspinall D., eds. *The physiology and biochemistry of drought resistance in plants*. Sydney, Australia Academic Press: 131-151.

**Sultan T., Aslam M., Mahmood I.A., Ahmad S., Zahid M.A., 2002.** Growth and yield response of chickpea (*Cicer arietinum*) to various rhizobium strains fertilized with different phosphorus levels. *International Journal of agriculture Biology*. (2): 89-91.

**Thao T.Y., Singleton P.W., Herridge D., 2002.** Inoculation response of soybean and liquid inoculants as an alternative to peat-based inoculants. Inoculants and Nitrogen Fixation of Legumes in Vietnam, ed. by D. Herridge. *ACIAR Proceedings*. (109): 67-74.

**Tourte Y., Bordonneau M., Henry M., Tourte C., 2005.** Le monde des végétaux : organisation, physiologie et génomique. *Edition Dunod*, Paris: 164-171.

**Vilarino M., Métayer J.P., Crépon K., Duc G., 2008.** Effect of varying vicine, convicine and tannin contents of faba bean seeds (*Vicia faba* L.) on nutritional value for broiler chicken; *Animal Feed Science and Technology*. (150): 114-121.

**Vincent J.M., 1970.** A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. IBP handbook N°15. Blackwell Scientific Publishers, Oxford.

**Wange S.S., 1989.** Response of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) to inoculation with Rhizobium strains isolated from wild arboreal legumes. *MIRCEN Journal* (5): 13-5141.

**Warman, 1981.** Principe fondamentaux de la culture d'engrais vert. *Ecological Agriculture Projects*. Mc Gille university. Canada : 1-10.

**Watkins L., 2008.** Inoculation des espèces des légumineuses. *EDN*. (101): 2-10.

**Willems A., 2006.** The taxonomy of rhizobia: an overview. *Plant and Soil*: 287-314.

**Zaghouane O., 1991.** The situation of Faba bean (*Vicia faba* L.) in Algeria. *Options méditerranéens*. Série séminaires 10: 123-125.

**Zaghouane O., Sidennas R., Kada M., Manseur A., 1995.** Effet d'inoculation sur la nodulation, le développement et le rendement en grain du pois chiche. *Céréalculture*. (28) :13-18.

**Zakhia F., de Lajudie P., 2001.** Taxonomie of Rhizobia, *Agronomie*. (21) : 569-576.

**Zakhia F., de Lajudie P., 2006.** La taxonomie bactérienne moderne: revue des techniques-application à la caractérisation des bactéries nodulant les légumineuses (BNL). *Canada Journal of Microbiology* : 123-134.

## ANNEXES

### **Annexe 1** : Composition du milieu de culture (YMB) (Vincent, 1970)

Mannitol	10g
Extrait de levure	0,4g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5g
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,2g
NaCl	0,1g
Eau distillée	1000ml

Le pH est ajusté à 6,8

Autoclavage à 120°C pendant 20mn

**Annexe 2 : Résultats de l'analyse de variance à un seul facteur**

\*\*\*\* Analyse de variance des paramètres non destructifs \*\*\*\*

Caractéristique du fichier : inoculation

Nombre d'observation : 72

Nombre de variable : 6

No et noms des variables

1. TRT/ 2.BLOC /3.HAUT/ 4.NG/ 5.NNO/ 6.NGR

DISPOSITIF DE L'ESSAI : FACTORIEL 1 FACTEUR EN BLOC

Facteur 1 = 2 Traitements

1 = inoculé (I)

2 = non inoculé (NI)

Facteur 2 = 6 Blocs (répétitions) / {}

VARIABLES A ANALYSER :

1<sup>re</sup> VARIABLE : Hauteur des tiges (HAUT)

2<sup>e</sup> VARIABLE : Nombre de graines (NG)

3<sup>e</sup> VARIABLE : Nombre de nœuds (NNO)

4<sup>e</sup> VARIABLE : Nombre de graines (NGR)

## Analyse de variance de la variable HAUTEUR

	DL_EFFET	MC_EFFET	DL_ERREUR	MC_ERREUR	F	NIVEAU_P
1	1	0.0556	66	55.98485	0.000992	0.974965
2	2	151.1667	66	55.98485	2.700135	0.074620
12	2	167.0556	66	55.98485	2.983942	0.057461

## Test LSD; Moyenne

	MOY_	VAR2
1	88.05556	XXXX
2	88.11111	XXXX

## Test LSD; Blocs

	MOY_	VAR2	VAR3
2 3 {6}	83.16666	XXXX	
1 1 {1}	87.16666	XXXX	
2 1 {4}	87.83334	XXXX	XXXX
1 2 {2}	88.33334	XXXX	XXXX
1 3 {3}	88.66666	XXXX	XXXX
2 2 {5}	93.33334		XXXX

## Analyse de variance de la variable Nœuds

	DL_EFFET	MC_EFFET	DL_ERREUR	MC_ERREUR	F	NIVEAU_P
1	1	760.5000	66	4.515152	168.4329	<b>0.000000</b>
2	2	4.1806	66	4.515152	0.9259	0.401261
12	2	10.7917	66	4.515152	2.3901	0.099509

## Test LSD; Moyenne Noeuds

	MOY_	VAR2	VAR3
2	15.52778	<b>XXXX</b>	
1	22.02778		<b>XXXX</b>

Test LSD; Blocs Noeuds			
	MOY_	VAR2	VAR3
2 3 {6}	14.75000	XXXX	
2 2 {5}	15.91667	XXXX	
2 1 {4}	15.91667	XXXX	
1 1 {1}	21.00000		XXXX
1 3 {3}	22.50000		XXXX
1 2 {2}	22.58333		XXXX

Analyse de variance de la variable Gousses						
	DL_EFFECT	MC_EFFECT	DL_ERREUR	MC_ERREUR	F	NIVEAU_P
1	1	32.00000	66	14.11869	2.266500	0.136969
2	2	12.54167	66	14.11869	0.888303	0.416213
12	2	0.29167	66	14.11869	0.020658	0.979560

Test LSD; Moyenne Gousses		
	MOY_	VAR2
2	10.58333	XXXX
1	11.91667	XXXX

Test LSD; Blocs gousses		
	MOY_	VAR2
2 3 {6}	9.75000	XXXX
2 1 {4}	10.66667	XXXX
1 3 {3}	11.16667	XXXX
2 2 {5}	11.33333	XXXX
1 1 {1}	12.16667	XXXX
1 2 {2}	12.41667	XXXX

Analyse de variance de la variable Graines						
	DL_EFFECT	MC_EFFECT	DL_ERREUR	MC_ERREUR	F	NIVEAU_P
1	1	253.1250	66	47.10985	5.373080	0.023559
2	2	59.1806	66	47.10985	1.256225	0.291445
12	2	54.1250	66	47.10985	1.148911	0.323239

Test LSD; Moyenne Graines			
	MOY_	VAR2	VAR3
2 .... {2}	23.11111	xxxx	
1 .... {1}	26.86111		xxxx

Test LSD; Blocs Graines				
	MOY_	VAR2	VAR3	VAR4
2 2 {5}	21.75000	xxxx		
2 3 {6}	22.91667	xxxx	xxxx	
1 3 {3}	23.75000	xxxx	xxxx	xxxx
2 1 {4}	24.66667	xxxx	xxxx	xxxx
1 1 {1}	28.25000		xxxx	xxxx
1 2 {2}	28.58333			xxxx



\*\*\*\*\* Analyse de variance des paramètres destructifs \*\*\*\*\*

Caractéristique du fichier : inoculation

Nombre d'observations : 18

Nombre de variables : 8

No et noms des variables

1. TRT/ 2.BLOC / 3.PFN/ 4.PSN/ 5.PFPa/ 6.PSPa/ 7.NN/ 8.NPa

DISPOSITIF DE L'ESSAI : FACTORIEL 1 FACTEUR EN BLOC

Facteur 1 = 2 Traitements

1 = inoculé (I)

2 = non inoculé (NI)

Facteur 2 = 6 Blocs (répétitions) / {}

VARIABLES A ANALYSER :

1<sup>re</sup> VARIABLE : Poids frais des nodules (PFN)

2<sup>e</sup> VARIABLE : Poids secs des nodules (PSN)

3<sup>e</sup> VARIABLE : Poids frais parties aériennes (PFPa)

4<sup>e</sup> VARIABLE : Poids secs des parties aériennes (PSPa)

5<sup>e</sup> VARIABLE : Teneurs en azote des nodules (NN)

6<sup>e</sup> VARIABLE : Teneurs en azote parties aériennes (NPa)

Analyse de variance de la variable PFN						
	DL_EFFET	MC_EFFET	DL_ERREUR	MC_ERREUR	F	NIVEAU_P
1	1	0.933889	12	0.117794	7.928123	0.015584
2	2	0.028817	12	0.117794	0.244635	0.786801
12	2	0.755972	12	0.117794	6.417724	0.012725

Test LSD; Moyenne PFN			
	MOY_	VAR2	VAR3
2 .... {2}	1.598889	xxxx	
1 .... {1}	2.054445		xxxx

Test LSD; Blocs PFN				
	MOY_	VAR2	VAR3	VAR4
2 3 {6}	1.126667	xxxx		
2 1 {4}	1.723333	xxxx	xxxx	
1 2 {2}	1.830000		xxxx	xxxx
2 2 {5}	1.946667		xxxx	xxxx
1 1 {1}	1.956667		xxxx	xxxx
1 3 {3}	2.376667			xxxx

Analyse de variance de la variable PSN						
	DL_EFFET	MC_EFFET	DL_ERREUR	MC_ERREUR	F	NIVEAU_P
1	1	0.037356	12	0.019183	1.947292	0.188166
2	2	0.036406	12	0.019183	1.897770	0.192256
12	2	0.045206	12	0.019183	2.356502	0.137013

Test LSD; Moyenne PSN		
	MOY_	VAR2
2 .... {2}	0.605555	xxxx
1 .... {1}	0.696667	xxxx

Analyse de variance de la variable PFPa						
	DL_EFFET	MC_EFFET	DL_ERREUR	MC_ERREUR	F	NIVEAU_P
1	1	2995.380	12	636.1144	4.708869	0.050796
2	2	1112.751	12	636.1144	1.749293	0.215444
12	2	3077.422	12	636.1144	4.837843	0.028791

Test LSD; Moyenne PFPa				
	MOY_	VAR2	VAR3	VAR4
2 3 {6}	91.8667	xxxx		
2 1 {4}	105.4667	xxxx	xxxx	
1 2 {2}	131.6333	xxxx	xxxx	xxxx
1 3 {3}	143.4333		xxxx	xxxx
1 1 {1}	157.8000			xxxx
2 2 {5}	158.1333			xxxx

Analyse de variance de la variable PSPa						
	DL_EFFET	MC_EFFET	DL_ERREUR	MC_ERREUR	F	NIVEAU_P
1	1	45.76056	12	23.70111	1.930735	0.189921
2	2	14.70167	12	23.70111	0.620294	0.554171
12	2	82.35389	12	23.70111	3.474685	0.064494

Test LSD; Moyenne PSPa			
	MOY_	VAR2	
2 .... {2}	20.98889		xxxx
1 .... {1}	24.17778		xxxx

Test LSD; Blocs PSPa			
	MOY_	VAR2	VAR3
2 3 {6}	17.13333	xxxx	
2 1 {4}	19.30000	xxxx	xxxx
1 2 {2}	21.16667	xxxx	xxxx
1 3 {3}	24.53333	xxxx	xxxx
2 2 {5}	26.53333		xxxx
1 1 {1}	26.83333		xxxx

Analyse de variance de la variable NN						
	DL_EFFET	MC_EFFET	DL_ERREUR	MC_ERREUR	F	NIVEAU_P
1	1	120.0217	12	26.65818	4.502246	0.055352
2	2	78.6689	12	26.65818	2.951025	0.090713
12	2	13.6754	12	26.65818	0.512989	0.611259
Test LSD; Moyenne NN						
	MOY_			VAR2		
2 .... {2}	30.05333			xxxx		
1 .... {1}	35.21778			xxxx		

Test LSD; Blocs NN				
	MOY_	VAR2	VAR3	VAR4
2 1 {4}	27.81333	xxxx		
2 2 {5}	29.35333	xxxx	xxxx	
1 1 {1}	29.68000	xxxx	xxxx	xxxx
2 3 {6}	32.99333	xxxx	xxxx	xxxx
1 2 {2}	37.14667		xxxx	xxxx
1 3 {3}	38.82667			xxxx

Analyse de variance de la variable NP <sub>a</sub>						
	DL_EFFET	MC_EFFET	DL_ERREUR	MC_ERREUR	F	NIVEAU_P
1	1	23.85102	12	9.703089	2.458086	0.142900
2	2	0.48347	12	9.703089	0.049826	0.951591
12	2	1.59849	12	9.703089	0.164740	0.850000

Test LSD; Moyenne NPA		
	MOY_	VAR2
2 .... {2}	29.13556	xxxx
1 .... {1}	31.43778	xxxx

Test LSD; Blocs NPA		
	MOY_	VAR2
2 3 {6}	28.93333	XXXX
2 2 {5}	28.98000	XXXX
2 1 {4}	29.49333	XXXX
1 1 {1}	30.70667	XXXX
1 3 {3}	31.36000	XXXX
1 2 {2}	32.24667	XXXX

## Résumé

L'inoculation des graines de la féverole (*Vicia faba* L.), par une souche locale de *Rhizobium leguminosarum*, au champ et sur un sol limono-argileux, n'a pas amélioré les paramètres de croissance de la plante ( hauteur des tiges, nombre de gousses, poids secs nodulaires, poids frais et secs ainsi que le contenu N total des parties aériennes et nodulaires).

Cependant, l'inoculation s'est traduite par des effets significatifs sur les paramètres de rendement, avec une augmentation du nombre de nœuds/plante de +44% et du nombre de graines/plante de +16%. Cette amélioration serait liée à l'augmentation de la masse fraîche nodulaire de +28%, comparativement aux plantes non inoculées.

**Mots clés:** *Vicia faba* L., *Rhizobium leguminosarum*, inoculation

## Abstract

Inoculation of the grain legume faba bean (*Vicia faba* L.) with local strain *Rhizobium leguminosarum* at field conditions, and on silty-clay soil does not improve plant growth parameters (shoots height, number of pods, nodules dry weight, fresh and dry weight as well as total N content of aerial parts and nodules).

However, inoculation resulted in significant effects on yield parameters with increasing of nodes/plants over 44% and seed number/plant over 16%. This improvement would be related to the increasing of the nodules fresh mass over +28% when compared with no inoculated plants.

**Key words:** *Vicia faba* L., *Rhizobium leguminosarum*, inoculation