

Réponses Physiologiques et Biochimiques au Déficit Hydrique Du Soja (Glycine Max (L.) Merrill) Inoculé par Bradyrhizobium Japonicum

[Physiological and Biochemical Responses of Soybean (Glycine Max (L.) Merrill) Inoculated with Bradyrhizobium Japonicum to Water Deficiency]

Zeya KABORE^{1*}, Adama Pascal KIHINDO¹, Razacswendé Fanta OUEDRAOGO¹, Hugues Roméo BAZIE¹, Dayéri DIANOU², Gérard ZOMBRE¹

¹Unité de Formation et Recherche en Sciences de la Vie et de la Terre,
Université Ouaga I Pr Joseph KI-ZERBO,
03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

²Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique,
03 BP 7047, Ouagadougou, Burkina Faso.

Résumé - Une étude de l'effet d'un déficit hydrique par interruption d'arrosage d'eau sur les paramètres physiologiques et biochimiques d'une variété de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) inoculée par la bactérie du sol *Bradyrhizobium japonicum*, a été réalisée. Les résultats obtenus montrent que le déficit hydrique entraîne aux stades végétatif et de floraison, une baisse de la teneur relative en eau, des potentiels hydriques foliaires de base et minimal et une élévation des teneurs en proline, en sucres solubles et en protéines totales foliaires. Les teneurs en chlorophylles a, b et totales ont eu une élévation significative au stade végétatif, sous l'effet du déficit hydrique. L'inoculation a augmenté significativement le potentiel hydrique minimal chez les plantes stressées au stade floraison, ainsi que le nombre de gousses et de graines aux deux stades chez les témoins. De plus, elle a atténué l'accumulation de proline et de sucres solubles chez les plantes stressées au stade végétatif. Par contre, l'inoculation a amélioré l'accumulation de proline et de sucres solubles au stade floraison. Cette étude a montré que le soja tolère mieux le stress hydrique aux niveaux physiologique et biochimique, lorsqu'il est préalablement inoculé avec *Bradyrhizobium japonicum*.

Mots Clés - Soja, Inoculation, Stress Hydrique, Potentiel Hydrique, Proline.

Abstract -The effect of a water deficit by interruption of watering on the physiological and biochemical parameters of a soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) variety inoculated with a *Bradyrhizobium japonicum* strain was investigated. The results obtained showed that the water deficit led at the vegetative and flowering stages, to a decrease in the relative water content and in the basic and minimal leaf water potentials, but to an increase in the contents of proline, soluble sugars and total leaf proteins. The levels of chlorophyll a, b and total had a significant elevation at the vegetative stage, under the effect of the water deficit. Inoculation significantly increased the minimum water potential in stressed plants at the flowering stage, as well as the number of pods and seeds at both stages in the controls. In addition, it attenuated the accumulation of proline and soluble sugars in plants stressed at the vegetative stage. On the other hand, inoculation improved the accumulation of proline and soluble sugars at the flowering stage. This study showed that soybeans are more tolerant of physiological and biochemical water stress when previously inoculated with *Bradyrhizobium japonicum*.

Keywords - Soybean, Inoculation, Water Stress, Water Potential, Proline.

I. INTRODUCTION

Dans les régions arides et semi arides, la production agricole est fortement dépendante de la disponibilité en eau et en éléments minéraux (dont l'azote et le phosphore) notamment pendant les phases sensibles du développement des plantes [1]. L'utilisation des engrais chimiques pour combler les carences en éléments minéraux est cependant controversée de par leur coût, leur implication dans le réchauffement climatique et leur impact sur l'environnement et la santé des populations [2]. L'utilisation des bactéries symbiotiques appartenant au genre *Bradyrhizobium*, autochtones des sols ouest-africains peuvent servir de bons modèles, pour comprendre les mécanismes adaptatifs à la sécheresse des légumineuses [3].

En général, la résistance des végétaux aux stress environnementaux est un mécanisme complexe qui implique une variété de modifications tant morphologiques, physiologiques que biochimiques ; particulièrement chez les légumineuses, les effets négatifs de ces contraintes s'exercent non seulement sur la plante hôte, mais également sur la croissance et le développement des souches de rhizobium du sol, sur le développement et le fonctionnement des nodosités, et donc sur la fixation de l'azote [4].

Le soja est une plante oléagineuse de la famille des légumineuses dont les graines renferment environ 40 % de protéines et 20 % de lipides riches en acides gras polyinsaturés, ainsi que des micronutriments qui lui confèrent des propriétés préventives contre les maladies

cardiovasculaires et les cancers [5]. Le soja rentre aussi bien dans l'alimentation humaine qu'animale. L'homme utilise ses graines et ses gousses immatures. Les diverses parties de la plante sont utilisées soit en l'état, soit en extrayant leurs constituants lipidiques, protéiques ...

L'objectif du présent travail est d'étudier les réponses physiologiques et biochimiques d'une variété de soja (G196) inoculée par une souche de bactérie appelée *Bradyrhizobium japonicum*, soumise à un stress hydrique aux stades végétatif et de floraison dans une perspective de participer à l'amélioration de la productivité agricole du soja dans les zones soumises à des sécheresses répétitives.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1- SITE D'ETUDE

L'étude a été conduite dans le jardin expérimental de l'Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Vie et de la Terre (UFR/SVT) de l'Université Ouaga 1 Pr Joseph KI- ZERBO au Burkina Faso. Les essais se sont déroulés en serre dans des pots en plastique de 5 litres.

2.2- MATERIEL

2.2.1- MATERIEL VEGETAL

Une variété de soja (G196) dont les graines ont été fournies par l'Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles (INERA) a servi de matériel végétal. Les caractéristiques agronomiques de cette variété sont présentées dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Caractéristiques agronomiques de la variété de soja étudiée

Nom	G196
Origine	Sénégal
Cycle semi-maturité	100 à 105 jours
Port	Erigé
Couleur du grain	Jaune
Rendement grain potentiel en saison humide	2 à 3 tonnes/ha
Aire de culture	Zone avec une pluviométrie comprise entre 750 et 1000 mm

2.2.2- MATERIEL BACTERIEN

La souche de bactérie *Bradyrhizobium japonicum* fournie par le Laboratoire Allemand de Microbiologie (DSMZ) a été utilisée pour l'inoculation. Les caractéristiques de cette souche sont indiquées dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Caractéristiques de la souche de bactérie ayant servi d'inoculum

Nom	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
DSM N°	30131, type strain
Isolée de	Nodules de soja
Conditions de culture	30°C ; temps d'incubation : 3-7 jours
Groupe de risque	1

2-3. METHODES

2.3.1 DISPOSITIF EXPERIMENTAL

Le dispositif expérimental utilisé a été un bloc complet randomisé à trois répétitions. Deux facteurs ont été étudiés par stade de développement de la plante (végétatif et floraison): le premier facteur est l'inoculation avec deux niveaux (plantes inoculées, plantes non inoculées) et le second facteur est le régime hydrique avec également deux niveaux (plantes arrosées, plantes stressées non arrosées).

Huit traitements ont été appliqués aux plantes dont 04 au stade végétatif et 04 autres au stade de floraison. Chaque bloc a été constitué de 24 pots dont 4 pots par unité expérimentale.

2.3.2 CONDUITE DE L'ESSAI

Les semis ont été réalisés dans des pots en plastique. Chaque pot a reçu au préalable 5 kg de terre prélevée sur un sol dont la composition chimique et granulométrique est la suivante : **Argile** : 7,84% ; **sable** : 66,67% ; **Carbone total** : 0,661% ; **Azote total** : 0,053% ; **C/N** : 12% ; **phosphore total** : 670 ppm ; **Phosphore assimilable** : 24,01 ppm ; **potassium total** : 1038 ppm ; **PH eau** : 6,72.

Les graines de soja prégermées ont été semées dans les pots à raison de 05 graines par pot. Le fond des pots a été perforé pour permettre l'égouttage de l'eau après arrosage. Au bout d'une semaine, un démariage des plantules a été fait et un seul plant a été conservé dans chaque pot. L'arrosage a été fait manuellement tous les deux jours à la capacité au champ (CAC), soit 1000 ml d'eau pendant la phase végétative et 2000 ml d'eau à partir de la floraison. Trois semaines après le semis des graines prégermées (21JAS), les jeunes plants ont été inoculés avec 05 ml de culture bactérienne de *Bradyrhizobium japonicum* en phase de croissance exponentielle. Des plants non inoculés ont servi de témoin. Un déficit hydrique de 07 jours a ensuite été appliqué aux plantes à la suite de l'inoculation, au stade végétatif, soit 45 JAS et au stade floraison soit 60 JAS. Mais au stade floraison, le déficit hydrique appliqué a été

interrompu au bout de 06 jours, le point de flétrissement permanent ayant été atteint. Des plants non stressés ont servi de témoins à chaque stade d'application de la contrainte hydrique.

2.3.3- PREPARATION DE L'INOCULUM

L'obtention de l'inoculum a consisté dans un premier temps à préparer un extrait de sol à partir de terre de jardin séchée à l'air libre (80 g), de carbonate de sodium (Na_2CO_3) (0,2 g) et d'eau distillée (200 ml). L'homogénat obtenu est autoclavé à 120°C pendant 01 heure, laissé à décanter, puis centrifugé. Le surnageant clair est ajusté à pH 7,2. Après autoclavage, 15 à 20 minutes à 120°C, le pH a été ajusté à 7. La souche de *Bradyrhizobium japonicum* est ensuite mise à cultiver dans un milieu contenant par litre : 800 ml d'eau distillée, 200 ml d'extrait de sol, 1 g d'extrait de levure et 10 g de Mannitol. L'inoculum bactérien a été obtenu au bout de 03 à 07 jours d'incubation à l'étuve à 30°C.

2.4- MESURE DES PARAMETRES PHYSIOLOGIQUES

2.4.1 TENEUR RELATIVE EN EAU (TRE) DES FEUILLES

La teneur relative en eau des feuilles a été mesurée sur la troisième feuille à partir de l'apex suivant la méthode décrite par Barrs [6]. Chaque feuille a été coupée à la base du limbe puis pesée à l'aide d'une balance de précision (DENVER Instruments, de précision 0,001g) pour obtenir la Masse Fraîche (MF). Elle a été mise, par la suite, dans un bocal de 200 ml rempli d'eau distillée, placée à l'obscurité à 4°C pendant 24 heures puis pesée de nouveau pour obtenir la Masse de la pleine Turgescence (MT). Enfin elle a été mise à l'étuve pendant 24 heures à 80 °C avant d'être pesée pour avoir la Masse Sèche (MS). La teneur relative en eau de la feuille est déduite par la formule suivante :

$$\text{TRE (\%)} = \frac{(MF-MS)}{(MT-MS)} \times 100 \text{ (Equation 1)}$$

2.4.2 POTENTIEL HYDRIQUE DES FEUILLES

Le potentiel hydrique représente la force avec laquelle l'eau est maintenue dans les feuilles de la plante. Le potentiel hydrique des feuilles a été mesuré à l'aide d'une chambre à pression (modèle SKPM 1400, Skye Instruments, Powys, UK) selon la méthode de Scholander [7]. Le principe consiste en l'application d'une pression sur les parois du limbe d'une feuille sectionnée et insérée dans une chambre hermétique, via un gaz inerte, jusqu'à ce que la sève contenue dans la feuille exsude par la section du pétiole. Dès l'apparition de la goutte de sève (observée à l'aide d'une loupe), la valeur de la pression régnant dans la chambre est notée. La pression nécessaire à l'excrétion d'une goutte de sève est égale, en signe opposé, au potentiel

hydrique foliaire du tissu considéré. A partir des résultats obtenus, une valeur moyenne des potentiels a été calculée pour chaque traitement et pour chaque stade de développement des plantes.

Le Potentiel Hydrique foliaire de Base (PHB) a été mesuré sur la troisième feuille à partir du collet avant l'aube (entre 4 h et 5 h).

La mesure du Potentiel Hydrique foliaire Minimal (PHM) s'est effectuée entre 13h et 15h, période pendant laquelle le stress hydrique des plantes est maximal.

2.4.3 TENEURS EN CHLOROPHYLLES A, B ET TOTALES

Les chlorophylles ont été extraites selon la procédure décrite par Ferus et Arkosiova [8] qui consiste en une macération de l'échantillon dans l'acétone. Cent (100) mg de limbe foliaire ont été pesés puis broyés dans un mortier avec 10 ml d'acétone à 80% (v/v). Le broyat a été filtré et mis dans des béchers recouverts de papier aluminium qui ont été placés à l'obscurité pour éviter l'oxydation de la chlorophylle par la lumière. La densité optique (DO) a été mesurée à 645 et 663 nm avec un spectrophotomètre (type JENWAY, modèle 7310). Les concentrations en chlorophylles *a*, *b* et **totales (a+b)** exprimées en **mg/g** de matière fraîche ont été calculées suivant les formules suivantes:

$$\text{Chlorophylle } a = 12(DO_{663}) - 2,67(DO_{645}) \text{ (Equation 2)}$$

$$\text{Chlorophylle } b = 22,5(DO_{645}) - 4,68(DO_{663}) \text{ (Equation 3)}$$

$$\text{Chlorophylles } a + b = 19,83(DO_{645}) + 7,32(DO_{663}) \text{ (Equation 4)}$$

2.5 MESURE DES PARAMETRES BIOCHIMIQUES

2.5.1 TENEUR EN PROLINE

La méthode utilisée est celle de Monneveux et Nemmar [9]. Pour ce faire, cent (100) mg de feuilles ont été prélevés, pesés puis placés dans un tube à essai. 05 ml de méthanol à 40 % a été ajouté à l'échantillon et le tout a été chauffé pendant 01 h, dans un bain-marie à 85 °C. Après refroidissement, 01 ml de la solution d'extraction a été ajouté à 01 ml d'acide acétique, 25 mg de ninhydrine et 01 ml du mélange eau distillée-acide acétique-acide orthophosphorique de densité 1,7. L'ensemble a été porté à ébullition pendant 30 minutes au bain-marie, puis refroidi et additionné de 05 ml de toluène. Après agitation au vortex, deux phases se séparent. La phase supérieure rouge qui contient la proline a été récupérée et sa densité optique déterminée à 528 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (type JENWAY, modèle 7315). Les valeurs de densité optique obtenues sont rapportées sur une courbe étalon utilisant des concentrations standard de solution de L-proline allant de 0 à 5 µg/ml de L-proline. Les teneurs en proline sont exprimées en mg/g de matière fraîche.

2.5.2 TENEUR EN SUCRES SOLUBLES TOTAUX

Les sucres solubles totaux sont dosés par la méthode de Dubois et al. [10]. Cent (100) mg de matière végétale ont été macérés pendant 48 h dans 3 ml d'éthanol 80 % et à température ambiante afin d'assurer l'extraction des sucres

solubles totaux. Au moment du dosage et après évaporation de l'alcool, 20 ml d'eau distillée ont été ajoutés à l'extrait. A 1 ml de la solution à analyser, 5 ml de phénol à 5% et 5 ml d'acide sulfurique concentré ont été ajoutés. Le mélange a été chauffé au bain-marie à 100 °C pendant 5 minutes. Après refroidissement dans la glace fondante, la concentration en sucres solubles a été déterminée par une lecture de la densité optique mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre (type JENWAY, modèle 7315) à une longueur d'onde de 488 nm. Les valeurs de densité optique obtenues sont rapportées sur une courbe étalon utilisant des concentrations standard de solution de glucose de concentrations allant de 0 à 500 µg/ml. Les teneurs en sucres solubles totaux sont exprimées en mg/g de matière fraîche.

2.5.3 TENEUR EN PROTEINES

Les protéines ont été extraites des feuilles par broyage dans une solution tampon de phosphate de potassium à 0,1M pH 7 suivi de centrifugation. Le surnageant contenant les protéines solubles a été utilisé pour le dosage des protéines selon la méthode de Bradford et al. [11], l'albumine de sérum bovin (BSA) ayant servi à la réalisation de la courbe étalon. L'extrait protéique est dilué dans le réactif de Bradford selon le rapport (1:1, v/v). Après le mélange, l'intensité de la coloration est déterminée au spectrophotomètre à 595 nm. La droite d'étalonnage obtenue

dans les mêmes conditions permet d'assigner une quantité de protéine à la densité optique lue.

2.6 COMPOSANTES DE RENDEMENT

A la fin des essais, le nombre de gousse par plante (NG), le nombre de graine par plante (NGr), le poids sec des gousses (PSG) et des graines (PSGr) par plante ont été déterminés par comptage puis par pesée à l'aide d'une balance de précision (DENVER Instrument, AC-1200D).

2.7 TRAITEMENT ET ANALYSE DES DONNEES

Les données collectées ont été analysées à l'aide du logiciel XLSTAT version 7.5.2, puis ont été soumises à une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs : le régime hydrique et l'inoculation respectivement au stade végétatif et au stade floraison. Le test de classement des moyennes de Student Newman-Keuls au seuil de 5 % a été utilisé afin de déceler des différences significatives entre les traitements.

III. RÉSULTATS

3-1.EFFET DES TRAITEMENTS SUR LES PARAMETRES

PHYSIOLOGIQUES

3.1.1 ETAT HYDRIQUE DE LA PLANTE

La Teneur relative en eau (TRE) des plantes aux stades végétatif et floraison de la variété G196 de Soja en fonction du stress hydrique et/ou de l'inoculation bactérienne est

présentée dans le Tableau 4. Les résultats montrent que la TRE diminue significativement sous l'effet du déficit hydrique seul au stade végétatif ($p < 0,0001$) comme au stade floraison ($p=0,004$) lorsque les plantes privées d'eau (SNI) sont comparées à leurs plantes témoins arrosés (TNI). En comparant les plantes témoins non inoculées TNI et les plantes témoins inoculées TI, le tableau 3 montre que l'inoculation n'a pas modifié significativement la TRE aux deux stades. Les TRE les plus élevées sont enregistrées chez les plantes témoins (inoculées et non inoculées) tandis que les valeurs les plus faibles sont notées chez les plantes stressées (inoculées et non inoculées).

Les valeurs du Potentiel Hydrique de Base (PHB) et du Potentiel Hydrique Minimal (PHM) indiquent une baisse significative du potentiel hydrique aux stades végétatif et floraison en condition de déficit hydrique (SNI vs SI) par rapport aux plantes témoins. Les valeurs des potentiels hydriques de base n'ont pas été modifiées par l'inoculation à l'intérieur de chaque régime hydrique (TNI vs TI ; SNI vs SI). Néanmoins, le PHB des plantes inoculées et stressées est plus élevé au stade végétatif et au stade floraison que celui des plantes non inoculées et stressées. Le PHM des plantes inoculées et stressées est significativement élevé ($p=0,001$) que celui des plantes non inoculées et stressées au stade floraison.

Tableau 3: Teneur relative en eau (TRE), Potentiel Hydrique de Base (PHB) et Minimal (PHM), aux stades végétatif et floraison de la variété G196 de Soja en fonction du stress hydrique et de l'inoculation bactérienne (moyennes de quatre répétitions $\pm$ Erreur standard).

Stade	Traitement	TRE (%)	PHB (MPa)	PHM (MPa)
Végétatif	TNI	93,59 $\pm$ 1,57a	-0,67 $\pm$ 0,04a	-1,41 $\pm$ 0,11a
	TI	95,05 $\pm$ 1,08a	-0,71 $\pm$ 0,13a	-1,82 $\pm$ 0,21ab
	SNI	48,41 $\pm$ 1,13b	-1,51 $\pm$ 0,00b	-1,90 $\pm$ 0,00ab
	SI	45,86 $\pm$ 2,49b	-1,35 $\pm$ 0,02b	-2,07 $\pm$ 0,13b
Probabilité		< 0,0001	< 0,0001	0,033
Floraison	TNI	87,29 $\pm$ 6,00a	-0,65 $\pm$ 0,06a	-1,81 $\pm$ 0,07a
	TI	90,57 $\pm$ 3,24a	-0,75 $\pm$ 0,05a	-1,85 $\pm$ 0,02a
	SNI	48,21 $\pm$ 13,4b	-1,48 $\pm$ 0,11b	-2,82 $\pm$ 0,06b
	SI	48,29 $\pm$ 7,31b	-1,31 $\pm$ 0,06b	-2,21 $\pm$ 0,25a
Probabilité		0,004	< 0,0001	0,001

Pour chaque stade dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % (Test de Newman-Keuls). **TRE**

= Teneur Relative en Eau ; **PHB** = Potentiel Hydrique de Base ; **PHM** = Potentiel Hydrique Minimal ; **TNI**= plant

Témoin non inoculé ; **SNI**= plant Stressé Non Inoculé ; **TI**= plant Témoin Inoculé ; **SI**= plant Stressé Inoculé.

3.1.2 TENEUR EN PIGMENTS CHLOROPHYLLIENS

Le dosage de la teneur en chlorophylles a, b et totales (a+b) des plantes traitées (Tableau 4), indique une augmentation significative de la teneur en chlorophylles a, b et totales sous l'effet du déficit hydrique au stade végétatif

et aucune modification significative au stade floraison. L'inoculation seule n'a pas eu d'effet significatif sur le contenu en chlorophylles a, b et totales (a+b) aux deux stades de développement (TI vs TNI). Cependant, les teneurs en Chlorophylle a et en chlorophylle a+b ont connu une diminution non significative lorsque les plantes ont été inoculées et privées d'eau au stade végétatif (SI vs SNI)

Tableau 4 : Teneur en chlorophylles a, b et totales (a+b) aux stades végétatif et floraison de la variété G196 de Soja en fonction du stress hydrique et de l'inoculation bactérienne (moyennes de quatre répétitions $\pm$ Erreur standard)

Stade	Traitement	Chlorophylle a (mg/g)	Chlorophylle b (mg/g)	Chlorophylles a+b (mg/g)
Végétatif	TNI	20,00 $\pm$ 0,39 b	9,42 $\pm$ 0,33 bc	29,43 $\pm$ 0,72 b
	TI	19,10 $\pm$ 1,60 b	8,02 $\pm$ 0,92 c	27,13 $\pm$ 2,51 b
	SNI	30,03 $\pm$ 2,15 a	16,45 $\pm$ 2,37 a	46,49 $\pm$ 4,10 a
	SI	27,62 $\pm$ 2,83 a	13,19 $\pm$ 2,77 ab	40,82 $\pm$ 5,00 a
Probabilité		0,004	0,033	0,006
Floraison	TNI	15,40 $\pm$ 1,07 a	7,43 $\pm$ 0,77 a	22,83 $\pm$ 1,79 a
	TI	15,90 $\pm$ 2,23 a	9,11 $\pm$ 1,03 a	25,01 $\pm$ 1,67 a
	SNI	20,91 $\pm$ 3,43 a	13,20 $\pm$ 4,79 a	34,11 $\pm$ 8,17 a
	SI	22,23 $\pm$ 3,04 a	14,39 $\pm$ 3,98 a	36,62 $\pm$ 7,02 a
Probabilité		0,207	0,397	0,267

Pour chaque stade dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % (Test de Newman-Keuls). **TNI**= plant Témoin non inoculé ; **SNI**= plant Stressé Non Inoculé ; **TI**= plant Témoin Inoculé ; **SI**= Stressé Inoculé.

Le tableau 5 présente les résultats de l'analyse de variance des différents paramètres physiologiques mesurés à la fin du stress au stade végétatif et au stade floraison. Ces résultats montrent que l'inoculation seule n'a eu aucun effet significatif sur tous les paramètres (PHB, PHM, TRE, chloro a, chloro b et chloro a+b) quel que soit le stade de développement des plantes. En revanche, le régime hydrique seul appliqué aux plantes a eu un effet significatif sur les

paramètres étudiés, exceptée la teneur en chloro b au stade végétatif et en chloro a, b et totales (a+b) au stade floraison. L'interaction régime hydrique x inoculation a eu un effet significatif sur tous les paramètres au stade végétatif exceptée la teneur en chloro b. Au stade floraison, l'interaction régime hydrique x inoculation n'a eu d'effet significatif que sur la TRE et le PHB.

Tableau 5 : Analyse de variance des caractères physiologiques en fonction du régime hydrique et de l'inoculation au stade végétatif et au stade floraison

Stade		TRE	PHB	PHM	Chloro a	Chloro b	Chloro a+b
	Source	Pr > Diff	Pr > Diff	Pr > Diff	Pr > Diff	Pr > Diff	Pr > Diff
Végétatif	RH	0,000	0,000	0,000	0,009	0,053	0,012
	INO	0,923	0,813	0,546	0,752	0,077	0,650
	RH X INO	0,000	0,000	0,000	0,024	0,172	0,042
Floraison	RH	0,016	0,000	0,001	0,328	0,432	0,351
	INO	0,786	0,384	0,800	0,161	0,716	0,784
	RH X INO	0,010	0,000	0,095	0,112	0,264	0,163

RH= Régime hydrique ; **INO**= Inoculation ; **TRE** = Teneur Relative en Eau ; **PHB** = Potentiel Hydrique de Base ; **PHM** = Potentiel Hydrique Minimal ; **Chloro**= Chlorophylle.

3.2 EFFET DES TRAITEMENTS SUR LES PARAMETRES BIOCHIMIQUES

3.2.1 TENEUR EN PROLINE FOLIAIRE

La Figure 1 montre que l'inoculation n'a pas influencé significativement la teneur en proline chez les plantes témoins pour les deux stades de développement (TI vs TNI). Cependant, un effet significatif de l'inoculation a été

observé chez les plantes stressées en eau et inoculées (SI) comparativement aux plantes stressées et non inoculées (SNI) aux deux stades. En effet, l'inoculation a augmenté significativement la teneur en proline en condition de déficit hydrique au stade floraison. Le déficit hydrique a entraîné une augmentation significative de la teneur en proline des feuilles au stade végétatif (TNI vs SNI et TI vs SI) (figure 1A).

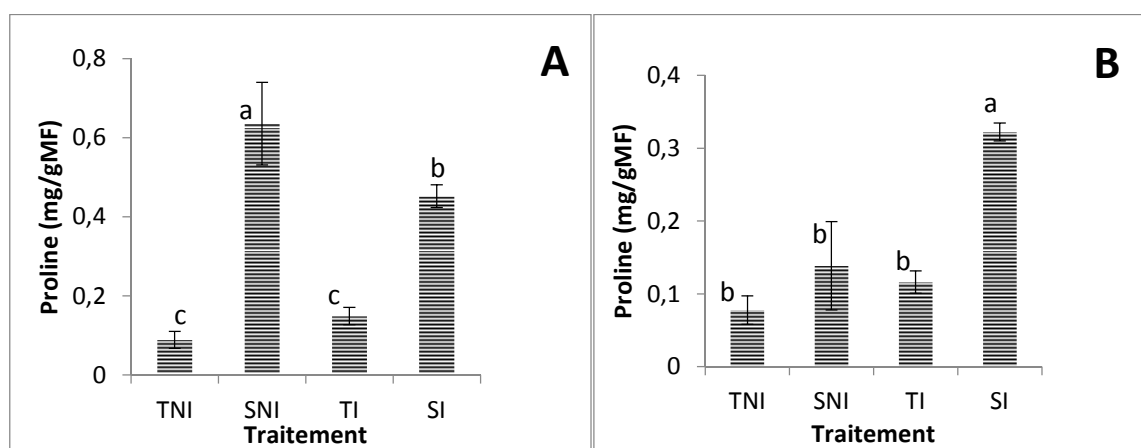


Figure 1 : Teneur en proline des feuilles de la variété G196 de soja aux stades végétatif (A) et floraison (B) en fonction du stress hydrique et de l'inoculation bactérienne (moyennes de quatre répétitions $\pm$ Erreur standard). Pour chaque stade, les histogrammes qui ont en commun une même lettre ne sont pas significativement différents selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%. **TNI**=plant Témoin Non Inoculé ; **SNI**=plant Stressé Non Inoculé ; **TI**=plant Témoin Inoculé ; **SI**=plant Stressé Inoculé ; **MF**= Matière Fraiche

3.2.2 TENEUR EN SUCRES SOLUBLES

La figure 2 montre une augmentation significative de la teneur en sucres solubles totaux chez les plantes non inoculées et privées d'eau au stade végétatif en comparaison aux plantes témoins non inoculées (TNI et SNI)). Cette augmentation significative sous l'effet du déficit hydrique

s'observe également au stade floraison chez les plantes inoculées (TI et SI).

L'inoculation a entraîné une diminution significative de la teneur en sucres solubles au stade végétatif et une augmentation significative au stade floraison chez les plantes stressées (SNI vs SI).

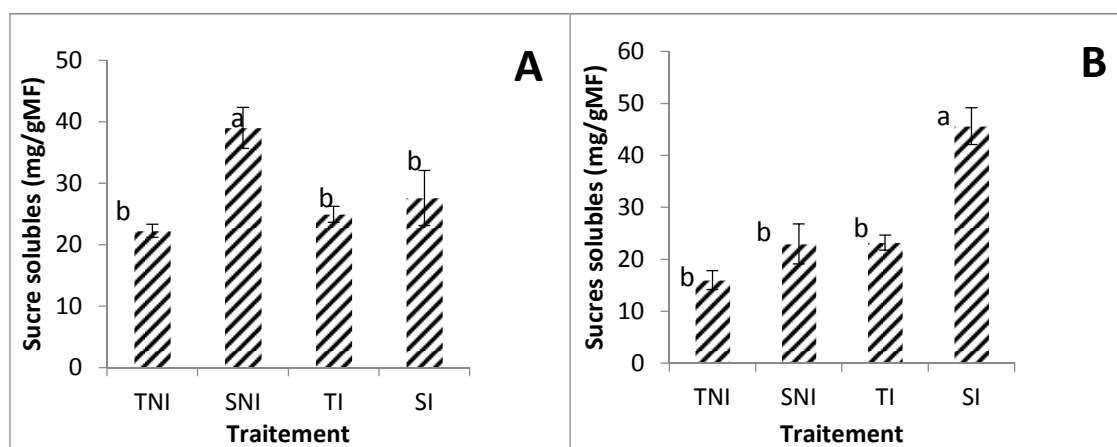


Figure 2: Teneur en sucres solubles des feuilles de la variété G196 de soja aux stades végétatif (A) et floraison (B) en fonction du stress hydrique et de l'inoculation bactérienne (moyennes de quatre répétitions $\pm$ Erreur standard). Pour chaque stade, les histogrammes qui ont en commun une même lettre ne sont pas différents significativement selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%. TNI=plant Témoin Non Inoculé ; SNI=plant Stressé Non Inoculé ; TI=plant Témoin Inoculé ; SI=plant Stressé Inoculé ; MF= Matière Fraîche

3.2.3 TENEUR EN PROTEINES FOLIAIRES

Une augmentation significative des teneurs en protéines sous l'effet du déficit hydrique s'observe aux deux stades (Figure 3), que les plantes soient inoculées ou non (TNI et SNI ; TI et SI).

L'inoculation a augmenté significativement la teneur en protéines en condition de déficit hydrique au stade végétatif (SI vs SNI). Cette augmentation n'est pas significative chez les témoins aux deux stades (TNI vs TI) (Figure 3).

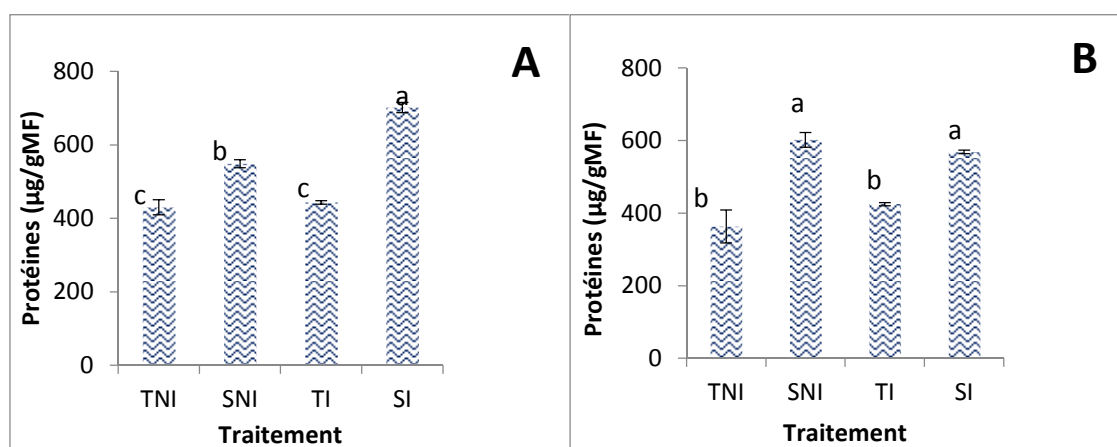


Figure 3: Teneur en protéines des feuilles de la variété G196 de soja aux stades végétatif (A) et floraison (B) en fonction du stress hydrique et de l'inoculation bactérienne (moyennes de quatre répétitions $\pm$ Erreur standard). Pour chaque stade, les histogrammes qui ont en commun une même lettre ne sont pas différents significativement selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5%. TNI=plant Témoin Non Inoculé ; SNI=plant Stressé Non Inoculé ; TI=plant Témoin Inoculé ; SI=plant Stressé Inoculé ; MF= Matière Fraîche

Les résultats de l'analyse de variance des différents paramètres biochimiques mesurés à la fin des stress au stade végétatif et au stade floraison (Tableau 6) montrent un effet significatif du régime hydrique sur tous les paramètres

biochimiques au stade végétatif et sur la teneur en protéines au stade floraison. L'inoculation n'a eu aucun effet significatif sur tous les paramètres biochimiques aux deux stades d'application du stress hydrique. L'interaction régime

hydrique X inoculation est significative sur les teneurs en proline et en protéines au stade végétatif et sur les trois

paramètres au stade floraison.

Tableau 6 : Analyse de variance des caractères biochimiques en fonction du régime hydrique et de l'inoculation au stade végétatif et au stade floraison

Stade	Sucres solubles		Proline	Protéines
	Source	Pr > Diff	Pr > Diff	Pr > Diff
Végétatif	RH	0,008	0,001	0,000
	INO	0,529	0,464	0,514
	RH X INO	0,914	0,002	0,000
Floraison	RH	0,112	0,427	0,001
	INO	0,220	0,431	0,110
	RH X INO	0,000	0,002	0,002

RH= Régime hydrique ; INO= Inoculation ;

3.3 EFFET DES TRAITEMENTS SUR LES COMPOSANTES DU RENDEMENT

La variation des paramètres agronomiques en fonction des traitements est présentée dans le tableau 7. Le déficit hydrique au stade floraison a induit une réduction hautement significative du nombre de gousse (NG) et significative du nombre de graines (NGr). Lorsque le stress hydrique intervient au stade végétatif, les mêmes paramètres ont connu également une réduction significative. L'effet de

l'inoculation est significatif chez les plants témoins et non significatif chez les plants stressés pour ces deux paramètres aux deux stades. En effet, les témoins inoculés ont produit plus de gousses et de graines que les témoins non inoculés. Chez les plantes stressées, on note une légère amélioration du nombre de gousses et de graines sous l'effet de l'inoculation aux deux stade d'application du déficit hydrique.

Tableau 7 : Effet du stress hydrique et de l'inoculation sur le nombre de gousses (NG) et de graines (NGr), le poids sec des gousses (PSG) et de graines (PSGr) de la variété G196 de soja

Traitement		NG	PSG	NGr	PSGr
Témoin non stressé	Inoculé	95,75±24,15a	14,96±4,36a	140,75±25,02a	9,15±2,20a
	Non inoculé	73,5±3,10b	11,14±0,47a	102±20,24b	6,33±0,45a
Stressé au stade Végétatif	Inoculé	62,25±7,82b	10,33±6,42a	110,5±15,43b	6,26±5,06a
	Non inoculé	61,25±6,84b	14,37±4,03a	82b±34,35c	7,46±3,34a
Stressé au stade Floraison	Inoculé	46,5±3,10c	7,56±3,00a	75±20,44c	4,40±2,33a
	Non inoculé	44±4,16c	7,62±4,69a	60±18,34c	6,44±2,41a
Probabilité		< 0,0001	0,093	0,002	0,188

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % (Test de Newman-Keuls).

IV. DISCUSSION

Les résultats obtenus, après l'étude de quelques paramètres physiologiques et biochimiques de résistance au stress hydrique chez la variété de soja G196 préalablement inoculée, montrent que la réponse de cette variété se caractérise par une aptitude à modifier son métabolisme

pour résister aux effets néfastes du déficit hydrique. Cette résistance se manifeste par une capacité à diminuer significativement sa teneur relative en eau et son potentiel hydrique (de base et minimal), une augmentation de la teneur en chlorophylles foliaires et une accumulation de composés organiques tels que la proline, les sucres solubles

totaux et les protéines selon que le déficit a été appliqué au stade végétatif ou de floraison.

La contrainte hydrique sévère suite à l'arrêt de l'arrosage pendant sept jours au stade végétatif et six jours au stade floraison, se manifeste par un effet dépressif sur la TRE. Une diminution significative de la teneur relative en eau indique la gravité de la déshydratation et traduit en même temps la sensibilité de la plante au déficit hydrique. Ainsi dans les conditions de notre expérience, la baisse de la TRE sous l'effet du déficit hydrique, atteste qu'une interruption d'arrosage au stade végétatif ou au stade floraison conduit à une déshydratation prononcée chez la variété de soja G196. Cependant, l'application du déficit hydrique chez les plantes inoculées a réduit la TRE mais dans une moindre mesure que chez les plantes non inoculées mais privées d'eau. Cela signifie que l'inoculation a accentué l'effet du déficit hydrique sur la teneur relative en eau. En effet, les bactéries issues de l'inoculation utilisent le peu d'eau disponible en situation de déficit hydrique pour leur fonctionnement, réduisant du coup la quantité d'eau disponible pour la plante, d'eau la réduction de la TRE.

Le potentiel hydrique foliaire de base a diminué significativement chez les plantes stressées inoculées ou non aux deux stades d'application du déficit hydrique. Pour répondre à un manque d'eau dans la zone racinaire, les plantes réagissent par un abaissement du potentiel hydrique graduel des feuilles permettant l'absorption de l'eau. En effet lorsque la quantité d'eau au niveau du sol diminue, le potentiel hydrique nécessaire pour provoquer le mouvement d'eau depuis le sol jusqu'aux feuilles doit être d'autant plus faible [12]. Des résultats similaires relatifs à la diminution du potentiel hydrique sous l'effet du stress hydrique ont été rapportés par plusieurs auteurs chez différentes espèces telles que le niébé ([13] et [14]), l'olivier [15], l'arachide [1], le trèfle [16]. Le PHB des plantes inoculées et stressées est plus élevé aux deux stades. Cela serait dû à la période de mesure de ce paramètre qui se fait la nuit avant l'aube, période où les bactéries restitueraient en plus de l'azote, de l'humidité au sol, donc à la plante, ce qui élève donc son PHB. L'inoculation a eu un effet significatif sur le potentiel hydrique minimal qui a augmenté significativement chez les plantes stressées au stade floraison. En condition hydrique limitante pendant la floraison, les plantes inoculées semblent maintenir un potentiel hydrique minimal plus élevé que les plantes non inoculées. L'inoculation du soja par la souche de *Bradyrhizobium japonicum* permet à la plante de maintenir sa teneur en eau et son potentiel hydrique à des valeurs suffisamment optimales au niveau de la partie aérienne de la plante. Des réponses analogues ont été

signalées dans le cas de plusieurs plantes inoculées. Ainsi, des auteurs ont expliqué que l'amélioration des paramètres hydriques chez les plantes inoculées et stressées suite au manque d'eau est une conséquence de l'accroissement du statut nutritionnel et surtout de celui du phosphore [16].

Le maintien d'un potentiel hydrique élevé chez la plante indique une stratégie d'évitement qui semble liée, d'une part, à une optimisation de l'absorption de l'eau par les racines et, d'autre part, à un ensemble complexe de caractères morphologiques racinaires (profondeur, masse et volume, ramifications) [17]. De ce fait, nous pouvons dire qu'une plante qui évite la déshydratation est une plante qui conserve un potentiel hydrique optimal lorsqu'elle est soumise à un déficit hydrique. Elle est ainsi capable de maintenir une hydratation tissulaire suffisante, permettant une fonction métabolique normale, soit en réduisant les pertes, soit en augmentant l'absorption d'eau [1].

Le déficit hydrique a provoqué une augmentation de la teneur en chlorophylles totales des plantes inoculées ou non inoculées au stade végétatif. Ce résultat a été rapporté par certains auteurs dont [18] sur la luzerne et [19] sur le Gombo. Selon la référence [18], les différentes observations de la teneur en chlorophylles totales entre les génotypes sont liées à la tolérance au stress hydrique; il montre dans ses travaux sur la luzerne que la variété Dessica a tendance à lutter contre le stress hydrique en abaissant sa teneur en chlorophylle alors que la variété Moapa implique une stratégie inverse. L'augmentation des teneurs en chlorophylles totales est la conséquence de la réduction de la taille des cellules foliaires sous l'effet d'un stress hydrique qui engendre une plus grande concentration [20].

Nos résultats montrent une accumulation très importante de la proline chez les plantes stressées inoculées au stade floraison. Cette accumulation est aussi très importante chez les stressées non inoculées au stade végétatif. Ces résultats montrent que l'inoculation diminue l'accumulation de proline au niveau des feuilles du soja au cours du stress hydrique au stade végétatif tandis qu'elle augmente cette accumulation au stade floraison.

La proline est un acide aminé reconnu comme un composé organique qui s'accumule en réponse au stress hydrique et qui procure aux plantes la capacité de tolérer la sécheresse via l'ajustement osmotique. Selon la référence [21], elle pourrait, également, intervenir dans la régulation du pH cytoplasmique ou constituer une réserve d'azote utilisée par la plante après un déficit hydrique. C'est ce qui aurait permis une bonne floraison des plantes inoculées et stressées au stade floraison, et par la suite, une assez bonne

production de gousses et de gaines par rapport aux plantes non inoculées et stressées.

Une accumulation de sucres solubles a également été constatée chez les plantes inoculées et stressées au stade floraison. Les résultats sont similaires à ceux obtenus sur la proline. L'accumulation des sucres solubles est aussi un moyen adopté par les plantes en cas de stress, afin de résister aux contraintes du milieu. En effet selon la référence [18], ces derniers protègent les membranes contre la déshydratation, en condition de déficit hydrique et ils participent en grande partie à l'abaissement du potentiel osmotique. La diminution de l'accumulation de proline et de sucres solubles chez les plantes inoculées et stressées au stade végétatif pourrait s'expliquer par le fait qu'à ce stade, les plantes présentent des nodules de petite taille qui ont besoin de nutriments pour croître. La diminution de la quantité de ces composés dans les feuilles des plantes inoculées et stressées au stade végétatif pourrait être due à leur implication dans le fonctionnement de la symbiose. Ces résultats sont similaires à ceux de Mekkaoui [22] sur le prunier mycorhizé et soumis au stress hydrique.

Une augmentation de la teneur en protéines foliaires totales a été observée chez les plantes stressées inoculées ou non aux deux stades d'application du déficit hydrique. La référence [23] a constaté une surexpression de protéines de réponse au stress hydrique chez le pin. En réponse à un stress, qu'il soit biotique ou abiotique, de nombreux gènes sont soit surexprimés ou sous exprimés. La chute du potentiel hydrique stimule non seulement le phénomène d'osmorégulation mais également l'inhibition ou la synthèse de nouvelles protéines dont les protéines LEA (*Late Embryogenesis Abundant*) qui assurent une protection de l'ensemble vital des protéines cellulaires et les protéines de choc thermique qui permettent un maintien des structures protéiques et membranaires de la cellule végétale [24]. Ces résultats montrent que la variété de soja G196 met en place un mécanisme autre que la régulation stomatique (fermeture des stomates): il s'agirait de la stratégie d'ajustement osmotique qui se traduit par l'accumulation d'une importante quantité de composés organiques notamment la proline, les sucres solubles et les protéines. Cette accumulation de composés organiques en réponse au stress hydrique aide la plante à maintenir la turgescence cellulaire et facilite les processus physiologiques et biochimiques [25]. En effet, pour maintenir la balance de la force osmotique, après la chute du potentiel hydrique causée par le stress hydrique, les plantes accumulent un certain nombre d'osmoticums tels que la proline, les carbohydrates et la bêtaïne qui, en association avec d'autres facteurs tels que la

réduction de la transpiration par la fermeture des stomates et la réduction de la surface foliaire, permettent de garder la turgescence et le volume cytosolique aussi élevé que possible [24].

Le déficit hydrique a eu également un effet dépressif significatif sur les composantes du rendement. Lorsque la contrainte hydrique est appliquée au stade floraison, la production des plantes baisse, que les plantes soient inoculées ou non. Ce résultat confirme la sensibilité de la plante à ce stade où elle mobilise ses réserves pour la formation des graines. Ce résultat relatif à la diminution du nombre de gousses par plant et du nombre de graines par plant au déficit hydrique rejoint ceux obtenus par plusieurs auteurs chez plusieurs espèces: Ounane [26] sur le pois chiche, Lazali [1] sur l'arachide, Kaboré et al., [27] sur le niébé. L'inoculation a eu un effet significatif chez les plantes témoins tandis qu'elle a eu un effet non significatif sur la production des plantes stressées. Néanmoins on observe chez les plantes stressées, on note une légère amélioration du nombre de gousses et de graines sous l'effet de l'inoculation. On peut donc dire que l'inoculation atténuerait les effets de baisse de rendement dû au déficit hydrique au stade végétatif comme au stade floraison. En effet, selon Obaton [28] sur la luzerne et Lagacherie et Obaton [29] sur le soja, l'inoculation par des rhizobiums peut multiplier le rendement par deux ou trois dans certains cas

V. CONCLUSION

Le stress hydrique a affecté le développement et le fonctionnement des plantes. Pour bien se développer, la plante doit disposer des mécanismes d'adaptation qui lui permettent de tolérer la sécheresse. A travers les résultats obtenus dans cette étude, on peut constater que l'application d'une contrainte hydrique au stade végétatif et au stade floraison se manifeste par des modifications physiologiques et biochimiques en réponse au stress et cela se répercute sur le rendement. Les effets varient selon le stade d'intervention du stress hydrique.

Parmi les paramètres physiologiques les plus affectés, figurent la teneur relative en eau et le potentiel hydrique foliaire. Au niveau biochimique, on note une augmentation de l'accumulation de proline et de sucres solubles. Le stress hydrique appliqué aux deux stades a réduit significativement le nombre de gousses et de graines, tandis que l'inoculation a amélioré significativement ces deux paramètres chez les témoins. Il serait judicieux d'approfondir les recherches sur les mécanismes d'adaptation du soja au stress hydrique et sur la capacité de fixation de l'azote en situation de déficit

hydrique quand la plante est inoculée par *Bradyrhizobium japonicum* ou non afin d'identifier les variétés de soja plus tolérantes au stress hydrique, capables d'établir de meilleures symbioses bactériennes pour le maintien d'une bonne production agricole et d'une bonne fertilité du sol.

RÉFÉRENCES

- [1] Lazali M. Etude de la symbiose à rhizobium chez l'arachide (*Arachis hypogaea* L.) cultivée sous contrainte hydrique: aspects morpho-physiologiques et agronomiques, Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biotechnologies végétales, Institut National Agronomique - El Harrach – Alger, 136p, 2009.
- [2] Hocher V., Auguy F., Bogusz D., Dumas P., Franche C., Gherbi H., Laplage L., Obertello M. et Svistoonof S., Les symbioses actinorhiziennes fixatrices d'azote : un exemple d'adaptation aux contraintes abiotiques du sol. *Cahiers Agric.*, vol 18, no 6: pp 498-505, 2009.
- [3] Neyra M., Sow H. A., Dia M., Ndoye I., Kane A., Diouf D., Yattara I., Jankowski F., Le Marec J., Le Quere A. et Wade T., Inoculation des plantes cultivées avec des microorganismes symbiotiques: du transfert de technologie à la construction d'un partenariat multi-acteurs, In: La Grande Muraille Verte, capitalisation des recherches et valorisation des savoirs locaux, IRD, ISBN: 978-2-7099-1738-4, pp 378-392, 2012.
- [4] L'taief B., Sifi B., Zaman-Allah M., Hajji M., Lachaâl M. 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): pp 537-544, 2009.
- [5] Labat E. Le soja : influence de sa consommation sur la santé humaine et conséquences de l'expansion de sa culture au niveau mondial, thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Univ. TOULOUSE III PAUL SABATIER, 104, 2013.
- [6] Barrs H. Determination of water deficit in plant tissues. In: water deficit and plant growth, Koslowski T (ed), *Academy press New York*, pp 235-368, 1968.
- [7] Scholander P.F., Hammel H.J., Bradstreet A., Hemmingsen E.A., Sap pressure in vascular plants, *Science* 148:339–346, 1965.
- [8] Ferus P., Arkosiova M. Variability of chlorophyll content under fluctuating environment. *Acta Fytotechnica & Zootechnica*, 4: 5-9, 2001.
- [9] Monneveux, P. et Nemmar, M. Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.): Etude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. *Agronomie*, 6 (6):583-590, 1986.
- [10] Dubois M., Gilles K.A. Hamilton P.A. Ruberg A. et Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3):350-356, 1956.
- [11] Bradford M. M. A rapid and sensitive method for quantitative of microgram protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–254, 1976.
- [12] Semcheddine N. Utilisation de la discrimination isotopique du carbone comme critère de sélection du blé dur en relation avec le bilan hydrique, Mémoire de magistère en sciences agronomiques, Université FERHAT ABBAS-SETIF, Algérie, 72, 2008.
- [13] Diallo A. T. Contribution à l'étude taxonomique et écologique des Glomales et de l'influence de la mycorhization avec *Glomus mosseae* et *Glomus versiforme* sur la croissance et la productivité du niébé, *Vigna unguiculata* (L.) Walp cultivé en condition de déficit hydrique, thèse de doctorat de 3ème cycle de biologie végétale, Univ. CHEIKH ANTA DIOP, 123, 1998.
- [14] Somé P. P., Hien E., Tozo K., Zombré G., Dianou D. Effets de six composts sur les réponses physiologiques, biochimiques et agronomiques du niébé *Vigna unguiculata* L. Walp.Var. K VX.61.1 au déficit hydrique. *Int. J. Biol. Chem.Sci.* 8 (1): 31-45, 2014.
- [15] Kasraoui M. F., Denden M., Braham M., Garcia M., et Lamaze T. Comportement physiologique de deux variétés d'olivier (*Olea europea* L.) soumises à une contrainte hydrique, *Annales de l'INGREF*, 6 :49-67, 2004.
- [16] Meddich A., Abdallah O., Younes A., Essia B. Rôle des champignons mycorhiziens à arbuscules de zones arides dans la résistance du trèfle (*Trifolium alexandrinum* L.) au déficit hydrique. *Agronomie*, EDP Sciences, 20 (3): 283-295, 2000.
- [17] Monneveux P. La génétique face au problème de la tolérance des plantes cultivées à la sécheresse : espoirs et difficultés. *Sécheresse*, 2 : 29-37, 1997.
- [18] Hireche Y. Réponse de la luzerne (*Medicago sativa* L.) au stress hydrique et à la profondeur de semis, Mémoire de Magistère en sciences agronomiques, Univ. AL HADJ LAKHDAR-BATNA, Algérie, 83, 2006.

- [19] Nana R., Tamini Z. et Sawadogo M. Effets d'un stress hydrique intervenu pendant la phase végétatif et de floraison chez le gombo, *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 3(5): 1161-1170, 2009.
- [20] Sourour A. et Zoubeida L. Etude comparative de l'effet du stress hydrique sur le Comportement de quatre génotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.). Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master Spécialité : Biologie et Génomique Végétale, Université des Frères Mentouri Constantine, 67, 2016.
- [21] Tahri, E.H.; Belabed, A. et Sadki, K. Effet d'un stress osmotique sur l'accumulation de proline, de chlorophylle et des ARNm codant pour la glutamine synthétase chez trois variétés de blé dur (*Triticum durum*). *Bull. Inst. Sci.*, Rabat, n°21: 81-87, 1998.
- [22] Mekkaoui M. Effet du stress hydrique et la mycorhization arbustive sur le comportement biochimique du prunier, Mémoire de Master, Sciences et techniques, Univ. SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH, Maroc, 70, 2015.
- [23] Chaumell P. Plasticité moléculaire de deux écotypes de pin maritime soumis à un stress osmotique. Thèse de doctorat, Univ. Nancy, 382p, 2006.
- [24] Zerrad W., Maataoui B.S., Hilali S., El Antri S. et Hmyene A. Etude comparative des mécanismes biochimiques de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur, *Lebanese Science Journal*, 9 (2) : 27-36, 2008.
- [25] Mansouri A. Les champignons endophytes chez le blé dur (*Triticum durum*.Desf) : Occurrence et rôle dans la tolérance au stress hydrique, mémoire pour l'obtention du diplôme de magister en Science Agronomique, Univ EL-HADJ LAKHDAR BATNA, 127, 2011.
- [26] Ounane S.M. Effet du stress hydrique et thermique sur la nutrition azotée chez le pois chiche (*Cicer arietinum*), thèse Doctorat d'état, INA El-Harrech Alger, 145, 2004.
- [27] Kaboré Z., Kihindo A. P., Bazié H. R., Ouédraogo R. F., Dianou D. et Zombré G. Effet de l'inoculation de *Rhizobium vignae* sur la physiologie et l'agromorphologie de la variété NIIZWE de niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) soumise à un stress hydrique aux stades végétatif et floraison, *Afrique SCIENCE* 14(1) : 334-350, 2018.
- [28] Obaton M. Influence de la composition chimique du sol sur l'utilité de l'inoculation des graines de luzerne avec *Rhizobium meliloti*. *Plant soil*, special volume, 273-285, 1971.
- [29] Lagacherie B. et Obaton M. L'inoculation du soja : résultats d'essais et orientation future du travail. *C. R. Acad. Agric.fr.*, 66-67, 1973.