

Effet du NaCl sur des isolats de *Sinorhizobium meliloti* en association avec des écotypes de luzerne (*Medicago sativa* L.) des régions pré sahariennes du Maroc

I. Thami Alami<sup>1</sup>, M. Ibriz<sup>2</sup>, L. Zenasni<sup>2</sup>, C. Alfaiz<sup>1</sup>  
et M. Benbella<sup>3</sup>.

1- CRRR Rabat, BP : 415, INRA, Rabat, Maroc ;

2- Laboratoire de Génétique et Biométrie, Fac. des Sciences, BP : 133, Kénitra, Maroc ;

3 - Département d'Agronomie, BP/S : 40, E.N.A. Meknès, Maroc.



## Résumé

Le présent travail a pour objectif de comparer le comportement de trois géotypes de luzerne (*Draa Tamegroute*, *Ziz Aoufous*, écotypes originaires des régions pré-sahariennes du Maroc et *Siriver* variété australienne cultivée au Maroc) en combinaison avec deux souches autochtones de *Sinorhizobium meliloti* vis à vis de la salinité (0, 8, 12 et 16 g l<sup>-1</sup> NaCl). L'essai est conduit sous serre et vise l'évaluation de l'infektivité et de l'efficience d'utilisation de l'azote en présence de deux témoins (sans infection bactérienne avec et sans apport d'azote dans le milieu de culture) sous l'effet de doses croissantes de NaCl. Les résultats obtenus montrent que la nodulation a lieu même à une concentration en NaCl du milieu de 16 g l<sup>-1</sup>, et que l'apport de l'azote par fertilisation ou par fixation symbiotique diminue l'effet dépressif du sel. La souche L20 (présumée sensible) présente un comportement similaire à la souche L32 (présumée résistante) vis à vis de la production de matière sèche et de la fixation d'azote. Enfin l'étude montre que les couples symbiotiques performants, sous contrainte saline, ne sont pas forcément composés des luzernes et des *Sinorhizobium*, séparément, tolérants à la salinité.

**Mots clés :** *Medicago sativa* L., *Sinorhizobium meliloti*, nodulation, azote, chlorure de sodium.

## ملخص

من أهم أهداف هذا البحث مقارنة تعامل ثلاث أنواع من الفصّة: (*Medicago sativa* L.) درعة تامغروت (DT)، زيز أوفوس (ZA) وهم محليون من الجهات الشبه صحراوية للمغرب و سيريفر (SIR) من أصل أسترالي مزروعة بالمغرب، بتكافل مع اثنان من بكتيريا السينوريزوبيوم (*Sinorhizobium meliloti*) المحلية تحت تراكيز متزايدة من كلوريد الصديوم (0, 8, 12 و 16 غ/لتر. NaCl)

تم الإختبار في بيت مغطى وركز على فاعلية نشاط إثنان من بكتيريا السينوريزوبيوم. *Sinorhizobium meliloti* النتائج المحصل عليها تبين تكون العقد الجذرية حتى في التركيز الملوحى 16 غ/لتر. إن إضافة الأزوت عن طريق التسميد أو التكافل ينقص من حدة الأثر السلبي للملح. كما أنها لا توجد علاقة وثيقة بين مميزات كل من البكتيريا والنبته. حيث أن البكتيريا 20 قدمت نفس مظاهر بكتيريا 32 فيما يتعلق بمرودية المادة الجافة و نسبة الأزوت خاصة عند الجينوتيب زيز أوفوس.

**الكلمات المفتاحية :** فصّة (*Medicago sativa* L.)، بكتيريا (*Sinorhizobium meliloti*)، عقد جذرية، أزوت، كلوريد الصوديوم.

## **NaCl effect on *Sinorhizobium meliloti* strains in association with alfalfa landraces from the pre-saharian regions of Morocco**

### **Summary :**

The objective of this work was to compare the compartment of three alfalfa genotypes (Draa Tamegroute, Ziz Aoufous, two ecotypes from the pre-saharian regions of Morocco and Siriver, an Australian variety cultivated in Morocco) in combination with two local strains of *Sinorhizobium meliloti* under salinity conditions (0, 8, 12 et 16 g l<sup>-1</sup> NaCl). The experimentation was carried out under greenhouse conditions and targeted to evaluate the infectivity and nitrogen use efficiency in comparison with controls (without *Sinorhizobium* infection, with and without nitrogen addition in the culture medium) under increasing concentrations of NaCl. The results showed that nodulation occurred until 16 g l<sup>-1</sup> NaCl and that nitrogen supply by fertilization or by nitrogen fixation reduced the effect of salt. The two strains R1 et R2 showed similar behaviour concerning dry matter production and nitrogen fixation. Finally, this study shows that the best symbiotic partners, under salinity conditions, are not composed with the best salt tolerant alfalfa and *Sinorhizobium*.

**Keys words :** *Médicago sativa* L., *Sinorhizobium meliloti*, Nodulation, Nitrogen, Sodium chloride.

## Introduction

Dans plusieurs régions du monde et plus particulièrement dans les zones arides et semi-arides, la salinité prend de plus en plus d'ampleur. La superficie, des sols cultivés, affectée par la salinité à l'échelle mondiale est de l'ordre de 19,5% du total des terres irriguées dans le Monde (FAO, 2000). Au Maroc, les conclusions d'enquête effectuées dans les régions du Gharb, de Tadla et du Sud-Est font état de l'existence de salinité et/ou d'alcalinité. Ces problèmes qui diffèrent d'une région à l'autre concerneraient des surfaces importantes (Ljouad, 2004). Dans ces zones la luzerne constitue la principale ressource fourragère. La salinité excessive des sols se traduit sur cette culture par de faibles pourcentages de levée et des baisses importantes du rendement. La croissance et la capacité à produire des nodules seraient également touchées. En effet, la salinité a des effets délétères sur la croissance et la survie des populations rhizobiennes dans le sol (Singleton et al., 1982), sur le développement et le fonctionnement des nodosités, et sur la fixation symbiotique d'azote (FSN). Le métabolisme azoté et la synthèse protéique de la plante sont également affectés par la contrainte saline. L'initiation nodulaire est extrêmement sensible au NaCl par réduction des sites d'infection de la racine, du nombre des poils radiculaires et de la proportion de ceux qui portent les cordons d'infection (Zahran et Sprent, 1986). Toutefois, Jebara et al., (2000) rapportent que l'association de *Sinorhizobium* avec *Medicago sativa* L. (cv. Gabes) présente une réponse à la salinité qui n'est corrélée ni avec la tolérance des souches in vitro, ni avec les paramètres biochimiques des souches bactériennes. En effet, l'étude montre que les couples symbiotiques performants, sous contrainte saline, ne sont pas forcément composés des luzernes et des *Sinorhizobium*, séparément, tolérants à la salinité.

La présente étude vise l'évaluation de l'effet du NaCl sur l'infektivité de souches autochtones de *Sinorhizobium* issues des régions pré-sahariennes et leur efficacité de fixation d'azote en association avec quelques écotypes, issus de ces mêmes régions et réputés tolérants à la salinité.

## Matériel et méthodes

L'étude a porté sur deux écotypes de luzerne issus de la collection du Centre Régional de la Recherche Agronomique de l'INRA du Maroc (CRRA de Rabat), Ziz Aoufous (ZA) et Drâa Tamegroutte (DT), originaires des régions pré-sahariennes du Maroc de Ziz et de Drâa respectivement et sur Siriver une variété australienne cultivée au Maroc.

Deux souches de *Sinorhizobium meliloti* issues de la collecte effectuée par le CRRA de Rabat dans les régions pré-sahariennes du Maroc ont été utilisées. Ces souches ont été choisies selon leur tolérance à la salinité. Il s'agit de la souche L20 présumée sensible à la salinité (R1) et de la souche L32 présumée tolérante à la salinité (R2).

## 1- Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental adopté est de type factoriel à trois facteurs (Génotype, Salinité, Inoculation) et à trois répétitions en randomisation totale. L'essai a été installé dans une serre pour une durée de 60 jours à compter de la date de repiquage des plantules.

Les graines de chaque génotype sont scarifiées, désinfectées à l'hypochlorite de sodium 20%, rincées à l'eau stérile et mises à germer dans des boîtes de Pétri. Les plantules issues de la pré germination sont repiquées à raison de 3 plantes par pot de 0,5 l de volume remplis de 3 couches superposées de sable, de vermiculite et de gravier (1/3, 1/3, 1/3) préalablement stérilisés dans une autoclave (120 °C, 1atm).

L'inoculation par les souches de *Sinorhizobium* a été faite le troisième jour après repiquage des plantules. Chaque plante, à l'exception des témoins, a reçu 1 ml de solution bactérienne en phase exponentielle de croissance. Avant l'application du sel, un arrosage par la solution nutritive et deux arrosages successifs à l'eau distillée sont effectués pour maintenir constamment les pots à une humidité équivalente à la capacité au champ (Hcc). L'arrosage des pots inoculés et des témoins non azotés (R1, R2 et RT) est effectué par une solution nutritive stérile dépourvue d'azote (Broughton et Dillworth, 1970) tandis que les plantes des témoins azotés (RTN) sont arrosées avec la même solution nutritive additionnée de  $\text{KNO}_3$  à 0,05% (Tableau 1).

La contrainte saline a été appliquée 15 jours après inoculation et de façon progressive en passant, en quatre jours, de 4 à 16 g l<sup>-1</sup> selon les traitements étudiés: 0, 8, 12 et 16 g l<sup>-1</sup> de NaCl. Après l'application du sel, 3 irrigations successives sont faites par une solution saline (eau + sel aux concentrations étudiées), la quatrième irrigation est faite par une solution nutritive avec ou sans azote selon le cas. Un lavage en excès à l'eau distillée est effectué tous les 15 jours pour minimiser les fluctuations des teneurs en sel, suivi immédiatement d'un arrosage par la solution nutritive appropriée.

## 2- Caractères mesurés

Les matières sèches aérienne (MSA), racinaire (MSR) et la matière sèche des nodules (MSN) sont déterminées par plante après passage à l'étuve à 80°C pendant 48 h. Le nombre de nodules par plante (NN) est compté à la récolte. L'azote total (NT) est dosé par la méthode Kjeldahl sur les parties aériennes et racinaires d'un échantillon composite, issu des trois répétitions.

Les performances symbiotiques des souches R1 et R2 ont été calculées à partir du rapport :

$$\frac{MS(\text{souche}) - MS(\text{témoin})}{MS(\text{témoin azoté}) - MS(\text{témoin})}$$

Avec MS (souche) = matière sèche obtenue en présence de la souche i, MS (témoin) = matière sèche obtenue chez le témoin non azoté et MS (témoin azoté) = matière sèche obtenue chez le témoin avec azote.

## Résultats

### 1- Effet de la salinité sur la production de matière sèche aérienne

L'effet du NaCl se traduit par une diminution de la production de matière sèche aérienne (MSA) (Fig. 1a). Les résultats de l'analyse de la variance ont mis en évidence un effet très hautement significatif de tous les facteurs étudiés (Génotype, Salinité, Inoculation) ainsi que de leur interaction (Tableau 2). La variété australienne se révèle plus affectée que les écotypes sahariens. L'apport d'azote limite les effets dépressifs de la salinité sur la MSA, surtout chez les écotypes oasiens Drâa Tamegroutte et Ziz Aoufous. En revanche, la variété Siriver a une production supérieure de MSA en présence des souches de *Sinorhizobium* (R1 et R2) qu'en présence d'un apport d'azote seul. De plus, la variété Siriver s'avère plus productive que les écotypes oasiens même en présence de fortes concentrations en sel. Cette constatation nous mène à noter que la FSN a lieu même à des concentrations élevées de NaCl. Enfin, il n'y a pas de différence de comportement des deux souches inoculantes.

### 2- Effet de la salinité sur la production de matière sèche racinaire

La salinité diminue significativement la production de matière sèche racinaire (MSR) (Tableau 2). L'augmentation de la concentration en NaCl du milieu entraîne une diminution de la production de la matière sèche racinaire qui reste toutefois moindre que la diminution de matière sèche aérienne (Fig. 1b). L'inoculation et l'apport d'azote dans la solution nutritive affectent différemment la production de matière sèche racinaire. L'infection de la variété Siriver par les souches étudiées a permis une production de matière sèche racinaire comparable à celle du témoin azoté. Cependant, aucune différence notable de comportement des deux souches étudiées n'a été mise en évidence au sein d'un même génotype. Par ailleurs, l'addition d'azote a permis d'améliorer la production de matière sèche racinaire, et ce, quelle que soit la concentration en sel. Cet apport d'azote a également permis aux deux écotypes oasiens d'avoir une meilleure production de matière sèche racinaire, à la concentration de  $16 \text{ g l}^{-1}$ , comparativement aux mêmes écotypes en absence d'azote ou en combinaison avec les souches R1 et R2.

### 3- Effet de la salinité sur la production de matière sèche des nodules

L'augmentation de la concentration en NaCl du milieu entraîne une diminution de la production de matière sèche racinaire (MSN). Celle-ci est d'environ 50% dès la concentration de  $8 \text{ g l}^{-1}$  exceptée pour la variété Siriver pour laquelle on assiste à une stimulation de cette production à la même concentration. La diminution de la MSN atteint 75% à  $16 \text{ g l}^{-1}$  (Fig. 1c). Les résultats de l'analyse de la variance montrent un effet très hautement significatif de la salinité et de l'apport d'azote ainsi que de leur interaction (Tableau 2). L'infection par les souches R1 et R2 n'entraîne pas une différence de comportement chez les génotypes étudiés. Par contre, la souche R2 combinée à l'écotype Ziz

Aoufous a permis une production de matière sèche nodulaire relativement stable malgré la présence du sel.

#### 4- Effet de la salinité sur le nombre de nodules par plante

La nodulation est affectée négativement par l'apport de sel (Fig. 1d). Des effets très hautement significatifs de l'ensemble des facteurs étudiés sont notés. L'interaction Salinité x Génotype et la triple interaction (génotype, salinité, inoculation) sont toutefois non significatives (Tableau 2). Les résultats montrent une variation de l'infection des différents génotypes par les souches R1 et R2. L'infection par la souche R2 de Drâa Tamegroutte et de Siriver a permis une nodulation importante comparativement à la souche R1, surtout à 12 et à 16 g l<sup>-1</sup> de NaCl. Cependant, la souche R1, à la concentration 8 g l<sup>-1</sup> de NaCl a permis une nodulation meilleure en combinaison avec la variété Siriver, qu'en combinaison avec les écotypes présahariens. On peut enfin noter qu'à 12 et à 16 g l<sup>-1</sup>, la souche R1 nodule mieux chez Ziz Aoufous alors que c'est la souche R2 qui produit le même effet chez la variété Siriver et l'écotype Drâa Tamegroutte.

#### 5- Effet de la salinité et de l'infection bactérienne sur la teneur en azote

La teneur en azote des parties aérienne et racinaire diminue sous l'effet du NaCl (Fig. 2a et 2b). La réduction de la teneur en azote est d'autant plus importante que la concentration en sel est élevée à l'exception remarquable des parties aériennes de la variété Siriver inoculée par la souche R1. Toutefois, les témoins ayant bénéficiés d'un apport d'azote ont présenté, malgré la présence du sel, des teneurs élevées en azote par rapport aux autres traitements.

## Discussion

Les effets dépressifs du NaCl sur les matières sèches aériennes, racinaires, nodulaires et le nombre de nodules des génotypes de luzerne observés dans ce travail sont en accord avec ceux mis en évidence par plusieurs auteurs (Lessani, 1969 ; Nobel et al., 1984 ; Ibriz, 1988 ; Banet et al., 1996). Les résultats de notre expérimentation montrent que la croissance de la luzerne est très fortement réduite à partir de la concentration 8 g l<sup>-1</sup>.

L'addition d'azote dans le milieu de culture en absence de toute souche de *Sinorhizobium* provoque une amélioration très nette de la biomasse chez tous les génotypes testés. Ce résultat concorde avec celui de Thami Alami (1994) chez *Medicago* spp. Cependant, cette réponse est variable selon le matériel génétique testé. L'apport d'azote a un effet positif, surtout chez les écotypes oasiens.

L'inoculation par les souches de *S. meliloti* a favorisé la production d'une biomasse importante en particulier chez Siriver et pour la souche R1. Des résultats similaires ont été rapportés par Denarie (1967) et Thami Alami (1994). Ceci est dû à l'effet positif de

l'azote sur l'accumulation de biomasse par l'intermédiaire de la surface foliaire et donc par une photosynthèse active (El Midaoui et al., 1999).

Cependant, la fixation d'azote se trouve compromise par la contrainte saline. Un tel résultat est observé, à des degrés différents, chez plusieurs espèces de légumineuses tels que la luzerne (Busse et Bottomley, 1989), le soja (Velagaleti et Marsh, 1989), le pois chiche (Lauter et al., 1981) et la lentille (Rai et Prasad, 1983). La nodulation de la variété Siriver est plus importante que celle des écotypes Drâa Tamegroutte et Ziz Aoufous, quelque soit la concentration saline du milieu.

L'atténuation de l'activité fixatrice des deux souches R1 et R2 par la présence du NaCl peut s'expliquer par une baisse du nombre de nodules et de leur masse de matière sèche (Bekki et al., 1987). Ces auteurs rapportent qu'une concentration de  $6,59 \text{ g l}^{-1}$  NaCl induit une réduction du nombre de nodules d'environ 65 %. Ibriz (1988) rapporte que l'activité fixatrice d'azote n'est pas seulement liée à la masse ou au nombre de nodules qui peuvent être élevés, mais aussi à leur viabilité. D'autres auteurs, comme Kassem et al. (1985) suggèrent que l'inhibition de l'activité fixatrice d'azote par des jeunes plantes de luzerne soumises à des concentrations de 10 à  $15 \text{ g l}^{-1}$  de NaCl est due, principalement, à la sensibilité de la plante hôte.

L'infectivité des deux souches varie d'un génotype à l'autre, ce qui montre une certaine spécificité et éventuellement une variabilité importante entre les souches de *S. meliloti*. Cette variabilité a été notée par Materon (1991) et peut être expliquée par une préférence des génotypes pour la souche infectante. Thurman et Bromfield (1987) ont expliqué cette variabilité pour la préférence des souches à noduler certaines espèces de *Medicago* par leur adaptation aux conditions du milieu.

Dans notre étude, l'infection continue à se produire à la concentration de  $16 \text{ g l}^{-1}$  de NaCl. Ibriz (1988), dans des conditions d'expérimentation similaires, a abouti au même résultat à  $12 \text{ g l}^{-1}$  NaCl. Subba-Rao et al. (1974) rapportent que la nodulation de la luzerne par les *S. meliloti* est inhibée par une concentration de  $7 \text{ g l}^{-1}$  NaCl. Ce résultat suggère que la sensibilité de la nodulation à la salinité peut être due à l'effet du sel sur le *Sinorhizobium* et/ou sur la plante hôte. Certaines caractéristiques des *Sinorhizobium* peuvent être altérées par la salinité. C'est le cas par exemple des lipopolysaccharides (L.P.S.) (Zahran et al., 1994) qui jouent un rôle important dans les relations entre la membrane externe bactérienne et les glycoprotéines des membranes végétales (Cava et al., 1989). La mobilité des souches ainsi que leur multiplication sont également réduites en milieu salin (Ishaq et al., 1989).

L'effet dépressif de la salinité sur la teneur en azote observé dans cette expérimentation va dans le même sens que les résultats de Syrverstei et Yelenovsk (1988) qui rapportent une réduction de l'absorption et du transport de l'azote vers les feuilles. Il en résulte une diminution de la synthèse des protéines et par conséquent une chute de la teneur en

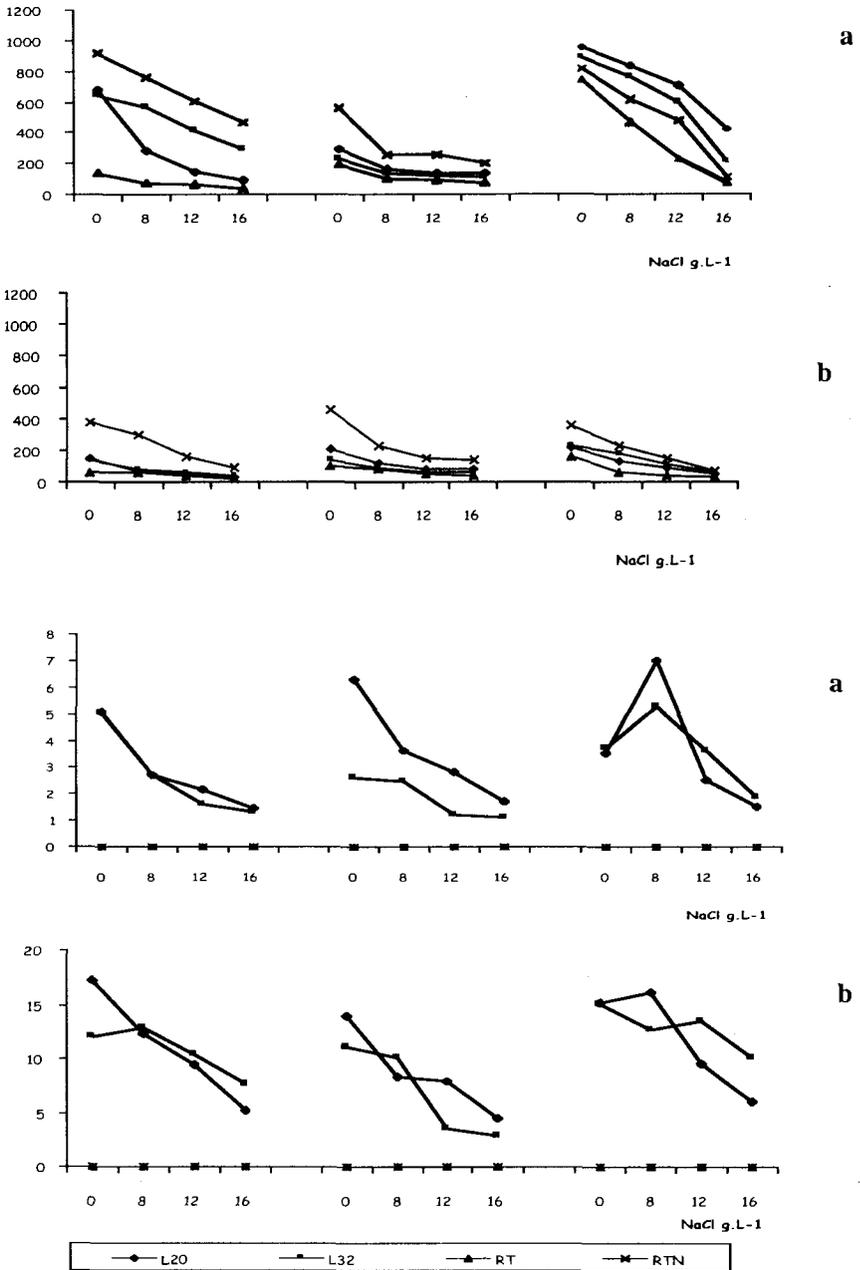
azote total. Soltani et al. (1990) constatent que le NaCl réduit la teneur des tissus en composés azotés en limitant l'approvisionnement racinaire en nitrate.

Un gain d'azote a été obtenu après inoculation sous différentes concentrations salines (Fig. 3). Par contre, pour les témoins avec irrigation azotée le bilan d'azote était négatif.

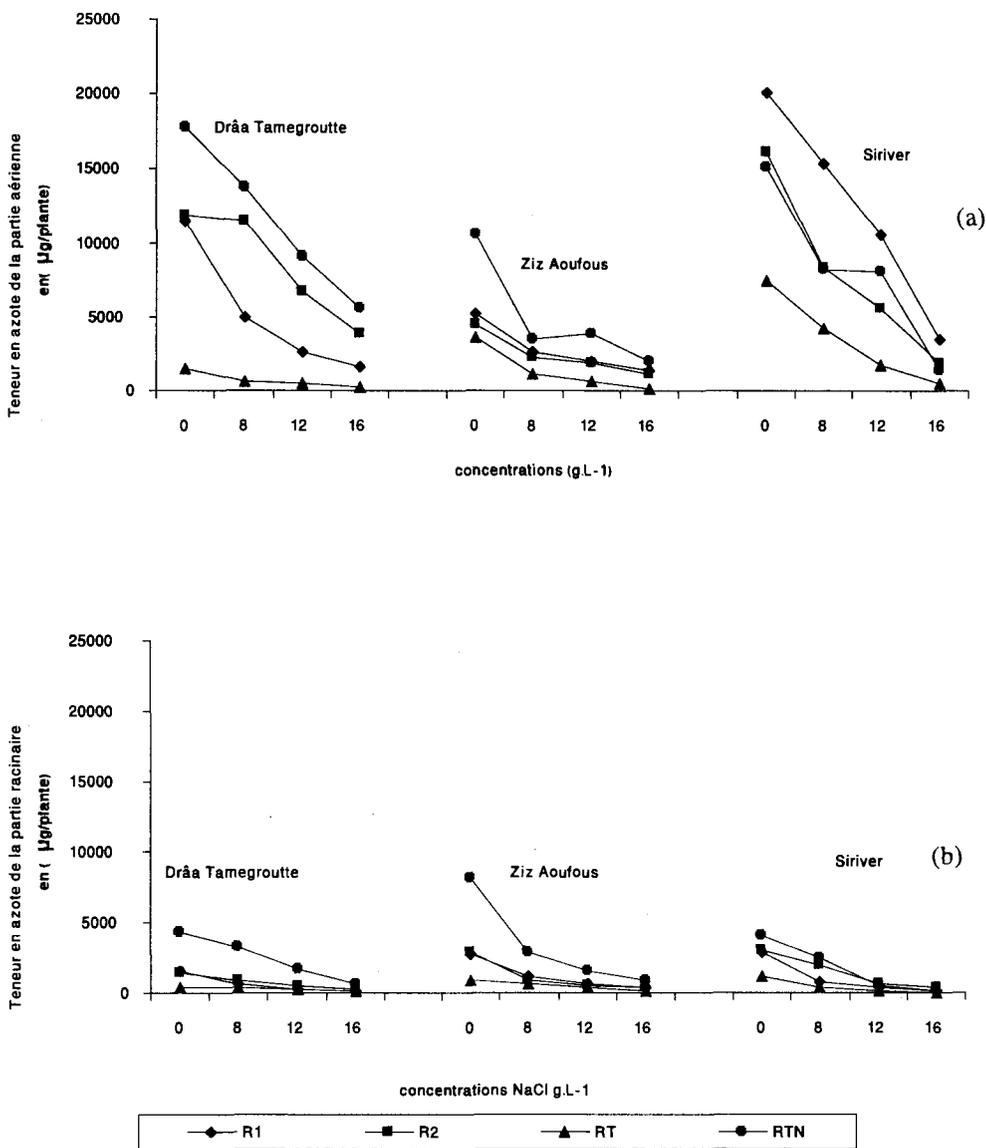
Les performances symbiotiques (Fig. 4) varient en fonction des concentrations en sel et des génotypes. Ces performances semblent toutefois augmenter avec l'enrichissement du milieu de culture en NaCl. En ce qui concerne la production de biomasse aérienne, on constate une meilleure performance de la souche R1 chez l'écotype Drâa Tamegroutte et la variété Siriver, tandis que la performance de la souche R2 est meilleure avec Ziz Aoufous. Le potentiel fixateur et efficient d'une même souche varie donc en fonction des génotypes. Cela suppose que l'expression des gènes de la plante impliqués dans la symbiose est conditionnée par la présence du sel. Ceci nous amène à dire que les couples symbiotiques performants, sous contrainte saline, ne sont pas forcément composés des luzernes et des *Sinorhizobium*, séparément, tolérants à la salinité.

## Conclusion

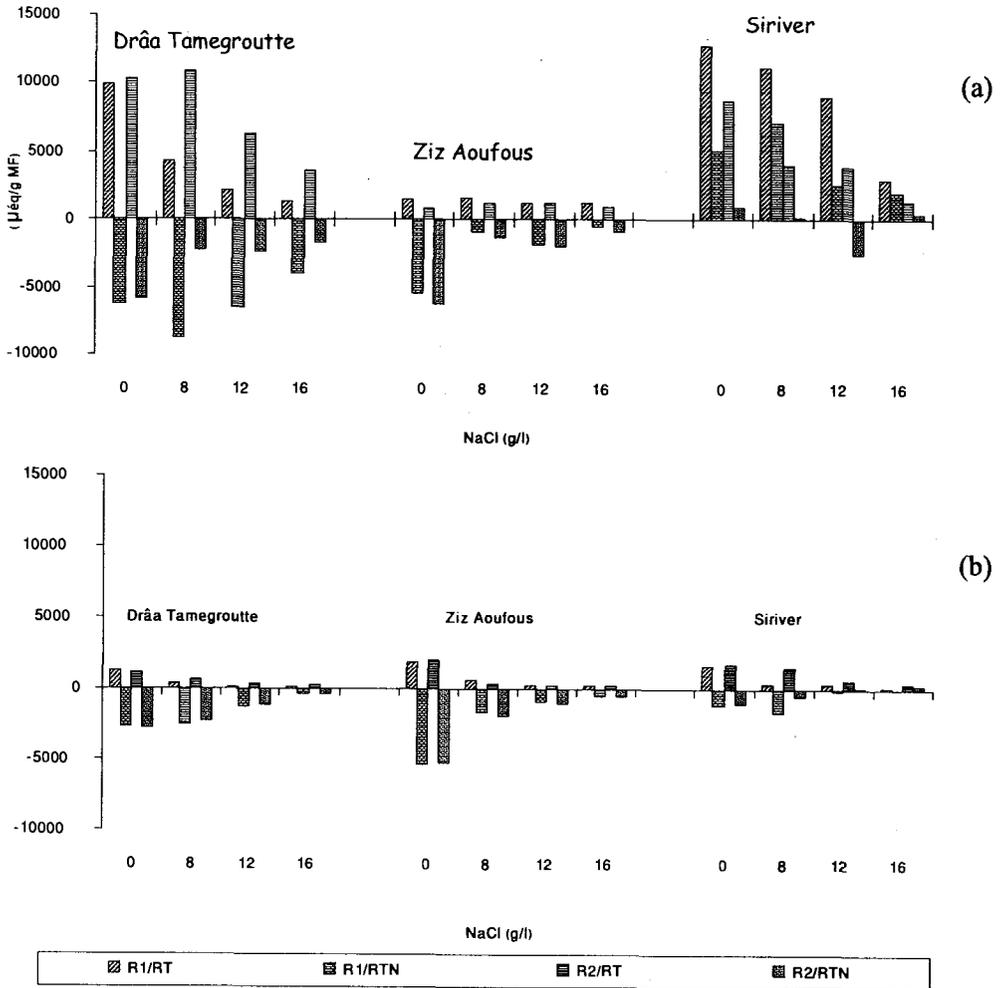
L'effet de la salinité sur l'efficacité de l'azote se traduit par une réduction progressive des matières sèches aériennes, racinaires, nodulaires et du nombre de nodules. Dans les conditions de cette expérimentation, le comportement des génotypes testés varie en fonction des concentrations en NaCl et des traitements azotés (souches, témoin avec et sans azote). Le sel affecte également la nutrition azotée, ce qui se répercute directement sur la croissance. A la lumière de ces résultats, il apparaît que l'apport d'azote sous forme de fertilisation ou par fixation symbiotique réduit considérablement l'effet dépressif du sel. Ainsi, l'activité fixatrice d'azote et la performance symbiotique des souches R1 et R2 varient en fonction des concentrations en NaCl et des génotypes. En conditions contrôlées, la souche R1 (présumée sensible à la salinité) montre une tolérance similaire et parfois supérieure à celle de la souche R2 (présumée tolérante à la salinité). En définitive, tous les caractères mesurés ont permis de déduire que les couples symbiotiques performants, sous contrainte saline, ne sont pas forcément composés des luzernes et des *Sinorhizobium*, séparément, tolérants à la salinité. Il serait intéressant de confirmer le résultat par l'évaluation d'un matériel issu de régions non affectées par la salinité car les génotypes et souches de *Sinorhizobium* originaires des régions pré-sahariennes du Maroc ont, probablement, développé des mécanismes leur permettant de tolérer les fortes conditions de salinité.



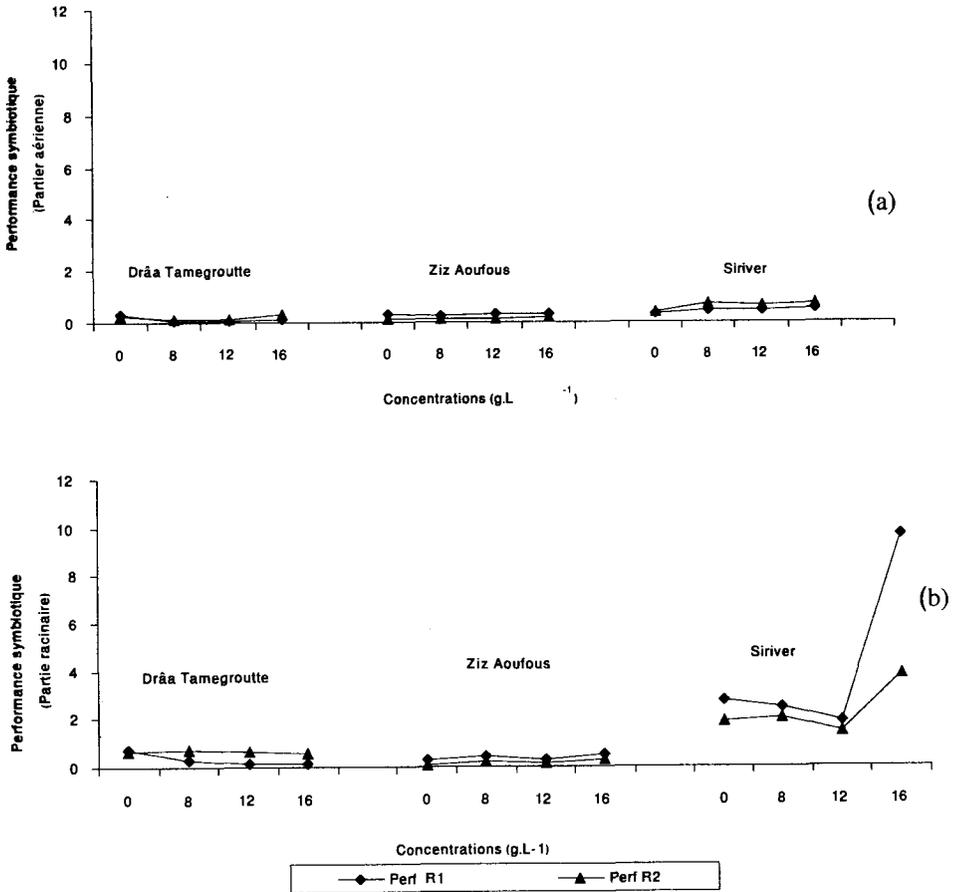
**Figure 1** : Evolution de la matière sèche de la partie aérienne (MSA) (Fig. 1a), des racines (MSR) (Fig. 1b), des nodules (MSN) (Fig. 1c) et du nombre de nodules (NN) (Fig. 1d) en fonction des concentrations en NaCl et des traitements (R1 : souche de *Sinorhizobium* L20 ; R2 : souche de *Sinorhizobium* L32 ; RT : témoin sans azote et RTN témoin avec azote).



**Figure 2** : Evolution de la teneur en azote des parties aériennes (a) et des racines (b) en fonction des concentrations en NaCl et des traitements (R1 : souche de *Sinorhizobium* L20 ; R2 : souche de *Sinorhizobium* L32 ; RT : témoin sans azote et RTN témoin avec azote)



**Figure 3 :** Gain d'azote dans les parties aériennes (a) et les racines (b) de chaque génotype en fonction des concentrations en NaCl et des traitements (R1 : souche de *Sinorhizobium* L20 ; R2 : souche de *Sinorhizobium* L32 ; RT : témoin sans azote et RTN témoin avec azote).



**Figure 4 :** Performances symbiotiques aérienne (a) et racinaire (b) des souches étudiées (R1 : L20 ; R2 : L32) en fonction des concentrations de NaCl et des géotypes étudiés.

**Tableau 1** : Composition de la solution nutritive (Broughton et Dillworth, 1970)

Solutions	Elément	M	Forme	Poids moléculaire	Quantité (g/l)	M
1	Ca	1000	CaCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	147,03	294,1	2,0
2	P	500	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	136,09	136,1	1,0
3	Fe	10	Fe-citrate	355,04	6,48	0,02
	Mg	250	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	246,5	123,3	0,5
	K	250	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	174,06	87,0	0,5
	Mn	1	MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	169,02	0,338	0,002
4	B	2	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	61,84	0,247	0,004
	Zn	0,5	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	287,56	0,288	0,001
	Cu	0,2	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	249,69	0,100	0,0004
	Co	0,1	CoSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	281,12	0,056	0,0002
	Mo	0,1	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	241,98	0,048	0,0002

Pour obtenir la solution nutritive, on prélève 5 ml de chaque solution 1, 2, 3, 4 qu'on rajoute à 10 L d'eau distillée.

**Tableau 2** : Analyse de la variance relative à l'effet du NaCl sur les paramètres de croissance des génotypes de luzerne en combinaison avec les souches de *Sinorhizobium* étudiés.

Facteurs	MSA	MSR	MSN	NN
Salinité (S).	301.39 ***	293.25 ***	15.11 ***	29.84 ***
Génotype (G).	467.38 ***	19.04 ***	3.06NS	15.80 ***
Inoculation (I).	187.12 ***	299.41 ***	104.27 ***	316.39 ***
S x G	40.51 ***	4.34 ***	3.23 **	0.47NS
S x I	4.68 ***	28.59 ***	5.33 ***	10.77 ***
G x I	78.61 ***	11.35 ***	2.58	6.31 ***
S x G x I	4.96 ***	2.64 ***	1.62NS	1.37NS

\*: Effet significatif au seuil  $\alpha = 0.1\%$ ; \*\*\*: effet significatif au seuil  $\alpha = 1\%$ ; effet significatif au seuil  $\alpha = 5\%$ ; NS: effet non significatif. Les chiffres correspondent aux valeurs du F calculé.

## Références bibliographiques

- Banet G., Winger S., Badani H., Ben Dor B., Friedman Y. & Kapulnik Y., 1996.** Toxic and osmotic effects of salinity on growth and nodulation of *Medicago sativa*. *Symbiosis* 21: 209-222.
- Bekki A., Trinchant J. R. & Rigand J., 1987.** Nitrogen fixation (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> reduction) by *Medicago nodulans* and *bacteroides* under sodium chloride stress. *Physiol. Plant*, 71: 61-67.
- Broughton & Dillworth, 1970.** N-free nutrient solution. In *Methods in legume-Sinorhizobium technology*. By P. Somasegaran & H. J. Hoben. Univ. of Hawaii Niflax "Project and Mircen". Department of Agronomy and soil science. Hawaii, Tropical Agriculture and Human resources. (May, 1985).
- Busse M.D. & Bottomley P. J., 1989.** Growth and nodulation responses of *Sinorhizobium meliloti* to water stress induced by permeating and non permeating solutes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55 : 2431-2436.
- Cava J. R., Elias P. M., Turowski D. A. et Noel K. D., 1989.** *Sinorhizobium leguminosarium* CFN42 genetic regions encoding development on bean plants *J. Bacteriol.*, 171 : 8 - 15.
- Denarié J., 1967.** Etudes et travaux de l'inoculation des légumineuses à Madagascar. Résultat de l'expérimentation de la Campagne 1966 - 1967. *Lab. de Microbiol. des Sols*. (INRA, Dijon).
- FAO, 2000.** Globalnetwork on integrated soil management for sustainable use of salt affected soils, available on: <http://www.fao.org/ag/AGL/agll/spush/intro.htm> (accessed April 06 2006)
- Ibriz M., 1988.** Etude du comportement en présence de NaCl de diverses combinaisons entre des populations de luzerne (*Medicago sativa L.*) et des souches de *Sinorhizobium meliloti*. Mémoire fin étude E.N.A. Meknes Maroc.
- Ishaq Y.Z., Zohdy L.I., El Haddad M.E., Moawad H. et Abdel-Aziz R.A., 1989.** Population dynamics of introduced *R. trifolii* strains in the rhizosphere of Egyptian clover in relation to salt stress and pattern of competition. In *Abstracts 5th Int. Symp. Microbiol. Ecology (ISME-5)*, Kyoto, Japan.
- Jebara M., Elarbi Aouani M., Ghrir R. et Mars M., 2000.** Effet du sel sur des isolats de *Sinorhizobium sp.* de Tunisie in vitro ou en association avec *Medicago sp.* *Cahiers d'études et de recherche francophones/Agricultures* Vol.9 (2) : 99-102.
- Kassem M., Capellend I. et Gounot A.M., 1985.** Effet du chlorure de sodium sur la croissance in vitro, l'infectivité et l'efficacité de *Sinorhizobium meliloti*. *Mircen Journal*, N°1 : 63 - 75.

- Lauter D. J., Munns D.N. et Clarkin K. I., 1981.** Salt response of Chick pea as influenced by N supply. *Agron. J.* 73 : 961 – 966.
- Lessani H., 1969.** Recherche sur le comportement physiologique de la luzerne en présence de NaCl. Etude de quelques aspects de la nutrition minérale et du métabolisme respiratoire. Thèse Doct. Sc. Nat. Paris, 152 p.
- Ljouad, L. 2004.** Le Maroc. Rapport du Projets et Programmes. DAF/AGR/MADREF.
- Materon L. A., 1991.** Symbiotic characteristics of *Sinorhizobium meliloti* in West Asian Soils. *Soil. Biol. Biochem.*, 23, 429 – 434.
- Nobel C. L., Halloran G. M. et West D. M., 1984.** Identification and selection for salt tolerance in luzerne (*Medicago sativa L.*) *Austr. J. Agric. Res.*, Vol. 35, Part 2 : 239 – 252.
- Rai R. et Prasad V., 1983.** Salinity tolerance of *Sinorhizobium mutants* : growth and relative efficiency of symbiotic nitrogen fixation. *Soil Biol. Biochem.*, 15 : 217- 219.
- Singleton P. W., Epswaifi S.A. et Bohlool B. B., 1982.** Effect of salinity on *Sinorhizobium* growth and survival. *Appl. Environ. Microbiol* ; 44 : 884 – 890.
- Soltani A., Hajji M. et Grignon C., 1990.** Recherche de facteurs limitant la nutrition minérale de l'orge en milieu salé. *Agronomie* 10 : 857-866.
- Subba-Rao N. S., Lakshmi K. M., Singh C.S. et Magu S. M., 1974.** Salinity and alkalinity in relation to legume *Sinorhizobium symbiosis*. *Proceedings of the Indian National Sci. Acad.*, Part B., Vol. 40, N° 5 : 544 – 547.
- Syrverstei J. P. et Yelenovsky G., 1988.** Salinity can enhance freez l tolerance of Citrus rootstok seedling by modifying growth. *Water relations and mineral nutrition. J. An. Soc. Hortic., Sci.* 113 : 889 – 893.
- Szablocs I., 1994.** Soils and salinisation. pp : 3 – 7. In : *Hand book of plant and crop stress*. Ed. Mohammed Pessaraki.
- Thami Alami I., 1994.** Sélection de souches des *Sinorhizobium meliloti* tolérantes à l'acidité des sols pour la culture de medicago Spp. *Al Awamia*. N° 87 p : 77 – 92.
- Thurman N. P. et Bromfield E. S. P., 1987.** Effect of variation within and between *Medicago* and *meliloti* species on the composition and dynamics of indigenous populations of *Sinorhizobium meliloti*. *Soil Biol. Biochem.* 1, 31 – 8.
- Velagaleti R.R. et Marsh S., 1989.** Influence of host cultivars and *Bradyrhizobium strains* on the growth and symbiotic performance of soybean under salt stress. *Plant and soil*, 119 : 133 – 138.
- Zahran H.H. et Sprent J.I., 1986.** Effects of sodium chloride and polyethylene glycol on root-hair infection and nodulation od *Vicia faba L.* plant by *Sinorhizobium leguminosarum*. *Planta*, 167 : 303 – 309.
- Zahran H.H., Rasanen L.A., Karsisto M. et Lindstrom K., 1994.** Alteration of lipopolysaccharide and protein profiles in SDS-PAGE of rhizobia by osmotic and heat stress-wold *J. Microbiol. Biotech.*, 10 : 100 – 105.