

## 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

Zeya KABORE<sup>1\*</sup>, Adama Pascal KIHINDO<sup>1</sup>, Hugues Roméo BAZIE<sup>1</sup>, Razacswendé Fanta OUEDRAOGO<sup>1</sup>, Dayéri DIANOU<sup>2</sup> et Gérard ZOMBRE<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique, 03 BP 7047, Ouagadougou, Burkina Faso

\* Correspondance, courriel : [kzeya15@gmail.com](mailto:kzeya15@gmail.com)

### Résumé

En vue d'améliorer la résistance du niébé au déficit hydrique et à en accroître la production, les effets de l'inoculation de *Rhizobium vignae* et d'un déficit hydrique induit par l'arrêt de l'arrosage pendant 10 jours au stade végétatif (30 jours après semis) et 7 jours au stade floraison (45 jours après semis) sur la croissance et la nodulation de la variété de niébé NIIZWE ont été étudiés. Les paramètres tels que l'état hydrique de la plante, la teneur en chlorophylles (a, b et totales), le nombre et poids de nodules, la biomasse aérienne et souterraine ainsi que les composantes de rendement ont été mesurés. Les résultats obtenus montrent que le déficit hydrique a provoqué une baisse significative de la teneur en chlorophylle a et totale, du potentiel hydrique de base et minimal aux deux stades, du poids sec de la partie aérienne, du poids sec des racines, du nombre de nodules, du poids sec des nodules au stade floraison. Par contre, il a provoqué une augmentation significative de la teneur en chlorophylle a au stade végétatif. L'inoculation quant à elle, a entraîné une augmentation significative de la teneur en chlorophylle a et en chlorophylles totales, du potentiel hydrique de base et minimal au stade végétatif et une baisse de la teneur relative en eau aux deux stades de l'application du déficit hydrique. Les composantes de rendement ont également subi une baisse significative sous l'effet du déficit hydrique aux deux stades et une hausse significative avec l'inoculation bactérienne.

**Mots-clés :** niébé, inoculation bactérienne, stress hydrique, nodule, potentiel hydrique.

### Abstract

**Effect of *Rhizobium vignae* inoculation on the physiology and agromorphology of NIIZWE variety of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. subjected to water stress at vegetative and flowering stages**

In order to improve cowpea resistance to water deficit and to increase production, the effects of inoculation of *Rhizobium vignae* and water deficit at vegetative and flowering stage on the growth and nodulation of the cowpea variety NIIZWE were studied. Water deficit was induced by the cessation of watering during 10 days at the vegetative stage (30 days after sowing) and 7 days at the flowering stage (45 days after sowing).

Parameters such as plant water status, chlorophyll (a, b and total) content, number and weight of nodules, plant aerial and underground biomass, and yield components were measured. The results obtained showed that the water stress induced a significant decrease in chlorophyll a and total content, basic and minimal water potential at the two stages, dry weights of aerial biomass and roots, nodules number and dry weight at flowering stages. Moreover, it caused significant increase of chlorophyll a content at vegetative stage. Bacterial inoculation resulted in a significant increase in chlorophyll a and total chlorophyll content, basic and minimal water potential at vegetative stage and in a significant decrease of the relative water content at both stages of water deficit application. The yield components also decreased significantly due to water deficit at both stages and increased significantly with bacterial inoculation.

**Keywords :** *cowpea, bacterial inoculation, water stress, nodule, water potential.*

## 1. Introduction

L'espèce *Vigna unguiculata* (L.) Walp, communément appelée niébé est principalement cultivée en Afrique occidentale dans les régions arides et semi-arides s'étendant entre 10° et 15° de latitude Nord [1]. Dans cette partie de l'Afrique située au sud du Sahara, la production de niébé est d'un grand intérêt économique et alimentaire. Le niébé y constitue, en tant que légumineuse annuelle, la deuxième grande culture après l'arachide dans les systèmes traditionnels. Grâce à sa précocité, ses gousses vertes peuvent être consommées et/ou commercialisées avant les autres spéculations, pendant la période dite de soudure de fin de la saison des pluies [2]. Mais le niébé est surtout cultivé pour ses graines sèches et son fourrage. La teneur élevée de ses graines en protéines (environ 25 %) lui confère un rôle important dans l'équilibre nutritionnel des populations rurales [3]. Ses fanes servent également de fourrage et constituent un aliment de valeur pour le bétail en raison de leur haute teneur en protéines [1]. Sur la période 1990-2013, la production de niébé en Afrique Sub Saharienne a augmenté d'un taux moyen de 5 % par an. L'expansion de la superficie et la croissance des rendements ont représenté 50 % de la croissance de la production de niébé [4]. La culture du niébé revêt un intérêt considérable car c'est un matériel végétal performant dans des conditions écologiques défavorables à d'autres cultures traditionnelles telles que l'arachide, le sorgho et le petit mil. Le niébé est adapté aux zones à pluviométrie déficitaire et, à ce titre, est considéré comme une culture de sécurité [5].

Malgré les investissements dans la recherche et le développement dans les cultures de graines oléagineuses et de légumineuses pour améliorer leur productivité, leur compétitivité et leur rentabilité, il reste de nombreux défis. Il s'agit notamment d'un éventail d'agressions abiotiques (notamment la dégradation des sols et la sécheresse), de menaces biologiques (insectes, maladies et mauvaises herbes), l'absence de technologies de production appropriées et en conséquence la faible adoption de technologies améliorées [4]. La tolérance des végétaux à la sécheresse est un phénomène complexe qui implique des particularités morphologiques et développementales avec des mécanismes physiologiques et biochimiques variés. Chez les légumineuses, leurs effets délétères s'exercent non seulement sur la plante hôte, mais aussi sur la croissance et la survie des populations de *Rhizobium* du sol, sur le développement et le fonctionnement des nodosités et, donc, sur la capacité fixatrice d'azote de l'association symbiotique [6]. L'assimilation de l'azote est aussi affectée par le stress hydrique, en relation avec la photosynthèse et le flux de la sève dans la plante. Toutefois pour les légumineuses, cette deuxième voie de la nutrition azotée semble moins sensible au déficit hydrique que la fixation symbiotique de l'azote [7]. Différentes pratiques culturales sont envisageables pour accroître la production agricole et forestière. Cependant, les pratiques les plus courantes sont celles qui combinent la lutte contre l'érosion et la concentration de la fumure

organique ou minérale [8]. Les microorganismes du sol représentent certainement une des clés de fonctionnement des systèmes naturels et anthropiques, mais restent très mal connus. Pourtant il apparaît possible de les utiliser pour influencer sur la production agricole et forestière, notamment par la pratique de l'inoculation avec des microorganismes symbiotiques sélectionnés [9] en particulier les Rhizobiums. En effet, les Rhizobiums sont des bactéries s'associant aux plantes de la famille des Légumineuses en une symbiose qui se traduit par la formation d'organes particuliers appelés nodosités ou nodules au niveau des racines ou des tiges. Dans les nodules, la bactérie fixe l'azote atmosphérique en une forme assimilable par la plante. Cette symbiose améliore l'alimentation azotée des plantes et favorise la résistance aux conditions de stress [10]. Des études récentes ont mis en évidence des souches très minoritaires mais qui semblent induire la symbiose préférentiellement en condition de déficit hydrique [11]. Cette propriété peut donc être utilisée pour accroître la production du niébé dans les zones soumises à des sécheresses répétitives. Le présent travail avait pour objectif d'étudier l'effet de l'inoculation de *Rhizobium vignae* sur les paramètres physiologiques et agromorphologiques d'une variété de niébé soumise à un déficit hydrique à divers stades de développement.

## 2. Matériel et méthodes

### 2-1. Site d'étude

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. Le site expérimental est situé à 319 m d'altitude, 12° 22' 45,6'' de latitude Nord et 01°29' 52,3'' de longitude Ouest. La pluviométrie annuelle de la zone est comprise entre 600 et 900 mm Nos essais se sont déroulés à l'air libre dans les conditions naturelles d'éclairage, de température et d'hygrométrie. La température et l'humidité relative de l'air ont été relevées quotidiennement à différentes heures de la journée durant la période de stress hydrique au stade végétatif et au stade floraison.

### 2-2. Matériel

#### 2-2-1. Matériel végétal

L'étude a porté sur la variété de niébé NIIZWE de l'Institut de l'Environnement et de Recherche Agricole (INERA) dont les caractéristiques agronomiques sont consignées dans le **Tableau 1** :

**Tableau 1 : Caractéristiques agronomiques de la variété de niébé NIIZWE**

<b>Nom</b>	NIIZWE
<b>Origine</b>	IITA Nigéria
<b>Cycle semi-maturité</b>	60 jours
<b>Port</b>	Erigé
<b>Couleur du grain</b>	Blanche
<b>Vigueur à la levée</b>	Assez bonne
<b>Striga</b>	Résistante
<b>Sécheresse</b>	Résistante
<b>Rendement grain potentiel en saison humide</b>	1200Kg/ha
<b>Rendement grain moyen en milieu paysan</b>	700Kg/ha
<b>Aire de culture</b>	Zone avec une pluviométrie comprise entre 400 et 800 mm

### 2-2-2. Matériel bactérien

*Rhizobium vignae* est la souche de bactérie utilisée pour l'inoculation. Elle a été fournie par le laboratoire allemand de microbiologie (DSMZ). Les caractéristiques de cette souche sont indiquées dans le **Tableau 2** :

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

Nom	<i>Rhizobium vignae</i>
DSM N°	25378
Isolée de	Nodules de plusieurs espèces de légumineuses
Conditions de culture	30°C ; temps d'incubation : 3-7 jours
Risk group	1

L'obtention de l'inoculum a consisté dans un premier temps à préparer un extrait de sol à partir de terre du milieu de culture séchée à l'air libre (80 g), de carbonate de Sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) (0,2 g) et d'eau distillée (200 mL). L'homogénat obtenu est autoclavé à 120°C pendant 1 heure, laissé à décanter, puis centrifugé. Le surnageant clair (extrait de sol) est ajusté à pH 7,2. La souche de rhizobium est ensuite mise en culture 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. Après autoclavage pendant 15-20 minutes à 120°C, le pH est ajusté à 7. L'inoculum bactérien est obtenu au bout de 3-5 jours d'incubation à l'étuve à 30°C.

### 2-3. Méthodes

#### 2-3-1. Conduite de l'essai

Nos essais se sont déroulés à l'air libre dans des pots en plastique disposés sur des planches en bois, permettant ainsi aux cultures d'être dans des conditions naturelles d'éclairage, de température et d'hygrométrie. Chaque pot a reçu au préalable 5 kg de terre prélevée dans un sol sablo-limoneux dont la composition chimique et granulométrique est la suivante : argile (7,84 %), limons totaux (25,49 %), 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), potassium disponible (52 ppm), nitrates (1,40 en mg/kg), ammonium (0,71 mg/Kg), calcium (2,44 méq/100 g), magnésium (0,64 méq/100 g), potassium (0,93 méq/100 g), sodium (0,07 méq/100 g), pH eau (6,72) (source : BUNASOL). Le sol a été passé au tamis de 2 mm et désinfecté par autoclavage pendant 1 heure à 120°C pour éliminer la microflore native. Les graines ont été désinfectées avec du chlorure mercurique ( $\text{HgCl}_2$ ) à 0,1 % pendant 3 minutes. Elles ont ensuite été rincées au moins 5 fois avec de l'eau distillée stérile puis placées dans des boîtes de Pétri stériles et incubées 3 jours à 30°C. Les graines prégermées ont été semées à raison de 5 graines par pot. Au bout d'une semaine, un démarrage des plantules a été fait et un jeune plant a été conservé dans chaque pot. Les plantes ont été arrosées manuellement tous les jours à la capacité au champ (1000 mL d'eau). Les pots ont été troués au fond pour permettre l'égouttage de l'eau après arrosage. Trois semaines après le semis des graines prégermées (21 JAS), chaque jeune plant a été inoculé avec 5 ml de culture bactérienne (*Rhizobium vignae*) en phase de croissance exponentielle (environ  $10^9$  bactéries/mL). Des pots non inoculés ont servi de témoin. Un déficit hydrique par interruption d'arrosage pendant 10 jours a été ensuite appliqué au stade végétatif (30 JAS) et 7 jours au stade floraison (45 JAS). Des plants non stressés (c'est-à-dire arrosés tous les jours) ont servi de témoins.

#### 2-3-2. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental utilisé est un split plot à 3 répétitions. Les facteurs étudiés par stade de développement des plantes étaient :

- Le régime hydrique à 2 niveaux (témoin arrosé, stressé non arrosé par suspension d'arrosage)
- L'inoculation à 2 niveaux (inoculés et non inoculés).

Il ya au total 4 traitements par stade et 3 pots par unité expérimentale. Les 4 traitements sont les suivants : T = Témoins; S = Stressés ; I = Inoculés ; SI = Stressés Inoculés ;

### **2-3-3. Mesure des paramètres physiologiques**

En fin de stress au stade végétatif et au stade floraison, 3 plantes par traitement ont été choisies et ont servi aux prélèvements des échantillons qui ont été effectués à 14 heures (sauf pour le potentiel hydrique) à raison d'une feuille par plante et par paramètre. Les paramètres physiologiques mesurés ont été : la teneur relative en eau (TRE), le potentiel hydrique de base (PHB) et minimal (PHM), la teneur en chlorophylles a, b et totales.

#### **2-3-3-1. Teneur relative en eau (TRE) des feuilles**

La teneur relative en eau des feuilles a été estimée à partir de la méthode décrite par [12]. Les feuilles ont été coupées à la base du limbe puis pesées immédiatement à l'aide d'une balance de précision pour obtenir leur masse fraîche (MF). Ces feuilles ont été mises, par la suite, dans de l'eau distillée à l'obscurité pendant 24 heures à la température de 4°C, puis pesées de nouveau pour obtenir la masse de la pleine turgescence (MT). Les échantillons sont enfin mis à l'étuve réglée à 80°C pendant 24 heures et pesés pour avoir la Masse sèche (MS). La teneur relative en eau des feuilles (en pourcentage) est déduite par la **Formule** suivante :

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

#### **2-3-3-2. Potentiel hydrique des feuilles**

Le potentiel hydrique (qui s'exprime en Méga Pascals ou en bars) est une grandeur négative, qui représente l'énergie de la liaison de l'eau avec le sol. Le potentiel hydrique foliaire a été mesuré à l'aide d'une chambre à pression de [13] (modèle SKPM 1400, Skye Instruments, Powys, UK) sur une feuille jeune, entièrement développée. La feuille, fraîchement récoltée, est insérée dans un bouchon pour en assurer son étanchéité et immédiatement placée dans la chambre. L'extrémité coupée dépasse de quelques millimètres à l'extérieur du bouchon afin de pouvoir observer l'affleurement de la sève au niveau de la section des vaisseaux. La pression appliquée est augmentée doucement dans la chambre jusqu'à ce que la sève apparaisse. La pression qui provoque la sortie de la première goutte, exprimée en MPa, correspond à l'opposé du potentiel hydrique de la feuille. Pour plus de précision, l'observation se fait à la loupe binoculaire. Le potentiel hydrique foliaire est la mesure de référence pour déterminer l'état hydrique de la plante. Le potentiel hydrique de base (PHB) représente l'état hydrique d'une plante dont tous ses stomates sont fermés. La mesure se réalise en fin de nuit, avant le lever du soleil. Le potentiel hydrique minimal (PHM) représente la force avec laquelle l'eau est maintenue dans la plante. La mesure du potentiel hydrique de base (PHB) a été réalisée entre 4 heures et 5 heures du matin et celle du potentiel hydrique minimal (PHM) entre 12 heures et 13 heures.

#### **2-3-3-3. Teneurs en pigments photorécepteurs**

La chlorophylle a été extraite selon la procédure décrite par [14] qui consiste en une macération de l'échantillon dans l'acétone. 100 mg de limbe foliaire fraîche a été pesé puis broyé dans un mortier avec 10 mL d'acétone à 80 %. Après broyage total, la solution a été filtrée et mise dans des béchers qui sont 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 :

$$\text{Chl } a = 12 (DO663) - 2,67 (DO645) \quad (2)$$

$$\text{Chl } b = 22,5 (DO645) - 4,68 (DO663) \quad (3)$$

$$\text{Chl } a + b = 19,83 (DO645) - 7,32 (DO663) \quad (4)$$

(Chl = chlorophylle; DO = densité optique)

### **2-3-4. Mesure des paramètres agromorphologiques**

Les paramètres agromorphologiques déterminés ont été la biomasse sèche, le nombre et poids sec des nodules, et les composantes du rendement.

#### **2-3-4-1. Biomasse sèche aérienne et racinaire**

En fin de stress au stade végétatif et au stade floraison, 3 plantes par traitement ont été déterrées soigneusement et les différentes parties de chaque plante ont été séparées : la partie aérienne et la partie souterraine. Les feuilles et les tiges des plantes coupées au collet ont été séparées des racines. Les racines extraites du sol, ont été lavées à l'eau afin de retirer toute la terre. Elles ont été lavées soigneusement au tamis pour réduire au minimum la perte des racines fines. Les différentes parties ont été mises d'abord à sécher au laboratoire sur une pailleuse puis placées à l'étuve à 80 °C pendant 48 h pour déterminer le poids sec de la partie aérienne (PSPA) et le poids sec des racines (PSR). Les différentes pesées ont été effectuées en utilisant une balance électronique de marque DENVER, AC-1200D de précision 0,001.

#### **2-3-4-2. Nombre et poids sec des nodules**

Les nodules détachés des racines, ont été comptés pour déterminer leur nombre (N nod) puis mis à sécher dans un premier temps sur une pailleuse au laboratoire et ensuite à l'étuve à 80°C pendant 48 heures ; enfin ils ont été pesés pour déterminer leur poids sec (PSN).

#### **2-3-4-3. Les composantes du rendement**

A maturité, les gousses ont été récoltées et leur nombre (NG) a été déterminé par comptage. Ensuite elles ont été pesées pour obtenir leur poids sec (PSG) et décortiquées pour déterminer le nombre de graines (NGr). Les graines ont été ensuite pesées pour déterminer leur poids sec (PSGr).

## **2-4. Traitement et analyse des données**

Les données collectées ont été analysées à l'aide du logiciel XLSTAT version 7.5.2 et soumises à une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs : le régime hydrique et l'inoculation. Le test de classement des moyennes de Student Newman-Keuls au seuil de 5 % a été utilisé afin de tester les différences des moyennes des traitements. Une matrice de corrélation a été établie pour mettre en évidence l'existence de corrélation entre les différents paramètres étudiés.

### 3. Résultats

Les relevés de la température et l'humidité relative de l'air enregistrées quotidiennement à différentes heures de la journée durant la période de stress au stade végétatif (**Tableau 3**) montrent que la température variait entre 28°C et 32°C et l'humidité relative variait entre 65 % et 80 %.

**Tableau 3 :** Températures et humidités relatives de l'air à différentes heures de la journée durant la période de stress au stade végétatif (moyennes de quatre mesures  $\pm$  écart-type)

Heure	9h		14h		18h	
	T	HR	T	HR	T	HR
24/08/2016	32,42 $\pm$ 1,83a	62,50 $\pm$ 4,43c	29,45 $\pm$ 0,36b	77,25 $\pm$ 0,95a	28,325 $\pm$ 0,05b	77,50 $\pm$ 1,91ab
25/08/2016	29,50 $\pm$ 0,08bc	75,50 $\pm$ 1,29b	28,97 $\pm$ 0,09b	72,50 $\pm$ 1,00b	28,55 $\pm$ 0,05b	76 $\pm$ 1,41bcd
26/08/2016	30,27 $\pm$ 0,29b	76 $\pm$ 0,81b	32,17 $\pm$ 0,67a	75,75 $\pm$ 2,21a	29,20 $\pm$ 0,00a	68,00 $\pm$ 0,00c
27/08/2016	27,30 $\pm$ 0,00d	80,00 $\pm$ 0,81ab	28,35 $\pm$ 0,05b	76,25 $\pm$ 0,95a	28,45 $\pm$ 0,05b	79,25 $\pm$ 0,50a
28/08/2016	28,37 $\pm$ 0,05c	81,50 $\pm$ 0,57a	29,35 $\pm$ 0,12b	77,75 $\pm$ 0,50a	28,30 $\pm$ 0,00b	75,75 $\pm$ 1,50b
29/08/2016	29,50 $\pm$ 0,00bc	79,50 $\pm$ 0,00ab	31,72 $\pm$ 1,29a	73,25 $\pm$ 2,98b	28,05 $\pm$ 0,05b	78,75 $\pm$ 0,50ab
30/08/2016	30,40 $\pm$ 0,46b	76,50 $\pm$ 3,69ab	29,47 $\pm$ 0,28b	70,50 $\pm$ 0,57b	28,27 $\pm$ 0,05b	78,50 $\pm$ 2,64ab
Probabilités	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

Dans une même colonne, les valeurs qui ont en commun une même lettre ne sont pas différentes significativement selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5 %. T = Température ; HR = Humidité Relative.

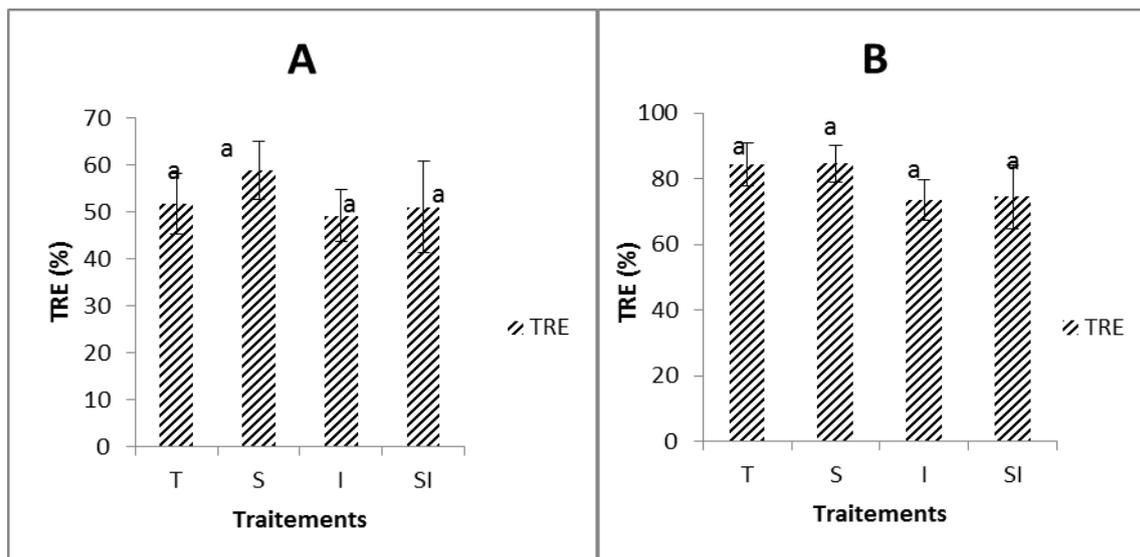
**Tableau 4 :** Analyse de variance des paramètres physiologiques

Stade	Pr > F	PHB	PHM	TRE	Chl a	Chl b	Chl a+b
Végétatif	SH	0,004	< 0,0001	0,538	0,002	0,403	0,684
	Inoculation	0,845	0,008	0,477	0,012	0,104	0,033
	SH X Inoculation	0,227	< 0,0001	0,715	0,696	0,127	0,178
Floraison	SH	0,019	-	0,944	0,016	0,492	0,093
	Inoculation	0,242	-	0,185	0,260	0,696	0,557
	SH X Inoculation	0,958	-	0,963	0,161	0,115	0,440

SH = Stress Hydrique ; PHB = Potentiel Hydrique de Base; PHM = Potentiel Hydrique Minimal; TRE = Teneur relative en eau; Chl = Chlorophylle.

#### 3-1. Teneur relative en eau des feuilles (TRE)

Les résultats obtenus (**Figure 1**) et l'analyse de variance (**Tableau 4**) montrent qu'en absence d'inoculation, un stress hydrique induit une augmentation non significative ( $p = 0,538$ ) de la teneur en eau dans les feuilles du niébé au stade végétatif et une diminution non significative ( $p = 0,944$ ) de la teneur en eau au stade floraison. Une comparaison entre l'évolution de la teneur en eau des plantes inoculées et des plantes non inoculées montre que la teneur relative en eau diminue non significativement ( $p = 0,477$ ) chez ces dernières. Au stade floraison comme au stade végétatif, on observe une diminution de la TRE chez les plantes stressées inoculées par rapport aux plantes stressées non inoculées; les différences sont non significatives. Les teneurs en eau les plus élevées sont notées au stade floraison chez les plantes non inoculées avec une valeur maximale de  $84,51 \pm 3,10$  % enregistrée chez les stressées. Par contre, les teneurs en eau les plus faibles sont enregistrées chez les plantes inoculées non stressées au stade végétatif.



**Figure 1 :** Variation de la teneur relative en eau (TRE) des feuilles de niébé aux stades végétatif (A) et floraison (B) en fonction de l'inoculation de *Rhizobium vignae* et de l'application de stress hydrique de 7 jours (moyennes de 3 répétitions  $\pm$  Erreur Standard). Les histogrammes qui ont en commun une même lettre ne sont pas différents significativement selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5 %. T = Témoins ; S = Stressés ; I = Inoculés ; SI = Stressés et inoculés

### 3-2. Teneur en pigments chlorophylliens

**Le Tableau 5** montre la teneur en chlorophylles foliaires aux stades végétatif et floraison. La comparaison entre l'évolution de la chlorophylle a des plantes témoins inoculées et des plantes témoins non inoculées a montré que le taux de chlorophylle augmente significativement au stade végétatif ( $p = 0,012$ ) tandis que la variation est non significative au stade floraison ( $p = 0,260$ ) (**Tableau 4**). Au stade végétatif, les feuilles de niébé ont eu une augmentation significative de leur teneur en chlorophylle a sous déficit hydrique. Au stade floraison la différence entre la teneur en chlorophylle a est significative chez les plantes stressées inoculées par rapport aux plantes inoculées non stressées. Les plantes stressées inoculées ont eu le taux de chlorophylle a le plus élevé ( $18,49 \pm 0,49$  mg/g) au stade végétatif. Le déficit hydrique a provoqué une baisse non significative ( $p = 0,403$ ) de la teneur en chlorophylle b au stade végétatif et au stade floraison chez les plantes inoculées, tandis qu'il a provoqué une hausse non significative ( $p = 0,492$ ) de cette teneur au stade floraison chez les plantes non inoculées. L'inoculation a entraîné une augmentation de la teneur en chlorophylle b chez les plants témoins par rapport aux plants stressés aux deux stades. Les teneurs les plus élevées en chlorophylle b ont été enregistrées au stade végétatif chez les plantes témoins inoculées ( $21,50 \pm 3,88$  mg/g). L'inoculation a provoqué également une augmentation significative ( $p = 0,033$ ) de la teneur en chlorophylles totales au stade végétatif. Au stade floraison comme au stade végétatif, le stress déficit hydrique a entraîné une baisse de la teneur en chlorophylles totales chez les plants inoculés et une augmentation chez les plants non inoculés ; l'effet est cependant non significatif. La valeur la plus élevée en chlorophylles totales a été enregistrée chez les témoins inoculés ( $33,38 \pm 3,54$  mg/g).

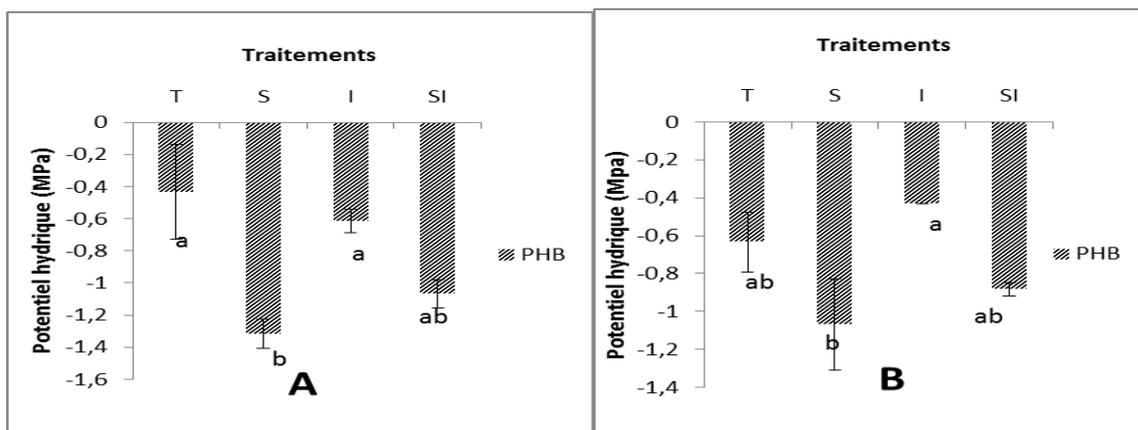
**Tableau 5 :** Variation de la teneur en chlorophylles foliaires (en mg/g de matière fraîche) du niébé soumis à un stress hydrique aux stades végétatif (A) et floraison (B) en fonction de l'inoculation de *Rhizobium vignae* et de l'application de stress hydrique de 7 jours (moyennes de 3 répétitions ± Erreur Standard)

Stade de la plante	Traitement	Chlorophylle a	Chlorophylle b	Chlorophylle a+b
Stade Végétatif	T	8,18±1,09c	5,42±2,09b	13,60±3,17b
	S	13,73±0,29b	9,14±0,94ab	22,88±0,97ab
	I	11,87±0,39bc	21,50±3,88a	33,38±3,54a
	SI	18,49±0,49a	9,73±0,56ab	28,23±0,54ab
Probabilités		0,003	0,037	0,033
Stade Floraison	T	7,08±0,46ab	3,30±1,35a	10,38±0,24a
	S	4,02±0,19b	9,02±1,06a	13,04±1,24a
	I	11,72±1,60a	8,30±1,19a	20,03±1,00a
	SI	4,58±0,15b	5,88±0,93a	10,46±0,79a
probabilités		0,043	0,348	0,274

Dans une même colonne, les valeurs qui ont en commun une même lettre ne sont pas différentes significativement selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5 %. T = Témoins ; S = Stressés ; I = Inoculés ; SI = Stressés et inoculés.

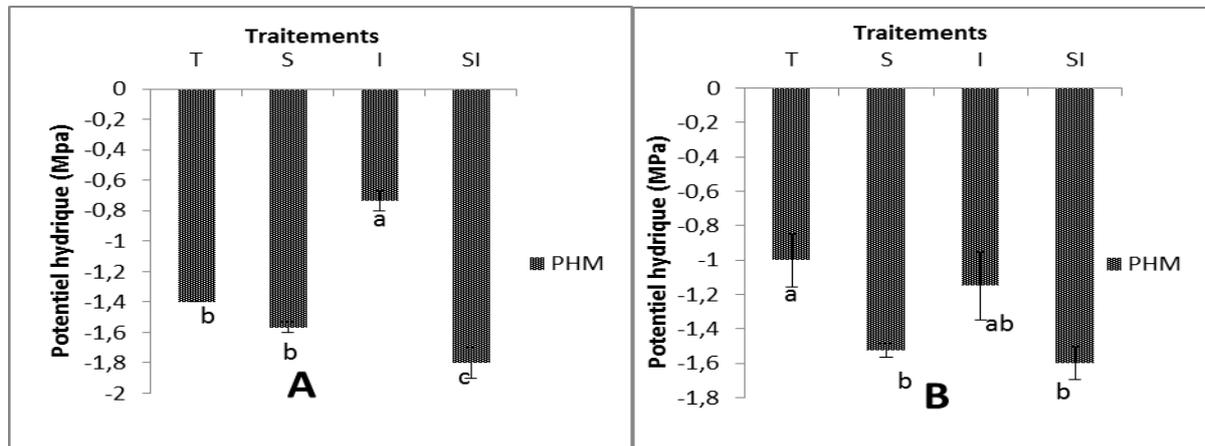
### 3-3. Potentiel hydrique foliaire de base et minimal

La **Figure 2** présente l'évolution du potentiel hydrique foliaire de base (PHB) du niébé au stade végétatif et au stade floraison en fonction de l'inoculation de *Rhizobium vignae* et de l'application de stress hydrique. On constate que le déficit hydrique a provoqué une baisse significative de ce paramètre au stade végétatif ( $p = 0,004$ ) comme au stade floraison ( $p = 0,019$ ) (**Tableau 4**). Chez les témoins non stressés, le potentiel hydrique foliaire de base varie entre  $-0,4 \pm 0,05$  MPa et  $-0,6 \pm 0,15$  MPa. Les plantes ayant subi un déficit hydrique au stade végétatif ont un potentiel hydrique foliaire relativement bas de  $-1,3 \pm 0,16$  MPa pour les plants non inoculés et  $-1,1 \pm 0,51$  MPa pour les plants inoculés. Au stade floraison, la baisse est moins notable ( $-1,06 \pm 0,41$  MPa pour les plantes non inoculées et  $-0,88 \pm 0,27$  MPa pour les plantes inoculées). L'inoculation en revanche a induit une baisse non significative du potentiel hydrique foliaire de base pour les plantes stressées au stade végétatif ( $-1,06 \pm 0,29$ MPa) et au stade floraison ( $-0,88 \pm 0,15$ MPa) par rapport aux témoins inoculés (**Figure 2**).



**Figure 2 :** Variation du potentiel hydrique foliaire de base du niébé au stade végétatif (A) et au stade floraison (B) en fonction de l'inoculation de *Rhizobium vignae* et de l'application de stress hydrique (moyennes de 3 répétitions ± Erreur Standard). Les histogrammes qui ont en commun une même lettre ne sont pas différents significativement selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5 %. T = Témoins ; S = Stressés ; I = Inoculés ; SI = Stressés et inoculés

La **Figure 3** présente la variation du potentiel hydrique foliaire minimal (PHM) du niébé au stade végétatif en fonction de l'inoculation de *Rhizobium vignae* et de l'application de stress hydrique de 10 jours. Il ressort qu'un stress hydrique appliqué au stade végétatif chez le niébé a induit une baisse très hautement significative ( $p < 0,0001$ ) du potentiel hydrique foliaire minimal chez les plantes inoculées. Chez les plants témoins inoculés, ce potentiel a augmenté significativement ( $p = 0,008$ ) avec une valeur de  $-0,73$  MPa, tandis qu'il a diminué significativement et a été de  $-1,8$  MPa chez les plants stressés inoculés. L'interaction stress hydrique X inoculation est très hautement significative ( $p < 0,0001$ ) (**Tableau 4**).



**Figure 3 :** Variation du potentiel hydrique foliaire minimal du niébé aux stades végétatif (A) et floraison (B) en fonction de l'inoculation de *Rhizobium vignae* et de l'application de stress hydrique de 10 jours (moyennes de 3 répétitions  $\pm$  Erreur Standard). Les histogrammes qui ont en commun une même lettre ne sont pas différents significativement selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5 %. T = Témoins ; S = Stressés ; I = Inoculés ; SI = Stressés et inoculés

### 3-4. Effet des traitements sur la biomasse aérienne, racinaire et la nodulation

Le **Tableau 6** présente les résultats de l'effet des traitements sur la biomasse aérienne, racinaire et la nodulation. Il n'y a pas eu de différences significatives au niveau du poids sec des racines (PSR) des plantes stressées aux deux stades; néanmoins, l'inoculation a entraîné une augmentation de ce paramètre chez les plantes stressées au stade floraison. Le déficit hydrique a réduit de manière non significative le poids sec de la partie aérienne (PSPA), et de manière significatif le nombre de nodules (N nod) et le poids sec des nodules (PSN) au stade végétatif et au stade floraison ; par contre l'inoculation a eu un effet positif non significatif sur le nombre et le poids sec des nodules aux deux stades. Le rapport poids sec des racines sur poids sec de la partie aérienne (PSR/PSPA) augmente de façon non significative sous l'effet du déficit hydrique au stade végétatif tandis qu'il diminue au stade floraison. L'inoculation tend à réduire ce rapport de façon non significative au stade floraison.

**Tableau 6** : Biomasses aérienne et racinaire, nombre et poids sec des nodules aux stades végétatif et floraison de la variété de niébé NIIZWE en fonction du stress hydrique et de l'inoculation bactérienne (moyennes de trois répétitions ± Erreur standard)

Stade de la plante	Traitement	PSPA	PSR	N Nod	PSN	PSR / PSPA
Végétatif	T	2,53±0,28a	1,21±0,21a	40,33±1,85a	0,19±0,01a	0,45±0,02a
	S	1,20±0,09a	0,55±0,03a	3,33±0,72b	0,01±0,00b	0,46±0,01a
	I	2,83±0,05a	1,04±0,08a	39±2,59a	0,21±0,06a	0,36±0,01a
	SI	1,18±0,27a	0,41±0,07a	3,33±1,42b	0,01±0,00b	0,45±0,09a
Probabilités		0,319	0,265	< 0,0001	< 0,0001	0,070
Floraison	T	9,77±0,78a	1,66±0,06a	33,67±2,31b	0,27±0,01a	0,17±0,00a
	S	5,17±0,55a	0,95±0,20a	5,33±1,96c	0,037±0,01b	0,16±0,01a
	I	5,23±0,71a	1,78±0,27a	48,33±1,01a	0,26±0,03a	0,32±0,01a
	SI	7,01±0,70a	1,09±0,13a	9,33±2,40c	0,05±0,01b	0,15±0,01a
Probabilités		0,142	0,363	< 0,0001	0,007	0,054

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % (Test de Newman-Keuls). PSPA = poids sec de la partie aérienne ; PSR = poids sec des racines ; N Nod = nombre de nodules ; PSN = Poids Sec des Nodules ; T = Témoins ; S = Stressés ; I = Inoculés ; SI = Stressés et inoculés.

### 3-5. Corrélation entre les différents caractères

Les corrélations entre les différents paramètres mesurés sont présentées aux **Tableaux 7 et 8**. Une corrélation positive significative entre le potentiel hydrique (minimal et de base) et le nombre de nodules ( $r = 0,797$  et  $0,672$ ) ainsi que le poids sec des nodules ( $r = 0,768$  et  $0,672$ ) est observée au stade végétatif (**Tableau 7**). Cependant une corrélation négative significative est observée entre la teneur en chlorophylle a et la biomasse aérienne ( $r = -0,686$ ) et racinaire ( $r = -0,797$ ) de même que la nodulation ( $r = -0,796$  et  $-0,767$  pour respectivement N nod et PSN). Une corrélation significative positive a été observée au stade floraison entre le potentiel hydrique de base (PHB) et le nombre ( $r = 0,719$ ) et le poids sec des nodules ( $r = 0,615$ ) (N nod et PSN), de même entre le poids sec de la partie aérienne (PSPA) et le Poids sec des Racines (PSR) ( $r = 0,589$ ) (**Tableau 8**).

**Tableau 7** : Corrélation entre les paramètres mesurés au stade végétatif

	PHB	PHM	TRE	Chloro a	Chloro b	Chloro a+b	PSPA	PSR	N Nod	PSN
PHB	1,000									
PHM	0,487	1,000								
TRE	-0,363	-0,095	1,000							
Chloro a	-0,501	-0,371	0,122	1,000						
Chloro b	0,000	0,542	0,083	0,086	1,000					
Chloro a+b	-0,206	0,322	0,123	0,487	0,912*	1,000				
PSPA	0,532	0,207	0,052	-0,686*	0,134	-0,165	1,000			
PSR	0,329	0,087	0,040	-0,797*	-0,077	-0,396	0,890*	1,000		
N Nod	0,797*	0,672*	-0,267	-0,796*	0,280	-0,083	0,700*	0,617*	1,000	
PSN	0,768*	0,740*	-0,312	-0,767*	0,218	-0,124	0,647*	0,605*	0,968*	1,000

En gras(\*), valeurs significatives (hors diagonale) au seuil  $\alpha = 0,050$  (test bilatéral) PHB = Potentiel Hydrique de Base; PHM = Potentiel Hydrique Minimal; TRE = Teneur Relative en Eau; Chloro = Chlorophylle; PSPA = Poids Sec de la Partie Aérienne; PSR = Poids Sec des Racines; N Nod = Nombre de Nodules; PSN = Poids Sec des Nodules.

**Tableau 8 : Corrélation entre les paramètres mesurés au stade floraison**

	PHB	TRE	Chloro a	Chloro b	Chloro a+b	PSPA	PSR	N Nod	PSN
PHB	1,000								
TRE	0,066	1,000							
Chloro a	0,398	0,501	1,000						
Chloro b	0,050	-0,189	-0,661*	1,000					
Chloro a+b	0,539	0,369	0,390	0,434	1,000				
PSPA	-0,083	0,224	0,571	-0,410	0,181	1,000			
PSR	0,146	-0,111	0,418	-0,163	0,302	0,589*	1,000		
N Nod	0,719*	-0,140	0,400	0,015	0,498	0,146	0,521	1,000	
PSN	0,615*	0,085	0,669*	-0,312	0,420	0,382	0,638*	0,849*	1,000

En gras(\*), valeurs significatives (hors diagonale) au seuil alpha = 0,050 (test bilatéral)

PHB = Potentiel Hydrique de Base; TRE = Teneur Relative en Eau; Chloro = Chlorophylle; PSPA = Poids Sec de la Partie Aérienne; PSR = Poids Sec des Racines; N Nod = Nombre de Nodules; PSN = Poids Sec des Nodules.

On constate par ailleurs une corrélation négative entre la TRE et le nombre de nodules aux deux stades ( $r = -0,267$  au stade végétatif et  $r = -0,140$  au stade floraison) (**Tableaux 7 et 8**).

### 3-6. Composantes de rendement

Le **Tableau 9** présente les résultats de l'effet de l'inoculation et du déficit hydrique sur les composantes du rendement. On observe que le déficit hydrique appliqué au stade végétatif et au stade floraison a réduit de manière non significative le nombre de gousses (NG), le poids sec des gousses (PSG), le nombre de graines et le poids sec des graines (PSGr), tandis que l'inoculation a augmenté significativement tous ces paramètres au niveau des plantes témoins.

**Tableau 9 : Variation du nombre de gousses (NG), du poids sec des gousses (PSG), du poids sec des graines (PSGr) en fonction des traitements pour un stress hydrique appliqué au stade végétatif (SV) et au stade floraison (SF) (moyennes de 3 répétitions  $\pm$  Erreur Standard)**

Stade de la plante	Traitement	NG	PSG	NGr	PSGr
Végétatif	T	2,66 $\pm$ 0,16b	3,97 $\pm$ 0,64ab	25,66 $\pm$ 3,94ab	3,92 $\pm$ 0,61ab
	S	3 $\pm$ 0,16b	0,98 $\pm$ 0,02b	6,33 $\pm$ 0,44b	0,79 $\pm$ 0,01b
	I	9 $\pm$ 0,76a	8,36 $\pm$ 0,16a	51 $\pm$ 6,75a	6,6 $\pm$ 0,92a
	SI	4,66 $\pm$ 0,60b	2,3 $\pm$ 0,20b	12,66 $\pm$ 0,57b	2,72 $\pm$ 0,12ab
	Probabilités		0,003	0,019	0,017
Floraison	T	2,66 $\pm$ 0,16b	3,97 $\pm$ 0,64ab	25,66 $\pm$ 3,94ab	3,92 $\pm$ 0,61ab
	S	1,33 $\pm$ 0,28b	1,67 $\pm$ 0,12b	11,66 $\pm$ 0,16b	1,45 $\pm$ 0,003ab
	I	9 $\pm$ 0,76a	8,36 $\pm$ 1,12a	51 $\pm$ 6,75a	6,6 $\pm$ 0,92a
	SI	3,33 $\pm$ 0,33b	3,59 $\pm$ 0,11ab	20 $\pm$ 0,92ab	2,72 $\pm$ 0,05ab
	Probabilités		0,003	0,035	0,036

Dans une même colonne, les valeurs qui ont en commun une même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5 %. NG = Nombre de gousses ; PSG = Poids sec des gousses ; NGr = Nombre de graines ; PSGr = Poids sec des graines ; T = Témoins ; S = Stressés ; I = Inoculés ; SI = Stressés et inoculés.

Les **Tableaux 10 et 11** récapitulent les résultats statistiques des paramètres agromorphologiques mesurés à la fin des stress hydriques aux stades végétatif et floraison. L'analyse de la variance montre des

différences significatives, hautement et très hautement significatives entre les facteurs inoculation et régime hydrique. L'effet du déficit hydrique est très hautement significatif sur la nodulation (nombre et poids sec des nodules), hautement significatif pour le poids sec des gousses (PSG) et des graines (PSGr) et non significatif pour le poids sec des racines (PSR) et de la partie aérienne (PSPA) aux deux stades. L'inoculation a eu un effet très hautement significatif pour le nombre de gousses, hautement significatif sur le poids sec des gousses, le nombre et le poids sec des graines et non significatif pour les autres paramètres au stade végétatif. L'interaction régime hydrique inoculation est non significative pour tous les paramètres au stade végétatif et hautement significatif pour le nombre de gousses au stade floraison.

**Tableau 10 :** *Analyse de variance des caractères agro morphologiques en fonction du régime hydrique et de l'inoculation au stade végétatif*

Paramètres	Source de variation					
	Régime hydrique		Inoculation		Régime hydrique X Inoculation	
	CM	P	CM	P	CM	P
PSPA	3,641	0,089 <sup>ns</sup>	0,195	0,666 <sup>ns</sup>	0,166	0,691 <sup>ns</sup>
PSR	0,710	0,107 <sup>ns</sup>	0,264	0,316 <sup>ns</sup>	0,080	0,572 <sup>ns</sup>
N nod	3960,33	<0,0001***	1,333	0,857 <sup>ns</sup>	1,333	0,857 <sup>ns</sup>
PSN	0,110	<0,0001***	0,001	0,410 <sup>ns</sup>	0,000	0,518 <sup>ns</sup>
PSG	61,427	0,009**	24,453	0,061 <sup>ns</sup>	7,099	0,273 <sup>ns</sup>
NG	24,083	0,022*	70,083	0,001***	6,70	0,172 <sup>ns</sup>
NGr	2494,083	0,006**	752,083	0,079 <sup>ns</sup>	270,750	0,262 <sup>ns</sup>
PSGr	48,844	0,007**	9,381	0,151 <sup>ns</sup>	2,475	0,439 <sup>ns</sup>

*\*P ≤ 0,05 ; \*\*P ≤ 0,01 ; \*\*\*P ≤ 0,001 : Respectivement significative, hautement significative et très hautement significative ; ns : non significative ; P : Probabilité de mettre en évidence des différences significatives. CM = Carré Moyen ; PSPA = Poids sec des racines ; PSR = Poids sec des racines ; N nod = Nombre de nodules ; PSN = Poids sec des nodules ; PSG = Poids sec des gousses ; NG = Nombre de Gousses ; NGr = Nombre de Graines ; PSGr = Poids sec des graines.*

**Tableau 11 :** *Analyse de variance des caractères agro morphologiques en fonction du régime hydrique et de l'inoculation au stade floraison*

Paramètres	Source de variation					
	Régime hydrique		Inoculation		Régime hydrique X Inoculation	
	CM	P	CM	P	CM	P
PSPA	5,978	0,339 <sup>ns</sup>	5,454	0,360 <sup>ns</sup>	30,433	0,051 <sup>ns</sup>
PSR	1,477	0,096 <sup>ns</sup>	0,049	0,739 <sup>ns</sup>	0,000	0,976 <sup>ns</sup>
N nod	3400,333	< 0,0001***	261,333	0,048*	85,333	0,220 <sup>ns</sup>
PSN	0,150	0,001***	0,000	0,941 <sup>ns</sup>	0,001	0,714 <sup>ns</sup>
PSG	37,524	0,026*	29,894	0,042*	4,588	0,370 <sup>ns</sup>
NG	21,333	0,018*	33,333	0,006**	27,000	0,010**
NGr	1518,750	0,021*	850,083	0,064 <sup>ns</sup>	216,750	0,311 <sup>ns</sup>
PSGr	30,210	0,021*	11,682	0,113 <sup>ns</sup>	1,484	0,544 <sup>ns</sup>

*\*P ≤ 0,05 ; \*\*P ≤ 0,01 ; \*\*\*P ≤ 0,001 : Respectivement significative, hautement significative et très hautement significative ; ns : non significative ; P : Probabilité de mettre en évidence des différences significatives. CM = Carré Moyen ; PSPA = Poids sec des racines ; PSR = Poids sec des racines ; N nod = Nombre de nodules ; PSN = Poids sec des nodules ; PSG = Poids sec des gousses ; NG = Nombre de Gousses ; NGr = Nombre de Graines ; PSGr = Poids sec des graines.*

#### 4. Discussion

Les résultats obtenus montrent qu'un stress hydrique appliqué aux stades végétatif et floraison chez la variété NIIZWE de niébé entraîne une augmentation non significative de la teneur en eau tandis que l'inoculation réduit cette teneur. La teneur relative en eau (TRE) est un indicateur très utilisé pour mettre en évidence l'état de la balance hydrique d'une plante. Les génotypes qui maintiennent une TRE élevée sous stress hydrique sont les génotypes les plus adaptés à la sécheresse [15]. Selon le même Auteur, la TRE serait un outil de comparaison ou un critère de sélection pour l'adaptation à la sécheresse. Un bon niveau de TRE maintiendrait la turgescence des cellules foliaires permettant la préservation de l'intégrité structurale et fonctionnelle des tissus [16]. Il permet par ailleurs à la plante d'éviter la déshydratation de ses tissus, grâce à une absorption efficace de l'eau du sol par un système racinaire très développé [17]. La diminution de la TRE sous inoculation laisse penser que la nodulation retient plus d'eau. Ceci est confirmé par la corrélation négative observée entre la TRE et le nombre de nodules aux deux stades. Autrement dit, lorsque le nombre de nodules augmente, la TRE diminue. Le déficit hydrique a provoqué une baisse significative du potentiel hydrique minimal au stade végétatif comme au stade floraison chez les plants inoculés, tandis qu'il a provoqué une baisse significative du potentiel hydrique de base chez les plants non inoculés mais moins importante que celle du potentiel hydrique minimal.

Le potentiel hydrique d'une plante traduit l'état énergétique de l'eau dans la plante; Moins l'eau est disponible dans le sol et plus la plante va fournir de l'énergie pour l'en extraire. Le potentiel hydrique de base traduit la force avec laquelle la plante extrait l'eau du sol jusqu'aux feuilles lorsque tous ses stomates sont fermés (à l'aube, avant le lever du soleil). La baisse du potentiel hydrique en situation de déficit hydrique a été observée sur l'olivier et le niébé par [8, 18, 19]. La baisse du potentiel hydrique des feuilles au cours du déficit hydrique permet au niébé de prélever le peu d'eau qui subsiste dans le sol et de le véhiculer vers les parties aériennes. La baisse du potentiel hydrique a entraîné la fermeture des stomates, d'où une activité photosynthétique réduite, entraînant une faible production de la biomasse sèche, une réduction de la nodulation et des composantes de rendement. En fait, le niébé possède des stomates très sensibles et évite la dessiccation en les fermant [20]. [21] ont montré que les variétés de niébé Gorom et K VX réduisent plus faiblement leurs pertes hydriques par le biais d'une diminution notable du potentiel hydrique foliaire. 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 [22].

La diminution de la teneur en chlorophylles totales sous l'effet du déficit hydrique provient essentiellement d'une dégradation de la chlorophylle b [23]. Cette dégradation peut être attribuée à une dégradation enzymatique de la chlorophylle suite à la fermeture des stomates et la faible disponibilité en eau ou à l'effet des températures élevées enregistrées durant l'essai (28 et 32°C). En effet, les fortes températures ont des répercussions négatives sur les processus vitaux du niébé selon [24]. En absence de contrainte hydrique, on constate une augmentation de la teneur des pigments chlorophylliens grâce à l'inoculation ; en situation de déficit hydrique, l'inoculation a eu un effet compensateur uniquement vis-à-vis de la chlorophylle a aux deux stades d'application du stress hydrique. Ceci pourrait indiquer qu'en situation de déficit hydrique et sous inoculation, il y a une certaine préférence de biosynthèse de la chlorophylle a. Nos résultats sont en accord avec ceux de [25] sur le blé dur. Par ailleurs, l'augmentation constatée de la teneur en chlorophylles (a, b et totales) sous l'effet de l'inoculation serait d'un grand intérêt pour l'adaptation des plants aux conditions de déficit hydrique [23]. En comparaison aux témoins, les plantes soumises au déficit hydrique au cours du développement végétatif ont eu une faible production de biomasse sèche. Cette réduction est le résultat de la perte de la turgescence [26] La baisse de la pression de turgescence conduit à

une fermeture des stomates, ce qui réduit la capacité de la plante à absorber du dioxyde de carbone, limite sa transpiration et ralentie la photosynthèse [27]. En situation de déficit hydrique, la plante met en place des mécanismes d'adaptation pour rééquilibrer son statut hydrique au dépend d'une fraction de son métabolisme. Suivant l'intensité et la durée du déficit hydrique, la croissance de la plante sera plus ou moins affectée [27]. La contrainte hydrique a réduit la nodulation. Le nombre et le poids sec des nodules par rapport au témoin arrosé ont diminué sous l'effet du déficit hydrique. L'analyse de variance révèle un effet très hautement significatif. La sécheresse inhibe la nodulation et la fixation de l'azote même chez les plantes inoculées. En effet, il existe des taux d'humidité extrêmes tolérés au-delà desquels le développement et la survie du rhizobium sont affectés [28]. La réduction du nombre de nodules serait compensée par l'apparition de nodules plus gros pouvant bénéficier d'une plus grande provision en hydrates de carbone nécessaire à la fixation du diazote. Cette hypothèse est soutenue par Porcel et ses collaborateurs qui ont montré une plus grande accumulation de la biomasse et une allocation de photosynthétats aux nodules pendant un déficit hydrique [29]. La corrélation positive observée entre le potentiel hydrique de base et la nodulation s'explique par le fait que les nodules seraient sensibles au manque d'eau qui inhibe leur formation ou leur croissance. Le déficit hydrique diminue la matière sèche (biomasse sèche aérienne, racinaire et nodulaire) ainsi que les composantes de rendement (nombre et poids sec des gousses et des graines).

La baisse de rendement observée sous le déficit hydrique est due à la faible nodulation observée sous le déficit hydrique. En effet une baisse hautement significative du nombre et du poids sec des nodules a pour conséquence une faible capacité de fixation d'azote et cela se répercute négativement sur le rendement. Le niébé est donc une plante tolérante au déficit hydrique car bien qu'ayant fermé ses stomates pour lutter contre le stress hydrique, il a maintenu un niveau satisfaisant de son potentiel hydrique, ce qui lui a permis de produire quand même. Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés chez l'arachide, le petit pois, le soja, le haricot, le pois chiche et le niébé [26, 30]. L'inoculation a eu une influence positive sur les composantes du rendement chez les plantes témoins non stressées. Cette augmentation de rendement sous inoculation serait due d'une part, à une augmentation de l'activité photosynthétique suite à l'augmentation de la teneur en chlorophylles totales observée sous inoculation et d'autre part à l'augmentation du nombre des nodules conduisant à une meilleure capacité de fixation de l'azote atmosphérique. Outre les modifications de la teneur en eau observées chez les plantes inoculées (diminution de la TRE), les rhizobiums induisent des ajustements plastiques conférant de nouvelles capacités aux plantes pour lutter contre les effets négatifs du déficit hydrique [31]. Ceci est confirmé par les travaux de [32] sur le niébé inoculé avec des rhizobactéries qui ont montré que ces microorganismes peuvent contribuer de manière durable à une meilleure capacité de fixation d'azote chez les légumineuses à graines et donc à améliorer leur productivité.

## 5. Conclusion

Cette étude a montré que le stress hydrique a un effet dépressif significatif sur les paramètres agromorphologiques, physiologiques et de nodulation du niébé. Les résultats obtenus dans les conditions de notre expérimentation permettent d'affirmer que les plantes de niébé sont plus sensibles au déficit hydrique au stade floraison qu'au stade végétatif. Le déficit hydrique a provoqué une baisse significative de la teneur en chlorophylle a aux deux stades, du potentiel hydrique de base au stade végétatif et minimal au stade floraison, du poids sec de la partie aérienne au stade floraison, du nombre et du poids sec des nodules, des gousses et des graines aux deux stades. Quant à l'inoculation, elle a entraîné une augmentation significative de la teneur en chlorophylle a et en chlorophylles totales, du potentiel hydrique de base et minimal au stade végétatif et une baisse de la teneur relative en eau aux deux stades de l'application du déficit hydrique ; elle a également eu un impact positif significatif non seulement sur le nombre et le poids sec des nodules mais également sur le nombre et le poids sec des gousses et des

graines. La baisse de rendement occasionnée par le déficit hydrique a été donc atténuée grâce à l'inoculation. Ces résultats montrent également que l'inoculation peut être une alternative efficace à la fertilisation des sols en vue d'accroître la productivité du niébé dans les zones arides et semi-arides au Sud du Sahara. De ce fait, l'inoculation avec des souches efficaces de bactéries peut s'avérer toujours nécessaire au champ en vue d'optimiser les rendements des nouvelles variétés sélectionnées couramment appelées variétés améliorées. Cette étude mérite donc d'être poursuivie en milieu réel en vue de compléter les connaissances sur le comportement physiologique et agromorphologique du niébé inoculé et soumis au déficit hydrique.

### Références

- [1] - B. SARR, O. DIOUF, M. DIOUF, H. ROY-MACAULEY et C. BROU, Utilisation de paramètres agronomiques comme critères de résistance à la sécheresse chez trois variétés de niébé cultivées au Sénégal et au Niger, *sécheresse*, 12 (4) (2001) 259 - 266
- [2] - N. BELKO, Phénotypage pour l'adaptation à la sécheresse : variations génotypiques des caractères agromorphologiques et physiologiques et leurs contributions à la production en condition de sécheresse de fin-de-cycle chez le niébé (*Vigna unguiculata*(L.) Walp.), thèse de Doct., Univ. de Ouaga, (2013) 101
- [3] - R. S. PASQUET, J-P. BAUDOIN, Le niébé, In : A. Charrier, M. Jacquot, S. Hamon et D. Nicolas, L'amélioration des plantes tropicales, CIRAD et ORSTOM, (1997) 483 - 505
- [4] - N. SANGINGA et D. BERGVINSON, Oléagineux et Niébé, in : Projet : Nourrir l'Afrique, document de référence, (2015) 30
- [5] - A. T. DIALLO, 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, (1998) 123
- [6] - B. L'TAIEF, B. SIFI, M. ZAMAN-ALLAH, HAJJI M., M. LACHAAL, 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) (2009) 537 - 544
- [7] - M. LAZALI, 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, (2009) 136 p.
- [8] - P. P. SOME, E. HIEN, K.TOZO, G. ZOMBRE, D. DIANOU, 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) (2014) 31 - 45
- [9] - RIPIMSA, Recherche Interdisciplinaire et Participative sur l'Intégration des Microorganismes dans les systèmes agricoles en Afrique de l'ouest, (2008) 17
- [10] - M. NEYRA, H. A. SOW, M. DIA, I. NDOYE, A. KANE, D. DIOUF, I. YATTARA, F. JANKOWSKI, J. LE MAREC, A. LE QUERE et T. WADE, 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, (2012) 378 - 392
- [11] - M. NEYRA, Amélioration de l'association niébé-rhizobium par la sélection de variétés et de souches adaptées à la contrainte hydrique, projet IRD, (2001) 4
- [12] - H. BARRS, Determination of water deficit in plant tissues. In : water deficit and plant growth, Koslowski T (ed), *Academy press* New York, (1968) 235 - 368
- [13] - P. F. SCHOLANDER, H. J. HAMMEL, A. BRADSTREET, E. A. HEMMINGSEN, Sap pressure in vascular plants, *Science*, 148 (1965) 339 - 346
- [14] - P. FERUS, M. ARKOSIOVA, Variability of chlorophyll content under fluctuating environment. *Acta Fytotechnica & Zootechnica*, 4 (2001) 5 - 9

- [15] - H. CHAFICA, N. NSARRELAH, E. KELTOUM, M. SAID et S. UDUPA, Effet du stress hydrique sur les critères physiologiques et biochimiques chez neuf génotypes de pois chiche (*Cicer arietinum* L.), *Nature et Technologie, B-Sci. agron. et biol.*, 11 (2014) 8 - 16
- [16] - A. BLUM, Plant breeding for stress environments, (1988) In : Réponse de la luzerne (*Medicago sativa* L.) au stress hydrique et à la profondeur des semis, HIRECHE Y., mémoire de magistère en sciences agronomiques UNIVERSITE AL HADJ LAKHDAR - BATNA, Algérie, (2006) 83
- [17] - Y. HIRECHE, Réponse de la luzerne (*Medicago sativa* L.) au stress hydrique et à la profondeur de semis, Mémoire de Magistère en sciences agronomiques, Université AL HADJ LAKHDAR-BATNA, Algérie, (2006) 83
- [18] - M. F. KASRAOUI, M. DENDEN, M. BRAHAM, M. GARCIA, et T. LAMAZE, Comportement physiologique de deux variétés d'olivier (*Olea europea* L.) soumises à une contrainte hydrique, *Annales de l'INGREF*, 6 (2004) 49 - 67
- [19] - A. P. KIHINDO, H. R. BAZIE, R. F. OUEDRAOGO, P. P. SOME, E. DONDASSE, G. ZOMBRE et K. TOZO, Variation de la réponse physiologique et agronomique du niébé (*Vigna unguiculata* L. Walp) à différentes dates de semis au Burkina Faso, *J. Appl. Biosci.*, 107 (2016) 10353 - 10361
- [20] - G. ZOMBRE, Cours de physiologie végétale : Nutrition des plantes et physiologie des stress, DEA option Ecophysiologie Végétale, (2005) 57
- [21] - G. ZOMBRE, J. D. ZONGO et E. T. P. SANKARA, Réponse physiologique du niébé au déficit hydrique s'exerçant uniformément au cours du cycle de développement, *Afric. Crop Sci. J.*, Vol. 2, (3) (1994) 225 - 231
- [22] - N. SEMCHEDDINE, 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, (2008) 72
- [23] - M. MEKKAOUI, Effet du stress hydrique et la mycorhization arbustive sur le comportement biochimique du prunier, Mémoire de Master, Sciences et techniques, Université SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH, Maroc, (2015) 70
- [24] - G. ZOMBRE, D. HEMA, F. HAMIDOU, P. SANKARA, Influence des fortes températures diurnes sur la productivité du niébé en culture de contre-saison, *Sécheresse*, 14 (4) (2003) 227 - 233
- [25] - M. BENMATI, PGPR, paranodules, stimulation de la croissance et tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*triticum durum* Desf.) : Aspects moléculaires et génétiques, Thèse 3è cycle Biotechnologie et génomiques végétales, Université de Constantine, (2014) 185
- [26] - Y. MEFTAH, Effet du stress hydrique sur le comportement de deux populations de niébé (*Vigna unguiculata* L.) inoculées par quatre souches de rhizobia autochtones, Mémoire de Magistère en Agronomie, ENSA EL HARRACH-ALGER, Algérie, (2012) 97
- [27] - J.-C. DESWARTE, Comprendre les mécanismes physiologiques mis en jeu chez une plante souffrant de la sécheresse, *Irrigation*, ARVALIS, (2014) 3
- [28] - S. M. OUNANE, Effet du stress hydrique et thermique sur la nutrition azotée chez le pois chiche (*Cicer arietinum*), thèse Doctorat d'état, INA El-Harrech Alger, (2004) 145
- [29] - S. D. FITOURI, Diversités phénotypique et moléculaire des microsymbiotes du sulla du nord (*hedysarum coronarium* l.) et sélection de souches rhizobiales efficaces, thèse de doctorat en sciences agronomiques, (2012) 145
- [30] - F. HAMIDOU, M. H. DICKO, G. ZOMBRE, A. S. TRAORE et S. GUINKO, Réponse adaptative de deux variétés de niébé à un stress hydrique, *Cahiers Agriculture*, Vol. 14, (6) (2005) 561 - 567
- [31] - J. BRESSON, Interaction plante-microorganismes : implication de la rhizobactérie *Phyllobacterium brassicacearum* dans les réponses d'*Arabidopsis thaliana* au stress hydrique, *Vegetal Biology*, Thèse de doctorat, Université MontpellierII, Sciences et techniques de Languedoc, (2013) 256
- [32] - D. DIANOU, A. M. BA, Influence de trois rhizobactéries sur la croissance et la fixation d'azote du niébé en présence de phosphate naturel, *Sciences et Techniques*, Sciences Naturelles, Vol. 23, (2) (1999) 7 - 15