

100

**Fixation symbiotique de l'azote
et développement durable
dans le Bassin méditerranéen**

Carthage (Tunisie)
13-16 octobre 1998

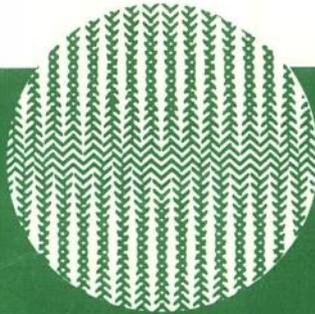
Montpellier (France)
9-13 juillet 2000

J.J. DREVON

B. SIFI

Editeurs

LES COLLOQUES



INRA
EDITIONS

**Fixation symbiotique de l'azote
et développement durable
dans le Bassin méditerranéen**

Carthage (Tunisie), 13-16 octobre 1998

Montpellier (France), 9-13 juillet 2000

Éditeurs / *Editors*

J.J. DREVON
INRA - Rhizosphère et Symbioses
Place Viala, 34060 Montpellier Cedex 1, France

B. SIFI
INRAT, rue Hédi Karray
2049 Ariana, Tunisie

En vente / *For sale*

INRA Editions
RD 10 - 78026 Versailles Cedex, France
email : INRA-Editions@versailles.inra.fr

© INRA, Paris, 2003
ISBN : 2-7380-1065-2
ISSN : 0293-1915

© Le code de la propriété intellectuelle du 1er juillet 1992 interdit la photocopie à usage collectif sans autorisation des ayants droit. Le non respect de cette disposition met en danger l'édition, notamment scientifique. Toute reproduction, partielle ou totale, du présent ouvrage est interdite sans autorisation de l'éditeur ou du Centre français d'exploitation du droit de copie (CFC), 20, rue des Grands-Augustins, Paris 6ème.

Préface

Cet ouvrage rassemble les communications des chercheurs du groupe FABAMED (Fixation Biologique de l'Azote dans le Bassin MEDiterranéen) présentées à l'occasion de deux colloques : l'un en 1998 à Carthage (Tunisie), l'autre en 2000 à Montpellier (France) - ce dernier s'intitulant Conférence Méditerranéenne de Rhizobiologie.

FABAMED est un groupe coopératif de recherche en agriculture méditerranéenne, qui a été créé lors d'une première réunion en 1994 avec des agronomes et des biologistes d'Europe du Sud et d'Afrique du Nord. Le projet initial était d'étudier les limitations de la fixation symbiotique de l'azote dans le Bassin méditerranéen. Lors de la deuxième réunion en 1995, ils ont conçu le projet FYSAME (*nitrogen Fixation and Yield of grain legumes in Salinized Mediterranean areas*) qui a été sélectionné, pour la période 1997-2000, par le programme de coopération internationale (INCO) de l'Union Européenne. Les réunions ultérieures au Maroc (Rabat, 1996), en Espagne (Grenade, 1997) et en Egypte (El Arish, 1999) permirent d'élargir le groupe à de nouvelles disciplines ainsi qu'à des chercheurs du Moyen-Orient. Les deux colloques ont rassemblé des participants d'Algérie, France, Egypte, Israël, Italie, Maroc, Syrie et Tunisie pour le Bassin méditerranéen, mais aussi d'Allemagne, Australie, Royaume-Uni, Suisse et USA. Ceci permet, entre autres, de soumettre la stratégie de FABAMED à des collègues d'Europe du Nord, d'Amérique et d'Australie, comme en atteste le numéro spécial de septembre-novembre 2001 de la revue *Agronomie*.

Le colloque en 2000 incorpora la réunion finale du projet FYSAME permettant ainsi à l'ensemble du groupe de bénéficier des résultats et de s'associer aux perspectives. Les actions de recherche en fixation symbiotique de l'azote des autres projets INCO furent également présentées : *Use of mycorrhizal and rhizobial symbioses for the sustainable development of forest in the Mediterranean region* ; *Phaseolus bean cultivation improvement under semi-arid Mediterranean conditions by constructing acid- and salt- tolerant rhizobial N₂-fixing symbionts for plant inoculation* ; *Prevention of land degradation in the Aral sea region by increasing tolerance of nitrogen fixing symbioses to salinity*.

L'objectif de ces colloques était de rassembler les résultats de cinq années de recherche du groupe FABAMED, de favoriser les interactions scientifiques au sein du Bassin méditerranéen et avec des zones méditerranéennes d'autres continents, de faire le lien entre des travaux en milieux contrôlés et des pratiques en zones agricoles ou naturelles, de susciter enfin des projets interdisciplinaires pour l'amélioration de la fixation symbiotique d'azote atmosphérique.

Recouvrant la multidisciplinarité du groupe, les communications sont regroupées en quatre parties :

- Agronomie, sur les enquêtes de nodulation et essais d'inoculation,
- Bactériologie, sur la diversité des rhizobia et frankia des sols méditerranéens,
- Génétique, sur l'amélioration de la plante-hôte pour le potentiel de fixation symbiotique d'azote et son adaptation environnementale,
- Physiologie, sur les mécanismes impliqués dans la régulation de la fixation symbiotique d'azote et sa réponse à des contraintes abiotiques.

Cette diversité des disciplines permet d'envisager une approche intégrée de la rhizobiologie en tant que science des interactions entre les bactéries de la famille des *Rhizobiaceae* et essentiellement des plantes de la famille des *Fabaceae*. L'implication des participants à ces colloques dans les projets générés pendant les séances de travail confirme l'intérêt d'une coordination en rhizobiologie méditerranéenne qui pourra s'appuyer sur cet ouvrage.

Sommaire

Approche interdisciplinaire de l'amélioration de la fixation symbiotique de l'azote d'une légumineuse à graine en zones salinisées du Bassin méditerranéen <i>J.J. Drevon</i>	11
Agronomie de la symbiose fixatrice d'azote	
Effet de l'inoculation et de la fertilisation azotée sur le rendement du pois chiche (<i>Cicer arietinum</i>) et du haricot (<i>Phaseolus vulgaris</i>) <i>B. Sifi, M. Trabelsi</i>	21
Enquête sur la nodulation du pois chiche au nord de la Tunisie <i>M. E. Aouani, D. P. Beck, J. J. Drevon</i>	35
Réponse du haricot à certains facteurs contrôlant la production <i>M. Trabelsi</i>	45
Enquête agronomique sur la nodulation du haricot en Lauragais <i>J. J. Drevon, G. Boyer, R. Metral, H. Payre, R. Pouliquen</i>	59
Effet du déficit hydrique sur la fixation de l'azote et la biomasse chez le pois chiche (<i>Cicer arietinum</i>) inoculé avec différentes souches de <i>Mesorhizobium ciceri</i> <i>S.M. Ounane, H. Irekti, F. Bacha</i>	69

Réponse à l'inoculation de trois souches de rhizobium exotiques évaluée à travers la fixation symbiotique de l'azote et le rendement du pois chiche (<i>Cicer arietinum</i> L.) <i>H. Mefti</i>	81
Réponse du pois chiche (<i>Cicer arietinum</i>) à l'inoculation sous salinité <i>M. El Khadir</i>	89
Influence des fertilisations phosphatées et soufrées sur la production de légumineuses fourragères : <i>Hedysarum coronarium</i> et <i>Trifolium alexandrinum</i> <i>G.Tibaoui, M. Zouaghi</i>	101
Biodiversité des Rhizobia	
Sérotypie des rhizobia nodulant le haricot et amélioration du rendement par inoculation <i>S.Feki, M. E. Aouani, R. Mhamdi, M. Jebara, M. Mars, R. Ghrir</i>	113
Nodulation du haricot dans différents sols tunisiens <i>R. Mhamdi, M. E. Aouani, S. Feki, M. Jebara, G. Laguerre, N. Amarger, M. Mars</i>	121
Éco-physiologie des souches de <i>Rhizobiaceae</i> nodulant le haricot (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) sous des conditions de stress salin <i>J. Aurag, I. Boumouch, A. Filali-Maltouf</i>	129
Amélioration de la symbiose <i>Rhizobium etli</i> – <i>Phaseolus vulgaris</i> sous contrainte saline par l'utilisation de rhizobia tolérants à la salinité <i>H. Ben Abdelkhalek, J. Sanjuan, J. Olivares, C. Lluch</i>	141
Diversité des souches de <i>Rhizobium ciceri</i> isolées des régions arides du Maroc : infectivité, efficacité et tolérance à la salinité <i>E.B. Berraho, J. Maatallah, A. Filali-Maltouf</i>	149
Diversité des rhizobia associés aux légumineuses pastorales des régions arides de la Tunisie <i>H. Jeder, N. Akrimi, M. Zouaghi, P. de Lajudie, M. Gillis, M.S. Zaafouri</i>	163
Adaptation naturelle de rhizobia à la salinité des sols et rôle des plantes halophiles <i>A. Bekki, M.A. Rezki, G. Gaouar</i>	173
Tolérance au sel et osmorégulation chez des souches de rhizobium nodulant <i>Acacia</i> spp. au Maroc <i>A. Berkia, F. Brhada, A. Filali-Maltouf</i>	179

Caractérisation des <i>Frankia</i> nodulant les <i>Casuarina</i> de Tunisie <i>M. Gtari, H. Nasr, S. Gharbi, A.M. Domenach, A. Boudabous</i>	189
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

Amélioration de la plante-hôte

Observation en plein champ de lignées de haricot en Tunisie <i>M. Trabelsi</i>	197
Fixation biologique de l'azote en conditions de salinité et de déficience en phosphore chez deux variétés de haricot: Coco blanc sensible et BAT 477 tolérante <i>K. Saadallah, C. Abdelly, J.J. Drevon</i>	203
Variabilité de la fixation symbiotique de l'azote chez des lignées de haricot blanc type lingot <i>X. Rey-Poiroux, J.J. Drevon</i>	217
Sélection du pois chiche pour la tolérance de la fixation symbiotique de l'azote au sel <i>M. Sadiki, K. Rabih</i>	233
Croissance et nutrition minérale en milieu salé de deux variétés de pois, <i>Pisum sativum</i> L. <i>M. Lachaal, M. Kafsi, C. Abdelly, A. Soltani, M. Hajji</i>	245
Effet du stress hydrique sur la nodulation et le système racinaire chez quelques populations de <i>Medicago aculeata</i> , <i>M. orbicularis</i> , <i>M. truncatula</i> <i>A. Chebouti, A. Abdelguerfi</i>	257
Variabilité morphologique et phénologique chez deux <i>taxa</i> très proches : <i>Medicago ciliaris</i> et <i>M. intertexta</i> <i>M. Laouar et A. Abdelguerfi</i>	263
Activité nitrogénase chez le robinier (<i>Robinia pseudoacacia</i> L.) <i>F. Saidi, A. Bouterkrabt, M. Chaouia</i>	273
Réponses de 4 variétés de haricot à la déficience ferrique, en rapport avec le mode de nutrition azotée <i>A. Krouma, C. Abdelly, M. Gharsalli, M. Hajji</i>	279
Génétique moléculaire de la symbiose <i>Sinorhizobium</i> -légumineuses chez la plante-modèle <i>Medicago truncatula</i> <i>T. Huguet, M. Gherardi, P. Thoquet, L. Tirichine, A. Kereszt, J.M. Prosperi</i>	295

Biologie de la symbiose

- Assimilation de l'ammonium et métabolisme des uréides chez *Phaseolus vulgaris* : effet de la contrainte saline
M. Khadri, L. Pliego, M. Soussi, A. Ocaña, C. Lluch 303
- Métabolisme du carbone dans les nodosités de *Phaseolus vulgaris* var. Coco en conditions de stress salin
L. Pliego, M. Khadri, M. Soussi, A. Ocaña, C. Lluch 313
- Germination de différents cultivars de *Cicer arietinum* en conditions de salinité : profil de protéines et accumulation de solutés compatibles
M. Soussi, M. Khadri, L. Pliego, C. Lluch, A. Ocaña 321
- Implication du statut ionique des nodosités dans la fixation biologique de l'azote en milieu salé chez le haricot
S. Boughribil, M. Lachaal, C. Abdelly, A. Soltani, M. Hajji 331
- Libération de protons par les plantes et acidification des sols
B. Jaillard, M. Meslem, C. Plassard, H. Calba 339
- Modulation osmotique de la biosynthèse et du catabolisme de la glycine bêtaïne chez *Rhizobium ciceri*
F. Brhada, D. Le Rudulier 353
- Effet d'extraits d'halophytes sur l'halotolérance de *Rhizobium*
A. Larguet, M. Ghoul 365
- Acide abscissique et conductance à la diffusion de l'oxygène dans les nodosités de haricot soumises à un choc salin
H. Irekti, J.J. Drevon 371
- Caractérisation moléculaire de symbioses légumineuse - rhizobia : expression différentielle de gènes du cortex nodulaire
H. Gherbi, O. Schumpp, H. Payre, J.J. Drevon 381
- Hybridation *in situ* d'un gène d'anhydrase carbonique dans le cortex de nodosités de haricot (*Phaseolus vulgaris*) BAT477
O. Schumpp, F. de Billy, J. Escoute, P. Gamas, H. Gherbi, M. Michaux-Ferreire, H. Payré, J.J. Drevon 389
- Hybridation *in situ* d'un gène d'aquaporine dans les nodosités de haricot (*Phaseolus vulgaris*) BAT477
M. Soussi, J. Escoute, H. Payré, J.J. Drevon 401

Étude moléculaire de la symbiose actinorhizienne : implications pour l'origine évolutive des nodules fixateurs d'azote

L. Laplaze, C. Franche, F. Auguy, T. Frutz, M. Rio, F. Guermarche, D. Bogusz, E. Duhoux

Approche interdisciplinaire de l'amélioration de la fixation symbiotique de l'azote d'une légumineuse à graine en zones salinisées du Bassin Méditerranéen

J.J. DREVON

INRA, Rhizosphère et Symbioses, place Viala, 34060 Montpellier Cedex 1, France

ABSTRACT

Results and interactions of a cooperative research group of agronomists, plant breeders, microbiologists, physiologists and molecularists to improve the symbiotic nitrogen fixation (SNF) and N₂-dependent yield of common bean under moderate salinity in the Mediterranean basin are presented. Agronomic surveys in reference production areas show large spatial and temporal variations in plant nodulation and growth, and in efficiency of utilization of the rhizobial symbiosis. The later was associated with a large rhizobial diversity, including new bean nodulating species. Macrosymbiont diversity in SNF and adaptation to NaCl was found. However, contrasts between plant genotypes could be altered by specific interactions with some native rhizobia. Therefore, variations in soil rhizobial population, in addition to agronomic practices and environmental constraints, may have contributed to erratic results that were observed in field inoculations. At the mechanistic level, nodule C and N metabolisms, abscisic acid content, and the nodule conductance to O₂ diffusion were addressed in relation with SNF potential and tolerance to NaCl. Limits and prospects of the strategy are discussed.

INTRODUCTION

Les légumineuses en symbioses avec des rhizobia, sont une priorité pour les politiques de recherche des pays en développement car leur culture produit des grains et fourrages riches en protéines à partir d'azote atmosphérique. De plus elle accroît la productivité des céréales

et autres cultures en rotation. Mais dans le bassin Méditerranéen, la salinité affecte plus de 40% des sols ce qui limite fortement la productivité des légumineuses. En conséquence un groupe coopératif de recherche a été initié pour appliquer les connaissances de base de la fixation symbiotique d'azote (FSN) et les progrès méthodologiques de la biologie à i) sélectionner des légumineuses à graine, avec le haricot (*Phaseolus vulgaris*) en tant que légumineuse modèle, et leurs rhizobia spécifiques, pour l'expression d'un potentiel élevé de FSN sous contrainte osmotique, (ii) évaluer leurs rendements en sols irrigués avec des eaux de salinité variable en Afrique du Nord et Europe du Sud, (iii) progresser dans la compréhension des mécanismes biochimiques et la recherche des gènes impliqués dans la tolérance de la SNF à la salinité.

Le projet multidisciplinaire correspondant, nommé FYSAME a été soutenu par le programme de coopération internationale pour le développement (INCODEV) du 5^{ème} PCRD (programme cadre de recherche développement de la Communauté Européenne). Il regroupe des agronomes, des microbiologistes, des généticiens des plantes, des physiologistes et des biologistes moléculaires d'Algérie, Espagne, France, Maroc et Tunisie, dont les travaux expérimentaux consistent à : (i) enquêter dans des zones salinisées pour collecter des variétés locales et des rhizobia, et pour évaluer ensuite les symbioses sélectionnées ; (ii) sélectionner des macrosymbiotes pour la tolérance de la FSN à la salinité, et rechercher des interactions spécifiques avec le microsymbiote dans des essais d'inoculation croisée ; (iii) rechercher les mécanismes de tolérance propres à la SNF aux niveaux cellulaires et moléculaires par des approches comparées de lignées sensibles *versus* tolérantes et définir les conditions physiologiques optimales pour cette sélection ; (iv) caractériser la diversité génétique des microsymbiotes et identifier des gènes candidats pour la tolérance de la FSN à la salinité.

L'objectif est ici de réviser les résultats de ce projet afin d'en tirer des perspectives et d'en discuter les limites pour l'avenir du groupe de recherche coopérative sur la fixation symbiotique de l'azote dans le bassin Méditerranéen.

Variation spatiale et temporelle de la nodulation du haricot

Dans les zones de référence du projet, les enquêtes de nodulation du haricot montrent une grande variabilité. Dans le Lauragais (France), le nombre de nodules par plante à la floraison varie de moins de 5 à plus de 50 selon les parcelles une même année, ainsi que d'une année à l'autre dans certaines parcelles (Drevon J. J. *et al.*, cet ouvrage). En Tunisie, la

nodulation du haricot est totalement absente, comme à Beja ou Jendouba, ou faible dans le Cap Bon et à Bizerte, avec une disparition notoire des nodules à la floraison (Sifi B., cet ouvrage). Au Maroc, la nodulation était plus faible à Loukos qu'à Ain Atiq (Aurag *et al.*, cet ouvrage).

Dans les sites où la fertilisation azotée améliore le rendement, la croissance aérienne est souvent corrélée à la nodulation. Dans ces cas une forte pente de régression indique une efficacité élevée dans l'utilisation de la symbiose rhizobienne, incluant une bonne complémentarité avec l'utilisation de l'azote minéral. Les variations de cette pente selon les sites et les années pourraient s'expliquer par divers facteurs environnementaux ou des différences de potentiels de FSN des partenaires symbiotiques, dont les rhizobia natifs.

Diversité des rhizobia natifs nodulant le haricot

En Tunisie, parmi les 300 isolats collectés, les 8 taxons suivants ont pu être identifiés: *Rhizobium gallicum*, *R. etli*, *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, *R. giardinii*, *S. fredii*, *S. meliloti*, *S. medicae* et 'pseudo-*Agrobacterium*' (Mhamdi *et al.*, 1999). Cette grande diversité est confirmée par l'observation de 19 sérogroupes (Fekki *et al.*, cet ouvrage). De plus la structure des populations rhizobiennes diffère entre le Cap Bon, la vallée de la Medjerda et le sud semi-aride de Tunisie. Au Maroc, 2 isolats ont été identifiés comme des *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* et 6 comme des *R. tropici* B (Boumouch *et al.*, 2001).

Dix neuf rhizobia du Maroc et 30 de Tunisie s'avèrent en symbiose avec la variété locale Coco, autant ou plus efficaces que *R. tropici* B CIAT899, choisie comme rhizobia de référence du projet. Une large variabilité a été trouvée pour la tolérance des rhizobia à la salinité en boîte de Petri (Aouani *et al.*, 1998 ; Boumouch *et al.*, 2001). De plus des mutants à sensibilité accrue ont été obtenus à partir de *R. etli* et *R. tropici* (Ben Abdelkhalek *et al.*, cet ouvrage).

Sélection de *P. vulgaris*

A Mateur (Tunisie), 14 lignées de *P. vulgaris* ont produit davantage que Coco avec des différences variables en année sèche en 1996, normale en 97 et humide en 98. Dans les zones de production de la vallée de la Medjerda en 1999, DOR585, SVM29-21, FLAMINGO, KID53, RUDDY, CAN74, BRB17, WAF147 exprimèrent des rendements supérieurs au 1,3 t ha⁻¹ de Coco (Trabelsi, cet ouvrage). Leur nodulation avec les rhizobia

natifs variait entre 0 et 27 nodules par plante chez KID53 et BRB17, tandis que Coco avait une moyenne intermédiaire de 11 nodules par plante. En Lauragais, parmi 27 lignées à grain blanc, Diego a produit plus que les 2,5 t ha⁻¹ de la variété locale Linex (Rey-Poiroux et Drevon, cet ouvrage). La nodulation variait entre 5 et 50 nodules par plante pour T815 et Diego.

En serre où la nodulation est beaucoup plus élevée qu'au champ, Coco s'avère plus sensible à la salinité que Flamingo, BAT477, DOR364, DOR585, tandis que BRB17, ABA16 et Dark sont les lignées les plus sensibles (Boughribil *et al.*, cet ouvrage ; Saadallah *et al.* 2001).

Interaction des rhizobia natifs avec les lignées sélectionnées

Dans un essai d'inoculation croisé en culture hydroaéroponique sous serre, CIAT899 s'avère plus efficace avec Flamingo qu'avec Coco, tandis que c'est l'inverse avec le *S. fredii* 1a6 natif de Tunisie. Avec CIAT899, Flamingo est plus tolérant à la salinité que Coco, mais c'est l'inverse avec *S. fredii* 1a6. En revanche BAT477 était plus tolérant que Coco avec ces 2 rhizobia ainsi qu'avec 12a3 (*R. etli*) (Jebara *et al.*, 2001). En culture sur sable, le classement des symbioses pour leur tolérance à la salinité était différent, avec néanmoins une croissance des plantes 5 à 8 fois inférieure à celle ci-dessus en hydroaéroponique.

Des interactions spécifiques ont aussi été trouvées chez des haricots à grains blancs : la lignée T815 et la variété Linex avaient moins de 20 nodosités par plante avec le rhizobia natif du Lauragais, LR14, mais plus de 150 nodosités par plante avec CIAT899. La variété Diego avait plus de 200 nodosités par plante, quel que soit le rhizobia (Rey-Poiroux et Drevon, cet ouvrage).

Dans ces travaux avec des rhizobia natifs, aucune corrélation n'apparaît entre la tolérance à la salinité en culture libre et l'efficacité à fixer l'azote en symbiose. Ceci contraste avec la fixation d'azote plus élevée, sous contrainte saline, du mutant Tn5 de *R. etli* CFN42 qui présentait une plus grande tolérance à la salinité à l'état libre que la souche parentale (Ben Abdelkhalek *et al.*, cet ouvrage).

Mécanismes physiologiques

Puisque la recherche de symbioses tolérante à NaCl est menée en milieu contrôlé, des mesures physiologiques peuvent être réalisées sur des symbioses contrastantes en vue d'identifier des mécanismes et des gènes impliqués dans la tolérance spécifiquement pour les plantes symbiotiques.

La plus grande sensibilité des plantes symbiotiques versus N minéral est associée à une accumulation accrue de Cl⁻ dans les feuilles (Saadallah *et al.*, 2001). En symbiose, la plus grande sensibilité de Coco comparé à BAT477, n'est pas attribuable à des différences de vigueur des plantules. Elle est associée à une plus forte accumulation de Cl⁻ dans les feuilles et dans les nodules. En revanche, la teneur de Na⁺ des nodules est plus faible chez Coco que chez BAT477 où elle reste toutefois nettement inférieure à la teneur nodulaire de Cl⁻ (Saadallah *et al.*, 2001). Cependant cette dernière n'est pas corrélée à la sensibilité des lignées contrastantes ci-dessus. Une expérimentation en compartiments racinaires séparés suggère que la sensibilité du haricot symbiotique à NaCl est due à des effets sur l'accumulation d'autres nutriments que Na et Cl (Boughribil *et al.*, cet ouvrage).

La physiologie nodulaire est caractérisée par une respiration intense de substrats photosynthétiques pour supporter la réduction de N₂ par la nitrogénase. La plus forte activité nodulaire de la phosphoénol pyruvate carboxylase et de la malate déshydrogénase dans les symbioses tolérantes au NaCl (Pliego *et al.*, cet ouvrage). Ces enzymes sont impliquées de la synthèse du malate qui est une source d'énergie pour les bactéroïdes, forme végétative fixatrice d'azote de rhizobia en symbiose, ainsi qu'un substrat pour la synthèse d'acides aminés avec l'ammoniac provenant de la fixation symbiotique d'azote, et enfin, un régulateur de la pression osmotique et du pH cellulaire. Leur augmentation est cohérente avec la localisation de transcrits de l'anhydrase carbonique dans le cortex nodulaire (Schumpp *et al.*, cet ouvrage), ainsi qu'avec l'augmentation de perméabilité nodulaire sous contrainte saline (Jebara et Drevon, 2001) qui serait associée à une augmentation de turgescence des cellules internes du cortex nodulaire.

Afin de tester plus précisément cette hypothèse d'osmorégulation de la fixation nodulaire d'azote, l'expression d'un gène d'aquaporine a été abordée dans ce projet (Soussi *et al.*, cet ouvrage). Afin de rechercher d'autres gènes candidats pour la régulation de la perméabilité des nodosités et l'adaptation de la symbiose rhizobienne à la contrainte saline, un tri différentiel d'ARN du cortex nodulaire a été engagé (Gherbi *et al.*, cet ouvrage)

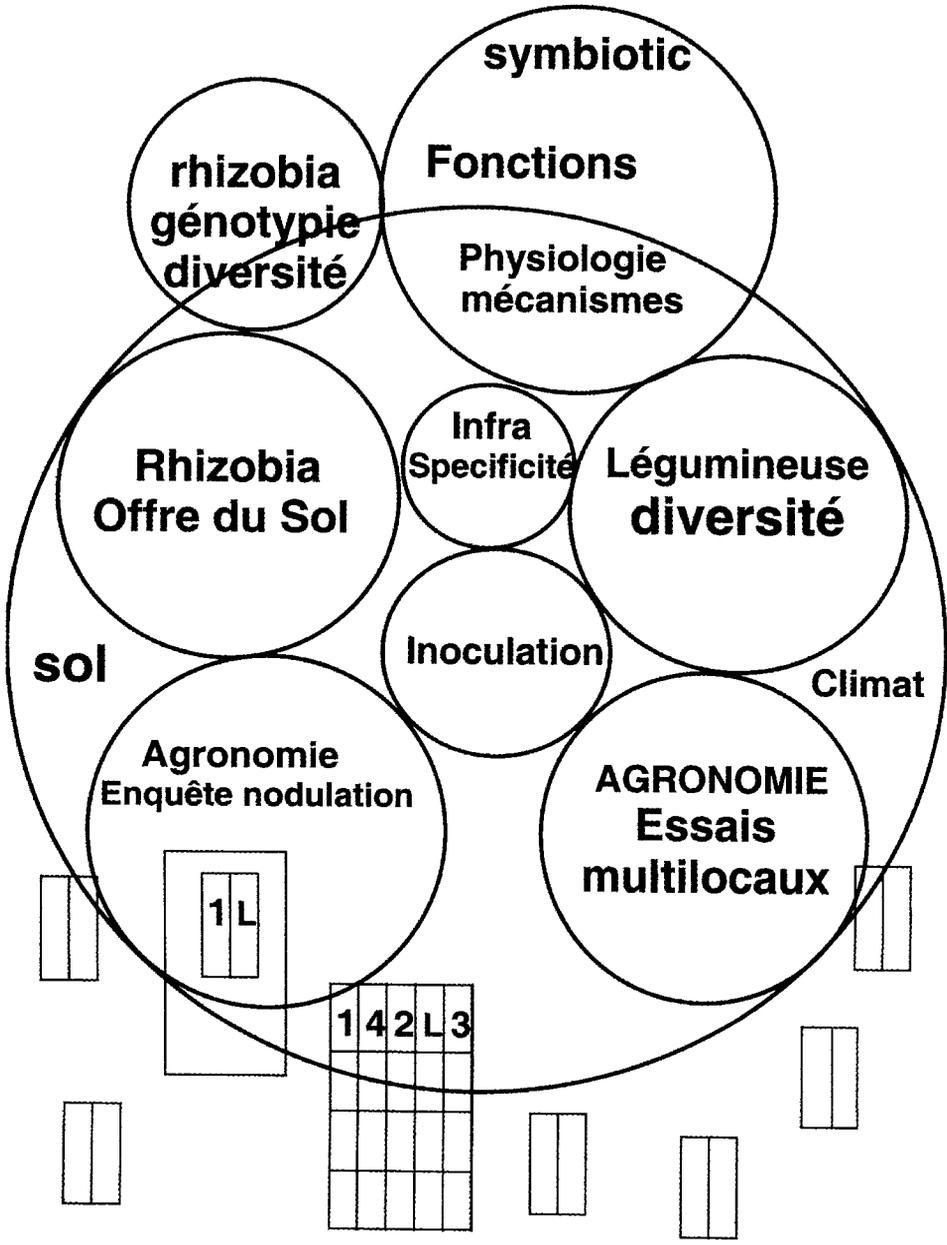


Figure 1. Interactions disciplinaires dans une approche de rhizobiologie articulée sur des expérimentations multilocalles dans un bassin de production de légumineuses.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

La figure 1 illustre les liens expérimentaux entre les disciplines rassemblées dans le projet FYSAME en échangeant des lignées de haricot et des souches de rhizobia. La coopération entre les bactériologistes et les sélectionneurs végétaux est stimulée par la description de la diversité d'espèces de *Rhizobiaceae* dans des zones de production, et la spécificité de leurs interactions avec les lignées sélectionnées en tant que macrosymbiotes.

La plupart des difficultés rencontrées dans l'approche interdisciplinaire sont rencontrées au niveau de la parcelle cultivée. La réussite de l'approche interdisciplinaire dépend en effet de la rencontre qui s'opère entre les scientifiques, les agronomes et les producteurs, dans le contexte des interactions sociales des zones de référence où ces observations peuvent être réalisées.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé dans le cadre du programme de recherche INCO-FYSAME (ERBIC18CT960081) soutenu par l'Union Européenne.

REFERENCES

- AMARGER N., MACHERET V., LAGUERRE G., 1997. *Rhizobium gallicum* sp. nov. and *Rhizobium giardinii* sp. nov. from *Phaseolus vulgaris* nodules. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 47, 996-1006.
- AOUANI M.E., MHAMDI R., MARS M., GHRIR R., 1998. Nodulation and growth of common bean under NaCl-stress. *Soil Biol. Biochem.*, 301, 473-1475.
- AURAG J., BOUMOUCHE I., FILALI-MALTOUF A., 2003. Eco-physiologie des souches de *Rhizobiaceae* nodulant le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) sous des conditions de stress salin. In: Drevon J.J. and Sifi B. (Eds) : *Fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le Bassin méditerranéen*. INRA Paris, Les Colloques, N°100, 129-139.
- BEN ABDELKHALEK H., SANJUAN J., OLIVARES J., LLUCH C., 2003. Amélioration de la symbiose *Rhizobium etli* - *Phaseolus vulgaris* sous contrainte saline par l'utilisation de rhizobia tolérants à la salinité. In: Drevon J.J. and Sifi B. (Eds) : *Fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le Bassin méditerranéen*. INRA Paris, Les Colloques, N°100, 141-147.
- BOUMOUCHE I., BRHADA F., FILALI-MALTOUF A., AURAG J., 2001. Selection of osmotolerant and effective strains of *Rhizobium* for inoculation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Moroccan saline soils. *Agronomie*, 21, 503-504.
- BOUGHRIBIL S., LACHAAL M., ABDELLY C., SOLTANI A., HAJJI M., 2003. Implication du statut ionique des nodosités dans la fixation biologique de l'azote en milieu salé chez le haricot. In: Drevon J.J. and Sifi B. (Eds) : *Fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le Bassin méditerranéen*. INRA Paris, Les Colloques, N°100, 331-338.
- DE LAJUDIE P., WILLEMS A., NICK G., MOHAMED S. H., TORCK U., COOPMAN R., FILALI MALTOUF A., KERSTERS K., DREYFUS B., LINDSTROM K., GILLIS M., 1999. *Agrobacterium* bv. 1 strains isolated from nodules of tropical legumes. *System. Appl. Microbiol.*, 22, 119-132.
- DREVON J.J., DERANSART C., FLEURAT-LESSARD P., JAILLARD B., NDJIONDJOP M.N., PAYRE H., RIBET J., ROY G., SERRAJ R., 1995. Is the symbiotic fixation osmoregulated by reversible

- contraction of cells in the legume-nodule inner cortex ? In: Tikhonovitch, I.A. Provorov, N.A. Romanov, V.I. Newton W.E. (eds) *Nitrogen fixation: Fundamentals and applications*. Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands, p 598
- FEKI S., AOUANI M.E., MHAMDI R., JEBARA M., MARS M., GHRIR R., 2003. Sérotypie des rhizobia nodulant le haricot et amélioration du rendement par inoculation. In: Drevon J.J. and Sifi B. (Eds) : *Fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le Bassin méditerranéen*. INRA Paris, Les Colloques, n°100, 113-120.
- GHERBI H., SCHUMPP O., PAYRÉ H., DREVON J.J., 2003. Caractérisation moléculaire de symbioses légumineuse - rhizobia : expression différentielle de gènes du cortex nodulaire. In: Drevon J.J. and Sifi B. (Eds) : *Fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le Bassin méditerranéen*. INRA Paris, Les Colloques, n°100, 381-388.
- JEBARA M., AOUANI M.E., DREVON J.J., 2001. Effects of hydroponic culture system and NaCl on interactions between common bean lines and native rhizobia from Tunisian soils. *Agronomie*, 21, 601-606.
- JEBARA M., DREVON J.J., 2001. Genotypic variation in nodule conductance to the oxygen diffusion in common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Agronomie*, 21, 667-674.
- MHAMDI R., JEBARA M., AOUANI M.E., GHRIR R., MARS M., 1999. Genotypic diversity and symbiotic effectiveness of rhizobia isolated from root nodules of *Phaseolus vulgaris* L. grown in Tunisian soils. *Biol. Fertil. Soils.*, 28, 313-320.
- PLIEGO L., KHADRI M., SOUSSI M., OCAÑA A., LLUCH C., 2003. Métabolisme du carbone dans les nodosités de *Phaseolus vulgaris* var. Coco en conditions de stress salin. In: Drevon J.J. and Sifi B. (Eds) : *Fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le Bassin méditerranéen*. INRA Paris, Les Colloques, n°100, 313-320.
- REY-POIROUX X., DREVON, J.J., 2003. Variabilité de la fixation symbiotique de l'azote chez des lignées de haricot blanc de type lingot. In: Drevon J.J. and Sifi B. (Eds), *Fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le Bassin méditerranéen*. INRA Paris, Les Colloques, n°100, 217-232.
- SAADALLAH K., DREVON J.J., ABDELLY C., 2001 Nodulation et croissance nodulaire chez le haricot sous contrainte saline. *Agronomie*, 21:627-634.
- SAADALLAH K., DREVON J.J., ABDELLY C., 2002. Genotypic variation for tolerance to salinity of N₂-fixing common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Agronomie*, 21, 675-682.
- SCHUMPP O., DE BILLY F., ESCOUTE J., GAMAS P., GHERBI H., MICHAUX-FERREIRE M., PAYRE H., DREVON J.J., 2003. Hybridation *in situ* d'un gène d'anhydrase carbonique dans le cortex de nodosités de haricot (*Phaseolus vulgaris*) BAT477. In: Drevon J.J. and Sifi B. (Eds) : *Fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le Bassin méditerranéen*. INRA Paris, Les Colloques, n°100, 389-399.
- SIFI B., TRABELSI M., 2003. Effet de l'inoculation et de la fertilisation azotée sur le rendement du pois chiche (*Cicer arietinum*) et du haricot (*Phaseolus vulgaris*). In: Drevon J.J. and Sifi B. (Eds) : *Fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le Bassin méditerranéen*. INRA Paris, Les Colloques, n°100, 21-33.
- SOUSSI M., OCAÑA A., LLUCH C., 1998. Effects of salt stress on growth, photosynthesis and nitrogen fixation in chick-pea (*Cicer arietinum* L.). *J. Exp. Bot.*, 49, 1329-1337.
- TRABELSI M., 2003. Observation en plein champ de lignées de haricot en Tunisie. In: Drevon J.J. and Sifi B. (Eds), *Fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le Bassin méditerranéen*. INRA Paris, Les Colloques, n°100, 197-202.