

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU

INSTITUT SUPERIEUR POLYTECHNIQUE

ANNEE UNIVERSITAIRE 1983-1984

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES POUR L'OBTENTION
DU DIPLOME D'INGENIEUR DU DEVELOPPEMENT RURAL

(I.D.R. Option agronomie)

N° 0 0 0 6 2

Profr,

THEME :

**Efficacité de diverses souches de
Rhizobium phaseoli sur le haricot
(Phaseolus vulgaris), variété Goldie.**

lieu de stage :

Université Laval (Québec-Canada) , G1K 7P4

département des sols.

REMERCIEMENTS

Mes sincères remerciements et ma très profonde reconnaissance au docteur Hani Antoun du Département des sols à la Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation de l'Université Laval qui a patroné mes travaux de recherche, et au docteur Roger Lalande, microbiologiste à la Station de recherche du Ministère fédéral de l'agriculture (Sainte-Foy, Québec).

Je rends un très grand hommage au docteur Hani Antoun pour m'avoir fourni l'encadrement scientifique, prodigué de multiples conseils et pour m'avoir mis à l'aise pour l'exécution des travaux, rejets de sa très grande sympathie et ses grandes qualités d'enseignant. Un grand hommage également au docteur Roger Lalande pour m'avoir fourni les souches de Rhizobium utilisées dans cette recherche ainsi que tout le matériel d'expérience; je lui suis reconnaissant pour l'esprit de camaraderie qui a prévalu entre nous pendant le déroulement des travaux.

Mes remerciements vont aux étudiants Michel Pitre et Pierre Joyal pour leur participation à la mise en place de la deuxième expérience; un grand merci à Michel pour son aide dans l'arrosage des plantes.

Un grand merci au docteur Michel Cescas, directeur du Département des sols pour l'aide morale qu'il m'a apportée à travers son sourire et ses encouragements, ainsi qu'à tous les professeurs, employés de soutien et étudiants du Département des sols qui d'une manière ou d'une autre auraient contribué à la réalisation de mon stage.

Grand merci à monsieur Jacques St-Cyr, photographe au Centre de recherche Agriculture Canada (Ste-Foy, Québec) qui a réalisé les dispositions.

Je remercie vivement madame Louise Laroche pour son excellent travail de dactylographie et sa très grande sympathie.

Mes vifs remerciements et toute ma reconnaissance vont à la direction de l'Institut supérieur polytechnique (Université de Ouagadougou, Haute-Volta), initiatrice du stage.

Ma très grande reconnaissance et mes remerciements au Centre de recherche pour le développement international (CRDI) pour sa contribution financière qui m'a permis de mener ces travaux de recherche.

Je voudrais à travers ce mémoire témoigner ma reconnaissance à tous mes parents, en particulier à ma grande soeur Marie-Josèphe Paré qui a joué un grand rôle dans le déroulement de mes études. Je lui dédie ce mémoire et à travers elle à tous les membres de ma famille. Qu'elle soit comblée et récompensée pour sa très grande générosité.

RESUME

Souvent qualifié de "fixateur faible", très peu de recherches ont été menées sur la fixation biologique d'azote chez le haricot comparativement aux autres légumineuses telles que la luzerne et le soya.

Il a été montré cependant que cette légumineuse pouvait bénéficier largement sous certaines conditions, de la bactérisation au moyen de souches efficaces de Rhizobium (Brakel et Manil, 1964, 1965).

La sélection de souches efficaces pour l'inoculation du haricot et la vulgarisation de cette biotechnologie dans le monde paysan permettront d'économiser de l'argent, en particulier dans les pays en voie de développement qui ne peuvent accéder aux engrais azotés artificiels à cause de leurs prix très élevés, et où cette légumineuse est très consommée.

Aussi, dans le cadre de la recherche en biotechnologie agricole, nous avons mené ces expériences dans le but de développer un inoculum efficace pour le haricot (Phaseolus vulgaris). Toutes les expériences ont été faites en serre.

Dans une première expérience, utilisant le cultivar Goldie, nous avons testé 65 souches de Rhizobium phaseoli isolées à partir de plusieurs variétés de haricot cultivées dans différentes régions du Québec. Quarante-deux jours après le semis, nous avons observé une forte corrélation entre le poids sec des parties aériennes des plantes et leur contenu en azote.

Utilisant le critère "rendement de matière sèche" des parties aériennes des plantes, quelques souches à comportement fixateur allant de non efficace à très efficace ont été testées individuellement et en paires sur le cultivar Goldie.

Cette deuxième expérience, conduite jusqu'à l'obtention de gousses a révélé l'existence de fortes corrélations entre certains facteurs de rendement, et pouvant être utilisées dans des programmes de sélection de souches de Rhizobium, et la possibilité d'utiliser des souches individuelles et des mélanges de souches pour l'inoculation du haricot.

TABLE DES MATIERES

	Page
Remerciements	i
Résumé	iii
Table des matières	v
Liste des tableaux	ix
Liste des figures	xii
Introduction	1
1. Revue bibliographique	3
CHAPITRE I. GENERALITES SUR LE PHENOMENE SYMBIOTIQUE RHIZOBIUM	
- LEGUMINEUSES	3
A. Historique	3
B. La fixation symbiotique d'azote atmosphérique	4
C. Description botanique du matériel végétal d'expérimentation: <u>Phaseolus vulgaris</u>	5
D. Les partenaires de la symbiose	6
D.1 La légumineuse-hôte	6
D.2 La bactérie	8
D.2.1 Morphologie et cytologie	8
D.2.2 Caractères cultureux	10
D.2.3 Exigences métaboliques	11
E. Les nodules racinaires: siège de la symbiose	12
E.1 Morphologie	12
E.2 Couleur	12
E.3 Structure	13
E.4 Infection des racines et formation des nodules	15

E.4.1	Préinfection	15
E.4.1.1	Hypothèse des lectines	17
E.4.2	Infection et genèse du nodule	17
E.4.3	Maturité nodulaire	19
E.4.4	Dégénérescence nodulaire	19
E.5	La légghémoglobine	20
F.	Influence des facteurs du milieu sur la fixation	21
F.1	Les facteurs du sol	21
F.1.1	Le pH, le calcium et le chélate de fer	21
F.1.2	La température du sol	22
F.1.3	Les contraintes hydriques	23
F.1.4	Les éléments nutritifs du sol	24
F.2	L'azote disponible	24
F.3	Facteurs biologiques antagonistes des <u>Rhizobium</u>	25
G.	Le phénomène symbiotique	26
G.1	La spécificité	26
G.2	L'efficacité	27
G.3	Relations entre spécificité et efficacité	28
G.4	La compétition	29
H.	Principales enzymes impliquées dans le phénomène symbiotique	30
H.1	Nitrogénase	30
H.2	Nitrate réductase	31
CHAPITRE 2. CRITERES UTILISES POUR LA SELECTION DES SOUCHES DE		
<u>RHIZOBIUM</u> SELON LEUR EFFICACITE A FIXER L'AZOTE		
ATMOSPHERIQUE		32
A.	Critères basés sur l'association plantes-bactéries	32
A.1	Critères morphologiques.	32
A.2	Rendement	33
A.3	Pourcentage d'azote et azote total dans la plante	35
II -	Méthodologie expérimentale	36
CHAPITRE 1. DETERMINATION DE L'EFFICACITE DES SOUCHES DE		
<u>RHIZOBIUM PHASEOLI</u> , EN FONCTION DU POIDS SEC ET		
DE L'AZOTE TOTAL DES PLANTES		36
A.	Origine des souches	36

B. Variété de <u>Phaseolus vulgaris</u>	36
C. Conditions de croissance des bactéries	39
C.1 Stérilisation du milieu de croissance	39
C.2 Inoculation et incubation des bactéries	39
D. Stérilisation	39
D.1 Graines	40
D.2 Mélange synthétique	40
D.3 Pots	40
E. Solution nutritive	40
F. Semis	41
F. Dispositif expérimental	41
H. Sélection des plantules	41
I. Inoculation des plantules	42
J. Arrosage	42
K. Eclairage	42
L. Température de croissance	42
M. Récolte et pesée	42
N. Détermination du pourcentage d'azote et de l'azote total	43
O. Analyse statistique des résultats	43
O.1 Analyse de la variance	43
O.2 Corrélation entre le rendement exprimé en poids de matière sèche et le contenu en azote total	43
P. Classement des souches selon leur comportement symbiotique	44
CHAPITRE 2. SÉLECTION DES SOUCHES DE <u>RHIZOBIUM PHASEOLI</u> EN FONCTION DU RENDEMENT EN GOUSSES	46
A. Matériel bactérien	46
B. Variété de <u>Phaseolus vulgaris</u>	46
C. Pots	48
D. Mélange synthétique	48
E. Semis	48
F. Dispositif expérimental	48
G. Inoculation des plantules	48
H. Arrosage	49
I. Eclairage	49
J. Température de croissance	49

K. Récolte et pesée	49
L. Détermination du pourcentage d'azote et de l'azote total	49
M. Analyse statistique des résultats	50
M.1 Analyse de la variance	50
M.2 Corrélations	50
III - Résultats et discussion	51
CHAPITRE 1. Première expérience	51
A. Résultats	51
B. Discussion	70
CHAPITRE 2. Deuxième expérience	73
A. Résultats	73
B. Discussion	88
Conclusion générale	93
Bibliographie	95
Annexes	111

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAUX	Page
1	Chaîne d'interaction entre les <u>Rhizobium</u> et les racines . . . 16
2	Les différentes espèces de <u>Rhizobium</u> et leurs hôtes 27
3	Origine des souches de <u>Rhizobium phaseoli</u> utilisées dans la première expérience 37
4	Souches de <u>Rhizobium phaseoli</u> testées dans la deuxième expérience 47
5	Analyse de variance du rendement exprimé en grammes de pois sec/pot de haricot (première expérience) 52
6	Rendements moyens exprimés en grammes de matière sèche par pot (première expérience) 53
7	Comportement fixateur des différentes souches de <u>Rhizobium phaseoli</u> en fonction du poids de la matière sèche (première expérience) 56
8	Analyse de variance de la quantité d'azote total des plantes (première expérience) 60

TABLEAUX

9	Poids moyens d'azote total exprimés en grammes par pot (première expérience)	62
10	Comportement fixateur des différentes souches de <u>Rhizobium phaseoli</u> en fonction du poids d'azote total (première expérience)	65
11	Constantes statistiques reliant les moyennes du poids sec et de la teneur en azote total de la variété de haricot Goldie (première expérience)	69
12	Analyse de variance du rendement exprimé en grammes de poids frais des gousses/pot de haricot (deuxième expérience)	74
13	Analyse de variance du rendement exprimé en grammes de poids sec des gousses/pot de haricot (deuxième expérience)	75
14	Analyse de variance du rendement exprimé en grammes de poids sec des plants/pot de haricot (deuxième expérience)	76
15	Rendements moyens exprimés en grammes de poids frais des gousses/pot de haricot (deuxième expérience)	77
16	Rendements moyens exprimés en grammes de poids sec des gousses/pot de haricot (deuxième expérience)	78
17	Rendements moyens exprimés en grammes de poids sec des plantes/pot de haricot (deuxième expérience)	79
18	Analyse de variance de l'azote total des gousses (deuxième expérience)	81

TABLEAUX

19	Analyse de variance de l'azote total des plantes (deuxième expérience)	81
20	Poids moyens d'azote total des gousses exprimés en grammes/pot de haricot (deuxième expérience)	82
21	Poids moyens d'azote total des plantes exprimés en grammes/pot de haricot (deuxième expérience)	83
22	Comportement fixateur des différentes souches de <u>Rhizobium phaseoli</u> dans la deuxième expérience	85
23	Corrélations et constantes statistiques étudiées (deuxième expérience)	86

LISTE DES FIGURES

FIGURES		Page
I	Schéma d'une section longitudinale du nodule (type pois)	14
II	Représentation schématique du mécanisme de reconnaissance de l'hôte par le <u>Rhizobium</u>	18

INTRODUCTION

La fixation symbiotique d'azote atmosphérique par l'association Rhizobium - légumineuses est un phénomène biologique rentable.

On estime que de 10^8 à 10^9 tonnes d'azote circulent annuellement dans le cycle de l'azote; la fixation biologique en constitue plus de 90% et la fixation symbiotique Rhizobium - légumineuses est la forme de fixation biologique la plus importante quantitativement.

Nul doute que l'intérêt tiré d'un tel phénomène sur le plan agricole est immense:

- La source d'azote est bon marché ce qui constitue une économie d'énergie et d'argent. En effet l'utilisation intensive d'engrais azotés présente maints problèmes; l'augmentation sans cesse des prix des produits pétroliers se répercute sur ceux des engrais azotés; il faut en moyenne une tonne de pétrole pour produire une tonne d'ammoniac. Ce dernier est transformé en acide nitrique, puis en nitrate, opérations exigeant toutes beaucoup d'énergie.

- L'azote est plus disponible aux légumineuses pour leur croissance: il n'y a pas de lessivage et de perte par volatilisation.

- L'environnement échappe à la pollution. Avec les engrais azotés, une partie seulement de l'azote est utilisée par les plantes. A cause du lessivage, 20 à 40% vont polluer les nappes phréatiques provoquant un phé-

nomène d'eutrophisation (désoxygénation des eaux profondes).

- Longue persistance dans le sol: ceci se traduit par le maintien constant de la richesse du sol en azote.

Un autre grand intérêt est celui tiré par les utilisateurs des légumineuses en particulier l'homme et les animaux; en effet il est universellement connu que les légumineuses, en bon état symbiotique, sont les végétaux les plus riches en protéines de bonne qualité. On peut certes constater des carences en acides aminés chez certaines espèces, mais il semble bien que chez les Phaseolinae notamment, si importantes en alimentation humaine, une amélioration de l'équilibre en acides aminés essentiels peut être obtenue par sélection.

En plus des protéines, chez les légumineuses certains éléments minéraux tels que le potassium et le phosphore et particulièrement le magnésium et le calcium sont en assez forte concentration.

Les légumineuses renferment les vitamines des groupes A et D. Ainsi, l'utilisation d'une bonne symbiose Rhizobium - légumineuses de façon suivie et contrôlée permet d'améliorer les rendements de ces cultures et de là solutionner certaines carences protéiques. Concernant ce dernier point, il est à noter que le coût de production des protéines végétales à base de légumineuses est beaucoup moins élevé que celui des protéines animales alors que leur qualité est de loin supérieure.

Le but de cette recherche est d'étudier la capacité de fixation de l'azote atmosphérique par des souches de Rhizobium - phaseoli. La variété de haricot 'Goldie' est la plante choisie pour la sélection des "inoculants" les plus efficaces pour cette culture.

I - REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1

GENERALITES SUR LE PHENOMENE SYMBIOTIQUE RHIZOBIUM - LEGUMINEUSES

A - Historique

Les propriétés améliorantes des légumineuses sont connues depuis la plus haute antiquité; la Bible déjà mentionne la luzerne.

L'utilisation des légumineuses pour améliorer la fertilité des sols reposait sur l'observation empirique de faits qui ne furent expliqués scientifiquement que bien des siècles plus tard. Varron, par exemple qui vécut avant l'ère chrétienne décrit minutieusement des méthodes de culture d'engrais verts. Dans son livre "De re rustica", Columelle consacre plusieurs chapitres à la culture des légumineuses, comme la luzerne, le pois, le haricot, le lupin, la lentille... Il faut attendre le XVIIe siècle pour que les auteurs anglais reparlent du trèfle. Selon certains, le bénéfice que le sol retire de cette culture est dû à l'ombrage du sol et au maintien d'une bonne humidité.

Les débuts de la science agronomique datent seulement du XIXe siècle et c'est à cette époque que Boussingault en 1835 entreprend ses expériences sur la fixation de l'azote atmosphérique. Pour le grand chimiste que fut Liebig, qui ne croyait pas à l'utilité des microbes d'ailleurs, les

propriétés des légumineuses sont dues tout simplement à leur plus grande surface foliaire qui leur permet d'absorber une plus grande quantité d'ammoniaque atmosphérique.

Mais en 1857, Lawes et Gilbert à Rothamsted (Angleterre), entreprennent des expériences qui montrent que des parcelles de légumineuses sont seules capables de maintenir leur fertilité sans apport extérieur d'azote. Les premiers à établir un protocole d'essai rigoureux sont Hellriegel et Wilfarth qui montrent en 1886 que des légumineuses croissant sur un substrat stérilisé sont incapables de fixer l'azote, contrairement à celles qui croissent sur un substrat non stérile.

En 1888 enfin, Beijerinck isole des nodules la bactérie symbiote qui sera appelée Bacillus radicolica d'abord, Rhizobium ensuite. Pendant cette même période, Schloesing et Laurent de la faculté d'agronomie de Gembloux (Belgique) parvinrent avec les moyens de l'époque à faire le bilan azoté complet de cultures de légumineuses.

Bref, tous ces défricheurs ont inauguré ainsi une période de recherches extrêmement active qui se poursuit de nos jours.

B - La fixation symbiotique d'azote atmosphérique

La règle qui veut que les végétaux forment leurs protéines à partir de l'azote combiné du sol souffre plusieurs exceptions dont une est d'importance capitale: les espèces végétales de la vaste famille des légumineuses peuvent se nourrir en fabriquant leurs protéines à partir de l'azote gazeux inerte de l'atmosphère. Ce sont les légumineuses principalement qui pompent dans l'atmosphère des millions de tonnes d'azote, qui le transforment en azote combiné organique et alimentent ainsi l'énorme consommation des êtres vivants.

Les légumineuses n'ont nul besoin d'ammoniaque ou de nitrate; elles effectuent naturellement des opérations plus perfectionnées que l'industrie des engrais azotés qui s'arrête elle au stade minéral. Les légumineuses transforment directement dans certains de leurs tissus et grâce à l'inter-

vention d'une bactérie, l'azote gazeux en acides aminés et en protéines. Il s'agit quantitativement du phénomène de fixation biologique le plus important; il en est d'autres mais qui agissent à une échelle beaucoup plus réduite:

- Certaines bactéries du sol comme les Azotobacter, les Beijerinckia, les Clostridium, forment leurs substances à partir de l'azote de l'air.

- Des algues bleues (Cyanophycées) dont l'importance est grande dans les rizières par exemple fixent également l'azote atmosphérique.

- Enfin des végétaux supérieurs comme l'aulne sans doute plus nombreux qu'on ne l'imagine généralement, peuvent vivre également de l'azote contenu dans l'air par association avec des bactéries du genre Frankia.

Mais ces faits ne peuvent en aucune manière rivaliser du point de vue quantitatif avec la fixation d'azote atmosphérique par les légumineuses.

C - Description botanique du matériel végétal d'expérimentation

Phaseolus vulgaris ou haricot

C'est une plante annuelle de la famille des légumineuses, sous-famille des Papilionaceae et appartenant au genre Phaseolus, espèce vulgaris. Elle comprend de nombreuses variétés cultivées. C'est une plante originaire d'Amérique mais répandue partout dans le monde. Elle possède une tige anguleuse, rameuse, un peu pubescente. Les feuilles sont tri-foliées possédant des folioles ovales, acuminiées, aiguës, presque glabres de dix à douze centimètres de long. De la base de chaque foliole partent trois nervures principales se ramifiant en trois ou quatre paires de nervures secondaires d'où évoluent des veinules en réseau dense. Les folioles prennent naissance à partir de pétioles de trois à quatre millimètres de long, supportés par un pétiole commun d'environ douze centimètres et glabrescent. Les fleurs sont en grappe avec un pédoncule de cinq à huit centimètres, florifère dans sa moitié supérieure; elles sont de coloration blanche, jaune

ou lilas et ont une symétrie zygomorphe:

- le calice est campanulé, presque glabre, d'environ six millimètres;
- l'étandard est presque carré de treize à quinze millimètres de long;
- les ailes sont obovales;
- le carène a un centimètre environ de long et forme une spirale au sommet.

Les étamines sont diadelphes, la vexillaire possédant une écaille à sa base. L'ovaire est pubérulent, possède un style comprimé, barbu au sommet et un stigmate obtus et oblique. Les fruits sont des gousses allongées, comprimées, bosselées et terminées en bec aigu. Les graines sont réniformes, diversement colorées, à hile elliptique. Les fruits à l'état jeune, ainsi que les graines sont comestibles.

D - Les partenaires de la symbiose

D-1 La légumineuse-hôte

Quelque soit, parmi les plantes cultivées, la catégorie économique considérée, les légumineuses occupent une place de tout premier plan. Si l'on considère par exemple, en agriculture tropicale les quatre catégories suivantes:

- plantes de couverture ou de "sidération"
- plantes cultivées pour la graine
- plantes fourragères
- plantes d'ombrage

on peut dire que les légumineuses y jouent un rôle essentiel. Le nombre d'espèces que compte la famille varie de 10,000 à 12,000, groupées en trois sous-familles:

- Papilionaceae
- Mimosaceae
- Cesalpiniaceae

Une étude systématique portant sur 1200 espèces, a révélé la présence de nodosités sur 90% de ces espèces examinées (Allen et Baldwin, 1954). La majorité des espèces nodulées se rencontre dans la sous-famille des Papilionaceae (85 à 93%). Les Cesalpinaceae sont beaucoup plus souvent dépourvues de nodules. Les Mimosaceae occupent une position intermédiaire.

Une étude portant sur un petit nombre d'espèces en zone aride et subaride (Beadie, 1964) confirme le pourcentage d'espèces nodulées établi par Allen et Baldwin. Il faut toutefois interpréter avec prudence de telles statistiques car la mise en évidence de la nodulation chez une légumineuse n'est pas aussi aisée qu'on peut le penser à priori; en effet:

- des conditions écologiques défavorables peuvent localement interdire la nodulation chez une espèce qui, ailleurs, possède des nodules très développés (Dommergues et Mangenot, 1970). Bonnier et Brakel (1969) ont fait la même constatation: ainsi une même espèce de légumineuses qui dans une station déterminée ne porte aucun nodule, peut être colonisée dans un milieu totalement différent du précédent; ceci révèle l'influence du milieu sur la nodulation.

- Chez des espèces de légumineuses pérennes, les nodules peuvent disparaître à certaines époques de l'année, de sorte que l'aptitude à noduler peut passer inaperçue si l'examen des racines a lieu à une époque défavorable (Norris, 1956).

- Certaines légumineuses portent de fausses nodosités (différentes des galles à nématodes) et qui, lors d'un examen superficiel, peuvent prêter à confusion.

A l'intérieur d'une même espèce de légumineuse, il peut exister des variations importantes dans l'aptitude à la symbiose rhizobienne; c'est ainsi que la nodulation ou l'efficacité de la fixation d'azote moléculaire dépend non seulement de déterminants génétiques propres à chaque souche de Rhizobium infectant, mais aussi de déterminants génétiques propres à chaque variété de légumineuse infectée (Dommergues et Mangenot, 1970).

D-2 La bactérie

Le Rhizobium appartient à la famille des Rhizobiacées qui comprend un autre genre: Agrobacterium. C'est une bactérie non sporulante, aérobie et chimiohétérotrophe. La famille des Rhizobiacées regroupe des bactéries Gram négatives.

D-2.1 Morphologie et cytologie

On distingue deux formes de Rhizobium:

1. La forme végétative vivant à l'état libre dans le sol, la rhizosphère, le cordon d'infection ou sur les milieux de culture artificiels. Cette forme produit une gomme hydrosoluble abondante dont la composition varie avec la lignée et qui par hydrolyse, donne du glucose et, chez de nombreuses souches, de l'acide galacturonique.

Les Rhizobium végétatifs se présentent sous la forme de bâtonnets réguliers de 0,5 μm à 0,8 μm de large sur 1 à 4 μm de long. Une microscopie électronique met en évidence:

- une membrane externe ou paroi cellulaire
- une membrane intermédiaire
- une membrane interne ou membrane cytoplasmique

Dans la cellule, il y a présence de granules de poly- β -hydroxybutyrate, de corpuscules polaires (10-30 μm) et d'une zone centrale nucléoïde fibrillaire.

2. La forme pléomorphique des Rhizobium rencontrée dans les nodules, ou bactéroïdes. Il existe deux types de bactéroïdes en ce qui concerne l'irrégularité morphologique:

- les bactéroïdes très irréguliers, en massue, en raquette, en X, Y, T, que l'on rencontre chez R. trifolii, R. meliloti, R. leguminosarum;

- les bactéroïdes à formes plus régulières, qui sont la règle chez les Rhizobium du groupe Vigna (cow pea) et lotus.

Ces deux types morphologiques de bactéroïdes ont chacun un rôle respectif (Bonnier et Brakel, 1969).

En plus des membranes décrites chez les formes végétatives, de nombreuses formes bactéroïdes (R. trifolii, R. leguminosarum) présentent des membranes intracytoplasmiques qui sont des invaginations de la membrane cytoplasmique comparables aux mésosomes rencontrées dans d'autres bactéries et pourraient avoir une fonction mitochondriale (Dommergues et Mangenot, 1970). Ces membranes intracytoplasmiques sont absentes ou discrètes chez les bactéries de certaines légumineuses (Vigna, Acacia, Medicago). Les bactéroïdes ne sont pas libres dans le cytoplasme de la cellule hôte. L'observation au microscope électronique de coupes de nodules a révélé qu'une membrane enveloppe un ou plusieurs bactéroïdes, selon l'espèce hôte.

L'origine de la membrane enveloppante, tout comme celle entourant le cordon d'infection dont nous parlerons ultérieurement, est attribuée à la plante hôte. La membrane enveloppante est supposée jouer le rôle d'un sac à dialyse et séparerait certains composés du bactéroïde de ceux de l'hôte qui, sans elle, risqueraient de réagir immunologiquement (Nutman, 1965; Kijne, 1974).

Les bactéroïdes ont leur structure interne qui diffère parfois considérablement de celle des formes végétatives. Tel est le cas de R. trifolii chez lequel on observe la disparition de granules de poly- β hydroxybutyrate et des corpuscules polaires (Dommergues et Mangenot, 1970) et une désorganisation de la zone centrale nucléoïde; il n'en est pas de même pour tous les Rhizobium (Vincent, 1966).

Les formes bactéroïdes ne se multiplient pas à l'intérieur du nodule; la fin de la fixation symbiotique d'azote entraîne la désintégration du nodule et la libération des bactéroïdes qui prennent alors la forme végétative.

D-2.2 Caractères culturaux

De façon caractéristique, les Rhizobium ne produisent pas de coloration; dans un milieu de culture convenable (tel qu'une gélose d'extrait de levure et de mannitol), les colonies obtenues sont blanches ou crémeuses.

Les Rhizobium sont des microorganismes aérobies, mais ils peuvent se contenter de faibles tensions d'oxygène (0,01 atmosphère). La croissance est optimale à 30°C. Le pH optimal de croissance se situe entre 6,5 et 7,2; les Rhizobium préfèrent donc généralement la neutralité; mais certaines souches sont très tolérantes à l'acidité: on rencontre chez R. japonicum des souches capables de supporter des pH bas (4,0 ou même 3,5). En culture pure, certains Rhizobium tendent à alcaliniser le milieu alors que d'autres l'acidifient.

En plus de ce critère d'acidification ou d'alcalinisation, le critère vitesse de croissance permet aussi de caractériser les souches. Cependant, il est à retenir que ces deux caractères culturaux ne peuvent, à eux seuls, servir de base à une classification taxonomique; néanmoins on peut admettre en première approximation l'existence de deux groupes de Rhizobium (Norris, 1962):

1) Les Rhizobium à croissance rapide ou "fast growers", représentés par R. leguminosarum, R. trifolii, R. phaseoli, R. meliloti. Leur temps de génération varie de 2 à 4 heures et les colonies obtenues sur milieu solide en 3 à 4 jours et à 28°C, ont une forme relativement large (2 à 4 mm de diamètre). Ces Rhizobium acidifient le plus souvent le milieu de culture.

2) Les Rhizobium à croissance lente ou "slow growers" sont représentés par le groupe R. japonicum, R. lupini, groupe du Cowpea. Leur temps de génération est beaucoup plus long (6 à 8 h) et les colonies produites ont des diamètres inférieurs ou égaux à 1 mm, même après une longue période d'incubation (7 à 10 jours). Ces Rhizobium, très répandus en zone tropicale alcalinisent en général le milieu de culture.

D-2.3 Exigences métaboliques

Les milieux de culture pour Rhizobium doivent renfermer :

- une source de carbone
- de l'azote combiné
- divers sels minéraux
- souvent une ou plusieurs vitamines

Les Rhizobium utilisent de très nombreux hydrates de carbone: monosaccharides, disaccharides et, accessoirement trisaccharides, alcools et acides. Les souches de Rhizobium diffèrent dans leur habilité à utiliser les hydrates de carbone (Graham et Parker, 1964); l'habilité des Rhizobium à utiliser les hydrates de carbone dépend dans une certaine mesure du milieu de culture, du potentiel d'oxydo-réduction, du volume de l'inoculum, de la méthode de culture et probablement de bien d'autres facteurs (Burton, 1979).

Beaucoup de souches de Rhizobium peuvent utiliser les nitrates et l'ammonium comme source d'azote mais on observe généralement une meilleure croissance en ajoutant au milieu certains acides aminés; il a été constaté au cours d'expériences qu'un équilibre des acides aminés était indispensable pour l'obtention de souches fixatrices d'azote (Holding et al., 1960; Strijdom, 1963; Badway, 1965; Hamdi, 1968, 1969).

Ainsi des Rhizobium cultivés sur milieu enrichi en glycine, alanine et certaines formes D d'acides aminés perdaient leur habilité à fixer l'azote, maintenue par contre lorsque le milieu de culture contenait seulement le complément d'extraits de levure consistant principalement en l'apport d'isomères L d'acides aminés (Burton, 1979).

Les Rhizobium exigent certains sels minéraux pour réaliser leur métabolisme. L'extrait de levures contient des concentrations importantes de fer, calcium, magnésium, strontium, sodium, potassium, baryum, manganèse cuivre, aluminium, plomb et vanadium (Steinberg, 1938) mais il est généralement admis que les Rhizobium ont besoin de petites quantités de fer (pour la synthèse de la légghémoglobine), magnésium, potassium, manganèse,

zinc, cobalt (Vincent, 1974).

Les besoins en vitamines varient considérablement d'une souche à l'autre; ils peuvent être inexistantes ou au contraire porter sur une ou plusieurs vitamines: biotine, thiamine, acide panthoténique, riboflavine (Ferry et al., 1959). Certaines souches font la synthèse de l'un ou l'autre de ces composés; beaucoup de souches produisent la vitamine B₁₂ (Vincent, 1974).

E - Les nodules racinaires: siège de la symbiose

E-1 Morphologie

La forme et les dimensions varient beaucoup avec l'espèce de légumineuses (Bonnier et Brakel, 1969) et la qualité du Rhizobium symbionte (Vincent, 1974). Les légumineuses à petites graines (type trèfle ou luzerne) ont des nodules petits (3 à 4 mm maximum), ovales et arrondis, insérés sur la racine. Les légumineuses à grosses graines (haricot, pois, arachide) ou à graines moyennes ont des nodules plus gros, plus arrondis, à surface ridée (haricot) ou lisse (arachide).

Toutes les excroissances radiculaires des légumineuses ne sont pas nécessairement des nodules (exemple: galles de nématodes...). Les vraies nodosités sont nettement séparées des racines sur lesquelles elles prennent naissance et s'en détachent facilement. Les faux nodules par contre font partie intégrante de la racine et s'en détachent difficilement.

E-2 Couleur

Un nodule fonctionnant normalement possède une coloration rouge due à la léghémoglobine; cependant cette coloration peut être masquée par les pigments racinaires ou la pigmentation noire du tissu central nodulaire; une coloration verte à la partie basale indique soit une modification de la léghémoglobine en pigment biliaire due à la senescence du nodule ou une réponse aux conditions défavorables à la photosynthèse.

E-3. Structure

La structure des nodules ne diffère pas essentiellement de celle des radicelles tout au moins en ce qui concerne les différents éléments qui interviennent. Tous les caractères culturaux présents dans un nodule se trouvent dans une racine (Bonnier, 1962). Certains auteurs par contre (Allen et Allen, 1954) affirment que les nodules ne peuvent être de simples racines latérales modifiées et qualifient de complexe l'organisation des nodosités. L'organisation est cependant simple (Figure 1); on y distingue:

- le cortex nodulaire: c'est la zone la plus externe, faite de plusieurs (4-10) couches de cellules parenchymateuses dérivant du méristème nodulaire, plus petites et plus compactes que celles du cortex racinaire;
- la zone méristématique: c'est la zone de croissance qui fournit les tissus nodulaires spéciaux (y compris le cortex nodulaire);
- le système vasculaire: il est relié à la racine mère et est constitué de vaisseaux annelés. L'efficacité de la symbiose dépend de son existence et de ses connections avec les vaisseaux racinaires de la légumineuse. Dans le nodule en général, il peut y avoir 2 à 4 faisceaux vasculaires mais les gros nodules sphériques ont un réseau de tissus conducteurs entourant la zone bactériale, mais jamais en contact direct avec les cellules infectées.
- la zone bactériale: c'est la zone interne du nodule formée de cellules parenchymateuses infectées ou non, les proportions relatives dépendant des espèces hôtes et de l'efficacité de l'association (Vincent, 1974). Cette zone contient les bactéroïdes et elle constitue la zone fixatrice d'azote. Les nodules efficaces ont une zone bactériale beaucoup plus volumineuse que celles des inefficaces et fonctionnent plus longtemps. Les cellules parenchymateuses infectées montrent une nette hypertrophie et peuvent atteindre des dimensions plusieurs fois supérieures à celles des cellules sans bactéroïdes (Bonnier et Brakel, 1969).

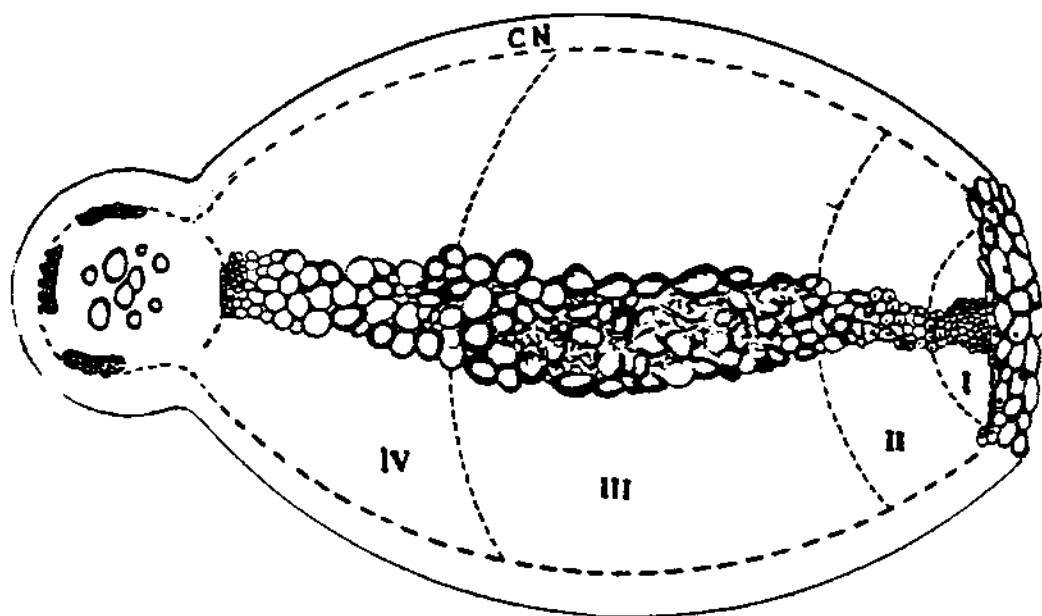


FIGURE 1. Schéma d'une section longitudinale du nodule (type pois).
(CN: cortex nodulaire; I: zone méristématique, II: zone d'accroissement et d'invasion; III: zone bactérienne fixatrice; IV: zone de dégénérescence).

Félix (1981)

- une zone riche en cordons d'infection
- une zone de senescence

E-4 Infection des racines et formation des nodules

L'infection des racines et la nodulation sont régies par des facteurs extrinsèques que nous examinerons plus loin, et par des facteurs intrinsèques contrôlés par le Rhizobium et la plante:

- Le Rhizobium doit être infectif ou virulent (Dommergues et Mangenot, 1970), c'est-à-dire qu'il doit être capable de pénétrer dans les tissus de l'hôte et y induire la nodulation. Ce caractère d'infectivité que nous évoquerons ultérieurement varie d'une souche à l'autre; il est même utilisé pour la classification des Rhizobium.
- La plante hôte contrôle elle aussi l'infection et la nodulation. Il a été mis en évidence l'existence de facteurs génétiques plus ou moins complexes induisant chez la légumineuse une résistance à l'infection bactérienne ou régissant le nombre et la taille des nodules (Nutman, 1965).

L'infection et la formation des nodules comprend quatre étapes principales chez la plupart des légumineuses.

E-4.1 Préinfection

Si une graine de légumineuse germe dans un sol qui contient le Rhizobium spécifique, la première action est celle du végétal sur la bactérie: par les excréments radiculaires, la légumineuse favorise la multiplication des Rhizobium qui se situent dans son voisinage. Les racines, par leurs sécrétions (acides aminés, enzymes, sucres, vitamines), sélectionnent une population microbienne déterminée.

A cette action du végétal, succède une réaction bactérienne qui peut se manifester par une inflexion des poils absorbants de la racine

(Waksman, 1952); cette courbure des poils absorbants est probablement provoquée par l'action localisée d'auxines végétales, telles que l'acide 3-indol acétique (A.I.A.) qui proviendrait de l'oxydation par les Rhizobium du tryptophane exsudé par les racines des légumineuses. Cependant, la cause de la déformation des poils racinaires n'est pas connue (Nutman, 1965; Gray et Williams, 1975). (Tableau 1).

On a également émis l'hypothèse suivant laquelle les Rhizobium, par l'intermédiaire des polysaccharides qu'ils synthétisent dans la rhizosphère, induiraient chez la plante hôte la production de polygalacturonase (P.G.), enzyme qui faciliterait la pénétration du Rhizobium en modifiant la plasticité de la paroi cellulaire des poils absorbants (Fähreus et Ljunggren, 1959; Nutman, 1963).

Cependant, Lillich et Elkman (1968) ont trouvé que les niveaux d'activité de cet enzyme chez les légumineuses bactérisées et non bactérisées ne diffèrent pas significativement. Dart et Mercer (1964) ont supposé que la fibre vasculaire de la paroi du poil absorbant était suffisamment lâche pour permettre le passage des Rhizobium sans induction par la polygalacturonase.

TABLEAU 1. Chaîne d'interaction entre les Rhizobium et les racines (Nutman, 1965)

Bactéries	Racines
Multiplication bactérienne	Exsudations racinaires (non spécifiques)
Oxydation en AIA	Exsudation de tryptophane Co-facteur inconnu Courbure des poils absorbants
Polysaccharides bactériens	Induction de polygalacturonase
Infection	Exsudation de polygalacturonase

E-4.1.1 Hypothèse des lectines

Il y a également l'hypothèse des lectines: des études microscopiques ont montré l'existence d'une spécificité dans l'attachement des Rhizobium à la surface des poils absorbants des racines des légumineuses (Dazzo et al., 1975); les résultats de leurs travaux suggèrent qu'une glycoprotéine de l'hôte, une lectine, joue un rôle dans cette liaison spécifique.

Dans ce mécanisme de reconnaissance, il y a une association entre lectines et antigènes communs de la surface des poils racinaires et des bactéries (Figure 2). En effet, les lectines préparées à partir de graines ou de racines de soja et rendues fluorescentes par un traitement à l'isothiocyanate de fluorescéine se fixent sur la plupart des souches de Rhizobium japonicum et non sur des souches appartenant à d'autres groupes d'inoculation (Bohlool et al., 1974; Bauer, 1977). Cette association bactérie-lectine est inhibée par l'addition d'un haptène comme le D-galactose ou le N-acétyl-D-galactosamine (Bauer, 1977).

Une glycoprotéine possédant des propriétés analogues, la trifoliine a été isolée à partir du trèfle (Dazzo et al., 1978). Dans ce cas encore, les lectines isolées des graines et des racines de trèfle agglutinent spécifiquement les souches virulentes de R. trifolii et cette agglutination est inhibée par un haptène, le 2-désoxyglucose.

E-4.2 Infection et genèse du nodule

Après pénétration dans les poils absorbants, les Rhizobium sont entourés par un cordon d'infection; c'est un cordon mucoïde, non cloisonné, entouré d'une gaine cellulosique synthétisée par l'hôte. Ce cordon d'infection pénètre dans les cellules corticales (Dart, 1977). Des observations cytologiques chez le pois et chez la luzerne, ont montré que la présence des cordons d'infection provoque une dédifférenciation des cellules corticales internes qui s'organisent alors en un méristème originel (Libbenga et Bogers, 1974; Truchet, 1978). Le fonctionnement de ce méristème déter-

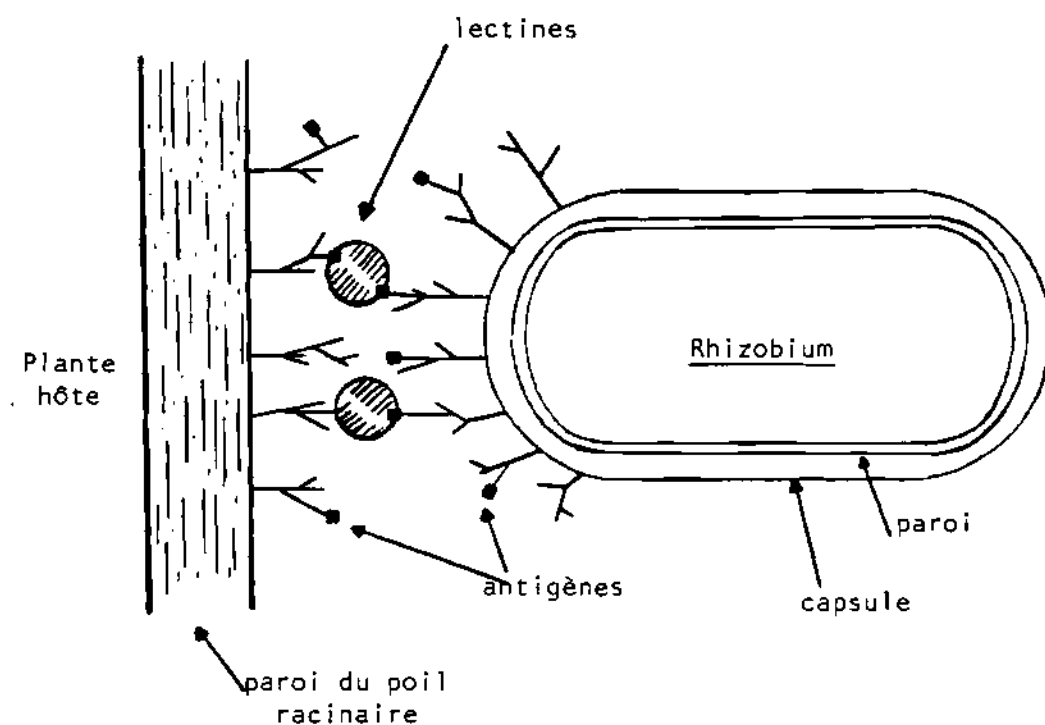


FIGURE II. Représentation schématique du mécanisme de reconnaissance de l'hôte par le Rhizobium, selon l'hypothèse de Dazzo et al., (1975). La lectine assure la liaison formant le complexe antigène-lectine-antigène qui permet l'adhésion spécifique des bactéries à la paroi des poils racinaires.

mine par la suite la mise en place successive des zones structurales du nodule.

Selon les conclusions des travaux de Wipf et Cooper (1938) et Wipf (1939), seules les cellules corticales disomatiques (infimes proportions) sont infectées et donnent naissance à un nodule. Ces cellules disomatiques se divisent activement à l'approche du cordon d'infection. Cependant Bhaskaran et Swaminathan (1958), Truchet (1978) ont infirmé ces conclusions de Wipf et Cooper; en effet par des mesures microspectrophotométriques, ces auteurs ont trouvé que les cellules monosomatiques subissaient également l'infection et donnaient naissance à des nodules chez Medicago sativa et Pisum sativa.

E-4.3 Maturité nodulaire

Cette étape est marquée par l'invasion des cellules de la zone centrale du méristème nodulaire par les bactéries libérées par la rupture des vésicules qui apparaissent sur les cordons d'infection; les Rhizobium prennent la forme bactéroïde. Les bactéroïdes ne sont pas libérés directement dans le cytoplasme mais sont enveloppés par une membrane isolément ou par groupe. Au cours de cette étape de maturité nodulaire, la légghémoglobine se forme et colore en rouge la zone infectée et l'azote moléculaire est fixé.

E-4.4 Dégénérescence nodulaire

La dégénérescence du nodule, qui se manifeste par la substitution des pigments biliaries à la légghémoglobine et par la lyse des bactéroïdes, se propage du centre à la périphérie du nodule. Elle aboutit à la libération des bactéries dans le sol. Généralement, chez certaines légumineuses tropicales, une partie des tissus bactériens dégénère à la fin de la saison de végétation et la croissance nodulaire peut reprendre. De nombreuses variations peuvent survenir dans le déroulement des processus d'infection et de nodulation:

- il peut y avoir absence de cordon d'infection
- l'infection peut s'effectuer en dehors des poils absorbants: chez l'arachide par exemple, l'infection n'a pas lieu au niveau des poils absorbants mais au point d'émergence des racines latérales (Allen et Allen, 1958). Les Rhizobium pénètrent directement par les cellules épidermiques chez Neptunia oleracea, légumineuse aquatique dépourvue de poils absorbants (Schaede, 1940).
- La formation du nodule peut se dérouler en dehors des tissus de l'écorce externe chez certaines espèces de légumineuses.

E-5 La léghémoglobine

La léghémoglobine est une hémoprotéine qui n'a pu être détectée dans des organes végétaux autres que les nodules des légumineuses (Appleby, 1974) et dans laquelle baignent les unités fixatrices d'azote atmosphérique constituées par les bactéroïdes (Bergersen, 1969). La léghémoglobine se forme seulement dans le nodule, probablement sur la membrane plasmique enveloppant les bactéroïdes (Cutting et Schulman, 1969; Appleby, 1969). La période de synthèse après l'infection bactérienne varie selon l'espèce hôte; chez le soja, elle est synthétisée huit jours après l'infection. La léghémoglobine est constituée d'une molécule d'hème (ferroprotoporphyrine comportant un atome de fer ferreux) et d'une protéine; la molécule d'hème est produite par la bactérie (Cutting et Schulman, 1972; Godfrey et al., 1975; Avissar et Nadrel, 1978), la protéine par la plante hôte (Dilworth, 1969; Cutting et Schulman, 1971).

Des recherches entreprises sur le code génétique responsable de la synthèse de la léghémoglobine ont révélé l'intervention de plusieurs gènes végétaux (Verma, 1982). Cette série de gènes végétaux (20 à 40) intervient dans la synthèse de plus de 20 protéines de soja ou "nodulines", apparemment nécessaire à la symbiose.

Aussi longtemps que la molécule d'hème est retenue, il n'y a aucun

changement dans le nodule, mais quand ce dernier vire au vert à cause de l'apparition de "biliverdine", les bactéries à l'intérieur du nodule sont dans un état de régression et ce phénomène est irréversible.

F - Influence des facteurs du milieu sur la fixation

Certains facteurs du milieu peuvent facilement influencer la fixation de l'azote atmosphérique. Ce sont entre autres les facteurs édaphiques, la fumure azotée et les agents biologiques antagonistes des Rhizobium.

F-1 Les facteurs du sol

F-1.1 Le pH, le calcium et le chélate de fer

La phase initiale de la nodulation est déprimée par un faible pH, une carence en calcium et un excès du chélate de fer dans le milieu.

L'effet dépressif de l'acidité du sol sur le système symbiotique a été évoqué par plusieurs auteurs (Vincent, 1965; Mulder et al., 1966; Holding et al., 1971; Schmidt, 1978). Dans les sols à pH inférieur à 5,5, le nombre de Rhizobium à croissance rapide est très faible (Anderson, 1975). Un pH bas peut perturber la pénétration de la bactérie dans la plante. Les racines de pois (Pisum sativum), cultivées dans un milieu à pH neutre produisent, après inoculation, une couche épaisse de mucus où sont logées les bactéries (Lie, 1974). L'acidité du milieu empêche la formation du mucigel des racines des légumineuses. Outre la réaction acide elle-même, d'autres effets sont responsables de l'inhibition. L'acidité est accompagnée d'un excès d'aluminium et de manganèse libres, tandis que d'autres éléments nutritifs essentiels pour la symbiose tels que le molybdène et le calcium deviennent moins disponibles.

La toxicité alumino-manganique provoque un effet néfaste sur la croissance racinaire, réduisant ainsi le nombre de sites de formation des nodules (Kamprath et al., 1971).

Il existe une relation entre le pH et la teneur en calcium du sol: à pH faible, la formation des nodules exige plus de calcium; une carence en cet élément provoque chez les légumineuses une division cellulaire anormale avec la formation de cellules ayant une séparation incomplète des chromosomes. Ces cellules sont anormalement vacuolées et la vacuole peut occuper toute la cellule. Lie (1974) suggère que l'effet du calcium sur la nodulation est dû à l'action spécifique de cet élément sur la division cellulaire des poils absorbants nécessaires à la formation des nodosités. Cette hypothèse est en accord avec les observations faites par Loneragan et al. (1970); ils ont montré que l'initiation nodulaire exigeait plus de calcium que la croissance et l'activité du nodule.

L'action inhibitrice du fer chélaté sur la nodulation ressemble à l'effet d'une déficience en calcium et à celui de l'acidité du sol. Elle se produit seulement si l'ion chélaté est en contact avec la racine 2 à 4 jours après l'inoculation. Chaney et al. (1972) explique l'activité du fer chélaté de la façon suivante: le fer chélaté est fourni aux racines sous forme d'ion ferrique; il est absorbé, puis dissocié en ions ferreux et chélate. Le dernier s'accumule dans les parois des cellules corticales de la racine où le calcium peut être complexé, ce qui provoque localement une carence en cet élément.

F-1.2 La température du sol

L'effet de la température du sol sur le système symbiotique est complexe; presque tous les stades de formation et du fonctionnement des nodules sont plus ou moins affectés. La survie des Rhizobium dans le sol en dépend; la sensibilité aux températures élevées varie considérablement suivant les espèces et souches de Rhizobium: R. meliloti est plus tolérant (40,5 - 42,5°C) que R. leguminosarum, R. lupini et R. phaseoli (36,5 - 42,5°C). Les Rhizobium du groupe Vigna sinensis, ont une sensibilité très variable: les valeurs maximales de température oscilleraient entre 30 - 42,5°C. Bonnier (1960) considère que les températures en deçà de 50°C sont souvent létales. La température maximum tolérée pour la croissance de la légumineuse est supérieure à celle permettant la fixation d'azote. Les résultats d'une étude faite par Pankhurst et al. (1973) suggèrent une dé-

générescence rapide du tissu bactérien à température élevée, entraînant une diminution de la période d'activité fixatrice du nodule.

Les basses températures peuvent aussi limiter la fixation d'azote; la température minimale pour la symbiose dépend de la légumineuse hôte mais peut être modifiée par la souche de Rhizobium utilisée (Roughley, 1970). L'initiation de la nodulation est particulièrement sensible aux basses températures; le tissu bactérien peut également être réduit (Lie, 1974).

F-1.3 Les contraintes hydriques

Un excès ou un manque d'eau dans le sol peuvent nuire aux Rhizobium, à la fixation d'azote et à la croissance de la plante hôte. Un sol gorgé d'eau empêche la diffusion d'oxygène nécessaire au bon fonctionnement des racines. Un film d'eau autour du nodule inhibe l'activité de ce dernier en provoquant une baisse dans l'apport d'oxygène aux nodules (Sprent, 1969; Schwinghamer et al., 1970).

Le déficit hydrique peut influencer la fixation d'azote à des degrés plus ou moins importants (Sprent, 1969); l'activité nitrogénasique peut être inhibée de façon réversible par une dessiccation modérée; par contre une carence en eau, provoquant une perte de 20% du poids frais du nodule, cause un dommage irréversible. D'après Sprent, ces effets sont attribuables en partie aux dommages causés aux systèmes de connections symplasmiques entre les cellules du nodule. La rupture des plasmodesmes des cellules corticales provoquent une réduction de la protection des bactéroïdes contre l'oxygène et limite l'arrivée des substrats aux tissus fixant l'azote.

La dessiccation du sol provoque non seulement une perte d'activité fixatrice du nodule mais aussi une baisse de la photosynthèse nette et de la transpiration chez la plante hôte, ce qui entraîne une baisse d'activité fixatrice. Il s'ensuit qu'un manque d'eau dans le sol peut affecter directement la fixation au niveau de l'activité de la nitrogénase et que son effet peut être accentué par une baisse de l'activité photosynthétique de la plante (Sprent, 1972).

F-1.4 Les éléments nutritifs du sol

La carence en éléments nutritifs tels que le phosphore, le molybdène, le cobalt, le bore, perturbe la fixation d'azote. Les besoins en phosphore sont plus importants pour la nodulation et la fixation que pour la croissance de la légumineuse hôte (Mooy et al., 1973). Le phosphore est nécessaire pendant la dernière phase de la formation du nodule; une carence à ce stade entraîne une forte dépression de la nodulation. Son rôle dans le fonctionnement du nodule s'explique par le besoin d'ATP nécessaire à la réduction de la molécule d'azote (N_2) en ammoniac ($2NH_3$) (environ 24 ATP).

La fixation de l'azote ne peut s'établir dans les sols carencés en molybdène: en effet, ce métal entre dans la composition de la nitrogénase et en son absence la fixation d'azote ne peut se produire (Mulder et al., 1974). Le cobalt est indispensable à la croissance des plantes en général, au développement des Rhizobium et à la fixation symbiotique. Les besoins en cet élément sont plus importants que ceux de la plante; l'intensité de la fixation est fonction de la teneur des nodules en vitamine B_{12} (vitamine cobaltifère) et en léghémoglobine pigment dont la synthèse exige du cobalt.

Les carences en bore perturbent le fonctionnement du nodule, mais cet effet est parfois difficile à distinguer de celui de la carence sur la plante elle-même.

F-2 L'azote disponible

Si la présence de faibles quantités d'azote minéral est, en général favorable, des doses élevées, notamment s'il s'agit d'azote nitrique, exercent une action inhibitrice très nette sur la nodulation (Van Schreven, 1959; Vincent, 1965; Gibson, 1973; Alexander, 1977). Deux hypothèses sont émises concernant cette inhibition:

- I - Hypothèse faisant intervenir une modification du C/N interne de la plante. Si l'on admet que la nodulation est régie par le C/N interne, logiquement, une diminution de ce rapport par suite d'application d'azote induit un ralentissement de la nodulation. Cette hypothèse s'appuie sur les faits suivants:
- a) La réduction de l'inhibition observée à la suite de l'accroissement dans la plante de carbohydrates obtenu soit par activation de la photosynthèse, soit par adjonction d'hydrates de carbone exogènes (Stewart, 1966).
 - b) Inhibition partielle de la nodulation par applications foliaires d'urée à 0,5 ou 1% (Cartwright et Snow, 1962).
- II - Hypothèse d'une inhibition d'origine externe: les nitrates pourraient être transformés en nitrites dans la rhizosphère; ces derniers détruiraient catalytiquement l'A.I.A. synthétisé par le Rhizobium à partir du tryptophane (Tanner et al., 1964); le rôle de l'A.I.A. dans la nodulation se trouverait ainsi inhibé, mais cette inhibition varie avec l'espèce ou la variété de légumineuse hôte et avec la souche de Rhizobium en présence (Gilbson et al., 1977).

Cette deuxième hypothèse est confirmée par les expériences de Raggio et ses collaborateurs (1965): aucune inhibition de la nodulation n'est observée si les nitrates sont injectés directement dans les racines; l'inhibition n'apparaît seulement que si les nitrates sont appliqués dans le liquide nutritif baignant les racines.

F-3 Facteurs biologiques

Ils constituent une série importante: les végétaux supérieurs, par leurs exsudats racinaires peuvent inhiber l'action ou même détruire les Rhizobium; la légumineuse hôte contrôle également dans une certaine mesure la densité microbienne par l'intermédiaire de sa spermatosphère ou de sa rhizosphère.

Certains microorganismes telluriques ainsi que des formes ultra-microscopiques retrouvées au voisinage des Rhizobium synthétisent des antibiotiques toxiques pour ces derniers (Holland et Parker, 1966); on peut citer dans ce cadre les Streptomycètes et les moisissures.

Les Rhizobium sont plus ou moins sensibles à l'action lytique des phages (Allen et Allen, 1958). A côté des microorganismes antagonistes ou sans effet, le sol renferme des microorganismes qui peuvent stimuler l'activité des Rhizobium; ainsi l'association Rhizobium - Azotobacter hâterait l'apparition des nodules pour les légumineuses cultivées aseptiquement.

G - Le phénomène symbiotique

G-1 La spécificité

Si des Rhizobium sont présents dans tous les sols (exception des sols toxiques ou anormaux), il ne s'ensuit pas nécessairement que n'importe quelle légumineuse formera des nodules sur un sol quelconque, toutes autres conditions écologiques étant favorables à la nodulation.

Ce fait maintes fois observé, implique par lui-même qu'une certaine spécificité vis-à-vis de l'hôte existe chez le Rhizobium (Bonnier et Brakel, 1969). Une souche de Rhizobium est dite spécifique ou infective d'un genre ou d'une espèce de légumineuse, si elle est apte à pénétrer dans les tissus racinaires et à y induire la nodulation (Dommergues et Mangenot, 1970), même si les nodules ne sont pas fixateurs (Obaton, 1974). En zone tempérée, le problème est relativement simple car la spécificité des souches est souvent très stricte pour la plupart des légumineuses concernées.

Par contre, les légumineuses tropicales au sens large, ont des besoins peu spécifiques quant à la souche de Rhizobium capable de former des nodosités sur ces plantes; c'est-à-dire que les mêmes souches de Rhizobium appelées Rhizobium tropicaux ou groupe Vigna, sont en général capables de noduler des genres très nombreux et différents tels: Vigna, Arachis, Stylosanthes...mais du fait de la très grande différence entre les genres

nodulés par ces mêmes Rhizobium, la correspondance génétique entre la plante et la bactérie est rarement suffisante pour que la fixation s'établisse et même parfois, les nodules ne se forment pas du tout. La spécificité des Rhizobium vis-à-vis des légumineuses est souvent utilisée comme critère de classification des Rhizobium (Tableau 2).

TABLEAU 2. Les différentes espèces de Rhizobium et leurs hôtes (Rawsthorne et al., 1980)

Espèces	Hôtes préférés
1. * <u>Rhizobium leguminosarum</u>	<u>Pisum</u> , <u>Vicia</u> , <u>Lathyrus</u> , <u>lens</u>
2. <u>Rhizobium trifolii</u>	<u>Trifolium</u>
3. <u>Rhizobium phaseoli</u>	<u>Phaseolus</u>
4. <u>Rhizobium meliloti</u>	<u>Medicago</u> , <u>Melilotus</u> , <u>Trigonella</u>
5. <u>Rhizobium lupini</u>	<u>Lupinus</u> , <u>Ornithopus</u>
6. <u>Rhizobium japonicum</u>	Glycine max
7. "Type <u>Vigna</u> "	<u>Vigna</u> , <u>Macroptilium</u> et autres légumineuses tropicales

* 1 à 4 sont à croissance rapide et 5, 6 et 7 sont généralement des Rhizobium à croissance lente

G-2 L'efficacité

Toutes les souches de Rhizobium capables de former des nodules sur les racines d'une légumineuse ne fixent pas nécessairement l'azote atmosphérique. Certains nodules formés peuvent se comporter en parasites sans aucun profit pour l'hôte: nodules "inefficaces" (Bonnier et Brakel, 1969).

Il y a des degrés dans l'efficacité, depuis l'inefficacité totale caractérisant des souches dénuées de tout pouvoir fixateur, jusqu'à l'efficacité très élevée de souches particulièrement recherchées pour l'inoculation artificielle.

Si le degré d'efficacité d'une souche constitue une propriété rela-

tivement stable qui se transmet sur les milieux de culture classiques au laboratoire, des variations sont possibles, soit au contact de la plante, soit par des traitements spéciaux. Ainsi, une souche spécifique isolée de Medicago mais totalement inefficace est devenue brusquement fixatrice sans traitement particulier au sixième passage sur la plante hôte (Bonnier et Brakel, 1969). Inversement, la culture de souches efficaces sur des milieux contenant certains acides aminés comme la lysine, la méthionine ou l'histidine a donné des souches inefficaces.

Concernant la forme et les dimensions des nodules, les souches peu efficaces de Rhizobium donnent des nodules petits, ronds, de coloration blanche et dispersés sur le système racinaire entier; les nodules obtenus de souches efficaces sont très peu nombreux, gros, allongés, de coloration pourpre et localisés sur les racines latérales.

G-3 Relations entre la spécificité et l'efficacité

Ces deux notions ont été séparées par certains auteurs (Allen et Baldwin, 1939). Une souche déterminée est capable de provoquer la formation de nodules sur telle ou telle espèce de légumineuse: elle est spécifique pour cette ou ces légumineuses.

Les nodosités formées par l'une ou l'autre souche sont efficaces ou inefficaces: une souche efficace provoque au sein du nodule la fixation de l'azote atmosphérique tandis qu'une souche inefficace forme des nodules au sein desquels la fixation d'azote ne peut s'effectuer; ces dernières sont plutôt parasites que symbiotes.

Ces deux qualités, la spécificité et l'efficacité, valent pour une souche déterminée de Rhizobium vis-à-vis de telle ou telle légumineuse; ces deux qualités sont indispensables pour que la symbiose se réalise dans des conditions profitables au végétal.

Des essais sur Medicago sativa ont montré que l'efficacité et la spécificité sont liées; ainsi une souche efficace sur Medicago sativa se

caractérise par une spécificité plus stricte, plus étroite, qu'une souche inefficace pour la même légumineuse.

Donc, contrairement aux affirmations de certains auteurs, il existe une relation nette entre l'efficacité des souches de Rhizobium et leur spécificité.

G-4 La compétition

Puisque dans un même sol, peuvent coexister plusieurs souches de Rhizobium spécifiques d'une légumineuse donnée, la question qui se pose est de savoir quelle souche va coloniser les racines, de préférence aux autres. En principe, celle dont le "pouvoir compétitif" est le plus élevé (Bonnier et Brake), 1969).

La compétition d'une souche de Rhizobium, selon Burton (1979), implique l'agressivité et l'habilité à produire des nodules sur les racines d'une légumineuse hôte particulière poussant dans un sol qui contient d'autres souches hautement infectives.

Une souche de Rhizobium est considérée compétitive quand elle produit une grande proportion des nodules (au moins 80% selon Girard et Rougieux, 1967) d'une légumineuse particulière poussant dans un sol ou substrat hautement infesté avec d'autres souches infectieuses.

Le pouvoir de compétition est une donnée complexe qui dépend de plusieurs caractéristiques de la souche (Obaton, 1974) telles que:

- le pouvoir de survie et de multiplication dans le sol, dans la rhizosphère de la plante
- la vitesse de pénétration dans la racine
- la rapidité dans la formation des nodules

Certaines de ces caractéristiques sont susceptibles d'être influencées par la plante et par tous les autres facteurs du milieu.

H - Principales enzymes impliquées dans le phénomène symbiotique

H-1 Nitrogénase

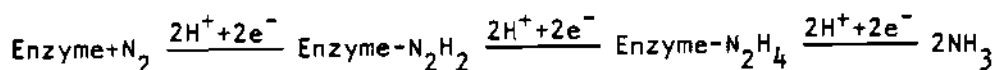
Le complexe enzymatique nitrogénase a été isolé pour la première fois sur Clostridium pasteurianum par Carnahan et al. (1960). C'est l'enzyme réductrice de l'azote atmosphérique (N_2) et est constituée de deux protéines distinctes (Bergersen, 1971; Postgate, 1976) inactives isolément. L'une, une Fe-protéine ou composante II est un dimère, plus petit, contenant seulement du fer et l'autre, la Mo-Fe protéine ou molybdoferrodoxine ou composante I est une grosse molécule tétramérique (Postgate, 1976; Burris et Ljones, 1977; Burton, 1979).

Cette enzyme est particulière, très complexe et caractérisée par:

- a) sa très grande sensibilité à l'oxygène
- b) sa très grande sensibilité aux basses températures
- c) sa très forte exigence en énergie (ATP).

En présence d'une source d'azote telle que l'ion ammonium (NH_4^+), nitrates et acides aminés, la synthèse de la nitrogénase dans le bactéroïde est réprimée. La nitrogénase réduit également les molécules à liaison triple telles que C_2H_2 et cette réduction de C_2H_2 en C_2H_4 est utilisée pour détecter l'action de l'enzyme.

Elle catalyse la réaction de réduction de la molécule d'azote N_2 en deux molécules d'ammoniac NH_3 et cette réduction demande une très forte quantité d'énergie, soit 24 moles d'ATP, un apport en magnésium (Mg^{2+}), un substrat réductible tel que le dithionite ($Na_2S_2O_4$) et un environnement anaérobie (Bergersen, 1969; Eady, 1980).



L'association symbiotique légumineuses-Rhizobium tire son énergie de la photosynthèse et de la glycolyse. La fixation d'azote moléculaire est très coûteuse en énergie, et les systèmes très efficaces assurent un couplage de cette réaction avec la photosynthèse (Shanmugan et al., 1978).

Chez les microorganismes fixant asymbiotiquement l'azote, l'enzyme est toujours la nitrogénase; il existe cependant des variations dans les composantes et plusieurs combinaisons ont été essayées avec des résultats variables (Biggins et al., 1971).

H-2 Nitrate réductase

Cette enzyme a été pour la première fois étudiée sur la bactérie Escherichia coli (Green et collaborateurs) et a été purifiée à partir de Neurospora crassa grâce aux travaux de Nicolas, Nasson etc... Ces auteurs ont trouvé que l'enzyme est soluble. L'enzyme a été étudiée par la suite sur des extraits de végétaux supérieurs, le soja notamment (Evans et al., 1953) et récemment purifiée à partir de plantes supérieures (Garret et al., 1967).

La nitrate réductase est une flavo-molybdoprotéine dont le substrat naturel est le nitrate NO_3^- .

Les Rhizobium dans le nodule possèdent une nitrate réductase (Evans, 1954). Chemiae et Evans (1957) ont démontré que la capacité à fixer l'azote moléculaire et l'activité de la nitrate réductase du nodule, de même que son contenu en légghémoglobine sont positivement en corrélation chez la fève soja.

CHAPITRE 2

CRITERES UTILISES POUR LA SELECTION DE SOUCHES DE RHIZOBIUM SELON LEUR EFFICACITE A FIXER L'AZOTE ATMOSPHERIQUE

Plusieurs critères sont utilisés dans la sélection des souches de Rhizobium selon leur efficacité à fixer l'azote de l'air en association avec les légumineuses; ces critères sont détaillés dans plusieurs publications (Roughley, 1970; Date, 1975; Norris et Date, 1976).

Certains critères se basent sur l'association plantes-bactéries et d'autres sur le comportement des bactéries en cultures pures; nous examinerons les premiers critères dont certains sont utilisés dans nos expériences.

A - Critères basés sur l'association plantes-bactéries

Ce sont les critères morphologiques, le rendement, le pourcentage d'azote et l'azote total dans la plante.

A-1 Critères morphologiques

Pour comparer les souches de Rhizobium d'après leur efficacité symbiotique, on peut utiliser les critères visuels suivants:

- la couleur de la plante
- la hauteur moyenne des plantes
- la présence ou l'absence des nodules
- la couleur du sein des nodules

Une souche de Rhizobium introduite par l'inoculation est considérée comme efficace si elle donne des plantes nodulées, d'une couleur vert foncé, ayant une hauteur moyenne plus élevée que celle d'un témoin non inoculé et d'apparence saine; ces plantes ont un feuillage abondant et une pousse luxuriante (Bordeleau, 1978). Les nodules obtenus sont peu nombreux, gros, regroupés près de la racine principale et ont une coloration interne allant du rose au rouge foncé.

Les nodules inefficaces sont petits, nombreux, blancs, et éparpillés sur tout le système racinaire; les plantes sont généralement de couleur jaune (Date, 1970), ou vert pâle, un feuillage éclairci et une croissance plutôt lente (Bordeleau, 1978).

A-2 Rendement

En fonction du but de la culture de légumineuse, on peut exprimer le rendement en poids vert ou en poids sec de fourrage ou en poids sec de graines.

L'efficacité est mesurée directement en déterminant la quantité d'azote fixé ou indirectement en mesurant le poids sec (Date, 1976); ces deux paramètres sont hautement corrélés (Erdman et Means, 1952).

Gibson (1964) trouve que le poids vert est un meilleur indice pour l'efficacité que le poids sec, à cause de la grande proportion de feuilles sèches dans le cas des plantes à nodulation inefficace ou partiellement efficace.

Dans les essais en tubes, où les racines poussent en milieu stérile, et la partie aérienne de la plante exposée à l'extérieur, on peut déterminer le taux relatif de croissance, qui est une mesure précise pouvant

servir de base de sélection:

$$Rw = \frac{\log W_2 - \log W_1}{t_2 - t_1}$$

où Rw = taux de croissance relatif

W_2 et W_1 = poids sec au temps t_2 et t_1

L'amélioration due à l'inoculation peut s'exprimer également par $\log Xi - \log C$ où

Xi = rendement avec la souche i

C = rendement du témoin sans azote

La forme logarithmique a l'avantage de mettre les données dans une meilleure forme pour l'analyse statistique en éliminant la relation pouvant exister entre la variance et la moyenne (Vincent, 1970).

En utilisant le logarithme du poids vert, Vincent (1954) et Baird (1955) classent les souches de Rhizobium selon leur efficacité comme suit:

Une souche efficace aura: $\log X > \log C + \log 1,5$

où X = poids vert d'une plante inoculée

C = poids vert du témoin sans azote

Une souche est inefficace si $\log X \leq \log C$. Certaines souches peuvent être classées entre ces deux limites.

Gibson (1962) mesure l'efficacité (E) de la nodulation comme suit:

$$E = \frac{\text{Poids sec de la partie aérienne des plantes nodulées}}{\text{Poids sec de la partie aérienne du témoin azoté}} \times \frac{100}{1}$$

Un niveau arbitraire de 75% fut sélectionné pour indiquer une nodulation efficace; un traitement donnant une valeur de $E = 15\%$ ou moins est considéré comme ayant une nodulation inefficace.

En pratique, il est plus commode d'utiliser le poids sec si on a un grand nombre de traitements à comparer, car le poids vert doit être pris immédiatement après la coupe, alors que le poids sec, malgré le travail supplémentaire qu'il nécessite peut être pris à différents intervalles de temps (Vincent, 1970).

L'efficacité mesurée en termes de production de grains est plus difficile à évaluer puisque la fixation d'azote peut être sévèrement réduite aux stades floraison et remplissage des gousses (Date, 1976). Des facteurs tels que le gel, l'humidité et la température affectent la production de graines plus qu'un apport restreint d'azote à ces stades.

A-3 Pourcentage d'azote et azote total dans la plante

Le pourcentage d'azote, comme base de comparaison entre les souches de Rhizobium doit être utilisé avec prudence car la relation entre le rendement et le pourcentage d'azote peut parfois changer, selon que la plante reçoit de l'azote fixé symbiotiquement ou de l'azote minéral (Haydock et Norris, 1967).

L'azote total dans la plante est un bon critère utilisé pour comparer l'efficacité des souches de Rhizobium, si l'air est la seule source d'azote car la quantité totale d'azote fixée par des légumineuses nodulées par des souches efficaces de Rhizobium est beaucoup affectée par le niveau de l'azote du sol (Roughley, 1976).

Les estimations de grandes quantités d'azote pouvant être fixées par des légumineuses poussant dans un milieu sans azote ont renforcé le concept selon lequel les légumineuses fixent toujours suffisamment ou au moins la majeure partie de l'azote qui leur est nécessaire; ceci peut être loin de la réalité quand les niveaux d'azote du sol sont élevés ou quand l'azote est fourni pendant la période de croissance.

II - METHODOLOGIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I

DETERMINATION DE L'EFFICACITE DES SOUCHES DE RHIZOBIUM PHASEOLI EN FONCTION DU POIDS SEC ET DE L'AZOTE TOTAL DES PLANTES

Dans cette première expérience, 65 souches de Rhizobium phaseoli sont testées. L'objectif est de sélectionner des souches efficaces en utilisant comme critère de sélection le poids sec des plantules (parties aériennes) et l'azote total fixé.

A - Origine des souches

Le nom, la source et la variété de haricot sur laquelle fut isolée chaque souche de Rhizobium phaseoli utilisée sont décrits au tableau 3. ATCC 14482 et RCR 3610 sont des souches originaires des USA.

B - Variété de Phaseolus vulgaris

La variété "Goldie" (graines jaunes) est utilisée au cours de l'expérience. Les semences proviennent de la compagnie semencière R. Rogers Brother Seed Company, Idaho Falls, Idaho (USA) et possèdent les caractéristiques suivantes:

TABLEAU 3. Origine des souches de Rhizobium phaseoli utilisées

Nom de la souche	Région d'isolation ou source	Variété de haricot sur laquelle fut isolée la souche
P1	Ile d'Orléans	Sun Gold
P4	" "	Strike
P5	" "	Sun Gold
P6	St-Augustin	
P15	St-Césaire	Gold Rush
P29-1	Ste-Martine	Wax-252
P29-2	" "	" "
P31	" "	Gold Rush
P35	Howick	Bush Blue Lake BBL614
P36	"	Gold Rush
P66	St-Jean	Lancer
P67	"	Midas
P68	"	Vitagreen
P73	St-Paul Ile aux Noix	Lancer
P74	St-Grégoire	Gold Rush
P75	Carignan	Golden Rod
P76	"	04-22
P77	Acadie	Gold Rush
P78-1	"	08-50
P78-2	"	"
P79	"	Golden Rod
P80	St-Charles	Moon Gold
P81	Rougemont	Goldie
P82	St-Damase	Peak
P84	Ste-Madeleine	Gold Rush
P85	St-Damase	Eagle
P86	"	Legazy
P87	"	Raider
P88	St-Pie	Goldie
P89	"	Gold Rush

TABLEAU 3 (suite)

P90	St-Pie	Spendergold
P91	St-Césaire	BBL-112
P98	Howick	Wax 252
P99	"	" "
P100	"	BBL-614
P102	St-Stanislas	" "
P103	Ste-Martine	Vitagreen
P104	" "	BBL 274
P105	Iles Dupras Berthier	BBL 92
P106	" " "	Golden Rod
P107	" " "	BBL 47
P108	" " "	BBL 94
P113	Ville d'Auteuil Local	Horticole française
P114	" " "	Butter Wax
P115	" " "	Speculator
P115	" " "	Honey Gold
P117	" " "	Butter Wax
P118	Ste-Dorothée	St-Sacrement
P119	" "	Fève romaine
P121	Ile Bizard	Sungold
P122	" "	"
P125	St-Philippe	Gold Rush
P126	Napierville	" "
P129	St-Césaire	Eagle
P128	"	Legacy
P130	St-Pie	G.P-76017
P131	"	Lancer
P132	St-Césaire	Flo
P133	St-Jean-Chrysostome	Brittle Wax
P134	" "	Strike
P135	Québec	Brittle Wax
P136	"	" "
P83	St-Jean-Baptiste	Peak
ATCC 14482	USA	
RCR 3610	"	

- 90% de germination

- 99,5% de pureté

Ces semences ont été traitées par du Captane et du Thirame (fongicides) et comme traitement vermicide, du Lorsban.

C - Conditions de croissance des bactéries

Le milieu de culture liquide utilisé pour la croissance des Rhizobium est un bouillon à l'extrait de levures contenant du mannitol (YEMB) comme source de carbone, cette dernière étant universelle pour les Rhizobium (Vincent, 1970) (la composition du milieu est décrite à l'annexe B). La collection des souches de Rhizobium phaseoli est maintenue par repiquage des souches sur des pentes du milieu YEMB solidifié avec 15 g/litre de gélose.

C-1. Stérilisation du milieu de croissance

Dans les fioles Erlenmeyer de 250 mL, on introduit 100 mL du milieu de culture liquide YEMB. Les fioles sont bouchées et mises à l'autoclave pendant 15 minutes à une température de 121°C et 101 kPa de pression.

C-2 Inoculation et incubation des bactéries

Le milieu de culture refroidi est inoculé avec les souches de Rhizobium phaseoli (une souche par fiole). L'inoculation se fait dans des conditions d'asepsie totale à l'aide d'une aiguille d'inoculation flambée, près d'une flamme, l'opération se déroulant sous une hotte stérile.

L'incubation des bactéries est faite sur un agitateur mécanique à une vitesse moyenne de 160 rpm dans une chambre d'incubation où la température ambiante est maintenue à 26°C.

D - Stérilisation

D-1 Graines

Les graines sont stérilisées en les lavant durant 15 minutes dans de l'eau de javel (5,25% d'hypochlorite de sodium) ($\text{NaClO}, 5\text{H}_2\text{O}$), suivi d'un rinçage durant 5 minutes dans de l'eau de robinet stérile, suivi d'un rinçage de 5 minutes dans de l'éthanol 95% et pour achever la stérilisation on effectue 6 rinçages consécutifs de 5 minutes chacun dans de l'eau de robinet stérile.

Les graines ainsi débarrassées des produits de conservation et de tous les germes sont prêtes pour le semis.

D-2 Mélange synthétique

Un mélange volumétrique de 1 silice No 24 pour 2 vermiculites est utilisé. Le mélange est stérilisé à l'autoclave à 121°C pendant 2 heures et à 101 kPa de pression. Ce mélange procure une bonne aération et une capacité satisfaisante de rétention d'eau.

D-3 Pots

Les pots de 11,43 cm de diamètre sont lavés à l'eau distillée contenant 0,5% d'une solution désinfectante appelée "Oakite Sanitizer No 1" (produit actif = Trisodium phosphate ($\text{Na}_3\text{PO}_4, 12\text{H}_2\text{O}$)) (Oakite Products of Canada Limited, Bramalea, Ontario). Chaque pot reçoit à peu près le même volume de mélange synthétique.

E - Solution nutritive

Une solution nutritive (Annexe A) contenant 30 ppm par mL de N-NO_3 est utilisée pour arroser les plantes à raison d'un arrosage hebdomadaire. Cette faible concentration de nitrate est ajoutée pour refléter les conditions au champ (Gibson, 1980). Cette solution a la composition finale suivante par litre d'eau distillée:

Acide borique (H_3BO_3)	2,86 mg
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	1,81 mg
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0,22 mg
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0,08 mg
Acide molybdique (85% de MoO_3) (H_2MoO_4)	0,09 mg
$CoCl_2$	0,04 mg
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	246,48 mg
K_2HPO_4	174,18 mg
KH_2PO_4	136,09 mg
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	147,00 mg
KNO_3	108,33 mg
Citrate de fer	5,0 mg

Le pH varie de 6,8 à 7,2.

F - Semis

Les pots contenant le mélange synthétique reçoivent chacun 120 mL de solution nutritive. Le semis se fait à raison de 4 graines par pot à l'aide de pinces stériles. Les graines sont recouvertes par la suite avec du mélange synthétique.

Chaque pot est ensuite recouvert d'un plastique en polyéthylène transparent que l'on fixe à l'aide d'un élastique pour éviter la contamination croisée durant la première période critique.

G - Dispositif expérimental

Blocs randomisés, avec 4 répétitions et 70 traitements (65 souches + 5 témoins non inoculés). Les blocs sont distribués sur deux tables dans la serre de propagation. Le plan d'expérience est illustré à l'annexe C.

H - Sélection des plantules

La sélection des plantules s'est faite 7 jours après le semis au

stade 3 feuilles. Les pots sont découverts et la plantule la moins vigoureuse est enlevée pour conserver 3 plantules par pot.

I - Inoculation des plantules

Sept jours après le semis, on procède à l'inoculation. A part les témoins, on distribue de façon homogène à la surface des pots 20 mL de l'inoculum âgé de 7 jours, dilué dans la solution nutritive stérile et contenant plus de 10^8 cellules par mL.

J - Arrosage

En plus de l'arrosage hebdomadaire avec la solution nutritive, les plantes reçoivent de l'eau déminéralisée en fonction du degré de sécheresse constatée; de façon globale, la fréquence d'arrosage est de 1 fois à tous les deux jours.

K - Eclairage

L'éclairage des plantes dans la serre est assuré par 30 lampes à néon de 1,80 mètres de long, réglé à une intensité de 300 micro-einstein. La durée d'éclairage est de 12 heures par jour.

L - Température de croissance

La température imposée dans la serre est de 18°C ; lorsqu'elle est sujette à des variations, un système d'aération automatique permet de la ramener à la normale.

M - Récolte et pesée

La coupe des plantes a lieu 42 jours après le semis. Les plantes (3 par pot) sont aussitôt ensachées pour la mise dans la sécheuse en vue de déterminer le poids sec. Les plantes sont séchées à une température de $75^{\circ} - 80^{\circ}\text{C}$ pendant 48 heures. Le poids sec est exprimé en grammes par pot (Annexe E). Les plantes sèches sont ensuite moulues pour la détermination

du pourcentage d'azote par gramme de matière sèche (Annexe E) et la quantité d'azote total (Annexe E).

N - Détermination du pourcentage d'azote et de l'azote total

L'azote total est déterminé sur un appareil Kjel Foss automatic 16200 (A/S N. Foss electric Denmark). Le principe de cet appareil est la digestion de 0,3 g d'échantillon avec du H_2SO_4 en présence de H_2O_2 et de l'oxyde de mercure, utilisé comme catalyseur. La digestion est suivie d'une neutralisation avec du NaOH en présence de $Na_2S_2O_3$ (pour précipiter le mercure). Le $N-NH_4$ est ensuite distillé à la vapeur et titré.

Pour chaque échantillon le processus entier est fait en trois minutes. Le pourcentage d'azote (Annexe E) s'obtient en divisant le titre obtenu par 0,3 g. L'azote total (Annexe E) est obtenu en multipliant le pourcentage d'azote par le poids sec.

O - Analyse statistique des résultats

Ces analyses sont faites sur ordinateur.

0-1 Analyse de la variance

L'analyse de la variance est faite sur les rendements exprimés en poids de matière sèche et en quantité d'azote total fixée.

0-2 Corrélation entre le rendement exprimé en poids de matière sèche et le contenu en azote total

Une analyse de régression linéaire est faite pour déterminer s'il existe une corrélation entre le contenu en azote total et le rendement total de matière sèche. Les constantes statistiques déterminées sont décrites par Fireman et Wadleigh (1951) comme suit:

r = coefficient de corrélation, qui mesure la proportion de variation dans une variable qui est associée avec la variation dans l'autre variable lorsque la relation entre elles est linéaire.

r^2 = coefficient de détermination, qui mesure le pourcentage de variation dans une variable qui est associée à la variation dans l'autre variable.

b_{yx} = coefficient de régression, qui est le nombre moyen de hausse ou de baisse des unités dans la variable dépendante (y) associé avec l'augmentation des unités de la variable indépendante (x).

$s_{b_{yx}}$ = erreur standard du coefficient de régression, qui fournit une mesure de signification des valeurs de b_{yx} et qui est un moyen de comparer ces valeurs entre elles.

s_{yx} = erreur standard de l'estimation qui indique l'accord existant entre les valeurs estimées par la ligne de régression et les valeurs observées pour la variable (y).

Les constantes sont déterminées sur les moyennes de quatre répétitions par traitement.

P - Classement des souches suivant leur comportement symbiotique

Un classement arbitraire des souches de R. phaseoli suivant leur efficacité symbiotique est utilisé (Bordeleau et coll., 1977); ce classement est basé sur la moyenne.

- Une souche est classée non-efficace (N.E) lorsque le rendement (poids sec et azote total) obtenu est plus petit que celui de la moyenne moins la valeur de l'écart type de la moyenne.
- Une souche est classée efficace (E) lorsque le rendement obtenu est compris entre celui de la moyenne plus ou moins la valeur de l'écart-type.

- Les souches donnant des rendements supérieurs à celui de la moyenne plus la valeur de l'écart-type de la moyenne sont classées très efficaces (T.E).

CHAPITRE 2

SELECTION DES SOUCHES DE RHIZOBIUM PHASEOLI EN FONCTION DU RENDEMENT EN GOUSSES

Neuf (9) souches de Rhizobium testées dans la première expérience sont retenues pour cette deuxième expérience. Une nouvelle souche, Goldie est également testée. Des inoculants mixtes (10) sont testés et les résultats nous renseigneront si ces souches qui se sont révélées très efficaces dans la première expérience conservent cette qualité en association binaire. Cet essai indiquera aussi s'il existe une corrélation entre le rendement en matière sèche du feuillage après 6 semaines et le rendement en gousses.

A - Matériel bactérien

Le tableau 4 indique les traitements de cette deuxième expérience. Le milieu utilisé pour la croissance de ces souches est le même milieu liquide YEMB utilisé dans la première partie de la recherche; la stérilisation s'effectue dans les mêmes conditions de même que l'inoculation et l'incubation des bactéries.

B - Variété de Phaseolus vulgaris

TABLEAU 4. Souches de Rhizobium phaseoli testées

Nom de la souche ou de l'inoculant mixte	Degré d'efficacité
P79	N.E.
P134	N.E.
P131	E
ATCC 14482	E
P107	T.E.
P136	T.E.
P84	T.E.
P68	T.E.
P121	T.E.
P107 + P136	T.E. + T.E.
P107 + P84	T.E. + T.E.
P104 + P68	T.E. + T.E.
P107 + P121	T.E. + T.E.
P136 + P84	T.E. + T.E.
P136 + P68	T.E. + T.E.
P136 + P121	T.E. + T.E.
P84 + P68	T.E. + T.E.
P84 + P121	T.E. + T.E.
P68 + P121	T.E. + T.E.
Goldie	inconnue

Légende: N.E.: non efficace

E : efficace

T.E.: très efficace

La même variété "Goldie" est utilisée comme matériel végétal dans cette expérience. La stérilisation des semences est faite suivant le même protocole utilisé dans l'expérience précédente.

C - Pots

Des pots de 17,78 cm de diamètre stérilisés à l'Okite sont utilisés dans cette expérience; beaucoup plus grands que ceux utilisés dans la première expérience, ils permettent de cultiver les plantes jusqu'à l'obtention des gousses sans beaucoup de risques de verse.

D - Mélange synthétique

Le mélange est constitué de deux volumes de vermiculite pour un de silice No 24 comme précédemment. Chaque pot en reçoit la même quantité.

E - Semis

Chaque pot reçoit six graines de haricot. Les graines sont recouvertes par la suite avec du mélange synthétique et arrosées avec 400 mL de solution nutritive.

F - Dispositif expérimental

Cinq blocs randomisés de vingt traitements et six témoins non inoculés (Annexe D).

G - Inoculation des plantules

L'inoculation a lieu seize jours après le semis; 20 mL d'inoculum âgé de cinq jours sont distribués de façon homogène à la surface des pots traités. L'inoculum est dilué avec de la solution nutritive stérile pour donner un nombre de cellules supérieur à 10^8 /mL. La sélection des plantules se fait en gardant les quatre plantules les plus vigoureuses par pot.

H - Arrosage

La solution nutritive utilisée pour l'arrosage a la même composition que celle de la première expérience (J) et la fréquence d'arrosage est hebdomadaire. L'arrosage à l'eau distillée s'effectue au besoin.

I - Eclairage

Les lampes, l'intensité, la durée d'éclairage journalier est la même que dans la première expérience (K).

J - Température de croissance

La température dans la serre est de 18⁰C comme dans la première expérience (L).

K - Récolte et pesée

La récolte (gousses et plantes) a lieu 70 jours après le semis; les gousses ont une coloration jaune en cette période et c'est dans cet état qu'elles sont consommées chez la variété Goldie.

Les gousses sont ensuite pesées pour la détermination du poids frais (Annexe G). On procède ensuite à l'ensachage des plantes et gousses pour le séchage au four à 80⁰C et 101 kPa de pression pendant 48 heures pour la détermination des poids secs (gousses: Annexe H; plantes: Annexe I). Seuls deux pots témoins par répétition sont pris en considération pour les analyses ultérieures, les autres ayant été contaminés au cours de l'expérience.

L - Détermination du pourcentage d'azote et de l'azote total

La détermination du pourcentage d'azote et de l'azote total des gousses (Annexe H) et de la partie aérienne des plants (Annexe I) est faite comme dans la première expérience.

M - Analyses statistiques

Ces analyses sont faites sur ordinateur.

M-1 Analyse de la variance

L'analyse de variance est faite sur les rendements en poids frais des gousses, poids sec des gousses et des plantes et sur les quantités d'azote total des gousses et des plantes.

M-2 Corrélations

Des analyses de régression linéaire sont faites pour déterminer s'il existe une corrélation entre:

- le poids frais des gousses et le poids sec des gousses
- le poids frais des gousses et le poids de matière sèche des plantes de la deuxième expérience
- le poids sec des gousses et le poids de matière sèche des plantes de la deuxième expérience
- le poids frais des gousses et le poids de matière sèche des plantes de la première expérience
- le poids sec des gousses et le poids de matière sèche des plantes de la première expérience
- les poids de matière sèche des plantes des deux expériences
- le contenu en azote des gousses et leurs poids secs de la deuxième expérience
- le contenu en azote des plantes et leurs poids secs de la deuxième expérience
- le contenu en azote des plantes et des gousses dans la deuxième expérience.

III - RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE 1

PREMIERE EXPERIENCE

A - Résultats

L'analyse de variance du rendement exprimé en grammes de matière sèche est représentée dans le Tableau 5.

F est significatif à un niveau de confiance de 1 pour cent. Cette signification du F montre qu'il existe entre les 65 souches de R. phaseoli, une différence dans leur participation à l'élaboration de la matière sèche des plantes.

Nous obtenons également un coefficient de variation de 9 pour cent très acceptable pour une expérience en serre (Brockwell, 1980). Dans le Tableau 6, sont classés par ordre croissant les rendements moyens de matière sèche obtenus avec les 65 souches de R. phaseoli et le témoin non inoculé mais recevant $30 \mu\text{g}$ de N-NO_3^- par mL à chaque arrosage, soit quatre arrosages.

Le Tableau 7 indique le comportement fixateur des différentes souches en fonction du poids de la matière sèche.

Ce classement arbitraire, comme expliqué auparavant, est basé sur

TABLEAU 5. Analyse de variance du rendement exprimé en grammes de poids sec/pot de haricot (première expérience)

Sources de variation	Degré de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	F
Répétitions	3	0,333	0,111	3,00
Souches	69	5,936	0,086	2,32**
Erreur	207	7,668	0,037	
Total	279	13,938		

** Significatif à un niveau de confiance de 1%

TABLEAU 6. Rendements moyens exprimés en grammes de matière sèche par pot (première expérience)

Rang ascendant	No traitement	Souches	Rendements moyens (g/pot)
1	21	P79	1,56
2	65	RCR 3610	1,70
3	60	P134	1,78
4	2	P4	1,79
5	58	P132	1,79
6	65-70	Témoin non inoculé	1,80
7	49	P119	1,80
8	9	P35	1,80
9	28	P87	1,84
10	30	P89	1,86
11	1	P1	1,88
12	57	P131	1,89
13	24	P82	1,90
14	7	P29-2	1,91
15	64	ATCC 14482	1,91
16	20	P78-1	1,92
17	40	P106	1,92
18	37	P103	1,96
19	59	P133	1,97
20	16	P75	1,98
21	12	P67	1,99
22	26	P85	1,99
23	34	P99	1,99
24	36	P102	1,99
25	38	P104	1,99
26	43	P113	1,99
27	3	P5	2,00
28	29	P88	2,00
29	31	P90	2,00
30	5	P15	2,01

TABLEAU 6 (suite)

31	46	P116	2,01
32	4	P6	2,02
33	17	P76	2,02
34	32	P91	2,04
35	48	P118	2,04
36	15	P74	2,05
37	22	P80	2,05
38	23	P81	2,05
39	35	P100	2,05
40	51	P122	2,05
41	18	P77	2,06
42	56	P130	2,06
43	10	P36	2,07
44	54	P129	2,07
45	61	P135	2,07
46	14	P73	2,08
47	6	P29-1	2,09
48	42	P108	2,10
49	33	P98	2,11
50	55	P129	2,12
51	45	P115	2,13
52	8	P31	2,14
53	27	P86	2,14
54	11	P66	2,15
55	39	P105	2,15
56	63	P83	2,15
57	53	P126	2,16
58	44	P114	2,17
59	19	P78-1	2,20
60	47	P117	2,20
61	52	P125	2,20
62	13	P68	2,22
63	50	P121	2,22

TABLEAU 6 (suite)

64	25	P84	2,23
65	41	P107	2,23
66	62	P136	2,24

Moyenne générale: $2,004 \pm 0,147$

LSD 0,05: 0,27

LSD 0,01: 0,35

C.V.: 9%

TABLEAU 7. Comportement fixateur des différentes souches de Rhizobium phaseoli en fonction du poids de la matière sèche (première expérience)

Rang ascendant	Souches	
1	P79	N.E
2	RCR 3610	N.E
3	P134	N.E
4	P4	N.E
5	P132	N.E
6	P119	N.E
7	P35	N.E
8	P87	N.E
9	P89	E
10	P1	E
11	P131	E
12	P82	E
13	P29-2	E
14	ATCC 14482	E
15	P78-1	E
16	P106	E
17	P103	E
18	P133	E
19	P75	E
20	P67	E
21	P85	E
22	P99	E
23	P102	E
24	P104	E
25	P113	E
26	P5	E
27	P88	E
28	P90	E
29	P15	E
30	P116	E

TABLEAU 7 (suite)

31	P6	E
32	P76	E
33	P91	E
34	P118	E
35	P74	E
36	P80	E
37	P81	E
38	P100	E
39	P122	E
40	P77	E
41	P130	E
42	P36	E
43	P129	E
44	P135	E
45	P73	E
46	P29-1	E
47	P108	E
48	P98	E
49	P129	E
50	P115	E
51	P31	E
52	P86	E
53	P66	E
54	P105	E
55	P83	E
56	P126	T.E
57	P114	T.E
58	P78-1	T.E
59	P117	T.E
60	P125	T.E
61	P68	T.E
62	P121	T.E

TABLEAU 7 (suite)

63	P84	T.E
64	P107	T.E
65	P136	T.E

N.E : non efficace

E : efficace

T.E : très efficace

la moyenne générale du rendement en poids de matière sèche. Ainsi:

- Une souche faisant obtenir un rendement en matière sèche inférieur à 1,85 grammes est non efficace (N.E).

- Une souche dont le rendement est supérieur ou égal à 1,85 grammes et inférieur ou égal à 2,15 grammes est considérée comme étant efficace (E).

- Une souche dont le rendement est supérieur à 2,15 grammes est considérée très efficace (T.E).

En fonction de ce classement:

Huit souches, soit 12,31 pour cent sont non efficaces (N.E) en ce qui concerne leur participation à l'élaboration de la matière sèche.

Cinq des 8 souches non efficaces (N.E) donnent un rendement inférieur au témoin non inoculé, recevant 30 ppm d'azote.

Deux souches parmi les 8 ont un rendement égal à celui du témoin tandis que la souche P87 a un rendement légèrement supérieur.

La classe des efficaces (E) regroupe 47 souches soit 72,30 pour cent de la population de R. phaseoli testée.

Dix souches, soit 15,39 pour cent du total sont très efficaces (T.E); parmi celles-ci, la souche P136 est celle qui donne le meilleur rendement de matière sèche (2,24 grammes) soit 111,75 pour cent du rendement moyen de toutes les souches y compris le témoin et 124,44 pour cent du rendement du témoin ayant reçu 30 ppm d'azote.

Le Tableau 8 représente l'analyse de variance de la quantité totale d'azote dosée dans les plantes.

F est significatif à un niveau de confiance de 1 pour cent. Les

TABLEAU 8. Analyse de variance de la quantité d'azote total des plantes
(première expérience)

Sources de variation	Degré de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	F
Répétitions	3	6,446	2,149	2,67
Souches	69	298,709	4,329	5,38**
Erreur	207	166,651	0,8051	
Total	279	471,807		

** Significatif à un niveau de confiance de 1%

pois moyens d'azote total figurent dans le Tableau 9. Le Tableau 10 représente le comportement fixateur des 65 souches en fonction du poids d'azote total.

Il faut noter que l'azote total mesuré comprend l'azote initial contenu dans les graines et les 30 ppm de $N-NO_3$ fournis aux plantes avec la solution nutritive.

L'azote des graines n'a pas été quantifié et les 30 ppm de $N-NO_3$ apportés pour refléter les conditions du champ (Gibson, 1980) sont négligeables; ceci est corroboré par la faible quantité d'azote dosée chimiquement chez le témoin.

Les souches faisant obtenir une quantité d'azote inférieure à 5,93 grammes sont non efficaces (N.E).

Celles donnant une quantité d'azote comprise entre 5,93 et 8,01 grammes sont efficaces (E).

Celles faisant obtenir une quantité d'azote supérieure à 8,01 grammes sont très efficaces (T.E).

Ainsi:

Cinq souches, soit 7,70 pour cent sont non efficaces (N.E) dans la fixation d'azote en association avec la variété de haricot Goldie, 4 souches parmi les 5 expriment ce même comportement dans l'élaboration de la matière sèche.

La souche ATCC 14482, classée efficace (E) pour l'élaboration de la matière sèche est non efficace (N.E) dans la fixation d'azote et donne moins d'azote que le témoin non inoculé.

Cinquante-cinq souches, soit 86,15 pour cent sont efficaces (E). On retrouve dans ce groupe des souches efficaces, 4 souches non efficaces

TABLEAU 9. Poids moyens d'azote total exprimés en grammes par pot
(première expérience)

Rang ascendant	No traitement	Souches	Poids moyens d'azote total (g/pot)
1	65	RCR 3610	3,73
2	64	ATCC 14482	4,04
3	58	P132	4,56
4	21	P79	4,80
5	65-70	Témoin non inoculé	5,02
6	9	P35	5,27
7	2	P4	5,94
8	49	P119	6,46
9	60	P134	6,51
10	12	P67	6,64
11	57	P131	6,65
12	28	P81	6,69
13	1	P1	6,76
14	34	P99	6,80
15	7	P29-1	6,82
16	17	P79	6,82
17	59	P133	6,82
18	24	P82	6,96
19	33	P98	6,97
20	15	P74	7,06
21	30	P89	7,07
22	51	P122	7,08
23	37	P103	7,10
24	40	P106	7,12
25	56	P130	7,13
26	55	P128	7,20
27	16	P75	7,24
28	48	P118	7,27
29	31	P90	7,28
30	20	P78-2	7,29

TABLEAU 9 (suite)

31	8	P31	7,30
32	4	P6	7,31
33	10	P36	7,31
34	19	P78-1	7,31
35	3	P5	7,32
36	61	P135	7,33
37	29	P88	7,35
38	63	P83	7,36
39	18	P77	7,40
40	39	P105	7,44
41	26	P85	7,45
42	32	P91	7,46
43	22	P80	7,47
44	43	P113	7,57
45	54	P129	7,57
46	25	P84	7,61
47	14	P73	7,62
48	36	P102	7,62
49	38	P104	7,62
50	23	P81	7,65
51	42	P108	7,65
52	53	P126	7,66
53	35	P100	7,67
54	46	P116	7,70
55	44	P114	7,71
56	41	P107	7,74
57	27	P86	7,76
58	5	P15	7,80
59	47	P117	7,81
60	50	P121	7,86
61	45	P115	7,92
62	11	P66	7,98
63	62	P136	8,04

TABLEAU 9 (suite)

64	P29-1	8,06
65	P125	8,22
66	P68	8,37

Moyenne générale: $6,974 \pm 1,039$

LSD 0,05: 1,24

LSD 0,01: 1,64

CV: 13%

TABLEAU 10. Comportement fixateur des différentes souches de Rhizobium phaseoli en fonction du poids d'azote total (première expérience)

Rang ascendant	Souches	
1	RCR 3610	N.E
2	ATCC 14482	N.E
3	P132	N.E
4	P79	N.E
5	P35	N.E
6	P4	E
7	P119	E
8	P134	E
9	P67	E
10	P131	E
11	P87	E
12	P1	E
13	P99	E
14	P29-1	E
15	P79	E
16	P133	E
17	P82	E
18	P98	E
19	P74	E
20	P89	E
21	P122	E
22	P103	E
23	P106	E
24	P130	E
25	P128	E
26	P75	E
27	P118	E
28	P90	E
29	P78-2	E
30	P31	E

TABLEAU 10 (suite)

31	P6	E
32	P36	E
33	P78-1	E
34	P5	E
35	P135	E
36	P88	E
37	P83	E
38	P77	E
39	P105	E
40	P85	E
41	P91	E
42	P80	E
43	P113	E
44	P129	E
45	P84	E
46	P73	E
47	P102	E
48	P104	E
49	P81	E
50	P108	E
51	P126	E
52	P100	E
53	P116	E
54	P114	E
55	P107	E
56	P86	E
57	P15	E
58	P117	E
59	P121	E
60	P115	E
61	P66	E
62	P136	T.E
63	P29-1	T.E

TABLEAU 10 (suite)

64	P125	T.E
65	P68	T.E.

N.E: non efficace

E : efficace

T.E: très efficace

dans l'élaboration de la matière sèche.

Il en est de même pour 6 souches très efficaces (T.E) dans la production de matière sèche mais se révélant efficaces (E) dans la fixation d'azote.

Quatre souches soit 6,15 pour cent se révèlent très efficaces (T.E); la souche P68 est celle qui fixe la plus grande quantité d'azote (8,37 grammes), soit 120 pour cent du taux moyen d'azote fixé par toutes les souches.

La souche P29-1 se classe parmi les souches très efficaces (T.E) alors qu'elle est efficace dans le rendement en matière sèche.

Nous avons par l'analyse de régression linéaire étudié la corrélation qui existe entre le rendement en matière sèche et le contenu en azote total des plantes (partie aérienne). Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 11.

TABLEAU 11. Constantes statistiques reliant les moyennes du poids sec et de la teneur en azote total de la variété de haricot Goldie (première expérience)

Poids sec	Azote total	r	r ²	byx	ESbyx	ESyx	t	F
2,004	6,97	0,805	0,648*	5,70	0,51	1,02	11,20**	125,45**

r = coefficient de corrélation

r² = coefficient de détermination

byx = coefficient de régression

ESbyx = écart type du coefficient de régression

ESyx = écart type de l'estimation

B - Discussion

Le coefficient de corrélation (r) obtenu est très élevé (0,805) et significatif à un niveau de confiance de 1 pour cent.

De même le coefficient de détermination (r^2) est très élevé (0,648).

Le coefficient de régression (byx) montre le changement du contenu en azote en grammes associé à un gramme de changement dans le poids sec du haricot.

Les tests de t et de F , étant très significatifs à un niveau de confiance de 1 pour cent, nous pouvons conclure qu'il existe une régression positive et une corrélation très élevée entre le rendement en matière sèche et la quantité d'azote total des plantes de haricot.

La droite de régression linéaire obtenue figure à l'Annexe F. L'équation de régression obtenue est la suivante:

$$\hat{Y} = 5,70X - 4,44$$

Une telle équation permet de prédire le contenu en azote des plantes de haricot après 6 semaines de croissance connaissant le poids de matière sèche, et ceux d'autres expériences similaires.

Des résultats similaires ont été obtenus par Erdman et Means (1952) Antoun (1973), Bordeleau et al. (1977).

Kremer et Peterson (1983) ont trouvé que l'inoculation augmentait à la fois le poids sec et l'azote total des plantes de haricot récoltées au stade pleine floraison.

Ces conclusions nous permettent de suggérer que le poids sec peut

être utilisé comme critère de sélection des souches de Rhizobium phaseoli vivant en symbiose avec la variété de haricot Goldie sous les conditions expérimentales décrites dans cette première expérience.

Une sélection des souches basée sur le poids sec des plantes constitue un gain de temps et évite de faire des analyses chimiques d'azote.

Certaines souches de R. phaseoli donnent un rendement en matière sèche et un contenu en azote inférieurs à ceux du témoin; ceci peut résulter d'un manque de spécificité entre ces souches et la variété de haricot utilisée ou du caractère parasite de ces souches; ainsi ces souches utiliseraient les photosynthats de la plante sans contre partie pour celle-ci.

Nous remarquons dans les Tableaux 7 et 10 que les comportements des souches sont sensiblement les mêmes aussi bien dans l'élaboration de la matière sèche que dans la fixation d'azote; ceci est parfaitement en accord avec la régression positive obtenue entre la quantité d'azote obtenue et de matière sèche élaborée.

Les quelques variations observées dans le comportement de certaines souches telles que ATCC 14482 peuvent s'expliquer par les hypothèses suivantes:

- lenteur de la souche à s'exprimer, car il faut retenir que l'expérience n'a duré que 42 jours; certaines souches mettent un certain temps pour donner des résultats performants dans la fixation d'azote (Erdman et Means, 1953);
- nombre de bactéries variable dans l'inoculum quoique nous ayons pris toutes les précautions pour assurer 10^8 cellules par mL pour chaque traitement;
- perte du caractère responsable de la fixation d'azote: ATCC 14482 est une souche isolée depuis 1960 à cause de son efficacité; il est actuellement connu que les gènes responsables de la spécificité et de la nodulation

(Higashi, 1967; Zurkowski et Lorkiewicz, 1979; Brewin et al., 1980) et les gènes de la fixation (gènes *nif*) (Dunican et Tierny, 1974; Nuti et al., 1979), comme d'autres gènes affectant l'efficacité symbiotique (Brewin et al., 1980) ou l'habileté à induire la polygalacturonase dans les cellules racinaires sont situés sur les plasmides, ADN extrachromosomal.

Sous l'action d'agents mutagènes il peut y avoir perte des gènes responsables de l'infectivité (Higashi, 1967) ou de la fixation, ou après une longue conservation des souches en laboratoire (Rennie et Kemp, 1983).

Nous pensons qu'un tel phénomène se serait produit chez ATCC 14482 conduisant à la perte d'efficacité.

Cette dernière hypothèse nous amène à conclure que l'efficacité symbiotique peut être perdue avec le temps même si les milieux de culture et les conditions de croissance sont idéales pour les souches.

Dans le Tableau 6, nous remarquons que les rendements obtenus dans le groupe des souches efficaces (E) varient entre 1,86 grammes et 2,15 grammes, équivalent à une variation de 0,29 grammes, valeur plus petite que le Lsd 0,01, permettant d'affirmer que ces souches forment un groupe homogène en ce qui concerne leur participation à l'élaboration de la matière sèche. Il en est de même pour le groupe des souches très efficaces.

La sélection en fonction du poids sec de la plante et de son contenu en azote peut être très utile dans le cas où plusieurs souches de Rhizobium phaseoli sont testées; elle permet en peu de temps d'éliminer certaines souches et de poursuivre l'expérience jusqu'à l'obtention de souches recommandables pour l'inoculation du haricot.

CHAPITRE 2

DEUXIEME EXPERIENCE

A - Résultats

Les analyses de variance des poids frais et sec des gousses et du poids sec des plantes sont présentées respectivement dans les Tableaux 12, 13 et 14. Les F sont significatifs à un niveau de confiance de 1 pour cent montrant ainsi une différence entre les souches de Rhizobium phaseoli testées dans cette deuxième expérience.

Dans les Tableaux 15, 16 et 17 sont classés par ordre croissant les rendements moyens respectivement du poids frais, du poids sec des gousses et du poids sec des plantes. Dans ces trois tableaux, les souches individuellement et en association donnent des rendements supérieurs à ceux du témoin recevant 30 ppm de $N-NO_3^-$ par mL de solution nutritive à chaque arrosage.

La souche Goldie est celle qui donne le plus faible rendement en poids frais des gousses (Tableau 15); la souche P136 donne le rendement le plus élevé, représentant 278,5% de celui du témoin et 116% de celui de tous les autres traitements (y compris le témoin).

TABLEAU 12. Analyse de variance du rendement exprimé en grammes de poids frais des gousses/pot de haricot (deuxième expérience)

Sources de variation	Degré de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	F
Répétitions	4	597,99	149,50	5,44
Souches	21	5789,37	275,68	10,03**
Erreur	84	2307,56	27,47	
Total	109	8694,92		

** Significatif à un niveau de confiance de 1%

TABLEAU 13. Analyse de variance du rendement exprimé en grammes de poids sec des gousses/pot de haricot (deuxième expérience)

Sources de variation	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carrés moyens	F
Répétitions	4	26,90	6,73	3,21
Souches	21	339,96	16,19	7,72**
Erreur	84	176,29	2,099	
Total	109	543,15		

** Significatif à un niveau de confiance de 1%

TABLEAU 14. Analyse de variance du rendement exprimé en grammes de poids sec des plants/pot de haricot (deuxième expérience)

Sources de variation	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carrés moyens	F
Répétitions	4	14,98	3,74	3,44
Souches	21	72,23	3,49	3,21**
Erreur	84	91,27	1,087	
Total	109	179,48		

** Significatif à un niveau de confiance de 1%

TABLEAU 15 . Rendements moyens exprimés en grammes de poids frais des gousses/pot de haricot (deuxième expérience)

Rang ascendant	No traitement	Souches	Rendements moyens (g/pot)
1	22 - 24	Témoin	13,64
2	10	Goldie	22,05
3	7	P84	24,56
4	4	ATCC 14482	27,81
5	1	P79	28,00
6	2	P134	29,17
7	15	P136+P84	31,57
8	20	P68+P121	32,31
9	3	P131	33,71
10	18	P84+P68	34,20
11	9	P121	34,75
12	8	P68	35,20
13	5	P107	36,08
14	11	P107+P136	36,76
15	13	P107+P68	36,77
16	12	P107+P84	36,89
17	14	P107+P121	37,00
18	16	P136+P68	37,57
19	6	P136	37,69
20	17	P136+P121	37,99
21	19	P84+P121	38,74

Moyenne générale = $32,50 \pm 6,21$

Lsd $0,05 = 6,60$

Lsd $0,01 = 8,75$

TABLEAU 16 Rendements moyens exprimés en grammes de poids sec des gousses/pot de haricot (deuxième expérience)

Rang ascendant	No traitement	Souches	Rendements moyens (g/pot)
1	22 - 24	Témoin	2,10
2	10	Goldie	4,12
3	7	P84	4,72
4	4	ATCC 14482	4,87
5	1	P79	5,11
6	2	P134	5,30
7	15	P136+P84	6,04
8	5	P107	6,34
9	9	P121	6,68
10	20	P68+P121	7,03
11	3	P131	7,12
12	8	P68	7,19
13	13	P107+P68	7,24
14	18	P84+P68	7,34
15	12	P107+P84	7,50
16	11	P107+P136	7,81
17	14	P107+P121	7,81
18	16	P136+P68	7,83
19	6	P136	7,86
20	19	P84+P121	7,92
21	17	P136+P121	8,09

Moyenne générale = 6,48±1,53

Lsd_{0,05} = 1,82

Lsd_{0,01} = 2,42

TABLEAU 17 . Rendements moyens exprimés en grammes de poids sec des plantes/pot de haricot (deuxième expérience)

Rang ascendant	No traitement	Souches	Rendements moyens (g/pot)
1	22 - 24	Témoin	2,33
2	4	ATCC 14482	2,93
3	10	Goldie	3,19
4	15	P136+P84	3,38
5	7	P84	3,41
6	1	P79	3,56
7	13	P107+P68	3,71
8	11	P107+P136	3,75
9	17	P136+P121	4,06
10	12	P107+P84	4,15
11	16	P136+P68	4,15
12	6	P136	4,17
13	18	P84+P68	4,22
14	19	P84+P121	4,46
15	20	P68+P121	4,46
16	14	P107+P121	4,50
17	8	P68	4,73
18	3	P131	4,83
19	5	P107	4,93
20	2	P134	4,98
21	9	P121	5,52

Moyenne générale = $4,07 \pm 0,75$

$Lsd_{0,05} = 1,31$

$Lsd_{0,01} = 1,74$

De toutes les associations de souches, le mélange P136+P84 donne le rendement moyen en gousses frais le plus bas tandis que P84+P121 donne le rendement le plus élevé.

Tous les inoculants mixtes comportant la souche P107 donnent des rendements échelonnés entre 36,76 et 37,00 grammes.

Dans le Tableau 17, on remarque que la souche ATCC 14482 donne le plus faible rendement de matière sèche des plantes; parmi les souches individuelles, celles qui donnent les rendements de matière sèche de plantes les plus élevés, sont respectivement par ordre décroissant les souches P121, P134, P107, P131 et P68; leurs rendements sont supérieurs à ceux de toutes les associations de souches.

La souche P136, qui dans le Tableau 15 donne le meilleur rendement de gousses fraîches comparée aux autres souches individuelles n'occupe plus cette même position dans le Tableau 17. Concernant les associations de souches, P136+P84 donne le plus faible rendement de matière sèche des plantes; cette association occupe la même position dans le Tableau 15.

L'association P107+P121 donne le meilleur rendement de matière sèche des plantes.

Les Tableaux 18 et 19 représentent les analyses de variance des quantités d'azote total des gousses et des plantes.

Pour l'analyse de variance de l'azote total des plantes, nous avons utilisé les logarithmes décimaux des données pour stabiliser la variance. Dans les deux analyses, les F sont significatifs à un niveau de confiance de 1 pour cent.

Dans les Tableaux 20 et 21 sont présentés par ordre croissant les poids moyens d'azote total respectivement des gousses et des plantes. Une comparaison des deux tableaux révèle que:

TABLEAU 18. Analyse de variance de l'azote total des gousses
(deuxième expérience)

Sources de variation	Degré de liberté	Somme des carrés	Carrés moyens	F
Répétitions	4	186,91	46,73	1,23
Souches	21	3038,09	144,67	3,82**
Erreur	84	3179,28	37,85	
Total	109	6404,29		

** Significatif à un niveau de confiance de 1 pour cent

TABLEAU 19 . Analyse de variance de l'azote total des plantes
(deuxième expérience)

Sources de variation	Degré de liberté	Somme des carrés	Carrés moyens	F
Répétitions	4	0,13	0,03	0,60
Souches	21	2,85	0,14	2,80**
Erreur	84	4,50	0,05	
Total	109	7,48		

** Singificatif à un niveau de confiance de 1 pour cent

TABLEAU 20 . Poids moyens d'azote total des gousses exprimés
en grammes/pot de haricot (deuxième expérience)

Rang ascendant	No Traitement	Souches	Poids moyens d'azote total (g/pot)
1	22 - 24	Témoin	6,96
2	4	ATCC14482	12,17
3	7	P84	12,38
4	10	Goldie	13,14
5	5	P107	18,51
6	9	P121	18,92
7	2	P134	19,56
8	20	P68 + P121	20,05
9	8	P68	20,50
10	13	P107 + P68	20,80
11	1	P79	20,95
12	15	P136 + P84	21,34
13	12	P107 + P84	21,55
14	11	P107 + P136	21,73
15	19	P84 + P121	21,86
16	14	P107 + P121	22,31
17	16	P136 + P68	22,31
18	17	P136 + P121	22,49
19	18	P84 + P68	24,44
20	3	P131	24,93
21	6	P136	26,30

Moyenne générale: $19,68 \pm 4,63$

$Lsd_{0,05} = 7,74$

$Lsd_{0,01} = 10,27$

TABLEAU 21 . Poids moyens d'azote total des plantes exprimés en grammes/pot de haricot (deuxième expérience)

Rang ascendant	No Traitement	Souches	Poids moyens d'azote total (g/pot)
1	4	ATCC 14482	12,84
2	22 - 24	Témoin	13,31
3	15	P136 + P84	16,57
4	10	Goldie	17,96
5	12	P107 + P84	20,86
6	16	P136 + P68	21,55
7	13	P107 + P68	21,95
8	6	P136	22,94
9	7	P84	24,36
10	1	P79	24,37
11	19	P84 + P121	25,37
12	17	P136 + P121	25,76
13	3	P131	27,53
14	20	P68 + P121	28,27
15	2	P134	29,70
16	18	P84 + P68	30,14
17	5	P107	39,59
18	11	P107 + P136	44,59
19	8	P68	51,37
20	9	P121	52,13
21	14	P107 + P121	58,46

Moyenne générale: $29,03 \pm 12,58$

* Lsd_{0,05} = 0,28

* Lsd_{0,01} = 0,37

* Lsd des logarithmes décimaux des données

- pour les souches et associations de souches, les quantités d'azote total dosées dans les plantes sont supérieures à celles dosées dans les gousses;
- si pour certaines souches (P107, P121, P134, P68, P131 et P131) ou association de souches (P107+P121), les quantités d'azote des gousses et des plantes sont inversement proportionnelles, on n'observe pas une telle relation pour l'ensemble des souches; nous obtenons en effet un coefficient de corrélation très faible ($r = 0,32$) entre ces deux facteurs de rendement;
- certaines souches (ATCC 14482 et Goldie) donnent de faibles quantités d'azote dans les gousses comme dans les plantes.

Le Tableau 22 représente le comportement fixateur des différentes souches de Rhizobium phaseoli testées dans l'expérience. Nous utilisons le même classement arbitraire basé sur la moyenne générale et l'écart type comme dans la première expérience. Les facteurs pris en compte pour ce classement sont le poids sec des gousses, l'azote total des gousses, le poids sec et l'azote total des plantes.

Dans notre expérience, le matériel végétal utilisé étant cultivé essentiellement pour ses fruits, nous accordons par conséquent une grande importance au comportement des souches en fonction du rendement et du contenu en azote des gousses. Ainsi:

- les souches ATCC 14482, Goldie et P84 sont non efficaces (N.E).
- toutes les autres souches en traitements individuels et en associations sont efficaces (E). Il existe cependant une grande variabilité dans ce groupe; pour les souches individuelles, P136, P131 sont les plus efficaces. Les associations P84+P68, P107+P121, P136+P121, P136+P68 sont les plus efficaces.

Les analyses de régression effectuées et les différentes constantes statistiques obtenues figurent dans le Tableau 23.

TABLEAU 22. Comportement fixateur des différentes souches de Rhizobium phaseoli dans la deuxième expérience

Souches	Poids sec des gousses	Azote total des gousses	Poids sec des plantes	Azote total des plantes	Comportement fixateur
Goldie	N.E	N.E	N.E	E	N.E
P84	N.E	N.E	E	E	N.E
ATCC+14482	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E
P79	E	E	E	E	E
P134	E	E	T.E	E	E
P136+P84	E	E	E	E	E
P107	E	E	T.E	E	E
P121	E	E	T.E	T.E	E
P68+P121	E	E	E	E	E
P131	E	T.E	T.E	E	E
P68	E	E	E	T.E	E
P107+P68	E	E	E	E	E
P84+P68	E	T.E	E	E	E
P107+P84	E	E	E	E	E
P107+P136	E	E	E	T.E	E
P107+P121	E	E	E	T.E	E
P136+P68	E	E	E	E	E
P136	E	T.E	E	E	E
P84+P121	E	E	E	E	E
P136+P121	T.E	E	E	E	E

N.E = non efficace

E = efficace

T.E = très efficace

TABLEAU 23. Corrélations étudiées et constantes statistiques (deuxième expérience)

Variables	r	r ²	b _{yx}	ES _{b_{yx}}	s _{yx}	t	F
Poids sec vs poids frais des gousses	0,99**	0,98	0,24	0,0074	0,21	33,09**	1095,17**
Poids frais des gousses vs poids de matière sèche (deuxième expérience)	0,94**	0,88	7,81	0,64	2,21	12,14**	147,29**
Poids sec des gousses vs poids de matière sèche des plantes (deuxième expérience)	0,95**	0,91	1,96	0,14	0,48	14,04**	197,11**
Poids frais des gousses vs poids de matière sèche des plantes (première expérience)	0,49 NS	0,24	8,77	5,94	4,26	1,47 NS	2,17 NS
Poids sec des gousses vs poids de matière sèche des plantes (première expérience)	0,48 NS	0,23	2,20	1,52	1,0	1,45 NS	2,10 NS
Poids de matière sèche des plantes des deux expériences	0,28 NS	0,08	0,97	1,24	0,89	0,7 NS	0,61 NS
Azote total des gousses vs poids sec des gousses	0,88**	0,77	2,65	0,33	2,32	8,05**	64,85**
Azote total des plantes vs poids de matière sèche des plantes	0,67**	0,45	11,38	2,84	9,74	4,00**	16,00**
Azote total des gousses vs azote total des plantes	0,32 NS	0,10	0,88	0,59	12,51	1,49 NS	2,22 NS

r = coefficient de corrélation

r² = coefficient de détermination

b_{yx} = coefficient de régression

ES_{b_{yx}} = erreur standard du coefficient de régression

s_{yx} = erreur de l'estimé

** = significatif à un niveau de confiance de 1 pour cent

N.S. = non significatif

Nous obtenons de fortes corrélations entre:

- les poids sec et frais des gousses ($r = 0,99$)
- le poids frais des gousses et le poids de la matière sèche des plantes ($r = 0,94$)
- le poids sec des gousses et le poids de matière sèche des plantes ($r = 0,95$)
- l'azote total et le poids sec des gousses ($r = 0,88$)
- l'azote total et le poids sec des plantes ($r = 0,67$).

Il n'existe pas de corrélation entre le poids frais des gousses et le poids de matière sèche des plantes après 6 semaines de croissance des plantes ($r = 0,49$).

B - Discussion

Si la plupart des souches utilisées en paires n'ont pas montré d'activité antagoniste vis-à-vis des autres, l'association P136+P84 qui- que classée efficace (Tableau 23) a donné des rendements plus faibles qu'en traitements individuels. Cet antagonisme marqué peut provenir soit d'une forte compétition nutritive dans la rhizosphère de la plante ou de la production de bactériocine par ces souches lorsqu'elles sont en présence. Un tel phénomène a été observé chez certains Rhizobium par plusieurs auteurs (Roslycky, 1967; Schwinghamer et Beikengren, 1968; Schwinghamer, 1971, 1975).

Nous avons observé chez la grande majorité des inoculants en paires un synergisme très marqué; les rendements de gousses fraîches obtenus par la plupart des inoculants mixtes sont plus élevés que ceux des souches inoculées individuellement.

Bordeleau et Antoun (1977) ont observé que les souches utilisées en paires pour l'inoculation de la variété de luzerne Saranac donnaient des rendements plus élevés que ceux des traitements individuels. Les rendements diminuaient par contre lorsque le nombre de souches dans l'inoculant excédait deux.

Un tel constat a été établi par Joshi et Kulkarni (1983); ils ont observé que l'inoculation de l'arachide avec plus de deux souches donnait beaucoup de nodules, un rendement élevé en poids de matière sèche des plantes mais peu de gousses.

Cette baisse dans le rendement peut être due au fait que lorsque le nombre de cellules par souche diminue, la compétition entre les souches pour l'occupation des sites d'infection augmente ou que l'effet des souches pour l'infection et l'efficacité n'est pas additif même si les souches en mélange sont individuellement infectieuses et efficaces (Bordeleau et Antoun, 1977).

Nous avons obtenu pour l'ensemble des traitements, de faibles quantités d'azote dans les gousses comparées à celles des plantes. Cette pauvreté des gousses en azote pourrait s'expliquer de la façon suivante:

- faible translocation de l'azote fixé vers les gousses par rapport aux organes végétatifs de la plante.

Evans (1982) étudiant la distribution de la matière sèche et de l'azote dans les différentes parties des plantes de 5 variétés de pois chiche (Cicer arietinum) a observé que les nodules, les feuilles et les fruits avaient de fortes concentrations d'azote chez toutes les variétés étudiées mais le pourcentage d'azote des organes végétatifs en général était supérieur à celui des gousses. Nos résultats sont en accord avec ces observations faites chez le pois chiche.

- La période de fixation maximale d'azote atmosphérique chez la variété de haricot Goldie se situerait probablement pendant les phases de croissance végétative et de pleine floraison. En effet ces périodes correspondent à la période de photosynthèse très active et d'apport maximum de photosynthats aux bactéroïdes nodulaires pour la fixation et la réduction de l'azote atmosphérique.

Très peu d'études ont été faites sur l'activité de la nitrogénase chez le haricot; Félix en 1981 a observé que l'activité nitrogénasique est faible en début de végétation chez le haricot au moment où l'activité assimilatrice de l'azote du sol est importante.

Cette activité augmente régulièrement à partir du stade 5 feuilles trifoliées jusqu'au moment de la formation des gousses. On observe ensuite une baisse de l'activité nitrogénasique coïncidant avec la période suivant l'initiation du grossissement des graines. Une nette diminution se produit à partir du stade milieu remplissage des graines. Dorosinski et al. (1979) rapportent que l'activité de la nitrogénase et la fixation d'azote sont maximales chez le pois (Pisum sativum) pendant la phase de formation des gousses.

Ces différentes observations peuvent être transposées à notre expérience et expliquer les faibles quantités d'azote observées dans les gousses comparativement aux parties aériennes des plantes.

Nous remarquons dans cette deuxième expérience des variations dans le comportement fixateur de certaines souches comparé à celui observé dans la première expérience. Ainsi, la souche P84 classée très efficace (T.E) précédemment se révèle non efficace (N.E) dans cette deuxième expérience; ce comportement peut provenir d'une brève période d'activité fixatrice due à la senescence rapide des bactéroïdes ou des tissus nodulaires des plantes; aussi l'activité fixatrice de cette souche se déroulerait pendant la période de croissance végétative de la plante uniquement.

Certaines souches telles que P79 et P134 classées non efficaces (N.E) dans la première expérience et sélectionnées sur cette base pour cette deuxième expérience se révèlent efficaces (E); ce changement de comportement est en accord avec l'hypothèse émise par Erdman et Means (1953) suivant laquelle certaines souches mettent un certain temps pour exprimer leur comportement symbiotique.

La souche ATCC 14482 se classe non efficace (N.E); ce même comportement a été observé au cours de la première expérience. Les hypothèses que nous avons émises à propos de cette souche se trouvent justifiées à moins que les résultats d'autres expériences ne les infirment plus tard.

Toutes les autres souches (P107, P68, P121 et P136) classées efficaces (E) dans la première expérience conservent ce même comportement au cours de cette deuxième expérience; ceci nous permet de suggérer que ces souches pourraient être utilisées pour l'inoculation à grande échelle du haricot si au cours d'expériences ultérieures au champ, elle se révélaient toujours efficaces.

Nous avons étudié l'existence de corrélations possibles entre les différents facteurs de rendement obtenus et susceptibles d'être utilisées dans un programme de sélection de souches de Rhizobium phaseoli pour l'inoculation du haricot.

Nous obtenons une très forte corrélation entre le poids sec des plantes et le poids frais des gousses ($r = 0,94$); le coefficient de détermination est également très élevé ($r^2 = 0,88$). L'équation de régression est la suivante: $\hat{Y} = 7,81X + 0,69$.

La droite de régression figure à l'Annexe K.

Une telle équation permet de prédire le rendement en gousses fraîches connaissant le poids sec des plantes; cependant nous ne pouvons déterminer avec exactitude la période favorable de récolte des plantes car nous n'avons pas obtenu de corrélation entre le poids frais des gousses et le poids sec des plantes après 6 semaines de croissance ($r = 0,49$). Une prochaine expérience est nécessaire pour permettre de définir la période de croissance végétative pendant laquelle le poids sec des plantes peut être utilisé pour une telle prédiction.

Nous obtenons également une forte corrélation entre le poids sec des gousses et leur contenu en azote ($r = 0,88$). L'équation de régression est la suivante: $\hat{Y} = 2,65X + 2,48$.

Cette équation permet de prédire la quantité d'azote des gousses de haricot connaissant leur poids sec. Une telle relation peut être utilisée pour sélectionner des souches de Rhizobium si l'expérience est menée jusqu'à l'obtention de gousses. C'est une opération longue mais qui peut se révéler très efficace; en effet, elle permet:

- d'éliminer les souches possédant une brève activité fixatrice, pouvant profiter à la période de croissance végétative des plantes mais n'ayant aucune incidence sur les gousses

- et de conserver des souches lentes à exprimer leur capacité fixatrice mais pouvant par la suite être très efficaces dans la fixation d'azote en symbiose avec le haricot.

Il existe également une forte corrélation entre le poids sec des plantes et leur contenu en azote ($r = 0,67$); une telle relation a déjà été

obtenue dans la première expérience.

De fortes corrélations existent entre les poids sec et frais des gousses ($r = 0,99$), entre les poids sec des gousses et des plantes ($r = 0,95$).

Evans (1982) a observé une baisse de l'accumulation de la matière sèche dans les organes végétatifs (tiges et feuilles) chez 4 variétés de pois chiche après 120 jours de croissance alors qu'elle se poursuivait toujours dans les gousses. Une telle relation pourrait être étudiée chez le haricot et utilisée pour la sélection de souches puisqu'une très forte corrélation a été obtenue entre ces deux variables ($r = 0,95$); il reste toutefois à déterminer la période de croissance où cette relation peut être observée.

CONCLUSION GENERALE

D'après les résultats de nos expériences, pour sélectionner des souches de Rhizobium phaseoli sur la variété de haricot Goldie, le poids sec des plantes peut être utilisé comme critère de sélection; au bout de 6 semaines de croissance, le poids sec des plantes peut permettre de faire une sélection rapide des souches: le coefficient de corrélation entre le rendement exprimé en poids de matière sèche des plantes (parties aériennes) et l'azote total est de 0,805. Le poids sec des plantes peut aussi être utilisé à une période de croissance qui reste encore à déterminer pour la sélection de souches car il est fortement corrélé avec le rendement en gousses fraîches ($r = 0,94$) et sèches ($r = 0,95$). L'utilisation des deux dernières corrélations comparativement à la première nécessite probablement beaucoup de temps et d'efforts mais a l'avantage de préserver certaines souches efficaces mais lentes à s'exprimer et d'éliminer par contre certaines souches à symbiose fixatrice très brève.

Nous avons observé de grandes variations dans le comportement fixateur de certaines souches d'une expérience à l'autre; certaines souches (P79; P134) ayant manifesté un faible pouvoir fixateur précédemment se sont révélées efficaces dans la deuxième expérience tandis qu'un comportement inverse est observé avec la souche P84.

D'autres souches cependant (P136; P68; P107...) conservent le même comportement au cours des deux expériences. A travers les résultats des deux expériences, nous avons remarqué que:

. L'efficacité symbiotique peut être perdue avec le temps chez certaines souches de Rhizobium; c'est le cas de ATCC 14482 isolée en 1960 pour son efficacité et qui lors des deux expériences s'est montrée inefficace. De fréquents tests devront être faits pour contrôler la persistance du caractère symbiotique chez les souches isolées et conservées en laboratoire.

. Les souches en paires se sont révélées efficaces, la grande majorité donnant des rendements supérieurs aux souches individuelles. Ceci suggère la possibilité d'utiliser un mélange de souches pour l'inoculation du haricot. Toutefois, avant de faire des recommandations sur l'utilisation des souches et mélanges de souches efficaces, des études au champ devront être menées pour mieux connaître leur comportement vis-à-vis des conditions environnementales, leur aptitude à la compétition avec les souches indigènes du sol, leur taux de survie et de multiplication dans le sol.

Burton (1975) et Date (1976) recommandent 2 à 3 étapes dans l'évaluation de la capacité fixatrice des souches de Rhizobium; les souches doivent premièrement être testées sous conditions environnementales contrôlées pour leur efficacité dans la fixation d'azote; celles sélectionnées efficaces, devront être évaluées au champ pour leur habileté à la compétition, leur persistance dans le sol et l'efficacité symbiotique. Finalement, les souches seront évaluées pour leur comportement vis-à-vis d'autres facteurs environnementaux au champ ou en environnements contrôlés.

Toutes ces différentes étapes sont nécessaires si on veut bénéficier des avantages de la symbiose chez les légumineuses en général et le haricot en particulier; car, outre la richesse en protéines, en sels minéraux et en vitamines des graines de haricot, Brakel (1966) a observé que les plantes de haricot inoculées avec des souches efficaces portaient des gousses plus saines.

Le succès de toute inoculation de légumineuses est conditionné par l'emploi de souches de Rhizobium soigneusement sélectionnées.

BIBLIOGRAPHIE

- ALEXANDER, M., 1977
Introduction to soil microbiology. 2nd edition. John Wiley and Sons. New York, Santa Barbara, London, Sydney, Toronto, pp. 467
- ALLEN, O.N. et I.L. BALDWIN, 1939
The effectiveness of Rhizobia as influenced by passage through the host plant. Res. Bull. Wis. Agri. Exper. Stat. 106, 56 pp.
- ALLEN, O.N. et E.K. ALLEN, 1954
Morphogenesis of the leguminous root nodule. Brookhaven Symposia in Biology, 6, 209
- ALLEN, O.N. et I.L. BALDWIN, 1954
Rhizobia-Legumes relationships. Soil Sci. 78, 415
- ALLEN, O.N. et E.K. ALLEN, 1958
Handbuck der Pflazen physiologie (Ruhland, Edit) Springer, Berlin, 48-118
- ANDERSON, G.D., 1975
Bean response to fertilizers in relation to soil and climatic conditions. Est. Afr. Agric. For. J. 39, 272-288

- ANTOUN, H., 1973
Efficacité de diverses souches de Rhizobium meliloti sur la luzerne (Medicago sativa), variété Saranac. Thèse de maîtrise présentée à l'École des gradués de l'Université Laval
- APPLEBY, C.A., 1969
Properties of legheamoglobin in vivo and its isolations as ferrous oxylegheamoglobin. *Bioch. Biophys. Acta.* 188: 222
- AVISSAR, Y.J. et K.D. NADLER, 1978
Stimulation of tetrapyrrole formation in Rhizobium japonicum by restricted aeration. *J. Bacteriol.* 135, 782-789
- BADWAY, F.H., 1965
Ph. D. thesis, University of Wisconsin, Madison
- BAIRD, K.J., 1955
Clover root-nodule in the New England region of New South Wales. *Aust. J. Agri. Res.* 6: 15-26
- BAUER, W.D., 1977
Lectins as determinants in legume Rhizobium symbiosis, pp. 283-287. In genetic engineering for nitrogen fixation. Edited by A. Hollaender, Plenum Press, New York, pp. 538
- BEADLE, N.C.W., 1964
Lin. Soc. New South Wales, 89, 273-286
- BEIJERINCK, M.W., 1888
Bot. Ztg 46, 726-804
- BERGERSEN, F.J., 1969
Nitrogen fixation in legume root nodules. Studies with the soybean system. 9th Int. Cong. Soil Sci. Trans II, pp. 49-63

BERGERSEN, F.J., 1969

Nitrogen fixation in root nodules. Biochemical studies with soybean. Proc. Roy. Soc. ser. B. 172: 401-416

BERGERSEN, E.J., 1971

Biochemistry of symbiotic nitrogen fixation in legumes. Ann. Rev. Plant Physiol. 22: 121-140

BHASKARAN, S. et M.S. SWAMINATHAN, 1958

Polyploidy and the genesis of the leguminous root nodules. Nucleus 1, 75

BIGGINS, D.R., M. KELLY et J.R. POSTGATE, 1971

Resolution of nitrogenase of Mycobacterium flavum 301 into two components and cross reaction with nitrogenase components from other bacteria. Eur. J. Biochem. 20: 140

BOHLOOL, B.B. et E.L. SCHMIDT, 1974

Lectins: a possible basis of specificity in the Rhizobium legume root nodule symbiosis. Science, 185, 269-271

BONNIER, C., 1960

Annales Institut Pasteur. 98, 537-556

BONNIER, C., 1962

Anatomie comparée des nodosités à Rhizobium et des tumeurs d'aspect nodulaire, bactériologiquement stériles des racines de Medicago sativa. Bulletin Institut agronomique. Station de Recherches Gembloux, 30

BONNIER, C., 1962

Relation entre la spécificité et l'efficacité des souches de Rhizobium. Ann. Inst. Pasteur 103, 403

BONNIER, C. et J. BRAKEL, 1969

Lutte biologique contre la faim. Les Presses agronomiques de Gembloux, ASBL. Editions J. Ducolot, S.A. Gembloux

BORDELEAU, L.M., H. ANTOUN et R.A. LACHANCE, 1977

Effets des souches de Rhizobium meliloti et des coupes successives de la luzerne (Medicago sativa) sur la fixation symbiotique d'azote. Can. J. Plant Sci. 57: 433-439

BORDELEAU, L.M. et H. ANTOUN, 1977

Effet de l'inoculation mixte avec des souches de R. meliloti sur le rendement de la luzerne cultivar Saranac. Can. J. Plant Sci. 57: 1071-1075

BORDELEAU, L.M., 1978

L'inoculation de la luzerne: méthodes et effet de la fertilisation azotée. Dans: Compte-rendu du colloque luzerne tenu à Québec les 14 et 15 février 1978, pp. 60-64

BOUSSINGAULT, M., 1835

Annal. Chim. Phys. 2e série, 67, 5-54

BRAKEL, J. et P. MANIL, 1964

Revue de l'agriculture, 17e année, No 4, pp. 465-482

BRAKEL, J. et P. MANIL, 1965

La fixation symbiotique de l'azote chez le haricot (Phaseolus vulgaris L.) Essais de bactérisation par Rhizobium phaseoli. Bulletin Institut Agronomique. Station de recherche. Gembloux, 33, 1. pp. 3-25

BRAKEL, J., 1966

La fixation symbiotique de l'azote chez le haricot (Phaseolus vulgaris L.) Comparaison de l'activité fixatrice de diverses souches de Rhizobium. Bulletin Institut agronomique. Station de recherche de Gembloux 1: 525-533

- BREWIN, N.J., J.E. BERINGER, A.V. BUCHANAN-WOLLASTON, A.W.B. JOHNSTON et P.R. HIRSCH, 1980
J. Gen. Microbiol. 116: 261-270
- BROCKWELL, J., 1980
Experiments with crop and pastures legumes. Principles and practice. Dans: Méthods for evaluating biological nitrogen fixation pp. 418-488. Edited by F. Bergersen. John Wiley and Sons
- BURRIS, R.H., T. L. JONES et D.W. EMERICH, 1977
Nitrogenase systems. Dans: Limitations and potentials for biological nitrogen fixation in the tropics, p. 191-207. Edited by Johanna Döbereiner and all. Plenum Press. New York and London
- BURTON, J.C., 1975
Pragmatic aspects of the Rhizobium leguminous plant association. Dans: Proceedings of the first international symposium on nitrogen fixation. Vol. 2: 429-446. Washington State Univ. Press, Pullman
- BURTON, J.C., 1979
Microbial Technology: Microbial Processes. Academic Press. New-York, San Francisco, London, pp. 21-41
- CARNAHAN, J.E., L.E. MORTENSON, H.F. MOWER et J.E. CASTLE, 1960
Nitrogen fixation in cell free extracts of Clostridium pasteurianum. Biochem. Biophys. Acta 44: 520-535
- CARTWRIGHT, P.M. et D. SNOW, 1962
Ann. Bot. N.S. 26, 251-259
- CHANEY, R.L., J.C. BROWN et L.D. TIFFIN, 1972
Obligatory reduction of ferric chelates in iron uptake by soybeans. Plant Physiol. 50, 202-207

CHEMIAE, G.M. et H.J. EVANS, 1957

On the relation between nitrogen fixation and nodule nitrate reductase of soybean root-nodules. *Biochim. Biophys. Acta* 26: 654-655

CUTTING, J.A. et H.M. SCHULMAN, 1969

The site of heme synthesis in soybean root nodules. *Bioch. Biophys. Acta* 192: 483-486

CUTTING, J.A. et H.M. SCHULMAN, 1971

The biogenesis of leghemoglobin. The determinant in the Rhizobium legume symbiosis for leghemoglobin specificity. *Biochem. Physiol. Acta* 299, 58-62

CUTTING, J.A. et H.M. SCHULMAN, 1972

The control of heme synthesis in soybean root nodules. *Biochem. Biophys. Acta* 261, 321-327

DART, P.J. et F.V. MERCER, 1964

Arch. Mikrobiol. 47, 344-378

DART, P.J., 1977

Infection and development of leguminous nodules. Dans: A treatise on dinitrogen fixation, section III, Hardy R.W.F. et Silver, W.S. ed., John Wiley and Sons, New York, 367-472

DATE, R.A., 1970

Microbiological problems in the inoculation and nodulation of legumes. *Plant and Soil*, 32: 655-673

DATE, R.A., 1975

Principles of Rhizobium strains selection. Dans: Symbiotic nitrogen fixation in plants. Edited by P.S. Nutman, Vol. 7, IBP series, Cambridge University Press, pp. 584

DATE, R.A., 1976

Principles of Rhizobium strain selection. Dans: Symbiotic nitrogen fixation in plants. Edited by P.S. Nutman, Part II: 137-149, IPB series, Cambridge University Press

DAZZO, F.B. et D.H. HUBELL, 1975

Cross reactive nitrogen antigen and lectin as determinants of symbiotic specificity in the Rhizobium clover association. Appl. Microbiol. 30, 1017-1033

DAZZO, F.B., W.E. YANKE et W.J. BRILL, 1978

Trifolin: a Rhizobium recognition protein from white clover. Bioch. Biophys. Acta 539, 276-286

DOMMERGUES, Y. et F. MANGENOT, 1970

Ecologie microbienne du sol. Masson et Cie, 796 pp

DOROSINSKII, L.M., L.M. AFANAS'EVA et A.A. KUTIN, 1979

Nitrogen fixing activity of pea nodule bacteria in different phases of development of host plant. Microbiology, Vol. 48, 3: 387-352

DUNICAN, L.K. et A.B. TIERNY, 1974

Biochem. Biophys. Res. Commun. 57, 62-72

EADY, R.R., 1980

Methods for studying nitrogenase. Dans: Méthods for evaluating biological nitrogen fixation. Section II., pp. 213-264, edited by F.J. Bergersen, John Wiley and Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto

ERMAN, L.W. et M.U. MEANS, 1952

Use of total yield for predicting nitrogen content of inoculated legumes grown in sand cultures. Soil Sci. 73: 231-235

- ERDMAN, W.L. et M.U. MEANS, 1953
Strain variation of Rhizobium meliloti on three varieties of Medicago sativa. Agron. J. 45: 625-629
- EVANS, H.J. et A. NASON, 1953
A pyridine nucleotide nitrate reductase in higher plants. Ann. Rev. Plant physiology 20, 233-254
- EVANS, H.J., 1954
Diphosphopyridine nucleotide-nitrate reductase from soybean nodules. Plant Physiol. 29: 298-301
- EVANS, J., 1982
Symbiosis, nitrogen and dry matter distribution in chickpea (Cicer arietinum). Expl. Agri. 18:339-351
- FELIX, J.F., 1981
Nutrition azotée du haricot (Phaseolus vulgaris L.) Nitrate réductase et nitrogénase. Essai d'amélioration de la symbiose fixatrice d'azote. Thèse de doctorat de 3e cycle en agronomie, U.S.T.L., pp. 91
- FERRY, P., H. BLACHERE et M. OBATON, 1959
Ann. Agro. 2, 219-233
- FIREMAN, M. et C.H. WADLEIGH, 1951
A statistical study of the relation between pH and the exchangeable sodium -percentage of Western soils. Soil Sci. 71: 273-285
- GARRET, R.H. et A. NASON, 1967
Further purification and properties of neurospora nitrate reductase. J. Biol. Chem. 244: 2870-2882
- GIBSON, A.H., 1962
Genetic variation in the effectiveness of nodulation of lucerne varieties. Aust. J. Agric. Res. 13: 388-399

- GIBSON, A.H., 1964
Genetic control of strain-specific ineffective nodulation in
Trifolium subterraneum L. Aust. J. Agric. Res 15: 37-49
- GIBSON, A.H., 1980
Methods for legumes in glasshouses and controlled environment ca-
binets. Dans: Methods for evaluating biological nitrogen fixation.
Edited by F.J. Bergersen. John Wiley and Sons Ltd, Section 11.
Chap. 4, pp. 139-184
- GIBSON, A.H., 1973
The control of dinitrogen assimilation by nodulated legumes.
Dans: Mechanism of regulation of plants growth. Ed. by Bielecki
R.L., A.R. Fergusson et M.M. Cressurell, Bull. 12, The Royal
Society of New-Zealand, 13-22
- GIBSON, A.H. et J.D. PAGAN, 1977
Nitrate effects on the nodulation of legumes inoculated with ni-
trate reductase defficient mutants of Rhizobium. Planta, 134,
17-22
- GIRARD, H. et R. ROUGIEUX, 1967
Techniques de microbiologie agricole. Dunod, pp. 205
- GODFREY, C A., D.R. COVENTRY et M.J. DILWORTH, 1975
Some aspects of legheamoglobin biosynthesis. Dans: Nitrogen fixa-
tion by free-living microorganisms, Stewart, W.D.P. ed, Cambridge
University Press, 311-332
- GRAHAM, P.H. et C.A. PARKER, 1964
Plant soil, 20, 383-395
- GRAY, T.R. et S.T. WILLIAMS, 1975
Soil micro-organisms. Longman. London and New York, pp. 240

- HAMDI, Y.A., 1968
1968a: Acta Microbiol. Pol 17, 277-278
1968b: Arch. Microbiol. 63, 227-231
- HAMDI, Y.A., 1969
Plant soil, 31, 111-121
- HAYDOCK, K.P. et D.O. NORRIS, 1967
Opposed curves for nitrogen percent on dry weight given by
Rhizobium dependent legumes. Aust. J. Sci. 29: 426-427
- HELRIEGEL, H. et H. WILFARTH, 1888
Untersuchungen über die Stickstoffnarkung der Gramineen und
leguminosen. Beilageheft Z. Rubenzucker. Industrie deut. Reichs.
pp. 234
- HIGASHI, S., 1967
J. Gen. Appl. Microbiol. 13, 391-403
- HOAGLAND, D.R. et D.L. ARNON, 1938
The water-culture method for growing plants without soil. Univ.
of California, Agric. Exp. Sta., Berkley, Calif, Circ.347, 39 pp.
- HOLDING, A.J., S.N. TILO et O.N. ALLEN, 1960
Trans. int. congr. Soil Sci. 7th, Vol. 11, p. 608-616
- HOLDING, A.J. et J.F. LOWE, 1971
Some effects of acidity and heavy metals on the Rhizobium-legumi-
nous plant associations. Plant physiol. Special volume 153-166
- HOLLAND, A.A. et C.A. PARKER, 1966
Studies on microbial antagonism in the establishment of clover
pasture II. The effect of saprophytic soil fungi upon R. trifolii
and the growth of subterranean clover. Plant Soil 25, 329-340

- JOSHI, P.K. et J.H. KULKARNI, 1983
Response of groundnut to inoculation with single and mixed Rhizobium strains. Indian J. Agric. Sci. 53(5): 376-378
- KAMPRATH, E.J. et P.D. FOY, 1971
Lime fertilizer plant interactions in acid soil. Dans: Fertilizer technology and use. 2nd edition by R.A. Olson, T.J. Army, J.J. Hanway et W.J. Kilmer. Soil Sci. Soc. Ann. 105-154
- KIJNE, J.W., 1974
The fine structure of pea root nodules physiol. Plant Pathology 5: 75-80
- KREMER, R.J. et H.L. PETERSON, 1983
Field evaluation of selected Rhizobium in an improved legume inoculant. Dans: Agronomy Journal, Vol. 75, pp. 139-143
- LIBBENGA, K.R. et R.J. BOGERS, 1974
Root nodule morphogenesis. Dans: The biology of nitrogen fixation. A. Quispel, ed. North-Holland, Amsterdam, 430-472
- LIE, T.A., 1974
Environmental effect on nodulation and symbiotic nitrogen fixation. Dans: The biology of nitrogen fixation, ed. by A. Quispel, 555-582. North-Holland Company, pp. 769
- LILLICH, T. et G.H. ELKAN, 1968
Role of polygalacturonase in invasion of root hairs of leguminous plants by Rhizobium sp. Bacteria. proc. 3
- LONERAGAN, J.F. et W.L. LOWTHER, 1970
Calcium in the nodulation of legumes. Proceedings of the 11th International Grass lands Congr. surfs. Paradise, Austr. pp. 446-450

- MOY, C.J., J.C. PESK et E. SPALDON, 1973
Mineral nutrition in soybeans: improvement, production and use.
Ed. by B.E. Caldwell, Agronomy 16, 267-352. American Society of
Agronomy
- MULDER, E.G., T.A. LIE, K. DULK et A. HOUVERS, 1966
Effects of pH on symbiotic nitrogen fixation of some leguminous
plants. Dans: Proc. 9th Int. Congr. Microbiology, pp. 133-151
- MULDER, E.G. et S. BROTONEGORD, 1974
Free living heterotrophic nitrogen fixing bacteria, pp. 37-85
Dans: The biology of nitrogen fixation. Ed. by A. Quispel North
Holland Company, pp. 769
- NORRIS, D.O., 1956
Emp. J. Exp. Agric. 24, 247-270
- NORRIS, D.O., 1962
A review of nitrogen in the tropics. Commonw. Bur. Harpenden,
113-129
- NORRIS, D.O. et R.A. DATE, 1976
Legume bacteriology. Dans: Concepts and methods of tropical pas-
ture research. Bull. 32, pp. 134-174. Commonwealth Agricultural
Bureau of Pastures and Field Crops. Farnham: Royal, Eucks, U.K.
- NUTI, M.P., A.A. LEPLDI, R.K. PRAKASH, R.A. SCHILPERDORT et F.C. CANNON,
1979
Nature (London) 282, 533-535
- NUTMAN, P.S., 1963
Symp. Soc. Gen. Microbiol. Nutman, Mosse ed. Cambridge, Univ.
Press, 51-71
- NUTMAN, P.S., 1965
Soil nitrogen (Bartholomew, Clark, ed.), Amer. Soc. Agric. Madison
360-383

OBATON, M., 1974

Légumineuses tropicales: problèmes particuliers posés par la symbiose fixatrice d'azote et l'inoculation des semences. Agric. Trop. 11, pp. 1128-1139

PANKHURST, C.E. et A.H. GIBSON, 1973

Rhizobium strain influence on disruption of clover nodule development at high root temperature. J. Gen. Microbiol. 74: 219-231

POSTGATE, J., 1976

La fixation biologique de l'azote. La Recherche No 66, Vol. 7, pp. 335-347

RAGGIO, M., N. RAGGIO et J.G. TORREY, 1965

Plant Physiology 40, 601-606

RAWSTHORNE, S., F.R. MINCHIN, R.J. SUMMERFIELD, C.C. COOKSON et J. COOMBS, 1980

Carbon and nitrogen metabolism in legume root nodules. Phytochemistry 19, 341-355

RENNIE, R.J. et G.A. KEMP, 1983

N₂-fixation in field beans quantified by ¹⁵N isotope dilution. Effect of strains of Rhizobium phaseoli. Dans: Agronomy Journal 75, 640-644

ROSLYCKY, E.B., 1967

Bacteriocin production in Rhizobia bacteria. Can. J. Microbiol. 431-432

ROUGHLEY, R.J., 1970

The preparation and use of legume seed inoculants. Pl. Soil 32, 675-701

ROUGHLEY, R.J., 1970

The influence of root temperature, Rhizobium strain and host selection on the structure and nitrogen fixing efficiency of root nodules of Trifolium subterraneum. Ann. Bot. 34, 631-646

ROUGHLEY, R.J., 1976

The production of high quality inoculants and their contribution to legume yield. Dans: Symbiotic nitrogen fixation in plants edited by P.S. Nutman, Part II: 125-135. Cambridge University Press .

SCHAEDE, R., 1940

Planta 31, 1-21

SCHMIDT, E.L., 1978

Legume symbiosis: ecology of the legume root nodule bacteria. Dans: Developments in agricultural and management forest. Ecology 4. Elsevier Scientific Publishing Company

SCHWINGHAMER, E.A. et R.P. BELKENGREN, 1968

Inhibition of Rhizobia by a strain of Rhizobium trifolii: some properties of the antibiotic and of the strain. Arch. Mikrobiol. 64: 130-145

SCHWINGHAMER, E.A., H.J. EVANS et M.D. DAWSON, 1970

Evaluation of effectiveness in mutant strains of Rhizobium by acetylene reduction relative to other criteria of N₂ fixation. Plant Soil 33, 192-212

SCHWINGHAMER, E.A., 1971

Antagonism between strains of Rhizobium trifolii in culture. Soil Biol. Biochem. 3: 355-363

SCHWINGHAMER, E.A., 1975

Properties of some bacteriocins produced by Rhizobium trifolii. J. Gen. Microbiol. 91: 403-413

- SHANMUGAN, K.T., F. O'GARA, K. ANDERSON et R.C. VALENTINE, 1978
Biological nitrogen fixation. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 29. 263-276
- SPRENT, J.L., 1969
Prolonged reduction of acetylene by detached soybeans nodules. *Planta (Berl)* 88, 372-375
- SPRENT, J.L., 1972
The effects of water stress on nitrogen fixing root nodules. Effectson the physiology of detached soybean nodules. *New Phytol.* 70-79
- STEINGERG, R.A., 1938
J. Agric. Res. 57, 461-476
- STEWART, W.P.D., 1966
Nitrogen fixation in plants. Athlone Press, London
- STRIJDOM, B.W., 1963
Ph. D. thesis, University of Wisconsin, Madison
- TANNER, J.W. et I.C. ANDERSON, 1964
External effects of combined nitrogen on nodulation. *Plant Physiology*, 39, 1039-1043
- TRUCHET, G., 1978
Sur l'état diploïde des cellules du méristème des nodules racinaires des légumineuses. *Ann. Sc. Nat., Bot. Biol. Veg.* 19, 3-38
- VAN SCHREVEN, 1959
Plant Soil 11, 93-112
- VERMA, D.P.S., 1982
Revue Science et technologie, Avril-mai, Vol. 1, No 2

VINCENT, J.M., 1954

The root-nodule bacteria as factors in clover establishment in the red basaltic soils of the Lismore district, New South Wales I. A survey of "Native" strains. Aust. J. Agric. Res. 5:55-60

VINCENT, J.M., 1965

Environmental factors in the fixation of nitrogen by the legume. Dans: W.V. Bartholomew, P.E., Clark (eds). Soil Nitrogen 324-435. American Society of Agronomy, Madison, Wisc.

VINCENT, J.M., 1966

Rhizobium Newsletter 11, 15-24

VINCENT, J.M., 1970

A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. IBP Handbook No 15, Blackwell Scientific Publications. Oxford, Edinburg, 164 pp.

VINCENT, J.M., 1974

Root nodule symbioses with Rhizobium. Dans: The biology of nitrogen fixation. A. Quispel Editor Ann. Elsevier, New York, pp. 265-341

WAKSMAN, S.A., 1952

Soil Microbiology. Wiley and Sons, New York

WIPF, L. et D.C. COOPER, 1938

Chromosome number in nodules and roots of red clover, common vetch and garden peas. Proc. Nat. Acad. Sci. 24, 87

WIPF, L., 1939

Chromosome number in root nodules and root tips of certain leguminosae. The botanical gazette 101 (1), 51

ZURKOWSKI, W. et Z. LORKIEWICZ, 1979

Arch. Microbiol. 123, 195-201

ANNEXES

ANNEXE A. Composition des solutions de base servant à la préparation des solutions nutritives pour les plantes

Solutions	Produits	g/litre d'eau distillée pour solution de base	Volume de solution de base par litre de solution nutritive
Eléments en trace de Hoagland*	Acide borique (H_3BO_3)	2,86	
	$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	1,81	
	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0,22	1 mL
	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0,08	
	$H_2MoO_4 \cdot H_2O$ (85% MoO_3)	0,09	
	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0,004	
1M $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	246,48	2 mL
1M K_2HPO_4	K_2HPO_4	174,18	1 mL
1M KH_2PO_4	KH_2PO_4	136,09	1 mL
1M $CaCl_2 \cdot 2H_2O$	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	147,00	1 mL
0,5% citrate de fer	Citrate de fer	5,00	1 mL
1M KNO_3	KNO_3	108,33	2 mL

* Hoagland et Arnon (1938)

ANNEXE B. Milieux pour culture de Rhizobium

1. Milieu gélosé

Mannitol	10,0 g
NaCl	0,1 g
K_2HPO_4	0,5 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,2 g
$CaSO_4 \cdot 2H_2O$	0,2 g
Extrait de levure (Difco)	0,2 g
Solution d'éléments en trace de Hsagland	1 mL
(Annexe A)	

Compléter à 1 litre avec de l'eau distillée

- Ajuster le pH à 6,8 - 7,0 en utilisant HCl 0,1 N ou NaOH 0,1 N
- Chauffer (sans bouillir) et ajouter 15 g d'agar
- Bien mélanger et distribuer dans des tubes (10 mL) ou dans des bouteilles (100 mL)
- Stériliser à l'autoclave durant 15 minutes à 121°C et une pression de 101 kPa
- Il est préférable d'utiliser ce mélange directement pour éviter le chauffage consécutif. Si ce milieu n'est pas utilisé immédiatement après sa préparation, laisser refroidir et conserver dans une chambre froide ou dans un réfrigérateur à 4°C.

Pour réutiliser le milieu, on le fait fondre dans un bain d'eau chaude. Ce milieu reste liquide dans un bain dont la température de l'eau est maintenue entre 45 et 50°C.

2. Milieu liquide *

Mannitol	10,0 g
NaCl	0,1 g
K_2HPO_4	0,5 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,2 g
Extrait de levure (Difco)	1,0 g

* Vincent (1970)

- Compléter à un litre avec de l'eau distillée
- Ajuster le pH à 6,8 - 7,0 en utilisant du HCl 0,1 N ou du NaOH 0,1 N

Annexe C. Plan expérimental (première expérience)

A

P106	P98	P79	P131	P15	P102	P81	P126	T	P67	P108	P83	P99	P68
P4	P91	P105	P66	P116	P84	P100	P77	P36	T	T	P82	ATCC 14482	P133
P132	P118	P117	RCR 3610	P122	P134	P136	P31	T	P114	P80	P129	P75	P73
P90	P87	P125	P78-1	P89	P104	P107	P128	P29-1	P113	P135	P88	P74	P29-2
P6	P130	P5	P119	P86	P85	T	P121	P76	P35	P103	P1	P115	P78-2

B

T	P29-2	P134	P136	P1	P125	P130	P90	P75	P99	P121	P100	P106	P78-2
T	P135	P83	P15	P85	P79	P82	P98	P132	P6	P107	P103	P5	T
P78-1	P76	P128	P113	P108	P89	P31	RCR 3610	P104	P86	P131	P73	T	P133
P105	T	P91	P77	P81	P84	P118	P115	P122	P114	P129	P74	P117	P36
P35	P68	P88	ATCC 14482	P29-1	P102	P119	P116	P126	P87	P80	P67	P66	P4

C

P67	P66	P134	P75	P78-1	P36	P136	P29-1	P128	P108	P103	P6	P133	P79
P122	P125	P132	P135	P115	P104	P84	P15	P82	P83	P35	P117	T	P29-2
P4	P85	P114	P76	P77	P121	T	P119	P129	T	P86	P98	P5	P106
P130	P105	P1	P78-2	P126	P89	P118	P88	P31	P107	P81	P87	P91	P90
T	P131	T	P113	P68	P100	P116	RCR 3610	P73	ATCC 14482	P80	P102	P74	P99

D

P131	P66	P15	P75	P73	T	P102	P29-2	P118	T	T	P114	P78-1	P81
P1	P89	P85	P35	P126	P135	P90	P6	P67	P100	P78-2	P115	RCR 3610	P105
P86	P88	P79	P106	P117	P77	P36	P121	P98	P74	P29-1	P130	P129	P128
P108	T	P113	P4	P125	P84	P83	P91	P76	ATCC 14482	P103	P119	P132	P99
P82	P80	P134	P107	P87	P116	P68	P133	P31	T	P136	P5	P122	P104

T: témoin non inoculé; les autres légendes représentent les souches

Annexe D: Plan expérimental (deuxième expérience)

A

P107 P68	P107 P121	P84	P79	T	T	P136 P68	T	P68 P121
P107 P84	P134	P84 P121	P136 P84	P84 P68	P121	T	P107 P136	
ATCC 14482	P136 P121	P68	P107	T	P136	T	P131	G

C

T	P84 P68	P84	ATCC 14482	P136	T	P107 P121	P68 P121	P131
P68	P79	P107 P68	P136 P121	P136 P84	P107 P84	P107 P136	P136 P68	P107
P134	T	T	P84 P121	G	T	P121	T	

B

T	T	P136 P84	P136 P68	P68 P121	P84	P107 P121	P107 P136	P107 P68
T	P84 P121	P79	T	P107	T	P68	P107 P84	ATCC 14482
P136 P121	P136	P134	G	T	P121	P131	P84 P68	

D

P134	ATCC 14482	T	P68	P131	P107 P68	P107 P121	P84	T
P107 P136	P136 P84	G	P107 P84	P84 P121	P107	P68 P121	T	T
P136 P121	P136 P68	P136	P84 P68	T	P79	T	P121	

E

T	P136 P84	P68	P84	ATCC 14482	P107 P136	P107 P84	T	P107
G	T	P131	P107 P68	P79	T	P68 P121	P136 P121	P136 P68
P134	P84 P68	T	P121	P84 P121	P136	T	P107 P121	

G: souche Goldie; T: témoin non inoculé; les autres légendes représentent les noms des souches

Annexe E. Poids sec, pourcentage d'azote et poids d'azote total (première expérience)

Souches	Poids sec, g				% N total				Poids N total, g			
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4
P1	2,14	2,05	1,78	1,57	3,33	3,67	3,67	3,73	7,13	7,52	6,53	5,86
P4	1,49	1,89	1,79	2,01	3,50	3,33	3,10	3,33	5,22	6,29	5,55	6,69
P5	2,14	1,82	1,88	2,15	3,67	3,67	3,70	3,63	7,85	6,68	5,96	7,80
P6	2,24	1,84	2,04	1,98	3,67	3,83	3,53	3,43	8,22	7,05	7,20	6,79
P15	2,09	2,14	1,90	1,91	4,00	3,83	3,93	3,77	8,36	8,20	7,47	7,20
P29-1	2,02	1,97	2,20	2,19	3,83	3,83	3,93	3,80	7,74	7,55	8,65	8,32
P29-2	1,98	1,65	1,95	2,07	3,50	3,83	3,50	3,47	6,93	6,32	6,83	7,18
P31	2,33	2,13	1,98	2,12	3,33	3,33	3,53	3,47	7,76	7,09	6,99	7,36
P35	2,07	1,92	1,77	1,46	1,83	3,00	3,57	3,57	3,79	5,76	6,32	5,21
P36	2,13	1,91	2,25	1,99	3,50	3,43	3,50	3,70	7,46	6,55	7,88	7,36
P66	2,39	2,22	2,01	2,00	3,83	3,40	3,93	3,67	9,15	7,55	7,90	7,34
P67	2,25	1,83	1,63	2,27	3,50	3,47	2,93	3,33	7,88	6,35	4,78	7,56
P68	2,08	2,13	2,45	2,23	3,83	3,67	3,73	3,83	7,97	7,82	9,14	8,54
P73	1,85	2,17	2,27	2,03	3,67	3,50	3,80	3,67	6,79	7,60	8,63	7,45
P74	1,96	2,20	1,84	2,19	3,50	3,33	3,50	3,47	6,86	7,33	6,44	7,60
P75	2,10	2,02	1,86	1,96	3,50	3,53	3,97	3,63	7,35	7,13	7,38	7,11
P76	2,09	1,85	2,07	2,07	3,50	3,40	3,33	3,27	7,32	6,29	6,89	6,77
P77	2,30	1,83	2,06	2,05	3,67	3,50	3,77	3,40	8,44	6,41	7,77	6,97
P78-1	2,32	2,19	2,35	1,93	3,50	2,90	3,33	3,60	8,12	6,35	7,81	6,95
P78-2	1,92	1,97	2,19	1,60	3,83	3,73	3,80	3,83	7,35	7,35	8,32	6,13
P79	1,69	1,48	1,64	1,42	3,50	2,30	3,50	2,93	5,92	3,40	5,74	4,16
P80	1,97	2,08	2,10	2,06	3,67	3,60	3,50	3,80	7,23	7,49	7,35	7,83
P81	1,94	1,96	2,17	2,13	4,17	3,70	3,60	3,50	8,09	7,25	7,81	7,46
P82	1,74	1,91	2,07	1,90	3,67	3,60	3,90	3,43	6,39	6,88	8,07	6,52

Annexe E (suite)

P84	2,19	1,91	2,54	2,28	3,67	3,37	3,20	3,43	8,04	6,44	8,13	7,82
P85	2,23	1,85	2,06	1,83	3,83	3,77	3,50	3,87	8,54	6,97	7,21	7,08
P86	2,41	1,93	2,35	1,88	3,67	3,57	3,50	3,77	8,84	6,89	8,23	7,09
P87	2,06	1,85	1,90	1,57	3,83	3,40	3,57	3,70	7,89	6,29	6,78	5,81
P88	1,63	2,05	2,14	2,19	4,17	3,57	3,63	3,43	6,80	7,32	7,77	7,51
P89	1,85	1,97	1,72	1,86	4,23	3,80	3,37	3,77	7,99	7,49	5,80	7,01
P90	2,06	1,95	1,89	2,12	3,50	3,57	3,87	3,60	7,21	6,96	7,31	7,63
P91	1,90	2,21	1,98	2,09	4,00	3,47	3,63	3,53	7,60	7,67	7,19	7,38
P98	2,07	2,07	2,16	2,15	3,50	3,17	3,30	3,23	7,25	6,56	7,13	6,94
P99	2,09	1,91	1,99	1,96	3,50	3,43	3,37	3,37	7,32	6,55	6,71	6,61
P100	2,07	2,19	1,70	2,25	3,83	3,77	3,63	3,70	7,93	8,26	6,17	8,33
P102	2,08	1,94	2,07	1,86	4,33	3,70	3,83	3,43	9,01	7,18	7,93	6,38
P103	1,85	2,04	2,15	1,80	3,83	3,23	3,60	3,87	7,09	6,59	7,74	6,97
P104	2,12	1,74	2,11	2,01	4,00	3,53	3,90	3,80	8,48	6,14	8,23	7,64
P105	2,11	2,16	2,13	2,21	3,67	3,47	3,43	3,27	7,74	7,50	7,31	7,23
P106	1,75	2,06	1,78	2,08	3,83	3,67	3,90	3,67	6,70	7,56	6,59	7,63
P107	2,14	2,09	2,50	2,21	3,67	3,33	3,40	3,47	7,85	6,96	8,50	7,67
P108	2,10	2,12	2,18	2,00	3,67	3,57	3,93	3,37	7,71	7,57	8,57	6,74
P113	1,69	2,05	2,18	2,04	4,00	3,80	3,67	3,80	6,76	7,79	8,00	7,75
P114	2,09	2,01	2,32	2,25	3,50	3,37	3,73	3,60	7,32	6,77	8,65	8,10
P115	2,35	1,82	2,31	2,06	3,67	3,50	3,87	4,77	8,62	6,37	8,94	7,77
P116	2,13	1,53	2,14	2,24	3,83	3,83	3,83	3,83	8,16	5,86	8,20	8,58
P117	2,37	2,07	2,17	2,20	3,67	3,47	3,67	3,37	8,70	7,18	7,96	7,41
P118	1,90	1,84	2,32	2,11	4,00	3,57	3,37	3,37	7,60	6,57	7,82	7,11
P119	1,84	1,56	1,78	2,01	3,50	3,50	3,73	3,63	6,44	5,46	6,64	7,30
P121	2,21	2,13	2,36	2,18	3,67	3,43	3,67	3,37	8,11	7,31	8,66	7,35
P122	2,41	2,02	1,76	2,00	3,50	3,33	3,57	3,43	8,44	6,73	6,28	6,86
P125	2,63	1,96	2,02	2,20	3,50	3,87	4,07	3,57	9,21	7,59	8,22	7,85
P126	2,05	2,13	2,52	1,95	3,67	3,27	3,73	3,47	7,52	6,97	8,40	6,77

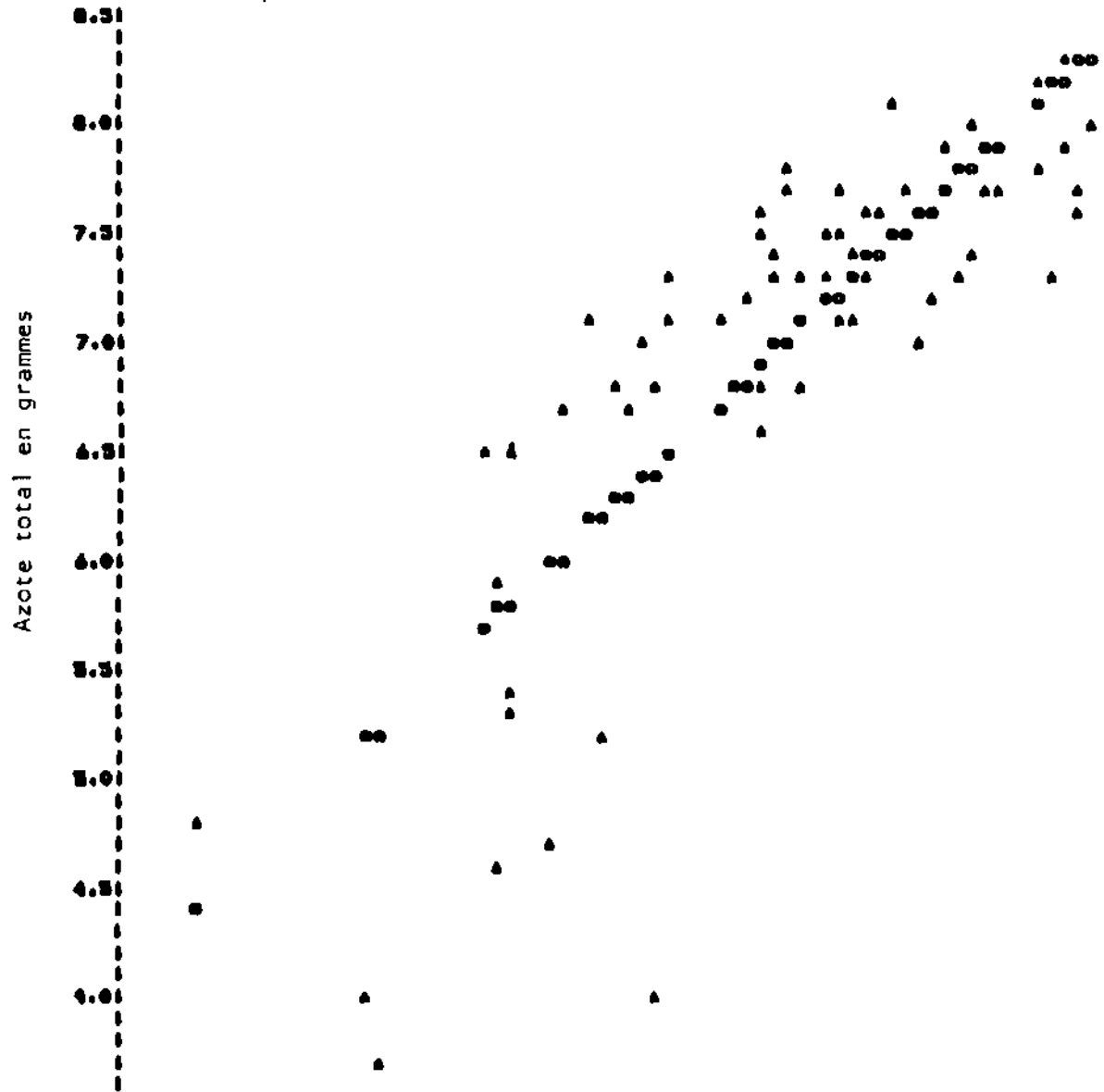
Annexe E (suite)

P129	2,06	1,93	2,30	1,98	3,67	3,53	3,93	3,47	7,56	6,81	9,04	6,87
P128	2,28	1,99	2,03	2,17	3,33	3,53	3,50	3,27	7,59	7,02	7,11	7,10
P130	2,31	1,96	1,98	2,01	3,33	3,37	3,43	3,70	7,69	6,61	6,79	7,44
P131	1,55	1,83	2,12	2,05	4,00	3,47	3,37	3,37	6,20	6,35	7,14	6,91
P132	1,35	1,70	2,25	1,85	2,83	2,90	2,27	2,37	3,82	4,93	5,11	4,38
P133	2,00	1,92	2,03	1,95	3,33	3,60	3,43	3,47	6,66	6,91	6,96	6,77
P134	1,79	1,76	1,91	1,66	3,83	3,77	3,37	3,67	6,86	6,64	6,44	6,09
P135	2,15	2,09	1,92	2,14	3,50	3,53	3,57	3,53	7,53	7,38	6,85	7,55
P136	2,25	2,20	2,14	2,37	3,83	3,57	3,60	3,37	8,62	7,85	7,70	7,99
P83	2,04	2,24	1,94	2,39	3,50	3,43	3,47	3,30	7,14	7,68	6,73	7,89
ATCC14482	1,85	1,74	2,16	1,90	2,67	2,63	0,43	3,00	4,94	4,58	0,93	5,70
RCC3610	1,90	1,34	1,74	1,83	1,33	2,73	1,40	3,43	2,53	3,66	2,44	6,28
TémoIn 1	1,49	1,88	2,03	1,82	0,67	3,83	3,53	3,40	1,00	7,20	7,17	6,19
TémoIn 2	1,62	1,78	2,09	1,72	2,50	3,60	3,20	3,47	4,05	6,41	6,69	5,97
TémoIn 3	1,98	1,98	1,51	1,84	1,33	2,13	3,50	3,57	2,63	4,22	5,29	6,57
TémoIn 4	2,13	1,80	1,78	1,77	1,33	3,57	3,57	3,00	2,83	6,43	6,35	5,31
TémoIn 5	1,74	2,25	1,47	1,32	1,50	2,17	3,43	2,67	2,61	4,88	5,04	3,52

Annexe F: Régression du contenu en azote avec le rendement total (première expérience)

*: y observé

o: y calculé en fonction de x



ANNEXE G. Poids frais des gousses exprimés en grammes (deuxième expérience)

Souches	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Rep. 5
P79	21,77	18,15	31,51	34,27	34,28
P134	37,91	29,43	20,40	28,18	29,93
P131	32,20	37,43	32,78	28,92	37,20
ATCC 14482	31,85	24,33	24,33	28,65	29,91
P107	35,56	42,43	28,61	35,82	38,00
P136	40,16	30,48	37,71	43,57	36,54
P84	15,55	14,82	21,07	36,57	34,77
P68	42,38	33,36	26,20	38,05	36,01
P121	36,83	33,76	35,18	30,67	37,30
Goldie	22,34	7,74	11,27	38,78	30,12
P107+P136	33,64	36,59	32,05	42,36	39,18
P107+P84	41,52	29,94	35,70	44,64	32,67
P107+P68	43,14	35,71	33,34	36,23	35,43
P107+P121	39,39	37,90	36,56	38,56	32,58
P136+P84	31,21	33,46	31,69	36,65	24,85
P136+P68	38,22	40,21	35,97	39,04	34,43
P136+P121	43,25	37,11	34,06	39,54	36,01
P85+P68	39,03	30,01	26,78	36,38	38,78
P84+P121	38,94	34,18	37,40	40,73	42,45
P68+P121	25,32	33,98	26,62	44,10	31,53
Témoïn 1	17,75	8,17	12,26	7,55	12,06
Témoïn 2	15,20	12,65	20,93	17,72	12,08

ANNEXE H. Poids sec, pourcentage d'azote et poids de l'azote total des gousses de haricot (deuxième expérience)

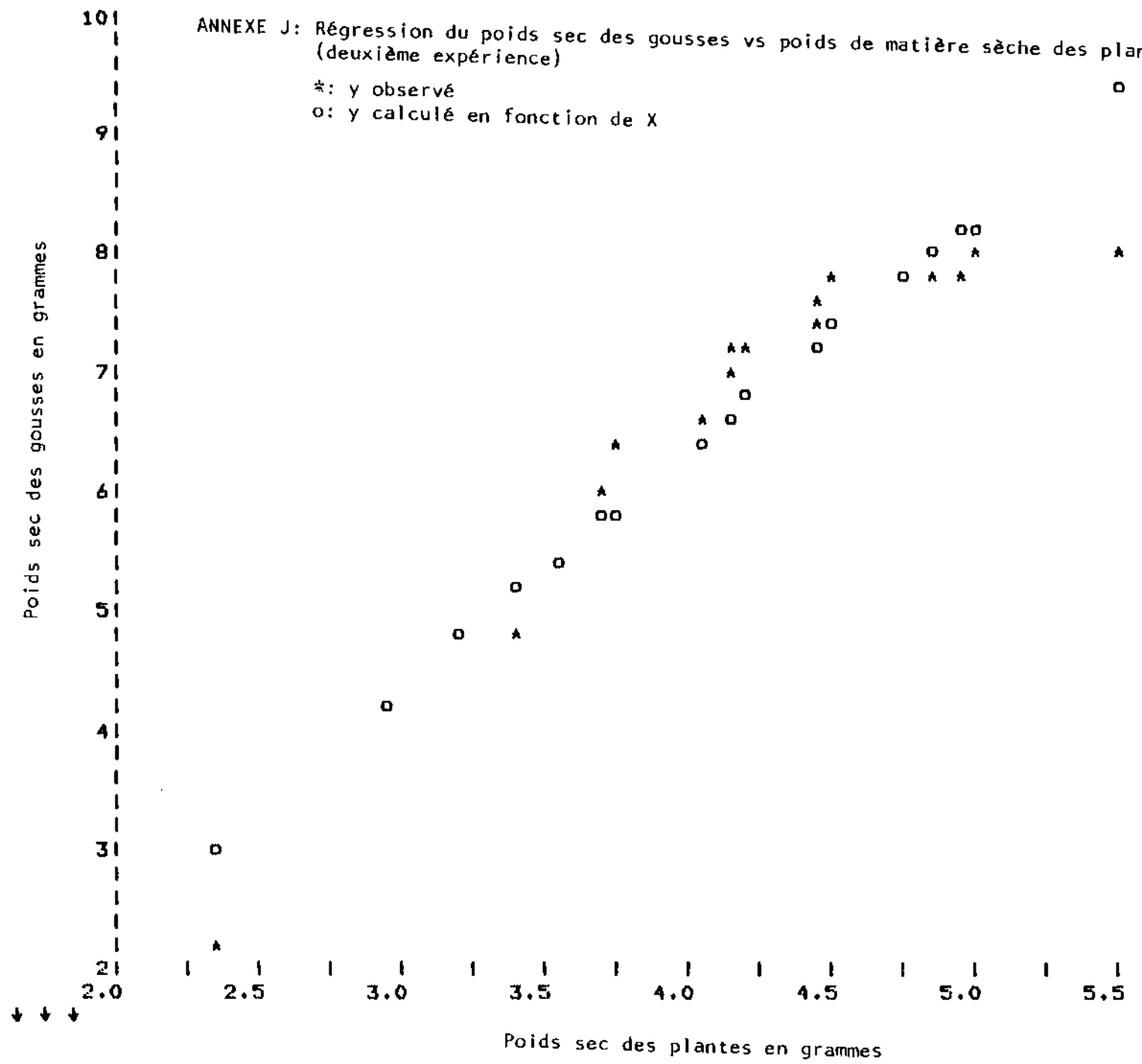
Souches	Poids sec, g					% N total					Poids N total, g				
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Rep. 5	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Rep. 5	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Rep. 5
P79	3,26	3,94	4,91	5,63	7,92	12,00	2,93	2,99	2,93	2,93	39,12	11,54	14,38	16,49	23,20
P134	6,26	5,96	2,90	4,45	6,95	2,88	3,04	5,33	5,81	2,93	18,03	18,12	15,46	25,85	20,36
P131	6,23	8,71	7,57	5,05	8,06	2,77	2,67	3,04	3,09	5,65	17,26	23,25	23,01	15,60	45,54
ATCC14482	4,80	5,18	4,48	4,54	5,36	2,56	2,45	2,35	2,50	2,61	12,29	12,69	10,53	11,35	13,99
P107	6,17	7,18	5,48	3,99	8,86	2,83	3,09	3,04	2,93	2,77	17,46	22,19	16,66	11,69	24,54
P136	8,04	7,19	7,89	7,89	8,29	2,67	2,72	2,77	5,67	2,88	21,47	19,56	21,85	44,73	23,87
P84	2,38	2,17	3,30	7,78	7,95	2,35	2,45	2,35	2,83	2,67	5,59	5,31	7,75	22,02	21,23
P68	8,49	5,93	4,55	9,09	7,87	2,88	2,88	3,04	2,83	2,72	24,45	17,08	13,83	25,72	21,41
P121	7,43	4,79	8,71	5,63	6,85	2,93	2,93	2,77	2,72	2,83	21,77	14,03	24,13	15,31	19,38
Goldie	3,34	1,17	1,14	6,60	8,33	3,20	3,25	8,00	2,88	2,77	10,69	3,80	9,12	19,01	23,07
P107+P136	8,79	7,27	6,64	8,17	8,20	2,72	2,77	2,83	2,77	2,83	23,90	20,14	18,79	22,63	23,21
P107+P84	7,61	5,52	7,24	9,30	7,81	2,77	2,93	2,99	2,93	2,77	21,08	16,17	21,64	27,25	21,63
P107+P68	7,09	5,62	8,01	7,79	7,68	2,88	2,77	2,88	3,09	2,72	20,42	15,57	23,07	24,07	20,89
P107+P121	7,76	8,29	9,66	5,56	7,80	2,93	2,67	2,93	2,93	2,83	22,74	22,13	28,30	16,29	22,07
P136+P84	5,54	7,28	5,98	6,05	5,37	3,04	5,67	2,88	2,77	2,72	16,84	41,27	17,22	16,76	14,61
P136+P68	7,78	7,64	7,83	8,16	7,74	2,88	2,72	2,72	2,99	2,93	22,41	20,78	21,30	24,40	22,68
P136+P121	8,05	8,45	8,11	7,77	8,05	2,88	2,77	2,77	2,77	2,72	23,18	23,41	22,46	21,52	21,90
P84+P68	8,55	7,43	4,84	6,89	9,00	2,99	2,77	6,33	3,04	2,72	25,56	20,58	30,64	20,94	24,48
P84+P121	6,30	8,31	8,27	8,29	8,35	2,88	2,82	2,83	2,61	2,72	18,14	23,43	23,40	21,64	22,71
P68+P121	4,58	7,20	6,47	8,53	8,36	3,04	2,72	2,93	2,83	2,83	13,92	19,58	18,95	24,14	23,66
Témoin 1	3,02	1,24	1,86	0,82	1,66	3,04	2,45	5,60	2,24	3,04	9,18	3,04	10,42	1,84	5,05
Témoin 2	2,52	1,63	4,20	2,39	1,71	5,33	2,72	2,77	2,93	2,08	13,43	4,43	11,63	7,00	3,56

ANNEXE 1. Poids sec, pourcentage d'azote et poids d'azote total des plantes de haricot (deuxième expérience)

Souches	Poids sec, g					% N total					Poids N total, g				
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Rep. 5	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Rep. 5	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Rep. 5
P79	2,91	2,25	3,33	5,72	3,59	5,33	5,33	14,00	5,00	5,33	15,51	11,99	46,62	28,60	19,13
P134	4,36	4,46	5,08	6,10	4,88	6,00	6,67	7,67	3,73	6,33	26,16	29,75	38,96	22,75	30,89
P131	4,94	4,10	2,88	8,20	4,05	6,00	6,00	5,33	5,67	5,33	29,64	24,60	15,35	46,49	21,59
ATCC14482	3,76	2,26	2,83	2,82	2,98	4,33	4,67	4,67	4,33	4,00	16,28	10,55	13,22	12,21	11,92
P107	6,21	5,03	5,72	3,93	3,77	11,33	6,00	5,67	5,67	11,33	70,36	30,18	32,43	22,28	42,71
P136	3,48	3,34	4,21	5,66	4,15	6,67	5,00	5,33	5,33	5,33	23,21	16,70	22,49	30,17	22,12
P84	3,01	1,85	3,37	3,88	4,94	3,33	30,33	3,33	4,67	5,33	10,02	56,11	11,22	18,12	26,33
P68	4,43	3,35	6,02	4,30	5,53	5,67	6,67	6,00	6,00	26,67	25,12	22,34	36,12	25,80	147,48
P121	5,04	6,66	3,80	6,77	5,33	21,00	5,67	4,00	2,45	16,00	105,84	37,76	15,20	16,59	85,28
Goldie	6,36	1,35	1,30	4,01	2,94	6,00	5,30	2,66	6,33	5,33	38,16	7,15	3,46	25,38	15,67
P107+P136	3,38	3,64	4,04	3,90	3,81	19,00	25,33	5,33	6,00	5,67	64,22	92,20	21,53	23,40	21,60
P107+P84	3,62	5,00	4,19	4,65	3,30	6,00	5,67	5,67	3,25	4,66	21,72	28,35	23,75	15,11	15,38
P107+P68	4,05	3,34	3,41	3,59	4,18	6,33	6,33	5,67	6,33	5,00	25,64	21,14	19,33	22,72	20,90
P107+P121	3,84	4,10	3,68	6,98	3,89	6,00	5,67	4,33	30,00	5,33	23,04	23,25	15,93	20,94	20,70
P136+P84	3,01	2,87	2,70	3,37	4,93	5,67	4,67	5,67	4,67	4,33	17,07	13,40	15,31	15,74	21,35
P136+P68	4,04	3,90	3,60	4,76	4,46	5,00	7,00	6,33	6,67	6,00	20,20	27,30	22,79	31,75	26,76
P136+P121	4,17	3,36	4,35	4,02	4,42	4,67	5,67	5,67	6,33	4,33	19,47	19,05	24,66	25,45	19,14
P84+P68	4,12	2,66	4,27	6,12	3,94	6,68	11,00	8,33	6,33	5,00	27,44	29,26	35,57	38,74	19,70
P84+P121	5,75	3,35	4,11	3,99	5,11	6,33	6,00	4,67	6,00	5,33	36,40	20,10	19,19	23,94	27,24
P68+P121	6,57	3,50	5,42	3,70	3,13	6,00	6,66	6,33	6,33	6,67	39,42	23,34	34,31	23,42	20,87
Témoin 1	2,45	4,15	1,93	1,81	1,88	5,00	7,67	10,00	3,00	5,00	12,25	31,79	19,30	5,43	9,40
Témoin 2	1,70	1,84	2,74	2,32	2,46	4,33	9,67	3,33	5,00	3,67	7,36	17,79	9,12	11,60	9,03

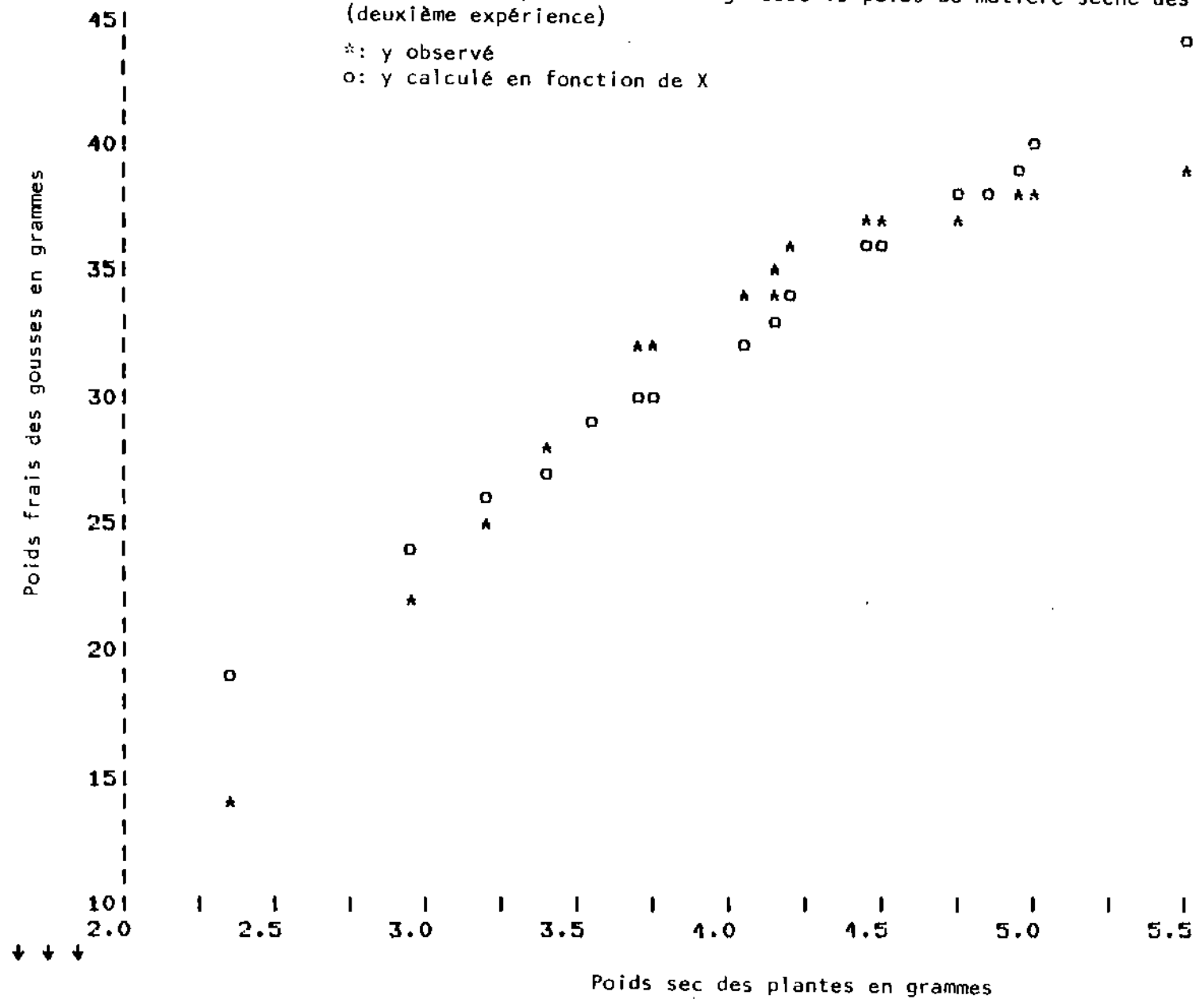
ANNEXE J: Régression du poids sec des gousses vs poids de matière sèche des plantes
(deuxième expérience)

*: y observé
o: y calculé en fonction de X



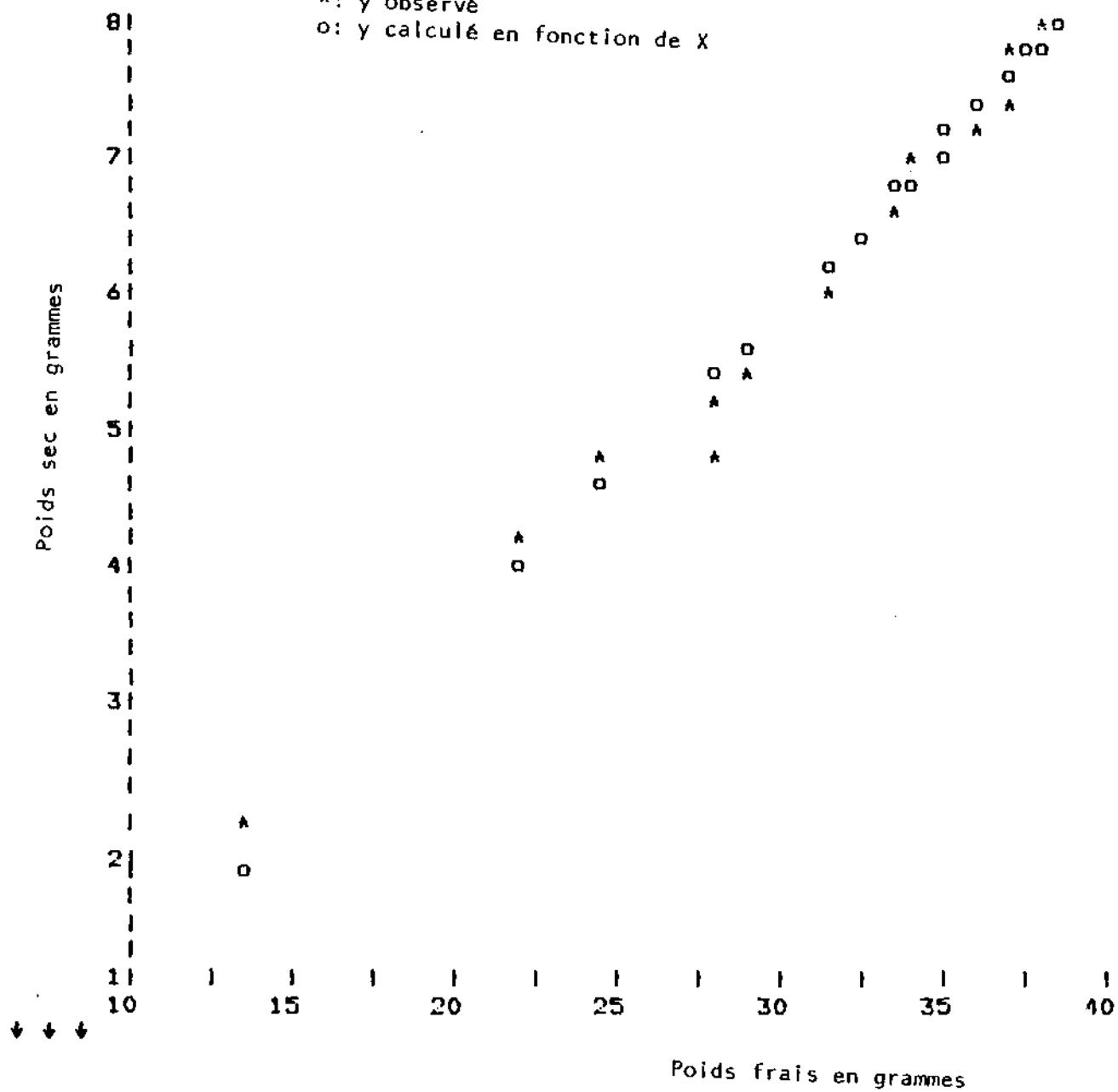
ANNEXE K. Régression du poids frais des gousses vs poids de matière sèche des plantes
(deuxième expérience)

*: y observé
o: y calculé en fonction de X



ANNEXE L: Régression du poids sec vs poids frais des gousses (deuxième expérience)

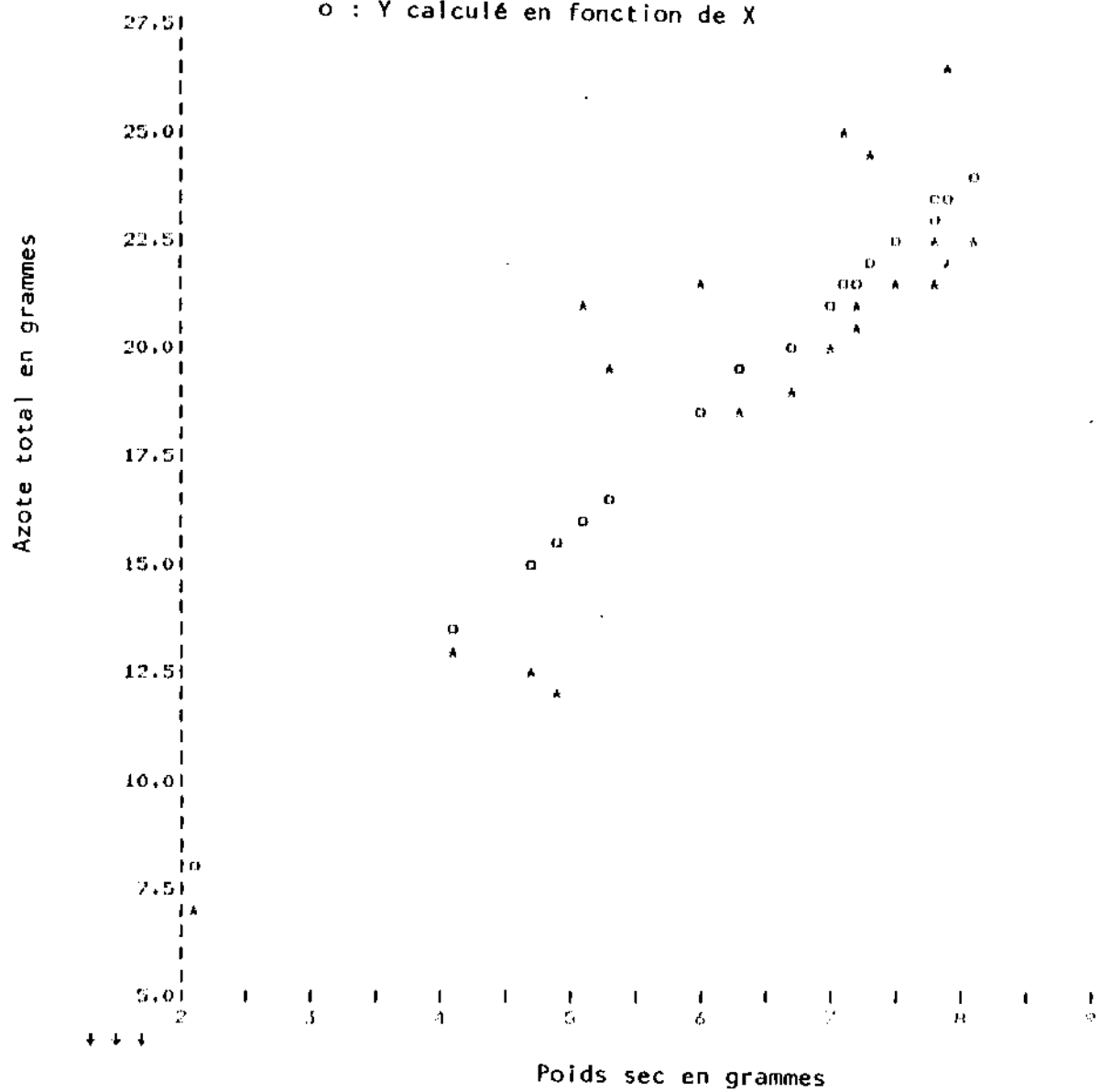
*: y observé
 o: y calculé en fonction de X



ANNEXE M. Régression du contenu en azote vs poids sec des gousses (deuxième expérience)

* : Y observé

o : Y calculé en fonction de X



ANNEXE N. Régression du contenu en azote vs poids sec des plantes (deuxième expérience)

* : Y observé

o : Y calculé en fonction de X

