

## Caractérisation phénotypique et symbiotique de souches de *Mesorhizobium* spp. nodulant *Acacia seyal* Del.

## Phenotypical and symbiotic characterization of *Mesorhizobium* spp. strains nodulating *Acacia seyal* Del.

Diouf D.<sup>1,2\*</sup>, Ndoye I.<sup>3</sup>, Fall D.<sup>1,2</sup>, Kane A.<sup>1,2</sup>, BaA.T<sup>1</sup>, Neyra M.<sup>4</sup>

### Résumé :

*Acacia seyal* est une espèce hautement fixatrice d'azote. Cependant, peu de connaissances sont acquises sur la diversité phénotypique des rhizobia qui lui sont associés. Or, la survie et les qualités d'adaptation et de compétition des souches introduites peuvent être déterminantes dans la réponse des plantes à l'inoculation au champ. Des études de caractérisation phénotypique de 8 souches de *Mesorhizobium* spp. associées à *A. seyal* ont montré une grande diversité de leurs caractéristiques physiologiques et biochimiques. De plus, cette étude révèle une importante capacité d'adaptation des souches testées à divers stress. Le pouvoir symbiotique des souches a été étudié en serre dans des pots contenant du sol sableux non désinfecté. L'étude a montré que toutes les souches sont capables de noduler et d'améliorer la croissance des plants d'*A. seyal*. Cette étude est une contribution au développement de pratiques culturales et sylvicoles innovantes, en vue d'une meilleure utilisation du potentiel offert par les génotypes végétaux et leurs auxiliaires microbiens.

### Mots clefs :

*Acacia seyal* - caractérisation phénotypique - pouvoir symbiotique - *Mesorhizobium* spp.

### Abstract :

*Acacia seyal* is a highly nitrogen fixing species. However, little knowledge is acquired on phenotypical diversity of associated rhizobia. But, survival, adaptation and competition of introduced strains can be decisive in the response of plants to inoculation in field. Phenotypical characterization studies of 8 *Mesorhizobium* spp. strains associated to *A. seyal* showed their large diversity regarding their physiological and biochemical traits. Hence, our results showed the great capacity of adaptation of the strains to various stresses tested. The symbiotic capacity of the strains was studied in greenhouse conditions in pots containing non sterile sandy soil. The study showed that both strains are able to nodulate the *A. seyal*. This study contributed to the development of innovating methods in cultivation and forestry, for a better use of the potential offered by plants genotypes and their microbial auxiliaries.

### Key Words:

*Acacia seyal* - phenotypical characterization - symbiotic capacity - *Mesorhizobium* spp.

<sup>1\*</sup> Département de Biologie Végétale, Université Cheikh Anta Diop, BP 5005, Dakar, Sénégal.

\*Correspondant : Dr Diégane DIOUF, Tel.: +221 33 849 38 72 ; Fax: +221 33 849 33 02 ; E-mail: [Diegane.Diouf@ird.sn](mailto:Diegane.Diouf@ird.sn).

<sup>2</sup> Laboratoire Commun de Microbiologie IRD/ISRA/UCAD, BP 1386, Dakar, Sénégal

<sup>3</sup> Ecole Nationale des Cadres Ruraux, Bambey, Sénégal

<sup>4</sup> IRD/UMR 113 IRD/CIRAD/AGRO-M/UM2, USC INRA 1242 Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes, Campus International de Baillarguet. TA 10/J 34398 Montpellier Cedex 5 France.

## 1 Introduction

*Acacia seyal* Del., espèce fourragère et productrice de gomme se développe naturellement dans les zones salées et non salées. Cette espèce est capable d'établir une association avec des bactéries fixatrices d'azote (rhizobia) et des champignons mycorhiziens arbusculaires pour former des symbioses qui jouent un rôle très important dans la nutrition hydrominérale de la plante et la résistante à certains stress environnementaux. Ndoye *et al.*, [16] ont montré que *A. seyal* est une espèce hautement fixatrice d'azote. Cependant, il faut noter que l'intérêt des recherches sur *A. seyal* a souvent porté sur sa capacité à fixer l'azote atmosphérique et son rôle dans la fertilisation des sols. En revanche, peu de connaissances ont été acquises sur la diversité phénotypique des rhizobia qui lui sont associés. Or, la survie et les qualités d'adaptation et de compétition des souches introduites peuvent être déterminantes dans la réponse des plantes à l'inoculation au champ. Par ailleurs, il est bien connu que les facteurs environnementaux tels que la salinité, la sécheresse, l'acidité, l'alcalinité, les engrais chimiques, les métaux lourds et les pesticides compromettent la survie, la croissance et la capacité à fixer l'azote par les souches de rhizobia (Zahran, [21]). Cependant, la tolérance aux principaux facteurs environnementaux varie en fonction des populations rhizobiennes. D'ailleurs, Mpepereké *et al.*, [15] ont démontré que les sols tropicaux pouvaient contenir des souches de rhizobia bien adaptées aux facteurs environnementaux extrêmes tels que la sécheresse, la température élevée du sol, la salinité et les pH acides ou alcalins. D'autres études ont montré que les rhizobia isolés des acacias sont généralement plus résistants aux facteurs environnementaux que les autres bactéries fixatrices d'azote (Odee *et al.*, [17] ; Zhang *et al.*, [22]). Ainsi, l'exploitation efficace de la fixation biologique de l'azote

pour améliorer la productivité agricole nécessite une caractérisation des populations de rhizobia indigènes (Keyser *et al.*, [13]). Des études phénotypiques et physiologiques sont alors essentielles pour la caractérisation et la sélection de souches adaptées aux conditions édapho-climatiques.

L'objectif de cette étude est de caractériser les souches de rhizobia nodulant *A. seyal* et qui pourraient servir pour l'inoculation en serre et au terrain, en vue d'augmenter les performances symbiotiques d'*A. seyal*.

## 2 Matériel et Méthodes

### 2.1 Caractérisation phénotypique des souches

Différents tests phénotypiques et biochimiques ont été réalisés sur 8 souches de *Mesorhizobium* spp. nodulant *A. seyal* provenant de diverses zones du Sénégal comme décrit par Diouf *et al.*, [6] (Tableau I). Tous les tests ont été effectués en double. L'incubation des souches a été effectuée dans une étuve à 37°C et la croissance a été estimée par l'apparition de colonies bactériennes.

**Tableau I:** Origine et caractéristiques physico-chimiques des sols d'isolement des souches de *Mesorhizobium* spp. nodulant *A. seyal* (Diouf et al., [6])

Souches	Origine	pH	Conductivité Electrique (mS.cm <sup>-1</sup> )
ORS 3324	Bambey	6,5	0,15
ORS 3355	Vélor 2	6,2	0,20
ORS 3356	Vélor 2	6,2	0,20
ORS 3357	Nonane 1	5,8	4,58
ORS 3359	Nonane 3	6,3	0,95
ORS 3365	Foundiougne 5	6,9	0,81
ORS 3369	Vélor 1	6,1	0,22
ORS 3397	Ndiafate 2	6,3	1,16

La tolérance des souches à la salinité a été testée sur un milieu M9 solide (20 ml de mannitol 20 % ; 1ml MgSO<sub>4</sub> 1M ; 1 ml CaCl<sub>2</sub> 0,25 M ; 1 ml biotine à 1g/l) contenant

diverses concentrations de NaCl : 0.5 ; 1 ; 2 ; 3 ; 4 et 5 % (p/v).

La tolérance des souches aux différentes valeurs de pH a été étudiée sur milieu YMA [10 g de mannitol; 0,5 g de glutamate de sodium; 0,5 g/l de  $K_2HPO_4$ ; 0,2 g/l de  $MgSO_4, 7H_2O$ ; 0,05 g/l de NaCl; 0,04 g/l de  $CaCl_2$ ; 0,004 g/l de  $FeCl_3$ ; 1 g/l d'extrait de levure (Difco); 20 g/l d'agar (Difco)]. Le pH a été ajusté aux valeurs suivantes : 4 ; 5 ; 7 ; 8 ; 9 et 10.

La résistance des souches à différents antibiotiques a été testée sur le milieu YMA solide, auquel des antibiotiques ont été ajoutés à des doses variables (10 ; 20 ; 50 ; 100  $\mu g/ml$ ). Les antibiotiques utilisés sont : ampicilline ; chloramphénicol ; rifampicine ; streptomycine ; kanamycine et tétracycline. Les antibiotiques ont été stérilisés par filtration.

L'utilisation de différentes sources de carbone par les souches a été testée sur le milieu MGS solide (4 g/l de Mannitol ; 0,5 g/l de  $NH_4Cl$  ; 0,2 g/l de  $MgSO_4, 7H_2O$  ; 0,028 g/l  $CaCl_2, 2H_2O$  ; 1g/l de  $K_2HPO_4$  ; 1 ml/l de solution de vitamine ; 1 ml/l d'oligo-éléments ; 14 g/l d'extrait de levure) en remplaçant le mannitol par le sucre à tester. Les hydrates de carbone utilisés sont : amidon ; arabinose ; galactose ; glucose ; glycérol ; lévulose ; maltose ; mannose ; mannitol ; raffinose ; lactose ; ribose ; rhamnose ; saccharose ; salicine ; sorbitol ; tréhalose et xylose.

La résistance des souches aux métaux a été testée sur milieu TY (5 g/l de Tryptone ; 0,91 g/l de  $CaCl_2, 2H_2O$ , 3 g/l d'extrait de levure ; 14 g/l d'agar) contenant les métaux lourds suivants ( $\mu g/ml$ ):  $CuSO_4, 5H_2O$  (500);  $HgCl_2$  (5) ;  $CdSO_4$  (50);  $ZnSO_4$  (250); Pb-acetate (1000);  $FeCl_3, 6H_2O$  (750);  $MnCl_2, 4H_2O$  (1000);  $MnSO_4$  (1000);  $MgSO_4$  (1000);

$BaCl_2, 2H_2O$  (1000) et  $CoSO_4$  (150). Le milieu TY normal a été utilisé comme témoin.

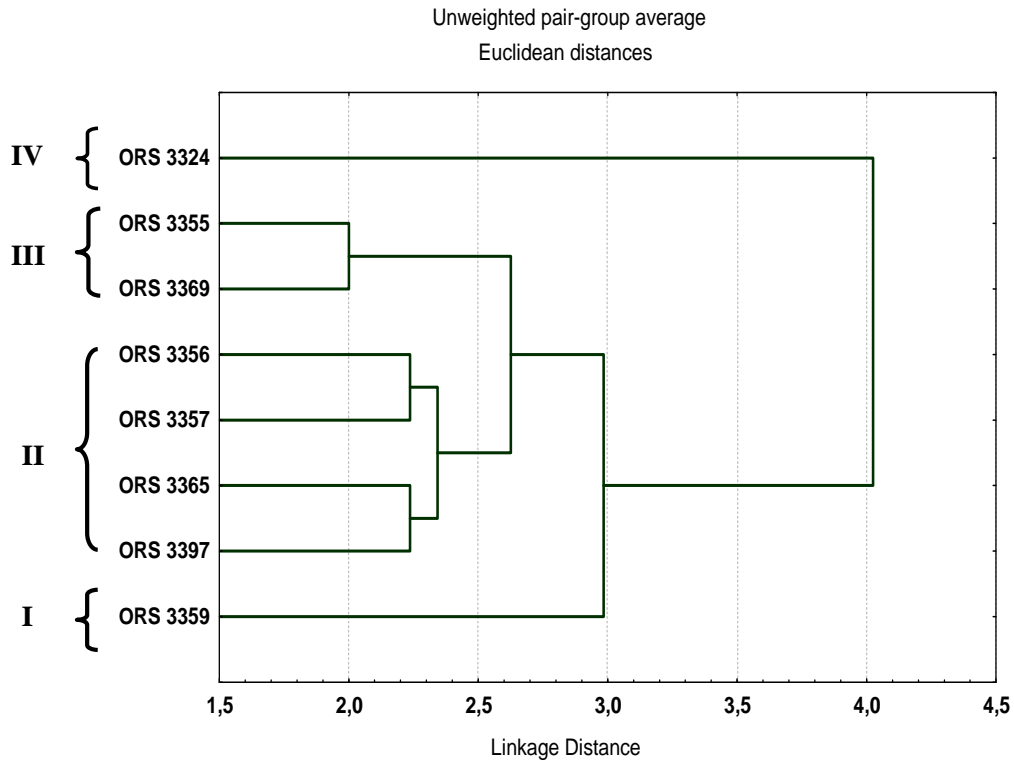
L'analyse de 69 tests phénotypiques et physiologiques des différentes souches a été réalisée en utilisant l'algorithme Unweighted Pair Group Method Average (UPGMA) (Sneath et Sokal, [19]). Les résultats sont donnés sous forme de dendrogramme.

## 2.2. Caractérisation symbiotique des souches

Le pouvoir symbiotique des 8 souches de *Mesorhizobium* spp. nodulant *A. seyal* a été testé en pépinière sur du sol sableux de Sangalkam (50 km à l'Est de Dakar, Sénégal) pauvre en azote et en phosphore, comme décrit par Diouf *et al.*, [5]. Les plants d'*A. seyal* ont été semés dans des pots remplis avec 1 kg de sol de Sangalkam non désinfecté dans un bloc complètement randomisé avec 9 répétitions par traitement. L'inoculation a été réalisée au moment du repiquage à raison de 5 ml d'une culture bactérienne en phase exponentielle de croissance par pot. L'infectivité et l'effectivité des souches ont été appréciées par le nombre moyen de nodosités et la biomasse aérienne totale.

## 3 Résultats

L'analyse numérique de 69 traits phénotypiques et physiologiques permet d'associer les souches de rhizobium testées en 4 groupes selon leurs ressemblances (Figure 1). Ainsi le groupe I comprend la souche ORS 3359 ; le groupe II les souches ORS 3397, ORS 3365, ORS 3357 et ORS 3356. Le groupe III est composé des souches ORS 3369 et ORS 3355. Alors que le groupe IV ne contient que la souche ORS 3324. Le groupe III se distingue légèrement du groupe II. Par contre, le groupe I montre une nette différence mais moins importante que celle du groupe IV qui se démarque de l'ensemble formé par les autres groupes.



**Figure 1:** Dendrogramme montrant les rapports de similitude entre les souches de *Mesorhizobium* spp. isolées de nodosités de plants d'*A. seyal*.

Sept des huit souches de *Mesorhizobium* spp. testées croissent normalement jusqu'à 2 % de NaCl (Tableau II). Seule la souche ORS 3324 n'a pas pu pousser sur le milieu M9 contenant 1 % de NaCl. Par ailleurs, aucune souche de rhizobium ne pousse à partir de 3 % de NaCl.

Le pH optimal pour le développement des bactéries est très proche de la neutralité (6,8)

ce qui justifie une meilleure croissance des souches au pH 7 (Tableau III). Toutes les souches, sauf la souche ORS 3324 (qui ne tolère pas le pH 10), ont poussé aux pH 5, 7, 9 et 10. Toutefois, la croissance au pH légèrement alcalin (pH 9) est moins importante qu'aux pH 5 et 7. Aucune souche n'a pu pousser au milieu très acide (pH 4).

**Tableau II:** Croissance des souches de *Mesorhizobium* spp. nodulant *A. seyal* sur milieu M9 avec différentes doses de NaCl

NaCl	Souches ORS							
	3324	3355	3356	3357	3359	3365	3369	3397
Témoin (0,5 %)	+	+	+	+	+	+	+	+
1%	-	+	+	+	+	+	+	+
2%	-	+	+	+	+	+	+	+
3%	-	-	-	-	-	-	-	-
4%	-	-	-	-	-	-	-	-
5%	-	-	-	-	-	-	-	-

+ : croissance ; - : pas de croissance

**Tableau III:** Croissance des souches de *Mesorhizobium* spp. nodulant *A. seyal* sur milieu YMA avec différentes valeurs de pH

pH	Souches ORS							
	3324	3355	3356	3357	3359	3365	3369	3397
4	-	-	-	-	-	-	-	-
5	+	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+	+
10	-	+	+	+	+	+	+	+

Les tests de résistance des souches aux antibiotiques ont montré qu'à l'exception de la souche ORS 3355, toutes les souches résistent à la kanamycine quelle que soit la dose apportée (Tableau IV). Par contre, toutes les souches sont sensibles à la tétracycline, quelle que soit la concentration de l'antibiotique. La résistance des souches est variable par rapport à l'ampicilline, le chloramphénicol et la streptomycine.

Les souches ORS 3324 et ORS 3359 sont très sensibles à la streptomycine. Les souches ORS 3324 et ORS 3365 sont sensibles au chloramphénicol à des concentrations

supérieures à 20 µg/ml. De même, aucune souche ne tolère des concentrations d'ampicilline supérieures à 20 µg/ml.

Les souches ORS 3324 et ORS 3355 ont hydrolysé tous les hydrates de carbone testés (Tableau V). Par contre, les 6 autres souches ne peuvent pas croître sur l'amidon et la salicine. Les souches ORS 3356, ORS 3365 et ORS 3369 n'ont pas assimilé le ribose. Cependant, aucune souche n'a poussé sur le milieu sans carbone ce qui met en évidence l'importance du carbone à la survie des bactéries.

**Tableau IV:** Croissance des souches de *Mesorhizobium* spp. nodulant *A. seyal* sur milieu YMA contenant différentes concentrations d'antibiotiques.

Antibiotiques	C (µg/ml)	ORS 3324	ORS 3355	ORS 3356	ORS 3357	ORS 3359	ORS 3365	ORS 3369	ORS 3397
Kanamycine	10	+	-	+	+	+	+	+	+
	20	+	-	+	+	+	+	+	+
	50	+	-	+	+	+	+	+	+
	100	+	-	+	+	+	+	+	+
Ampiciline	10	+	+	-	+	+	+	+	+
	20	+	+	-	-	-	-	+	-
	50	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	-	-	-	-	-	-	-	-
Chloramphénicol	10	+	+	+	+	+	+	+	+
	20	+	+	+	+	+	+	+	+
	50	-	+	+	+	+	-	+	+
	100	-	+	+	+	+	-	+	-
Tétracycline	10	-	-	-	-	-	-	-	-
	20	-	-	-	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	-	-	-	-	-	-	-	-
Streptomycine	10	-	+	+	+	-	+	+	+
	20	-	+	+	+	-	+	+	+
	50	-	+	+	-	-	+	+	+
	100	-	+	+	-	-	+	+	+
Rifampicine	10	+	+	+	+	+	+	+	+
	20	+	+	+	+	+	+	+	+
	50	-	+	+	+	+	+	+	+
	100	-	+	+	+	+	+	+	-

**Tableau V:** Croissance des souches de *Mesorhizobium* spp. nodulant *A. seyal* sur milieu MGS avec divers sucres comme source de carbone.

Sucres	Souches ORS							
	3324	3355	3356	3357	3359	3365	3369	3397
Ribose	+	+	-	+	+	-	-	+
D-xylose	+	+	+	+	+	+	+	+
L-rhamnose	+	+	+	+	+	+	+	+
L-(+)-arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+
D-glucose	+	+	+	+	+	+	+	+
D-galactose	+	+	+	+	+	+	+	+
D-(+)-mannose	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+
Tréhalose	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+
Raffinose	+	+	+	+	+	+	+	+
D-mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+
Glycerol	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+	+
Amidon	+	+	-	-	-	-	-	-
Salicine	+	+	-	-	-	-	-	-
Levulose (fructose)	+	+	+	+	+	+	+	+
Temoin-(MGS sans C)	-	-	-	-	-	-	-	-

Les résultats des tests sur la résistance aux métaux lourds ont montré que la plupart des souches sont résistantes au magnésium, au manganèse (sous forme de sulfate ou de chlorure) et au barium (Tableau VI). Par contre, elles sont toutes sensibles au fer, au cuivre et au cadmium.

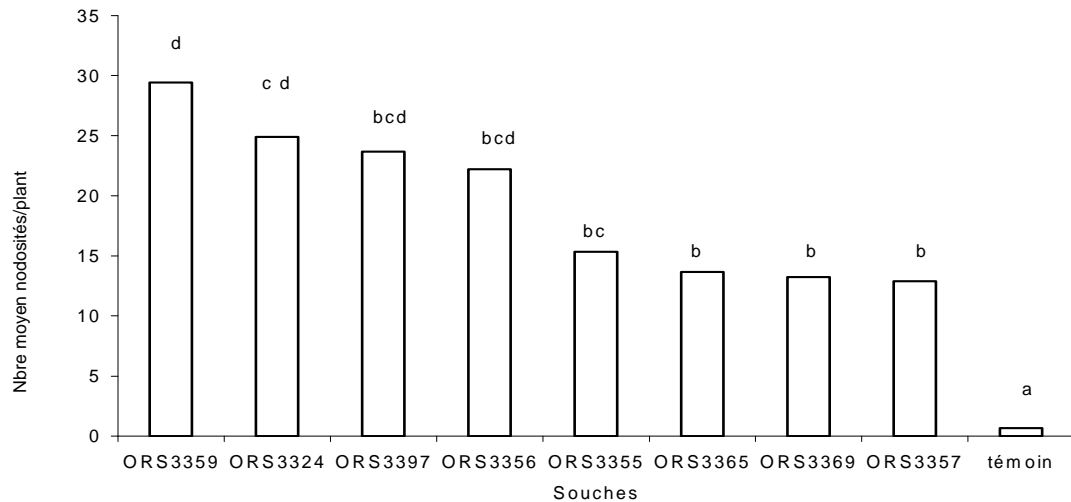
Les résultats des tests sur la croissance au  $\text{KNO}_3$  ont montré que les souches sont sensibles à 4 % (p/v) de  $\text{KNO}_3$  (données non présentées). L'excès d'azote minéral inhibe non seulement la croissance des bactéries, mais a aussi un effet délétère sur la fixation symbiotique de l'azote.

**Tableau VI:** Croissance des souches de *Mesorhizobium* spp. nodulant *A. seyal* sur milieu TY contenant différents métaux lourds

Métaux ( $\mu\text{g/ml}$ )	Souches ORS							
	3324	3355	3356	3357	3359	3365	3369	3397
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (500)	-	-	-	-	-	-	-	-
$\text{HgCl}_2$ (5)	+	+	-	-	+	-	+	+
$\text{CdSO}_4$ (50)	-	-	-	-	-	-	-	-
$\text{ZnSO}_4$ (250)	-	+	-	+	-	+	+	+
Pb-acétate (1000)	-	-	+	+	+	+	-	-
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (750)	-	-	-	-	-	-	-	-
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (1000)	+	+	+	+	+	+	+	+
$\text{MnSO}_4$ (1000)	+	+	+	+	+	+	+	+
$\text{MgSO}_4$ (1000)	+	+	+	+	+	+	+	+
$\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1000)	+	+	+	+	+	+	+	+
$\text{CoSO}_4$ (150)	-	+	+	+	-	+	+	+
Témoin (TY normal)	+	+	+	+	+	+	+	+

Toutes les souches de *Mesorhizobium* spp. testées sont capables d'infecter en pépinière l'espèce hôte d'origine (Figure 2). Toutes les

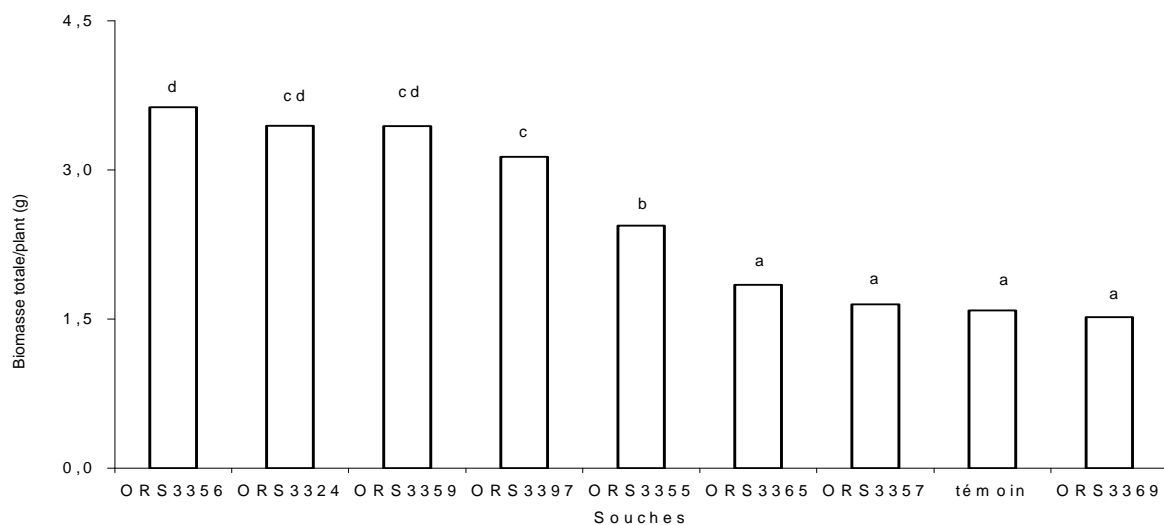
moyenne 30 nodosités par plant. La croissance des plants d'*A. seyal* dépend de la souche de rhizobium utilisée (Figure 3). Les



**Figure 2:** Infectivité des souches de *Mesorhizobium* spp. sur des plants d'*A. seyal* cultivés pendant 3 mois en pépinière sur un sol non désinfecté. Les valeurs (moyenne de 9 répétitions) surmontées de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % (Test de Fisher).

souches testées sont très compétitives par rapport aux souches natives du sol de Sangalkam. Cependant, les 4 souches (ORS 3324, ORS 3356, ORS 3359 et ORS 3397) sont plus infectives. Par ailleurs, la souche ORS 3359 est la plus infective avec en

souches ORS 3356, ORS 3324, ORS 3359, ORS 3397 et ORS 3355 permettent une croissance significativement plus importante que celles des plants témoins non inoculés.



**Figure 3:** Effectivité des souches de *Mesorhizobium* spp. sur des plants d'*A. seyal* cultivés pendant 3 mois en pépinière sur sol non désinfecté. Les valeurs (moyenne de 9 répétitions) surmontées de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % (Test de Fisher).

#### 4 Discussion

L'effet négatif des fortes concentrations de NaCl sur la croissance des rhizobia, révélé par nos résultats, a été signalé par d'autres auteurs (Abdelmoumen *et al.*, [1] ; El Sheikh et Wood, [8]; Greenway et Munns, [11]). L'effet osmotique est le principal contrecoup de l'application du sel sur la croissance des rhizobia (El Sheikh, [7]). Cet effet résulterait d'une déshydratation et d'une perte de la turgescence des cellules. Nos résultats montrent que les souches de rhizobia associées à *A. seyal* présentent une certaine résistance à la salinité. Ces résultats corroborent ceux de Zahran *et al.*, [21] qui ont montré que les rhizobia isolés de plants d'*Acacia* spp. tolèrent souvent de fortes concentrations de NaCl. Seule la souche ORS 3324 ne tolère pas plus de 1% de NaCl. Cette souche provient d'un sol non salé de la station expérimentale du CNRA de Bambey (Centre du Sénégal). Cependant, la teneur en sel du sol d'origine de la souche n'influe pas toujours sur la tolérance des souches au NaCl (Mohamed *et al.*, [14]).

Concernant l'acidité ou l'alcalinité, nos résultats ont montré que les souches de rhizobia associées à *A. seyal* peuvent se développer sur une large gamme de pH allant de 5 à 10. Des études antérieures ont montré l'existence des souches de rhizobiums tolérants aux pH acides (Graham *et al.*, [9]). Ces souches de rhizobia tolérantes aux pH acides sont généralement plus performantes en conditions d'acidité du sol dans le champ (Graham *et al.*, [10]). Cooper *et al.*, [3] ont montré que *Rhizobium loti* peut se développer à pH 4,5 alors que les souches de *Bradyrhizobium* sp. ne le peuvent pas. En effet, les souches de *R. loti* tolérant les pH acides démontrent un intérêt comparatif sur les souches sensibles aux pH acides dans leur aptitude à noduler leurs plantes hôtes à pH 4,5. A l'exception de la souche ORS 3324 (qui ne tolère pas le pH 10), toutes les

souches testées ont poussé aux pH alcalins (9 et 10). Peu d'études ont été effectuées sur l'effet des pH alcalins sur la croissance des rhizobia et/ou sur la symbiose rhizobium-légumineuses. Yadav et Vyas [20] ont rapporté que la croissance des souches à croissance rapide était normale dans des milieux alcalins allant jusqu'au pH 10. Tandis que Diatloff [4] a rapporté que la croissance des souches de *Bradyrhizobium japonicum* n'était pas satisfaisante à pH 8,5.

Nos résultats ont montré une grande diversité dans la résistance des rhizobia aux différents antibiotiques. La tétracycline est le plus toxique des antibiotiques pour les rhizobia, alors que la kanamycine est le moins toxique. La résistance aux antibiotiques a depuis longtemps été utilisée comme moyen de différencier les souches de rhizobia et de les reconnaître après l'inoculation au champ puisqu'il existe une grande hétérogénéité entre les populations de symbiotes de la même légumineuse et/ou faisant partie de la même espèce (Beynon et Josey, [2]; Josey *et al.*, [12]; Pankhurst, [18]).

Nos résultats montrent un large spectre d'utilisation des sources carbonées. En effet, la majeure partie des souches est capable d'assimiler les hydrates de carbone étudiés ; alors que seules deux souches utilisent l'amidon et la salicine comme source de C. Ces deux hydrates de carbone sont mal assimilés par les souches de rhizobia. Ces résultats démontrent les qualités d'adaptation de ces souches à des milieux défavorables.

Nos résultats ont montré que toutes les souches sont capables de noduler *A. seyal* en pépinière sur le sol de Sangalkam non stérile. Ces résultats montrent la capacité des souches introduites à noduler les plants de *A. seyal* malgré la présence d'autres souches de rhizobia. Cela témoigne de leur compétitivité



par rapport aux souches de rhizobia indigènes.

Globalement, les souches testées présentent de bonnes capacités d'adaptation aux stress environnementaux. Ces résultats ont été confirmés en pépinière. Ces souches peuvent servir d'inoculum au champ car, l'établissement au champ d'une symbiose optimale exige l'inoculation avec des souches efficaces et adaptées conditions pédo-climatiques du milieu.

#### Remerciements

*Ce travail a été soutenu financièrement par l'AUF (Projet PCSI N° 6314PS512) et l'AFORNET (Grant N° 17/2004).*

#### 5 Références Bibliographiques

- [1] Abdelmoumen H., Filali-Maltouf A., Belabed A., Missbah El Idrissi M. Effect of high salts concentrations on the growth of rhizobia and responses to added osmotica. *J. Appl. Microbiol.*, 1999, **86**: 889-898.
- [2] Beynon J.E., Josey P. Demonstration of heterogeneity in a natural population of *Rhizobium phaseoli* using variation in intrinsic antibiotic resistance. *J. Gen. Microbiol.*, 1980, **118**: 437-442.
- [3] Cooper J.E., Wood M., Bjourson A.J. Nodulation of *Lotus pedunculatus* in acid rooting solution by fast-and slow-growing rhizobia. *Soil Biol. Biochem.*, 1985, **17**: 487-492.
- [4] Diatloff A. Relationship of soil moisture, temperature and alkalinity to a soybean nodulation failure. *Qd. J. agric. Anim. Sci.*, 1970, **21**: 279-293.
- [5] Diouf D., Duponnois R., Ba A.T., Neyra M., Lesueur D. Symbiosis of *Acacia auriculiformis* and *Acacia mangium* with mycorrhizal fungi and *Bradyrhizobium* spp. Improves salt tolerance in greenhouse conditions. *Funct. Plant Biol.*, 2005, **32**: 1143-1152.
- [6] Diouf D., Samba-Mbaye R., Lesueur D., Ba A.T., Dreyfus B., de Lajudie P., Neyra M. Genetic diversity of *Acacia seyal* Del. rhizobial populations indigenous to Senegalese soils in relation to salinity and pH of the sampling sites. *Microb. Ecol.* 2007, **54**: 553-566.
- [7] El Sheikh E.A.E. Effects of salt on rhizobium and bradyrhizobium: a review. *Ann. Appl. Biol.*, 1998, **132**: 507-524.
- [8] El Sheikh E.A.E., Wood M. Response of chickpea and soybean rhizobia to salt: influence of carbon source, temperature and pH. *Soil Biol. Biochem.*, 1989 **21**, 883-887.
- [9] Graham P. H., Viteri S.E., Mackie F., Vargas A.T., Palacios A. Variation in acid soil tolerance among strains of *Rhizobium phaseoli*. *Field Crops Res.*, 1982, **5**: 121-128.
- [10] Graham P.H., Draeger K., Ferrey M.L., Conroy M. J., Hammer B.E., Martinez E., Naarons S.R., Quinto C. Acid pH tolerance in strains of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and initial studies on the basis for acid tolerance of *Rhizobium tropici* UMR1899. *Can. J. Microbiol.*, 1994, **40**:198-207.
- [11] Greenway H., Munns R. Mechanisms of salt tolerance in non-halophytes. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 1980, **31**: 149-190.
- [12] Josey D.P., Beynon J.L., Johnston A.W.B., Beringer J.E. Strain

- identification in *Rhizobium* using intrinsic antibiotic resistance. *J. Appl. Bacteriol.*, 1979, **46**: 343-350.
- [13] Keyser H.H., Somasegaran P., Bohloul B.B. Rhizobial ecology and technology, p. 205–226. *In* F. Blaine Metting (ed.), *Soil microbial ecology: applications in agricultural and environmental management*. 1993, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y.
- [14] Mohamed S.H., Smouni A., Neyra M., Kharchaf D., Maltouf A.F. Phenotypic characteristics of root-nodulating bacteria isolated from *Acacia* sp. growing in Libya. *Plant Soil*, 2000, **224**: 171-183.
- [15] Mpeperekki S., Makonese F., Wollum A.G. Physiological characterization of indigenous rhizobia nodulating *Vigna unguiculata* in Zimbabwean soils. *Symbiosis*, 1997, **22**: 275-292.
- [16] Ndoye I., Gueye M., Danso S.K., Dreyfus B. Nitrogen fixation in *Faidherbia albida*, *Acacia radiana* and *Acacia seyal* estimated using the <sup>15</sup>N isotope dilution technique. *Plant Soil*, 1995, **172**: 175-180.
- [17] Odee D.W., Sutherland J.M., Makatiani E.T., McInroy S.G., Sprent J.I. Phenotypic characteristics and composition of rhizobia associated with woody legumes growing in diverse Kenya conditions. *Plant Soil*, 1997, **188**: 65-75.
- [18] Pankhurst C.E. Symbiotic effectiveness of antibiotic resistant mutants of fast and slow- growing strains of *Rhizobium* nodulating *Lotus* species. *Can. J. Microbiol.*, 1977, **23**: 1026-1033.
- [19] Sneath P.H., Sokal R.R. *Numerical Taxonomy*. Freeman, San Francisco, 1973.
- [20] Yadav N.K., Vyas S.R. Response of root nodule bacteria to saline, alkaline and acid conditions. *Indian J. Agric. Sci.*, 1971, **41**: 875-881.
- [21] Zahran H.H., Rasanen L.A., Karsisto M., Lindstrom K. Alteration of lipopolysaccharide and protein profiles in SDS-PAGE of rhizobia by osmotic and heat stress. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 1994, **10**: 100-105.
- [22] Zhang X., Harper R., Karsisto M., Lindström K. Diversity of *Rhizobium* bacteria isolated from the root nodules of leguminous trees. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1991, **41**: 104-113.