



*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère De L'enseignement Supérieur et De La Recherche*  
*Scientifique*



**Université Abbès Laghrour-Khenchela-**  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
**Département de biologie moléculaire et cellulaire**

**Mémoire**

Présenté pour L'obtention du Diplôme de Master Académique

**FILIERE : Sciences Biologies**

**OPTION : Biochimie appliquée**

**Thème**

**Contribution à l'étude de la Nutrition Azotée chez les**  
**Légumineuses Cas du pois chiche**  
**" *Cicer arietinum . L* "**

**Présenté par : OUANNASSI FATMA ZOHRA**

HADJI NADJATE

**Soutenu le : 13/06/2018**

**Jury de soutenance :**

Président	Mr. BOUSSAA.A	M.A.A	Université Abbes Laghrour –Khenchela
Encadreur	Mr. SALHI.Z	M.A.A	Université Abbes Laghrour –Khenchela
Examineur	Mr. RAHAL.K	M.A.A	Université Abbes Laghrour –Khenchela

**Promotion : 2018**



# *Remerciement*

*Avant toute chose, nous remercions Allah pour nous avoir  
donné le courage et la santé pour accomplir ce modeste travail*

*Nos vifs remerciements sont adressés aux membres de jury Mr  
Bousaa. A et Mr Rahal .K pour l'honneur qu'ils nous  
ont fait en acceptant de juger notre travail.*

*Vifs remerciements et profonde gratitude vont particulièrement à:*

*Notre Directeur de mémoire,*

*Mr Salhi Zine Elabidine pour nous avoir proposé le sujet de ce*

*mémoire, pour son esprit scientifique, pour ses*

*orientations et ses conseils.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire à mes chers parents*

*Ma chère mère La lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon Cœur, ma vie et Mon bonheur.*

*Mon cher père Ma source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir.*

*A mon grand père Amor*

*A mon frère Abd Elhamid*

*A mes sœurs Salima, Siham et Chahinaz*

*La joie de ma vie*

*A mon binôme Fatma Zehra merci pour son soutien et son amitié.*

*A toutes les personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieures : mes aimables amis, collègues d'étude et toute personne ayant contribué à la réalisation de ce travail.*

*Nadjate*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail*

*A mes très chers parents.*

*pour leur encouragement.*

*A mes sœurs Oum Kalthoum, Selma, Chaima, Lina,  
Wafa, Meriem et son marie Bilel, Aicha et son marie*

*Toufik.*

*A mes frères Abd Errahim et Abd Ellah.*

*Spécialement à mes chères Nassim, Abd Elwahed, Safia et*

*Youssef.*

*A mes amies Ahlem, Safia, Sonia, Lamia, Rayan,*

*Selma, Betta, Lina, Hadjer,*

*Asma, Khawla, Saliha, Zineb et Amira.*

*A mon binôme Nadjate qui a partagé avec moi les moments  
difficiles pour ce travaille.*

*Fatma*

## **Résumé**

Par leur capacité à s'associer avec des bactéries du sol fixant l'azote atmosphérique, les légumineuses en général et le pois chiche en particulier « *Cicer arietinum* .L » ont la particularité de fixer l'azote atmosphérique et de pouvoir être cultivées sans utiliser d'engrais azotés, et d'être une source d'azote au niveau des cultures agricoles.

L'étude des 04variétés de pois chiche le FLIP 84, le FLIP 85, ILC 32 et le GAB 40 ont montré une teneur en azote très importante au niveau des racines par rapport aux feuilles de la plante.

Les deux variétés étudiés à savoir le GAB 40 et l'ILC 32 présentent une teneur très importante en Azote et en protéines par rapport aux FLIP 84 et le FLIP 85, durant la phase floraison, mêmes choses pour les graines durant la phase de maturation d'où un rendement très important.

Le dosage de l'activité nitrogénasique par la CPG à montré des pics très élevé en phase de la floraison au niveau de la partie racinaire, la concentration de l'activité nitrogénasique est très élevés pour les variétés le FLIP 84 et le FLIP 85 par rapport aux variétés GAB 40 et l'ILC 32.

**Mots Clés** : pois chiche, symbiose, nutrition azotés, Nitrogénase

## **Abstract**

With their ability to associate with soil bacteria fixing the atmospheric nitrogen, legumes in general and chickpea in a particular "*Cicer arietinum .L*" have the particularity of fixing atmospheric nitrogen and can be grown without using nitrogen fertilizer, and to be a source of nitrogen at the level of agricultural crops.

The study of the four varieties of chickpea the FLIP 84, FLIP 85, ILC 32 and the GAB 40 had shown very high nitrogen content in the roots compared to the leaves of the plant, the two varieties studied, namely GAB 40 and the ILC 32 have a very high nitrogen and protein content compared to FLIP 84 and FLIP 85, during flowering phase and the same thing for the seeds during the maturation phase resulting in a very important yield.

The dosage of the nitrogenous activity by GC had shown very high peaks in the flowering phase at the root part, the concentration of nitrogenous activity was very high for the varieties FLIP 84 and FLIP 85 compared to the GAB 40 varieties and the ILC 32.

**Key words:** chickpea, symbiosis, nitrogen nutrition, Nitrogenase

### الملخص

بسبب قدرتها على التعايش مع البكتيريا المثبتة للأزوت تملك البقوليات بصفة عامة و الحمص بصفة خاصة خاصية تثبيت الأزوت و إمكانية زراعتها دون استعمال الأسمدة الأزوتية كما يمكن أن تكون مصدرا للأزوت على مستوى المحاصيل الزراعية .

إن دراسة 4 أنواع من الحمص FLIP84، FLIP85، GAB40، ILC32 أثبتت أن كمية الأزوت على مستوى جذور النبتة جد مهمة بالمقارنة مع أوراقها .

أثناء الإزهار نجد أن النوعين المدروسين: GAB 40 و ILC 32 يحتويان على كمية جد مهمة من الأزوت والبروتينات بالمقارنة مع FLIP84 و FLIP85، ونفس الشيء بالنسبة للبذور .

إن معايرة نشاط النيتروجيناز بواسطة CPG في مرحلة الإزهار يظهر ذروات مرتفعة على مستوى الجذور، وتركيز نشاط النيتروجيناز جد مرتفع بالنسبة للنوعين FLIP85 و FLIP 84 بالمقارنة مع النوعين الآخرين ILC32 و GAB 40 .

### الكلمات المفتاحية :

الحمص ، التعايش ، التغذية الأزوتية ، النيتروجيناز .

**LISTE DES ABREVIATIONS**

<b>ARA</b>	Activité Réductrice D'acétylène
<b>BNL</b>	Bactéries Nodulants Les Légumineuses
<b>CPG</b>	Chromatographie En Phase Gazeuse
<b>DPAT</b>	Direction De Planification Et De L'aménagement Du Territoire
<b>FAO</b>	Food Agronomic Organisation
<b>GC</b>	Gas Chromatography
<b>ITGC</b>	Institut Technique Des Grandes Cultures
<b>LCOS</b>	Lipo-Chito-Oligosaccharides
<b>LPWG</b>	Legume Phylogeny Working Group
<b>Mt</b>	Millions De Tonnes
<b>Nod</b>	Nodulation
<b>PHB</b>	Polyhydroxybutyrate
<b>Qt</b>	Quintaux
<b>USDA</b>	United States Departement Of Agriculture
<b>YEM</b>	Yeast Mannitol Agar

**LISTE DES FIGURES**

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 01</b>	Morphologie de la plante de pois chiche	5
<b>Figure 02</b>	Pois chiche de type Desi, à gauche, et Kabuli à droite	5
<b>Figure 03</b>	Evolution de la production de pois chiche dans le monde	7
<b>Figure 04</b>	Evolution des superficies emblavées, de la production et du rendement du pois chiche entre 2000 et 2014	8
<b>Figure 05</b>	Les aspects microscopiques et macroscopiques des rhizobia	12
<b>Figure 06</b>	Echange de signaux lors d'une symbiose Rhizobienne-légumineuse	16
<b>Figure 07</b>	Infection intracellulaire et différenciation du Symbiosome chez les légumineuses	16
<b>Figure 08</b>	Etapes de la formation d'un nodule racinaire chez une légumineuse infectée par Rhizobia	18
<b>Figure 09</b>	Mécanisme d'action de la nitrogénase	19
<b>Figure 10</b>	Schéma simplifié du cycle de l'azote	22
<b>Figure 11</b>	Situation géographique de la zone de Kais	27
<b>Figure 12</b>	Récolte, séchage des 04 variétés du pois chiche durant la phase de floraison	29
<b>Figure 13</b>	Séchage des graines des 04 variétés du pois chiche	30
<b>Figure 14</b>	Minéralisation de l'échantillon	32
<b>Figure 15</b>	L'étape de distillation	33
<b>Figure 16</b>	Titration de distillat par l'acide chlorhydrique	33
<b>Figure 17</b>	la nitrogénase	35
<b>Figure 18</b>	Teneur en azote au niveau des feuilles des 04 variétés de pois chiche étudiées	38
<b>Figure 19</b>	Teneur en azote au niveau et des racines des 04 variétés de pois chiche étudiées	39
<b>Figure 20</b>	Teneur en azote durant la floraison et la maturation des 04 variétés de Pois chiche étudiées	41
<b>Figure 21</b>	teneur en protéine au niveau des grains	42
<b>Figure 22</b>	l'activité nitrogénasique durant la floraison	44

## **LISTE DES TABLEAUX**

<b>Tableau</b>	<b>TITRE</b>	<b>PAGE</b>
<b>Tableau 01</b>	Rendement et production mondiale du pois chiche en comparaison avec d'autres cultures (compagne 2004-2005)	8
<b>Tableau 02</b>	Valeur nutritionnelle moyenne pour (100 g) de pois chiche	9
<b>Tableau 03</b>	Les principales variétés cultivées en Algérie	10
<b>Tableau 04</b>	Classification des rhizobia	14
<b>Tableau 05</b>	Origines et caractéristiques des variétés du pois chiche étudiées	28
<b>Tableau06</b>	Moyenne des teneurs en azote total et en protéine des 04 variétés étudiés	38

**Table des matières**

Résumé	I
Liste des abréviations	IV
Liste des figures	V
Liste des tableaux	VI
Introduction	1

**Première partie : Etude bibliographique**

**Chapitre I : Les légumineuses**

I Les légumineuses	3
I.1 Généralité	3
I.2 Le pois chiche« <i>Cicer arietinum L</i> »	3
I.2.1 Origine	3
I.2.2 La classification	3
I.2.3 Les caractères morphologiques	4
I.2.4 Types de pois chiche	5
I.2.5 Types de cultures	6
I.2.6 Les étapes de développement du pois chiche	6
I.2.7 Situation de la culture du pois chiche	7
I.2.7.1 Dans le monde	7
I.2.7.2 En Algérie	7
I.2.8 Intérêt du pois chiche	8
I.2.9 Propriétés nutritionnelles du pois chiche	9
I.2.10 Variétés cultivées en Algérie	10
I.2.11 Les principales maladies du pois chiche	10
I.2.12 Utilisation médicinale	11

**Chapitre II : Notion de rhizobium**

II Notion de Rhizobium	12
II.1 Caractères biochimiques	12
II.2 Taxonomie	13
II.2.1 Classification des Rhizobia	13
II.3 La relation symbiotique	14
II.3.1 Génétique de la Fixation	14
II.3.1.1 Les flavonoïdes	15
II.3.1.2 Les facteurs nod	15

II.3.2 Processus de la nodulation	16
II.3.2.1 Formation des bactéroïdes	16
II.3.2.2 Les étapes de nodulations	17
II.4 La nitrogénase et son fonctionnement	18
II.5 La leghémoglobine	20
<b>Chapitre III: La nutrition azotée</b>	
III La nutrition azotée	21
III.1 L'azote	21
III.2 Le cycle de l'azote	21
III.2.1 La fixation de l'azote diatomique (N <sub>2</sub> )	22
III.2.2 La nitrification	22
III.2.3 La dénitrification	23
III.3 La fixation d'azote	23
III.3.1 La fixation industrielle de l'azote	23
III.3.2 La fixation biologique	23
III.3.2.1 La fixation libre d'azote	24
III.3.2.2 La fixation symbiotique de l'azote	24
III.4 Importance de l'azote dans la nutrition des plantes	24
III.5 La Spécificité d'hôte	25
<b>Deuxième partie: Etude expérimentale</b>	
<b>I. Dispositif expérimentale</b>	26
I 1. Site	26
I 2. Station pépinière Kais	26
I 2.1 Situation géographique de la région d'étude	26
I .2. 2 Caractères climatiques	27
I 2.3 Synthèse climatique	27
I 3. Caractéristiques des variétés de pois chiche étudiés	28
<b>II Matériels et Méthodes</b>	29
II 1. Matériel végétal	29
II 2. Dosage de l'azote totale	30
II 3. Expression des résultats	34
II 4. Teneurs des protéines dans le pois chiche	34
II 5 Mesure de l'activité nitrogénasique	35

<b>III Résultats et discussions</b>	37
III 1 Teneur en azote totale	37
III 1.1 Teneur en azote des au niveau des racines et des feuilles	38
III 1.2 Teneur en azote durant la floraison et la maturation	40
III 1.3 Teneur en protéine	42
III .2 Mesure de l'activité nitrogénasique	43
III.3 L' étude statistique	45
<b>Conclusions</b>	46
Références bibliographiques	48
Annexe	X

## INTRODUCTION

Les légumineuses (pois, lentilles, haricots, soja et pois chiches) sont l'une des cultures les plus importantes en raison non seulement de leur qualité nutritionnelle mais également pour leurs divers avantages agro-environnementaux. Les graines et poudres de légumineuses sont des sources importantes de protéines, glucides, vitamines, minéraux et fibres alimentaires (**Almeida Costa et al., 2006; Baljeet et al., 2014 ; Rachwa Rosiak et al., 2015**).

L'intérêt des légumineuses est directement lié à la capacité de nombre d'entre elles d'établir une association symbiotique spécifique avec des bactéries nodulant les légumineuses (BNL) (**Moulin, 2002**) Elles regroupent plusieurs espèces, parmi celles-ci, nous avons le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) (**Bacha et Ounane, 2003**).

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est la troisième légumineuse importante au monde sur la base de la production totale après le soja et le haricot, qui est principalement cultivé dans les climats chauds de l'Inde, le Pakistan, l'Iran, l'Ethiopie, le Mexique et la région méditerranéenne (**FAO, 2013**). Traditionnellement appelées «viande du pauvre » (**Micard et al., 2010**).

La symbiose légumineuse Rhizobia se traduit par la formation au niveau des racines des légumineuses de protubérances appelées nodules ou nodosité dans lesquels ces plantes hébergent les Rhizobia dans un environnement propice à l'activité fixatrice d'azote (**Sadowsky et Graham, 2006**).

Au sein de ces nodules, la plante fournit les substrats énergétiques/carbonés nécessaires au Rhizobia qui en retour fournissent de l'azote sous forme d'ammoniac directement utilisable dans le flux métabolique de la plante (**Sadowsky et Graham, 2006**).

La fixation symbiotique de l'azote est devenue un élément incontournable des politiques de limitation des apports d'engrais azotés que ce soit pour des raisons économiques, écologiques ou de durabilité de l'activité agricole (**Alkama et al., 2002; Jeder et al., 2003**).

Il est donc avantageux de cultiver les légumineuses car d'une part, elles fournissent des aliments riches en protéines et d'autre part, ce sont des cultures à faible niveau d'intrants que ne modifient que très peu les équilibres biologiques naturels (**Sprent, 2001**).

Il s'avère selon la bibliographie que l'activité symbiotique entre *Rhizobia* et le pois chiche «*Cicer arietinum* L.» influence sur la fixation d'azote.

La question principale objet de notre étude est la suivante : à qu'elle stade de développement du pois chiche la fixation azotée est importante , et qu'elle est la concentration adéquate de l'enzyme Nitrogénase nécessaire pour une meilleure capacité de fixation de l'azote atmosphérique pour les quatre variétés du pois chiche étudiés, ainsi pour évaluer le meilleur rendement qualitative et quantitative.

Notre étude se compose de trois parties essentielles : La première partie est une étude bibliographique sur les légumineuses en générale et le pois chiche en particulier, les interactions *Rhizobium*- légumineuses et la nutrition azote.

La seconde partie est consacrée au travail expérimental notamment le dosage d'azote totale et l'enzyme Nitrogénase (Activité Réductrice de l'acétylène) des quatre variétés de pois chiche notamment (GAB 40, ILC 32-79, FLIP 84 et FLIP 85).

Enfin la dernière phase va être consacrée à l'analyse des résultats quantitatifs et qualitatifs obtenus du dosage d'azote totale durant la floraison et la maturation.et l'enzyme Nitrogénase durant le stade de développement de la floraison

## **I Les légumineuses**

### **I.1 Généralités**

Les légumineuses sont des végétaux supérieurs qui appartiennent à la famille des Fabaceae (Doyle, 2011).

Elle est composée d'environ 19.300 espèces dans les 750 genres qui se produisent comme des herbes, des arbustes, des vignes ou des arbres dans des habitats principalement terrestres et sont des composants de la plupart des types de végétation du monde (Lewis *et al.*, 2005 ; LPWG, 2013).

Les légumineuses se caractérisent par la présence d'un gonflement au niveau des racines appelées nodosités, dans lesquelles les rhizobia réduisent l'azote atmosphérique en ammoniac disponible pour la nutrition azotée de la plante (Raven *et al.*, 2000).

Actuellement, la famille des légumineuses est divisée en trois sous-familles, les Caesalpinioideae, Mimosoideae et Papilionoideae (LPWG, 2013 et Cardoso, 2013).

### **I.2 Le pois chiche "*Cicer arietinum*. L"**

#### **I.2.1 Origine**

Le pois chiche est une légumineuse alimentaire de grande importance en Europe, l'Afrique du Nord, l'Inde et les pays du Moyen-Orient (Iqbal *et al.*, 2006 ; Viveros *et al.*, 2001).

Il est cultivé principalement en Algérie, Éthiopie, Iran, le Mexique, le Maroc, le Pakistan, l'Espagne, la Syrie, la Tanzanie, la Tunisie et la Turquie (Naghavi et Jahansouz, 2005).

En Algérie sa culture est située dans l'Est à Skikda, Guelma (zone littoral et sublittoral) et Mila (plains intérieures). Dans l'ouest du pays elle est cultivée principalement à Tlemcen et Sidi Bel Abbas (Zaghouane, 1997 ; Hamadache, 2000), sa production représente 351178 quintaux en 2014 avec un rendement qui demeure assez faible (MADR, 2015).

#### **I.2.2 La classification**

Selon (USDA, 2008), l'espèce *Cicer arietinum* L est classé dans :

**Règne:** Plantae

**Embranchement:** Spermatophyta (plantes à graines)

**Sous embranchement:** Magnoliophyta (=angiospermes, phanérogames ou plantes à fleurs)

**Classe:** Magnoliopsida

**Sous-classe:** Rosidae

**Ordre:** Fabales

**Famille:** Fabaceae

**Genre:** Cicer

**Espèce:** *Cicer arietinum.L*

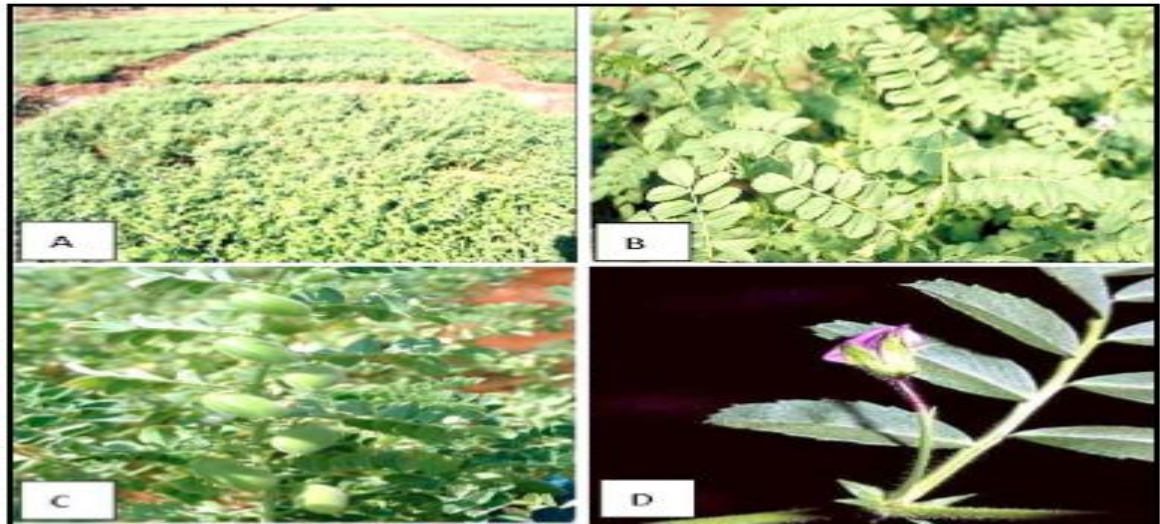
### I.2.3 Les caractères morphologiques

Le pois chiche est une plante annuelle autogame avec un pot ou moins érigé et une taille de 30 à 70 cm selon la variété (**Street et al., 2008**).

#### ➤ **La partie aérienne**

La plante de pois chiche, comme toutes les plantes est composée d'un certain nombre d'organes :

- **La tige**, est anguleuse d'une hauteur de 20 cm à 1 m, la tige principale portent apparaissent des ramifications secondaires.
  - **Les feuilles**, sont alternes, imparipennées, chaque feuilles compte 10 à 15 folioles ovales, dentées et recouvertes de poils (**Allali et al., 2007**).
  - **Les fleurs**, sont habituellement solitaires à l'aisselle des feuilles, bisexuée, blanches verdâtres, rose ou violacées, disposées en grappe caractérisées par leur aspect, de papillons.
  - **Le fruit**, est une gousse velue, globuleuses contenant une ou deux graines. (**Bejija et Van Der Maes., 2007**).
  - **Les graines** ont généralement une forme plus au moins arrondies, de couleur crème pâle et présentant une saillie en forme de bec (**Elbekkay, 1984**).
- **Partie souterraine**, le système racinaire est pivotant, bien développé pourra atteindre jusqu'à plus d'un mètre de profondeur (**Allali et al., 2007**).



**Figure 01:** Morphologie de la plante de pois chiche. (A) Vue d'ensemble d'un champ de pois chiche; (B) Feuilles composées de pois chiche; (C) Gousses jeunes vertes ; (D) Fleur mauve de *Cicer arietinum* (Maheri *et al.*, 2008).

#### I.2.4 Les types de pois chiche

Il existe deux types ou variétés de pois chiche commercialisés dans le monde: pois chiche Desi (A) et pois chiche Kabuli (B) (Figure 02).



**Figure 02:** Graines de pois chiche type Desi et Kabuli (Sanjeewa *et al.*, 2010)

**La variété Desi:** (signifiant la variété locale) se caractérise par des graines petites, recouvertes d'un tégument foncé, épais et strié.

**La variété Kabuli:** (signifiant variété « de Kaboul »), se distingue par des graines plus grandes, de couleur crème claire, dotées d'un tégument fin et lisse. Elle est cultivée sur le pourtour méditerranéen (**Rachwa-Rosiak et al., 2015**).

**Le type Gulabi:** Ce style présente des caractères intermédiaires entre les deux types précédents. Ils présentent un grain lisse et clair, d'une taille moyenne (**ITGC, 2013**).

### I.2.5 Les types de cultures

En Algérie, on distingue deux types de cultures: Le pois chiche d'hiver et le pois chiche de printemps.

Les dates de semis du pois chiche varient selon le type de cultures et les régions bioclimatiques (**Wery, 1990**).

- **Culture de printemps:** Le semis du pois chiche de printemps est effectué fin février-début mars et la récolte peut avoir lieu fin juin-début juillet (**Slama, 1998**).
- **Culture d'hiver:** Les dates de semis et de maturité d'hiver ont été avancées respectivement vers les mois de novembre-décembre et juin (**Bamouh et al., 2002**).

### I.2.6 Les étapes de développement du pois chiche

Le cycle végétatif du pois chiche compte deux périodes déterminées par des stades repérés correspond à des changements notables dans l'allure du développement et au rythme de croissance, qui sont :

- **La période végétative :** cette période s'étend de la germination jusqu'à la ramification à l'apex initie des nœuds à chaque nœud, il y a initiation d'une feuille (**ITGC, 2001**).
- **La levée,** est l'apparition des plants à la surface du sol elle peut être retardée par les basses températures, dans ce stade on observe l'apparition de la première feuille.
- **La ramification** est marquée dès que la première tige se développe alors à partir d'un bourgeon de la base et les premières nodosités se forment, l'élongation des entre nœuds se fait progressivement (**Kachache, 2005**).
- **La période de reproduction:** Selon **Allali et al., (2007)**, le délai de la floraison a été déterminé en retenant le nombre de jours séparant le semis et celui où 50% de fleurs sont épanouies. Elle commence du nœud inférieur.
- **La fructification:** concerne le début de formation de gousse ou bien l'apparition de (transformation des fleurs en gousses).

- **La maturité:** est définie comme étant le stade caractérisé par la chute des feuilles; nécrose de l'extrémité de la gousse; brunissement du point de jonction entre le grain et l'épicarpe de la gousse.

La durée de la période reproductrice est considérée comme étant le nombre de jours après l'apparition des premières fleurs jusqu'à la récolte finale (Kachache, 2005).

## I.2.7 Situation de la culture du pois chiche

### I.2.7.1 Dans le monde

Le pois chiche est principalement produit et consommé (95%) dans les pays en voie de développement (FAO, 2016).

Pendant les vingt dernières années, le pois chiche a été classé troisième légumineuse à grains la plus cultivée dans le monde, après le haricot sec et le petit pois (FAO, 2015).

L'Inde est premier producteur mondial de pois chiche (67% de la production totale). Les autres principaux producteurs de pois chiches au monde sont le Pakistan, la Turquie, le Mexique, le Canada et l'Australie (FAO, 2016).

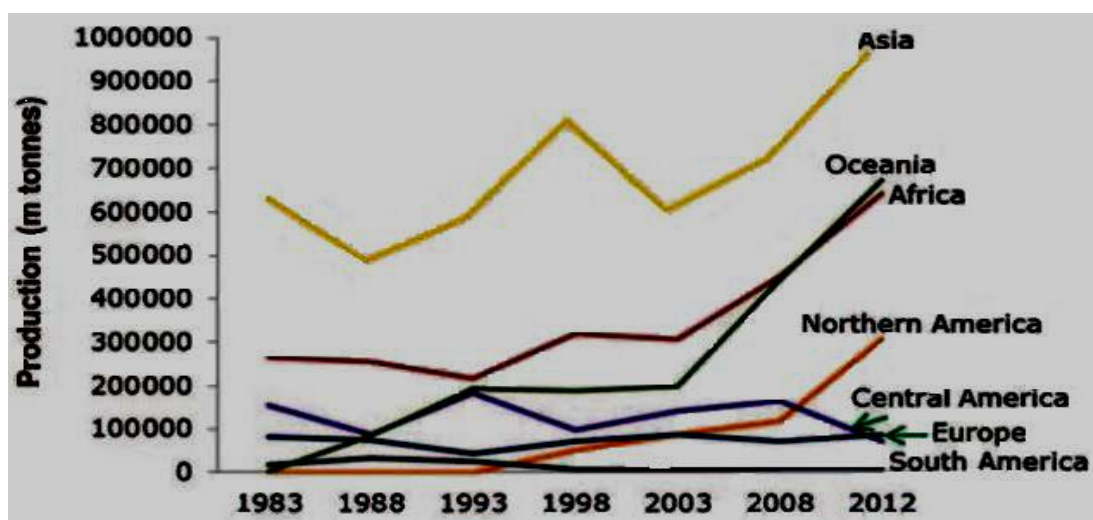
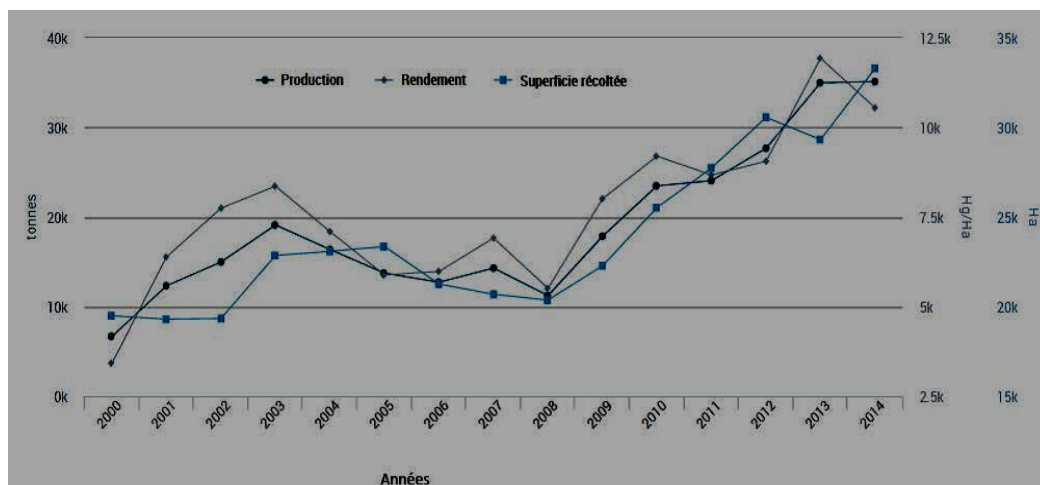


Figure 03: Evolution de la production de pois chiche dans le monde (Millan *et al.*, 2015).

### I.2.7.2 En Algérie

L'évolution des superficies, production et rendement En Algérie, le pois chiche constitue la seconde légumineuse cultivée après la fève (Abdelguerfi *et al.*, 2001).

Les rendements sont très variables d'une décennie à l'autre. Ils varient en moyenne de 3 à 7 q/ ha (Zine-Zikara *et al.*, 2015).



**Figure 04:** Evolution des superficies emblavées, de la production et du rendement du pois chiche entre 2000 et 2014 (FAO, 2015).

Au cours des 30 dernières années, le rendement est passé de 262 kg/ha à 936 kg/ha, mais cela reste trop faible par rapport aux besoins de la population. L'Algérie importe plus de 200% de sa production (66 000 tonnes) (Madrid *et al.*, 2015).

### 1.2.8 Intérêt du pois chiche

**Intérêt économique:** Le pois chiche est une importante légumineuse consommée à travers le monde spécialement dans le monde Afro-asiatiques (Kumar *et al.*, 2012).

**Tableau 01:** Rendement et production mondiale du pois chiche en comparaison avec d'autres cultures (compagne 2004-2005) (FAO, 2005)

Cultures	Rendements (kg/ha)	Production (Mt)
Mais	4.707	692.034.184
Soja	2.292	209.531.558
Haricots	0.709	25.419.286
Petits pois	1.757	20.721.735
Pois chiche	0.818	9.172.530
Lentille	1.007	4.031.837

**Intérêt agronomique :** La capacité symbiotique que possède le pois chiche d'utiliser l'azote atmosphérique pour sa croissance, leur rend comme culture préférable de l'agriculture durable en réduisant la dépendance au fertilisant azoté (**Babar et al., 2009 ; Khan et al., 2009; Hassan, 2006 ; Flandez-Galvez et al., 2003**).

Il a été également rapporté que cette culture réduit l'inoculum potentiel des maladies racinaires d'origine tellurique (**Flandez-Galvez et al., 2003**).

### I.2.9 Propriétés nutritionnelles du pois chiche

Le pois chiche constitue une source très importante de protéines végétales (**Ben Mbarek et al., 2009; Rekha et Thiruvengadam, 2009 ; Cherif et al., 2007 ; Hassan, 2006**), et comme tous les aliments végétaux il ne contient pas de cholestérol.

Le pois chiche renferme entre 20 % et 25% de protéines (**Cortes-Giraldo et al., 2016**), de teneur intéressante en matière grasse, sa composition minérale est riche en phosphore, calcium, magnésium, fer et de zinc (**Pratap et Kumar, 2011 ; Charly, 2008**).

De plus, il offre une quantité importante de vitamines B1, B2 et B9. Le pois chiche s'intègre bien aux régimes végétariens (**Charly, 2008**).

**Tableau 02:** Valeur nutritionnelle moyenne pour (100 g) de pois chiche  
(**Ciquel, 2013**)

Composés	Quantité	Composés	Quantité
Apport énergétique	1288Kj	Provitamine A	0180mg
Fibres alimentaires	15.5g	Vitamine B1	0.518mg
Protides	18.6g	Vitamine B2	0.134mg
Eau	8.77g	Vitamine B9	0.340mg
Cendre totales	2.94g	Vitamine C	5.1mg
Glucides	44.3g	Vitamine K	0.264mg
Amidon	41.89g	Calcium	124mg
Sucres	2.41g		
Lipides	5.92mg	Chlore	80mg

### I.2.10 Variétés cultivées en Algérie

Dans le monde, il existe de nombreuses variétés de pois chiche, plus de 20 mille variétés (Plancquaert et Wery., 1991).

Les principales variétés cultivées en Algérie (Tableau 03), sont du type Kabuli et Gulabi (ITGC, 2011).

**Tableau 03:** Les principales variétés cultivées en Algérie (ITGC, 2011).

Variétés locales	En multiplication	Nouvelles variétés introduites
Ain-Temouchent	Chetoui 1 (ILC 32 79)	Gab 4 (Flip 93 93 C)
Sabdou	Chetoui 2 (ILC 482)	Gab 5 (Flip 88 85 C)
Rabat 9	Flip 84 92 C	Flip 97 706 C

### I.2.11 Les principales maladies affectant le pois chiche

Les maladies pouvant affecté le pois chiche regroupent plus de cinquante espèces (Nene et al., 1991).

#### Les Nématodes

Des attaques au niveau des nœuds racinaires peuvent être provoquées par *Meloidogyne incognita* et *Pratylenchus thornei* (Zikara-Zine et Bouznad, 2007).

#### L'antracnose

L'antracnose ou brûlure ascochytiqque du pois chiche causée par *Ascochyta rabiei* (Sharma and Ghosh, 2016). Elle est remarquée au moment de la floraison et la formation des gousses, sous forme de patchs de plantes nécrosées dans le champ (Pande et al., 2010).

#### Le flétrissement

C'est une maladie causée par un groupe de champignons du genre *Fusarium oxysporum cicer* (ITGC, 2013), est considéré parmi les maladies les plus importantes sur pois chiche où des prospections réalisées dans les différentes régions du pays, ont révélé la forte présence de cette maladie (Bouznad et al., 1990).

**I.2.12 Utilisation médicinales**

Le pois chiche est très apprécié comme aliment de santé surtout dans les pays développés vu sa faible teneur en matières grasses et sa richesse en fibre (**Baumgartner, 1998**) En effet, il convient au régime alimentaire pour les patients souffrant de maladies coronariennes et cardiovasculaire et aux diabétiques du type 2 (**Trinidad et al ., 2010**).

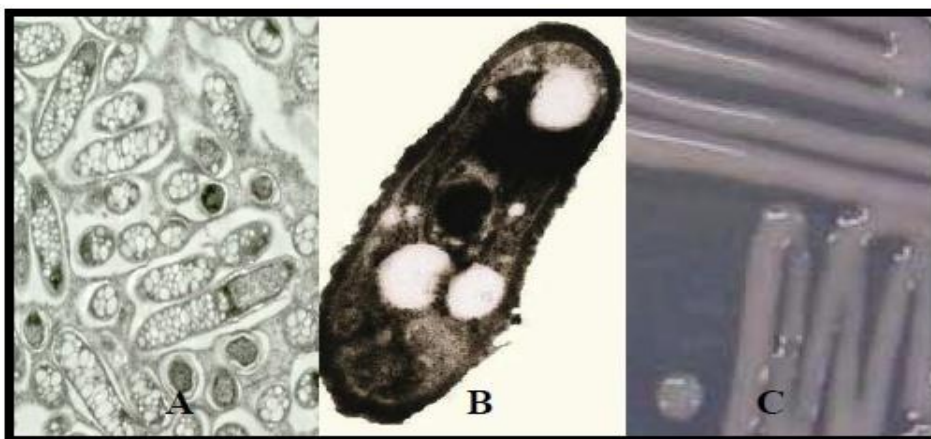
Il contrôle le taux de cholestérol et la tension artérielle (**Jukanti et al ., 2012**) et couvre largement les besoins nutritifs en acides aminés de l'homme adulte et de l'enfant (**Mansour,1996**).

## II Notion de Rhizobium

Les Rhizobiums sont des bactéries du sol, appartenant à la famille des Rhizobia, ils sont des Gram négatif, strictement aérobies, possédant une forme de bâtonnets de 0,6 à 0,9  $\mu\text{m}$  de largeur et de 1,2 à 3  $\mu\text{m}$  de longueur et non sporulant (Jordan, 1984).

Leur croissance est optimale à une température de 28 °C et un pH entre 6 et 7 (Hopkins, 2003).

Les rhizobiums sont capables d'induire la formation des nodules chez les légumineuses. Ces bactéries symbiotiques échangent des signaux moléculaires avec la plante hôte qui lui confère les sucres et son partenaire bactérien aboutissant à la formation des nodosités, dont lesquelles il réduit l'azote atmosphérique en ammoniac (Yaw Boakye *et al.*, 2016), directement assimilable par les plantes hôtes (Moulin *et al.*, 2001).



**Figure 05 :** les aspects microscopique et macroscopique des rhizobia  
A –les rhizobia sous forme de bactéroïde vu au microscope électronique (Dommergues et Mangenot, 1970). B-forme de *bradyrhizobium japonicum* à l'état libre vu au microscope électronique (Sadowsky et Graham, 2006). C-Aspect des colonies de *rhizonium* sur milieu YEM gélosé (Sekkour, 2008).

### II.1 Caractères biochimiques

Les caractères biochimiques évaluent la présence et/ou l'activité de différents enzymes tels que le glutamate déshydrogénase, la nitrate réductase, l'uréase, le glucose 6 phosphate déshydrogénase, l'adénylate kinase et l'indole- phénol oxydase, ainsi que d'autres enzymes

impliqués dans les voies métaboliques d'assimilation des substrats carbonés (**El-Hilali, 2006**). Les rhizobiums à croissance rapide présentent un spectre d'assimilation très large vis-à-vis des substrats carbonés par rapport aux rhizobiums à Croissance lente (**Graham, 1963**).

Cependant la majorité des souches à croissance lente préfèrent le pentose. Les rhizobiums n'assimilent pas l'azote en dehors de la plante hôte et ont besoin d'une source d'azote ammoniacal ou aminé pour leur développement à l'état libre (**Pelmont, 1995**).

## **II.2 Taxonomie**

Rhizobia est un terme qui a été donné aux bactéries du sol qui sont capables d'induire des nodules sur les légumineuses, et d'y fixer l'azote atmosphérique en symbiose.

Actuellement on préfère substituer au terme de « rhizobia », qui est un terme dérivé du nom du genre *Rhizobium*, le terme de BNL (**Zakhia et al., 2004**). En effet, des bactéries appartenant à différents genres et classes taxonomiques sont aujourd'hui connues pour leur capacité symbiotique. (**Benhizia et al. 2004**).

Les Rhizobia sont divisés en 40 espèces et 07 genres (**Moulin et al. 2001**), forment actuellement l'ensemble des bactéries connues comme symbiotes de légumineuse (**Zakhia et De Lajudie, 2001; Moulin et al., 2001; Chen et al., 2001; Ngom et al., 2004**).

### **II.2.1 Classification des Rhizobia**

Les recherches récentes indiquent que la diversité des rhizobia, comme celle de tous les autres micro-organismes (**Amarger, 2001**).

La classification des rhizobia a subi de nombreuses modifications ces dernières années Le (tableau 4) tente simplement de refléter l'état des connaissances actuelles sur la classification des rhizobia (**Gharam, 2008**).

Tableau 4: Classification des rhizobia (Graham, 2008)

Genres	Espèces	Plantes hôtes
<i>Allorhizobium</i>	<i>A. undicola</i>	<i>Neptunia natans</i> ,  <i>Acacia</i> , <i>Faidherbia</i>
<i>Azorhizobium</i>	<i>A. caulinodans</i> <i>A. doebereineriae</i>	<i>Sesbania virgata</i> <i>Aeschynomene indica</i>
<i>Blastobacter</i>	<i>B. denitrificans</i>	<i>Chamaecytisus</i> , <i>lupinus</i>
<i>Bradyrhizobium</i>	<i>B. canariense</i>	<i>Glycine max</i>
<i>Mesorhizobium</i>	<i>M. ciceri</i> <i>M. mediterraneum</i>	<i>Cicer arietinum</i>
<i>Ralstonia (cupriavidus)</i>	<i>R. taiwanesis</i>	<i>Mimosa</i>
<i>Sinorhizobium</i>	<i>S. abri</i>	<i>Abrus precatorius</i>
<i>R. leguminosarum</i>	<i>bv trifolii</i>	<i>Trifolium</i>
<i>Rhizobium</i>	<i>R. etli</i>  <i>R. huautlense</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i> , <i>Mimosa affinis</i>  <i>Desmanthus</i>

### II.3 La relation symbiotique

La symbiose Rhizobium-légumineuse est le résultat d'une interaction hautement spécifique entre la plante et la bactérie (Perret *et al.*, 2000).

La symbiose se caractérise par la présence d'organes particuliers, situés au niveau des racines, appelés nodosités au sein des quels la bactérie réduit l'azote atmosphérique en ammoniac, assimilable par la plante (Foucher et Kondorosi, 2000).

#### II.3.1 Génétique de la Fixation

Certaines bactéries fixant l'azote vivent en liberté, mais la plupart des espèces symbiotiques comme le genre Rhizobium vivent au sein de nodosités spécialisées sur les racines de légumineuses. La formation de ces nodosités exige une collaboration génétique intime entre les bactéries et la plante (Michelle, 2006).

**II.3.1.1 Les flavonoïdes**

Du latin (flavus, jaune) sont des substances généralement colorées très répandues chez les végétaux (**Guinard, 2000**).

Les flavonoïdes sont des substances phénoliques émises par les racines des légumineuses, ces substances sont très importantes du point de vue symbiotique (**Boukli, 2006**), Ce sont les principaux signaux émis par la plante hôte et perçus par les rhizobiums dans le sol (**Taylor et Grotewold, 2005**).

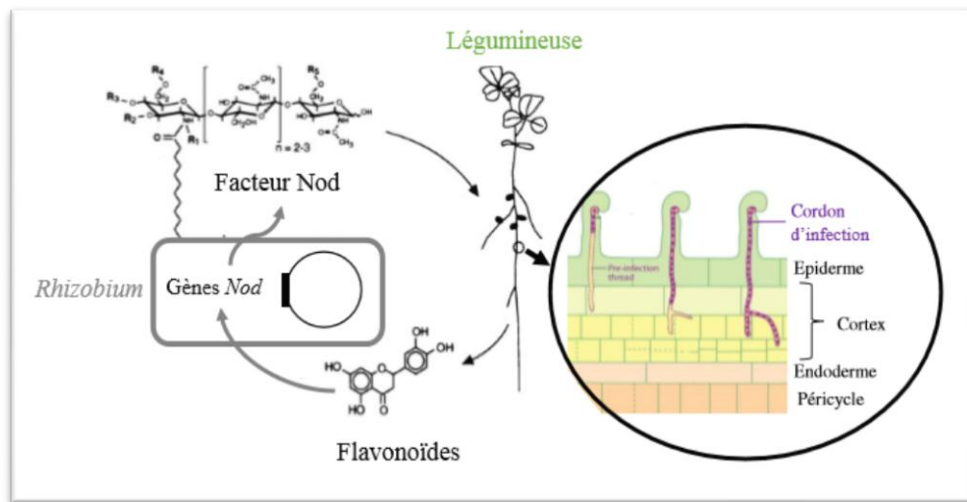
Dans l'interaction rhizobium-légumineuse, les flavonoïdes induisent l'expression des gènes bactériens nod, nécessaires à la production de molécules symbiotiques essentielles à la nodulation: les facteurs Nod (**Peters et al., 1986; Peters et Long, 1988**).

**II.3.1.2 Les facteurs Nod**

Facteurs Nod L'identification du signal Nod, qui lance le dialogue moléculaire entre les légumineuses et leur rhizobia, est une étape essentielle dans la nodulation (**Terefework, 2002**).

Facteurs nod sont des lipo-chito-oligosaccharides (LCOS) produits par des différents gènes (**Perret et al., 2000**). La biosynthèse et la sécrétion des facteurs Nod sont l'expression de gènes de nodulation où les gènes nodABCD (**Debelle et al., 2001**).

- Les gènes régulateurs (nod D) qui codent la synthèse des protéines constituant le facteur de transcription (**Hrish, 1992 ; Denerie et al., 1996**).
- Les gènes communs (nod A, B, C) qui codent pour les enzymes catalysant la synthèse des facteurs nod (**Long, 1996**).
- Les gènes spécifiques qui codent pour les substitutions et les sécrétions des facteurs nod (**Long, 1996**).
- Les facteurs nod induisent la déformation des poiles racinaires, la division corticales des cellules et enfin la formation de nodule primordium.

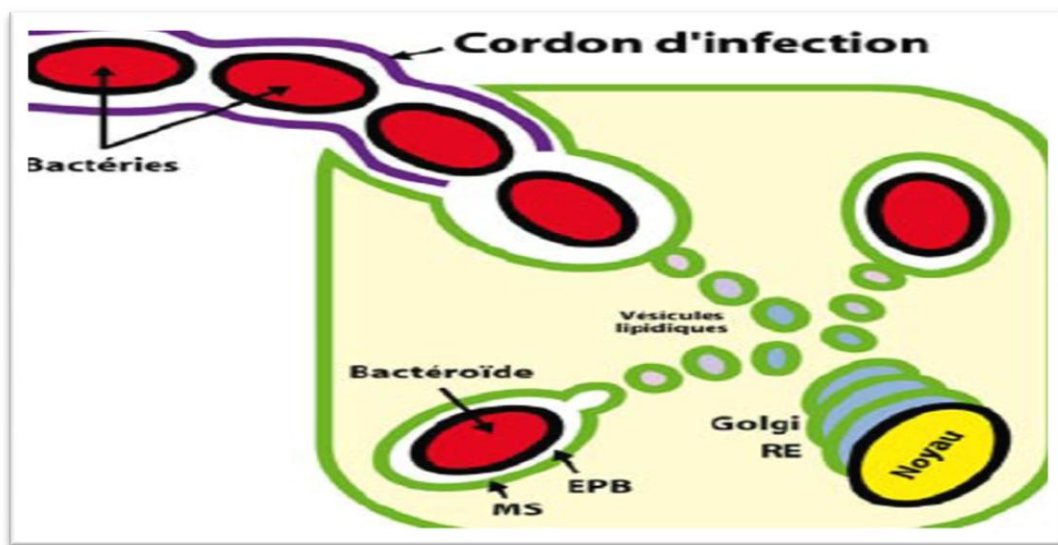


**Figure 6 :** Echange de signaux lors d’une symbioserhizobienne-légumineuse (Schultze et Kondorosi, 1998; Oldroyd *et al.*, 2011).

**II.3.2 Processus de la nodulation**

**II.3.2.1 Formation des bactéroïdes**

L’envahissement des bactéries dans des cellules de la plante hôte est débuté par la formation d’une gouttelette d’infection. Les gouttelettes d’infection peuvent former au bout des fils intracellulaires courts d’infection. Les bactérioses mûrs de membrane de cellules de la plante continuent à accumuler de grandes quantités de PHB ou polyhydroxybutyrate (Juergen *et al.*, 2006).



**Figure07 :** Infection intracellulaire et différenciation du Symbiosome chez les légumineuses (Patriarca *et al.*, 2004).

### II.3.2.2 Les étapes de nodulations

La nodulation est considérée comme la première caractéristique de l'association symbiotique (**Figueiredo et al., 2008 B; Lohar et al., 2009**), et ce développement se fait selon les étapes suivantes: pré-infection, l'infection, le développement et la formation des nodules .

- **Pré-infection**

C'est la phase préliminaire qui détermine la spécificité symbiotique entre les rhizobia et les légumineuses suite à un échange des signaux moléculaires ciblant le système racinaire de la plante hôte (**Yang et al., 2010**).

En condition de carence en ions ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ), les plantes produisent des flavonoïdes (molécules signales) au niveau de leurs racines (**Patriarca et al., 2004; Cooper, 2007**) induisant l'expression de gènes chez la bactérie, conduisant notamment à la production de composés lipochito oligosaccharidiques.

Les facteurs Nod induisent des modifications morphologiques, physiologiques et moléculaires chez la plante hôte. La déformation du poil racinaire est observée environ 12 à 24 heures; les poils absorbants changent leur direction de croissance et forment une structure en crosse de berger, courbés, renflés, entrelacés, déformés, branchés ou joints qui enferme les *Rhizobium* (**Wais et al ., 2002**) .

- **Infection**

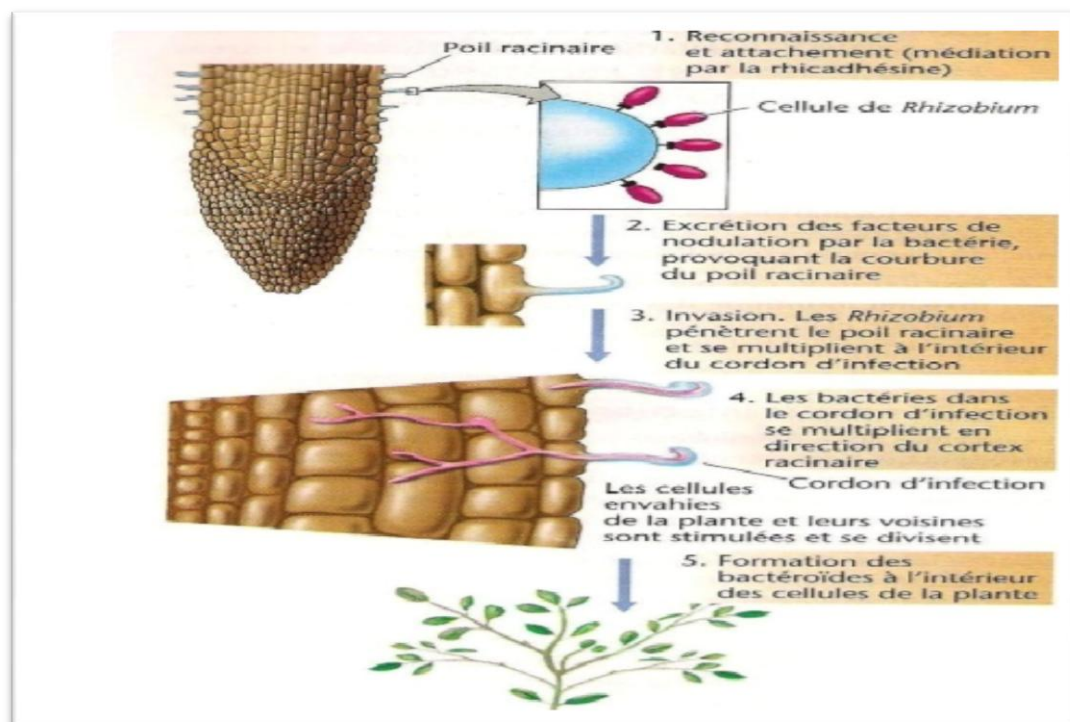
L'infection débute juste après que le rhizobia s'attache aux racines de la plante hôte, cette infection se fait en deux voies: voie intracellulaire à travers des poils absorbants ou des blessures et voie intercellulaire lorsque les bactéries pénètrent dans les cellules radiculaires par des filaments infectieux (**Estrada-Navarrete et al., 2016**), puis elles deviennent des bactéroïdes capables de fixer l'azote atmosphérique (**Spraink et Blodergoen, 1998**). Enfin la croissance des nodosités se poursuit dans les régions infectées.

- **Développement et formation des nodules**

L'infection de la plante par le *Rhizobia* induit la différenciation et la division des cellules du cortex (**Foucher et Kondorosi , 2000**).

De ce fait une structure appelée prénodule est observées, ce prénodule contient beaucoup des cellules corticales infectées par la bactérie fixatrice d'azote, puis un primordium nodulaire est initié suit à des divisions dans une zone proche du prénodule (**Geurts et Franssen, 1996**).

Un nodule mature est constitué de plusieurs lobes nodulaires chacun possédant une vascularisation centrale et un cortex divisé en trois zones: zone méristématique, zone d'infection et une zone pour la fixation d'azote (**Benabdour et al., 2012**).



**Figure 08** : Les étapes de la formation d'un nodule racinaire chez une légumineuse infectée par rhizobia (**Madigan et Martinko , 2007**).

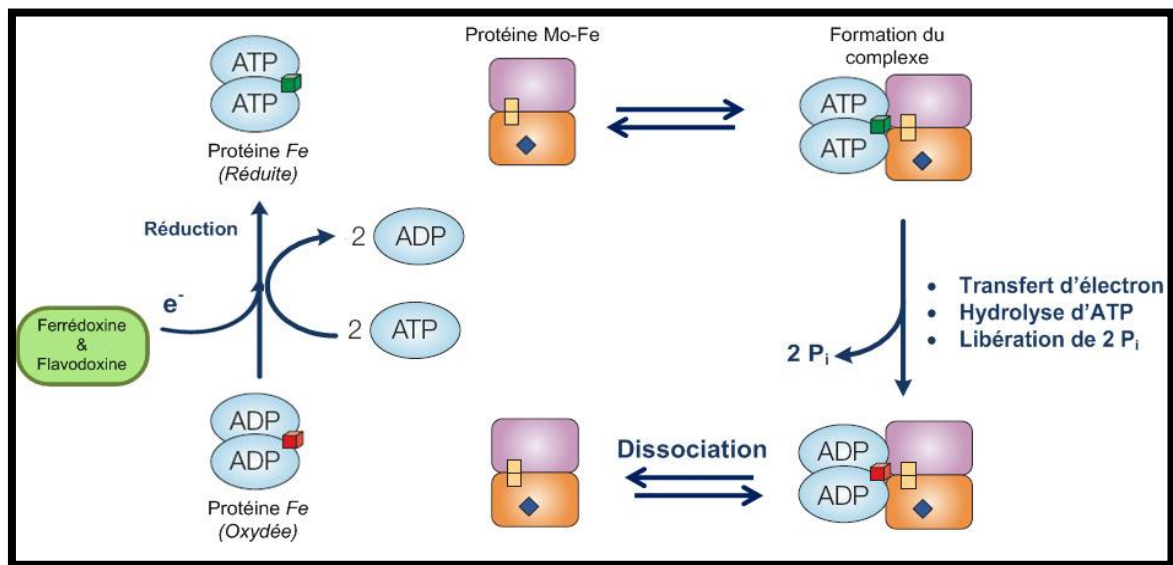
#### II.4 La nitrogénase et son fonctionnement

La fixation biologique de l'azote atmosphérique est catalysée par un complexe enzymatique appelé complexe nitrogénase (**Rees et Howard, 2000**). La nitrogénase (nif, pour la fixation de l'azote), est présent dans une grande variété de bactéries du sol, mais pas dans les plantes ni chez les animaux, ne fonctionne que dans des conditions anaérobies, car le système enzymatique est inactivé de manière irréversible par l'oxygène. Il est énergétiquement coûteux et il nécessite 16 molécules d'ATP (**Deacon, 2013**).

La fixation du N<sub>2</sub>, transformé en NH<sub>3</sub> est opérée lors de la réaction suivante :



La réaction requiert un donneur d'électrons en plus de l'adénosine triphosphate (ATP). Les électrons sont générés de différentes manières dépendamment du métabolisme de l'organisme (Cheng, 2008). Ces électrons sont transférés directement à la flavodoxine ou à la ferrédoxine, transporteurs qui assurent le transfert des électrons de la protéine Fe de la nitrogénase et un cycle de réactions d'oxydo-réduction démarrera en conséquence (figure9) (Dixon *et al.*, 2004; Cheng, 2008). En effet, la compréhension du mécanisme d'action de la nitrogénase s'est amélioré après la détermination de la structure cristallographique des protéines Fe et MoFe (Ferguson 1998; Rees *et al.* 2000; Dixon *et al.* 2004) ainsi que celle du complexe formé entre les deux protéines sous forme stabiliser (Dixon *et al.*, 2004). Alors, deux molécules de Mg ATP vont se lier à la protéine Fe réduite puis elles vont être hydrolysées pour qu'il y ait un transfert d'un électron de la protéine Fe à la protéine MoFe.



**Figure09:** Mécanisme d'action de la nitrogénase (Dixon *et al.*, 2004) .

La réduction de N<sub>2</sub>, qui se fait en plusieurs étapes, se déroule réellement au niveau de la protéine MoFe. Chaque atome d'azote fixé nécessite le transfert de six électrons ce qui fait un total de 12 molécules d'ATP pour une seule molécule de N<sub>2</sub>. Cependant, la nitrogénase réduit aussi les protons en H<sub>2</sub> donc elle a besoin ainsi de deux électrons supplémentaires.

Le bilan total s'élève alors à 8 électrons transférés et 16 molécules de MgATP hydrolysées (**Cheng, 2008**).

### **II.5 La leghémoglobine**

C'est une chromoprotéine qui est responsable de la coloration rouge du contenu nodulaire de certaines légumineuses, elle n'est présente que dans les nodules fixateurs d'azote (**Blandreau, 1980**).

Le complexe nitrogénase est extrêmement sensible à l'inactivation par O<sub>2</sub>. La leghémoglobine abaisse considérablement la concentration d'O<sub>2</sub> libre dans les nodules de la plante en le fixant; l'oxygène fixé par la leghémoglobine n'est plus libre dans les nodules et ne peut donc plus interagir avec la nitrogénase pour l'inhiber (**Brewin *et al.*, 1992**).

### III La nutrition azotée

La nutrition azotée des légumineuses est d'autant plus difficile à étudier qu'elle résulte de la combinaison de deux voies très différentes : la fixation de l'azote atmosphérique et l'assimilation de l'azote minérale. La participation de chacune à l'alimentation en azote de la plante, varie beaucoup selon les espèces et les conditions de culture, comme en témoigne la forte variabilité des pourcentages d'azote fixé (**Wery, 1983**).

#### III.1 L'azote

L'azote est un élément-clé de la nutrition des cultures à travers son rôle dans l'élaboration des protéines et de la chlorophylle (**Hopkins, 2003**).

L'azote joue un rôle essentiel dans la synthèse de la matière vivante à partir de la matière minérale (**Cleland et Harpole, 2010**).

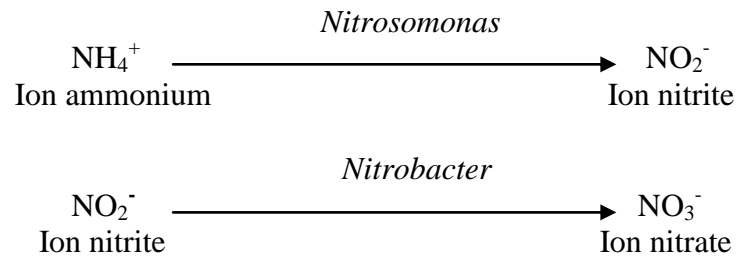
Les quantités d'azote assimilables par les plantes dans les sols sont faibles alors que cet élément constitue souvent, avec le manque d'eau et de phosphate, un principal facteur limitant la croissance des végétaux (**Cleland et Harpole, 2010**), Il représente environ 2% des matières sèches totales de la plante qui pénètre la chaîne alimentaire. Néanmoins, les plantes ne peuvent pas accéder directement au gaz dinitrogène ( $N_2$ ) qui représente environ 80% de l'atmosphère, Elles absorbent l'azote disponible dans le sol à travers leurs racines sous forme d'ammonium et de nitrates (**Santi et al., 2013**).

#### III.2 le cycle de l'azote

Dans ce cycle, trois processus de base sont impliqués dans le recyclage de l'azote atmosphérique: la fixation de l'azote diatomique ( $N_2$ ), la nitrification et la dénitrification

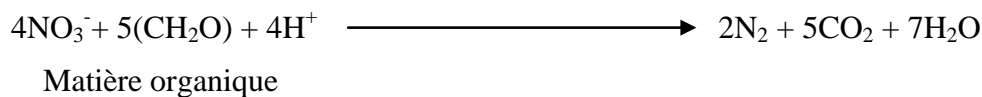


Selon les équations suivantes:



### III.2.3 La dénitrification

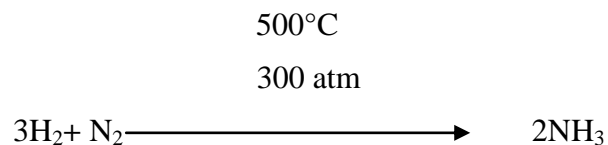
Il s'agit d'une réaction de réduction de ( $\text{NO}_3^-$ ) par l'intermédiaire des microorganismes tels que (*Pseudomonas*, *Paracoccus*,...) qui réduisent les nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) en azote atmosphérique ( $\text{N}_2$ ) (**Pujic, 2009**). Ce processus nécessite la présence des matières organiques suivant l'équation:



### III.3 La fixation d'azote

#### III.3.1 Fixation industrielle de l'azote

La fixation industrielle ou artificielle s'effectue grâce au procédé de Haber-Bosch, qui consiste à synthétiser l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) par hydrogénation du diazote ( $\text{N}_2$ ) gazeux atmosphérique avec le dihydrogène ( $\text{H}_2$ ) gazeux, suivant l'équation :



Ce processus est très coûteux, car il nécessite environ 2 à 3 tonnes de pétrole pour produire une tonne d'engrais azoté par ce procédé. Environ 80 à 109 Kg d'ammoniac sont fabriqués chaque année par ce processus (**Benabdour et al., 2012**).

#### III.3.2 La fixation biologique

La fixation biologique de l'azote est un processus qui permet de produire des substances protéiques à partir de l'azote gazeux présent dans l'atmosphère de l'environnement. C'est le processus de réduction enzymatique de l'azote atmosphérique ( $\text{N}_2$ ) en azote ammoniacal ( $\text{NH}_3$ ), cette forme d'azote combiné représente la fin de la réaction de

fixation et le début de l'incorporation de l'azote fixé dans le squelette carboné (**Hopkins, 2003**).

La fixation biologique de l'azote joue un rôle essentiel dans le cycle de l'azote dans l'écosystème. Plusieurs types de bactéries fixatrices d'azote sont connues telle que les bactéries vivantes dans le sol ou dans l'eau, des bactéries symbiotiques produisant des nodules racinaires dans des légumineuses (**Ohyama, 2014**).

#### **III.3.2.1 La fixation libre d'azote**

Elle est réalisée par des bactéries dites diazotrophes qui sont des bactéries libres vivant dans le sol et ayant la capacité de fixer librement l'azote grâce à un enzyme qui appelée la nitrogénase (enzyme identique chez tout les bactéries fixatrice d'azote) (**Soltner, 2007**)

#### **III.3.2.2 La fixation symbiotique de l'azote**

La fixation biologique de l'azote est définie comme un processus par lequel les bactéries du sol transforment l'azote inerte de l'air en une forme d'azote assimilable par la plante (**Lindemann et Glove, 2003**). Lors de ce processus l'azote atmosphérique (N<sub>2</sub> ou diazote) est transformé en ammoniac (**Ricklefs et Miller, 2005 ; Rose et Mueller, 2006**).

Ce processus résulte de l'activité d'une enzyme qui s'appelle la nitrogénase (**Prescott et al., 2003; Maier et al., 2009**).

### **III.4 Importance de l'azote dans la nutrition des plantes**

L'azote est l'un des éléments nutritifs majeurs utilisés par les plantes. C'est le quatrième constituant des plantes qui est utilisé dans l'élaboration de molécules importantes comme les protéines, les nucléotides, les acides nucléiques et la chlorophylle (**Epstein, 1972**).

L'azote considéré comme un élément constitutif des végétaux, le plus important après le carbone et qui doit être sous une forme assimilable pour les plantes, c'est pour cette raison que les plantes établissent des relations symbiotiques avec des bactéries (rhizobia) capables de fixer et réduire l'azote atmosphérique grâce à un complexe enzymatique (nitrogénase) au sein des nodules (**Fossou et al., 2012**).

L'azote (N) est un facteur limitant pour la croissance et le rendement des plantes, en raison de sa faible disponibilité dans le sol, cet élément est un composant essentiel des cellules au niveau structurel, génétique et métabolique, participant à beaucoup de processus de croissance et développement de la plante, parmi les processus biologique fixateurs d'azote

le plus étudiés est celui qui met en évidence l'association des légumineuses avec les Rhizobium (Perret *et al.*, 2000).

### **III.5 La Spécificité d'hôte**

Il y'a une forte spécificité dans la symbiose entre les légumineuses et le Rhizobium, ce dernier est un genre de bactéries qui survit universellement dans le sol, ils colonisent les cellules des légumineuse dans des nodules de racine et fixe l'azote atmosphérique pour le transformer en ammoniacque (Takashi, 2014).

La formation de la symbiose légumineuse-rhizobium exige l'infection réussie des racines des légumineuses avec des rhizobia dans des cellules de la plante, où les bactéries favorisent la formation d'un nodule, dans lequel l'azote atmosphérique est fixé par les Rhizobium aux dépend des ressources énergétiques de la plante (Glyan'koet *et al.*, 2013).

## **I Dispositif expérimental**

### **I.1 Site**

Le travail expérimental s'est déroulé dans la pépinière de Kais qui se situe à 14 Km au sud de la Wilaya de Khenchela (culture en champs), campagne agricole 2017/2018.

### **I.2 Station pépinière Kais**

Il s'agit d'une opération de plantation des 04 variétés du pois chiche sur une parcelle de terrain d'une surface de 200 m<sup>2</sup> ( 21.5 m x 8.5 m) pendant le mois de janvier 2018, avant la mise en place des bassins de culture , la préparation du terrain de laboure s'effectue comme suit:

Les travaux de laboure été effectués à 30 jusqu'à 45 cm de profondeur par un tracteur en mois d'Aout 2017.

Le Hersage au moyen du Roto herse qui permet le traçage des sillons en mois de décembre 2017.

Le traçage des bassins de semis.

L'Ensemencement des grains de pois chiche selon le plan de semi le 10 janvier 2018.

Un premier désherbage manuel en mois d'Avril 2018.

La collecte des échantillons **phase 02 floraison** en mois d'Avril 2018.

La collecte des échantillons **phase 04 remplissage des gousses** en mois de Juin 2018.

Séchage des échantillons collectés de chaque phase à l'abri de la lumière, pour analyse.

#### **I.2.1 Situation géographique de la région d'étude**

La région sud de Kais est située à l'ouest de la wilaya de khenchela. Occupe une:

Superficie totale de 360000 ha

Superficie agricole totale de 359500 ha

Et une superficie agricole utile de 77609 ha .Dont la superficie légumineuse est de 450ha.



**Figure 11:** Situation géographique de la zone de **Kais** (DPAT, 2016).

### **I.2.2 Caractères climatiques**

Le climat de la zone sud de Kais est de type semi-aride à hiver doux dans les forêts, pour arriver à un climat aride et sec au niveau des oasis du sud.

Pour étudier les paramètres climatiques de la zone d'étude, nous avons exploité les données recueillies au niveau de la station météorologique de El HAMMA qui reste la seule station fonctionnelle et la plus proche de nos sites d'étude ce qui nous a permis d'extrapoler les données collectées(Annexe2).

### **I.2.3 Synthèse climatique.**

Pour caractériser le climat de la présente région d'étude et de préciser leur position à l'échelle méditerranéenne, le diagramme Ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN et le climat gramme pluviothermique d'EMBERGER sont utilisés (Annexe2)

### I.3 Caractéristiques des variétés de pois chiche étudiés

Il s'agit des variétés suivantes: **FLIP 85-55, FLIP 84-92, ILC 32-79, GAB 40**

**Tableau 05** : Origines et caractéristiques des variétés du pois chiche étudiées

(Source I.T.G.C El Khroub)

Variétés	FLIP 85-55	FLIP 84-92	ILC 32-79	GAB 40
Origine	Icarda-Syrie	Icarda-Syrie	Stepnoj Ex URSS	Stepnoj Ex URSS
<b>Caractéristiques Culturelles</b>				
Cycle végétatif	Tardif	Semi tardif	Non tardif	Semi tardif
Floraison		130 jours	150 jours	130 jours
Maturité		168 jours	210 jours	200 jours
<b>Caractéristiques Morphologiques</b>				
Ramification	Moyen à fort	Forte	Faible	Forte
Port de la plante		Semi érigé	Erigé	Semi érigé
Hauteur d'insertion de la 1 <sup>ère</sup> gousse		23 cm	30 cm	35 cm
Hauteur de la plante		52 cm	70 cm	52 cm
Couleur de la fleur	Blanche	Blanche	Blanche	violet
Nombre de gousse par plante		170	120	170
Taille de la gousse	Grande	Moyenne	Petite	Moyenne
Nombre de grains par gousse		1	1	1
Déhiscence des gousses		Sans	Néant	Sans
Couleur du grain	Jaune	Beige	Beige	Beige
Forme du grain	Ronde	Angulaire	Ronde	Angulaire
Taille du grain	Grande	Moyenne	Petite	Moyenne
<b>Comportement à l'égard des aléas climatiques</b>				
Gelée	Tolérante	Tolérante	Tolérante	Tolérante
Froid		Tolérante	/	Tolérante
Sécheresse		Tolérante	/	Tolérante
Verse physiologique	Résistante	Résistante	/	Résistante
<b>Productivité</b>				
Rendement	Elevé	33.06 Qtx/Ha	26.50 Qtx/Ha	40 Qtx/Ha

## II Matériels et méthodes

### II.1 Matériel végétal

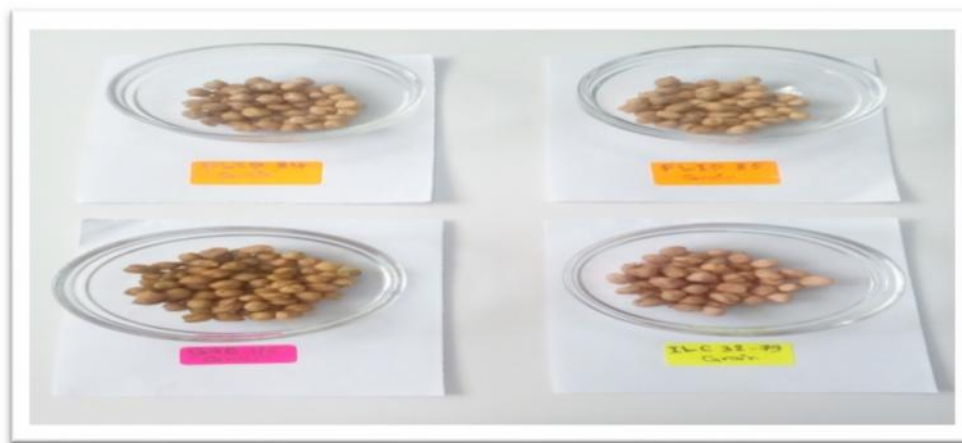
Notre travail a porté sur la plante *cicer arietinum* L (le nom commun est le pois chiche), appartenant à la famille des *fabacées*, récolté. Cette légumineuse est récoltée en mois d'avril 2018 au niveau de la pépinière de Kais- Khenchela.

La partie aérienne (tiges et feuilles) et la partie souterraine (les racines) de la phase de floraison et les graines des quatre variétés du pois chiche sont séchées, conservées dans des sachets en papier à l'abri de la lumière et de l'humidité broyées à l'aide d'un broyeur.

Les poudres végétaux récupérées sont conservés dans des petits sacs le broyat va constituer la matière sèche qui va servir à l'extraction et le dosage d'azote totale.



**Figure 12:** Récolte, séchage des 04 variétés du pois chiche durant la phase de floraison



**Figure13:** Séchage des grains des 04 variétés du pois chiche.

## II.2 Dosage de l'azote totale

L'azote totale à été dosé selon la méthode de **kjeldhal**.

Cette méthode connue depuis 1883, repose sur la destruction des matières organiques par l'acide sulfurique concentré.

### ➤ La méthode kjeldhal dans la bibliographie

La méthode de dosage de l'azote Kjeldhal est ancienne. Elle date de 1883 (1<sup>ère</sup> publication dans le *Chemical Analysis*) et a été créée par un scientifique suédois du même nom, dans le domaine agroalimentaire.

Relativement simple, elle s'est très vite répandue pour s'adapter à différentes applications, principalement l'agroalimentaire et la médecine (**Hepburn, 1908**). Les différentes étapes de la méthode Kjeldahl sont (**Keys, 1939**)

- **1<sup>ère</sup> étape : minéralisation**

Quand l'azote est sous forme organique, il faut d'abord procéder à la minéralisation du composé pour passer à de l'azote minéral (**Nozawa, 2005**). La molécule organique est détruite par oxydation lors d'une ébullition avec de l'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentré, en présence de catalyseur : le carbone s'élimine sous forme de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>), l'hydrogène sous forme d'eau et l'azote reste en solution sous forme d'ion ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>).

Équation de minéralisation :



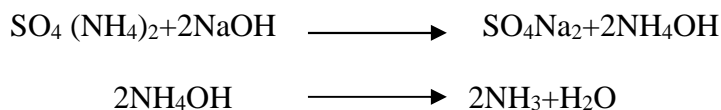
Le pH acide permet au sel d'ammonium d'apparaître sous sa forme acide de l'ammonium NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

La dégradation de la matière organique azotée se fait à l'aide d'un catalyseur et de l'acide sulfurique à haute température.

- **2<sup>ème</sup> étape : distillation**

La deuxième étape est la distillation à froid de l'ammonium par l'ajout d'un excès de soude : le but est de transformer l'ammonium sous sa forme volatile, l'ammoniac.

L'équation de distillation



La soude est ajoutée en excès afin de changer le pH acide en un pH basique, ce qui a pour effet d'obtenir de l'ammoniac. L'ammoniac  $\text{NH}_3$  est entraîné par la vapeur d'eau pendant la distillation. Les vapeurs d'ammoniac sont ensuite condensées au contact d'un réfrigérant.

L'eau piège ainsi l'ammoniac sous forme d'hydroxyde d'ammonium.

Équation de rétention de l'acide :

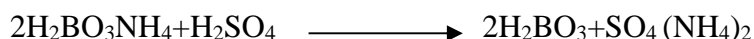


- **3<sup>ème</sup> étape : le titrage proprement-dit**

La troisième étape est le titrage colorimétrique direct de l'ammoniac complexé avec de l'acide borique par une solution titrant d'acide sulfurique.

Les vapeurs d'hydroxyde d'ammonium sont recueillies dans une solution contenant un indicateur coloré et de l'acide borique. L'acide borique est un acide faible qui se complexe avec l'hydroxyde d'ammonium.

Equation de complexation:



L'équivalence est visible par le virage de l'indicateur coloré du vert au rose. L'acide borique est un acide faible, il ne libère pas d'ions  $\text{H}^+$  et n'interfère donc pas avec le pH.

➤ **Mode opératoire**

Il se décompose en plusieurs étapes : une préparation, la minéralisation des échantillons, la distillation et enfin le titrage.

- **Étapes préliminaires**

Le minéralisateur a été allumé sur le thermostat 7 (410 °C), et attendre au moins 15 min avant de mettre le support et les 6 tubes à essai spécifiques et 0.3g de l'échantillon à doser ont été Pesé pour le déposer dans les tubes à essai. (Laura ,2011).

- **Minéralisation : transformation des composés azotés en ammoniac**

12 ml l'acide sulfurique  $H_2SO_4$  ont été ajoute avec 2.7g de catalyseur en poudre (mélange de sulfate de cuivre et sulfate de potassium ( $CuSO_4$  et  $K_2SO_4$ )). Puis les tubes ont été place dans le minéralisateur et branché au système d'évacuation des gaz, le scrubber.

La minéralisation doit être poursuivre jusqu'au changement de couleur (couleur paille), (Laura ,2011).



**Figure14** : Minéralisation de l'échantillon

- **Distillation : extraction de l'ammoniac de l'échantillon.**

5 gouttes de phénolphtaléine dosée à 1 % ont été ajoute dans les matras

Ce colorant est utilisé pour savoir si l'ajout de soude est suffisant dans l'étape de distillation.

Il est incolore en milieu acide et vire au rose violet lorsque le milieu devient basique.

Doit être ouvrir l'alimentation en eau avant l'allumage de distillateur.

Doit être faire un tour de nettoyage du distillateur de 5 minutes avec un tube d'eau distillée et sans ajout de soude. Le tube a été Branche sur le distillateur et un béccher a été place en sortie contenant 5mL d'acide borique à 4% et 5 gouttes d'indicateur coloré(Tashiro).

La soude (NaOH) a été ajoute jusqu'à ce que la phénolphtaléine vire au rose (environ 3 fois le volume d'acide). Elle neutralise l'acide du mélange minéralisé.

La distillation a été lancée pendant 5 minutes. Il est important de vérifier que l'alimentation en eau est ouverte. De la vapeur d'eau injectée va extraire l'ammoniac de l'échantillon.

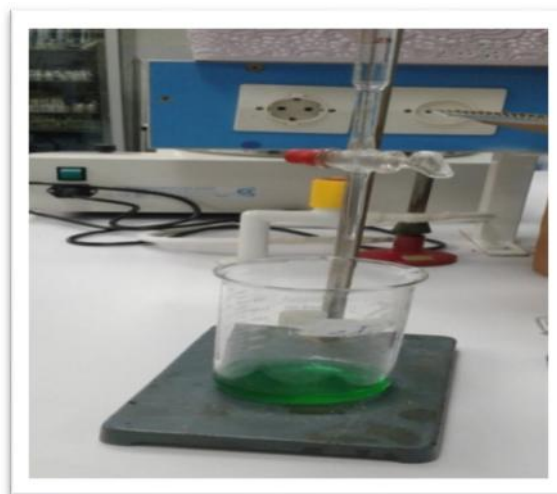
L'acide borique réagit avec l'ammoniac pour former une nouvelle espèce qui sera dosée ensuite. L'indicateur coloré, violet dans l'acide borique, vire au vert lorsque l'ammoniac s'ajoute (**Laura ,2011**).



**Figure15** :l'étape de la distillation

- **Titration de l'ammoniac**

Après distillation, récupérer le bécher d'acide borique. Faire un titrage avec une solution titrant d'acide chlorhydrique à 0,5 mol/L .Noter le résultat du titrage lorsque l'indicateur vire au rose franc (**Laura ,2011**).



**Figure16** : Titration de distillat par l'acide chlorhydrique.

### II.3 Expression des résultats

La teneur en azote Kjeldahl (N) est exprimée en milligrammes par Gramme de matières sèches et est donnée pour le titrage de la totalité du distillat par l'équation suivant

$$N = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times 14.01}{m \times WDR} \times 100$$

Où

**c** est la concentration de l'acide chlorhydrique en moles par litre.

**V<sub>1</sub>** est le volume de titrage en millilitres

**V<sub>2</sub>** est le volume de titrage de l'essai à blanc, en millilitres

**m** est la masse de l'échantillon sèche prélevé pour la minéralisation, en grammes

**W<sub>DR</sub>** est la teneur en matière sèche de l'échantillon exprimée en pour cent

**14,01** est la masse atomique de l'azote

### II.4 Teneur des protéines dans le pois chiche

La transformation des résultats en poids de protéine s'obtient en multipliant la quantité d'azote déterminée par un facteur adéquat: on prend la teneur en azote multipliée par 6,25 (Cerbulis et Farrell, 1975;Combe, 1991).

## II.5 Mesure de l'activité nitrogénasique

Au cours de notre expérimentation nous avons utilisé la méthode « in situ » de réduction d'acétylène mise au point par (Balndreau *et al.*, 1980).

Cette méthode consiste à isoler la partie souterraine de la plante de l'atmosphère extérieure, et ceci grâce à un sac en plastique hermétiquement fermé pour assurer l'étanchéité du dispositif d'incubation.



**Figure17:** la nitrogénase

A l'aide d'une seringue hypodermique, on prélève 10 d'acétylène à partir d'une bouteille sous pression. Ces 10 sont injectés directement dans le pot à travers le sac en plastique et on laisse en incubation pendant 30mn.

Avec la même seringue, on prélève 5ml du mélange gazeux interne qu'on injecte pour stocker dans le tube vénoject de 13ml fermé avec un bouchon en caoutchouc.

Le tube est préalablement vidé par un prélèvement de 5ml d'air afin d'éviter toute compression pendant le stockage.

L'éthylène produit est dosé dans chromatographie en phase gazeuse (C.P.G).

L'injection dans le chromatographe est effectuée à l'aide d'une seringue hypodermique de

1ml. Dans le tube venoject, 1ml de contenu gazeux est prélevé et injecté à travers la pastille du chromatographe.

On lit sur l'enregistreur la hauteur H du pic éthylène, on déduit le nombre de moles d'éthylène contenues dans 1ml injecté.

Les pics de sortie correspondant au gaz sont repérés sur le chromatographe dans l'ordre suivant : air, C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>.

De ce fait, la hauteur des pics des différents échantillons nous permet de calculer l'ARA suivant la formule :

$$ARA(u \text{ moles } C_2H_4/plant) = \frac{Hech \times V1 \times V2 \times V4 \times V5 \times 60 \times 10^6}{Hech \times 24500 \times V3 \times V6 \times V2 \times t}$$

V1 : volume éthylène étalon.

V2 : volume injection au chromatographe.

V3 : volume flacon étalon.

V4 : volume venoject.

V5 : volume du pot.

V6 : volume prélèvement.

T : temps d'incubation.

### **III Résultats et discussions**

En début de cycle de culture, les besoins en azote nécessaires à la mise en place de la plantule sont assurés par la semence, l'autonomie étant proportionnelle à la taille de la graine.

A partir de la levée, l'absorption de nitrates provenant de l'azote minéral dans le sol prend le relais puis diminue au fur et à mesure de l'épuisement du nitrate présent dans le sol. La fixation symbiotique démarre dès que les réserves de la graine et les reliquats azotés ne permettent plus de subvenir aux besoins en azote pour la croissance (durant la floraison).

A partir du début du remplissage des graines, la fixation symbiotique décroît : cette baisse est interprétée comme une conséquence de la compétition pour les nutriments carbonés issus de la photosynthèse qui est exercée par les graines au cours de leur remplissage (**Jeudy et al., 2010**).

Notre étude a pour but de doser l'azote total ainsi que le dosage de la Nitrogénase durant le stade de développement «la floraison» (au niveau des racines et des feuilles) et durant la maturation (au niveau des graines).

#### **III.1 Teneurs en Azote total**

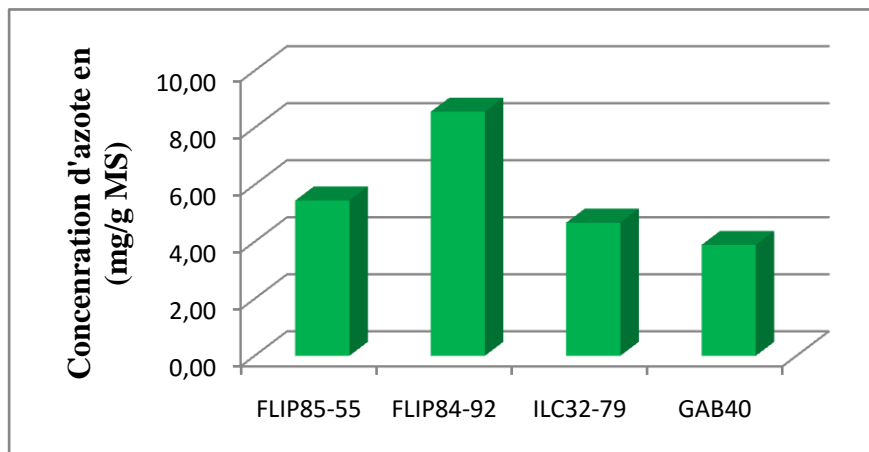
Notre expérimentation au niveau du laboratoire de biochimie de l'université de kenchla a mis en évidence des résultats de la quantification des teneurs en **azote total** selon la méthode (**kjeldhal**) des quatre (04) variétés étudiées à savoir : **FLIP 85-55, FLIP 84-92, ILC 32-79 et GAB 40** au niveau de la partie aérienne (les feuilles) et la partie souterraine (les racines) durant la phase de **la floraison** des quatre variétés et le dosage de l'azote total au niveau des graines récoltées durant la phase de **la maturation**, les résultats obtenus sont les moyennes des teneurs en azote total des 03 répétitions avec les écarts types exprimé en Milligramme par gramme de matière sèche (**mg/g MS**) sont illustrés dans le tableau suivant :

**Tableau06:** Moyenne des teneurs en azote total et en protein des 04 variétés

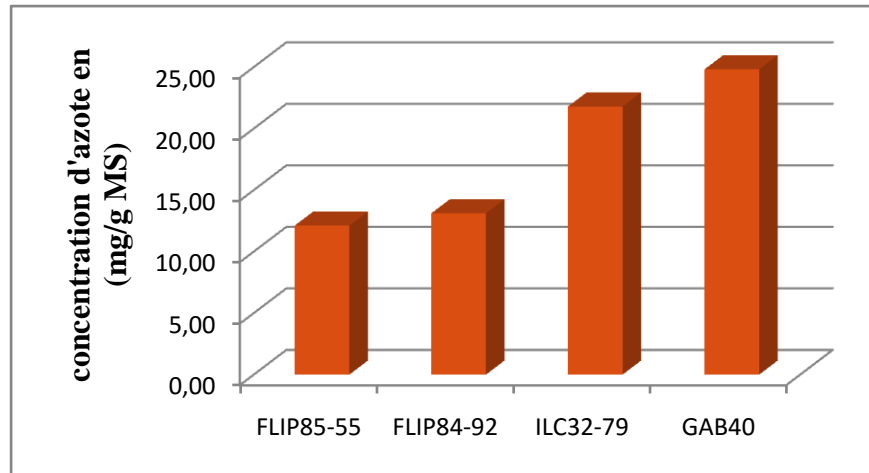
Variétés	FLIP 85-55	FLIP 84-92	ILC 32-79	GAB 40
Feuilles	(5,45±1,35)	(8,56±1,35)	(4,67±00)	(3,89±1,35)
Racines	(12,12±1,65)	(13,12±0,84)	(21,79±1,35)	(24,82±1,03)
Graines	(27,30±1,25)	(26,57±1,25)	(28,27±0,59)	(30,34±00)
Teneur en protein des graines	(170.62±1.25)	(166.06±1.25)	(176.68±0.59)	(189.62±00)

### III 1.1 Teneur en azote au niveau des racines et des feuilles

La Teneur en azote des différentes variétés de pois chiche a été déterminée à partir le titrage des distillats résulte de minéralisation de 04 variétés de pois chiche. Les résultats obtenus sont exprimés en **milligrammes par gramme** de matière végétale sèche (**mg/ g MS**).



**Figure 18:** Teneur en azote au niveau des feuilles des 04 variétés de pois chiche étudiées.



**Figure 19:** Teneur en azote au niveau et des racines des 04 variétés de pois chiche

Les résultats illustrés dans la **figure 18** et la **figure19** montrent que **les racines et les feuilles** durant la floraison contiennent des concentrations plus au moins importantes en azote. Nous remarquons que la partie souterraine (les racines **R**) renferme une teneur en azote nettement supérieure à celle de la partie aérienne (les feuilles **F**).

La forte teneur en concentration est visible pour la variété **GAB 40** ( $24,82 \pm 1,03$ ) au niveau des racines par rapport à ( $3,89 \pm 1,35$ ) au niveau des feuilles de la même variété, pour la variété **ILC 32-79** on a constaté une concentration de l'ordre de ( $21,79 \pm 1,35$ ) au niveau des racines par rapport à une concentration de ( $4,67 \pm 0,00$ ) au niveau des feuilles, en ce qui concerne les variété **FLIP 84** la teneur en azote est estimé a ( $13,11 \pm 0,84$ ) au niveau des racines contre une teneur de l'ordre de ( $8,56 \pm 1,35$ ) dans la partie aérienne (les feuilles), pour la variété **FLIP 85** au niveau des racines la teneur est de ( $12,11 \pm 1,65$ ) contre ( $5,44 \pm 1,35$ ) au niveau des feuilles.

L'azote est également présent dans le distillat des deux parties de la plante et dans le distillat de la partie souterraine en forte quantité.

De nombreuses études de recherches similaires ont mis en évidence les mécanismes de reconnaissance spécifique entre les racines des légumineuses et les bactéries symbiotiques. Des signaux moléculaires associés à une synchronisation de l'expression de nombreux gènes sont mis en jeu chez les deux partenaires (**Reid et al., 2011**).

Les premiers signaux émis par la plante hôte sont **des flavonoïdes**. Ces molécules agissent sur la transcription des gènes Nod chez la bactérie. Les facteurs Nod qu'ils produisent en retour sont impliqués dans la reconnaissance de la plante hôte ; ils se lient à des récepteurs spécifiques, situés sur l'épiderme de la racine, puis déclenchent les réactions qui vont

conduire à l'infection des racines par les bactéries fixatrices symbiotiques et enfin à la formation de nodosités hébergeant les bactéries symbiotiques (**Reid et al., 2011**).

L'azote des parties souterraines chez le pois chiche est la somme de l'azote contenu dans son système racinaire et de la libération des composés azotés dans le sol au voisinage de ses racines (la rhizodéposition). Alors qu'elle a longtemps été négligée, des études récentes similaires montrent que chez le pois chiche l'azote au niveau des racines représenterait une part conséquente de l'azote de la plante entière (**Fustec et al., 2010**).

De ce fait, nous pouvons classer selon un ordre croissant les différents organes de la plante selon leurs teneurs en azote : **racines >feuilles**.

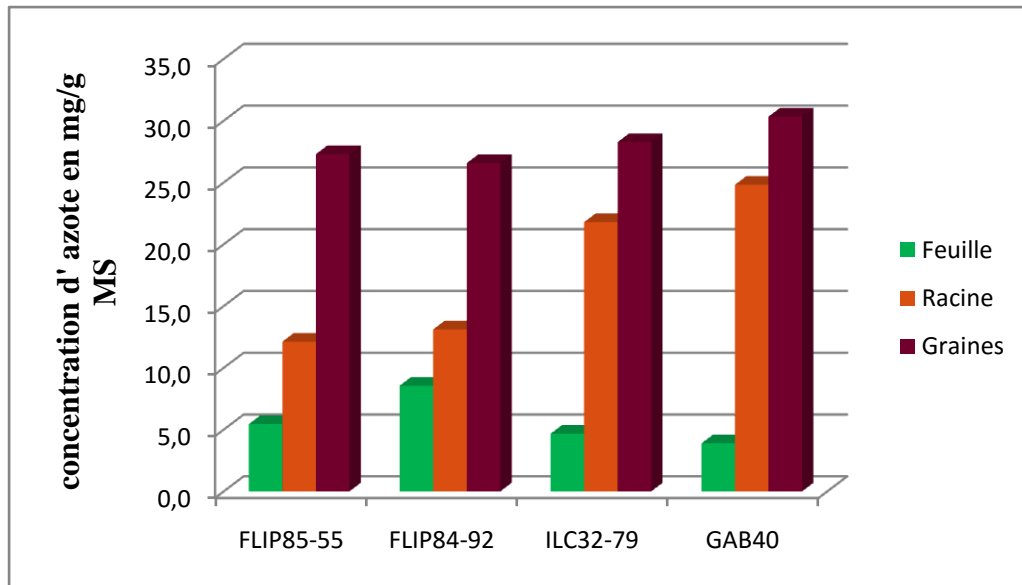
### **III 1.2 Teneur en azote durant la floraison et la maturation**

Les résultats illustrés dans la **figure20** montrent qu'au niveau **des racines** et durant les deux phases du développement de la plante (la floraison et la maturation) contiennent des concentrations importantes en azote en ce qui concerne la variété **GAB40** (**24,82±1,03**) durant la floraison et (**30.33±00**) durant la maturation ensuite pour la variété **ILC 32-79** on a des concentrations en azote de l'ordre de (**21,79±1,35**) durant la floraison et (**28.27±0,59**) durant la maturation.

En troisième position en ce qui concerne la teneur en azote arrive la variété **FLIP 85** avec (**12, 11±1,65**) durant la floraison et (**27,29±1,25**) durant la maturation.

En dernière position arrive la variété **FLIP 84** avec (**13.11±0,84**) durant la floraison et (**26,57±1,25**) durant la maturation.

De ce fait, nous pouvons classer selon un ordre décroissant les différentes variétés du pois chiche quant à leur concentration moyenne en azote comme suit: **GAB 40 > ILC 32-79 > FLIP 85-55 > FLIP 84-92**.



**Figure 20:** Teneur en azote au niveau des racines et des feuilles durant la floraison et au niveau des graines durant la maturation des 04variétés de Pois chiche

Les teneurs en azote commencent à augmenter au fur et à mesure que la plante se développe et arrive au stade de maturation, ce qui explique le rôle des *Rhizobiums* dans la fixation de l'azote atmosphérique et la fixation symbiotique (**Reid et al., 2011**).

Dans le monde végétal, les légumineuses ( le pois chiche) , plantes de la famille des Fabacées, ont la capacité unique de mettre en place une symbiose avec certaines bactéries présentes naturellement dans le sol, qui convertissent l'azote de l'air ( $N_2$ ) présent dans leur environnement en une forme intermédiaire, l'azote ammoniacal ( $NH_3$ ), grâce à une enzyme bactérienne spécifique, **la nitrogénase**. L'azote ainsi réduit sous forme de  $NH_3$  est ensuite assimilé par la plante, pour constituer ses molécules organiques, notamment les protéines. Cette symbiose naturelle permet à la plante d'utiliser directement l'azote de l'air environnant pour sa croissance. On parle de plantes fixatrices d'azote et de la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique (**Voisin et al., 2002**).

Les effets d'une culture de pois chiche sur les flux azotés à court et moyen termes permettent une réduction de la fertilisation azotée sur la culture suivante. Ainsi, les outils de raisonnement de la fertilisation azotée quantifient l'effet précédent la légumineuse par un surplus de fourniture d'N de 20 à 50 kg/ha par rapport à un précédent pailles, valeurs retrouvées dans la littérature scientifique (**Evans et al., 2001 ; Stevendon et Kassel, 1996 ; Engstöm, 2010**).

Cependant, cette fourniture est en réalité très variable et peut monter jusqu'à 80 kg N/ha en parcelles agricoles, valeur mesurée sur des cultures suivantes, blé ou colza, non fertilisées (Doré, 1992).

Ce surplus d'azote disponible pour la culture suivante, lié à la légumineuse, est délicat à prévoir car il est variable selon l'espèce, son mode d'exploitation, ses performances, les conditions pédoclimatiques, et le mode de gestion de la succession culturale (Schneider *et al.*, 2010).

### III 1.3 Teneur en protéine

Nous remarquons que la forte teneur en protéine visible pour la variété **GAB 40** est de  $(189.62 \pm 1,03)$ , pour la variété **ILC 32-79** on a constaté une teneur est de l'ordre de  $(176.68 \pm 1.35)$  en ce qui concerne la variété **FLIP 85** et la teneur en protéine est estimé a  $(170.62 \pm 0,84)$ , pour la variété **FLIP 84** la teneur est de l'ordre de  $(166.06 \pm 1,65)$ .

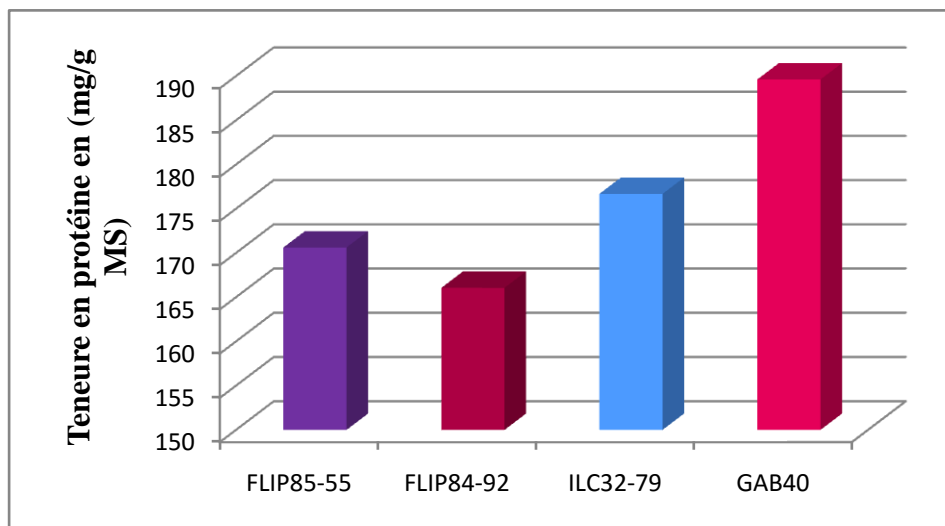


Figure 21: teneur en protéine au niveau des grains des 04 variétés de pois chiche.

De ce fait, nous pouvons classer selon un ordre croissant **GAB40>ILC32>FLIP85>FLIP84**.

Le pois chiche à la particularité de produire des graines riches en protéines. La teneur moyenne en protéines des graines de légumineuses protéagineuses varie entre 23 % et 42 % de la matière sèche (Voisin *et al.*, 2015).

Les graines de pois chiche présentent un intérêt nutritionnel original : elles sont riches en protéines et apportant en même temps des sucres à la digestion lente et des fibres (Mendes- Pereira *et al.*, 1977; Carre et Leclerque ,1985; Newman *et al.*, 1987;Combe *et al.*,1988; Lacassagne *et al.*, 1988).

Le pois chiche (*Cicer arietinum*) est l'espèce des légumineuses la plus utilisées parmi les légumes secs dans les pays de la méditerranée. Leur composition globale varie selon les variétés, les origines géographiques et les conditions de culture, de récolte et de stockage. Elles apportent une très faible teneur en lipides compensée par leur teneur importante en glucides (66-74 g/100 g) et en protéines (20-30 g/100 g) (Combe *et al.*, 1991) .

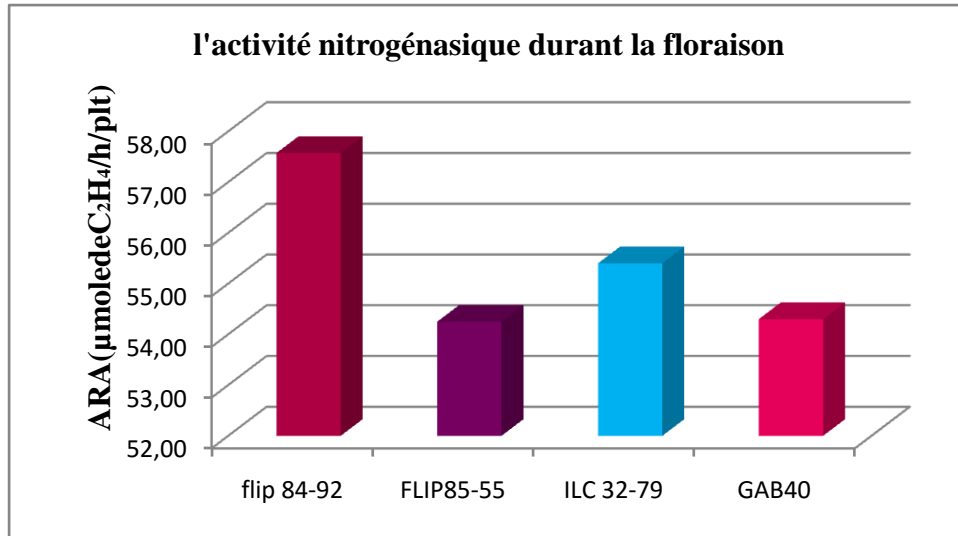
En conditions de culture optimales, le mode de nutrition azotée (fixation symbiotique , absorption d'azote minéral) n'a pas d'incidence sur le rendement et la teneur en protéines des graines. Autrement dit, en conditions agricoles, la fixation symbiotique peut subvenir aux besoins en azote de la plante (Voisin *et al.*, 2002)..

Toutefois, dans les conditions où la fixation symbiotique est limitée, un stress azoté prolongé diminue la production de matière sèche. Il agit aussi *in fine* sur le rendement en graines, essentiellement en diminuant le nombre de graines au m<sup>2</sup>, et leur teneur en protéines (Dore *et al.*, 1998).

### III 2 Mesure de l'activité de la Nitrogénase

Les résultats illustrés dans la **figure 22** montrent que durant la floraison les concentrations les plus importantes de l'ARA ( activité réductrice de l'acétylène) est plus importante pour la variété **FLIP 84** (57, 57±9, 80), pour la variété **ILC 32-79** on a constaté une concentration de l'ordre de (55, 40±4, 10) en ce qui concerne les variété **GAB40** la concentration de l'ARA est estimé a (54, 30±4, 42), pour la variété **FLIP 85** la concentration est de (54, 25±5, 30).

Alors on peut les classer selon un ordre croissant **FLIP84>ILC32>GAB40>FLIP85**, La capacité fixatrice semble très importante au stade floraison, ceci est confirmé par d'autres résultats d'études de recherches similaires qui montrent que chez le pois chiche un pic d'activité très important est visible au stade la floraison (Dechamps et Wery., 1987).



**Figure 22:** l'activité nitrogénasique durant la floraison

D'autre part l'analyse de la variance, montre pour les trois essais une différence très hautement significative avec un coefficient de variation de **95, 97%** pour **FLIP 84**, pour **FLIP 85** l'analyse de la variance nous permet de dire que l'activité nitrogénasique est hautement significative de l'ordre de **28, 10%**.

De même l'analyse de la variance montre une activité moins significative pour la variété **GAB 40** de l'ordre de **19, 53%** et une activité peu significative pour **ILC32** de l'ordre de **16, 81%**.

La courbe de variation de l'activité nitrogénasique, obtenue par dix répétitions à chaque mesure, montre une activité maximale au début du mois de mai, c'est-à-dire au moment de la floraison. Ce phénomène a été observé par **Havelka et Hardy., 1975** chez le pois.

L'activité nitrogénasique est maximale chez le pois chiche au moment de la floraison et les travaux de **Lahbib, Sasson et Renaul., 1981** sur l'arachide confirme nos résultats.

Chez le pois chiche, comme chez tous les légumineuses à graines la fixation semble présenter un maximum de l'activité de la nitrogénase au début du remplissage des graines.

La baisse qui se produit ensuite est généralement interprétée comme une conséquence de la compétition exercée par les gousses au cours de leur remplissage (**Hardy et Havelka.,1975 ; Latimore et al.,1977**), se traduisant surtout par une diminution rapide de l'activité des nodosités les plus âgées (**Pate et Minchin.,1980**). Elle est accentuée par la sénescence des feuilles dont les composés sont dégradés et remobilisés vers les graines et dont

la photosynthèse diminue (Sinclair et De Witt.,1976 ; Pate et Minchin.,1980 ;Denison et Sinclair.,1985).

### **III.3 L'étude statistique**

Tous les résultats de notre étude sont exprimés en moyenne de 03 essais (03 Prélèvements) pour chaque mesure, ainsi que l'écart type de chaque valeur c'est-à-dire l'écart type des valeurs moyennes des concentrations de l'azote total.

Tous les résultats obtenus sont hautement significatifs grâce à la L'ANOVA qui est un outil statistique il nous a permis d'appréhender les corrélations entre les différentes variétés étudiés et les concentrations en azote totale.

**Tableau 07** : Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables

<b>Source</b>	<b>ddl</b>	<b>Somme des carrés</b>	<b>Carré moyen</b>	<b>F de Fisher</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>variétés</b>	2	1013,51	506,75	30,61	0,0007
<b>Résidus</b>	3	40,61	13,53		
<b>Total</b>	5	1054,12			

## Conclusions

Au terme de ce travail qui concerne la contribution à l'étude de la nutrition azotée chez les légumineuses, en général et chez le pois chiche « *Cicer arietinum .L* » en particulier et la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique, grâce à l'intervention des bactéries du genre *Rhizobium*.

Il apparut qu'un rendement optimal de la fixation de l'azote atmosphérique est nécessaire à la vie du pois chiche surtout durant le cycle reproducteur à savoir le stade de **la floraison** et la formation des graines.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent clairement que la teneur en azote est très importante au niveau de la partie souterraine (les racines) des 04 variétés étudiées à savoir **le FLIP 84, le FLIP 85, ILC 32 et le GAB 40** par rapport à la teneur en azote dans la partie aérienne (les feuilles) de la plante, ainsi les deux dernières des variétés étudiées à savoir **le GAB 40 et l'ILC 32** présentent une teneur très importante en Azote de même que pour la teneur en protéines par rapport aux deux autres variétés à savoir **le FLIP 84 et le FLIP 85**, mêmes choses pour les graines durant la phase de maturation d'où un rendement très important pour les deux dernières variétés.

Les résultats obtenus, en ce qui concerne le dosage de l'activité nitrogénasique (l'enzyme Nitrogénase par chromatographie en phase gazeuse (l'ARA activité réductrice de l'acétylène) à montré des pics très élevés en phase de la floraison au niveau de la partie racinaire ce qui confirme que la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique s'effectue lorsque une grande concentration de colonies bactériennes Rhizobiales se fixent au niveau des racines et l'intervention de la dite enzyme (la Nitrogénase) qui joue un rôle très important dans la fixation symbiotique de l'azote.

Les résultats obtenus ont montré une concentration en nitrogénase très élevés pour les variétés **le FLIP 84 et le FLIP 85** par rapport aux deux autres variétés à savoir **le GAB 40 et l'ILC 32**.

Les résultats de cette étude confirment ceux d'autres études de recherches similaires qui montrent clairement la relation symbiotique entre plante et bactérie en ce qui concerne l'assimilation et la fixation de l'azote de l'air, ainsi que la variété la plus bénéfique en matière de rendement agricole.

Il aurait mieux étudiés les autres phases de développement de la plante, c'est-à-dire la phase ramification, remplissage de gousse et maturation pour comparé les teneurs étudiés et pour confirmé nos résultats.

En perspectives cette étude va nous permettre d'accéder aux informations qui concernent la sélection des variétés à haut rendement agricole, ainsi que l'identification et la caractérisation des bactéries du genre rhizobia pour la fixation de l'azote et l'utilisation par inoculation sur parcelle agricole dans le seul but d'améliorer le rendement agricole.

Références Bibliographiques

A

- Abdelguerfi, A., Laouar, M., Hamdi N., Bouzid, H., Zidouni, F., Laib, M., Bouzid, L., Zine, F. (2001).** Les légumineuses alimentaires en Algérie: situation, état des ressources phytogénétiques et cas du pois chiche à Béjaia. 3èmes journées Scientifiques de l'INRAA, Béjaia: 11-13.
- Alkama, N., Noureddine, N.E., Haddadj, A., Sadj, H., Issad, S., Amrani, S. (2002).** La pratique de l'inoculation en agriculture et en foresterie : une biotechnologie à notre portée-communication orale présentée au 2eme congrès de Biotechnologie. Tunisie.
- Allali, H., Boussouar, K. (2007).** Etude des besoins en eau de la culture de pois chiche (*cicer arietinum*) dans la région de sidi Bel Abbés mémoire de fin d'études De DES Biologie et physiologie végétale.
- Almeida Costa, G. E., Da Silva Queiroz-Monici, K., Reis, S. M. P. M., and De Oliveira, A. C. (2006).** "Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes." *Food Chemistry*.94(3) :327-330.
- Amarger, N. (2001).** Rhizobia in the Field. In: Sparks D.L. (Ed): Advances in Agronomy. Academic Press: 7:109-136.

B

- Babar, B.M., Abbas, G., and Ahsanul Haq, M. (2009).** Genotype X environment interaction for seed yield in Kabuli chickpea (*cicer aritinum*) genotypes developed through mutation breeding. *Pakistan journal of botany*.4:1883-1890.
- Bacha, F., et Ounane, S. M. (2003).** Etude de l'effet du stress hydrique sur les Activités des enzymes nitrate réductase et nitrogénase de la culture du pois chiche (*Cicer arietinum. L.*). Institut National de la Recherche agronomiqued'Algérie. 13:1111-1992.
- Baljeet, S.Y., Ritika, B.Y., Reena, K. (2014).** "Effect of incorporation of carrot pomace powder and germinated chickpea flour on the quality characteristics of biscuits". *International Food Research Journal*.21 :217–222.
- Balndreau . (1980).** Fixation biologique de l'azote atmosphérique Ed .Vuibert.Paris .103.
- Bamouh, A., Noufiri, H., Zeggaf, T., et Moutawakil, H. (2002).** Développement et application d'un modèle de simulation du bilan hydrique (AGROSIM) à la prévision des rendements de la fève et du pois chiche en zone semi-aride marocaine. Proceedings de la Conférence Internationale ; Politiques d'irrigation: Considérations micro et macroéconomiques. Agadir, Maroc. 638-665.
- Baumgartner, A. (1998).** La Viande Des Pauvres. *Tabula* : (3)16-19.

- Bejjja et Van Der Maesen, L.J.G. (2007).** cicer arietinum L .In ; Brink .M.
- Ben Mbarek, K., Boujelben, A., Boubaker, M.et Hannachi, C., (2009).** Criblage et performances agronomiques de 45 génotypes de pois chiche (*cicer arietinum* L.) soumis à une région hydrique limite. *Biotechnologies Agronomique et Sciences environnementales* .3 : 381-393.
- Benabdour, M., Gherbi, H., Djekoun, A., Bogusz, D., Franche, C., Ykhlef, N. (2012).** Fixation biologique de l'azote: la symbiose Actinorhizienne. *CasuarinaFrankia. Scien. Technol* .35. 17.
- Benhizia, Y ., Benhizia, H., Benguedouar, A., Muresu, R., Giacomini, A., And Squartini, A.(2004)** .Gamma proteobacteria can nodulate legumes of the genus *Hedysarum*.*Syst. Appl. Microbiol* .27(4): 462-468.
- Boukef, M.K. (1986).** Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne, médecine traditionnelle et pharmacopée- agence de coopération culturelle et technique.
- Boukli, N.M., Sundeasan, E., Bartsev, A., Hochstrasser, D., Perret, X., Bijourson, A.J., Krause, A., Brouhton, W.J. (2006).** Early legume responses to inoculation with *Rhizobium* sp. NGR 234. *J. plant Physiol*. 1-13.
- Bouznad, Z., Solh, M., Labdi, M., Rouibah, M., et Tebbal, H. (1990).** Preliminary results on the causes of wilt and root rot of chickpea in Algeria. In the 8th congress of the Mediterranean phytopathological union. 345-346.
- Boye, J., Zare, F., and Pletch, A. (2010).** "Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed." *Food Research International* .43(2): 414-431.
- Brewin, N.J., Downie, J.A., Young, J.P.W. (1992).** Nodule formation legumes. *Encyclopedia of microbiology*, M.R Joshua Lederberg. Rockefeller University New York. 3: 239-248.
- Briat, J.F., et Job, D. (2017).** Les sols et la vie souterraine: Des enjeux majeurs en agroécologie. *Quae*. 149.

## C

- Cardoso, D., Pennington, R.T., De Queiroz, L.P., Boatwright, J.S., Van Wyk, B.E., Wojciechowski, M.F. And Lavin, M.(2013).** Reconstructing the deep-branching relationships of the papilionoid legumes. *South African Journal of Botany*.89:58-75.
- Carre , B ., Leclercq , Q.B. (1985).** Digestion of polysaccharides, protein and lipids by adult cockerels fed on diets containing a pectic cell-wall material from white lupin (*Lupinus albus* L) cotyledon. *Br J Nutr* .54:669-680.

- Cerbulis ,j., Farrellh, M. (1975).** Composition of milks of dairy cattle. 1. Protein, lactose and fat contents and distribution of protein fraction. *J. Dairy Sci* .58:817-827.
- Charly, F. (2008).** Pois chiche. Languedoc-Roussillon. 1.
- Chen, W.M., Laevens, S., Lee, T.M., Coenye, T., De Vos, P., Mergeay, M., Vandamme, P. (2001).** *Ralstonia taiwanensis* sp. Nov. isolated from root nodules of Mimosa species and sputum of a cystic fibrosis patient. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol* .51:1729-1735.
- Cheng, Q. (2008).** "Perspectives in biological nitrogen fixation research". *Journal of Integrative Plant Biology* .50(7): 786-798.
- Cherif, M., Arfaoui, A., and Rhaim, A. (2007).** phenolic compounds and their rol in Bio-control and resistance of chickpea to fungal pathogenic attacks. *Tunisian journal of plant protection*.2:7-12.
- Ciquial. (2013).** Effet de l'acide salicylique sur les composantes du rendement et la résistance biotique et abiotique chez *Cicer arietinum*. 16.
- Cleland, E., Harpole, W .S. (2010).** Nitrogen enrichment and plant communities. *New York Academy of Sciences*. 1195: 46 –61.
- Combe, E., Naudin-Lebecque, A., Pion, R. (1988).** Influence de la variété et de la cuisson du pois (*Pisum sativum*) sur la nature des composés azotés des fèces de rats. *Ann Zootech* .37:233-254.
- Combe, E., Achi, T., Pion, R. (1991).** Utilisations digestive et métabolique comparées de la fève, de la lentille et du pois chiche chez le rat. 2.
- Cooper, J.E. (2007).** Early interactions between legumes and rhizobia: disclosing complexity in a molecular dialogue. *Journal of Applied Microbiology* .103: 1355-1365.
- Cortés-Giraldo, I., Megías, C., Alaiz, M., Girón-Calle, J., Vioque, J. (2016).** Purification of free arginine from chickpea (*Cicer arietinum*) seeds. 192:114-8.

## D

- Deacon, J. (2013)** .The microbial world. The nitrogen cycle and nitrogen fixation, University of Edinburgh, <http://archive.bio.ed.ac.uk/jdeacon/microbes/nitrogen.htm>.
- Debellé, F., Moulin, L., Mangin, B., Dénarié, J., Boivin C. (2001).** Nod Genes and Nod signals and the evolution of the rhizobium legume symbiosis. *Acta Biochimia Polonia Minireview* .48 (2): 359–365.
- Dénerie, J., Debelle, F., Prome, J.C. (1996).** Rhizobium lipo-chito-oligosaccharide nodulation factors: Signaling molecules mediating recognition and morphogenesis. *Ann Rev. Biochem.* 65:503-535.

- Denison, R.F., Sinclair, T.R. (1985).** Diurnal and seasonal variation in dinitrogen fixation (Acétylène Réduction) rates by field grown soybeans. *Agron.* 77 :679-684.
- Deschamps, M et Wery, J. (1987).** Effet de l'eau et de l'azote sur la croissance et la nutrition azote du pois chiche. Ed. INRA, Paris (les colloques de L'INRD. 37 :271-280).
- Dixon, R., et Kahn, D. (2004).** "Genetic regulation of biological nitrogen fixation". *Nature Reviews Microbiology* .2(8): 621-631.
- DPAT. (2016).** Direction de planification et de l'aménagement du territoire.
- Dommergues, Y. et Mangenot, B. (1970).** Ecologie microbienne du sol : (Ed). Masson et Cie Paris. 796.
- Dore, T. (1992).** Analyse, par voie d'enquête, de la variabilité des rendements et des effets précédent du pois protéagineux de printemps (*Pisum sativum. L.*). Thèse de Doctorat de l'INAPG, Paris. 214.
- Dore, T., Meynard, J. M., Sebillotte, M. (1998).** The role of grain number, nitrogen nutrition and stem number in limiting pea crop (*Pisum sativum*) yields under agricultural conditions. *European Journal of Agronomy* .8: 2937.
- Doyle, J.J. (2011).** Phylogenetic perspectives on the origins of nodulation. *Molecular Plant Microbe Interactions*. 24: 1289–1295.

## E

- El Bekkay, B. (1984).** Etudes de souches de rhizobium du pois chiche (*Cicer arietinum L.*). *Agriculture*. 3:217-330.
- El-Hilali, I. (2006).** La symbiose Rhizobium-LUPIN: biodiversité des microsymbiotes et mise en évidence d'une multi-infection nodulaire chez *lupinus luteus*. Thèse de Doctorat en Microbiologie et Biologie Moléculaire. Université de Rabat. 22-23.
- Engström, L. (2010).** Nitrogen dynamics in crop sequences with winter oilseed rape and winter wheat. Dept. of Soil and Environment, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.
- Epstein, E. (1972).** Mineral nutrition of plants: Principles and perspectives. John Wiley, New York.
- Estrada-Navarrete, G., Cruz-Mireles, N., Lascono, R., Alvarado-Affantranger, Hernandez-Barrera, A., Barraza, A., Olivares, J.E., Arthikala, M.K., Cardenas, L., Quinto, C., Sanche, F. (2016).** An Autophagy-Related kinase essential for the symbiotic relationship between *Phaseolus Vulgaris* and both rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi the plant cell. 28. 2326.

**Evans, J., Mcneill, A.M., Unkovich, M.J., Fettell, N.A., Heenan, D.P. (2001).** Net nitrogen balances for coolseason grain legume crops and contributions to wheat nitrogen uptake: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* .41: 347-359.

### F

**FAO. (2015).** Statistical database of the Food and Agriculture Organization of the United Nations.

**FAO. (2016).** "Année internationale des légumineuses". Disponible sur: <http://www.fao.org/pulse-2016/fr/>.

**FAOSTAT data. (2005).** Food and agriculture organisation of The United Nation, Rome, Italy., <http://faostat.fao.org>.

**FAOSTAT DATA. (2013).** "Agricultural production and production indices data: crop primary". <http://faostat3.fao.org/home/E>.

**Ferguson, S. J. (1998).** Nitrogen cycle enzymology. *Bio-inorganic Chemistry, Current Biology*. 2: 182-193.

**Figueiredo, M.V.B., Burity, C.R. Martýnez, Chanway, C. P. (2008).** Alleviation of drought stress in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by co-inoculation with *Paenibacillus polymyxa* and *Rhizobium tropici*. *Applied Soil Ecology* . 40:182 -188.

**Flandez-Galvez, H., Ford, R., Pang, E. C. K. and Taylor, P.W.J. (2003).** An interspecific linkage map of the chickpea (*cicer aritinum*) genome based on sequence tagged microsatellite site and resistance gene analog markers. *Theoretical Applied in Genetics*. 1447-1456.

**Fossou, R. K., Kouassi, N. K. I. I., Kouadjo, G. C. Z., et al. (2012).** Diversite De Rhizobia Dans Un Champ Cultive De Pois D'angole (*Cajanus Cajan* L.,) (Legumineuses) A Yamoussoukro (Centre Côte D'ivoire). *Agronomie Africaine*. (24)1: 29-38.

**Foucher, F., Kondorosi, E. (2000).** Cell cycle regulation in the course of nodule organogenesis in *Medicago*. *Plant Molecular Biology* .43: 773–786.

**Fustec, J., Lesuffleur, F., Mahieu, S., Cliquet, J.B. (2010).** Nitrogen rhizodeposition of legumes. A review. *Agronomy for Sustainable Development* .30: 57–66.

### G

**Geddes, Barney, A., et Oresnik, Ivan, J. (2016).** The Mechanism of Symbiotic Nitrogen Fixation. In : HURST, Christon J. (éd.), *The Mechanistic Benefits of Microbial Symbionts* [en ligne]. Cham : Springer International Publishing. 69-97.

**Geurts, R., Franssen, H. (1996).** Signal transduction in *Rhizobium* induced nodule formation. *Plant.Physiol*.112:447-453.

**Glyan'ko, A.K., et Ischenko, A.A. (2013).** Influence of rhizobial (*Rhizobium leguminosarum*) inoculation and calcium ions on the NADPH oxidase activity in roots of etiolated pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 49 (3): 215.

**Graham, P.H. (1963).** Antibiotic sensitivities of the root nodule bacteria. *Aust. J. Biol. Sci.* 16:557-559.

**Graham, P.H. (2008).** Ecologie of the root-nodule bacteria of legumes. In: Dilworth M.J, James E.K., Sprent J.,L., Newton W.E.(Eds): *Nitrogen-fixing leguminous symbioses*. Springer. 23-43.

**Guinard, J.L. (2000).** *Biochimie végétale*. 2ed. Dunod .paris. 63 :223-225.

## H

**Hamadache. (2000).** Etude de la période de compétition des mauvaises herbes vis-à-vis d'une culture de pois chiche. *Céréaliculture*. n°22. Ed-ITGC EL-HARRACH Alger . 13.

**Hardy, R. W. F., Holsten, R. D., Jackson, E. K., Burns, R. C. (1968).** The acétylène éthylène assay for N<sub>2</sub> fixation: laboratory and field evaluation .*PL. Physiol.* 43:1185-1207.

**Hassane, F. (2006).** Heterologous expression of a recombinant chitinase from streptomyces olivaceoviridis ACC 11238 in Transgenic Pea (*pisum sativum* L.) Doctorat thesis, University of Damas .150.

**Havelka, U.D., Hardy, R.W. (1975).** Legume N<sub>2</sub> fixation as a problem in carbon nutrition. Du Pont de Nemours and Company, Central Research Department, Experimental station, Wilmington, Delaware, USA.

**Hepburn. (1908)** Joseph Samuel. The Modifications of the Kjeldahl Method For the Quantitative Determination of Nitrogen. *Journal of the Franklin Institute*. (982) :82-99.

**Hirsch, A.M. (1992).** Developmental biology of legume nodulation. *New Phytol.* 122: 211-237.

**Hopkins, W.G. (2003).** *Physiologie végétale*. Ed De Boeck et Larcier S.A, Paris. 514.

## I

**Iqbal, A., Ateeq, N., Khalil, I.A., Perveen, S., Saleemullah, S. (2006).** Physicochemical characteristics and amino acid profile of chickpea cultivars grown in Pakistan. *J. Food service*. 17 :94-101.

**ITGC. (2001).** Institut Technique des Grandes Cultures, La Culture du Pois chiche (*Cicer arietinum*).

- ITGC. (2011). La lentille et le pois chiche pour une conduite mécanisée. ITGC, Algérie. 29.
- ITGC. (2013). Institut Technique des Grandes Cultures, La Culture du Pois chiche (*Cicer arietinum*), Exigences climatique.

J

- Jeder, H., Akrimi, M., Zouaghi, M., De Layudie, P., Gillis, M., Zaafouri, M.S. (2003). Diversité des rhizobia associés aux légumineuses pastorales des régions arides de la Tunisie. In: Drevon J.J. et Sifi B. (Eds): Fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le Bassin méditerranéen. INRA. Paris. Les colloques n°100 : 163-172.
- Jeudy, C., Ruffel, S., Freixes, S., Tillard, P., Santoni, A.L., Morel, S., Journet, E.P., Duc, G., Gojon, A., Lepetit, M. *et al.*(2010). Plasticity of nodule development has a major role in the adaptation of *Medicago truncatula* to N-limitation. *New Phytologist* . 185: 817-828.
- Jordan, D.C. (1984). Genus I, *Rhizobium*. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. London; Williams & Wilkins Co .(1): 235- 242.
- Juergen, P.,and Philip, P. (2006). Metabolic changes of rhizobia in legume nodules. School of Biological Sciences, University of Reading, UK, RG6 6AJ.
- Jukanti, A., Gaur, C., Gowda, Chibbar, R .(2012). Nutritional quality and health benefits of chickpea(*cicer arietinum* L.) :a review. *British journal of nutrition*. 108(1):11-26.

K

- Kachache,K. (2005). contribution à l'étude de l'effet de la fertilisation phosphatée à la base des engrais SSP 20%et TSP 46% sur le pois chiche mémoire de fin d'études.
- Keys. (1939) . Ancel. A Rapid Micro-Kjeldahl Method. *The Journal of Biological Chemistry*. (132):181-187.
- Khan, H., Zeb, A., Ali, Z., And Shah, S. M. (2009). Impact of five insecticides on chickpea (*cicer arietinum*) nodulation, yield and nitrogen fixing rhizospheric bacteria. *Soil and environment*.1 :56-59.
- Kumar, J., Pratap, A., Solanki , R., Gupta, D., Goyal, A.,Chaturvedi, S., Nadarajan, N., Kumar, S.(2012) .Genomic Resoueces For Improving Food Legume Crops . *The Journal Of Agricultural Science*. 150(03):289-318.

L

- Lacassagne , L., Francesch M, Carre , B., Melcion , J.P. (1988) .Utilization of tannin-containing and tannin-free faba bean (*Vicia faba*) by young chicks: effects of pelleting feeds on energy, protein and starch digestibility. *Anim Feed Sci Techno*.120 : 59-68.
- Lahbib, M., S Asson, A., Renaut. (1981). Fixation symbiotique de l'azote atmosphérique par des Légumineuses cultivées au Mali. 3 :41.

- Latimor, M., Giddens, J.J., Ashley, D.A. (1977).**effect of ammonium and nitrate nitrogen upon photosynthate supply and fixation by soybeans.crop science .17:339-404.
- Laura Flouzat. (2011).** Bilan azoté dans les procédés de valorisation de la biomasse . 9-12.
- Lewis, G.A., Schrire, B.B., Mackinder, B.C., Lock, M.D. (2005).** Legumes of the World; Kew: Royal Botanic Gardens, London, UK.
- Lindemann, W.C. et Glover, C.R. (2003).** Nitrogen Fixation by Legumes. [En ligne]. <http://www.csun.edu/~hcbio027/biotechnology/lec10/lindemann.html> .
- Lohar, D., Stiller, J., Kam, J., Stacey, G., and Gresshoff, P.M. (2009).** Ethylene insensitivity conferred by a mutated Arabidopsis ethylene receptor gene alters nodulation in transgenic Lotus japonicus. Ann. Bot. 104: 277-285.
- Long, S.R. (1996).** Rhizobium symbiosis: nod factors in perspective. Plant cell. (8):1885-1898.
- LPWG. (2013).** Legume phylogeny and classification in the 21st century: progress, prospects and lessons for other species-rich clades. Taxon.62(2):217-248.

#### M

- M.A.D.R. (2015).** Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural. Annuaire Statistiques, k, Série B.
- Madigan, M., Et Martinko. (2007).** Biologie des micro-organismes. Ed. Pearson. Paris. 1047.
- Madrid, E., Bouhadida, M., Dolar, S., Kharrat, M., Houasli, C., Rubio, J. (2015).** Chickpea production in Mediterranean Basin. Legume Perspectives. 10:5-7.
- Maheri-N, Mohammad, Chamani1. (2008).** Ali-Asghar Sadeghi1, Ali Mirza-Aghazadeh and Abolfazl Aghajanzadeh- Golshani.
- Maier, R.M., Pepper, I.L., Gerba, C. (2009).** Environmental microbiology. Ed. Academic Press. 598.
- Mansour, E. H. (1996).** Biological And Chemical Evaluation Of Chickpea Seed Proteins As Affected By Germination, Extraction And Alpha-Amylase Treatment. Plant Foods For Human Nutrition . 49: 271-282.
- Mendes-Pereira, E., Pion, R., Prugnaud, J., Valluy, M.C. (1977).** Utilisation digestive apparente des acides aminés de quelques aliments chez le rat en croissance. Ann Biol Anim Biochim Biophys .17:625-631.
- Micard, V., Brossard, C., Champ, M., Crenon, I., Jourdheuil-Rahmani, D., Minier, C., And Petitot, M. (2010).** "Aliment mixte «blé dur-légumineuse»: influence de la structuration

de leurs constituants sur leurs qualités nutritionnelles et organoleptiques." *Cahiers de Nutrition et de Diététique*.45(5) :237-245.

**Michelle, I., Lindeque. (2006).**Diversity of root nodule bacteria associated with *Phaseolus coccineus* and *Phaseolus vulgaris* species in south Africa. University of Protoria.

**Millán, T., Madrid, E., Cubero, J.I., Amri, M., Castro, P., Rubio, J. (2015).** Chickpea. In: Handbook of plant Breeding: Grain legume. Ed. Antonio M. De Ron Misión Biológica de Galicia (MBG) Spanish National Research Council (CSIC) Ponteved, Spain. 437.

**Moulin, L. (2002).** Etude moléculaire de la diversité symbiotique des rhizobia: de l'analyse du gène nod A à l'identification de rhizobia au sien des bêta-protobactéries. Thèse doctorat en science biologique. Université Claude Bernard lyon I. France. 289.

**Moulin, L., Munive, A., Dreyfus, B., Boivin, Masson, C. (2001).** Nodulation of legumes by members of the beta –subclass of proteobacteria .*Nature*. 411: 948-950.

#### N

**Naghavi, M.R., Jahansouz, M.R. (2005).** Variation in the agronomic and morphological traits of Iranian chickpea accessions .*J. Integr. Plant.Biol.* 47(3): 375-379.

**Nene, Y.L., Reddy, M.V., Haware, M.P., Ghanekar, A.M. Et Amin, K. S. (1991).** Field diagnosis of chickpea diseases and their control. In: Information Bulletin, ed. By International Crops Research Institute for the semi-Arid Tropics, Patancheru, India. (28).

**Newman, C.W., Roth, N.J, Newman, R.K, Lockerman, R.H. (1987)** .Protein quality of chickpea (*Cicer arietinum* L). *Nutr Rep Int.*36:1-8.

**Ngom , A., Nakagawa,Y., Sawada,H., Tsukahara,J., Wakabayashi,S., Uchiumi,T., Nuntagij,A., Kotepong, S., Suzuki,A Hgashi,S.,and Abe,M.(2004).**A novel symbiotic nitrogen-fixing member of the *Ochrobactrum* clade isolated from root nodules of *Acacia mangium*.*J. Gen. appl. Microbiol.* 50(1): 17-27.

**Nozawa, S., Hakoda, A., Sakaida, K., Suzuki, T., Yasui, A. (2005)** .Method Performance Study of the Determination of Total Nitrogen in Soy Sauce by the Kjeldahl Method. *Analytical sciences*.21 :1129-1132.

#### O

**Ohyama, T., Atsushi, M., Norikuni, O., et al. (2014).** Nitrogen Fixation in Sugarcane. In : *Advances in Biology and Ecology of Nitrogen Fixation*.

**Oldroyd, Ged., Murray, J.D., Poole ,P.S., and Downie, J.A .(2011).** The rules of engagement in thelegume-rhizobial symbiosis. *Annu. Rev. Genet.* 45: 119–144.

#### P

- Pande, S., M. Sharma, P.M. Gaur, And C.L.L. Gowda. (2010).** Host Plant Resistance To Ascochyta Blight Of Chickpea. Information Bulletin No. 82. Patancheru International Crops Research For The Semi-Arid Tropics .40.
- Pate, J.S,Minchin, F.R.(1980).**comparative studies of carbon and nitrogen nutrition of selected grain legumes.105-114.
- Patriarca, E.J., Tate, R., Ferraioli, S., and Iaccarino, M. (2004).** Organogenesis of legume root nodules. Int Rev Cytol. 234: 201-262.
- Pelmont, J. (1995).** Bactéries et environnement : Adaptation physiologique. Office des publications universitaires. 2:541-572.
- Perrete, Xavier, Staehelin, Christian, et Broughton, William, J. (2000).** Molecular basis of symbiotic promiscuity. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 64(1):180-201.
- Peters, N.K., and Long, S.R. (1988).** Alfalfa Root Exudates and Compounds which Promote or Inhibit Induction of Rhizobium meliloti Nodulation Genes. Plant Physiol. 88:396-400.
- Peters, N.K., Frost, J.W., and Long, S.R. (1986).** A plant flavone, luteolin, induces expression of Rhizobium meliloti nodulation genes. Science .233: 977-980.
- Plancquaert, P.H., et Wery, J. (1991).** Le pois chiche : Culture et utilisation. Brochure Ed. ITCF, Paris, France.11.
- Postgate J.R. (1982).**The fundamentals of nitrogen fixation Cambridge University Press,Cambridge, 252 .
- Pratap, A., Kumar, J. (2011).** Biology and breeding of food legumes, centre for agriculture and biosciences international .432.
- Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D.A. (2003).** Microbiologie. Ed. De Boeck université. 1137.
- Pujic, P., Normand, P. (2009).** La symbiose racinaire entre la bactérie Frankia et les plantes actinorhiziennes. Biofactur. 28(298):26-29.

## R

- Rachwa-Rosiak, D., Nebesny, E., and Budryn, G. (2015).** "Chickpeas-composition, nutritional value, health benefits, application to bread and snacks: a review." *Critical Review in Food Science and Nutrition*.55(8) : 1137-45.
- Raven, P.H., Evert, R.F., Eichlorn, S.E. (2000).** Biologie végétale. Édition : de boeck université. 6emeÉdition. Paris-Fance. 968.
- Rees, D. C. et Howard, J. B. (2000).** Nitrogenase: standing at the crossroads, Elsevier Science. 4: 559-566.

- Reid, D.E., Ferguson, B.J., Hayashi, S., Lin, Y.H., Gresshoff, P.M. (2011).** Molecular mechanisms controlling legume autoregulation of nodulation *Annals of Botany* .108:789-795.
- Rekha et Thiruvengadam. (2009).** An efficient Micropropagation of chickpea (*cicer arietinum* L.).*Phillipagriculture Scientist*.3:320-326.
- Ricklefs et Miller. (2005).** *Ecologie*. Ed. De Boeck université. Paris. 858.
- Rose, M.R. et Mueller, L.D. (2006).** *Evolution and ecology of the organism*. Ed. Pearson. 693.

**S**

- Sadowsky ,M. J., et Graham,P.H.(2006)** .Root and Stem Nodule Bacteria of Legumes*Prokaryotes* . 2:818-841.
- Sanjeewa, W. T., Wanasundara, J. P., Pietrasik, Z., and Shand, P. J. (2010).** "Characterization of chickpea (*Cicer arietinum* L.) flours and application in low-fat pork bologna as a model system." *Food Research International*.43(2) : 617-626.
- Santi, Carole, Bogusz, Didier, et Franche. (2013).** Claudine. Biological nitrogen fixation in non-legume plants. *Annals of botany*. 111(5) :743-767.
- Schneider, A., Flenet, F., Dumans, P., Bonnin, E., De Chezelles, E., Jeuffroy, M.H., Hayer, F., Nemecek, T., Carrouee, B. (2010).** Diversifier les rotations céréalières notamment avec du pois et du colza –Données récentes d’expérimentations et d’études. *OCL* .17:301-311.
- Schultze, M., and Kondorosi, A. (1998).** Regulation of symbiotic root nodule development. *Annu.Rev. Genet.* 32: 33–57.
- Sekkour, S. (2008)** .Essai d’introduction d’un couple symbiotique Rhizobium-Acacia saligna pour la revégétalisation de la Sablière de Sidi Lakhdar (wilaya de mostaganem) .Mémoire de magister. Université d’Oran.
- Sharma, M., Ghosh, R. (2016).** An Update On Genetic Resistance Of Chickpea To Ascochyta Blight.*Agronomy* .6(1) :18.
- Sinclair, T.R., De Witt, C.T. (1976).** analysis of carbon and nitrogen limitation to soybean yield.*Agron.J*.68:319-324.
- Slama, F. (1998).** Cultures industrielles et légumineuses à graines. Ed. Centre de diffusion Universitaire Tunisie. 300.
- Solnter, D. (2007).** Les bases de la production végétale, biologie végétale et amélioration des plantes, TOME III, 5ème Ed. 373.
- Spraink, H.P., Blodergoen, M.R. (1998).** Gènes and signal molecules involved in the rhizobia. *Curr. Opin. Plant. Biol.*1: 353.

**Sprent, J.I. (2001).** Nodulation in legumes. Dickerson (Eds). Royal botanical garden. Kew. united Kingdom. 364.

**Stevendon, F.C., Kessel, C. (1996).** The nitrogen and non-nitrogen rotation benefits of pea to succeeding crops. Canadian Journal of Plant Science .76: 735–745.

**Stewart, W.D.P., Fitzgerald, G.P. and Burris, R.H. (1967)** .In situ studies on N<sub>2</sub> fixation using the acetylene reduction technique. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 58: 2071-2078.

**Street, K., Rukhkyan, N., et Ismail, A. (2008).** Directives pour la régénération: pois chiche. In: Dulloo M.E., Thormann I., Jorge M. A. and Hanson J., editors. Crop specific regeneration guidelines [CD-ROM]. CGIAR System-wide Genetic Resource Programme (SGRP), Rome, Italy. 11.

### T

**Takashi Sato. (2014).** Effects of rhizobium inoculation on nitrogen fixation and growth of Leguminous green manure crop hairy vetch (*Viciavillosa* Roth). In : Advances in biology and ecology of nitrogen fixation.

**Taylor, L.P., Grotewold, E. (2005).**Flavonoids as developmental ragulators. Currenet Opinion in plant Biology. 8:317-323.

**Terefework, Z. (2002).** Diversity and Phylogeny of Rhizobium galegae and reflections on molecular evolution of Rhizobium-legume symbiosis. Academic Dissertation In Microbiology. University of Helsinki. ISSN:1239-9469.

**Trinidad,T.P., Mallillin, A. C., Loyola, A. S., Sagum, R. S.,Encabo, R. R.(2010).** The Potential Health Benefits of Legumes As A Good Source Of Dietary Fibre. British Journal of Nutrition.103 (04):569-574.

### U

**USDA. (2008).** Plant profile of cicer arietinum (Chickpea). United States Departement of Agriculture (USDA), Natural Ressources Conservation Service (NRCS), plant data base.

### V

**Viveros, A., Brenes, A., Elices, R., Arija, I., Canales, R. (2001).** Nutritional value of raw and autocolaved kabuli and desi chikpea (*Cicer arietinum* L.) for growing chickens. Brit. Poult. Sci. 42:242-251.

**Voisin, A.S, Cellier, P., Jeuffoy, M. H. (2015).**Fonctionnement de la symbiose fixatrice de N<sub>2</sub> des légumineuses à graines : Impacts Agronomiques et Environnementaux.145.

**Voisin, A.S., Salon, C., Munier-Jolain, N.G., Ney, B. (2002).** Effect of mineral nitrogen on nitrogen nutrition and biomass partitioning between the shoot and roots of pea (*Pisum sativum* L.). *Plant and Soil* .242:251-262.

**W**

**Wais, R.J., Keating, D.H., Long, S.R. (2002).**Structure-function analysis of nod factor-induced root hair calcium spiking in *Rhizobium*-legume symbiosis. *Plant Physiology* .129 :211-24.

**Wery, J. (1983).** Contribution à l'étude de la nutrition azotée d'une légumineuses fourragère (*Medicago sativa* L.) et de légumineuses à graines. Thèse Docteur Ingénieur. ENSAM – USTL Montpellier.

**Wery, J. (1990).**Adaptation to frost and drought stress in chickpea and implications in plant breeding. In: Saxena M.C, Cubero J.I. and Wery. Present status and future prospects of chickpea crop production and improvement in the Mediterranean countries, *Options Mediterranean's, Series Seminaries 9, CIHEAM, and Paris.*77-85.

**Y**

**Yang, S., Tang, F., Gao, M., Koishnam, H.B., Zhu, H. (2010).** R gene-controlled host specificity in the legume-rhizobia symbiosis. *PNAS.*107:18735.

**Yaw Boakeye, E., Dotse Lawson, I.Y., Akyea Danso, S.K., Kwame Offei, S. (2016).**Characterization and diversity of rhizobia nodulating selected tree legumes in Ghana. *Symbiosis.*69-89.

**Z**

**Zaghouane, O. (1997).** La situation actuelle et les perspectives du développement de légumineuses alimentaire en Algérie, le développement et le rendement en grain du pois chiche (*Cicer arietinum* L) . 28 :13- 17.

**Zakhia, F., De Lajudie, P. (2001)** .Taxonomy of rhizobia. *Agronomie.* (21):569-576.

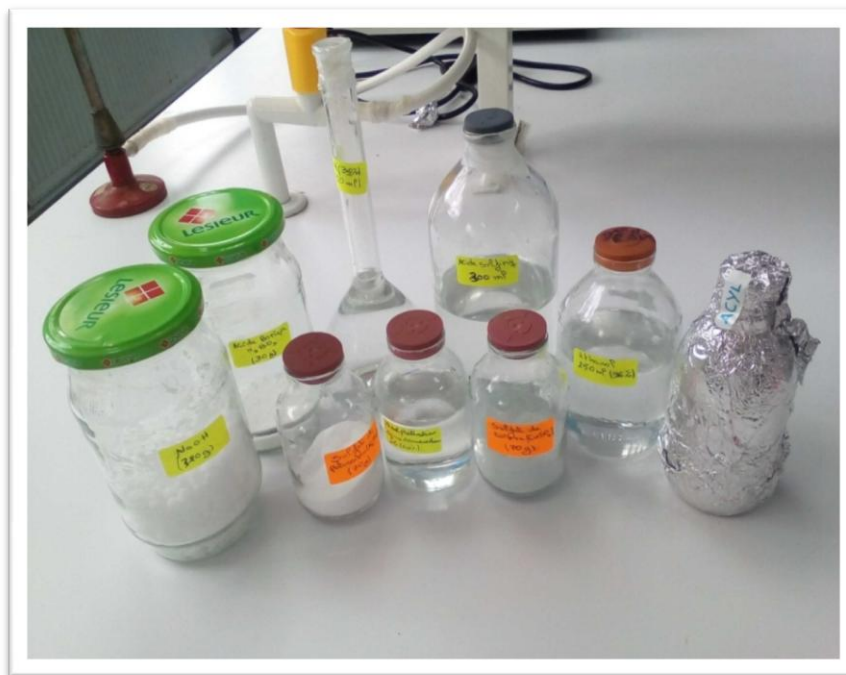
**Zakhia, F., Jeder, H., Domergue, O., Willems, A., Cleyet-Marel, J. C., Gillis, M., Dreyfus, B., et De Lajudie, P. (2004).** Characterization of wild legume nodulating bacteria (BNL) in the infra-arid zone of Tunisia. *Syst. Appl. Microbiol.* 27(3) : 380-395.

**Zikara-Zine, F., et Bouznad, Z. (2007).** Virulence et groupes de compatibilité dans les isolats d'*Ascochyta rabiei* en Algérie. *INRA Algérie - Recherche Agronomique.*19: 48 -55.

**Zikara-Zine, F., Bouzid, L. et Yekkour, A. (2015).** Le pois chiche en Algérie: Situation, Potentialités et Perspectives, *INRAA, Laboratoire des ressources phylogénétiques.*35-36.

### Annexe 01: Réactifs de caractérisation

- Indicateur Colore (Tashiro) : Bleu De Methylene A 0,1 % et Rouge de Methyle A 0,2 % dans ethanol 96 %.
- Hcl 0,5 N.
- Phenol Phtaleine A 1 % Dans Ethanol 96 % .
- Gaz Acetylene.



Les produits chimiques utilisés

## Annexe 02 : données météorologique

Mois	Températures Moyennes (°C)	Précipitations (mm)	Humidité relative (%)	EVP (mm)	Vent (m/s)	Insolation (h)
Janvier	7,8	33,9	61	76	4,5	51
Février	6,3	61,0	58	60	5,2	40
Mars	12,3	44,1	87	108	5,2	77
Avril	19,4	16,5	92	124	2,9	99
Mai	25,9	18,9	97	221	4,8	89
Juin	29,3	37,5	115	205	3,2	91
Juillet	35,3	8,8	115	273	2,5	122
Août	34,1	25,9	111	238	2,9	100
Septembre	28,9	56,2	139	194	3,9	75
Octobre	22,2	58,3	121	120	3,2	67
Novembre	14,4	41,2	92	67	3,2	71
Décembre	3,8	42,3	68	58	2,2	72
Moyenne Annuelle	19,97	450,6*	96,3	1744*	3,64	79,42

Tableau01 : Données climatiques de la région de Kais (2004-2)

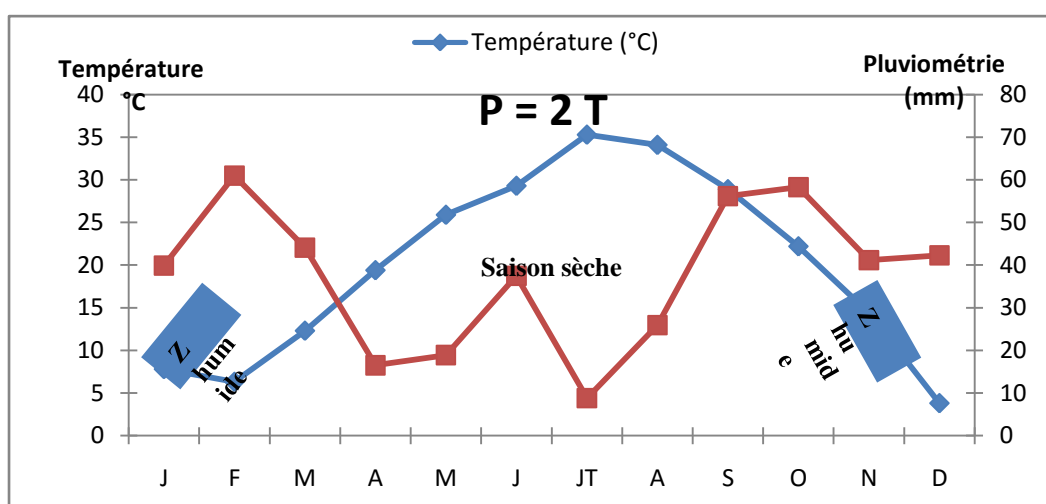


Figure01 : Diagramme Ombre thermique de la région sud de Kais (2004-2015)

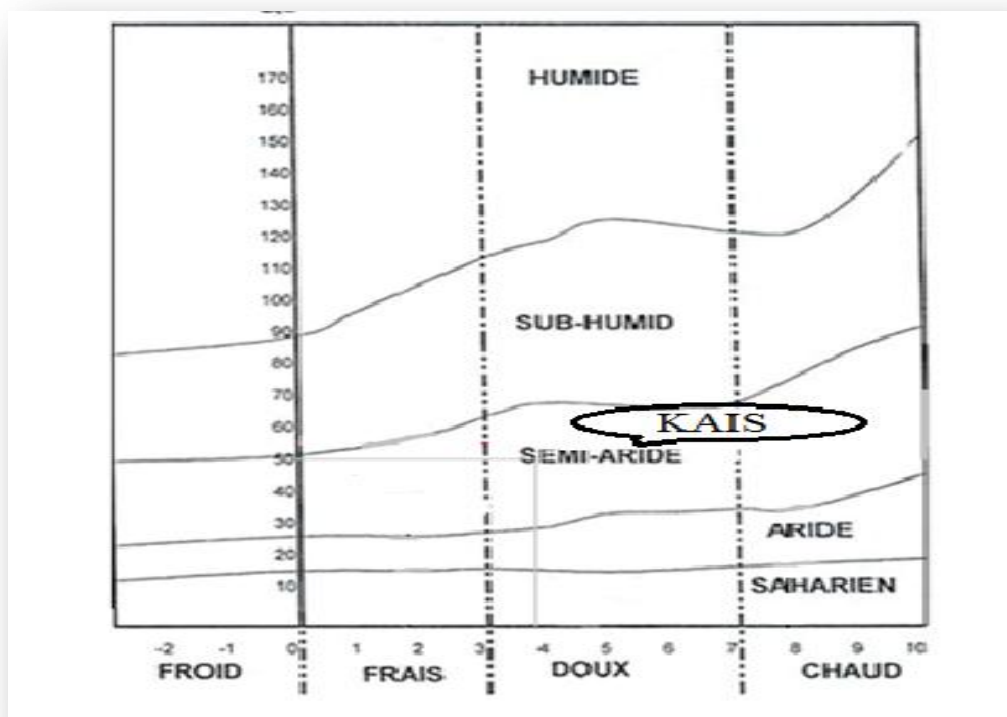


Figure02: Climat gramme d'EMBERGER de la région de Kais (2004-2015).

### Annexe : 03

Tableau01 : Teneur en azote durant la floraison et durant la maturation chez les 4 variétés

	FLIP85-55	FLIP84-92	ILC32-79	GAB40
<b>Feuille</b>	5,4±1.34	8,56±1.34	4,67±0	3,89±1.24
<b>Racine</b>	12,12±1.64	13,12±0.84	21,79±1.34	24,82±1.03
<b>Graines</b>	27,30±1.25	26,57±1.25	28,27±0.59	30,34±0

Tableau 02 : dosage de l'activité nitrogénasique durant la floraison

	flip 84-92	FLIP85-55	ILC 32-79	GAB40
<b>Florai</b>	57,57±9.80	54,25±5.30	55,4±4.10	54,3±4.42
<b>Lavariance</b>	95.97	28.10	16.81	19.53

Tableau03 :Teneur en protéines

varéite	FLIP85-55	FLIP84-92	ILC32-79	GAB40
<b>teneur en protéine</b>	170,62±1.25	166,06±1.25	176,68±0.59	189,62±0

**Noms et prénoms :**

- Ouannassi Fatma Zohra
- Hadji Nadjate

**Date de soutenance :****13/06/2018****Master : Biochimie Appliqué****Thème****Contribution à l'étude de la Nutrition Azotée chez les Légumineuses Cas du pois chiche  
"*Cicer arietinum. L* "****Résumé**

Par leur capacité à s'associer avec des bactéries du sol fixant l'azote atmosphérique, les légumineuses en général et le pois chiche en particulier « *Cicer arietinum .L* » ont la particularité de fixer l'azote atmosphérique et de pouvoir être cultivées sans utiliser d'engrais azotés, et d'être une source d'azote au niveau des cultures agricoles.

L'étude des 04variétés de pois chiche le FLIP 84, le FLIP 85, ILC 32 et le GAB 40 ont montré une teneur en azote très importante au niveau des racines par rapport aux feuilles de la plante.

Les deux variétés étudiés à savoir le GAB 40 et l'ILC 32 présentent une teneur très importante en Azote et en protéines par rapport aux FLIP 84 et le FLIP 85, durant la phase floraison, mêmes choses pour les graines durant la phase de maturation d'où un rendement très important.

Le dosage de l'activité nitrogénasique par la CPG à montré des pics très élevé en phase de la floraison au niveau de la partie racinaire, la concentration de l'activité nitrogénasique est très élevés pour les variétés le FLIP 84 et le FLIP 85 par rapport aux variétés GAB 40 et l'ILC 32.

**Mots Clés : pois chiche, symbiose, nutrition azotés, Nitrogénase**