

**EFFECT OF WATER STRESS ON RHIZOBIA SYMBIOSIS IN ALFALFA**  
**(*MEDICAGO SATIVA L.*)**

A. Mouffok<sup>1\*</sup>, M. Belhamra<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Agricultural Sciences, Faculty of Exact Sciences and Natural and Life Sciences, University of Mohamed khider Biskra, BP 145 RP, 07000 Biskra, Algeria

<sup>2</sup>Department of Agricultural Sciences, Faculty of Exact Sciences and Natural and Life Sciences, University of Mohamed khider Biskra, BP 145 RP, 07000 Biskra, Algeria

Received: 08 November 2018 / Accepted: 20 December 2019 / Published online: 01 January 2020

**ABSTRACT**

The objective of this work was to highlight the responses to the low, moderate and severe water deficit of five varieties of alfalfa. The mechanisms studied focused on the relative water content, dry matter yield and symbiotic nitrogen fixation. The results obtained showed that the effects of water stress are manifested by a decrease in the relative water content and negatively affect vegetative growth as well as the symbiotic nitrogen fixation. The varieties studied behave differently depending on the severity of stress. However, the Diamant and Baldia varieties proved the most tolerant to the different degrees of water deficit. On the other hand, the varieties Dista and Moapa showed a significant sensitivity to the lack of water. This study could be used to define relevant criteria for drought resistance that can be used in varietal selection.

**Keywords:** nitrogen fixation; alfalfa; tolerance; selection; water deficit.

Author Correspondence, e-mail: [mouafek.ahlem@yahoo.com](mailto:mouafek.ahlem@yahoo.com)

doi: <http://dx.doi.org/10.4314/jfas.v12i1.17>



## 1. INTRODUCTION

La sécheresse est largement reconnue comme le premier facteur limitant la production agricole mondiale. Globalement, 35% de la superficie cultivable peut être classée comme aride ou semi-aride, le reste des ces superficies, 25% au moins sont régulièrement soumises à des périodes de sécheresse. De plus, les zones touchées sont en nette progression car l'un des problèmes majeurs est l'effet de serre qui engendre une élévation des températures qui accroissent les risques de sécheresse. La bonne gestion de la ressource en eau est une nécessité économique et écologique [1].

L'effet du déficit hydrique peut se traduire selon la stratégie adaptative de chaque espèce ou variété, par des modifications morphologiques (pour augmenter l'absorption d'eau et/ou pour diminuer la transpiration et la compétition entre les organes pour les assimilats), des modifications physiologiques et biochimiques (baisse de la teneur en eau des tissus, perturbation de la balance hormonale, augmentation de la température du couvert végétal, diminution de la teneur en chlorophylle et par conséquent la photosynthèse) [2,3].

Pour une agriculture durable il sera plus intéressant de s'orienter vers une gestion rationnelle des terres cultivées basées sur une connaissance profonde des interactions biologiques entre espèces et en utilisant des ressources naturelles disponibles. D'autre part, l'identification de variétés tolérantes au stress hydrique permettrait certainement d'améliorer la production des zones à risque [4].

Les analyses effectuées au cours des dernières années à propos de l'effet des contraintes de l'environnement sur la croissance végétale sous climat méditerranéen indiquent que l'azote pourrait être l'un des facteurs les plus limitants de la production végétale et bien qu'il soit possible d'augmenter la productivité de certains sols au moyen d'engrais azotés, les faibles bénéfices économiques qui en résultent font que la fertilisation est impossible dans beaucoup de conditions. En raison de ce type de limitation, une attention particulière doit être accordée à la fixation biologique de l'azote au moyen de l'utilisation d'associations légumineuses-*Rhizobia* [5].

A cause de l'importance de la fixation symbiotique de l'azote chez la luzerne, les recherches se sont orientées vers l'amélioration de la fixation chez les cultivars de cette plante, ainsi que la

sélection de souches efficaces de *Rhizobium meliloti*. Cependant, pour bénéficier au maximum de cette association symbiotique, il est aussi important d'améliorer les conditions de la symbiose.

L'objectif principal de ce travail est de présenter la variabilité dans le comportement des cultivars étudiés à différents niveaux de stress hydrique appliqués chez la luzerne. Notre approche est d'étudier la variabilité de réponses de la symbiose à rhizobia chez la luzerne cultivée sous contrainte hydrique.

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

### 2.1. Effet du stress hydrique sur la teneur relative en eau

La teneur relative en eau des feuilles constitue l'un des principaux paramètres d'estimation de la résistance à la sécheresse. Elle est considérée comme un indicateur physiologique important dans l'état d'hydratation des plantes en fonction des régimes hydriques disponibles dans le substrat [6,7].

L'analyse statistique des résultats obtenus (tableau 1) montre que la teneur relative en eau est influencée par la nature des variétés testées ( $p < 0,05$ ). Ce paramètre dépend également et d'une manière très hautement significative du régime hydrique appliqué ( $p < 0,001$ ). Cette contrainte réduit de manière remarquable la teneur relative en eau des plantes à laquelle sont soumises. Cette diminution est d'autant plus marquée que l'intensité du stress est élevée. Il faut noter que le comportement des variétés testées, en présence de la contrainte, se réalise de manières différentes.

Les résultats moyens obtenus de l'estimation de ce paramètre (tableau 2), montrent que les valeurs de la teneur relative en eau les plus élevées sont notées chez les échantillons témoins (SDH), avec une valeur maximale de l'ordre de  $90,77 \pm 1,07\%$  marquée par la variété Diamant et une valeur minimale égale à  $80,27 \pm 1,67\%$  observée chez la variété Dista.

**Tableau 1.** Analyse de la variance des paramètres étudiés des génotypes testés.

Variables	Effet du génotype	Effet hydrique	Effet génotype x hydrique
	Test F	Test F	Test F
Teneur relative en eau (TRE)	2,337*	116,456***	1,985*
Matière sèche (MS)	2,851**	67,125***	1,137ns
Activité de réduction de l'acétylène (ARA)	4,724***	75,487***	2,493**

\*, \*\*, \*\*\* = seuil de signification à 5, 1 et 0,1 % respectivement ; ns : non significatif

**Tableau 2.** La teneur relative en eau des plantes de *Medicago sativa* L. sous différents régimes hydriques.

Variétés	TRE				
	SDH	ADH 1	Evolution %	ADH2	Evolution %
Dista	80,27±1,67	74,57±0;89	-7,10	53,12±3.14	-33,82
Moapa	83,53±2,01	81,25±1,05	-2,72	50,01±1.58	-40,12
Diamant	90,77±1,07	88,44±0,84	-2,56	67,63±4.36	-25,49
Baldia	89,38 ±0,91	88,52±1,43	-0,96	71,37±1.19	-20,14
Saudiane	85,67±1,15	80,09±1,07	-6,51	59,10±2.10	-30,97

Les valeurs de la teneur relative en eau les plus faibles sont enregistrées au niveau des plantes stressées (ADH<sub>1</sub>, ADH<sub>2</sub>). Dans le traitement ADH<sub>1</sub>, ces valeurs sont de l'ordre de 80,09±1,07% chez Saudiane et 88,52±1,43% chez le génotype Baldia.

Les décroissances de la teneur relative en eau s'avèrent plus importantes dans le lot ADH<sub>2</sub> et de manières controversées chez les génotypes conduits. Ainsi, parmi la collection, le génotype Baldia s'avère plus résistant pour le maintien de son hydratation, où on note une faible réduction de l'ordre de 20,14% par rapport à la valeur du lot témoin. Dans la même collection le génotype, Diamant présente également de bon niveau de résistance estimé à 25,49%.

La variété Moapa s'avère plus sensibles à la perte d'hydratation sous déficit hydrique. Elle inscrit des régressions de leur teneur en eau de 40,12%. Le reste des géotypes, Saudiane et Dista présentent des niveaux de résistance moyenne comprise limitées par des valeurs de 30,97% et 33,82%.

L'étude démontre que l'accroissement de l'intensité du stress, provoque une baisse importante de la teneur en eau des feuilles, essentiellement au niveau du lot ADH2. De nombreux travaux démontrent que ce paramètre physiologique constitue un critère efficace dans le criblage des géotypes tolérants la déshydratation en conditions de déficit hydrique [8,9,10,11]. Il constitue également une caractéristique indicatrice, en réponse immédiat à la déclaration des facteurs induisant la sécheresse [12]. La teneur relative en eau est d'un intérêt majeur dans les travaux de sélection, car il serait d'une forte héritabilité [13,14].

La diminution de la TRE est plus rapide chez les variétés sensibles que chez les variétés résistantes. Ainsi les géotypes qui maintiennent une TRE élevée dans la présence de stress hydrique sont des géotypes tolérants [15].

Parmi la variabilité conduite, les géotypes Baldia et Diamant, constituent de bons géniteurs pour le transfert de ce caractère. Ils représentent les géotypes les plus tolérants vis-à-vis du déficit hydrique appliqué, en minimisant les effets de ce stress sur la préservation de leur hydratation.

## **2.2. Effet du stress hydrique sur la matière sèche des plantes de la luzerne**

L'étude statistique des résultats obtenus (tableau 1), démontre que l'élaboration de la matière sèche est significativement influencée par le stress hydrique appliqué ( $p < 0,01$ ). La nature de la variabilité génétique conduite permet également des différences significatives d'expression de cette variable ( $p < 0,05$ ).

Au niveau du traitement témoin (SDH) (tableau 3), les valeurs de la matière sèche sont comprises entre  $1,97 \pm 1,45$ g (Diamant) et  $1,70 \pm 1,10$ g (Saudiane).

A l'échelle du lot ADH1, les géotypes de la collection ont manifesté un accroissement des taux de la matière sèche, où le géotype Dista se distingue parmi cet ensemble avec une réduction de 21,16%.

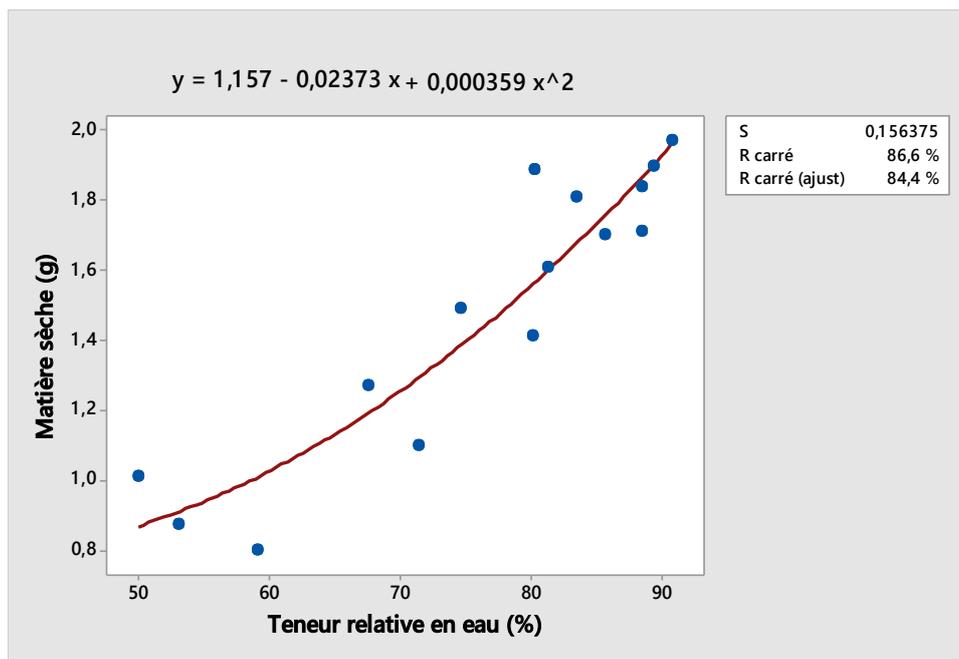
L'application du déficit hydrique plus sévère (ADH2), est accompagnée d'une nette réduction

des valeurs de la matière sèche, chez l'ensemble des génotypes expérimentés. Ces régressions ont atteint des niveaux de 53,96% (Dista) et 50% chez Saudiane. Le génotype Diamant, s'avère le moins sensible à ce niveau de déficit hydrique, pour l'élaboration de la matière sèche, en inscrivant la plus faible réduction avec 35,53%.

**Tableau 3.** La matière sèche des plantes de *Medicago sativa* L. sous différents régimes hydriques

Variétés	MS				
	SDH	ADH 1	Evolution %	ADH2	Evolution %
Dista	1,89 ± 0,66	1,49± 0,41	-21,16	0,87±0,24	-53,96
Moapa	1,81±1,03	1,62±0,93	-10,49	1,01±0,19	-44,19
Diamant	1,97±1,45	1,84±0,79	-6,59	1,27±0,35	-35,53
Baldia	1,90±0,89	1,71±1,15	-10	1,10±0,10	-42,10
Saudiane	1,70±1,10	1,41±1,09	-17,05	0,80±0,21	-50

A fin d'analyser la relation entre la teneur relative en eau et la croissance de la luzerne dans cette expérience, la corrélation entre ces paramètres ont été calculées. L'équation de droite de régression de la croissance en fonction de la teneur relative en eau chez la luzerne présente dans la figure 1.



**Fig. 1.** Corrélation entre la matière sèche et la teneur relative en eau

Les analyse de corrélation montrent que la biomasse sèche est positivement corrélée avec la teneur relative en eau ( $r^2 = 84,4\%$ ). Ceci dénote le rôle prépondérant de l'alimentation hydrique dans l'élaboration de la matière sèche. Le déficit hydrique et l'irrégularité des pluies constituent, de ce fait, des facteurs limitants majeurs pour la production agricole en zone semi aride et aride.

L'effet du déficit hydrique est plus pénalisant au niveau de la plante en limitant essentiellement, la croissance et la néoformation des différents organes. La matière sèche est l'un des indicateurs les plus fiables de ces effets.

La réduction de la matière sèche sous l'effet de la contrainte hydrique est rapporté par plusieurs auteurs notamment chez *Vicia faba* L. [16], *Cicer arietinum* L. [17], *Vigna unguiculata* L. [18], , *Abelmoschus esculentus* [19].

La production de la matière sèche est différemment affectée par les contraintes hydriques selon les souches rhizobiennes et le stade phénologique de la plante [20,21].

### **2.3. Effet du stress hydrique sur la fixation symbiotique de l'azote**

D'après les résultats obtenus (tableau 1), on constate un effet très dépressif du déficit hydrique sur le processus de la fixation symbiotique de l'azote chez l'ensemble des génotypes testés ( $p < 0,001$ ). Cette réduction s'avère d'intensités différentes chez les génotypes expérimentés,

faisant apparaître ainsi un effet génotypique ( $p < 0,001$ ) et d'interaction entre les deux facteurs d'étude, significatif.

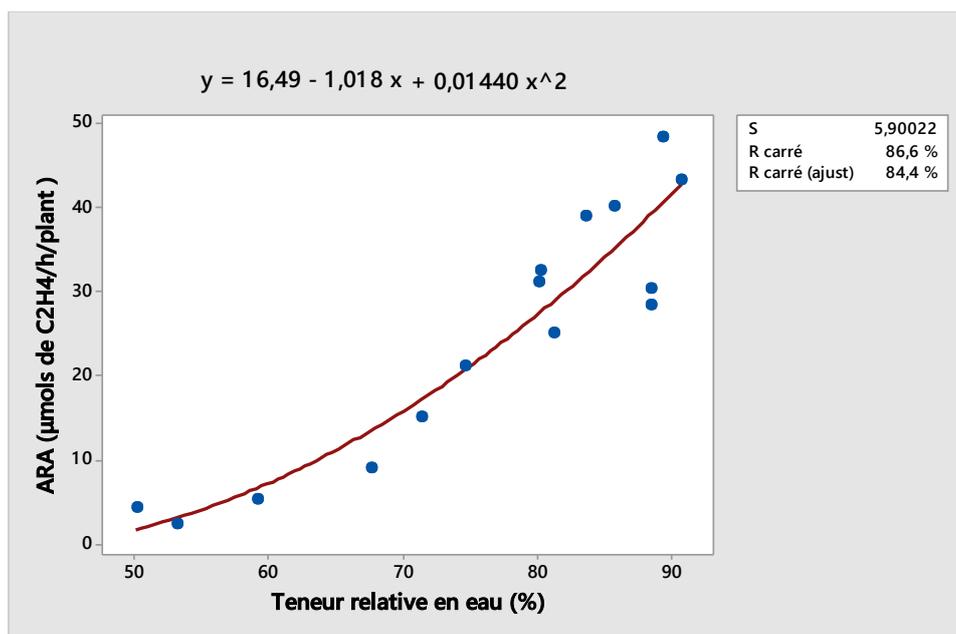
**Tableau 4.** Activité de réduction de l'acétylène des plantes de *Medicago sativa* L. sous différents régimes hydriques

Variétés	ARA				
	SDH	ADH 1	Evolution %	ADH2	Evolution %
Dista	32,53±1,03	21,15±2,03	-34,98	2,36±1.15	-92,74
Moapa	38,86±0,85	25,01±0,65	-35,64	4,17±1.09	-89,26
Diamant	43,18±2,03	30,19±1,35	-30,08	9±0,89	-79,15
Baldia	48,23±1,95	28,41±1,02	-41,09	15±0,12	-68,89
Saudiane	40,12±1,01	31,12±0,45	-22,43	5,32±0,45	-86,73

L'activité de réduction de l'acétylène (ARA) (tableau 4) chez l'ensemble des génotypes et à l'échelle du traitement témoin SDH est comprise entre 48,23±1,95µmols de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/h/plant (Baldia) et 32,53±1,0395µmols de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/h/plant (Dista). En conditions de déficit hydrique modéré (ADH1), ARA est réduites chez tous les génotypes testés. En conditions de déficit hydrique plus prolongé (ADH2), ARA a subit une forte réduction chez l'ensemble des génotypes expérimentés. Cette réduction s'exprime fortement chez le génotype Dista avec une valeur de 92,74%. Par contre, la plus faible régression est inscrite chez le genotype Diamant (79,15%).

La contrainte hydrique provoque une diminution de la fixation symbiotique de l'azote, avec une activité très réduite pendant le stress sévère.

La figure 2 montre une corrélation positive significative entre l'activité de réduction de l'acétylène et la teneur relative en eau ( $r^2 = 84,4\%$ ). Cette corrélation confirme que la fixation symbiotique de l'azote chez la luzerne dépend essentiellement de la teneur relative en eau.



**Fig.2.** Corrélation entre l'activité de réduction de l'acétylène et la teneur relative en eau

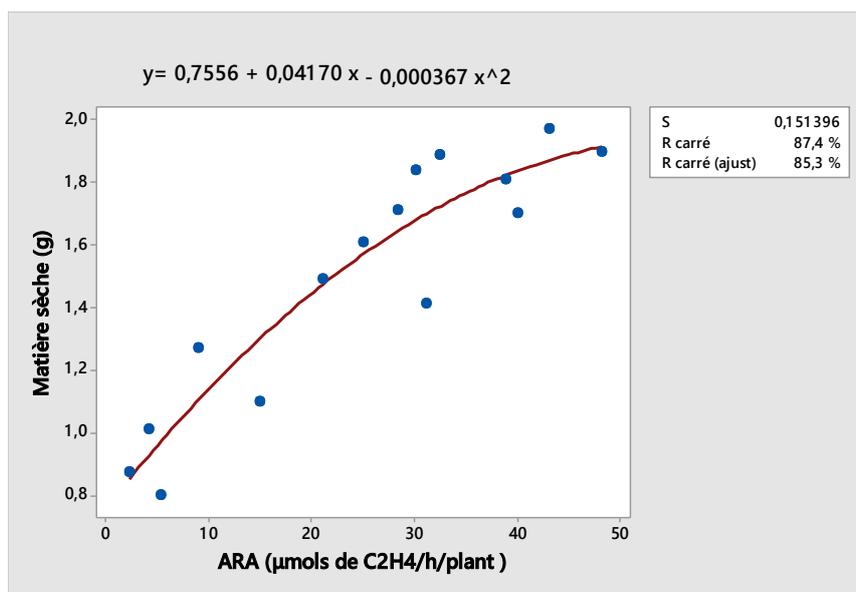
L'effet du stress hydrique sur la symbiose dépend généralement de la phase de la croissance et de développement de la plante, mais aussi de la sévérité de la contrainte hydrique [22]. Un stress hydrique modéré réduit seulement le nombre de nodules formés sur des racines de soja, alors qu'un stress sévère réduit le nombre et la fixation d'azote [23,24]. La nodulation et la fixation d'azote est plus sensible au stress hydrique pendant la phase végétative que la phase reproductrice [25].

La fixation symbiotique de l'azote est fortement affectée par le déficit hydrique, à cause de la réduction de la leghémoglobine dans les nodules, de la diminution de l'activité spécifique des nodules et de la réduction de nombre et poids sec des nodules [26]. Le stress hydrique retarde aussi la formation des nodules chez les légumineuses. La réduction de nombre de nodules a été également observée chez la fève et le haricot exposés au stress hydrique [27].

Cette grande sensibilité de la fixation symbiotique de l'azote au stress a été expliquée par le fait que celui-ci provoque la plasmolyse des cellules corticales des nodosités et leur tassement, augmentant ainsi leur résistance à la diffusion de l'oxygène vers les bactéroïdes fixateurs [28], ce qui est confirmé par le fait que l'accroissement de la pression partielle d'oxygène autour des nodosités augmente l'activité de la nitrogénase [29,30].

Pour déterminer l'efficacité de la symbiose rhizobienne chez la luzerne dans cette étude, nous avons basé sur la corrélation entre la biomasse sèche et la fixation symbiotique de l'azote.

Les données de la figure 3 montrent une régression significative de la matière sèche en fonction de l'activité de réduction de l'acétylène des plantes de la luzerne ( $r^2 = 85,3 \%$ ). Ceci confirme que la fixation symbiotique de l'azote est un facteur déterminant de l'accumulation de la matière sèche.



**Fig.3.** Corrélation entre l'activité de réduction de l'acétylène et la matière sèche

La pente des régressions peut être considérée comme un indicateur de l'efficacité de la fixation symbiotique de l'azote dans la croissance de la plante. Puisque cette pente indique le bénéfice de l'accumulation de la matière sèche résultant d'une augmentation de l'activité de la fixation d'azote.

### 3. EXPERIMENTAL

L'expérimentation a été réalisée sous un abri afin d'éviter les apports d'eau non contrôlés par les pluies, et de mieux maîtriser les quantités d'eau données aux plantes par la méthode du bilan hydrique. Le matériel végétal utilisé est constitué de cinq variétés de luzerne: Dista, Moapa, Diamant, Baldia, Saudiane.

La culture est réalisée dans des pots en plastique, ayant un volume de 4,5 l, de section circulaire; d'un diamètre supérieur de 20cm, d'un diamètre inférieur de 13,5cm et de 18cm de

profondeur. La base des pots est perforée à raison de 7 trous pour faciliter le drainage des eaux excessives. Les pots sont remplis chacun d'un substrat composé en parties égales de sable, de matière organique et de terre ayant une capacité de rétention d'eau faible et une forte infiltration.

Les grains sont semés à raison de 5 graines par pot. Après la levée un éclaircissage basé sur l'homogénéité de la répartition du stade de développement a permis de réduire la densité à 3 plants par pot. Les pots portant les plants sont disposés en bloc randomisés au hasard avec 3 répétitions par traitement.

Les pots sont disposés en trois traitements avec et sans déficit hydrique (ADH<sub>1</sub>, ADH<sub>2</sub>, SDH). Au niveau de chaque traitement, chacun des génotypes est répété 3 fois.

SDH (traitement sans déficit hydrique), les plantes sont irriguées à la capacité au champ. Ce traitement est considéré comme témoin.

ADH<sub>1</sub> (traitement avec déficit hydrique 1) les plantes subissent un déficit hydrique d'intensité de 50% de la capacité au champ.

ADH<sub>2</sub> (traitement avec déficit hydrique 2) les plantes subissent un déficit hydrique d'intensité de 25% de la capacité au champ.

Un mois après le semis, l'ensemble des pots a reçu la même dose d'arrosage. Ensuite, les deux régimes hydriques ADH<sub>1</sub> et ADH<sub>2</sub> sont appliqués.

Au stade floraison, les plantes ont été déterrés, les feuilles et les racines sont soigneusement séparées, les racines sont immédiatement trempées à l'eau puis desséchées avec du papier absorbant afin d'éviter toute contamination avec le substrat de culture.

Les organes séparés de chaque plante sont immédiatement pesés et enveloppés dans du papier aluminium, numérotés et puis desséchés par le passage à l'étuve sous une température de 80°C pendant 48 heures. Le poids sec de chaque échantillon est déterminé après le séchage à l'aide d'une balance analytique de précision.

Les échantillons séchés sont broyés par la suite manuellement à l'aide d'un mortier en porcelaine jusqu'à l'obtention d'une fine poudre qui sera entreposée ensuite dans des piluliers hermétiquement fermés par des bouchons plasma et mise dans un congélateur pour les analyses.

Les paramètres que nous avons mesurés au cours de cette étude ont été retenus vue leur sensibilité au stress hydrique : teneur relative en eau, matière sèche, la fixation symbiotique de l'azote par la mesure de l'activité réductrice d'acétylène (ARA).

L'analyse de la variance a été utilisée afin de mettre en évidence d'éventuelles différences entre les traitements et les variétés. Les moyennes sont comparées selon la méthode de la plus petite différence significative.

#### 4. CONCLUSION

Au terme de cette étude et à travers les résultats obtenus, nous avons noté que le stress hydrique perturbe les processus physiologique de croissance, de développement et plus particulièrement celui de la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique. Les différentes variétés étudiées réagissent différemment à ces contraintes. Cette diversité constitue un atout majeur pouvant être pour déterminer les mécanismes les plus efficaces déployés par la luzerne pour s'adapter au stress hydrique.

Nous avons pu mettre en évidence la supériorité des deux variétés Diamant et Baldia pour la production de matière sèche et la fixation de l'azote pendant une contrainte hydrique. Ces paramètres contribuent à la formation du rendement en fourrages et par conséquent conditionnent la productivité de la luzerne. De ce fait nous pouvons penser que ces variétés peuvent présenter un intérêt pour les régions où les contraintes hydrique constituent un facteur limitant de la production végétale.

La fixation symbiotique est un paramètre important qui s'inscrit dans le nouveau concept de l'agriculture durable, le potentiel biologique représenté par la symbiose rhizobia-légumineuses devrait être pris en considération.

Au terme de cette contribution, il apparaît souhaitable de poursuivre la recherche des variétés et des populations capables d'exprimer une forte fixation en présence des facteurs limitants tel que le stress hydrique. Aussi dans notre région la diversité génétique des rhizobia peut encore révéler de nombreux caractères liés à l'adaptation des souches au déficit hydrique. L'amélioration de la fixation symbiotique de l'azote peut s'avérer une approche efficace pour améliorer le rendement en fourrage chez la luzerne.

## 5. REFERENCES

- [1] Bauerle W.L., Wang G.G., Bowden J.D., Hong C.M. An analysis of ecophysiological responses to drought in American chestnut. Edit. Ann. For. Sci. vol., 2006,63, 833-842.
- [2] Hamidou F., Dicko M.H., Zombre G., Traore A., Guinko S. Réponse adaptative de deux variétés de niébé à un stress hydrique. Edit. Cahiers Agricultures, 2005, 14 (6), 561- 567.
- [3] Slama A., Salem M., Ben Naceur M., Zid E. Les céréales en Tunisie: production, effet de la sécheresse et mécanisme de résistance. Edit. Sécheresse, 2005, 15 (16), 225- 229.
- [4] Boualla N., Benziane A., Et Derrich Z. Origine de la salinisation des sols de la plaine de M'leta, Oran Algérie Journal of Applied Biosciences, 2012, 53, 3787 – 3796.
- [5] Sanchez-Diaz M. et Aguirreolea J. Fijacion de nitrogeno en embeintes ariodos y semiariodos. In: Megias Guijo M., Palomares Diaz A.J. & Ruis Berraquero F., eds. Aportaciones biologia fijacion nitrogeno atmosférico. Sevilla, Spain: Publicaciones Universidad de Sevilla, 1991, 45-60.
- [6] Lawlor D., Cornic G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. Edit. Plant Cell Environ, 2002, 25, 275–294.
- [7] Mefti M., Abdelguerfi A., Chebouti A. Etude de la tolérance à la sécheresse chez quelques espèces de *Médicago truncatula* (L.)Gaertn. Edit. Revue Sécheresse, 2002, 15 (5) 173-176.
- [8] Sairam R.K., Chandrasekhar V., Srivastava G.C. Comparison of hexaploid wheat cultivars in their responses to water stress. Biologica plantarum, 2001, 44 (1), 89- 94.
- [9] Mekliche A., Boukecha D., Eit Hanifi-Mekliche L. Etude de la tolérance à la sécheresse de quelques variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.). L'effet de l'irrigation de complément sur les caractères phénologiques, morphologiques et physiologique. Annales de l'Institut National, Agronomique. El Harrach, 2003, 24 (1), 97-110.
- [10] Khan H.R., Link W., Hocking T.J., Stoddard F.L. Evaluation of physiological traits for improving drought tolerance in faba bean (*Vicia faba*L.). *Plant and Soil*, 2007, 292, 205-217.
- [11] Radhouane, L. Corrélation entre le stade germination et le stade adulte en présence de stress hydrique chez quelques écotypes autochtones tunisiens de mil (*Pennisetum glaucum* L. R. Br.) *Compte Rendus Biologie*, 2008, 331(8), 623-630.
- [12] Albouchi A., Bejaoui Z., Hedi El Aouni M. Influence d'un stress hydrique modéré ou

sévère sur la croissance de jeunes plants de *Casuarina glauca* Sieb. Edit. Science et changements planétaires, Sécheresse, 2003, 14 (3), 137-142.

[13] Araus J.L., Febrero A., Vendrell P. Epidermal conductance in different parts of durum wheat grown under Mediterranean conditions : the role of epicuticular waxes and stomata. *Plant Cell Environ*, 1991, 14, 545-558.

[14] El Hakimi A., Monneveux P., Galiba G. Soluble sugars, proline, and relative water content as traits for improving drought tolerance in *Triticum durum*. *J. Gen. Breed.*, 1995, 49, 234-244.

[15] Poormohammad K.S. Analyse génétique des réponses physiologiques dutournesol (*Helianthus annuus* L.) soumis à la sécheresse. Thèse de doctorat d'état, ENSAT, Toulouse. France, 2007, 213p.

[16] Mwanamwenge J., Loss S.P., Siddique K.H.M., Cocks P.S. Effect of water stress during floral initiation, flowering and podding on the growth and yield of faba bean (*Vicia faba* L.). *European Journal of Agronomy*, 1999, 11, 1-11.

[17] Slim N., Sifi B., Triki S. Criblage de variétés de pois chiche (*Cicer arietinum* L.) pour la résistance au stress hydrique. In Actes du séminaire international: Gestion des ressources et applications biotechnologiques en aridoculture et cultures oasiennes: Perspectives pour la valorisation des potentialités du Sahara. Institut des Régions Arides, Médenine 25-28 Décembre 2008, Tunisie. *Revue des régions arides*, 2008, 21, 734-744.

[18] Hamidou F., Dicko M.H., Zombre G., Traoré A.S., Guinko S. Réponse adaptative de deux variétés de niébé à un stress hydrique. *Cahiers Agricultures*, 2005,14, 561-567.

[19] Sankar B., Jaleel C.A., Manivannan P., Kishorekumar A., Somasundaram R., Panneerselvam R. Drought induced biochemical modifications and proline metabolism in *Abelmoschus esculentus*. *Acta Bot.Croat*, 2007, 66, 43-56.

[20] Saxena N.P., Johansen M.C., Saxena M.C., Silim S.N. Selection for drought and salinity tolerance in cool-season food legumes. In *Breeding for Tolerance in cool-season Food Legumes*. Eds. Singh K.B., Saxena M.C., 1993, 245-270.

[21] Roy S.K., Rahamans S.M.L., Salahudin A.B.M. Effect of rhizobium inoculation and nitrogen on nodulation, growth and seed yield of gram (*Cicer arietinum* L.). *Indian J. Agric.*

*Sci.*, 1995, 65, 853-857.

[22] Zahran H.H. Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 1999, 63, 968–989.

[23] Sinclair T.R., Soffes A.R., Hinson K., Albrecht S. L., Pfehler M., Genotypic variation in soybean nodules number and weight. *Crop Sci*, 1991,31, 301-304.

[24] Pazdernik D. L., Graham P. H., Vance C. P., Ore J.H., Variation in the pattern of nitrogen accumulation and distribution in soybean. *Crop Sci.*, 1997, 31, 1482-1486.

[25] Pena -Cabriaes J.J., Castellanos J.Z. Effects of water stress on nitrogen fixation and grain yield of *Phaseolus vulgaris* L. *Plant and Soil*, 1993, 152, 151-155.

[26] Reddy T.Y., Reddy V.R., Anbumozhi V. Physiological responses of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) to drought stress and its amelioration: a critical review. *Plant Growth Regulation*, 2003, 41, 75-88.

[27] Sangakkara U.R., Hartwig U.A., Nosberger J. Soil moisture and potassium affect the performance of symbiotic nitrogen fixation in faba bean and common bean. *Plant and Soil*, 1996, 184, 123-130.

[28] Guerin V., Trinchant J.C., Rigaud J. Nitrogen fixation (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> reduction) by broad bean (*Vicia faba* L.) nodules and bacteroids under water-restricted conditions. *Plant Physiology*, 1990, 92, 595-601.

[29] Drevon J.J., Deransart C., ROY G., Serraj R., Vadez V. Les réponses des échanges nodulaires à l'O<sub>2</sub> permettant de mieux comprendre diverses limitations de la fixation symbiotique de l'azote. In *Recent developments in biological nitrogen fixation reseach in Africa*. Eds. Sadiki M., Hillali A., 1994, 45-60.

[30] Hungria M., Vargas M.A.T. Environmental factors affecting Nitrogen fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. *Field Crops Research*, 2000, 65, 151-164.

**How to cite this article:**

Mouffok A et Belhamra M . Effect of water stress on rhizobia symbiosis in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *J. Fundam. Appl. Sci.*, 2020, 12(1), 242-256.