

**BURKINA FASO**  
LA PATRIE OU LA MORT, NOUS VAINCRONS !

**UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU**

**INSTITUT DU DEVELOPPEMENT RURAL**  
**(I. D. R.)**

**INSTITUT DE RECHERCHE EN BIOLOGIE**  
**ET ECOLOGIE TROPICALE**  
**(I. R. B. E. T.)**

**CENTRE TECHNIQUE FORESTIER TROPICAL**  
**(C.T.F.T./C.I.R.A.D.)**

# **MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**

PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION DU  
**DIPLOME D'INGENIEUR DU DEVELOPPEMENT RURAL**

OPTION : EAUX ET FORETS

**ISOLEMENT DE SOUCHES DE MICROORGANISMES**  
**SYMBIOTIQUES**

**( RHIZOBIUM ET CHAMPIGNONS ENDOMYCORHIZIENS )**  
**TESTS D'INFECTIVITE ET D'EFFECTIVITE SUR**  
**ACACIA ALBIDA DEL**

# R E M E R C I E M E N T S

Il nous est agréable d'exprimer ~~ici notre sincère reconnaissance~~  
à tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, ~~ont contribué à la réalisation de ce travail.~~ Nous remercions particulièrement :

Monsieur DE FRAMOND H., Directeur du C.T.F.T, qui a bien voulu nous accepter dans le laboratoire de microbiologie de son service et qui, durant notre stage, nous a efficacement soutenus et encouragés.

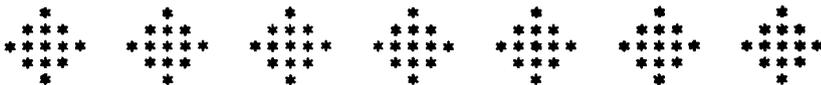
Le Camarade KABRE A. et Monsieur OLORY N., Professeurs de l'I.D.R., qui se sont vivement intéressés à notre travail et ~~l'ont assidûment suivi en nous faisant partager leurs connaissances scientifiques.~~

Le Camarade ASIMI S., Directeur de la station I.N.R.A. de Saria qui, par ses précieux conseils techniques, ~~a largement participé à la réussite de ce mémoire.~~

Notre gratitude va également à Monsieur GROLLEAU A., Directeur adjoint du C.T.F.T pour l'appui logistique qu'il nous a fourni ; au Camarade BONKOUNGOU E. G., Directeur de l'I.R.B.E.T/C.T.F.T, qui nous a prodigué de précieux conseils et encouragements.

Nous remercions par ailleurs le Camarade TRAORE A., Professeur à l'I.S.N., qui a bien voulu mettre à notre disposition du matériel chimique de son laboratoire ; le laboratoire de microbiologie de l'ORSTOM de Dakar et celui du B.S.S.F.T du CNRS/ORSTOM de Nogent-sur-Marne qui nous ont conjointement fourni des souches symbiotiques.

Nous ne saurions terminer sans remercier tout le personnel de l'I.R.B.E.T/C.T.F.T qui a contribué à rendre notre stage agréable, la Camarade OUANGO T. Y. pour la dactylographie et la présentation de ce mémoire.



# O M M A I R E

## I N T R O D U C T I O N

### Première Partie :/

#### GENERALITES SUR LES SYMBIOSES PACINATRES DES LEGUMINEUSES

	<u>PAGE</u>
I. <u>La symbiose Rhizobium - Légumineuse</u> =====	
11 - La fixation biologique de l'azote .....	3
12 - Biologie des <u>Rhizobium</u> .....	6
13 - Spécificité et taxonomie des <u>Rhizobium</u> .....	6
14 - Développement des nodules .....	8
15 - Influence des facteurs du milieu sur la symbiose <u>Rhizobium - Légumineuse</u> .....	9
151-Importance de l'azote combiné et des carbohydrates disponibles .....	9
152-Rôle du phosphore assimilable du sol .....	10
153-Les paramètres physico-chimiques du sol .....	10
154-Action des agents pathogènes du sol .....	11
II. <u>Les mycorhizes</u> .....	12
21 - <u>Les différents types de mycorhizes</u> .....	12
22 - <u>Les endomycorhizes à vésicules et arbuscules (MVA)</u> .....	13
221-Taxonomie .....	13
222-Morphologie .....	13
223-Ecologie .....	14
23 - <u>Rôle des mycorhizes dans le développement des plantés</u> .....	16
231-La nutrition en phosphore et en oligo-éléments .....	16
232-Effet sur la résistance à la sécheresse .....	17
233-Amélioration de la résistance des plantes aux maladies .	17

Deuxieme Partie :

MATERIEL ET METHODES

<u>I. Matériel utilisé</u>	<u>PAGE</u>
11 - <u>Les sols</u> .....	19
12 - <u>Le matériel végétal</u> .....	19
121- <u>Acacia albida</u> .....	19
122-Origine des graines utilisées .....	20
13 - <u>Les souches bactériennes et fongiques</u> .....	20
131-Les souches de <u>Rhizobium</u> .....	20
132-Les champignons endomycorhiziens .....	21
<u>II. Méthodes et protocoles expérimental</u> .....	22
21 - <u>Prélèvement et traitement des sols</u> .....	22
211-Technique de prélèvement .....	22
212-Désinfection de sols .....	22
22 - <u>Conditions d'élevage des plants ; description du dispositif.</u> ..	22
23 - <u>Culture d'Acacia albida</u> .....	23
231-Traitement et germination des graines .....	23
232-Repiquage et entretien des plantes .....	23
233-Culture en tubes à essais .....	24
24 - <u>Culture de Rhizobium</u> .....	24
241-Préparation des milieux de culture .....	24
242-Isolement des souches de <u>Rhizobium</u> .....	27
243-Méthode de repiquage de souches et d'ensemencement de milieux .....	28
25 - <u>Séparation de spores et production d'inoculum de champignons     endomycorhiziens</u> .....	28
251-Méthode de séparation des spores .....	28
252-Production d'inoculum .....	29
2521-Utilisation de racines infectées de <u>Vigna unguiculata</u> (niébé). .....	29
2522-Utilisation de spores .....	29

26 - <u>Méthodes d'inoculation</u> .....	30
261-Inoculation rhizobienne .....	30
262-Inoculation endomycorhizienne .....	30
27 - <u>Critères utilisés pour l'appréciation de l'infectivité et l'effectivité des souches symbiotiques sur <u>Acacia albida</u></u> .....	30
271-Infectivité des différentes souches .....	30
2711-Estimation de l'infectivité rhizobienne .....	30
2712-Estimation de l'infectivité endomycorhizienne .....	31
272- Paramètres utilisés pour l'appréciation de l'effet des différentes souches sur la croissance d' <u>Acacia albida</u> .....	31
2721-La croissance en hauteur .....	31
2722-La production végétale .....	31
2723-Analyse chimique des parties aériennes des plants .....	31
273- Traitement statistique des données .....	31

### Troisième Partie :

#### RESULTATS

I - <u>SYMBIOSE <u>Rhizobium - Acacia albida</u></u> .....	32
11 - <u>Piégeage de <u>Rhizobium</u> indigènes</u> .....	32
111- Objectif de l'expérience .....	32
112- Matériel et méthode .....	32
1121-Traitement et germination des graines .....	32
1122-Protocole expérimental .....	32
113- Résultats .....	33
114- Discussions .....	36
12 - <u>Test de nodulation en tubes à essais</u> .....	38
121- But de l'étude .....	38
122- Matériel et méthode .....	38
123- Résultats et discussions .....	38

<u>13 - Test de nodulation sur sol stérile et sélection de souches de Rhizobium efficaces pour Acacia albida</u> .....	41
131- Objectif .....	41
132- Protocole expérimental .....	41
133- Test de nodulation sur sol stérile .....	42
1331-Résultats .....	42
1332-Discussions .....	42
134- Sélection de souches efficaces pour <u>Acacia albida</u> .....	43
1341-Résultats .....	43
1342-Discussions .....	46
II - <u>SYMBIOSE MVA - Acacia albida</u> .....	49
21 - <u>Séparation de spores et constitution de souches de champignons indigènes</u> .....	50
22 - <u>Test d'infectivité et d'effectivité des souches fongiques sur Acacia albida</u> .....	50
221- Conduite de l'expérience .....	50
222- Résultats et discussions .....	50
2221-Infectivité des souches .....	50
2222-Effet sur le développement des plants .....	52
<u>CONCLUSIONS GENERALES</u> .....	53
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	
<u>Glossaire - abréviations</u>	

- Annexe - I : Carte du Burkina Faso ; Situation des lieux cités dans le mémoire et carte des isohyètes**
- Annexe - II : Principales caractéristiques physiques et chimiques des sols prélevés dans différentes stations burkinabè**
- Annexe - III : Analyse statistique des données relatives à l'inoculation rhizobienne**
- Annexe - IV : Analyse statistique des données relatives à l'inoculation endomycorhizienne.**

## INTRODUCTION

Le recours au reboisement artificiel comme moyen de régénération et de maintien du couvert végétal en zone sahélo-soudanienne n'a pas toujours répondu aux espoirs formulés. Cela peut s'expliquer, entre autres facteurs, par un manque d'adaptation de la plupart des essences de reboisement utilisées aux conditions écologiques actuelles dont certaines caractéristiques sont :

- La pauvreté chimique des sols, accentuée par l'agriculture itinérante, les feux de brousse etc...

- La sécheresse récurrente qui sévit dans la sous région depuis plusieurs décennies.

De nombreuses initiatives en matière de reboisement sont fortement limitées par ces contraintes et leur réalisation nécessite la recherche d'un matériel végétal particulièrement adapté aux conditions difficiles du milieu. Or, les Légumineuses arborescentes, ainsi que l'ont déjà montré de nombreux travaux effectués en zone semi-aride, entre autres, ceux de CORNET (1981) CORNET ET DIEM (1982), sont susceptibles de se développer en sol pauvre et sec, lorsqu'elles sont associées par leur système racinaire à certains microorganismes symbiotiques du sol : les Rhizobium et les champignons endomycorhiziens.

Les Rhizobium sont des bactéries capables de transformer l'azote gazeux de l'air en azote combiné, lorsqu'ils vivent en symbiose avec une Légumineuse. Ils pénètrent dans les racines de la Légumineuse et y induisent la formation d'un organe spécialisé en forme d'excroissance appelé nodule ou nosidité, siège de la fixation de l'azote. Cette association est une véritable symbiose dans laquelle la Légumineuse fournit des substances énergétiques aux Rhizobium et, en retour, profite des produits azotés issus de la fixation.

Quant aux mycorhizes, STRULLU (1985) les définit comme "des unions durables et impliquant des échanges bénéfiques entre les racines des végétaux et le mycélium des champignons édaphiques". Leur rôle a très souvent été mis en évidence dans les sols chimiquement pauvres où elles améliorent la nutrition minérale des plantes principalement

en phosphore, mais aussi en oligo-éléments comme le cuivre, le zinc, le soufre etc... (GIANINAZZI-PEARSON, 1982 ; KABRE, 1979, 1982 ; LE TACON, 1985).

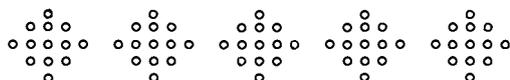
L'utilisation des Légumineuses arborescentes dans le reboisement constitue une perspective intéressante de régénération de la fertilité des sols car économiquement réalisable en zone rurale.

Parmi ces Légumineuses, on peut citer Acacia albida dont l'intérêt agro-sylvo-pastoral considérable a suscité de très nombreux travaux de recherche (cf GIFFARD 1964, 1971, 1974 ; FELKER, 1978 ; MAYDELL, 1983). Déjà, des essais d'amélioration génétique sont entrepris au Burkina Faso pour cette espèce (voir IRBET/CTFT : rapport annuel d'activités, 1986 ; CNSF : rapport annuel d'activités, 1986 ; OUEDRAOGO, 1987). Cependant, jusqu'à présent, très peu d'investigations ont porté sur les possibilités d'amélioration de la croissance d'Acacia albida par la sélection et l'exploitation de souches symbiotiques performantes. C'est pourquoi, dans nos travaux, nous nous sommes intéressés à :

- isoler des souches de Rhizobium et de champignons endomycorhiziens à partir de divers sols burkinabè.

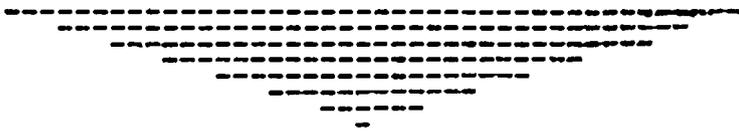
- tester l'infectivité et l'effectivité de ces souches sur Acacia albida afin de sélectionner celles qui améliorent le plus la croissance de ces plantes.

Le présent mémoire se compose de trois parties : dans la première partie, nous exposons quelques généralités sur les symbioses racinaires des Légumineuses ; dans la seconde partie, nous présentons le matériel et les méthodes que nous avons employés. Les résultats que nous avons obtenus sont exposés dans la dernière partie.



PREMIERE    PARTIE

GENERALITES    SUR    LES    SYMBIOSES  
RACINAIRES    DES    LEGUMINEUSES



## I - LA SYMBIOSE RHIZOBIUM-LEGUMINEUSE

### 1.1. La fixation biologique de l'azote

Pour bien se développer, les plantes ont besoin, entre autres éléments minéraux, d'azote. <sup>Cependant,</sup> les plantes supérieures s'utilisent pas l'azote atmosphérique ; l'azote dont elles ont besoin est assimilé sous une forme combinée (Ammoniac, nitrate etc...) grâce à certains microorganismes capables de fixer l'azote de l'air, c'est à dire de le convertir en ammoniac ( $NH_3$ ). Ces microorganismes comprennent :

- des bactéries libres du sols (Azotobacter, Beijerinckia etc...) ou associés à la rhizosphère de certains végétaux (riz/Azotobacter ou Beijerinckia ; Paspalum notatum/Azotobacter paspali etc...) et des Cyanophycées (Nostoc, Anabaena etc...)

- des microsymbiontes (bactéries, cyanobactéries, Actinomycètes) infectifs de nombreuses familles de plantes (voir tableau 1).

Les connaissances sur la fixation biologique de l'azote ont été récemment revues par plusieurs auteurs parmi lesquels on peut citer POSTGATE en 1976, DOMMERGUES et collaborateurs en 1985. Ces différents travaux ont montré que la fixation de l'azote s'effectue grâce à un système enzymatique similaire chez toutes les espèces ; le processus chimique de fixation est une réduction, catalysée par une enzyme spécifique commune à toutes les bactéries fixatrices d'azote : la nitrogénase. Cette enzyme est toujours constituée de deux protéines distinctes, inactives séparément :

- la protéine MoFe ou molybdoferrédoxine contenant du molybdène et du fer

- la protéine Fe ou molybdoprotéine contenant du molybdène.

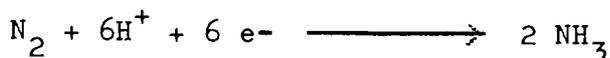
Les protéines MoFe, tout comme les protéines Fe paraissent similaires entre-elles, quelle que soit leur source, ce qui rend possible la constitution d'une nitrogenase hybride active à partir de sous-unités protéiques d'origines différentes. En revanche, elles se caractérisent par leur altération rapide en présence d'oxygène, entraînant de ce fait l'inactivation définitive de la nitrogenase.

Microsymbiote	Macrosymbiote	Capacité de fixation
<b>.Bactéries :</b>		
- <u>Rhizobium</u>	• Angiospermes Légumineuses : - 90% des Papilionacées - 90% des Mimosacées - 30% des Cesalpinées	200kg N/ha/an en moyenne ; 500kg N/ha/an pour certaines associations
- <u>Rhizobium</u> (Cow pea)	• Angiospermes non Légumineuses : - <u>Parasponia</u> (Zygophyllaceae)	40 à 200kg/ha
<b>.Actinomycète :</b>		
- <u>Frankia</u>	• Angiospermes non Légumineuses : - <u>Casuarina</u> (tropical) - <u>Coriaria</u> - <u>Alnus</u> - <u>Purshia</u> - Myricaceae	
<b>.Cyanobactéries :</b>		
- <u>Anabaena</u>	• Angiospermes	
- <u>Nostoc</u>	• Gymnospermes : - <u>Cycas</u> (Tropical-sub-tropical) - <u>Borvenia</u> (Tropical-sub-tropical)	2 à 5kg/ha/an
	• Lichens	
	• Mousses	
	• Fougères :	
	- <u>Azolla</u>	100-200kg/ha/an

Tableau 1 : Les organismes fixateurs symbiotiques  
(STEWART et ALLEN cités par OBATON, 1983)

Dans les systèmes symbiotiques, la présence dans les nodosités d'une substance à forte affinité pour l'oxygène, la légghémoglobine, constitue une barrière de protection en maintenant une faible pression partielle en oxygène, insuffisante cependant pour inhiber la nitrogenase. Les organismes fixateurs libres possèdent d'autres systèmes de protection telle la régulation respiratoire chez Azotobacter Sp.

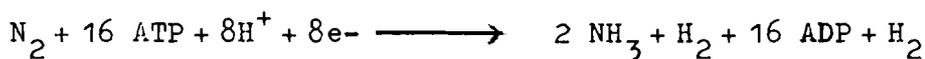
L'azote moléculaire est réduit selon la formule suivante en présence de la nitrogenase :



DREVON (1983) souligne que cette catalyse peut affecter, simultanément, la réduction de protons :



Dans l'activité de la nitrogenase, c'est la protéine MOFe qui réduit l'azote en ammoniac alors que la protéine Fe lui fournit des électrons sous l'action d'agents réducteurs (flavodoxine et ferrédoxine) et d'un composé énergétique contenant du magnésium et de l'adénosine triphosphate (ATP). Ceci explique que la fixation de l'azote requiert beaucoup d'énergie : 16 moles d'ATP par mole d'azote selon PHILLIPS (1980) cité par CORNET (1981). L'équation stoechiométrique est finalement la suivante :



L'ammoniac passe dans les cellules de la plante hôte sous forme d'ions ammonium. Il est ensuite intégré dans le processus de biosynthèse des protéines grâce à l'action catalytique d'enzymes comme la glutamate synthétase.

Près de 70% de la quantité d'azote fixée annuellement sur terre proviennent de l'activité biologique, avec une contribution majeure des systèmes symbiotiques (AKKERMANS et HOWERS, 1979 ; DREVON, 1983).

Dans nos travaux, nous nous intéresserons particulièrement au système symbiotique Rhizobium / Légumineuse qui, selon CORNET (1981) est la plus importante en terme d'azote fixé annuellement.

## 12 - Biologie des Rhizobium

Le genre Rhizobium regroupe des bactéries aérobies, existant uniquement à l'état végétatif. Ce sont des bactéries Gram négatif ; leur habitat naturel est le sol où ils peuvent adopter un mode de vie autonome indépendamment de leur hôte pendant de nombreuses années (WHYTE et al., 1955).

La morphologie des Rhizobium varie suivant leur mode de vie : à l'état libre, ils se présentent sous forme de bâtonnets d'environ 2 microns de long sur 0,5 à 1 micron de large (AMARGER et LAGACHERIE, 1983).

Dans les nodosités, ces bactéries se transforment en structures plus grosses en forme d'X ou d'Y appelées bactéroïdes : c'est sous cette forme, généralement, que les Rhizobium fixent l'azote atmosphérique.

Suivant le type de sol et de Légumineuse considérés, les différentes espèces de Rhizobium se présentent diversement et peuvent même faire défaut.

## 13 - Spécificité et taxonomie des Rhizobium

N'importe quelle souche de Rhizobium ne peut pas infecter n'importe quelle Légumineuse et ce choix de partenaires symbiotiques définit la notion de spécificité : une souche de Rhizobium est dite spécifique d'un genre ou d'une espèce de Légumineuse si elle est capable de provoquer la formation de nodules sur cette espèce, même si ces nodules ne sont pas fixateurs (OBATON, 1974).

L'unique critère de classification des Rhizobium repose sur leur aptitude à former des nodules chez certains groupes de Légumineuses

appelés "groupe à inoculation croisée" (SOMASEGHERAN et HOBEN, 1985) : l'ensemble des souches infectives pour chaque groupe constitue une espèce de Rhizobium.

En zone tempérée, six espèces de Rhizobium ont ainsi été distinguées alors qu'en zone tropicale, chaque souche de Rhizobium peut infecter un grand nombre de Légumineuses, de sorte que la classification devient difficile, du fait des chevauchements fréquents qui interviennent entre les différents groupes. Néanmoins, certains auteurs, entre autres DREYFUS et DOMMERGUES (1981), DOMMERGUES et al. (1985), SOMASEGHERAN et HOBEN (1985) distinguent deux grands groupes sur la base des différences de croissance de ces Rhizobium sur des milieux de cultures classiques :

- les Rhizobium à croissance rapide :

ils se divisent dans un temps assez court (2 à 4h) et provoquent une turbidité accrue des milieux de culture liquides en 2 ou 3 jours.

- les Rhizobium à croissance lente ou Rhizobium Cowpea :

dans ce groupe, les divisions successives sont séparées de 8 à 12 heures. En culture liquide, ces bactéries <sup>développent</sup> une faible turbidité du milieu entre 3 et 5 jours. Les Rhizobium à croissance lente sont spécifiques de nombreuses espèces d'Acacia dont A. albida (cf. tableau ci-après)

	<u>Rhizobium</u> à croissance lente	<u>Rhizobium</u> à croissance rapide
Plantes-hôtes infectées exclusivement	- <u>Acacia albida</u> - <u>Acacia holosericea</u> - <u>Acacia linaroides</u> - <u>Acacia mearnsii</u>	- <u>A. nilotica</u> var. <u>neb-neb</u> - <u>A. nilotica</u> var. <u>tomentosa</u> - <u>A. raddiana</u> - <u>A. senegal</u>
Plantes-hôtes communes		<u>A. seyal</u> <u>A. sieberiana</u> <u>A. bivenosa</u> <u>A. farnesiana</u> <u>A. tumida</u>

Tableau 2 : Rapport de spécificité entre Rhizobium tropicaux et quelques espèces d'Acacia selon DREYFUS et DOMMERGUES, 1981.

Les difficultés de classification des Rhizobiacées, ainsi que l'ont souligné SOMASEGERAN et HOBEN (1985) ont suscité de nombreux travaux tendant à établir un nouveau système dans lequel trois genres sont proposés :

- le genre Rhizobium désignant spécifiquement les Rhizobium à croissance rapide.
- le genre Bradyrhizobium regroupant les Rhizobium à croissance lente.
- les Agrobacterium constituant le troisième genre.

#### 14 - Développement des nodules

Selon WHITE et collaborateurs (1955), le développement des nodules se manifeste en général dès l'apparition de la première feuille vraie. Il se déroule schématiquement en deux étapes principales :

- la première étape est l'infection au cours de laquelle, au voisinage immédiat des poils absorbants, les Rhizobium prolifèrent sous l'impulsion de substances sécrétées par les racines (SCHMIDT, 1978). Ils pénètrent dans la plante par l'extrémité des poils absorbants et ceux-ci se courbent en crosse sous l'action de sécrétions hormonales de type auxine. Par la suite, une structure tubulaire de nature cellulosique se forme. Cette structure s'allonge vers la base du poil absorbant pour donner le cordon d'infection contenant un alignement de Rhizobium. Dans le cortex racinaire où il pénètre, le cordon d'infection provoque la prolifération et la dédifférenciation de nombreuses cellules racinaires, ce qui aboutit à la formation d'un méristème. Certaines cellules méristématiques sont tétraploïdes ; BERGERSEN (1978) attribue cette polyploïdie à l'action de médiateurs chimiques sécrétés par les Rhizobium.

- La seconde étape correspond à la formation des nodules à partir des cellules méristématiques : dans le cytoplasme de ces cellules, le cordon d'infection libère les Rhizobium qui se transforment en bactéroïdes (voir paragraphe 12) enveloppés par une membrane dite pér bactéroïde (DOMMERMUES et al., 1985). De la multiplication des cellules

infestées apparaissent les nodules, morphologiquement variables suivant les espèces de Légumineuses (voir photo 1). Lorsque la symbiose est efficace, les nodosités présentent, en section transversale, une coloration rouge due à la léghémoglobine, pigment régulateur de l'oxygénation des bactéroïdes. Inversement, la coloration verte ou brune est signe de dégénérescence (OBATON, 1983).

La symbiose Rhizobium - Légumineuse est connue depuis longtemps mais certains mécanismes du processus d'infection, en l'occurrence le principe de reconnaissance entre les deux partenaires, sont encore peu élucidés. Il ressort des travaux de BOHLOOL et SCHMIDT cités par DOMMERGUES et coll. (1985) que la Légumineuse sécréterait des polyprotéines appelées lectines, reconnaissables par les Rhizobium grâce à des polyssacharides pariétaux récepteurs. MOINET (1983) a également noté l'identification et la caractérisation récentes des gènes impliqués dans la symbiose chez certaines Légumineuses, notamment les gènes de reconnaissance de la plante-hôte, ceux de la formation des nodules (gènes nod) et de la fixation de l'azote (gènes nif).

#### 15 - Influence des facteurs du milieu sur la symbiose Rhizobium/Légumineuse

##### 151 - Importance de l'azote combiné et des carbohydrates disponibles

Dans leurs travaux, WHITE et coll. (1955) avaient suggéré que lorsqu'une symbiose efficace s'établit entre une Légumineuse et une souche de Rhizobium, les processus de photosynthèse et de fixation d'azote sont coordonnés de manière à maintenir un équilibre du rapport C/N de la sève brute. Cependant, cette hypothèse semble controversée par des travaux plus récents comme ceux rapportés par SCHMIDT (1978), bien que les facteurs susceptibles de faire varier ce rapport aient un effet similaire sur la fixation d'azote.

##### - effet de la lumière :

l'accroissement de l'intensité lumineuse, entre autres facteurs, accélère la photosynthèse de la plante-hôte ; il en résulte une augmentation de la disponibilité en carbohydrates et par conséquent, une



PHOTOS 1 : Nodosités sur le système racinaire  
d'Acacia albida inoculé avec Rhizobium  
- A : Sur la racine principale  
- B : Sur les radicelles

stimulation de la fixation d'azote. Toutefois, l'efficacité de la fixation peut se trouver contrariée ou inhibée par une richesse excessive en glucides, notamment dans le cas d'un apport externe.

- effet de la concentration en azote combiné dans le sol :

Il est connu qu'après la germination, une certaine quantité d'azote est indispensable à la nutrition de la plante, lorsque le système symbiotique ne s'est pas encore mis en place. Toutefois, chez les Légumineuses, tout comme chez les non Légumineuses fixatrices, la nodulation peut être inhibée lorsque la concentration en azote assimilable dépasse un certain seuil dans la solution du sol (SCHMIDT 1978) : 1 millimole selon MUNNS cité par CORNET (1981). En outre, le rythme de la fixation fléchit lorsque la plante dispose d'une source d'azote autre que celle provenant de la symbiose.

152 - Rôle du phosphore assimilable du sol

Le phosphore intervient doublement dans le processus de fixation d'azote, de sorte qu'une certaine richesse du sol en cet élément est indispensable d'une part, parce que cet élément intervient dans la nodulation en favorisant le mouvement des Rhizobium vers le système racinaire et, d'autre part parce que le phosphore entre dans la synthèse d'ATP, source d'énergie de l'activité rhizobienne (cf. paragraphe 11).

153 - Les paramètres physico-chimiques du sol

- La température : l'effet de la température est variable mais on admet généralement que des valeurs de l'ordre de 25 à 30°C sont convenables à presque toutes les souches de Rhizobium (WEY, 1983 ; SOMASEGARAN et HOBEN, 1985). En outre, certaines souches se distinguent nettement par leur tolérance à des températures élevées.

- Le pH : selon SAMSON et al. (1983), l'activité fixatrice d'azote n'est pas affectée par l'acidité, une fois que les nodosités sont en place. Cependant, une Légumineuse, mise en présence d'un sol acide, peut présenter des défauts de nodulation dus à cette acidité.

- L'humidité dans le sol : l'activité des Rhizobium nécessite qu'il y ait une faible humidité dans le sol ; toutefois, la fixation d'azote peut être inhibée lorsque le sol est gorgé d'eau ou inversement, s'il est soumis à une forte sécheresse (SCHMIDT, 1978 , BERGERSEN, 1978).

154 - Action des agents pathogènes du sol

Dans la rhizosphère, les Rhizobium vivent en compétition avec une multitude de microorganismes dont certains leur sont souvent incompatibles. C'est à partir de cultures d'isolats rhizosphériques, qu'un tel antagonisme a été mis en évidence. Des expériences similaires, menées par SCHMIDT (1978), ont montré l'activité inhibitrice de Phoma et d'Aspergillus, de même que l'effet dépressif de Penicillium. Ces manifestations ont été attribuées à l'action d'antibiotiques libérés par les champignons et qui seraient spécifiques d'un spectre donné de microorganismes, incluant les Rhizobium. D'autres substances toxiques, les bactériocines, sont secrétées par des bactéries et agissent de façon très sélective à éliminer les Rhizobium.

La présence dans le sol de virus bactériophages spécifiques des Rhizobium est connue depuis longtemps mais c'est depuis peu que certaines bactéries et certains protozoaires ont été identifiés comme de typiques prédateurs de Rhizobium (HABTE et ALEXANDER, 1978, cités par CORNET, 1981).

.../...

## II - LES MYCORHIZES

### 21 - Les différents types de mycorhizes

Les mycorhizes regroupent trois types de complexes symbiotiques formés par la plupart des végétaux vasculaires, sauf quelques-uns appartenant aux Cypéracées, Crucifères, Joncées et Protéacées (GIANINAZZI-PEARSON, 1986). Il ya :

- les ectomycorhizes : ces associations se présentent sous forme de racines courtes très ramifiées. Elles se caractérisent par la présence autour des apex racinaires d'un manteau fongique dont la partie interne s'insinue entre les cellules de l'exocortex pour donner naissance à un réseau mycélien ou réseau de Hartig. Les ectomycorhizes associent des essences forestières, rarement des feuillus et fréquemment des résineux (BOULLARD 1962, 1982 ; LE TACON, 1985) à des champignons mycorhiziens appartenant essentiellement aux Ascomycètes et aux Basidiomycètes (STRULLU, 1985 ; GIANINAZZI-PEARSON, 1986).

- les endomycorhizes : ce type d'association ne provoque que peu de changements dans la morphologie racinaire. En effet, elles ne forment jamais de manteau autour des racines, mais développent deux réseaux mycéliens dont l'un est intraradiculaire et l'autre externe.

Les endomycorhizes se répartissent en trois groupes en fonction du type de plantes infectées et des champignons associés (BOULLARD, 1982 ; HAYMAN, 1978) :

- les mycorhizes éricoïdes des Ericales
- les endomycorhizes à peletons des Orchidées
- les endomycorhizes à vésicules et arbuscules (en abrégé MVA) : elles sont ainsi nommées du fait du développement de ces structures par le champignon à l'intérieur des cellules corticales. Selon de nombreux auteurs, BOULLARD (1968), GIANINAZZI (1982), STRULLU (1985) et autres, ce type de mycorhizes est le plus largement répandu dans la biosphère et couvre près de 80% des espèces végétales. Ainsi, la très grande majorité des plantes horticoles et agricoles (dont les Graminées et les Légumineuses) et des arbres fruitiers, forment des endomycorhizes à

vésicules et arbuscules. Actuellement, il est pratiquement impossible de cultiver les champignons endomycorhiziens en milieu artificiel, en l'absence d'une plante-hôte.

- les ectendomycorhizes : elles possèdent à la fois des caractères d'ectomycorhizes (manteau, réseau de HARTIG) et d'endomycorhizes (hyphes intracellulaires).

## 22 - Les endomycorhizes à vésicules et arbuscules (MVA)

### 221 - Taxonomie

Les champignons formant des endomycorhizes à vésicules et arbuscules appartiennent à une seule famille définie par GERDMANN et TRAPPE (1974) : les Endogonacées, de l'ordre des Mucorales. Cette famille est constituée de 7 genres dont 4 forment des endomycorhizes : Glomus, Acaulospora, Sclérocystis, Gigaspora. Selon TRAPPE et SCHENCK (1983), certaines espèces des genres Entrophospora et Graziella sont également susceptibles de former des complexes endomycorhiziens.

### 222 - Morphologie

L'infection endomycorhizienne commence généralement par la formation d'un appressorium à la périphérie racinaire. A partir de cette structure, l'hyphe se ramifie et colonise en profondeur le cortex racinaire dans lequel il est d'abord intercellulaire en se développant parallèlement à l'axe de la racine (HAYMAN, 1978) (cf. photo 2a). C'est à partir de ce stade que se forment des structures caractéristiques des MVA :

- certains rameaux latéraux d'hyphes pénètrent dans les cellules corticales et, par des divisions dichotomiques répétées, forment des structures arborescentes appelées arbuscules (voir photo 2b).

- les vésicules : ce sont des renflements sphériques ou ovoïdes des hyphes de taille très variable (de 10 à 100 microns). Elles peuvent être terminales ou intercalaires et contiennent de nombreux noyaux et des gouttelettes lipidiques.

PHOTOS 2 - Structures caractéristiques des  
endomycorhizes.

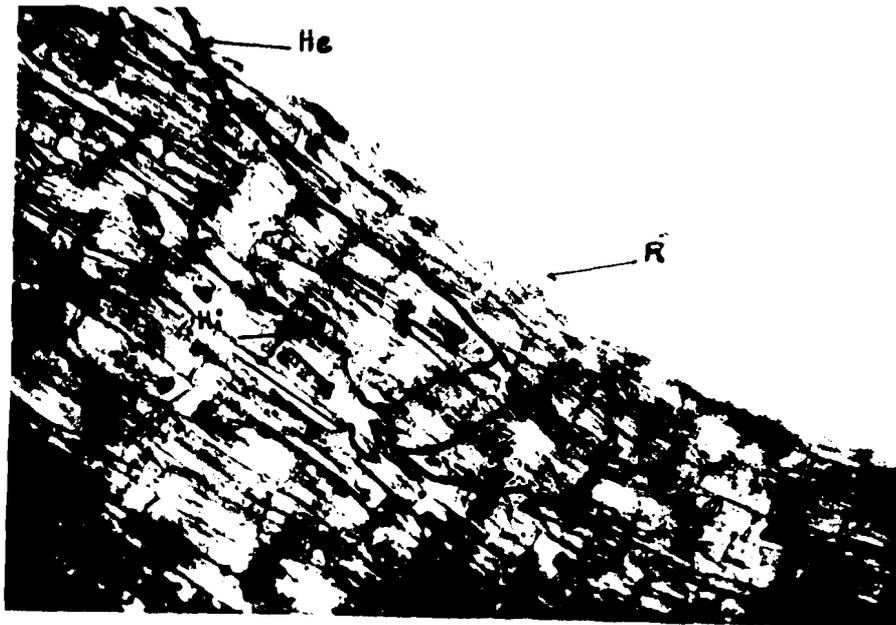


PHOTO 2a : Stade primaire de l'infection  
endomycorhizienne (X 40) ; R : radicule d'Acacia albida  
Hi : hyphes intraradiculaires ; He : hyphe externe.



PHOTO 2b : différentes structures du réseau  
mycélien intraradicalaire dans les cellules corticales  
de la plante - hôte (x 40) ; He : hyphe externe ; Ap : appres-  
sorium  
Hi : hyphes intraradiculaires ; Hc : hyphes intracellulaires  
Ar : arbuscules

En vieillissant, le cytoplasme fongique est progressivement détruit ; l'hyphe se vide et s'aplatit en formant des amas résiduels : c'est la phagocytose ou digestion de l'endophyte (SCANNERINI et BONFANTE, 1982 ; STRULLU, 1985). La fructification du champignon a lieu au cours de cette étape et de grosses spores se forment généralement sur les hyphes externes (Hayman, 1982), mais l'existence de spores intraradiculaires a souvent été signalée (CORNET, 1981).

### 223 - Ecologie

Selon LE TACON (1982), les champignons endomycorhiziens sont peu spécifiques et, de ce fait, existent dans tous les sites naturels sauf peut-être dans les zones tourbeuses, les dunes récentes, les dépôts morainiques ou encore dans les déblais d'exploitation. A l'échelle de l'arbre, ces champignons sont aussi abondants en zone tropicale que le sont les ectomycorhizes en zone tempérée (HAYMAN, 1978). Il existe cependant de nombreux facteurs susceptibles d'influencer l'endomycorhization et son effet bénéfique :

- les méthodes culturales : certaines pratiques culturales peuvent affecter la formation et le développement des endomycorhizes : les apports importants d'engrais, la désinfection des sols, la multiplication végétative in vitro et l'application de pesticides sont susceptibles, sinon de priver les plantes de complexes symbiotiques, de limiter les effets positifs de l'infection (GIANINAZZI, 1982). Les fongicides comme le prothiocarbe et surtout le bénomyl, provoquent une diminution du taux d'infection. BARTSCKI (1982) a observé une éradication de la mycorhization avec le bénomyl et bien d'autres fongicides systémiques. En revanche, certains herbicides (la simazine), et nématicides (aldicarbe) sont sans effet préjudiciable sur l'endomycorhization.

- la richesse du sol en éléments minéraux : il a souvent été montré que l'intensité de la mycorhization est toujours réduite lorsque la disponibilité en phosphore assimilable augmente dans le sol ; il est de même pour les effets bénéfiques (LE TACON, 1985 ; GIANINAZZI-PEARSON, 1986). Toutefois, LE TACON (1978) a souligné que certains champignons

mycorhiziens sont particulièrement tolérants à des niveaux de fertilité élevés et permettent d'obtenir des gains de croissance importants.

- la température : la température peut inhiber les mécanismes d'absorption et de transport du phosphore du champignon à la plante (LANGLEY<sup>et al.</sup>, 1983) pour peu qu'on s'écarte de l'optimum de 30°C (MOWAD repris par CORNET, 1981).

- la lumière : les champignons endomycorhiziens, hétérotrophes pour les aliments carbonés, doivent être directement influencés par les variations d'intensité lumineuse ou de durée quotidienne d'éclairage dont dépendent les réserves glucidiques de leurs hôtes (BOULLARD, 1968). Cette théorie est cependant controversée et il semble que l'intensité lumineuse n'a qu'une influence qualitative marginale sur les complexes formés (BOULLARD, 1964).

- Influence de certains facteurs édaphiques

La teneur en eau du sol : une humidité modérée du sol est favorable à la constitution des mycorhizes. Inversement, pour BOULLARD (1964), un sol très humide, compact et peu aéré est néfaste pour les endomycorhizes ; c'est ce qui explique, selon le même auteur, que les variations saisonnières d'humidité influencent le développement des champignons mycorhiziens dont la période d'intense activité coïncide souvent avec celle des parties aériennes de l'hôte.

Le pH du sol : l'effet du pH du sol est difficile à évaluer, du fait de l'existence de champignons symbiotiques adaptés à toutes les gammes d'acidité (LE TACON, 1985). CORNET et DIEM (1983) ont en effet montré que Glomus mosseae n'a d'effet significatif sur Acacia raddiana et A. holosericea qu'à pH neutre (6,9) alors que Glomus fasciculatus n'est significativement efficace sur ces deux Légumineuses qu'à pH acide (4,9).

- La dépendance endomycorhizienne de la plante-hôte

Bien que l'amélioration de la nutrition minérale soit connue chez la plupart des plantes mycorhizées, la stimulation de la croissance paraît très variable suivant les différentes espèces de plantes. C'est ainsi qu'en 1983, CORNET et DIEM ont obtenu une réponse à l'endomycorhization beaucoup plus importante chez A. holosericea que sur A. raddiana. TROUVELOT et ses collaborateurs (1982) ont également noté des différences de mycorhization au niveau variétal chez le blé.

La notion de dépendance mycorhizienne qu'illustrent tous ces cas est fonction du degré de besoin de la plante-hôte vis-à-vis du système mycorhizien pour donner une croissance ou un rendement optimum à un niveau donné de fertilité du sol (GIANINAZZI-PEARSON, 1986). En outre, les plantes ayant de grosses racines et peu de poils absorbants (comme les espèces forestières) sont plus dépendantes des mycorhizes que les céréales, pourvues de racines fines et longues et d'un chevelu racinaire dense.

23 - Rôle des mycorhizes dans le développement des plantes

231 - La nutrition en phosphore et en oligo-éléments

Le rôle principal des mycorhizes, quelque soit leur type, est d'améliorer l'absorption du phosphore par les plantes (BOULLARD, 1968 ; STRULLU, 1985) dans les sols déficients en cet élément.

Parmi les différentes formes de phosphore présentes dans le sol, la seule source utilisable par les plantes est le pool de phosphore assimilable, constitué des ions phosphates échangeables et de ceux en solution.

Le phosphore est un élément peu mobile et se déplace très lentement vers les racines par diffusion. Dès les cinq jours qui suivent sa pénétration dans une zone du sol, la racine absorbe, à une distance n'excédant pas un millimètre de sa périphérie, tout le phosphore ionique en solution dans un volume correspondant à celui du chevelu racinaire (ROCHE et al., 1980). Ceci entraîne autour des racines, le développement d'une zone d'épuisement en phosphore qui fait que, pour la plupart des

plantes, l'absorption est limitée à la zone subapicale des racines (GIANINAZZI-PEARSON, 1986).

Chez les plantes mycorhizées, cet obstacle est contourné grâce aux hyphes du champignon mycorhizien qui peuvent se développer et absorber du phosphore à partir du sol au delà de la zone d'épuisement ; ce phosphore est ensuite transféré à la plante.

Il est actuellement établi que les mycorhizes absorbent essentiellement à partir de la même fraction de phosphore du sol que les racines non mycorhizées, c'est à dire le pool du phosphore assimilable. On peut donc penser que l'amélioration de l'absorption observée chez les plantes mycorhizées ne résulte pas d'une meilleure solubilité du phosphore du sol. Selon certains auteurs (GIANNINAZZI-PEARSON 1982, 1986 ; MOUSAIN et SALSAC, 1982), elle serait due à l'augmentation de la masse racinaire et du volume de sol exploré par le champignon mycorhizien.

Les processus impliqués dans la nutrition phosphatée des plantes mycorhizées sont encore mal connus ; néanmoins, DEXHEIMER et coll (1982) ont suggéré le schéma synthétique de cheminement suivant :

- le phosphore est d'abord capté par les hyphes externes
- il est ensuite transporté jusqu'aux arbuscules, concentré sous forme de polyphosphates dans les vacuoles.
- Sous l'action probable de phosphatases alcalines et autres (enzymes vacuolaires), le phosphore est libéré dans le cytoplasme fongique.
- par simple diffusion, il atteint le plasmalemme de l'hôte qu'il traverse grâce à un pompage actif ; dans ce dernier cas cependant, des processus exclusivement actifs seraient possibles.

La stimulation de la nutrition minérale par la mycorhization concerne, outre le phosphore, de nombreux éléments comme le cuivre, le zinc, le soufre etc... (HAYMAN, 1978 ; LE TACON, 1985) lorsque le sol est déficient en ces éléments. Des résultats similaires ont été observés en zone tropicale avec toutefois des variations suivant le type de sol (KABRE, 1982) et la souche fongique utilisée (OLLIVIER et al., 1982).

232 - Effet sur la résistance à la sécheresse

La mycorhization affecte positivement le comportement des plantes se développant dans des sols peu humides (GIANINAZZI-PEARSON, 1982), ceci en améliorant leur alimentation en eau. Les plantes mycorhizées, soumises à des périodes de sécheresse, ont un meilleur développement par rapport à celles non mycorhizées et résistent mieux au choc hydrique rencontré pendant leur transplantation.

En zone tropicale semi-aride, les travaux de CORNET en 1981, puis ceux de CORNET et DIEM en 1982 sur certaines Légumineuses confirment ces observations. Ces auteurs ont montré qu'en période de faible hygrométrie, les plants non mycorhizés étaient flétris tandis que ceux mycorhizés restaient encore turgescents ; ils ont également noté, respectivement, 3% et 70% de stomates ouverts dans les deux cas.

Ces différents travaux montrent que l'amélioration de l'alimentation en eau serait une conséquence de celle du phosphore, étant donné qu'un apport d'engrais phosphaté aux plantes non mycorhizées réduit les différences observées. Toutefois, le phénomène pourrait être dû à l'extension du système racinaire ou à des modifications hormonales.

233 - Amélioration de la résistance des plantes aux maladies

Il est connu que, dans certains cas, l'infection mycorhizienne exerce un effet protecteur ou dissuasif vis-à-vis des agents pathogènes des racines (champignons et nématodes). Cependant, si pour les ectomycorhizes, la protection physique (présence du manchon mycélien) et chimique (sécrétion d'antibiotiques) a été montrée, le processus de protection par les endomycorhizes semble aléatoire parce qu'encore mal connu (LANGLEY, 1983).

\*\*\*\*\*  
\*\*\*\*\*

II EUXIEME II ARTIE

MATERIEL ET METHODES



## I - MATERIEL UTILISE

### 11. Les sols

Dans le cadre de nos travaux, nous avons prélevé 20 sols dans des peuplements d'Acacia albida burkinabè, localisés dans les zones climatiques soudano-sahéliennes (Stations de Gonsé, Kokologho et Kongoussi) et soudano-guinéennes (station de Dindéresso).

A ces sols, nous avons ajouté deux autres échantillons que nous appelons respectivement "sable de pépinière" et "sol humifère de pépinière" du fait qu'ils ont été prélevés sur les sols couramment utilisés par le CTFT pour la production de plants.

L'analyse granulométrique et chimique de tous ces sols, a été réalisée par le Bureau National des Sols (BUNASOLS) (cf. annexes : tableaux 1, 2 et 3).

### 12. Le matériel végétal

#### 121 - Acacia albida Del (Mimosaceae)

Acacia albida est un arbre de 15 à 20m, pouvant atteindre un diamètre de plus d'un mètre (GIFFARD, 1964 ; MAYDELL, 1983) : c'est une espèce très plastique qui se rencontre aussi bien dans les régions désertiques que dans les zones humides, notamment entre les isohyètes 300 et 1800mm. Son adaptation aux sécheresses pluriannuelles désertiques semble contraster avec sa survie à des inondations de plusieurs semaines. En outre, A. albida s'adapte à une vaste gamme de température : de 4°C (et gelée nocturnes hivernales au Proche Orient) à plus de 40°C de température diurne en Afrique. Bien qu'essentiellement adapté aux plaines alluviales et aux forêts ripicoles, A. albida s'étend de 270m d'altitude (près de la mer morte) jusqu'à 2700m (sur le Jebel Marra au Soudan). Espèce peu exigeante, elle accepte de très nombreux types de sols, fertiles ou squelettiques ; toutefois, la nappe phreatique doit être assez haute.

Acacia albida est un arbre typiquement africain et son aire de distribution couvre pratiquement tout le continent, à l'exclusion des forêts humides dans lesquelles il ne pénètre jamais. L'espèce se

rencontre du Sud de l'Algérie au Transvaal et du Sénégal à la Somalie.

A. albida est caractérisé par une phénologie totalement opposée à celle des essences forestières des savanes tropicales ; c'est en effet la seule espèce du Sahel à perdre ses feuilles pendant la saison des pluies, alors que son cycle végétatif se déroule en saison sèche.

Economiquement, A. albida est d'une importance primordiale pour tous les pays de la zone semi-aride :

- Pour les éleveurs du sahel, c'est le principal arbre fourrager ; les feuilles et les rameaux ont une haute valeur fourragère mais celle des fruits est encore plus importante : 0,77 unité fourragère (UF) par kilogramme de produit brute selon GIFFARD (1974).

- Pour les cultures, en plus de sa très forte teneur en calcium et en azote, la litière d'A. albida se distingue par la facilité et la rapidité de sa décomposition (GIFFARD, 1971). En outre la chute des feuilles pendant l'hivernage lève toute concurrence pour la lumière.

GIFFARD (1964) et MAYDELL (1983) ont rapporté de nombreux autres usages de l'arbre ; combustible de première qualité, il est aussi utilisé dans l'artisanat et la pharmacopée.

#### 122 - Origine des graines utilisées

Nous avons utilisé dans nos expériences des graines d'Acacia albida dont la provenance est Kongoussi. Elles ont été prélevées sur le lot 241 du Centre National des Semences Forestières (C.N.S.F.).

#### 13 - Les souches bactériennes et fongiques

##### 131 - Les souches de Rhizobium

En majorité, les souches de Rhizobium que nous avons utilisées ont été isolées à partir de nodules de jeunes plants d'Acacia albida, élevés sur chacun des sols prélevés (cf. paragraphe 11). Les souches indigènes ainsi obtenues sont désignées par les initiales de leur station d'origine.

A cette collection s'ajoutent des souches étrangères qui proviennent du laboratoire ORSTOM de Dakar (SR<sub>3</sub>, ALN<sub>3</sub>, P<sub>j12</sub> et CB<sub>756</sub>). L'origine de toutes ces souches, de même que leurs plantes-hôtes d'isolement, sont présentées dans le tableau ci-après :

Hôtes d'isolement	Souches	Origine
<u>Dolichos africanus</u>	CB <sub>756</sub>	Australie
<u>Sesbania rostrata</u>	SR <sub>3</sub>	
<u>Acacia laeta</u>	ALN <sub>3</sub>	Sénégal
<u>Prosopis juliflora</u>	P <sub>j12</sub>	

Tableau 3 : hôtes d'isolement et origines des souches de Rhizobium exotiques.

132 - Les champignons endomycorhiziens

Nous avons utilisé dans nos travaux une souche de Glomus mosseae (NICOL. et GERD.) GERD. et TRAPPE, fournie par le laboratoire de l'ORSTOM de Dakar ; nous avons également séparé puis utilisé cinq souches indigènes à partir des sols prélevés.

## II - METHODES ET PROTOCOLE EXPERIMENTAL

### 21 - Prélèvement et traitement des sols

#### 211 - Technique de prélèvement

Nous avons effectué nos prélèvements de sols aux pieds d'Acacia albida que nous avons sélectionnés dans des peuplements anciens (Kokologho, Kongoussi) et dans de jeunes plantations (Gonsé et Dindéréso). Dans le premier cas, notre choix a porté sur les arbres relativement jeunes, droits et vigoureux ; certains de ces arbres avaient déjà été recensés comme semenciers par le CNSF. Dans le second cas nous avons choisi des plants spécialement vigoureux, sélectionnés sur le diamètre au collet et l'état sanitaire.

Autour du pied de chaque arbre sélectionné, 5 prélèvements de sol ont été réalisés entre 5 et 15 centimètres de profondeur et mélangés en un échantillon unique. D'un arbre à un autre, le matériel utilisé a été fréquemment lavé puis flambé à l'alcool. Les échantillons ont ensuite été séchés séparément puis passés chacun dans un tamis de 2mm environ de maille.

#### 212 - Désinfection de sols

La désinfection n'a concerné que le sable et le sol humifère de pépinière ; son but a été d'obtenir, pour certains traitements, un substrat stérile de culture d'Acacia albida. Elle a consisté à autoclaver ces sols à 120°C pendant une heure ; à cette fin, sable et sol de pépinière ont été introduits dans des sacs en toile de jute ou dans des boîtes métalliques de 5 litres.

### 22 - Conditions d'élevage des plants : description du dispositif

Nous avons conduit nos expériences dans des conditions semi-aseptiques. Les graines sont traitées et incubées au laboratoire jusqu'à la germination alors que la transplantation en sachets a lieu en atmosphère libre. Toutefois, les conditions particulières de notre pépinière nous ont permis d'atténuer les risques de contamination :

d'une part, les plants étant élevés dans l'enceinte du CTFT, le cadre des murs paraît être un abri convenable contre les grands mouvements de vent ; de l'autre, les sachets sont disposés sur des supports surélevés (à environ 20 cm du sol) et isolés les uns des autres par un système de grille. Cet ensemble est maintenu dans un châssis en polyéthylène, hermétique sur les côtés et haut de 60 à 80 centimètres. Selon les besoins, une ombrière à mailles a souvent été installée. Dans toutes les manipulations, nous avons observé les précautions générales d'aseptie telles que flambage des outils à l'alcool.

### 23 - Culture d'Acacia albida

#### 231 - Traitement et germination des graines

Les graines d'Acacia albida sont superficiellement désinfectées à l'acide sulfurique concentré pendant 30 mn puis rincées plusieurs fois à l'eau stérile. Elles sont ensuite disposées dans des boîtes de Petri garnies d'eau gélosée et mises à germer à l'obscurité. Le traitement à l'acide ayant ramolli les téguments, la levée s'en trouve accélérée et, au bout de 3 à 4 jours, la germination est quasi-totale. C'est à ce stade que nous avons effectué le repiquage en sachets.

#### 232 - Repiquage et entretien des plants

Nous avons utilisé des sachets plastiques de 7 cm de diamètre et 24 cm de haut couramment employés en pépinière.

L'entretien des plants a consisté essentiellement en l'arrosage, effectué quotidiennement au pulvérisateur, de manière à éviter les éventuelles contaminations. Outre cet apport d'eau, il nous a fallu lutter contre des chenilles défoliatrices qui se sont manifestées d'abord en fin de saison pluvieuse : il s'agit vraisemblablement de larves d'un papillon de la famille des Piérideae. A ce stade, le manque d'informations précises sur d'éventuelles interactions entre les microorganismes du sol et les insecticides disponibles n'a pas permis de traitement chimique. Par contre, nous nous sommes appliqués à retirer manuellement des plants leurs parasites. En outre, le nombre réduit de plants et la surveillance continue ont facilité la protection.

Par ailleurs, les plants des premiers chassis ont accusé un étiolement sérieux dès le premier mois de culture. Nous avons attribué cette défaillance à la fermeture assez hermétique des chassis ; en plus, des relevés de températures ont révélé des écarts de plus de 5°C entre les maxima de la température ambiante à l'extérieur des chassis (environ 35°C) et à l'intérieur. Dès lors, nous nous sommes assurés de l'ouverture permanente des chassis. Tous les dispositifs soumis à ce dernier traitement n'ont montré aucun signe d'étiolement.

### 233 - Culture en tubes à essais

Pour certaines expériences entièrement réalisées en laboratoire, nous avons élevé des plants d'Acacia albida dans des tubes à essais.

Pour cela, nous avons utilisé le milieu nutritif de JENSEN pour tubes

(DREFUS, comm. personnelle) dont la composition figure au tableau 4. Ces tubes sont préparés selon la méthode suivante : Chaque tube à essais contenant environ 20 ml de milieu nutritif est recouvert de papier aluminium et stérilisé à l'autoclave pendant 20 mn. Les tubes sont ensuite disposés de manière à obtenir des pentes gélosées. Après solidification du milieu, ils ont été remplis d'eau distillée stérile puis garnis d'une plantule chacun, à travers des perforations aseptiquement réalisées sur le papier aluminium. Les plantules utilisées proviennent de la germination aseptique de graines d'Acacia albida en boîtes de Petri sur eau gélosée. Les plants sont régulièrement arrosés à l'eau distillée stérile.

### 24 - Culture de Rhizobium

#### 241 - Préparation des milieux de culture

Dans nos différents tests sur les Rhizobium, nous nous sommes particulièrement intéressés aux milieux de culture à base d'extrait de levure, (Yeast Extract Mannitol : YEM) du fait que ces derniers sont les plus fréquemment utilisés par les chercheurs (CLEYET-MAREL, 1983). Le tableau 5 indique la composition de ce milieu.

A défaut de stock disponible, nous avons préparé un extrait frais à partir de levure de boulanger selon la méthode décrite par

Tableau 4 : Composition du milieu JENSEN pour tubes de GIBSON  
selon DREYFUS, (comm. personnelle)

	Solution stock (g/l)	Dose (ml/l)
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	20	10
Mg SO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	20	10
Ca HPO <sub>4</sub>	100	20
Fe Cl <sub>3</sub> , 6H <sub>2</sub> O	14	10
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,86 )	1
Mn SO <sub>4</sub> , 4H <sub>2</sub> O	2,03 )	
Zn SO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,22 )	
Cu SO <sub>4</sub> , 5H <sub>2</sub> O	0,08 )	
Na <sub>2</sub> Mo O <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O	0,09 )	
Agar-agar		
KNO <sub>3</sub> (ou NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> )		0,5g/l
pH		6,7

Remarque : Pour ne pas perturber la nodulation des plants, nous n'avons pas enrichi le milieu en azote.

Tableau 5 : Composition du milieu YEM (Yeast Extract Mannitol)  
selon CLEYET - MAREL, 1983.

---

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5 g
Mg SO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,2 g
NaCl	0,1 g
Mannitol	10 g
Extrait de levure	100 ml
Eau distillée	900 ml
Agar-agar	10 à 15 g

NB : Ajuster le pH à 7

.../...

CLEYET-MAREL en 1983 : 100 g de levure sont suspendus dans un litre d'eau froide et maintenus une heure à 100°C. Après décantation, nous avons récupéré le surnageant clair ; l'eau de levure ainsi obtenue est répartie à raison de 100 ml par flacon, stérilisée puis stockée à 4°C. A défaut de matériel, nous n'avons pas pu ajuster le pH à 7 comme le recommande l'auteur.

Les milieux de culture préparés sont répartis dans des erlenmeyers, à raison d'une demi-mesure par volume utile. Le matériel est ensuite autoclavé à 120°C pendant 20 mn. Les milieux sont finalement coulés dans des boîtes de Pétri ou dans des tubes à vis ; ces derniers sont ensuite inclinés de manière à obtenir des pentes gélosées.

#### 242 - Isolement des souches de Rhizobium

Pour la constitution de notre collection de souches de Rhizobium, nous avons utilisé la technique classique d'isolement à partir de nodosités décrite par CLEYET-MAREL (1983) : des plants d'Acacia albida sont aseptiquement élevés sur les sols prélevés, contenus dans des sachets plastiques. Les graines utilisées sont superficiellement désinfectées par traitement à l'acide sulfurique (cf. paragraphe 231). Pour éviter d'éventuels contaminants, les sachets ont été maintenus en chassis ; de même, les outils utilisés sont fréquemment rincés à l'alcool puis flambés lorsqu'on passe d'un sol à un autre. L'eau de robinet a servi à l'arrosage. Un délai de 8 semaines est jugé suffisant pour le développement d'éventuels nodules (CORNET, 1981).

Par type de sol, des nodosités sont prélevées puis soigneusement débarrassées des plus grosses particules de sol par lavage à l'eau courante ; elles sont ensuite désinfectées superficiellement sous hotte, par immersion dans l'éthanol à 95% pendant 5 à 10 s puis trempées dans une solution de HgCl<sub>2</sub> à 1°/oo pendant 3 à 4 mn. A l'aide d'une paire de pinces préalablement flambées à l'alcool, les nodosités sont transférées dans un récipient contenant de l'eau distillée stérile pour un premier rinçage. Nous avons effectué plusieurs autres rinçages par immersions successives dans l'eau distillée stérile.

Chaque nodule est aseptiquement écrasé dans 2 gouttes d'eau stérile contenues dans une boîte de Pétri. A l'aide d'une anse de platine flambée puis trempée dans la suspension ainsi obtenue, nous avons réalisé un épuisement sur une autre boîte de Pétri garnie du milieu de culture YEM ; ces boîtes sont incubées à 30°C et dès l'apparition d'une colonie bactérienne, elle est repiquée sur une nouvelle boîte de Pétri puis, à partir de cette dernière en tubes à essais sur pente gélosée.

243 - Méthode de repiquage de souches et d'ensemencement de milieux

Le repiquage a consisté à ensemençer des tubes à essais ou de nouvelles boîtes de Pétri à partir d'anciennes cultures : à l'aide d'un ensemençoir préalablement flambé à l'alcool, une colonie de Rhizobium est prélevée puis transférée à la surface de la gélose en effectuant des stries régulières. Le matériel est ensuite incubé à  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  jusqu'à l'envahissement de la surface de la gélose par les colonies bactériennes.

Nous avons utilisé, dans nos expériences, des inoculum liquides, obtenus par culture de Rhizobium en milieu YEM non gélosé. L'ensemencement a été effectué selon la méthode suivante : devant 1 bec bunsen, quelques colonies de Rhizobium sont prélevées à l'aide d'un ensemençoir et transférées dans un erlenmeyer contenant du YEM la solution est agitée et incubée à 30°C.

25 - Séparation de spores et production d'inoculum de champignons endomycorhiziens

251 - Méthode de séparation des spores

Nous avons séparé des spores de champignons endomycorhiziens par la méthode de décantation et tamisage de GERDMANN et NICOLSON (1963) : 250 g de sol sont mis en suspension dans un litre (environ) d'eau. Après quelques secondes de décantation, le liquide est passé au travers d'une batterie de tamis à mailles décroissantes : 200 - 150 - 100 - 50 microns. Les filtrats des 3 derniers tamis sont soigneusement lavés puis transférés dans des boîtes de Pétri contenant de faibles quantités d'eau.

Quelques ml de cette suspension sont versés sur un papier filtre puis la préparation est observée à la loupe binoculaire au grossissement x 25. Parmi les amas de débris végétaux, les spores sont repérées puis isolées individuellement à l'aide d'une aiguille lancéolée pour être mises en suspension. Plusieurs souches ont ainsi été obtenues.

## 252 - Production d'inoculum

### 2521. Utilisation de racines infectées de *Vigna unguiculata*

Les différentes catégories de spores séparées ont été associées au système racinaire de *Vigna unguiculata* en culture : les graines sont préalablement désinfectées par traitement à l'acide sulfurique pendant 30 s. Après une incubation de 4 jours sur de la vermiculite stérile, les plantules de niébé sont inoculées et repiquées dans des sachets remplis de sol stérile : pour se faire, quelques ml de la suspension de spores sont versés sur le système racinaire de la plantule au dessus du trou de transplantation. Les racines sont immédiatement mises en place pour le repiquage. Selon MENGE et TIMMER (1983), les racines infectées de ces plants et/ou le substrat de culture, enrichi en spore par le champignon utilisé peuvent ultérieurement servir d'inoculum.

### 2522. Utilisation de spores

Après 9 semaines de culture, nous n'avons observé aucune trace d'infection sur les racines de niébé préalablement inoculé avec nos souches locales ; ces racines ne pouvaient donc pas servir d'inoculum. Nous avons alors utilisé une autre méthode d'inoculation décrite également par MENGE et TIMMER (1983) : Pour chaque plant à inoculer, nous avons constitué un inoculum comportant un support en papier filtre d'environ 5 cm de long sur 2 cm de large. À la surface de cette pièce, nous avons régulièrement réparti une cinquantaine de spores de la souche utilisée.

## 26 - Méthodes d'inoculation

### 261 - Inoculation rhizobienne

L'inoculation avec les souches de Rhizobium s'est effectuée après le repiquage. 2 ml d'inoculum liquide sont versés au niveau du collet de chaque plant en sachet. Pour les plants en tubes, nous avons utilisé 2 à 3 gouttes denses des mêmes inoculum.

### 262 - Inoculation endomycorhizienne

L'inoculation d'Acacia albida avec la souche de référence, Glomus mosseae, a été réalisée avec un mélange de racines infectées de niébé et de son substrat de culture (sable tamisé). Les sachets utilisés ont été remplis avec du sol stérile (pour environ 3/4 de leur volume) et de l'inoculum (pour le dernier quart). La transplantation se fait donc directement dans l'inoculum.

Concernant les souches indigènes, l'inoculation a consisté à entourer le système racinaire des plants avec le papier filtre garni de spores, ce dernier étant maintenu pendant la transplantation. Cette technique présente l'avantage de favoriser le contact entre spores et racines, au moins avant la désagrégation du papier filtre utilisé.

## 27 - Critères utilisés pour l'appréciation de l'infectivité et effectivité des différentes souches symbiotiques sur Acacia albida

### 271 - Infectivité des différentes souches

. Estimation de l'infectivité Rhizobienne

Pour cette estimation, les paramètres suivants ont été retenus :

- Le nombre de nodules formés par plant en fin d'expérience
- Le poids sec de ces nodules après séchage à l'étuve

(72 heures à 60°C).

. Estimation de l'infection endomycorhizienne

Nous avons constaté la présence ou l'absence d'infection et, éventuellement, l'intensité de mycorhization grâce à des montages d'échantillons de racines fines prélevées sur chaque traitement.

Le matériel d'observation a été préparé selon la technique suivante, décrite par PHILLIPS et HAYMAN (1970) : les racines sont traitées à la potasse (10%) à 90° pendant environ 1 heure. Elles sont ensuite rincées à l'eau acidifiée (5%) et colorées au bleu de méthylène, à défaut de fuschine acide.

Les racines ainsi traitées sont montées entre lame et lamelle et observées au microscope (grossissement x 40).

272 - Paramètres utilisés pour l'appréciation de l'effet des différentes souches bactériennes et fongiques

2721. La croissance en hauteur

La hauteur des plants a été relevée en fin d'expérience dans les essais d'endomycorhization ; par contre, dans le cas des Rhizobium, l'évolution en hauteur des plants a été suivie, à partir du semis, grâce à des mensurations effectuées toutes les 2 semaines.

2722. La production de biomasse

Elle est appréciée par le poids de matière sèche des parties aériennes et racinaires des plants (après 72 heures à 60°C).

2723. Analyse chimique des parties aériennes des plants

Cette analyse concerne le dosage de l'azote des parties aériennes des plants inoculés avec Rhizobium. Elle a été effectuée par le laboratoire de chimie de l'INERA.

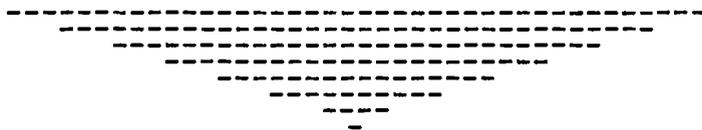
273 - Traitement statistique des résultats :

Tous nos résultats numériques ont été soumis au test de TUKEY HARTLEY au seuil de probabilité de 5%.

\* \* \* \* \*  
\*\*\*\*\*

// ROISIEME // <sup>-)</sup> ARTIE

RESULTATS



## 11 - Piégeage de Rhizobium indigènes

### 111- Objectif de l'expérience

De nombreux travaux ont déjà montré qu'il n'existe pas de milieu sélectif permettant d'isoler directement des souches de Rhizobium à partir du sol. Il faut nécessairement passer par la plante-hôte, c'est à dire isoler les souches de Rhizobium à partir de nodules de la plante cultivée sur le sol à étudier.

C'est ce que nous avons tenté de réaliser dans nos travaux même si la plupart des sols que nous avons prélevés ne semblent pas particulièrement favorables à la formation de nodules du fait de leur teneur en azote très élevée et celle en phosphore très faible.

Compte tenu de ce qui précède, nous avons été amenés à tester, outre la méthode sus-citée, un procédé tendant à améliorer les conditions de piégeage : il s'agit d'inoculer les plants d'Acacia albida avec de faibles quantités de sol à étudier sur un sol stérile dont la composition chimique est susceptible de favoriser la nodulation.

### 112- Matériel et méthode

#### 1121- Traitement et germination des graines

Dans cette expérience, les graines d'Acacia albida ont été traitées à l'acide sulfurique concentré pendant 20 minutes puis mises à gonfler pendant 24 heures dans de l'eau distillée stérile. Ces graines ont ensuite été semées à raison de 3 graines par sachet et arrosées régulièrement.

#### 1122- Protocole expérimental

Nous avons réalisé cette expérience d'une part sur chacun des 20 sols (déjà présentés au paragraphe 11 page 19) que nous appellerons "sols à étudier", d'autre part sur le sol humifère et le sable de pépinière. Ces 2 derniers sols ont été stérilisés à l'autoclave (120°C pendant une heure).

Sur chacun de ces sols, nous avons étudié les traitements ci-après :

- plants non inoculés sur sable stérile (témoin sable :  $T_S$ )
- plants non inoculés sur sol humifère stérile (témoin sol humifère :  $T_{SH}$ )
- plants inoculés avec le sol à étudier sur sol humifère stérile ( $P_{ISH}$ )
- plants inoculés avec le sol à étudier sur sable stérile ( $P_{IS}$ )
- plants élevés sur sol à étudier.

L'expérience a été conduite pendant 9 semaines. Au bout de ce délai nous avons compté dans les différents traitements le nombre de nodules formés par plant. Les nodules récoltés ont ensuite été utilisés pour l'isolement de Rhizobium.

### 113- Résultats

Nous n'avons observé aucun nodule sur les plants non inoculés, ce qui permet de penser qu'il n'ya pas eu de contamination entre les traitements. Les tableaux 6 et 7 indiquent que tous les traitements étudiés favorisent la nodulation des plants d'Acacia albida. Cependant, à l'échelle des stations, le taux de nodulation est faible : il varie de 27% avec les sols de Kongoussi à 43% avec les sols de Dindéresso.

Toutefois, nous pouvons souligner que les meilleurs résultats sont obtenus avec le traitement  $P_{IS}$  (plants inoculés sur sable stérile, dont 42% des plants sont nodulés.

Viennent ensuite les traitements  $P_{SE}$  (plants élevés sur sol à étudier ; 40%) et  $P_{ISH}$  (plants inoculés sur sol humifère stérile ; 26%).

Cet ordre est maintenu lorsqu'on s'intéresse au nombre de nodules récoltés.

Le traitement  $P_{IS}$  se distingue également par son adaptation à l'ensemble des sols des stations retenues dans notre étude. Sauf sur

Tableau 6 : Résultats relatifs au piégeage de Rhizobium :

Nombre de plants d'A. albida nodulés par traitement après 9 mois de culture.

Station de Kokologho :

Sols à étudier	TRAITEMENTS			Total
	P <sub>SE</sub>	P <sub>ISH</sub>	P <sub>IS</sub>	
KO <sub>1</sub>	2	1	0	3
KO <sub>2</sub>	1	2	4	7
KO <sub>3</sub>	3	2	3	8
KO <sub>4</sub>	2	3	4	9
KO <sub>5</sub>	3	2	4	9
Total	11	10	15	36

Station de Kongoussi :

Sols à étudier	TRAITEMENTS			Total
	P <sub>SE</sub>	P <sub>ISH</sub>	P <sub>IS</sub>	
KG <sub>1</sub>	3	1	4	8
KG <sub>2</sub>	0	3	1	4
KG <sub>3</sub>	0	0	3	3
KG <sub>4</sub>	0	0	1	1
KG <sub>5</sub>	4	3	1	8
Total	7	7	10	24

Station de Gonsé :

Sols à étudier	TRAITEMENTS			Total
	P <sub>SE</sub>	P <sub>ISH</sub>	P <sub>IS</sub>	
GO <sub>1</sub>	0	0	4	4
GO <sub>2</sub>	2	5	2	9
GO <sub>3</sub>	3	0	3	6
GO <sub>4</sub>	3	1	1	5
GO <sub>5</sub>	3	2	1	6
Total	11	8	11	30

Station de Dindéresso :

Sols à étudier	TRAITEMENTS			Total
	P <sub>SE</sub>	P <sub>ISH</sub>	P <sub>IS</sub>	
Di <sub>1</sub>	4	0	5	9
Di <sub>2</sub>	3	2	2	7
Di <sub>3</sub>	3	2	3	8
Di <sub>4</sub>	5	0	2	7
Di <sub>5</sub>	4	2	2	8
Total	19	6	14	39

P<sub>ISH</sub> : Plants inoculés avec le sol à étudier sur sol humifère stérile.

P<sub>SE</sub> : Plants élevés sur le sol à étudier.

P<sub>IS</sub> : Plants inoculés avec le sol à étudier sur sable stérile.

Tableau 7 : Résultats relatifs au piégeage de Rhizobium :  
 Nombre de nodules récoltés par traitement

Station de Kokologho :

Sols à étudier	TRAITEMENTS			Total
	P <sub>SE</sub>	P <sub>ISH</sub>	P <sub>IS</sub>	
KO <sub>1</sub>	5	4	0	9
KO <sub>2</sub>	1	3	36	40
KO <sub>3</sub>	24	4	18	56
KO <sub>4</sub>	9	14	28	51
KO <sub>5</sub>	19	2	30	51
Total	58	27	112	207

Station de Kongoussi :

Sols à étudier	TRAITEMENTS			Total
	P <sub>SE</sub>	P <sub>ISH</sub>	P <sub>IS</sub>	
KG <sub>1</sub>	18	2	3	23
KG <sub>2</sub>	0	5	3	8
KG <sub>3</sub>	0	0	13	13
KG <sub>4</sub>	0	0	2	2
KG <sub>5</sub>	13	5	25	43
Total	31	12	46	89

Station de Gonsé :

Sols à étudier	TRAITEMENTS			Total
	P <sub>SE</sub>	P <sub>ISH</sub>	P <sub>IS</sub>	
GO <sub>1</sub>	0	0	13	13
GO <sub>2</sub>	8	7	1	16
GO <sub>3</sub>	9	0	7	16
GO <sub>4</sub>	12	5	3	20
GO <sub>5</sub>	39	4	4	47
Total	68	16	28	112

Station de Dindéresso :

Sols à étudier	TRAITEMENTS			Total
	P <sub>SE</sub>	P <sub>ISH</sub>	P <sub>IS</sub>	
Di <sub>1</sub>	16	0	36	52
Di <sub>2</sub>	11	4	1	16
Di <sub>3</sub>	9	6	6	21
Di <sub>4</sub>	23	0	9	32
Di <sub>5</sub>	11	2	3	16
Total	70	12	55	137

P<sub>ISH</sub> : Plants inoculés avec le sol à étudier sur sol humifère stérile.

P<sub>SE</sub> : Plants élevés sur le sol à étudier.

P<sub>IS</sub> : Plants inoculés avec le sol à étudier sur sable stérile.

le sol  $KO_1$ , ce traitement a permis d'obtenir des nodules au moins sur un des plants cultivés sur chaque sol.

Par contre, le traitement  $P_{ISH}$  semble le moins favorable à la nodulation : aucun des plants élevés sur 6 des sols soumis à ce traitement n'a formé de nodules.

#### 114- Discussions

Dans cette expérience, le nombre réduit de répétitions ne nous a pas permis de faire une analyse statistique des données, ce qui nous impose d'interpréter les résultats des tableaux 6 et 7 avec prudence.

Toutefois, nos résultats indiquent qu'à l'exception de la station de Kongoussi, la nodulation dans les autres sols est d'autant plus importante que la teneur en azote est plus faible et celle en phosphore plus élevée.

En effet, le meilleur taux de nodulation correspond aux sols de la station de Dindéresso dont la teneur moyenne en azote est la plus faible de toutes les stations (602 ppm), celle en phosphore étant de 11 ppm.

Avec les sols de Gonsé, la teneur en azote plus élevée (932 ppm) et celle en phosphore plus faible (8 ppm) que dans le cas précédent n'a pas permis une bonne nodulation des plants.

Dans le cas des sols de Kokologho dont la teneur en phosphore est d'environ 42 ppm, la faible nodulation pourrait s'expliquer par la très forte teneur en azote (2876 ppm).

Au niveau des traitements, on peut penser que la prédominance du traitement  $P_{IS}$  tient d'une part à la teneur relativement élevée en phosphore du sol utilisé (42 ppm) et d'autre part, à la texture sableuse de ce sol.

En revanche, les autres traitements ont une teneur généralement plus faible en phosphore et une structure compacte qui ne permet pas une bonne activité rhizobienne lorsque l'arrosage est régulier.

Cependant, l'influence de la composition chimique des sols ne permet pas d'expliquer tous les résultats. C'est le cas des sols de Kongoussi qui, malgré une teneur en azote de 682 ppm et en phosphore de 24 ppm, n'ont permis qu'un faible taux de nodulation. Cela résulte sans doute de l'influence d'autres facteurs, probablement d'un mauvais conditionnement des sols prélevés. Il convient de souligner à ce sujet que ces sols sont les seuls à être prélevés juste après une grande pluie.

## 12 - Test de nodulation en tubes à essais

### 121- But de l'étude

Cette manipulation vise à confirmer l'appartenance au genre Rhizobium des différentes souches bactériennes que nous avons isolées à partir de nodules d'Acacia albida. C'est seulement à l'issue de ce test que les souches de Rhizobium peuvent être maintenues en collection.

### 122- Matériel et méthode

Nous avons réalisé cette expérience avec des plants d'Acacia albida cultivés dans des tubes à essais, selon la méthode définie au paragraphe 233 page 24. Les traitements suivants ont été étudiés :

- plants non inoculés (témoins)
- plants inoculés avec souches présumées de Rhizobium
- plants inoculés avec souches pures de Rhizobium

CB<sub>756</sub> a été utilisée comme souche de référence car, selon CORNET (1981), c'est une souche peu spécifique, utilisée pour un grand nombre de Légumineuses tropicales.

Chaque traitement a été répété 3 fois. Après 3 mois de culture, nous avons relevé le nombre et le poids sec de nodules formés.

### 123- Résultats et discussions

Les résultats relatifs au test d'infectivité en tubes à essais sont présentés dans le tableau 8. Aucun nodule n'a été observé sur les plants non inoculés.

Par contre, toutes les souches bactériennes indigènes isolées à partir de nodules d'Acacia albida ont provoqué la formation de nodules racinaires sur les plants de cette espèce. Ceci nous conduit à penser, en accord avec VINCENT (1970) cité par CORNET (1981), que ces bactéries appartiennent au genre Rhizobium. DREYFUS et DOMMARGUES (1981) ont montré que les souches de Rhizobium infectives d'Acacia albida appartiennent au groupe des Rhizobium tropicaux ou Rhizobium Cowpea.

Tableau 8 : Résultats du test de nodulation en tubes à essais

Origine des souches indigènes	Souches	Nodules / plant		Plante-hôte d'isolement
		Nombre	Poids sec (mg)	
Kokologho	KO <sub>1</sub>	9,6	1,6	
	KO <sub>2</sub>	3,5	2,5	
	KO <sub>3</sub>	4	1	
	KO <sub>4</sub>	1	1	
	KO <sub>5</sub>	15	1,5	
Dindéresso	Di <sub>1</sub>	4,5	2	<u>Acacia albida</u>
	Di <sub>2</sub>	15	5,5	
	Di <sub>3</sub>	1	0,7	
	Di <sub>4</sub>	8,6	2,3	
Kongoussi	KG <sub>2</sub>	4,6	1,6	
	KG <sub>5</sub>	21	2	
Ouagadougou	PeA	2	1	
	PeB	5,3	1,6	
Gonsé	GO <sub>1</sub>	17,5	3,5	
	GO <sub>2</sub>	11	2,3	
	GO <sub>3</sub>	7,6	1	
	GO <sub>4</sub>	4	1	
	GO <sub>5</sub>	6	3,6	
	AH	1	1	<u>Arachis hypo-</u> <u>geae</u>
	SR <sub>3</sub>	1	0,5	
	Pj12	7	2	
	CB 756	5,5	6	
	ALN <sub>3</sub>	8,5	1,5	

Par ailleurs, l'infection du système racinaire d'Acacia albida par des souches de Rhizobium (Pj 12, SR<sub>3</sub>, AH, CB<sub>756</sub>) isolées à partir des nodules d'autres espèces (Prosopis juliflora, Sesbania rostrata, Arachis hypogaeae et Dolichos africanus) indique l'appartenance de toutes ces espèces au même groupe d'inoculation croisée qu'Acacia albida.

Dans cette expérience, les nodules se sont formés 2 mois après l'inoculation alors<sup>que</sup> dans certains travaux (DREYFUS et DOMMERGUES, 1981) la nodulation a été observée au bout d'une semaine. Ce retard dans la nodulation pourrait s'expliquer par le fait que l'essai a été conduit pendant la période fraîche, avec une température maximum de 20°C au laboratoire.

Les plants élevés dans ces conditions se sont peu développés et n'ont pas été nodulés. Ils ont également accusé un fort étiolement dû à une insuffisance d'éclairement.

C'est lorsque la température ambiante a atteint 25°C que les premiers nodules se sont formés. Dans la même période, nos tubes ont été envahis par des colonies d'algues bleues (Cyanophycées) parmi lesquelles le genre Oscillatoria a été identifié (OLORY, comm. personnelle).

Les Cyanophycées sont susceptibles de fixer l'azote atmosphérique et d'enrichir par conséquent le milieu de culture en azote assimilable. L'infection rhizobienne pourrait être inhibée par cette fixation ; ceci expliquerait la faible nodulation observée dans la plupart des tubes fortement colonisés par les algues (SR<sub>3</sub>, KO<sub>4</sub>, Di<sub>2</sub> etc...).

.../...

13 - Test de nodulation sur sol stérile et sélection de souches de Rhizobium efficaces pour Acacia albida

131- Objectif

Le test de nodulation en laboratoire nous a permis d'isoler des souches pures de Rhizobium et dès lors, il convenait que celles-ci soient inoculées sur des plants élevés en pépinière en vue d'apprécier leur adaptabilité aux conditions ambiantes. C'est pourquoi, dans la présente expérience, nous avons pour objectif :

- de tester d'abord l'infectivité de ces souches sur Acacia albida élevé en atmosphère libre sur sol stérile.

- de sélectionner ensuite celles qui sont hautement efficaces pour cette espèce.

132- Protocole expérimental

Cette expérience a été conduite sur un mélange composé de sable (3 volumes) et de sol humifère (1 volume), ceci dans le but d'obtenir une teneur intermédiaire en azote et en phosphore.

Néanmoins, nous avons effectué un arrosage abondant pendant quelques jours afin de favoriser le lessivage de l'azote (Paré, comm. personnelle) et nous avons apporté 50 ppm de phosphore assimilable sous forme de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  en 2 phases : 25 ppm au cours de l'inoculation et le reste deux semaines après cette opération. Dans cette étude, nous avons utilisé toutes les souches du test précédent (cf. tableau 8). 2 traitements ont été étudiés :

- plants non inoculés (Témoins)
- plants inoculés avec Rhizobium

Chaque traitement comporte 7 répétitions et l'expérience a duré 13 semaines après l'inoculation.

133- Test de nodulation sur sol stérile

1331-Résultats

Les résultats obtenus dans cette étude font ressortir 2 groupes parmi les souches de Rhizobium utilisées ; il y a :

1°/ les souches ayant induit la nodulation des plants d'Acacia albida (voir figure 1); ces résultats confirment ceux que nous avons déjà obtenus en tubes à essais au laboratoire et peuvent être regroupées par provenance dans l'ordre décroissant comme suit :

- d'abord la station de Gonsé pour laquelle toutes les souches (GO<sub>1</sub>, GO<sub>2</sub>, GO<sub>3</sub>, GO<sub>4</sub>, GO<sub>5</sub> et AH) ont provoqué la nodulation des plants d'Acacia albida

- la station de Kokologho avec 5 souches infectives (KO<sub>1</sub>, KO<sub>2</sub>, KO<sub>3</sub>, KO<sub>4</sub> et KO<sub>5</sub>)

- la station de Dindéresso (Di<sub>2</sub>, Di<sub>3</sub> et Di<sub>4</sub>)

- 3 des souches de l'ORSTOM de Dakar (Pj<sub>12</sub>, CB<sub>756</sub> et SR<sub>3</sub>)

- 2 souches de la station de Kongoussi (KG<sub>2</sub> et KG<sub>5</sub>)

- Une souche de la pépinière du CTFT (Pe A)

2°/ les souches non infectives : il s'agit des souches ALN<sub>3</sub> (de l'ORSTOM de Dakar), Di<sub>1</sub> (de la station de Dindéresso) et PeB (de la pépinière du CTFT).

Le nombre de nodules formés est très variable dans l'ensemble mais paraît plus important en pépinière qu'en laboratoire. En effet, certaines souches (comme Di<sub>3</sub>, SR<sub>3</sub> et KO<sub>4</sub>) qui n'avaient pas provoqué une bonne nodulation au laboratoire, l'ont permis en pépinière.

1332-Discussions

Le test de nodulation précédant cette étude ayant montré l'appartenance au genre Rhizobium de toutes les souches utilisées, l'absence

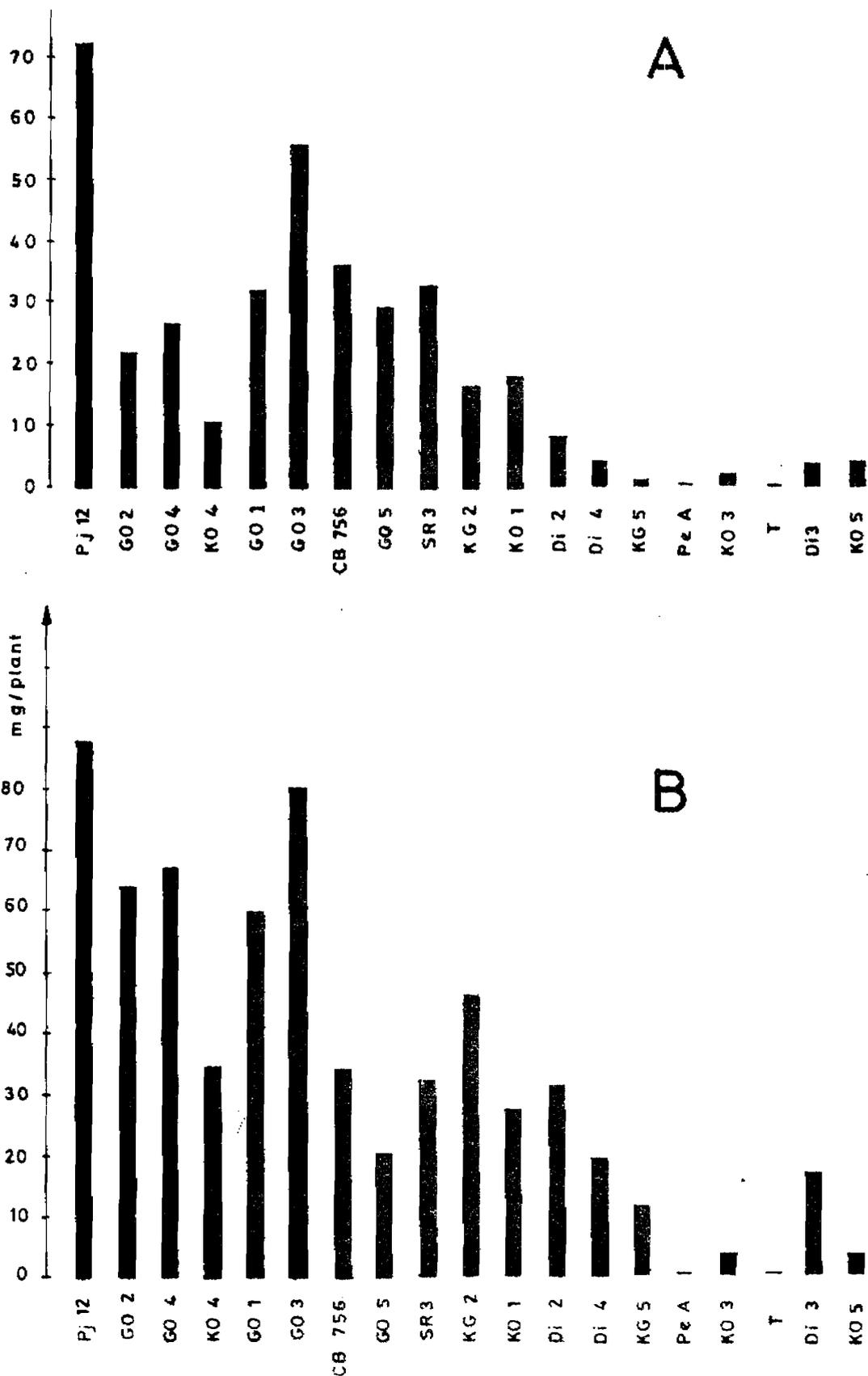


Figure 1 : Résultats du test de nodulation sur Acacia albida élevé sur sol stérilisé

A : nombre de nodules par plant

B : poids sec de nodules par plant

T : Témoin

de nodulation observée en pépinière chez certaines souches ne peut être attribuée qu'à l'influence défavorable de certaines conditions expérimentales.

En effet, il convient de souligner qu'à défaut d'espace, notre matériel expérimental a été scindé en 2 parties dont un dispositif principal et un annexe.

Ces 2 parties étaient soumises à des conditions ambiantes différentes : le dispositif principal était exposé au rayonnement solaire matinal avec une température modérée ; à l'opposé, l'exposition de l'annexe n'avait lieu qu'aux environs de la mi-journée avec une très forte température (plus de 40°C).

D'autres facteurs ont probablement contribué à accentuer la différence entre les 2 dispositifs, ce qui s'est traduit par un écart important entre les hauteurs moyennes des traitements témoins des 2 cas : 22,79 centimètres pour le dispositif principal et 15,5 centimètres dans l'annexe (voir figure 2).

Compte tenu de ce qui précède, nous nous sommes proposés de ne retenir pour le test d'effectivité que les souches utilisées dans le dispositif principal.

#### 134- Sélection de souches efficaces pour *Acacia albida*

##### 1341-Résultats

Les résultats relatifs à la hauteur et au poids sec des parties aériennes des plants (figure 3) ont été soumis au test de TUKEY HARTLEY (cf. BOULET - GERCOURT, 1982) au seuil de signification de 5%. Les détails de cette analyse sont présentés en annexe III. La comparaison globale des moyennes (analyse de moyenne - test F) a montré qu'il existe des différences significatives entre les moyennes de hauteurs et de poids secs des parties aériennes. Pour ces dernières, l'homogénéité des variances a également été montrée (test de HARTLEY). Ceci nous a permis d'effectuer le test de comparaison de TUKEY HARTLEY dont les résultats figurent dans le tableau 9. Ces résultats indiquent que :

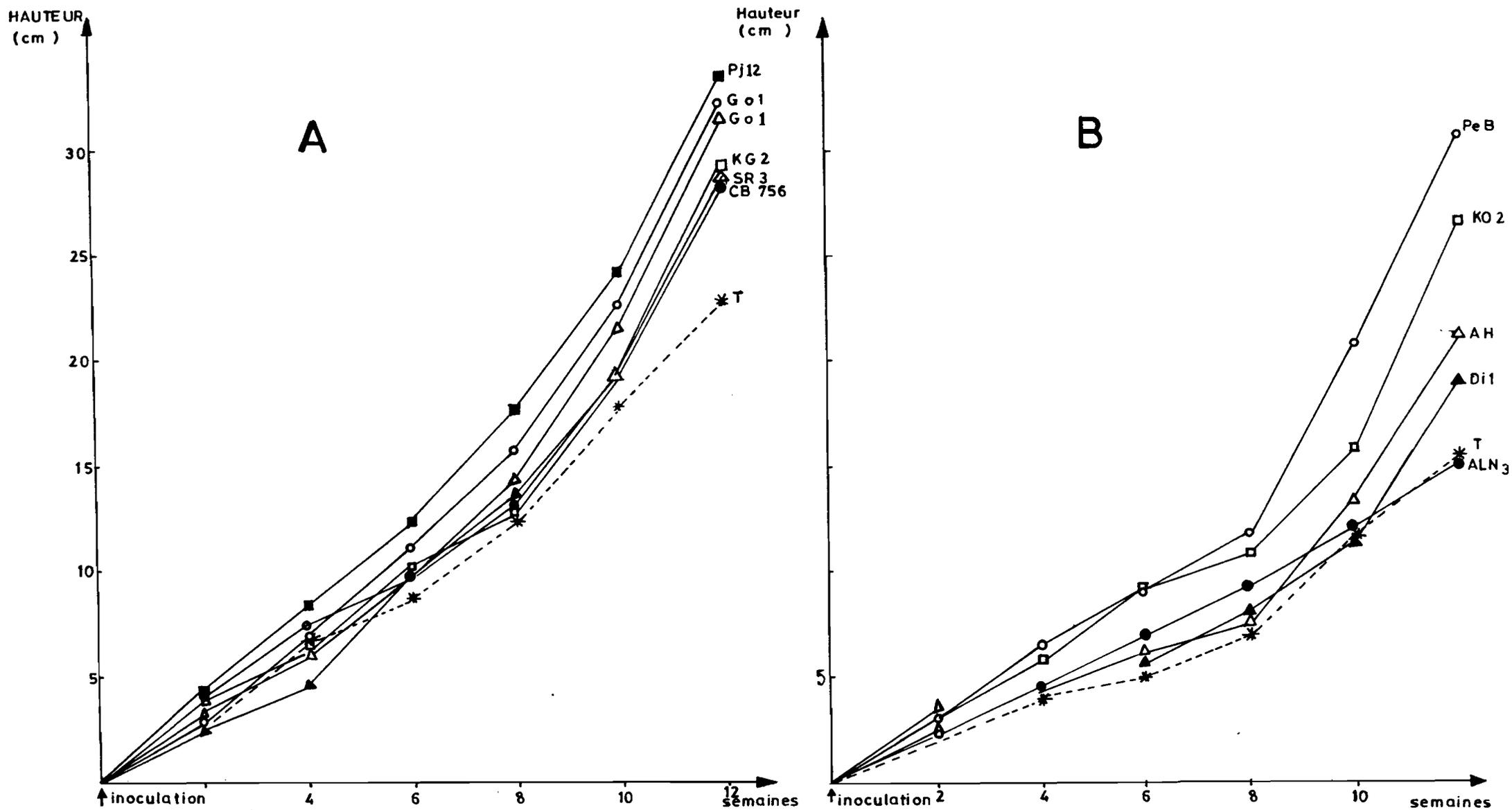
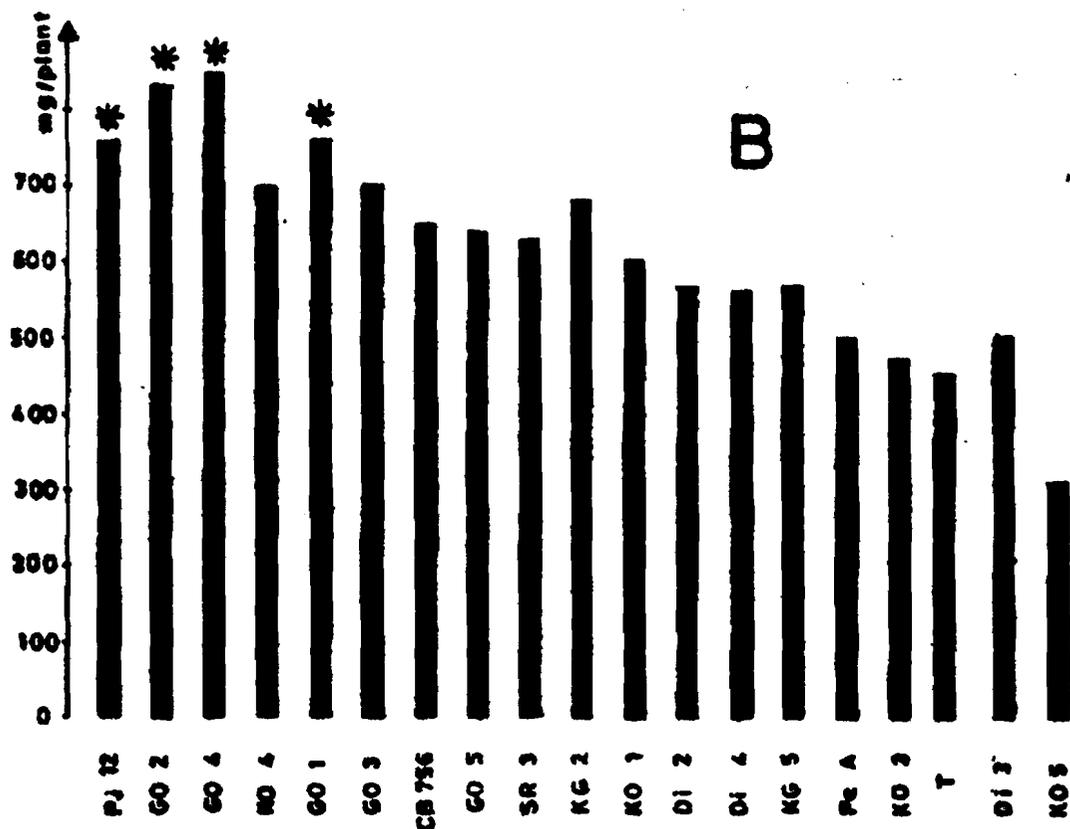
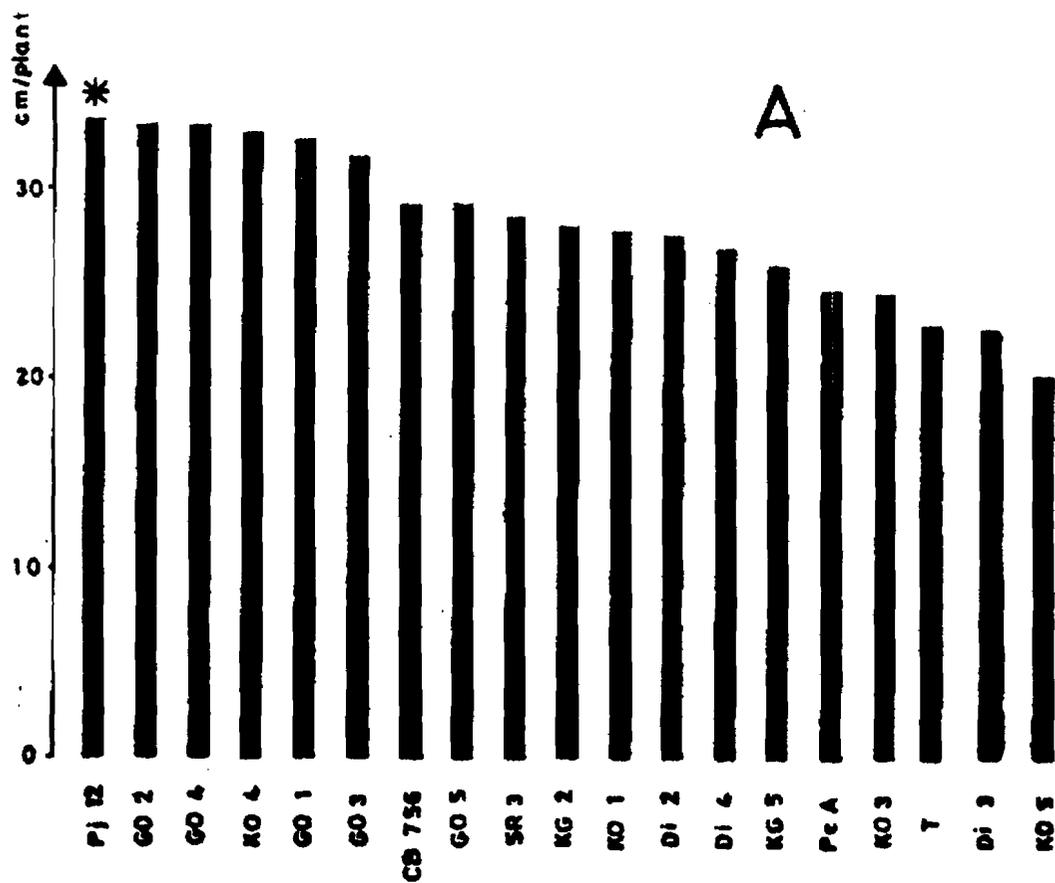


Figure 2. Courbes de croissance d'Acacia albida après inoculation avec différentes souches de Rhizobium.

A : dispositif principal

B : dispositif annexe.

T : Témoin.



**Figure 3 :** Croissance d'Acacia albida inoculé avec diverses souches de Rhizobium.

**A :** Croissance en hauteur

**B :** Poids sec de parties aériennes

**T :** Témoin

**\*** Traitement significativement différent du témoin au seuil de 5%

Tableau 9 : Tableau de comparaison de TUKEY HARTLEY

-----

Traitement	Pj12	GO <sub>2</sub>	GO <sub>4</sub>	KO <sub>4</sub>	GO <sub>1</sub>	GO <sub>3</sub>	CB <sub>756</sub>	GO <sub>5</sub>	SR <sub>3</sub>	KG <sub>2</sub>	KO <sub>1</sub>	Di <sub>2</sub>	Di <sub>4</sub>	KG <sub>5</sub>	PeA	KO <sub>3</sub>	T	Di <sub>3</sub>	KO <sub>5</sub>
Hauteur moyenne (cm)	33,57	33,28	33,28	33	32,42	31,78	29,28	29,28	28,57	28,14	27,85	27,71	26,71	25,85	24,57	24,42	22,79	22,71	20,28
	-----																		
Traitement	GO <sub>2</sub>	GO <sub>4</sub>	GO <sub>1</sub>	Pj12	KO <sub>4</sub>	GO <sub>3</sub>	KG <sub>2</sub>	CB <sub>756</sub>	GO <sub>5</sub>	SR <sub>3</sub>	KO <sub>1</sub>	Di <sub>2</sub>	KG <sub>5</sub>	Di <sub>4</sub>	Di <sub>3</sub>	PeA	KO <sub>3</sub>	T	KO <sub>5</sub>
Poids sec moyen des parties aériennes (g)	0,861	0,848	0,758	0,755	0,698	0,698	0,676	0,651	0,640	0,628	0,600	0,569	0,567	0,563	0,515	0,497	0,470	0,450	0,322
	-----																		

Les traitements reliés par une ligne continue ne sont pas significativement différents au seuil de 5%.

- les effets des différentes souches de Rhizobium sur la croissance en hauteur des plants ne sont pas significativement différents au seuil de 5%, à l'exception de Di<sub>3</sub> et KO<sub>5</sub>.

Cependant, une seule souche (Pj12) permet d'obtenir des gains de croissance significatifs par rapport au témoin d'environ 48%.

- En ce qui concerne le poids sec des parties aériennes, 10 traitements fournissent les meilleurs résultats ; par provenance, il s'agit :

- de 5 souches de la station de Gonsé (GO<sub>1</sub>, GO<sub>2</sub>, GO<sub>3</sub>, GO<sub>4</sub>, GO<sub>5</sub>)
- de 3 souches de l'ORSTOM de Dakar (Pj12, SR<sub>3</sub>, CB<sub>756</sub>)
- d'une souche de Kokologho (KO<sub>4</sub>)
- d'une souche de Kongoussi (KG<sub>2</sub>)



PHOTO 3a : Effet bénéfique de l'inoculation avec des souches efficaces de Rhizobium sur Acacia albida

T : Témoin non inoculé



PHOTO 3b : nodulation de plants d'Acacia albida inoculés avec différentes souches de Rhizobium en tubes à essais.

Parmi ces derniers, 4 souches dont 3 de Gonsé (GO<sub>2</sub>, GO<sub>4</sub> et GO<sub>1</sub>) et une de l'ORSTOM de Dakar (Pj12) améliorent significativement la production de matière sèche par rapport au témoin : les gains de croissance observés varient de 68% avec Pj12 à 91% avec la meilleure souche (GO<sub>2</sub>).

#### 1342-Discussions

Nous avons constaté dans cette expérience que, parmi les souches indigènes de Rhizobium étudiées, 3 souches de Gonsé (GO<sub>1</sub>, GO<sub>4</sub> et GO<sub>2</sub>) ont un effet positif sur la croissance des plants d'Acacia albida dont elles améliorent significativement la production de matière sèche, respectivement de 68 à 91% de plus que les plants non inoculés.

En ce qui concerne la croissance en hauteur, il n'y a pas eu de différence significative au seuil de 5% ; ceci est en accord avec les observations de CORNET (1981) qui montrent que la hauteur n'est pas un bon critère d'appréciation de l'effectivité des souches de Rhizobium.

Il est intéressant de constater que toutes les souches efficaces obtenues ont été piégées à partir des sols prélevés sur des sites très récents de plantations d'Acacia albida (plantation 1985) alors que les sols des vieux peuplements naturels n'ont fourni aucune souche efficace. Ces observations semblent confirmer les travaux de SOMASEGARAN et HOBEN (1985) qui indiquent que, pour une espèce donnée, la sélection de souches efficaces doit être orientée vers les sites où l'espèce n'a pas encore été cultivée.

Les résultats relatifs à la teneur totale en azote des plants (cf. figure 4) confirment l'efficacité des souches de Gonsé (GO<sub>4</sub>, GO<sub>1</sub> et GO<sub>2</sub>). En effet, ces souches se distinguent nettement par une amélioration de la teneur en azote par rapport au témoin, respectivement de 71%, 73% et 97% pour la meilleure (GO<sub>2</sub>).

Toutefois, les résultats n'ont pas été analysés statistiquement, ce qui ne permet pas une interprétation rigoureuse de l'effet des différentes souches de Rhizobium.

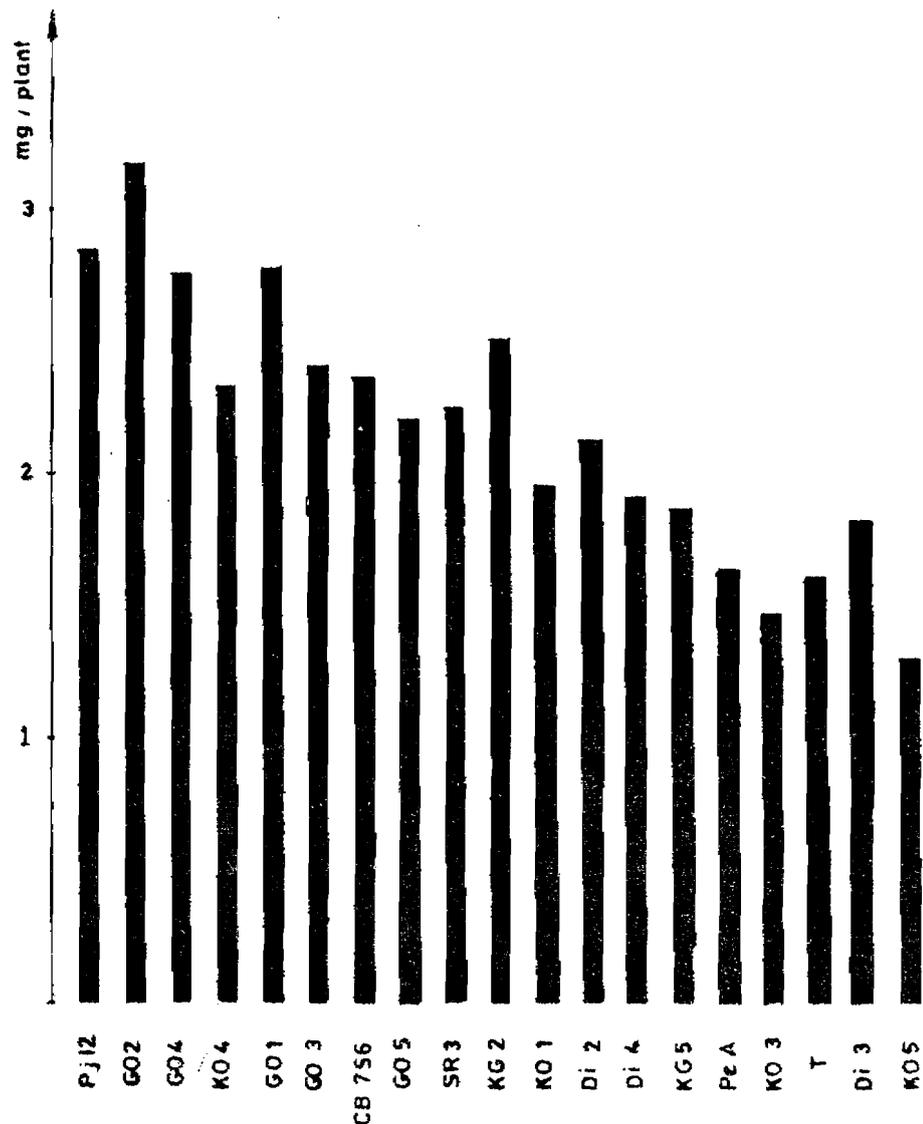


Figure 4. Teneur totale en azote des parties aériennes des plants d'*Acacia albida* inoculés avec différentes souches de *Rhizobium*.

- T : Témoin

Néanmoins, outre les souches sus-citées, nous pouvons signaler 4 autres souches améliorant sensiblement la teneur totale en azote par rapport au traitement témoin ; il s'agit des souches GO<sub>5</sub> (37%), KO<sub>4</sub> (45%), GO<sub>3</sub> (50%) et KG<sub>2</sub> (55%).

En admettant que l'azote fixé symbiotiquement soit la différence en azote des parties aériennes entre les plants inoculés et ceux non inoculés, le pouvoir fixateur de la meilleure souche (GO<sub>2</sub>) peut être estimé à 13 mg d'azote par gramme de matière sèche produite.

Cette valeur est proche de celle obtenue par d'autres travaux (CORNET et DIEM, 1983) sur Acacia raddiana : 15 mg/gramme de matière sèche.

En admettant également que la quantité d'azote apportée par les graines soit constante, on peut penser que la teneur totale en azote de la plante est proportionnelle à l'azote fixé symbiotiquement. De ce fait, il apparaît intéressant de calculer les corrélations entre les paramètres étudiés de la nodulation et la teneur totale en azote. Cette étude a montré que le nombre et le poids sec des nodules sont positivement et significativement corrélés à la teneur totale en azote des plants. Ces résultats ont déjà été mis en évidence chez des Légumineuses herbacées comme Glycine max (SAINT-MACARY et Coll., 1984).

Le même type de corrélation linéaire existe entre le nombre et le poids sec des nodules et les paramètres suivants : hauteur des plants, poids sec des parties aériennes (cf. tableau 10 et figure 5). Ces observations s'opposent à celles de SAMSON et al. (1984) sur le soja, de même qu'à ceux de CORNET (1981) sur Acacia holosericea.

Parmi les souches de Rhizobium introduites, seule Pj12 a permis d'obtenir une amélioration du poids sec des parties aériennes des plants d'Acacia albida. Contrairement aux travaux de DREYFUS et DOMMERGUES (1981), CB<sub>756</sub> ne semble pas ici efficace sur la croissance d'Acacia albida. En outre, il a été récemment montré, sur une autre Légumineuse arborescente (Acacia holosericea), que CB<sub>756</sub> n'améliore pas la croissance des plants (CORNET et DIEM, 1982) mais seulement la teneur en azote. En accord avec ces derniers résultats, nous avons obtenu une amélioration de la teneur en azote d'environ 47% par rapport au témoin non inoculé.

Tableau 10 : Etude de corrélations simples entre les paramètres de la nodulation et ceux de la croissance des plants

Paramètres de la nodulation étudiés (explicatifs)	PARAMETRES DE LA CROISSANCE ETUDIÉS (expliqués)		
	Hauteur moyenne	Poids sec moyen des parties aériennes	Teneur totale en azote / plant
Nombre de nodules (par plant)	$y = 0,15x + 25,31$ $r = 0,70$	$y = 0,004x + 0,53$ $r = 0,63$	$y = 0,02x + 12,45$ $r = 0,69$
Poids sec des nodules (par plant)	$y = 128,1x + 23,91$ $r = 0,87$	$y = 4,31x + 0,48$ $r = 0,85$	$y = 17,05x + 11,11$ $r = 0,87$

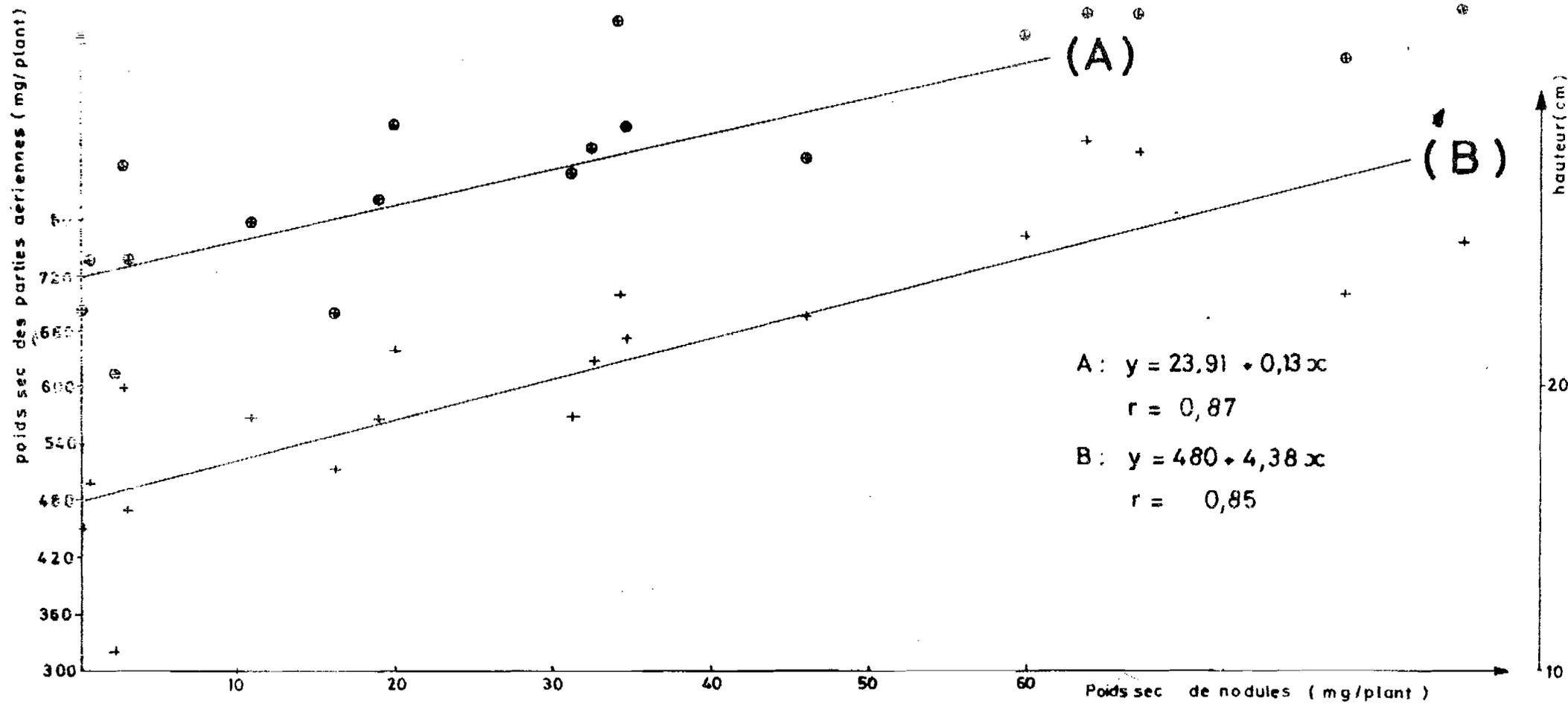


Figure 5 : Droites de régression entre le poids sec de nodules et certains paramètres de croissance :

A : hauteur des plants A : ( ● )

B : poids sec des parties aériennes des plants ( + )

II - SYMBIOSE MYA + Acacia albida

Il est actuellement établi que la plupart des champignons présents dans le sol sont susceptibles d'infecter le système racinaire des plantes et d'améliorer leur croissance.

C'est pourquoi, dans le cadre de nos travaux, il apparaissait intéressant d'entreprendre l'étude suivante :

- séparer d'abord des spores de champignons indigènes à partir des échantillons de sol prélevés.

- tester ensuite l'infectivité puis l'effectivité de ces souches sur Acacia albida.

21 - Séparation de spores et constitution de souches de champignons indigènes

Nous avons utilisé la technique de GERDMANN et NICOLSON (1963) (page 28) pour séparer des spores de champignons à partir des échantillons de sol provenant de 2 stations : Gonsé et Kongoussi.

Les spores obtenues ne présentaient aucune des caractéristiques taxonomiques apparentes (hyphes d'attache etc...) permettant leur identification.

Néanmoins, nous nous sommes proposés de les regrouper en fonction de leur coloration, ce qui a permis de distinguer les groupes suivants :

Souches	Coloration	Provenance
GOb	brune	Gonsé
GOj	jaune	
GOn	noire	
KGb	brune	Kongoussi
KGn	noire	

Tableau 11 : Souches de champignons indigènes utilisées et leur provenance.

Les souches ainsi définies ont pu être déterminées par le laboratoire du B.S.S.F.T. du C.N.R.S./ORSTOM de Nogent-sur-Marne : il a été établi qu'elles appartiennent toutes au genre Acaulospora.

22 - Test d'infectivité et d'effectivité des souches fongiques sur Acacia albida

221- Conduite de l'expérience

Cette étude a été effectuée avec des plants d'Acacia albida cultivés sur le mélange de sable et de sol humifère de pépinière précédemment utilisé (page 41). Nous avons étudié les traitements suivants :

- plants non inoculés (témoin)
- plants inoculés avec spores indigènes
- plants inoculés avec Glomus mosseae

Chaque traitement comporte 7 répétitions. L'expérience a duré 4 mois.

222- Résultats et discussions

2221- Infectivité des souches

Nous avons réalisé 2 séries d'observations de préparations racinaires :

- Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à des échantillons représentatifs, prélevés au hasard sur le système racinaire des plants de chaque traitement.

Avec cette méthode, nous avons observé des hyphes fongiques uniquement dans le cas des plants inoculés avec Glomus mosseae ; ces hyphes étaient essentiellement externes bien que quelques infections aient été observées.

- Dans un second temps, dans le cas des souches indigènes, nous avons limité nos investigations aux radicelles périphériques situées

au voisinage immédiat du papier filtre utilisé comme support de l'inoculum. Ce papier filtre s'est conservé au cours des 4 mois de culture et a fortement inhibé le développement du système racinaire des plants (crosses racinaires, atrophie des radicelles etc...). Néanmoins, cette seconde série d'observations nous a permis de noter la présence d'infection dans tous les traitements étudiés.

### Discussions

Ces résultats montrent que toutes les souches d'Acaulospora que nous avons utilisées sont infectives sur Acacia albida. Toutefois, il apparaît que l'utilisation du papier filtre n'est pas une bonne méthode d'inoculation dans nos conditions expérimentales. Le maintien de ce support d'inoculum est doublement désavantageux : il inhibe d'une part le développement du système racinaire des plants et, de l'autre, l'extension de l'infection endomycorhizienne. Du fait de ces inconvénients, il est probable que les formes liquides d'inoculum (suspensions de spores) soient plus indiquées dans notre cas. Par ailleurs, l'utilisation du papier filtre semble plus adaptée aux plantes à système racinaire dense comme le niébé et les Graminées qu'aux espèces à système racinaire pivotant comme Acacia albida.

En ce qui concerne le traitement avec Glomus mosseae, il peut paraître étonnant que les plants d'Acacia albida aient peu d'infections; cependant, on peut tenter d'expliquer ce phénomène par les observations suivantes :

- La technique d'inoculation à base de racines infectées, ainsi que l'ont décrite MENGE et TIMMER (1983), préconise l'utilisation de racines fraîches. Or, dans le cas de nos travaux, l'inoculum (racines de Vigna unguiculata et substrat de culture) n'a été utilisé que plus d'un mois après sa réception. Ce délai de conservation relativement long a probablement entamé la vitalité des hyphes fongiques.

- en tenant compte de ce qui précède, on peut suggérer que le potentiel de l'inoculum de Glomus mosseae est probablement limité aux éventuelles spores contenues dans le substrat de culture. Ceci peut expliquer la rareté des hyphes au voisinage des racines.

- En admettant par ailleurs que Glomus mosseae soit un champignon adapté aux pH supérieurs à la neutralité (GERDEMANN et TRAPPE, 1974), on peut penser que le pH légèrement acide du sol stérilisé (pH 6) a sans doute limité l'infection des plants. D'autres travaux indiquent des résultats similaires avec Glomus mosseae sur l'érable synomore (KABRE, 1979).

#### 2222-Effets sur le développement des plants

Le test d'infectivité précédent a montré que les souches utilisées appartiennent à des champignons mycorhizogènes. Cependant, les mauvaises conditions d'inoculation n'ont pas permis d'enregistrer une infection suffisante pour provoquer une réponse positive sur la croissance des plants.

En effet, l'analyse statistique au seuil de 5% des données de hauteur et de poids sec des parties aériennes des plants indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les traitements (annexe 4).

En ce qui concerne le poids sec des parties racinaires, nous avons constaté une hétérogénéité entre les variances des traitements (test de HARTLEY), ce qui est probablement dû à l'action du papier filtre. Cette hétérogénéité n'a pas permis une comparaison entre les moyennes du paramètre indiqué.

## CONCLUSIONS GÉNÉRALES

A travers les programmes de reboisement, les Légumineuses arborescentes comme Acacia albida sont appelées à jouer un rôle important dans les processus de régénération des sols burkinabè.

Dans cette optique, la sélection de souches symbiotiques efficaces pourrait contribuer à améliorer la croissance des plants, aussi bien en pépinière qu'en plantation. Au cours de nos travaux, nous avons tenté d'étudier les possibilités d'amélioration de la croissance d'Acacia albida par inoculation avec certains microorganismes symbiotiques : les Rhizobium et les champignons endomycorhiziens.

En ce qui concerne les Rhizobium, nous avons constaté que la plupart des sols prélevés, très pauvres en phosphore (8 ppm dans les sols de Gonsé) ou trop pourvus en azote (2876 ppm dans les sols de Kokologho), étaient moins favorables à la nodulation : 36% des plants ont porté des nodules. Néanmoins, l'inoculation des plants d'Acacia albida avec 2 à 3 cuillerées de chacun de ces sols sur du sable stérilisé contenant 42 ppm de phosphore assimilable nous a permis d'améliorer le taux de nodulation : 42%. Des nodules récoltés, nous avons isolé une vingtaine de souches bactériennes. A partir de ces souches, nous avons comparé 2 protocoles de test de nodulation conduit d'une part au laboratoire (en tubes à essais) et d'autre part en pépinière (dans les conditions naturelles de température et de lumière).

Nous avons observé dans cette expérience que toutes les souches bactériennes utilisées ont induit la nodulation des plants d'Acacia albida au laboratoire ; on admettra, comme l'indiquent certains travaux (SOMASEGARAN et HOBEN, 1985), que toutes ces souches bactériennes appartiennent au genre Rhizobium. 19 souches de Rhizobium ont ainsi été obtenues : KO<sub>1</sub>, KO<sub>2</sub>, KO<sub>3</sub>, KO<sub>4</sub> et KO<sub>5</sub> de Kokologho ; Di<sub>1</sub>, Di<sub>2</sub>, Di<sub>3</sub> et Di<sub>4</sub> de Dindéresso ; KG<sub>2</sub> et KG<sub>5</sub> de Kongoussi ; PeA et PeB de Ouagadougou ; GO<sub>1</sub>, GO<sub>2</sub>, GO<sub>3</sub>, GO<sub>4</sub>, GO<sub>5</sub> et AH de Gonsé.

En pépinière par contre, certaines souches n'ont pas été infectives. En considérant les résultats précédents, on peut attribuer ce

phénomène à l'action de certains facteurs défavorables du milieu, probablement de la température dont le maximum est supérieur à 40°C.

Du point de vue pratique, il semble donc nécessaire d'installer des ombrières au cours de l'inoculation rhizobienne en pépinière pendant les périodes chaudes.

Le test d'effectivité, réalisé sur sol stérilisé, nous a permis de sélectionner 3 souches de Rhizobium efficaces sur la croissance des plants d'Acacia albida. Il s'agit de GO<sub>4</sub>, GO<sub>1</sub> et GO<sub>2</sub>. Par rapport au témoin non inoculé, ces souches améliorent le poids sec des parties aériennes des plants respectivement de 88%, 68%, 91% et leur teneur en azote de 71%, 73% et 97%.

Il convient de souligner que toutes ces souches proviennent d'une station dans laquelle Acacia albida a été récemment introduit (Station de Gonsé) alors qu'aucune des souches isolées à partir des sols prélevés dans des peuplements anciens (Station de Kongoussi et de Kokologho) n'a été efficace.

Ces résultats semblent indiquer que l'abondance d'une plante-hôte dans un site donné n'implique pas celle de souches efficaces dans le même site. Il est probable que, pour une espèce de Légumineuse donnée, la sélection de souches efficaces soit plus intéressante lorsque le piégeage de Rhizobium est mené sur des sols de stations diverses où l'espèce considérée est peu représentée.

Par ailleurs, parmi les souches de Rhizobium que nous avons reçues de l'ORSTOM de Dakar, seule P<sub>J</sub> 12 a été efficace sur la croissance des plants. Avec cette souche, la croissance des plants (estimée en poids sec) est améliorée de 68% et la teneur en azote dans les parties aériennes de 77% par rapport aux plants témoins.

Un essai au champ avec les souches sélectionnées est déjà entrepris. Les premières étapes de ce test mettent en évidence

L'inadaptation de l'inoculum liquide ~~couramment~~ utilisé au laboratoire aux conditions de terrain. Il est donc nécessaire d'envisager un conditionnement de l'inoculum, de manière à le rendre facilement utilisable. Une telle perspective est envisageable avec des substrats comme le compost de paille de mil et d'arachide et surtout la tourbe (WEY, 1983).

Dans cette expérience, nous avons également étudié les corrélations simples entre les paramètres étudiés de la nodulation (nombre et poids sec de nodules) et ceux de la croissance des plants (hauteur, poids sec des parties aériennes et teneur en azote des plants). Cette étude a montré que chacun des premiers paramètres est positivement et significativement corrélié à chaque paramètre de croissance.

En ce qui concerne les champignons, nous avons cherché à étudier les aptitudes mycorrhizogènes des spores contenues dans les sols des stations de Gonsé et de Kongoussi. Les spores séparées de ces sols apparaissaient dépourvues d'hyphes fongiques, contrairement aux résultats d'autres travaux (REDHEAD, 1977), réalisés en zone de savane soudanienne et en zone sahélienne.

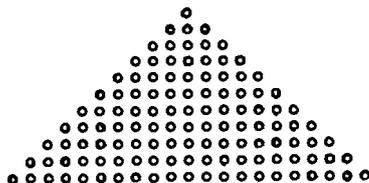
Selon la couleur des spores, nous avons défini 5 souches composées de spores brunes (KG<sub>b</sub> ; GO<sub>b</sub>), jaunes (GO<sub>j</sub>), noires (KG<sub>n</sub> + GO<sub>n</sub>). La détermination de ces spores (par le laboratoire BSSFT du CNRS/ORSTOM/CTFT à Nogent-sur-Marne a révélé qu'elles appartiennent toutes à un même genre de champignon : Acaulospora.

Le test d'infectivité réalisé sur sol stérilisé a montré que toutes ces souches fongiques sont infectives sur Acacia albida ; on peut donc penser qu'il s'agit de champignons endomycorhiziens.

Toutefois, l'infection constatée était très faible et n'a pas permis d'observer une / <sup>effectivité</sup> sur la croissance des plants. Ce phénomène est dû à l'influence de notre support d'inoculum qui a été un papier filtre et qui, contrairement aux hypothèses formulées par MENGE et TIMMER (1983), ne s'est pas décomposé au cours de l'expérience. En outre le papier filtre a inhibé le développement du système racinaire des plants : en fin d'expérience, la quasi-totalité de ces plants étaient rabougris.

Nous avons également inoculé des plants d'Acacia albida avec une souche de Glomus mosseae constituée de racines infectées de niébé accompagnées du substrat de culture. Les résultats obtenus dans ce traitement diffèrent peu des précédents. La durée de conservation assez longue de l'inoculum aurait entraîné sa péremption et pourrait expliquer ces résultats.

Des travaux effectués, nous tirons la nécessité d'améliorer les techniques utilisées (spécification des souches, techniques d'inoculation etc...) en vue de sélectionner de meilleures souches fongiques, effectives pour Acacia albida.



# B I B L I O G R A P H I E

- AKKERMANS A. D. L., HOUWERS A., 1979 - Symbiotic nitrogen fixers available for use in temperate forestry. *Orogen workshop, April 1979.*
- AMARGER N., LAGACHERIE B., 1983 - Caractéristiques et écologie des Rhizobium. Fichier technique de la fixation symbiotique de l'azote, Légumineuse/Rhizobium, FAO, Rome, Biol., 2, 1/4 - 4/4.
- BARTSCKI H., 1982 - Influence de quelques pesticides sur l'infection endomycorhizienne. Les mycorhizes, partie intégrante de la plante : biologie et perspectives d'utilisation, Colloques de l'I.N.R.A., France, 13, 259 - 266.
- ~~BERGERSIN~~ F. J., 1978 - Physiology of Legume symbiosis. In : Interaction between non-pathogenic soil microorganisms and plants, Y. R. DOMMERGUES and S. V. KRUPA (editors), *Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam*, 269 - 303.
- BOULET GERCOURT B., 1982 - Statistiques pour l'ingénieur forestier. Doc., Depart., E. et F., Institut Supérieur Polytechnique, Ouagadougou.
- BOULLARD B., 1963 - Les mycorhizes des Graminées. *Journal d'Agriculture Tropicale et de Botanique Appliquée*, Paris, 10 - 11, 411 - 437.
- BOULLARD B., 1964 - Acquisitions récentes relatives à l'écologie des mycorhizes. *Journal d'Agriculture Tropicale et de Botanique Appliquée*, Paris, 10 - 11, 515 - 538.
- BOULLARD B., 1982 - Brève réponse à une question : que recouvre la notion de mycorhizes ? Les mycorhizes, partie intégrante de la plante : biologie et perspectives d'utilisation, Colloques de l'I.N.R.A., France, 13, 15 - 21.

- CLEYET - MAREL J. C., 1983 - Préparation d'un milieu de culture pour Rhizobium. Fichier technique de la fixation symbiotique de l'azote, Légumineuse/Rhizobium, FAO, Rome, Rhiz., 6, 1/2-2/2.
- CLEYET - MAREL J. C., 1983 - Protocole de prélèvement et conservation de nodosités récoltées sur des racines de Légumineuses. Fichier technique de la fixation symbiotique de l'azote, Légumineuse/Rhizobium, FAO, Rome, Rhiz., 2, 1/2 - 2/2.
- CLEYET - MAREL J. C., 1983 - Isolement de souches de Rhizobium. Fichier technique de la fixation symbiotique de l'azote, Légumineuse/Rhizobium, FAO, Rome, Rhiz., 3, 1/2 - 2/2.
- CORNET F., 1981 - Recherches préliminaires sur la symbiose de deux Acacia tropicaux (A. raddiana Savi et A. holosericea A. Cunn) avec Rhizobium sp et un champignon endomycorhizien (Glomus mosseae Nicol. et Gerd.). Mémoire de 3<sup>e</sup> année E.N.I.T.E.F., France.
- CORNET F., DIEM H. G., 1982 - Etude comparative de l'efficacité des souches de Rhizobium d'Acacia isolées de sols du Sénégal et effet de la double symbiose Rhizobium - Glomus mosseae sur la croissance de Acacia holosericea et Acacia raddiana. Bois et Forêts des Tropiques, France, 198, 3 - 14.
- CORNET F., DIEM H. G., 1983 - Quand est-il possible d'améliorer la croissance des Acacia par inoculation avec des champignons endomycorhiziens ou par apports de phosphates ? 3<sup>e</sup>ème congrès international sur les composés phosphorés, Bruxelles, 4 - 6 octobre 1983, IMPHOS, France, 145 - 152.
- DEXHEMER J., GIANINAZZI - PEARSON V., GIANINAZZI S., 1982 - Acquisitions récentes sur la physiologie des mycorhizes VA au niveau cellulaire. Les mycorhizes, partie intégrante de la plante : biologie et perspectives d'utilisation, Colloques de l'I.N.R.A., France, 13, 61 - 65.

- DOMMERMUES Y., DREYFUS B., DIEM H.G., DUHOUX E., 1985 - Fixation de l'azote et agriculture tropicale. La Recherche, Paris, 162, 22 - 31.
- DREYFUS J. J., 1983 - Les différents organismes fixateurs d'azote. Fichier technique de la fixation symbiotique de l'azote, Légumineuse/Rhizobium, FAO, Rome, Biol., 2, 1/4 - 4/4.
- DREYFUS B., DOMMERMUES Y. R., 1981 - Nodulation of Acacia species by fast- and slow-growing tropical strains of Rhizobium, Applied and Environmental Microbiology, 41, 97 - 99.
- FELKER P., 1978 - State of the art : Acacia albida as a complementary permanent intercrop with annual crops. University of California, Riverside, California, 133 p.
- GERDEMANN J. W., NICOLSON T. H., 1963 - Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from Soil by wet-sieving and decanting. Transactions of the British mycological Society 46, 235 - 244.
- GERDEMANN J. W., TRAPPE J. M., 1974 - The Endogonaceæ in the Pacific Northwest. Mycologia Memoir, 5, 76 p.
- GIANINAZZI S., 1982 - L'endomycorhization contrôlée en agriculture, horticulture et arboriculture : problèmes et progrès. Les mycorhizes, partie intégrante de la plante : biologie et perspectives d'utilisation, Colloques de l'I.N.R.A., France, 13, 231 - 237.
- GIANINAZZI - PEARSON V., 1982 - Importance des mycorhizes dans la nutrition et la physiologie des plantes. Les mycorhizes, partie intégrante de la plante : biologie et perspectives d'utilisation, Colloques de l'I.N.R.A., France, 13, 51 - 57.
- GIANINAZZI - PEARSON V., 1986 - Les mycorhizes : moyen d'améliorer l'utilisation des engrais phosphatés. Fertilisants et Agriculture, 92, 3 - 10.

~~GIFFARD P.L., 1964 - Les possibilités de reboisement en Acacia albida~~  
au Sénégal. Bois et Forêts des Tropiques, France, 95, 21 - 33.

~~GIFFARD P.L., 1974 - Recherches complémentaires sur Acacia albida~~  
Del., Bois et Forêts des Tropiques, France, 135, 3 - 20.

~~GIFFARD P.L., 1974 - L'arbre dans le paysage sénégalais. Sylviculture~~  
en zone tropicale sèche. C.T.F.T., Dakar, 157 p.

HAYMAN D. S., 1978 - Endomycorrhizae. In : Interaction between non-  
pathogenic soil microorganisms and plants, Y. R. DOMMERGUES  
and S.V. KRUPA (editors), Elsevier Scientific Publishing  
Company, Amsterdam, 401 - 442.

KABRE A., 1979 - Influence de la mycorhization sur le comportement de  
l'érable sycomore (Acer pseudoplatanus Link). Diplôme d'Etudes  
approfondies de Biologie Végétale, Université de Nancy I,  
France, 18 p.

~~KABRE A., 1982 - Mycorhization de Pinus caribaea (Morelet) var.~~  
~~Hondurensis dans différents sols du Sénégal. Thèse de Docteur -~~  
Ingénieur en Biologie Végétale, Université de Nancy I, France,  
115 p.

LANGLEY - DANYSE P., 1983 - La leçon des aulnes. Biofutur, Février,  
44 - 46.

LANGLEY P., OSUSKY P., ROQUE J., 1983 - Des mycorhizes pour l'agricul-  
ture ? Biofutur, Mai, 21 - 30.

LE TACON F., 1978 - La mycorhization contrôlée et ses possibilités  
d'application. Les progrès réalisés aux Etats-Unis. Revue  
Forestière Française, 5, 353 - 361.

LE TACON F., 1982 - Perspectives de la maîtrise de la mycorhization en  
sylviculture. Les mycorhizes, partie intégrante de la  
plante : biologie et perspectives d'utilisation, Colloques  
de l'I.N.R.A., France, 13, 273 - 285.

- LE TACON F., 1985 - Les mycorhizes : une coopération entre plantes et champignons. La Recherche, Paris, 166, 624 - 632.
- MAYDELL H. J. Von, 1983 - Arbres et arbustes du Sahel. Leurs caractéristiques et leurs utilisations. Office Allemand de la Coopération Technique. (GTZ). Dag Hammarkjøld - Weg 1, D-6236 Eschborn/Ts. 1, 531 p.
- MENGE J. A., TIMMER L. W., 1983 - Procedures for inoculation of plantes with vesicular-arbuscular mycorrhizae in the laboratory, greenhouse and field. In : Methods and Principles of Mycorrhizal research, N. C. SCHENCK (editor), The American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota, 59 - 68.
- MOINET M. L., 1983 - L'heure de gloire des Rhizobiacées, premier symposium international sur la génétique moléculaire de l'~~infection~~ action plante - bactérie. Biofutur, Février, 42 - 43.
- MOHSAIN D., SALSAC L., 1982 - Nutrition phosphatée et activités ~~phosphatases acides avec des symbiotes ectomycorhiziens~~ cultivés isolément ou en association. Les mycorhizes, partie intégrante de la plante : biologie et perspectives d'utilisation, Colloques de l'I.N.R.A., France, 13, 87 - 94.
- OBATON M., 1974 - Légumineuses tropicales : problèmes particuliers posés par la symbiose fixatrice d'azote et l'inoculation des semences. L'Agronomie Tropicale, France, 11, 1128 - 1139.
- OBATON M., 1983 - La place des Légumineuses dans le cycle de l'azote. Fichier technique de la fixation symbiotique de l'azote, Légumineuse/Rhizobium, FAO, Rome, Biol., 4, 1/4 - 3/4.
- OLLIVIER B., DIEM H. G., PINTA M., DOMMARGUES Y. R., 1982 - Influence de l'infection endomycorhizienne sur la concentration en phosphore et zinc des parties aériennes de Vigna unguiculata, cultivé dans un sol Dek. Les mycorhizes, partie intégrante de la plante ; biologie et perspectives d'utilisation, Colloques de l'I.N.R.A., France, 13, 155 - 160.

- OUEDRAOGO A.S., 1987 - Essai comparatif de provenances d'Acacia albida à Gonsé, Burkina Faso. Semences - Forêts et Développement, Centre National des Semences Forestières, Burkina Faso, 1, 27 - 32.
- POSTGATE J. R., 1976 - La fixation biologique de l'azote. La Recherche, Paris, 66, 335 - 347.
- REDHEAD J. F., 1977 - Endotrophic mycorrhizas in Nigeria : Species of Endogonaceae and their distribution. Transactions of the British mycological Society, 69, 275 - 280.
- ROCHE P., GRIERE L., BABRE D., CALBA H., FALLAVIER P., 1980 - Le phosphore dans les sols intertropicaux : appréciation des niveaux de carence et des besoins en phosphore. IMPHOS, France, vol. 2, 48 p.
- SAINT-MACARY H., BEUNARD P., PICHOT J., 1981 - Nodulation et fixation d'azote de cinq variétés de soja sur brouillard. L'Agronomie Tropicale, France, 1, 42 - 53.
- SAMSON C., MONTANGE D., BEUNARD P., 1984 - Influence du pH du milieu nutritif sur la fixation de l'azote par l'association Glycine max - Rhizobium japonicum. L'Agronomie Tropicale, France, vol. 39, 2, 149 - 152.
- SCANNERINI S., BONFANTE-FASOLO P., 1982 - Données sur la cytologie des mycorrhizes. Les mycorrhizes, partie intégrante de la plante : biologie et perspectives d'utilisation, Colloques de l'I.N.R.A., France, 13, 25 - 34.
- SCHMIDT E. L., 1978 - Ecology of the Legume root nodule bacteria. in : Interaction between non-pathogenic soil microorganisms and plants, Y. R. DOMMERGUES and S. V. KRUPA (editors), Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, 269 - 303.
- SOMASEGARAN P., HOBEN H. J., 1985 - Methods in Legume-Rhizobium Technology, NIFTAL, 367 p.

STRULLU D. G., 1985 - Les mycorrhizes.

Encyclopedia of plant anatomy, Gebrüder Borntraeger,  
Berlin, Stuttgart, 198 p.

TRAPPE J. M., SCHENCK N. C., 1983 - Taxonomy of the fungi forming endomycorrhizae. Vesicular - arbuscular mycorrhizal fungi (Endogonales). In : Methods and principles of mycorrhizal research, N. C. SCHENCK (editor), The American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota, 1 - 9.

TROUVELOT A., GIANINAZZI - PEARSON V., GIANINAZZI S., 1982 - Les endomycorrhises en agriculture : Recherches sur le blé. Les mycorrhizes, partie intégrante de la plante : biologie et perspectives d'utilisation, Colloques de l'I.N.R.A., France, 251 - 254.

WEY J., 1983 - Production de Rhizobium : mise au point d'une méthode simplifiée. L'Agronomie Tropicale, France, 4, 315 - 320.

WEY J., 1983 - Inoculation du soja par le Rhizobium japonicum au Sénégal. L'Agronomie Tropicale, France, 4, 308 - 314.

WHYTE R. O., NILSSON - LEISSNER G., TRUMBLE H. C., 1955 - Les Légumineuses en agriculture. Etudes Agricoles de la FAO, 21.

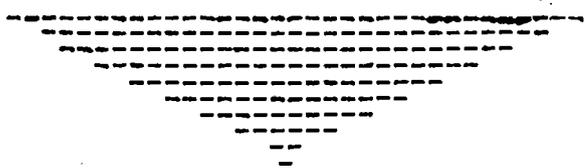
## G L O S S A I R E

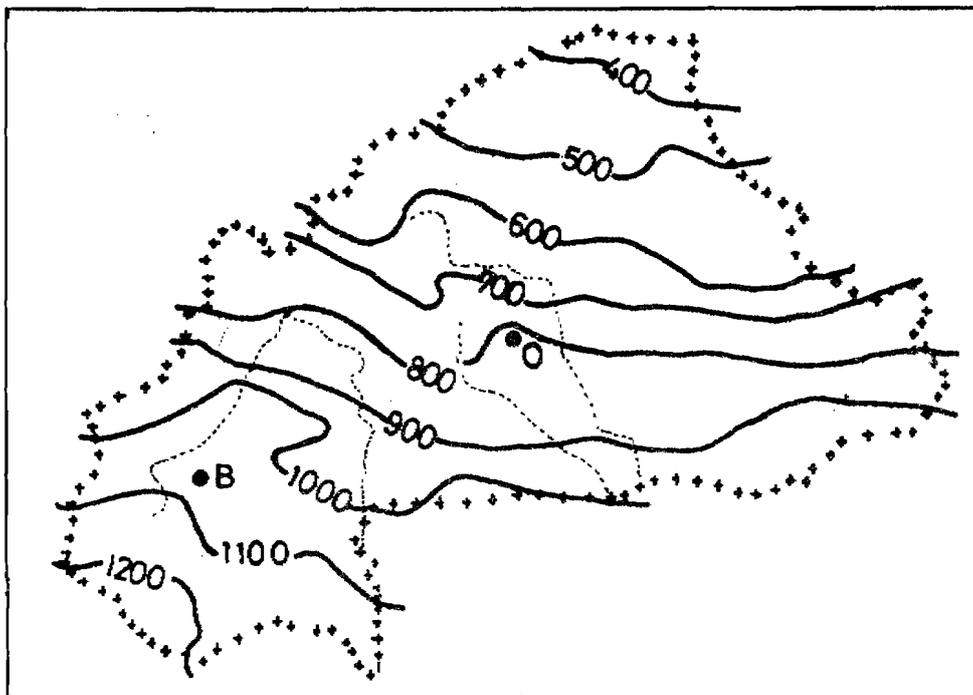
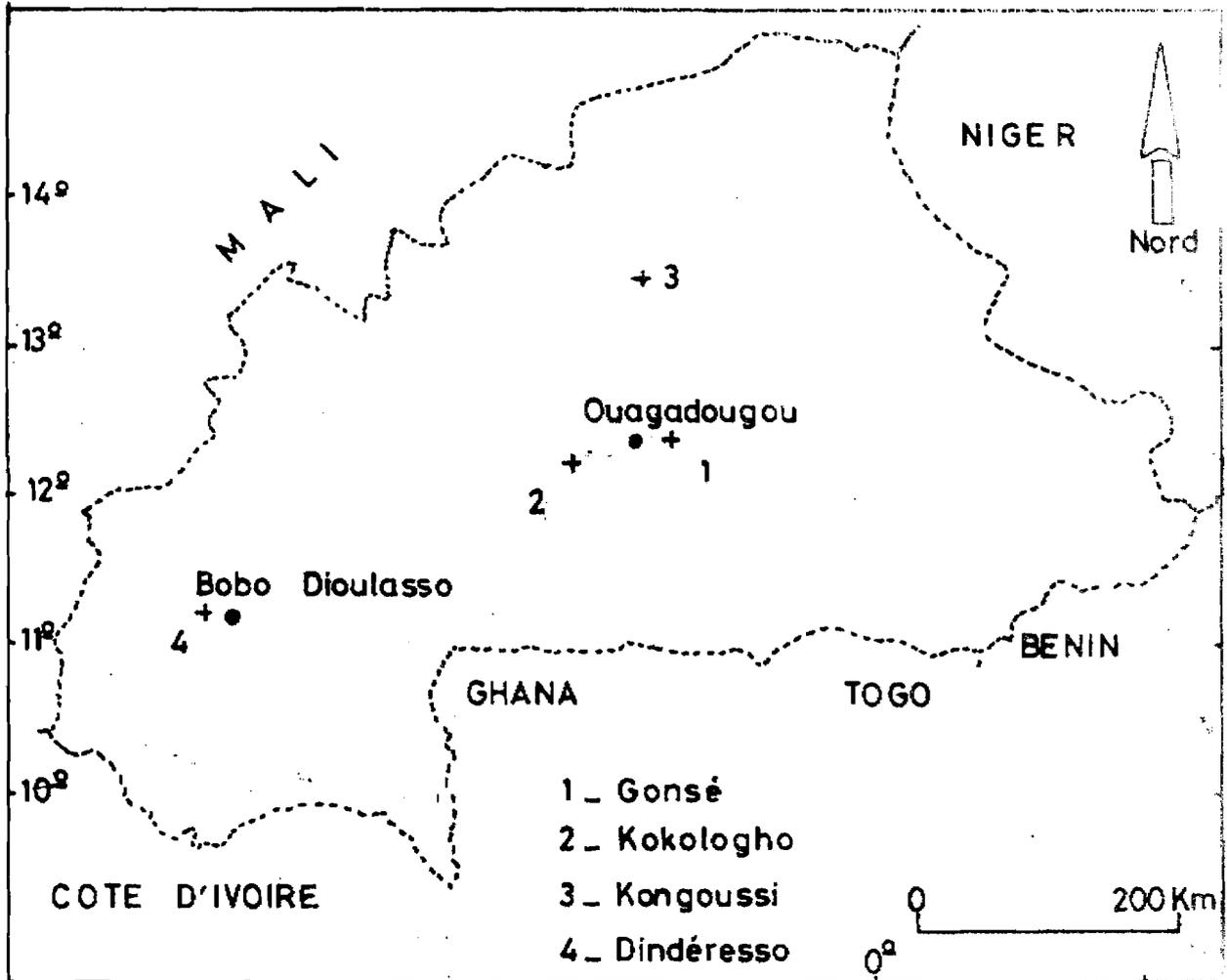
- Appressorium** : Partie aplatie d'une hyphe de champignon qui pénètre par compression des membranes cellulaires dans la racine d'une plante-hôte.
- Effectivité** : Aptitude d'une souche symbiotique (Rhizobium ou champignon endomycorhizien) à stimuler la croissance d'une plante.
- Hyphe** : Partie tubulaire pourvue ou non de cloisons transversales dont l'ensemble constitue l'appareil végétatif des champignons.
- Infectivité** : Ce terme peut s'appliquer à une souche de Rhizobium ou à un champignon endomycorhizien.  
- Cas du Rhizobium :  
Aptitude d'une souche de Rhizobium à induire la formation de nodules chez une Légumineuse.  
- Cas d'un champignon endomycorhizien :  
Aptitude à coloniser les cellules corticales d'une plante.
- Mycélium** : Ensemble des hyphes ramifiées qui constituent le thalle du champignon.
- Mycorhizogène (champignon)** : Champignon susceptible de s'associer à une racine pour constituer une mycorhize.

## A B R E V I A T I O N S

MVA : Mycorhize à vésicules et arbuscules.

**F-2** N N E X E S





- CARTE PLUVIOMETRIQUE DU BURKINA FASO (période 1963 - 79 )

( FONTES d'après GUINKO, 1984 )

400 ~ isohyètes (en mm )

(-) N N E X E - II

**Tableau 1** : Principales caractéristiques physiques et chimiques des sols prélevés dans les peuplements anciens d'Acacia albida de Kokologho et de Kongoussi (Analyses effectuées par le BUNASOLS)

STATION	SOLS	Argile (%)	Limon (%)	Sable (%)	P assimilable (ppm)	P total (ppm)	N total (ppm)	pH (KCL)	pH (H <sub>2</sub> O)
Kokologho	KO <sub>1</sub>	23,84	30,12	46,04	19,7	1881	4200	6,5	7,7
	KO <sub>2</sub>	19,92	28,15	51,93	21,04	1596	3700	6,5	7,4
	KO <sub>3</sub>	21,88	24,23	53,89	21,13	1539	3700	6,8	7,7
	KO <sub>4</sub>	19,02	18,35	61,73	27,09	969	1780	5,5	6,5
	KO <sub>5</sub>	19,92	22,87	57,81	29,0	1653	1000	5,7	6,8
Kongoussi	KG <sub>1</sub>	29,72	41,88	28,40	20,7	336,3	1130	4,7	5,5
	KG <sub>2</sub>	19,92	28,15	51,93	36,3	267,9	180	5,8	6,2
	KG <sub>3</sub>	39,52	20,32	40,16	17,6	324,9	290	5,9	6,5
	KG <sub>4</sub>	21,88	20,31	57,81	33,3	267,9	1020	4,1	4,9
	KG <sub>5</sub>	19,92	22,27	57,81	12,7	223,3	790	5,2	6,2

Tableau 2 : Principales caractéristiques physiques et chimiques des sols prélevés dans les plantations d'Acacia albida de Gonsé et de Dindéresso (Analyses effectuées par le BUNASOLS)

STATION	SOLS	Argile (%)	Limon (%)	Sable (%)	P assimilable (ppm)	P total (ppm)	N total (ppm)	pH (KCL)	pH (H <sub>2</sub> O)
Gonsé	GO <sub>1</sub>	33,64	39,92	26,44	6,5	171	920	4,5	5,2
	GO <sub>2</sub>	31,68	36	32,32	7,8	171	790	4,6	5,5
	GO <sub>3</sub>	35,60	37,96	26,44	6,8	188,1	1040	4,5	5,7
	GO <sub>4</sub>	33,65	37,95	28,40	5,8	182,4	1050	4,6	5,8
	GO <sub>5</sub>	29,73	43,84	26,43	13,4	228	860	5,7	6,3
Dindéresso	Di <sub>1</sub>	21,88	49,72	28,40	12,6	131,1	870	4,3	5,4
	Di <sub>2</sub>	21,88	51,68	26,44	13,40	159,6	580	4,9	6,1
	Di <sub>3</sub>	31,68	39,92	28,40	7,5	159,6	580	4,2	4,5
	Di <sub>4</sub>	25,80	43,84	30,36	9,0	153,9	450	4,8	6,2
	Di <sub>5</sub>	21,88	51,68	26,44	11,5	153,9	530	4,4	5,5

**Tableau 3 : Principales caractéristiques physiques et chimiques des sols prélevés à la pépinière du CTFT.**

(Analyses effectuées par le BUNASOLS)

S O L S	Argile (%)	Limón (%)	Sable (%)	P assi- milable (ppm)	P total (ppm)	N total (ppm)	pH (KCL)	pH (H <sub>2</sub> O)
A : Sable de pépinière	17,96	61,49	20,55	42,6	193,8	1360	-	-
Sol humifère de pépinière	23,84	39,92	36,24	22,4	359,1	470	5,5	6,2
B : Sable de pépinière	12,63	7,57	79,80	1,31	170	600	6,4	7,3
Sol humifère de pépinière	22,43	28,16	49,41	8,94	1658	3400	5,6	6,5

A : Premiers échantillons (voir expérience page 32)

B : Seconds échantillons (voir expérience page 41 et suivantes).

(-) N N E X E - III

Test de comparaison des moyennes des Mesurations :

hauteur et poids sec des parties aériennes des  
plants d'Acacia albida inoculés avec Rhizobium

-----

1 - Objectif

Il s'agit de :

- comparer entre-elles les moyennes des paramètres observés sur les plants d'Acacia albida et
- déterminer les souches efficaces pour ces plantes.

2 - Méthode et résultats :

Nous avons utilisé la méthode de comparaison globale par l'analyse de variance puis le test de TUKEY-HARTLEY comme suit :

21 - Tableaux de données

211-La hauteur des plants (tableau 4)

Calcul de terme de centrage : C

$$C = \frac{T^2}{N} = \frac{(3749)^2}{133} = 105\ 676,69$$

Détermination des sommes des carrés des écarts :

$$SCE\ total = \sum x^2 - C = 111\ 384,5 - 105\ 676,69 = 5\ 707,81$$

$$SCE\ traitement = \sum Ti^2/n_i - C = \frac{754\ 159,5}{7} - 105\ 676,69 = 2060,38$$

$$SCE\ résiduelle = SCE\ totale - SCE\ traitement = 5707,81 - 2060,38 = 3\ 647,43$$

212-Le poids sec des parties aériennes (tableau 5)

Détermination du terme de centrage C :

$$C = \frac{(82,427)^2}{133} = 51,08$$

Tableau 4 : hauteur des plants

Trai- tement	Hauteur ( $x_i$ )							$T_i$	$\bar{x}_i$	$T_i^2$	$\sum x_i^2$
	1	2	3	4	5	6	7				
Di <sub>4</sub>	29	32	33	24	25	19	25	187	26,71	34989	5141
PeA	22	33	26	30	26	16	19	172	24,57	29584	4442
KG <sub>5</sub>	34	27	24	30	27	20	19	181	25,85	32761	4851
KO <sub>1</sub>	39	33	31	25	27	22	18	195	27,85	38025	5733
Di <sub>3</sub>	31	25	25	17	24	21	16	159	22,71	25281	3773
Di <sub>2</sub>	34	32	23	29	28	24	24	194	27,71	37636	5486
KO <sub>5</sub>	21	19	33	24	15	17	13	142	20,28	20164	3150
KO <sub>4</sub>	34	33	41	35	33	33	22	231	33	53361	7813
KO <sub>3</sub>	30	30	22	23	24	19	23	171	24,42	29241	4279
GO <sub>1</sub>	33	31	34	29	29	37	34	227	32,42	51529	7413
GO <sub>5</sub>	37	30	34	30	29	27	18	205	29,28	42025	6219
GO <sub>2</sub>	39	44	42	32	28	25	23	233	33,28	54289	8183
GO <sub>4</sub>	34	40	40	40	21	28	30	233	33,28	54289	8081
KG <sub>2</sub>	28	22	30	31	25	32	29	197	28,14	38809	5619
GO <sub>3</sub>	40,5	33	36	36	23	25	29	222,5	31,78	49506,25	7316,25
Pj12	36	37	34	36	31	33	28	235	33,57	55225	7951
CB756	36	36	29	26	20	25	33	205	29,28	42025	6223
SR <sub>3</sub>	33	38	32	28	25	25	19	200	28,57	40000	5952
Témoin	24,5	25	24	16	30	21	19	159,5	22,79	25440,25	3759,25
								T =	$\sum T_i^2 =$		$\sum x_i^2 =$
								3749	754159,5		111384,5

Tableau 5 : Poids sec des parties aériennes des plants

Traite- ment	POIDS SEC DES PLANTS ( $x_i$ )							$T_i$	$\bar{x}_i$	$T_i^2$	$\sum x_i^2$
	1	2	3	4	5	6	7				
Di <sub>4</sub>	0,607	0,864	0,700	0,668	0,322	0,392	0,394	3,947	0,563	15,578	2,463
PeA	0,612	0,597	0,564	0,418	0,393	0,446	0,450	3,480	0,497	12,110	1,779
KG <sub>5</sub>	0,763	0,600	0,409	0,685	0,536	0,516	0,463	3,972	0,567	15,776	2,346
KO <sub>1</sub>	0,744	0,541	0,613	0,653	0,704	0,345	0,603	4,203	0,600	17,665	2,626
Di <sub>3</sub>	0,674	0,639	0,621	0,625	0,355	0,410	0,286	3,610	0,515	13,032	2,014
Di <sub>2</sub>	0,647	0,686	0,432	0,886	0,530	0,446	0,359	3,986	0,569	15,888	2,469
KO <sub>5</sub>	0,453	0,301	0,417	0,400	0,327	0,199	0,157	2,254	0,322	5,080	0,800
KO <sub>4</sub>	0,681	0,601	1,000	0,698	0,635	0,680	0,597	4,892	0,698	23,931	3,534
KO <sub>3</sub>	0,639	0,506	0,478	0,447	0,446	0,513	0,263	3,292	0,470	10,837	1,623
GO <sub>1</sub>	0,895	0,854	0,840	0,542	0,753	0,707	0,720	5,311	0,758	28,206	4,114
GO <sub>5</sub>	0,804	0,757	0,639	0,464	0,445	0,646	0,730	4,485	0,640	20,115	2,991
GO <sub>2</sub>	1,166	1,064	0,844	0,752	0,743	0,940	0,521	6,030	0,861	36,360	5,476
GO <sub>4</sub>	0,855	0,923	0,993	1,032	0,792	0,710	0,631	5,936	0,848	35,236	5,163
KG <sub>2</sub>	0,762	0,829	0,767	0,683	0,504	0,691	0,499	4,735	0,676	22,420	3,303
GO <sub>3</sub>	0,868	0,752	0,674	0,745	0,542	0,528	0,777	4,886	0,698	23,872	3,504
Pj12	0,767	0,948	0,718	0,709	0,707	0,810	0,632	5,291	0,755	27,994	4,060
CB756	0,821	0,797	0,829	0,586	0,336	0,512	0,682	4,563	0,651	20,820	3,180
SR <sub>3</sub>	0,569	0,867	0,802	0,711	0,586	0,473	0,391	4,399	0,628	19,351	2,944
Témoïn	0,361	0,495	0,490	0,446	0,503	0,410	0,450	3,155	0,450	9,954	1,437
								$T =$		$\sum T_i^2 =$	$\sum x_i^2 =$
								82,427		374,225	55,826

Ceci permet de calculer, comme précédemment :

$$\text{SCE totale} = 55,826 - 51,08 = 4,746$$

$$\text{SCE traitements} = 53,46 - 51,08 = 2,38$$

$$\text{SCE résiduelle} = 4,746 - 2,38 = 2,36$$

22 - Tableau d'analyse de variance

	Variation	SCE	ddl	Carré moyen
Hauteur des plants	Totale	5 707,81	132	
	Entre traitements	2 060,38	18	114,46
	Résiduelle	3 647,43	114	31,99
Poids sec des parties aériennes	Totale	4,746	132	
	Entre traitements	2,38	18	0,13
	Résiduelle	2,36	114	0,02

Application du test F :

Il consiste à comparer à la valeur théorique  $F_{0,95 (18,114)}$  les valeurs de F observées, calculées de la manière suivante :

$$F = \frac{\text{carré moyen traitements}}{\text{carré moyen résiduel}}$$

ce qui correspond à :

$$F = \frac{114,46}{31,99} = 3,58 \text{ dans le cas de la hauteur}$$

$$F = \frac{0,13}{0,02} = 6,51 \text{ dans le cas du poids sec des parties aériennes}$$

La valeur  $F_{0,95 (18,114)} = 1,71$ . Cette valeur est inférieure aux deux précédentes, ce qui nous permet de conclure qu'il existe des différences significatives entre les traitements. Nous pouvons donc poursuivre l'analyse.

.../...

### 23 - Test de TUKEY-HARTLEY

#### 231-Vérification des hypothèses préalables :

- . Normalité : nous la supposons vérifiée
- . Homogénéité des variances : il s'agit de montrer qu'il n'existe pas de différence globale significative entre les variances des traitements, par l'application du test d'homogénéité des variances de HARTLEY.

Le calcul des variances des traitements selon la formule

$$S_i^2 = \frac{1}{n_i - 1} \left( \sum x_i^2 - \frac{T_i^2}{n_i} \right)$$

conduit aux résultats suivants :

	Variance max.	Variance min.	H = $\frac{\text{Variance max}}{\text{Variance min}}$
Hauteur	71,23	8,61	8,27
Poids sec des parties aériennes	0,047	0,0024	19,54

En considérant :

P = nombre de traitements = 19

K = nombre de répétitions (-) un = 6,

le test revient à comparer, pour le couple (p = 19, K = 6), la valeur ci-dessus calculée à la valeur critique  $H_{0,95}$ .

$$H_{0,95} = 28$$

nous avons :

H inférieur à  $H_{0,95}$  (pour tous les deux paramètres étudiés, on peut alors admettre l'homogénéité entre les variances.

### 232 - Test de comparaison de TUKEY-HARTLEY

- . Détermination des termes de comparaison

Pour chaque paramètre étudié :  $S_x = \frac{\text{Ecart - type résiduel}}{n_i}$

d'où les résultats suivants :

$$\text{Poids sec des parties aériennes : } S \frac{\bar{x}}{x} = \frac{0,02}{7} = 0,053$$

$$\text{Hauteur des plants : } S \frac{\bar{x}}{x} = \frac{31,99}{7} = 2,13$$

A chaque valeur critique  $Q_{0,95}(k, 114)$  correspond un terme de comparaison, obtenu par le produit  $Q_{0,95} \times S \frac{\bar{x}}{x}$  (cf. tableau 6).

Les termes ci-dessus calculés permettent de construire les tableaux des différences (tableaux 7 et 8). Dans ces derniers, les nombres encadrés sont supérieurs aux termes de comparaison correspondants.

.../...

TERMES DE COMPARAISON				
Diagonale N°	k	$Q_{0,95}(k,114)$	Hauteur	Poids sec parties aériennes
1	19	5,10	10,86	0,270
2	18	5,05	10,75	0,267
3	17	5,01	10,67	0,265
4	16	4,96	10,56	0,262
5	15	4,91	10,45	0,260
6	14	4,85	10,33	0,257
7	13	4,79	10,20	0,253
8	12	4,72	10,05	0,250
9	11	4,65	9,90	0,246
10	10	4,57	9,73	0,242
11	9	4,48	9,54	0,237
12	8	4,37	9,30	0,231
13	7	4,25	9,05	0,225
14	6	4,11	8,75	0,217
15	5	3,93	8,37	0,208
16	4	3,69	7,85	0,195
17	3	3,37	7,17	0,178
18	2	2,81	5,98	0,147

Tableau 6 : Termes de comparaison



	002	004	001	010	003	002	007	005	003	001	002	005	004	003	001	002	005	004	003	001	002	005		
001																								
002																								
003																								
004																								
005																								
006																								
007																								
008																								
009																								
010																								
011																								
012																								
013																								
014																								
015																								
016																								
017																								
018																								
019																								
020																								
021																								
022																								
023																								
024																								
025																								
026																								
027																								
028																								
029																								
030																								
031																								
032																								
033																								
034																								
035																								
036																								
037																								
038																								
039																								
040																								
041																								
042																								
043																								
044																								
045																								
046																								
047																								
048																								
049																								
050																								
051																								
052																								
053																								
054																								
055																								
056																								
057																								
058																								
059																								
060																								
061																								
062																								
063																								
064																								
065																								

Tableau des différences (8):

- Poids sec des parties aériennes des plants

001 004 001 010 003 002 007 005 003 001 002 005 004 003 001 002 005 004 003 001 002 005 004 003 001 002 005

(-) N N E X E - IV

Effets des souches fongiques sur la croissance des plants  
d'Acacia albidia ; Analyse des données par le test de TUKEY-HARTLEY

1°/ La croissance en hauteur

11- Tableau 9 : Données de hauteur

! Traitement !	! Hauteur (x <sub>i</sub> ) !							! T <sub>i</sub> !	! $\bar{x}_i$ !	! T <sub>i</sub> <sup>2</sup> !	! $\sum x_i^2$ !
	! 1 !	! 2 !	! 3 !	! 4 !	! 5 !	! 6 !	! 7 !				
! GO <sub>J</sub> !	! 14,5 !	! 12 !	! 12 !	! 15 !	! 8,5 !	! 9 !	! 10,5 !	! 81,5 !	! 11,6 !	! 6642,2 !	! 986,7 !
! Glomus !	! 14 !	! 12,5 !	! 13 !	! 12,5 !	! 10 !	! 18,5 !	! 9 !	! 189,5 !	! 12,8 !	! 8010,2 !	! 1200,7 !
! GO <sub>b</sub> !	! 14,5 !	! 13,5 !	! 10,5 !	! 13 !	! 9,5 !	! 8,5 !	! 7,5 !	! 77 !	! 11 !	! 5929 !	! 890,5 !
! KG <sub>b</sub> !	! 9,5 !	! 10,5 !	! 8 !	! 11,5 !	! 12 !	! 8,5 !	! 7,5 !	! 67,5 !	! 9,6 !	! 4556,2 !	! 669,2 !
! KG <sub>n</sub> !	! 9 !	! 11 !	! 5,5 !	! 8 !	! 8,5 !	! 10 !	! 13,5 !	! 59 !	! 8,4 !	! 3481 !	! 513,5 !
! GO <sub>n</sub> !	! 9,5 !	! 17 !	! 13 !	! 10,5 !	! 8,5 !	! 8 !	! 9 !	! 75,5 !	! 10,8 !	! 5700,2 !	! 875,8 !
! Témoin !	! 6 !	! 12 !	! 14,5 !	! 12,5 !	! 11 !	! 10 !	! 12 !	! 78 !	! 11,1 !	! 6084 !	! 911,5 !
								! 528 = !	! 40402,8 !	! 6047,9 !	
								! T !	! = $\sum T_i^2$ !	! = $\sum x^2$ !	

Nous avons :  $T^2/N = \frac{(528)^2}{49} = 5689,5$

$\sum T_i^2/n_i = \frac{40402,8}{7} = 5771,8$

On peut calculer les sommes des carrés des écarts comme suit :

SCE totale =  $\sum x^2 - T^2/N = 6047,9 - 5689,5 = 358,4$

SCE traitements =  $\sum T_i^2/7 - T^2/N = 5771,8 - 5689,5 = 82,3$

SCE résiduelle =  $358,4 - 82,3 = 276,1$

.../...

Ces résultats permettent de dresser le tableau d'analyse de variance :

Variation	SCE	ddl	Carré moyen (CM)
totale	358,4	48	
entre traitements	82,3	6	13,7
résiduelle	276,1	42	6,6

12- Application du test F :

$$F_{obs} = \frac{CM \text{ traitement}}{CM \text{ résiduel}} = \frac{13,7}{6,6} = 2,08$$

$$F_{0,95} (6,42) = 2,32$$

On constate que :  $F_{obs}$  est inférieur  $F_{0,95} (6,42)$ , ce qui signifie qu'il n'ya pas de différence significative entre les traitements étudiés.

2°/ Le poids sec des parties aériennes des plants :

21- Tableau 10 : données de poids sec de parties aériennes

Trai- tement	Poids ( $x_i$ )							$T_i$	$\bar{x}_i$	$T_i^2$	$\sum x_i^2$
	1	2	3	4	5	6	7				
GO <sub>J</sub>	0,156	0,179	0,145	0,175	0,339	0,210	0,196	1,40	0,20	1,96	0,305
Glomus	0,128	0,264	0,237	0,116	0,179	0,222	0,216	1,36	0,19	1,85	0,280
Go b	0,111	0,158	0,108	0,196	0,254	0,304	0,208	1,34	0,19	1,79	0,290
KG b	0,169	0,160	0,175	0,271	0,157	0,157	0,162	1,25	0,18	1,56	0,230
KGn	0,210	0,112	0,185	0,156	0,123	0,150	0,143	1,08	0,15	1,16	0,170
GOn	0,214	0,196	0,168	0,131	0,236	0,341	0,163	1,45	0,21	2,10	0,330
Témoin	0,179	0,241	0,165	0,144	0,185	0,200	0,126	1,24	0,18	1,54	0,230
								19,12		111,96	1,835
								= $\sum T_i$		= $\sum T_i^2$	= $\sum x_i^2$

$$T^2/N = \frac{(9,12)^2}{49} = 1,70$$

$$\sum T_i^2/n_i = \frac{11,96}{7} = 1,71$$

$$\text{SCE totale} = \sum x^2 - T^2/N = 1,835 - 1,70 = 0,13$$

$$\text{SCE traitements} = \sum T_i^2/n_i - T^2/N = 1,71 - 1,70 = 0,01$$

$$\text{SCE résiduelle} = 0,13 - 0,01 = 0,12$$

Tableau d'analyse de variance

Variation	SCE	ddl	Carré moyen
totale	0,13	48	
entre traitements	0,01	6	0,002
résiduelle	0,12	42	0,003

22- Test F :

$$F_{\text{obs}} = \frac{0,003}{0,002} = 0,67$$

$$F_{0,95}(6,42) = 3,74$$

Nous constatons que  $F_{\text{obs}}$  est inférieur à  $F_{0,95}(6,42)$  ; ceci permet de noter qu'il n'existe pas de différence significative entre les traitements.

.../...

30/ Poids sec des parties racinaires des plants :

31- Tableau 11 : données de poids sec de parties aériennes

! Traitement !	! Poids ( $x_i$ ) !							! $T_i$ !	! $\bar{x}_i$ !	! $T_i^2$ !	! $\sum x_i^2$ !
	! 1 !	! 2 !	! 3 !	! 4 !	! 5 !	! 6 !	! 7 !				
! GO <sub>J</sub> !	! 0,525 !	! 0,721 !	! 0,555 !	! 0,580 !	! 0,628 !	! 0,673 !	! 0,665 !	! 4,35 !	! 0,61 !	! 18,90 !	! 2,73 !
! Glomus !	! 0,495 !	! 0,648 !	! 0,447 !	! 0,511 !	! 0,807 !	! 0,498 !	! 0,571 !	! 3,98 !	! 0,57 !	! 15,22 !	! 2,35 !
! GO b !	! 0,301 !	! 0,555 !	! 0,618 !	! 0,511 !	! 0,969 !	! 0,624 !	! 0,532 !	! 4,11 !	! 0,59 !	! 16,89 !	! 2,65 !
! KG b !	! 0,383 !	! 0,593 !	! 0,614 !	! 0,172 !	! 0,438 !	! 0,486 !	! 0,117 !	! 2,80 !	! 0,40 !	! 7,86 !	! 1,35 !
! KGn !	! 0,558 !	! 0,176 !	! 0,562 !	! 0,280 !	! 0,311 !	! 0,089 !	! 0,142 !	! 2,12 !	! 0,30 !	! 4,48 !	! 0,86 !
! GOn !	! 0,542 !	! 0,715 !	! 0,373 !	! 0,233 !	! 0,418 !	! 0,733 !	! 0,283 !	! 3,30 !	! 0,47 !	! 10,87 !	! 1,79 !
! Témoin !	! 0,570 !	! 0,908 !	! 0,758 !	! 0,226 !	! 0,687 !	! 0,568 !	! 0,560 !	! 4,28 !	! 0,61 !	! 18,29 !	! 2,88 !
								! 24,94 !		! 93,13 !	! 14,61 !
								! = T !		! = $\sum T_i^2$ !	! = $\sum x_i^2$ !

Comme précédemment, on calcule :

$$T^2/N = \frac{(24,94)^2}{49} = 12,69$$

$$\sum T_i^2/n_i = \frac{93,12}{7} = 13,30$$

$$SCE \text{ totale} = 14,61 - 12,69 = 1,92$$

$$SCE \text{ traitements} = 13,30 - 12,69 = 0,61$$

$$SCE \text{ résiduelle} = 1,92 - 0,61 = 1,31$$

Tableau d'analyse de variance :

! Variation !	! SCE !	! ddl !	! Carré moyen !
! Totale !	! 1,92 !	! 48 !	
! entre traitements !	! 0,61 !	! 6 !	! 0,10 !
! résiduelle !	! 1,31 !	! 42 !	! 0,03 !

32 - Test F :

$$F_{obs.} = \frac{0,10}{0,03} = 3,33$$

$$F_{0,95}(6,42) = 2,32$$

Fobs. est supérieur à  $F_{0,95}(6,42)$  ; on peut donc admettre qu'il existe des différences entre les traitements. Nous pouvons alors poursuivre l'analyse.

33- Test d'homogénéité des variances de HARTLEY

En calculant la variance pour chaque traitement,  $s^2 = \frac{1}{n_i - 1} (\sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n_i})$  on déduit :

$$H = \frac{\text{variance max.}}{\text{variance min.}} = \frac{0,044}{0,005} = 8,8$$

Pour les données suivantes,

P = nombre de traitements = 7

K = nombre de répétitions - 1 = 6

On a la valeur tabulée  $H_{0,95} = 5,36$

H est supérieur à  $H_{0,95}$ , ce qui signifie qu'il existe des différences globales significatives entre les variances calculées sur les différents traitements. Cette hétérogénéité des variances ne permet pas de comparer les moyennes des différents traitements. Le test ne peut donc pas être poursuivi.

\*\*\*\*\*