

**BURKINA FASO  
UNITE-PROGRES-JUSTICE**

**MINISTERE DES ENSEIGNEMENTS SECONDAIRE,  
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

-----  
**UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBO-DIOULASSO**  
-----

**INSTITUT DU DEVELOPPEMENT RURAL**



Mem-A  
1216  
YAM

**MEMOIRE DE FIN DE CYCLE**

MENTION BIEN

En vue de l'obtention du

**DIPLOME D'INGENIEUR DU DEVELOPPEMENT RURAL**

**OPTION : AGRONOMIE**

**THEME :**

**DIVERSITE DES CHAMPIGNONS  
ENDOMYCORHIZIENS ET DES BACTERIES  
FIXATRICES D'AZOTES ASSOCIES AU NIEBE (*VIGNA  
UNGUICULATA* (L.) WALP.) DANS DIFFERENTES ZONES  
CLIMATIQUES DU BURKINA FASO**

Présenté par :

Wendkouni Mireille YAMEOGO

Directeur de mémoire : Pr. Irénée SOMDA

Maître de stage : Dr B.Kadidia SANON

**JUIN 2009**

N° :

## TABLE DES MATIERES

DEDICACE .....	iii
REMERCIEMENTS.....	iv
LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES.....	v
LISTE DES PHOTOGRAPHIES.....	vii
RESUME.....	viii
INTRODUCTION GENERALE.....	1

### PREMIERE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. LE NIEBE ( <i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.) ET SA CULTURE AU BURKINA FASO.....	5
1.1.1. Description, origine et taxonomie du niébé.....	5
1.1.2. Ecologie du niébé.....	6
1.1.3. Culture du niébé au Burkina Faso.....	7
1.2. LES SYMBIOSES CHEZ LE NIEBE.....	9
1.2.1. La symbiose fixatrice d'azote atmosphérique.....	9
1.2.1.1. Classification des bactéries symbiotiques fixatrices d'azote atmosphérique.....	9
1.2.1.2. Importance agronomique de la fixation symbiotique de l'azote par les bactéries.....	9
1.2.1.3. Facteurs influençant la symbiose fixatrice d'azote.....	10
1.2.2. La symbiose mycorhizienne.....	11
1.2.2.1. Classification des champignons MA.....	13
1.2.2.2. Importance des champignons MA.....	14
1.2.2.2.1. La nutrition minérale et hydrique.....	15
1.2.2.2.2. Tolérance de la plante à certaines infections des racines.....	15
1.2.2.3 Cycle et facteurs de développement des champignons MA.....	16
1.2.2.3.1. Cycle de développement des champignons MA.....	16
1.2.2.3.2. Facteurs de développement.....	16

### DEUXIEME PARTIE : PRESENTATION DES SITES D' ETUDE

2.1. CHOIX DES SITES.....	19
2.2. DESCRIPTION DES SITES.....	19

2.2.1. Pluviométrie et température.....	19
2.2.2 Caractéristiques des champs échantillonnés.....	21

### TROISIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES

3.1. MATERIEL.....	24
3.1.1. Les sols.....	24
3.1.2. Matériel végétal.....	24
3.1.3. Matériel bactérien.....	25
3.2. METHODES.....	26
3.2.1. Conditionnement et caractérisation des sols.....	26
3.2. 2. Extraction des spores.....	26
3.2.3. Dénombrement des spores.....	27
3.2.4. Identification des spores.....	28
3.2.5. Mesure de la fréquence et de l'intensité de mycorhization <i>in situ</i> .....	28
3.2.6. Isolement des rhizobiums associés au niébé dans les champs.....	29
3.2.7. Test d'infectivité des isolats de rhizobium.....	30
3.2.8. Analyse et traitement des données.....	31

### QUATRIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION

4.1 RESULTATS.....	33
4.1.1. Caractéristiques physico-chimiques des sols échantillonnés.....	33
4.1.2. Densité des spores dans les sols avant et après la culture du niébé...	35
4.1.3. Corrélation entre la densité des spores et la fertilité des sols.....	41
4.1.4. Abondance relative des types de spores.....	41
4.1.5. Diversité des champignons Glomeromycota.....	43
4.1.6. La mycorhization naturelle du niébé <i>in situ</i> .....	45
4.1.7. Isolement et sélection de souches de rhizobiums infectives sur le niébé.....	46
4.2. DISCUSSION.....	48
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	53
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	55
ANNEXES.....	I

# DEDICACE



A  
**La mémoire de mon père  
Désiré B. YAMEOGO**

## REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier particulièrement :

**Dr Jean Sibiri OUEDRAOGO**, Chef du Département Productions Forestières (DPF) CNRST/INERA à Ouagadougou, pour l'accueil au sein du Département pour notre stage de formation ;

**Dr B. Kadidia SANON**, notre maître de stage au DPF. Nous lui adressons nos remerciements pour avoir contribué à notre formation, et aussi pour les multiples corrections apportées au présent mémoire. Le thème sur les mycorhizes fut une découverte pour nous. Encore merci ;

**Pr Irénée SOMDA**, notre Directeur de mémoire. Nous vous disons merci pour votre écoute et pour les corrections que vous avez apportées à ce mémoire ;

tous ceux qui ont contribué à la rédaction de ce mémoire. Aussi bien par les discussions, leurs suggestions dont nous avons eu la chance de bénéficier, et les documents mis à notre disposition. Nous pensons ici aux **Drs DIANDA Mahamadi, GUISSOU Tiby, ASSIMI Salawu**, chercheurs au Département Productions Forestières à Ouagadougou, et **PENET Laurent**;

**M. KONE N'Gafien** et **M. BAZIE Marcel**, techniciens du laboratoire de microbiologie forestière du DPF. Nous les remercions pour leur appui technique pendant nos travaux sur le terrain et au laboratoire ;

tout le personnel et stagiaires du Département Productions Forestières pour le soutien ;

le personnel du laboratoire de l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD, Ouagadougou) pour le soutien lors de notre séjour pour les suivis de nos essais en serre ;

tout mes promotionnaires pour les encouragements ;

la famille **YAMEOGO**, pour le grand soutien.



*MERCI à TOUS*

## LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

<b>Tableaux</b>	<b>Pages</b>
<b>Tableau I.</b> Caractéristiques des différents champs étudiés. ....	21
<b>Tableau II.</b> Caractéristiques des 5 variétés de niébé cultivées sur les 7 sites.....	25
<b>Tableau III.</b> Caractéristiques physico–chimiques des sols des 11 champs. ....	34
<b>Tableau IV.</b> Couleur et diamètre moyen des spores .....	35
<b>Tableau V.</b> Densité des morphotypes de spores des 11 champs à T0 (Avant la culture) .....	35
<b>Tableau VI.</b> Densité des morphotypes de spores des 11 champs à TR (à la récolte) .....	37
<b>Tableau VII.</b> Coefficient de corrélation de Pearson entre la densité des spores et la fertilité des sols.....	41
<b>Tableau VIII.</b> Paramètres de croissance du niébé inoculé par les souches de rhizobium.....	46

<b>Figures</b>	<b>Pages</b>
<b>Figure 1.</b> Evolution de la production du niébé de 1998 à 2007 au Burkina Faso.....	8
<b>Figure 2.</b> Cycle de l'azote .....	10
<b>Figure 3.</b> Principaux types mycorhiziens sur une coupe transversale de racines.....	13
<b>Figure 4.</b> Classification des champignons MA.....	14
<b>Figure 5.</b> Les 3 zones climatiques du Burkina Faso et la présentation des sites d'études. (Direction de la Météorologie du Burkina Faso, 2008).....	19
<b>Figure 6.</b> Pluviométrie moyenne sur 30 ans (de 1979 à 2008) des sites d'études. (Direction de la Météorologie du Burkina Faso, 2008).....	20
<b>Figure 7.</b> Température moyenne mensuelle calculée sur une période de 30 ans.....	21

<b>Figure 8.</b> Densité des spores de couleur noire dans les différents champs avant et après la culture du niébé. ....	38
<b>Figure 9.</b> Densité des spores de couleur marron dans les différents champs pour les sols avant et après culture du niébé. ....	39
<b>Figure 10.</b> Densité des spores de couleur marron foncé dans les différents champs avant et après la culture du niébé.....	39
<b>Figure 11.</b> Densité totale des spores dans les différents champs.....	40
<b>Figure 12.</b> Abondance relative (%) des morphotypes de spores dans le sol avant la culture du niébé. ....	42
<b>Figure 13.</b> Abondance relative (%) des morphotypes de spores dans le sol après la culture du niébé. ....	42
<b>Figure 14.</b> Fréquence de mycorhization naturelle par champ sous culture du niébé.....	45
<b>Figure 15.</b> Intensité de mycorhization naturelle par champ sous culture du niébé....	45

## LISTE DES PHOTOGRAPHIES

Photos	Pages
<b>Photo 1.</b> Plante de niébé en floraison et fructification (a) et les graines des différentes variétés de niébé utilisées (b) .....	5
<b>Photo 2.</b> Tamisage humide du sol (a) et récupération de spores (b) .....	26
<b>Photo 3.</b> Racine de niébé infectée présentant des vésicules (observation au microscope au grossissement 10 x 40) .....	29
<b>Photo 4.</b> Inoculation bactérienne du niébé (a) et récolte de nodules (b).....	31
<b>Photo 5.</b> Spore marron de <i>Acaulospora</i> observée au microscope dans du Polyvinil – lacto-glycerol (PVLG) au grossissement 10 x 20.....	43
<b>Photo 6.</b> Spore blanc-jaune de <i>Gigaspora</i> (a) et spore noire <i>Gigaspora</i> (b) observée au microscope dans du PVLG au grossissement 10 x 20 .....	44
<b>Photo 7.</b> Spore marron foncé de <i>Glomus</i> observée au microscope dans du PVLG au grossissement 10 x 40.....	44

## RESUME

Notre étude a porté sur la diversité des champignons endomycorhiziens et des bactéries fixatrices d'azote associés au niébé au Burkina Faso. Onze (11) champs repartis en sept sites situés dans les trois zones climatiques du Burkina Faso (les zones soudanienne, soudano-sahélienne et sahélienne) ont été retenus et échantillonnés. Le dénombrement de spores de ces champs a permis d'identifier 5 morphotypes avant la culture du niébé et 7 morphotypes après culture. Les plus grandes densités de spores ont été observées dans les zones les plus arrosées ; les zones soudanienne et soudano-sahélienne. Parmi ces morphotypes rencontrés, 3 genres de champignons endomycorhiziens ont pu être identifiés. Il s'agit des genres *Acaulospora*, *Gigaspora* et *Glomus*. L'évaluation du potentiel de mycorhization naturelle sous culture du niébé donne une densité en spores allant de 188 à 3522 spores dans 100g de sol sec; et une fréquence de mycorhization variant de 66% à 100%. Il ressort alors que le niébé est une plante très mycorhizogène. En plus de la symbiose mycorhizienne, le niébé s'associe avec des bactéries fixatrices d'azote, les rhizobiums. Six à dix souches de rhizobiums ont été isolées par champ à partir de nodules récoltés *in situ* ; soit un total 83 souches capables d'infecter le niébé en conditions semi-contrôlées sous serre. Il serait intéressant d'exploiter cette double symbiose chez le niébé pour améliorer la productivité de la plante au champ.

**Mots clés :** Niébé, Endomycorhizes, Rhizobiums, Spores, Diversité.

## INTRODUCTION GENERALE

Le niébé [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] est l'une des principales légumineuses mondiales. Sa production annuelle mondiale varie entre 3,1 et 3,3 millions de tonnes de graines sèches (FAOSTAT, 2004) ; la superficie annuelle cultivée dans le monde s'élève à plus de 12,5 millions d'ha, dont 9,8 millions sont réalisés en Afrique de l'Ouest, qui est la plus grande zone de production et de consommation du niébé dans le monde (Singh *et al.*, 1997). Le Burkina Faso est classé quatrième pays africain producteur de niébé après le Nigeria, le Niger, et le Mali (Nkouannessi, 2005). La production du niébé est d'un grand intérêt économique et alimentaire. Grâce à sa précocité, ses feuilles et ses gousses vertes peuvent être consommées et/ou commercialisées avant les autres spéculations, surtout pour passer la période de soudure. Mais le niébé est surtout cultivé pour ses graines sèches et le fourrage. La teneur élevée de ses graines en protéines et accessoirement en vitamines et éléments minéraux lui confère un rôle important dans l'équilibre nutritionnel des populations rurales.

MENTION BIEN

Au Burkina Faso, cette culture est marquée par l'instabilité de ses rendements et sa faible production. Cette faiblesse des rendements est due à la pauvreté des sols (Bado, 2002) ; en particulier en azote et en phosphore assimilable, à la faiblesse de la pluviométrie et aux contraintes parasitaires.

L'apport d'engrais pourrait constituer une solution à cette faible production. Cependant, l'utilisation des engrais et des pesticides a atteint ses limites : pollution et perte de biodiversité dans les régions d'agriculture intensive, dégradation des systèmes agricoles les plus fragiles et coûts prohibitifs pour les producteurs les plus pauvres (Plenchette *et al.*, 2005). Aussi en Afrique où on rencontre la majorité des producteurs les plus pauvres, les engrais peuvent coûter six fois plus qu'en Europe ou en Amérique (Sanchez, 2002). Ainsi, l'agriculture conventionnelle doit s'orienter vers des systèmes de cultures plus durables à faibles intrants et les champignons mycorrhiziens apparaissent comme des organismes telluriques les plus importants à prendre en compte ainsi que certaines bactéries du sol. En effet, la plupart des plantes terrestres vivent en symbiose avec des champignons du sol qui sont susceptibles de conférer à leur hôte, une meilleure croissance grâce à l'amélioration de la nutrition minérale, en particulier la nutrition phosphatée, et par conséquent un

meilleur rendement (Egli et Brunner, 2002). Aussi, des espèces de la famille des Légumineuses s'associent au niveau des racines et/ou des tiges avec certaines bactéries fixatrices de l'azote atmosphérique. Cette symbiose fixatrice d'azote confère à la plante-hôte une amélioration de la nutrition azotée et une croissance sur des sols pauvres en azote (Nwaga et Ngo Nkot, 1998). Cependant si le potentiel des ces micro-organismes symbiotiques est reconnu, leur prise en compte dans les systèmes de culture reste à faire.

Il faut signaler que le fonctionnement de ces symbioses n'est pas toujours optimal et dépend des caractéristiques du sol, de l'espèce de bactérie ou du champignon mycorhizien, de la dépendance bactérienne ou mycorhizienne de la plante hôte et des conditions environnementales.

L'efficacité de la symbiose pourrait être améliorée par la pratique de l'inoculation qui consiste à apporter en masse les micro-organismes sélectionnés. Les rendements des cultures sont par conséquent améliorés sur des sols pauvres limitant de fait les apports d'intrants. Cependant, la technique d'inoculation est faiblement utilisée en Afrique de l'Ouest due en grande partie à une faible diffusion auprès des utilisateurs, liée à une connaissance insuffisante des champignons mycorhiziens associés aux principales espèces cultivées dans la région. C'est dans ce cadre que le projet « Mise au point d'inoculum de champignons mycorhiziens arbusculaires indigènes pour améliorer la productivité du niébé *Vigna unguiculata* en Afrique de l'Ouest » a été initié entre le Bénin, le Burkina Faso et le Sénégal pour pallier à la faiblesse de rendement de la culture du niébé et pour proposer une technologie moins coûteuse aux producteurs les plus démunis. L'objectif principal du projet est de participer à la sécurisation alimentaire, en accroissant la production du niébé à travers l'amélioration de sa nutrition minérale et hydrique par le biais de la valorisation de l'inoculation avec les champignons mycorhiziens arbusculaires (MA) de différentes zones agro écologiques de l'Afrique de l'Ouest.

Le niébé est une légumineuse qui a l'avantage de vivre en symbiose au niveau de ses racines avec des bactéries fixatrices d'azote et des champignons mycorhiziens (Gueye, 1983). La présente étude, qui initie le projet, a pour but de déterminer la diversité des champignons MA associés au niébé dans différentes zones climatiques du Burkina Faso et aussi d'isoler et de sélectionner des bactéries fixatrices d'azote associées.

Ce mémoire s'articule autour de 4 parties suivies de la conclusion et des perspectives.

La première partie est une revue bibliographique sur le niébé et ses différentes symbioses ; la deuxième partie porte sur la présentation des sites d'études ; la troisième partie sur le matériel et la méthodologie utilisés et en fin la quatrième partie sur les résultats et la discussion.

**PREMIERE PARTIE :**

**REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

## 1.1. LE NIEBE (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) ET SA CULTURE AU BURKINA FASO

### 1.1.1. Description, origine et taxonomie du niébé

Le niébé est une herbacée annuelle à port semi érigé, érigé ou rampant (Garnotel, 2006). Les racines sont de type pivotant et présentent des nodules renfermant des bactéries fixatrices d'azote. Les tiges sont cylindriques, légèrement striées, cannelées ou volubiles et généralement glabres. Chaque nœud de la tige porte deux stipules et trois bourgeons axillaires. Les feuilles sont généralement alternes, pétiolées et trifoliolées ; mais les deux premières feuilles cotylédonaires sont opposées, sessiles et entières (Photo 1a). L'inflorescence, portant deux à quatre fleurs est un racème axillaire porté par un pédoncule plus ou moins long. Le niébé est autogame avec 0,2 à 2% d'allogamie (fécondation croisée) (Ehlers et Hall, 1997). Le fruit est une gousse cylindrique qui contient des graines globuleuses de couleur variable (Photo 1a et 1b).

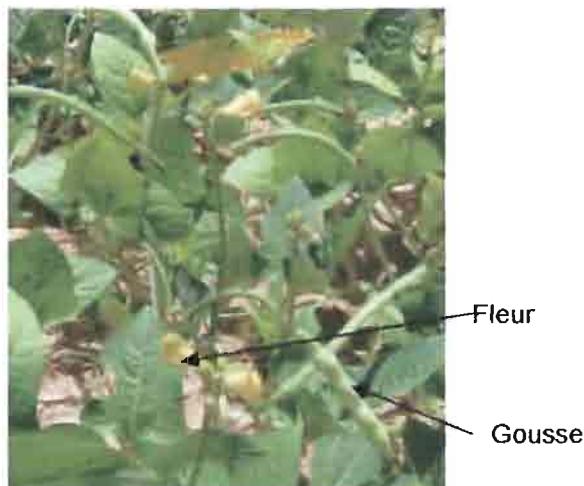


Photo : GARNOTEL, 2006

**a.** Vue partielle d'un champ de niébé



Photo : W.M. YAMEOGO

**b.** Variétés de niébé : K VX 396-4-5-2D, K VX 61-1, K VX 745-11P, Gorom local et Mélékh

**Photo 1.** Plante de niébé en floraison et fructification (a) et les graines des différentes variétés de niébé utilisées (b)

Le centre d'origine du niébé était attribué à l'Asie, notamment à l'Inde puis à l'Afrique et à l'Amérique du Sud (Summerfield *et al.*, 1974). D'après Pernes et Lourd

(1984), le niébé serait originaire d'Afrique de l'Ouest. L'Afrique du Sud serait son centre de diversité (Padulosi et Ng, 1997).

Le niébé qui est mentionné dès l'antiquité a été décrit par Linné à partir d'une forme cultivée provenant des Antilles sous le nom de *Dolichos unguiculata* qui deviendra *Vigna unguiculata* (Pasquet et Baudoin, 1997). Il occupe le rang taxonomique suivant :

Règne :	Végétal
Embranchement :	Phanerophytes
Sous embranchement :	Angiosperme
Classe :	Magnoliopsida
Sous classe :	Rosidae
Ordre :	Fabale
Super famille :	Leguminosaceae
Famille :	Fabaceae
Tribu :	Phaseoleae
Genre :	<i>Vigna</i>
Espèce :	<i>unguiculata</i>

### 1.1.2. Ecologie du niébé

Le niébé exprime une remarquable adaptation à la sécheresse et aux températures élevées (Faloula, 2006). Il est cultivé normalement en hautes et basses altitudes, en région équatoriale et subtropicale (Ehlers et Hall, 1997). Une température d'au moins 8 à 11°C est nécessaire à tous les stades de développement, mais la température optimale se situe autour de 28°C (Craufurd *et al.*, 1997).

Le niébé s'adapte à une large gamme de texture du sol, allant du sable à l'argile. Il tolère faiblement la salinité et préfère un sol à pH légèrement acide de 5 à 6,5 (Franco et Munns, 1982). La remarquable particularité du niébé par rapport à plusieurs cultures est qu'il est capable de croître et de produire sur des sols assez pauvres en nutriments. En effet, le niébé possède la double symbiose bactérienne et mycorhizienne (Ollivier *et al.*, 1982) qui améliore sa nutrition minérale et hydrique, lui permettant ainsi de s'adapter aux conditions difficiles.

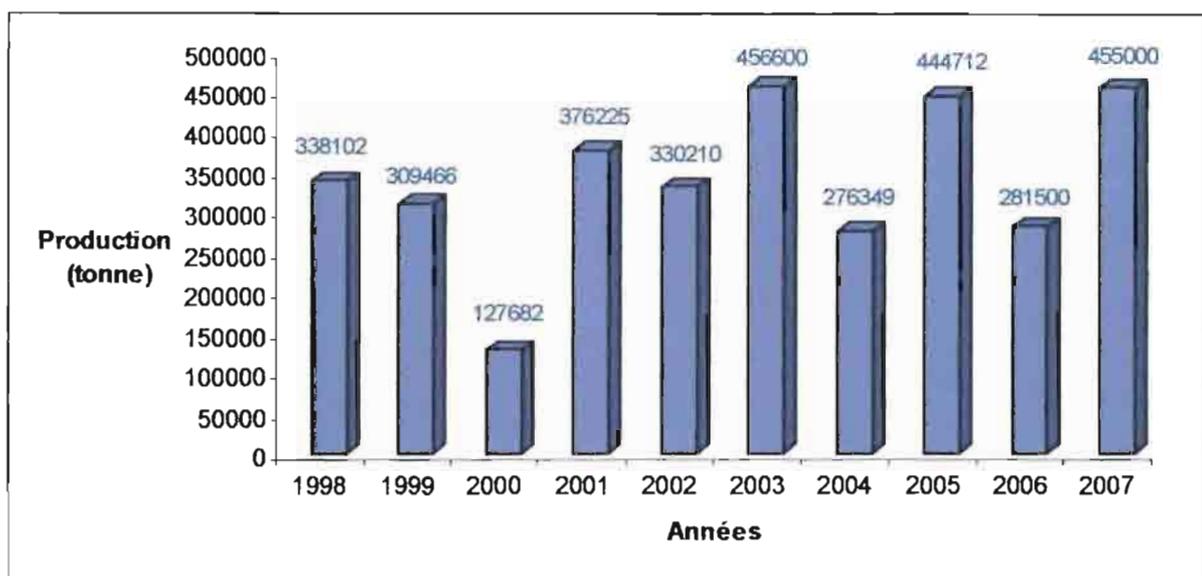
La majorité des variétés de niébé est en général sensible à la photopériode et tend à fleurir quand les jours sont courts. Le cycle de développement du niébé varie selon les variétés (Cissé *et al.*, 1996 cités par Ehlers et Hall, 1997). On distingue des variétés à cycle précoce, des variétés à cycle intermédiaire, et des variétés à cycle tardif. Cette distinction se fait selon la durée entre le semis et la floraison (50% de floraison). Elle est de 55 jours pour les variétés précoces, 65 à 80 jours pour les variétés intermédiaires, et de 100 à 120 jours pour les variétés tardives.

### **1.1.3. Culture du niébé au Burkina Faso**

Au Burkina Faso, le niébé est cultivé sur l'ensemble du territoire, soit en culture pure soit en association avec les céréales notamment le mil et le sorgho. Par sa capacité à fixer l'azote atmosphérique, le niébé est aussi utilisé dans les systèmes de rotation culturale avec les céréales.

La moyenne du rendement grain au cours des années 1998 à 2007 a été de 508,5 kg/ha (FAO, 2009). Cette valeur reste faible par rapport au rendement potentiel des différentes variétés qui est de 1000 à 1500 kg/ha (Ouédraogo *et al.*, 2003). La production au cours de cette même période reste très variable. La production la plus élevée (456 600 tonnes) a été enregistrée en 2003 et la production la plus basse (127 682 tonnes) en 2000 (Figure 1). Néanmoins, grâce aux nombreux avantages qu'offre le niébé (richesse en protéines, adaptation aux conditions climatiques sévères qui caractérisent plusieurs zones du pays, utilisation des feuilles pour l'alimentation des animaux, ...) le Ministère en charge de l'Agriculture l'a défini comme une filière prioritaire. Cependant, la plante est sujette à plusieurs maladies et insectes ravageurs (Ouédraogo *et al.*, 2003) et la filière niébé reste dans son ensemble inorganisée.

La recherche actuelle a pour attribution de mettre au point des variétés à haut rendement et résistantes aux maladies, insectes, sécheresse et striga, et acceptables par les utilisateurs ; et de rechercher les moyens pour augmenter les rendements au champ. Les méthodes de lutte naturelle, écologique ou chimique peu coûteuses et sans danger au champ et en conservation sont aussi étudiées (Drabo *et al.*, 2008).



**Figure 1.** Evolution de la production du niébé de 1998 à 2007 au Burkina Faso (FAO, 2009)

## 1.2. LES SYMBIOSES CHEZ LE NIEBE

### 1.2.1. La symbiose fixatrice d'azote atmosphérique

#### 1.2.1.1. Classification des bactéries symbiotiques fixatrices d'azote atmosphérique

Le niébé comme la plupart des légumineuses vit en symbiose avec les bactéries fixatrices d'azote atmosphérique. Les bactéries symbiotiques fixatrices d'azote chez les légumineuses, appartiennent aux genres *Rhizobium*, *Azorhizobium*, *Allorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium* et *Bradyrhizobium* (Anonyme 1, 2009). Cette symbiose résulte de la formation de nodules ou nodosités au niveau des racines ou des tiges (cas de certaines espèces du genre *Aeschynomene* et de *Sesbania rostrata*) à l'intérieur desquelles, les bactéries transformées en bactéroïdes fixent l'azote atmosphérique. Les nodules constituent ainsi le siège des échanges entre les deux partenaires, l'azote fixé est transféré à la plante-hôte et en retour les bactéries reçoivent les photosynthétats.

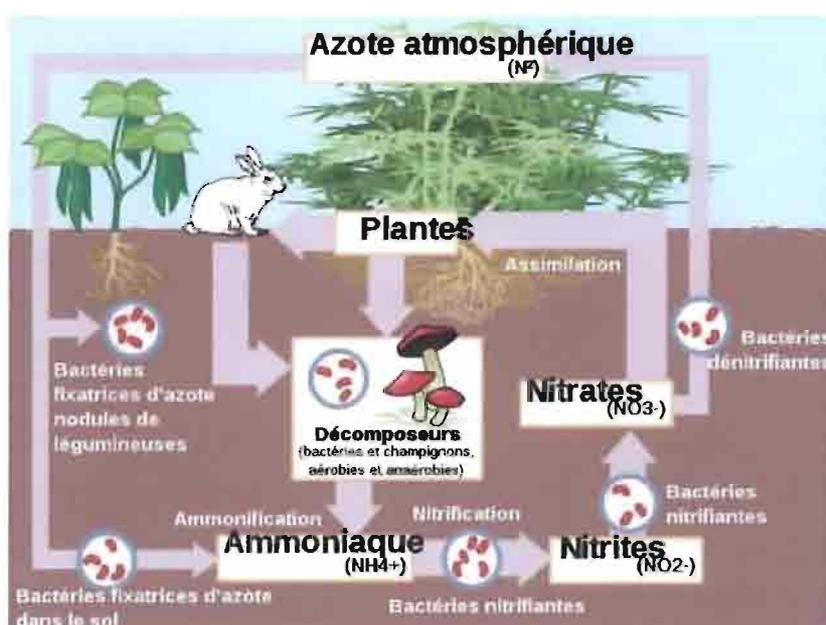
#### 1.2.1.2. Importance agronomique de la fixation symbiotique de l'azote par les bactéries

L'azote est l'un des éléments minéraux limitant la croissance des plantes car les seules formes assimilables sont présentes en faible quantité dans les sols. La majeure partie se trouve sous forme de diazote atmosphérique ( $N_2$ ), mais seules quelques espèces de procaryotes ont la possibilité de l'utiliser pour leur nutrition azotée (Peret, 2007).

Le cycle de l'azote (Figure 2) montre que l'azote fixé dans le sol grâce aux nodules des plantes et aux bactéries fixatrices libres est transformé par ammonification en ammoniacque ( $NH_4^+$ ), et ensuite par nitrification en nitrites ( $NO_2^-$ ), puis en nitrates ( $NO_3^-$ ), forme sous laquelle l'azote est utilisé par les plantes. Certains champignons et bactéries sont capables de décomposer la matière organique en donnant de l'ammoniacque qui par nitrification donne les nitrites et nitrates. L'azote

dans le sol (sous forme de nitrates) peut être perdu par l'action des bactéries dénitrifiantes et retourner dans l'atmosphère sous forme de  $N_2$ . La fixation symbiotique de l'azote atmosphérique permet ainsi d'enrichir le sol en azote.

Des mesures faites par la méthode de la dilution isotonique montrent que le niébé fixe 50 à 115 kg N/ha soit 52 à 56% de ses besoins en azote et augmente l'azote minéral du sol de 13 à 40% en sols ferrugineux tropicaux des zones guinéennes (Farakô-Bâ) et soudanienne (Kouaré) du Burkina Faso (Bado, 2002). Pour ce même auteur, le niébé utilisé comme précédent cultural permet de doubler les rendements en grain du sorgho par rapport à la monoculture de sorgho.



**Figure 2.** Cycle de l'azote

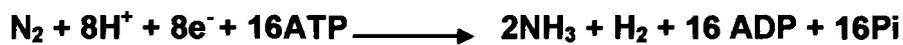
Wikipedia 02/2009

### 1.2.1.3. Facteurs influençant la symbiose fixatrice d'azote

La plus grande partie des légumineuses, 88% des espèces étudiées interagissent avec les rhizobiums pour former des nodules fixateurs d'azote (Faria *et al.*, 1989). L'interaction entre la plante et la bactérie débute dans la rhizosphère, et la croissance des bactéries se fait de manière sélective par la plante (Savka *et al.*, 2002).

Certains facteurs environnementaux, comme l'acidité du sol, la température, peuvent limiter la croissance et l'activité des bactéries (Obaton, 1992). Des

légumineuses de zones tropicales comme le niébé (*Vigna unguiculata*) et l'arachide (*Arachis hypogaea*) ont un optimum de croissance à un pH allant de 5 à 6,5. Cependant, il peut y avoir baisse de nodulation même pour les souches acidotolérante sur les sols riches en aluminium (Franco et Munns, 1982). Des études faites par Kimou et Zengbe (1994) cités par Nwaga et Ngo Nkot (1998), montrent que l'acidité et la pauvreté du sol en phosphore assimilable constituent un facteur limitant à l'activité des bactéries fixatrices d'azote. En effet la réaction de fixation de l'azote est très coûteuse en énergie sous forme d'ATP (Adenosine tri-phosphate) et en pouvoir réducteur. Le processus de la fixation consiste en la réduction de l'azote atmosphérique N<sub>2</sub> sous forme ammoniacale selon la réaction suivante :



Dans un système biologique fixateur d'azote les conditions optimales de la catalyse biologique correspondent à une température de 30 à 35°C.

### 1.2.2. La symbiose mycorhizienne

D'origine grecque, le mot « mycorhize » traduit l'association entre un champignon (myco) et les racines (rhize) d'une plante. Il s'agit d'une association dans laquelle les deux partenaires retirent des avantages réciproques. Le champignon améliore la nutrition minérale et hydrique de la plante grâce au réseau d'hyphes développé dans le sol, et reçoit en retour les produits issus de la photosynthèse nécessaires à son développement. Sans cette association, le champignon mycorhizien ne peut compléter son cycle vital.

Il existe deux grands types de symbiose mycorhizienne, les ectomycorhizes (mycorhizes externes) qui se rencontrent chez environ 5% des végétaux et les endomycorhizes (mycorhizes internes) qui sont les plus répandues, environ 80% des végétaux (Le Tacon, 1985) (Figure 3).

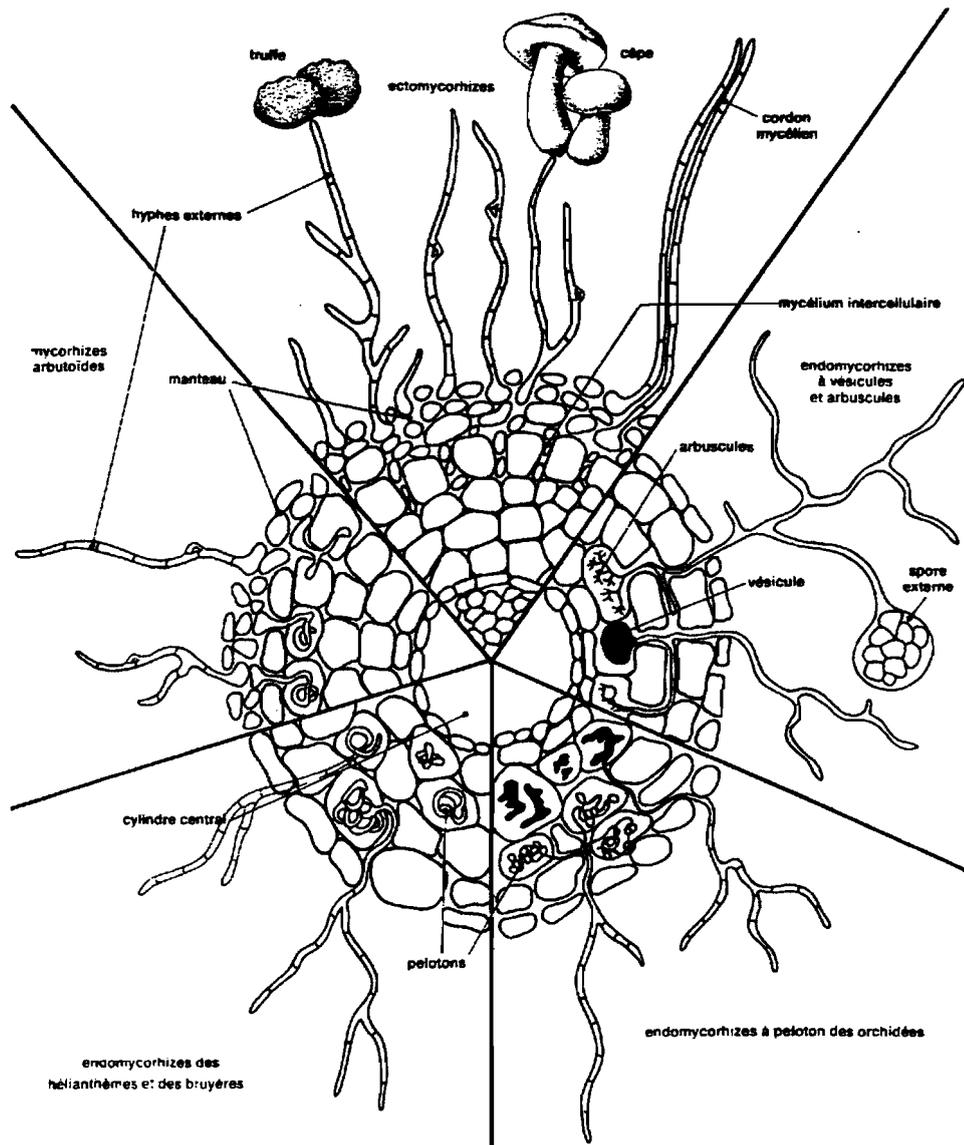
✓ Chez les ectomycorhizes, le mycélium du champignon entoure la racine de l'hôte pour former le manteau visible à l'œil nu. A partir du manteau, des hyphes pénètrent entre les cellules corticales et forment le réseau de Hartig, lieu d'échange entre les deux symbiotes (Figure 3). Les champignons impliqués sont cultivables en l'absence de l'hôte.

✓ Les champignons endomycorhiziens sont des champignons microscopiques, non cultivables en l'absence de l'hôte. Les hyphes pénètrent à l'intérieur des cellules corticales de l'hôte où ils forment les arbuscules ou des pelotons, lieu d'échange entre les deux partenaires ; et/ou des vésicules, organes de stockage.

On distingue au sein de cette symbiose endomycorhizienne, des spécificités (Figure 3). Ainsi, on peut citer des endomycorhizes à pelotons des orchidées, des endomycorhizes à Helianthèmes et Bruyères et enfin des endomycorhizes à arbuscules et vésicules (les plus répandues).

C'est ce dernier type de symbiose qui nous intéresse dans cette étude. Nous utiliserons dans la suite du document le terme mycorhizes à arbuscules (MA) pour désigner en général les endomycorhizes.

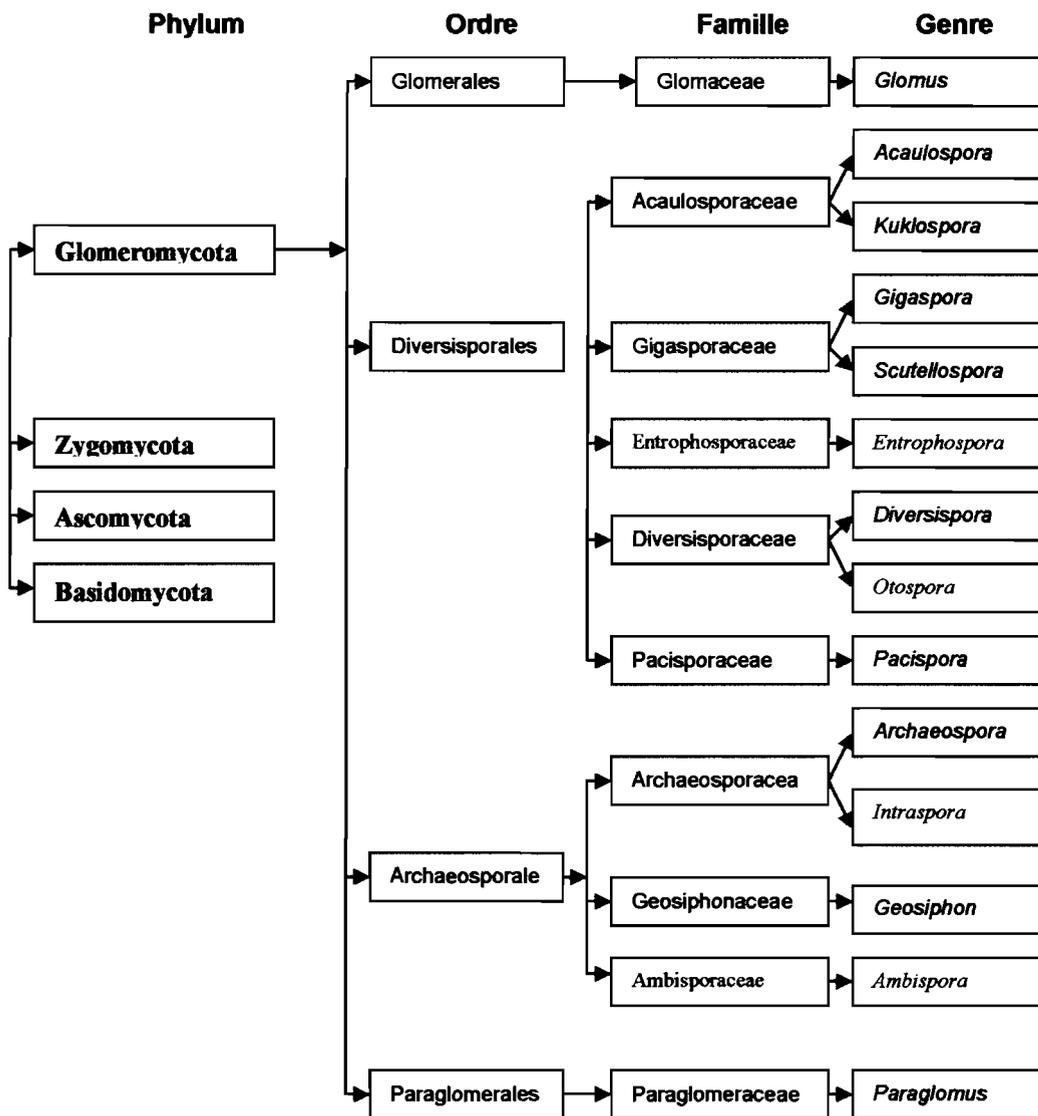
Les ectendomycorhizes ou mycorhizes arbutoïdes présentent à la fois un manteau comme chez les ectomycorhizes et une pénétration intracellulaire pour former des arbuscules caractéristiques des endomycorhizes.



**Figure 3.** Principaux types mycorhiziens sur une coupe transversale de racines (d'après Le Tacon, 1985).

#### 1.2.2.1. Classification des champignons MA

Les champignons endomycorhiziens appartiennent au phylum des *Glomeromycota*. Ce phylum est divisé en 4 ordres, 10 familles et 14 genres (Figure 4).



**Figure 4.** Classification des champignons MA

(Anonyme 2, 2009)

#### 1.2.2.2. Importance des champignons MA

Les champignons mycorhiziens sont présents naturellement dans le sol. Ils jouent un rôle de biofertilisant très important en agriculture et en foresterie. Le meilleur développement des plantes suite à la formation des mycorhizes résulte de l'influence positive de ces dernières sur certains aspects de la physiologie végétale (Dalpé, 2006). En effet, la mycorhization améliore la nutrition minérale et hydrique de la plante et la rend tolérante à certaines infections des racines.

Sow *et al.* (2008) ont montré que chez l'oignon l'utilisation d'inoculum mycorhizien augmente les rendements de plus de 27%. Chez les plantes fixatrices d'azote, les mycorhizes stimulent non seulement le développement végétal, mais aussi la nodulation et la fixation d'azote par les bactéries associées (Barrea et Azcon-Aguilar, 1982). Une meilleure nutrition phosphatée des plantes mycorhizées contribue à la stimulation de la nodulation et à la fixation d'azote par les bactéries.

#### 1.2.2.2.1. La nutrition minérale et hydrique

Chez les plantes mycorhizées la meilleure absorption de l'eau et des éléments minéraux se fait grâce à la capacité des champignons mycorhiziens à les absorber par leur réseau d'hyphes dans le sol et à les transférer ensuite vers les racines de la plante hôte. Il est estimé que chez les endomycorhizes la longueur d'hyphes se développant dans le sol autour de chaque centimètre de racine peut atteindre 1,34m (Tisdall et Oades, 1979 cités par Gianinazzi-Pearson, 1982). Cette surface supplémentaire d'absorption offerte par les hyphes externes des mycorhizes permet à la plante hôte de prélever les éléments minéraux dans un volume de sol plus grand.

Les plantes mycorhizées soumises à des périodes de sécheresse ont un meilleur développement que celles non mycorhizées et elles résistent mieux au choc hydrique rencontré pendant leur transplantation (Cornet *et al.*, 1982).

#### 1.2.2.2.2. Tolérance de la plante à certaines infections des racines

Les plantes mycorhizées sont tolérantes à certains agents pathogènes comme les bactéries, champignons et nématodes du sol (Sharma *et al.*, 1992 ; Azcon-Aguilar et Barea 1992 ; Bennett *et al.*, 2006). Les mécanismes qui pourraient expliquer l'activité protectrice attribuée aux champignons MA incluent :

- ✓ L'amélioration de la nutrition minérale qui rend la plante plus vigoureuse et résistante (Azcon-Aguilar et Barea, 1992).

- ✓ La compensation de la perte de biomasse ou de fonction de racine provoquée par les pathogènes (Linderman, 1994), grâce aux hyphes extra-racinaires qui augmentent la surface absorbante.

✓ La lignification de racines par la présence des champignons MA qui empêche la pénétration par *Fusarium oxysporum* (Dehne, 1982).

✓ Une grande concentration d'acides aminés, trouvée dans les exsudats de racines mycorhizées constitue un inhibiteur des nématodes de racines (Dalpé, 2006).

### 1.2.2.3 Cycle et facteurs de développement des champignons MA

#### 1.2.2.3.1. Cycle de développement des champignons MA

Dans le sol, les propagules des mycorhizes (hyphes, spores) en contact avec les racines d'une plante hôte, peuvent rentrer en symbiose. Le champignon MA se développe à l'intérieur des racines et forme des vésicules et/ou des arbuscules et des hyphes. Les hyphes peuvent être externes à la racine et coloniser un grand volume de sol. La sporulation, c'est-à-dire la production de spores, se fait seulement après que le champignon ait réalisé un certain seuil de biomasse mycorhizienne. En général, c'est au bout de 1 à 3 mois qu'on peut avoir une sporulation (INVAM, 2009). Le temps de sporulation dépend aussi de l'espèce de champignon et de la plante hôte, les spores arrivent à maturité de manière asynchrone dans le sol (Manga *et al.*, 2007). Les nouvelles spores, hyphes, etc. produites peuvent infecter d'autres racines et le cycle reprend.

#### 1.2.2.3.2. Facteurs de développement

Le développement des champignons mycorhiziens peut être influencé par certains facteurs qui sont :

✓ Le climat : c'est un facteur très important, principalement la température. Le développement d'un champignon MA peut être favorable à haute température et rester moins favorable sous basse température. Sieverding (1988) a montré que peu d'isolats de champignon MA (*Acaulospora* et *Scutellospora*) sont efficaces à faible température (20°C). L'utilisation des champignons indigènes est alors mieux indiquée pour la production d'inoculum.

✓ La dormance : les spores de certains champignons MA (*Acaulospora*, *Entrophospora*) requièrent une période de dormance avant d'être infectives. Après la

sporulation, conserver les nouvelles spores pendant 30 jours environ avant leur utilisation permet d'éliminer cette variable (INVAM, 2009).

✓ La fertilisation : la mycorhization n'est pas inhibée par une fertilisation en NPK (Azote, phosphore, potassium), elle augmente l'efficacité de ces minéraux au profit de la culture (Sow *et al.*, 2008). Mais, les apports importants de phosphates solubles diminuent le taux d'infection mycorhizienne et peuvent aboutir à l'élimination des effets positifs de cette association sur le rendement des plantes (Ingleby *et al.*, 2001). Toutefois des degrés de sensibilité différents peuvent exister entre espèces.

✓ L'application de pesticides : le traitement du sol par des fongicides tels que le prothiocarde, le benomyl ou l'éthylphosphite d'aluminium aboutit chez trois cultures différentes (blé, pois, oignon) à une diminution de l'intensité de l'endomycorhization celle-ci étant surtout importante dans le cas du benomyl (Gianinazzi, 1982).

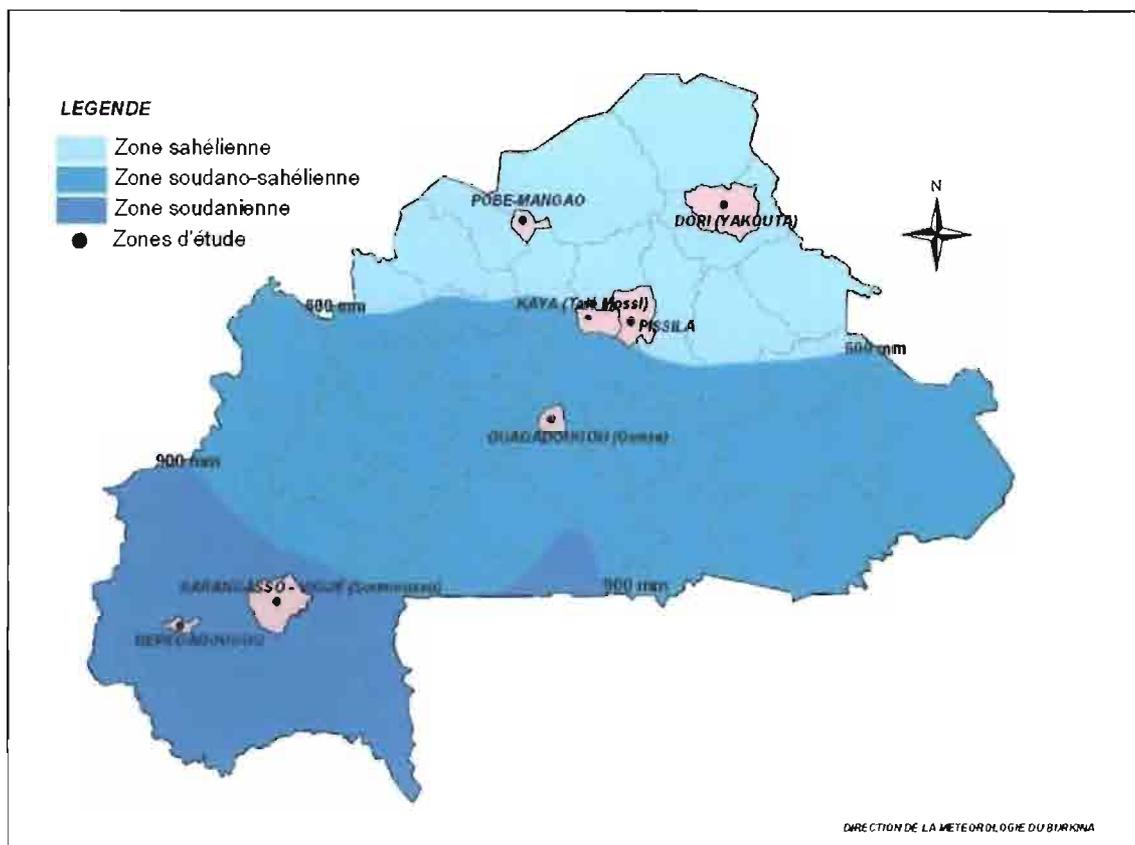
MENTION BIEN

## **DEUXIEME PARTIE :**

### **PRESENTATION DES SITES D' ETUDE**

## 2.1. CHOIX DES SITES

Le choix des sites s'est essentiellement basé sur le climat et le système de culture pure de niébé. Ainsi 7 sites ont été retenus dans les 3 zones climatiques du Burkina Faso (Figure 5).



**Figure 5.** Les 3 zones climatiques du Burkina Faso et la représentation des sites d'études. (Direction de la Météorologie du Burkina Faso, 2008)

## 2.2. DESCRIPTION DES SITES

### 2.2.1. Pluviométrie et température

#### ✓ La zone sahélienne

Dans cette zone se trouve les sites d'étude de Yakouta, Pobe-Mengao et Pissila. Le site de Talé Mossi se trouve à la lisière entre la zone sahélienne et la zone soudano-sahélienne. La saison des pluies dans cette partie du Burkina Faso dure 2 à 3 mois et la pluviométrie reste généralement inférieure à 600 mm/an. Les

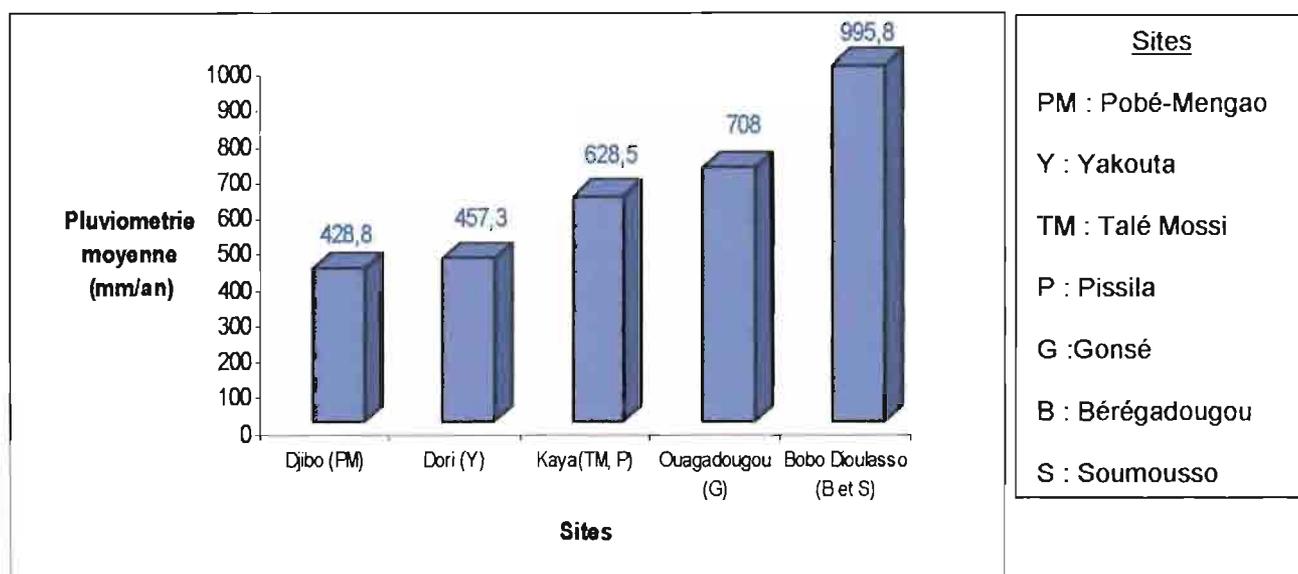
moyennes de 30 années de pluviométrie de Yakouta, Pobé-Mengao, Pissila et Talé mossi sont ainsi représentées sur la figure 6. Les mois les plus chauds sont Avril et Mai (Figure 7). Les données de la pluviométrie et de la température de Pobé-Mengao, Yakouta et Pissila se réfèrent respectivement à celles de Djibo, Dori et Kaya.

✓ La zone soudano-sahélienne

Seul le site de Gonsé a été retenu pour l'étude car les autres champs dans cette zone ont été abandonnés suite à la pratique de culture associée (niébé/sorgho) par les paysans. La pluviométrie varie entre 600 mm et 900 mm/an et s'étale sur une période de 4 à 5 mois. Les moyennes de pluviométrie et de température de Gonsé, en se référant à celles de Ouagadougou, sont représentées sur les figures 6 et 7 respectivement.

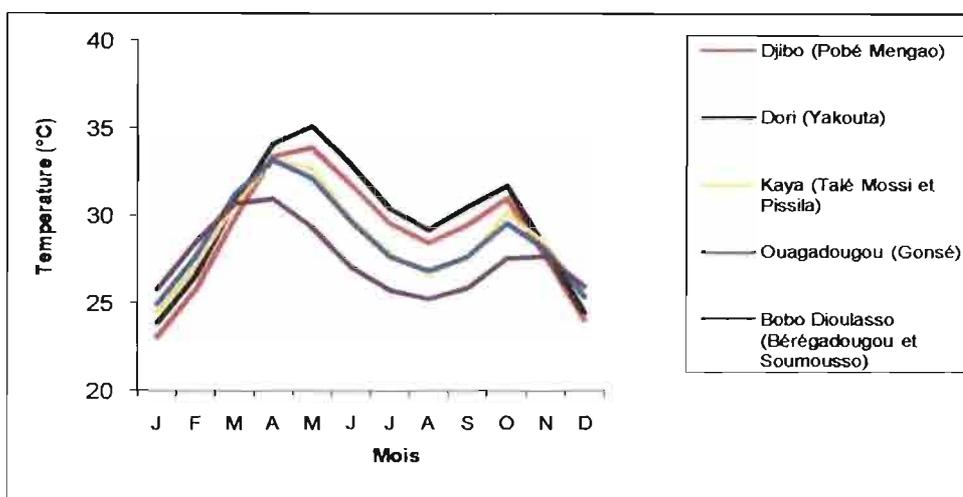
✓ La zone soudanienne

Dans la zone soudanienne les sites retenus sont ceux de Bérégadougou et Soumousso. Les moyennes des 30 années de pluviométrie et de température des sites de Bérégadougou et Soumousso se réfèrent à celles de Bobo-Dioulasso. Ces sites sont les plus arrosés par rapport aux autres. La pluviométrie moyenne des 30 dernières années est de 995,8mm/an (Figure 6) et la température moyenne mensuelle varie de 25,3 à 31°C (Figure 7).



**Figure 6.** Pluviométrie moyenne sur 30 ans (de 1979 à 2008) des sites d'études.

(Direction de la Météorologie du Burkina Faso, 2008)



**Figure 7.** Température moyenne mensuelle calculée sur une période de 30 ans.  
(Direction de la Météorologie du Burkina Faso, 2008)

## 2.2.2 Caractéristiques des champs échantillonnés

Pour les 7 sites étudiés, nous avons retenu 1 ou 2 champs par site car les champs de culture associée ont été déclassés ; d'où un total de 11 champs. Les variétés de niébé et les fertilisations appliquées aux différents champs sont représentées dans le tableau (I).

**Tableau I.** Caractéristiques des différents champs étudiés.

Zones climatiques	sites	Champs	Variétés de niébé cultivées	Fertilisation	Précédent cultural
Climat soudanien $P \geq 900\text{mm}$	Bérégadougou	1	KVX 396 - 4.5.2D	Culture sans fertilisant	Jachère
	Soumouso	1	KVX 396 - 4.5.2D	NPK	Niébé
Climat soudano sahélien $600\text{mm} \leq P \leq 900\text{mm}$	Gonsé	2	KVX 61- 1	NPK	Niébé
		1	KVX 396 - 4.5.2D	NPK + Fumier	Maïs-Niébé
	Talé mossi	1	KVX 396 - 4.5.2D	NPK	Sorgho
		2	KVX 396 - 4.5.2D	NPK + Fumure organique	Sorgho
Climat sahélien $P \leq 600\text{mm}$	Pissila	1	Mélakh	NPK	Jachère
	Yakouta	1	Gorom local	NPK	Jachère de 3ans
		2	KVX 745 - 11P	NPK	Jachère de 3ans
	Pobé-Mengao	1	Gorom local	NPK	-
2		KVX 396 - 4.5.2D	NPK	-	

La variété la plus utilisée est K VX396-4.5.2D. Pour ce qui concerne la fertilisation, le NPK est utilisé dans tous les champs à des quantités qui n'ont pas pu être déterminées auprès des producteurs. Sur le champ de Bérégadougou, la culture effectuée est sans apport de fertilisant.

## **TROISIEME PARTIE :**

### **MATERIEL ET METHODES**

## 3.1. MATERIEL

### 3.1.1. Les sols

Les sols proviennent des 11 champs choisis. A l'aide d'une tarière, le sol est prélevé en plusieurs points et à une profondeur comprise entre 0-40cm suivant la profondeur du sol. En fonction de la superficie des champs, nous avons retenu 10 points de prélèvement pour les superficies inférieures ou égales à 1ha et 12 points pour les superficies supérieures à 1ha. Les superficies des champs varient de 0,75 ha à 1,2 ha. Le mélange de ces points de prélèvements a donné lieu à l'échantillon composite par champ. Les prélèvements d'échantillons de sol ont été effectués avant la mise en place des cultures de niébé et juste après la récolte. Cependant, le premier échantillonnage sur le site de Yakouta a eu lieu au stade de montaison.

### 3.1.2. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de 5 variétés de niébé cultivées sur les champs échantillonnés. Il s'agit des variétés K VX 396-4-5-2D, K VX 61-1, K VX 745-11P, Gorom local et Mélakh (Tableau II). Elles sont généralement résistantes à la sécheresse et s'adaptent à une pluviométrie allant de 400 à 800 mm/an (Ouédraogo *et al.*, 2003). Ces variétés sont résistantes à moyennement sensibles aux maladies. Pour ce qui concerne les attaques par les insectes (trips, pucerons, punaises), ces variétés de niébé sont généralement très sensibles sauf la variété Mélakh. Cette dernière est originaire du Sénégal et est en cours de test au Burkina Faso (Cissé et Hall, 2003).

MENTION BIEN

**Tableau II. Caractéristiques des 5 variétés de niébé cultivées sur les 7 sites**

Variétés	KVX 396-4-5-2D	KVX 61-1	KVX 745-11P	Gorom local	Mélakh
Origine	Burkina Faso	Burkina Faso	Burkina Faso	Burkina Faso	Sénégal
Cycle (jours)	70	70	75	70	64
Couleur grain	Blanche	Mosaïque blanche et brune	Blanche	Brune	Blanche
Qualité grain	Bonne	Sucrée	Sucrée	Légèrement sucrée	Sec ou haricot vert
Insectes	Trips + Pucerons + Punaises +	Trips +++ Pucerons +++ Punaises +++	Trips +++ Pucerons +++ Punaises +++	Trips +++ Pucerons +++ Punaises +++	Trips - Puceron -
Maladies	Chancre bactérien - Taches brunes - Virose - Striga -	Chancre bactérien - Taches brunes ++ Virose ++ Striga -	Chancre bactérien - Taches brunes - Virose ++ Striga ++	Chancre bactérien - Taches brunes - Virose ++ Striga -	Chancre bactérien -
Rendements grain potentiel	1500 Kg/ha	1500 Kg/ha	1500 Kg/ha 300kg/ha fane	1500 Kg/ha	1000kg/ha
Aire de culture (mm/an)	400 ≤P≤ 800	400 ≤P≤ 800	400 ≤P≤ 800	400 ≤P≤ 800	
Sécheresse	-	-	-	-	-

Résumé des fiches techniques du niébé (Ouédraogo *et al.*, 2003)

- : Résistante + : peu sensible ++ : moyennement sensible +++ : très sensible

### 3.1.3. Matériel bactérien

Il est constitué des 84 isolats de Rhizobiums isolées à partir des nodules prélevés sur les racines des plantes de niébé dans les différents champs.

## 3.2. METHODES

### 3.2.1. Conditionnement et caractérisation des sols

Les sols échantillonnés sont séchés à l'air et ensuite tamisés avec un tamis de 2 mm de maille pour éliminer les gros débris. Les sols sont conservés dans des sachets étiquetés et déposés sous serre.

Les caractéristiques physiques et chimiques des sols (granulométrie 3 fractions, pH, carbone organique, N total, P total et P assimilable) ont été déterminées au laboratoire de l'ICRISAT, Niamey (Niger).

### 3.2. 2. Extraction des spores

L'extraction des spores a porté sur les sols avant et après la culture du Niébé. Pour chaque sol, 3 échantillons de 50 g chacun sont prélevés.

Les spores sont extraites suivant la méthode de tamisage humide décrite par Gerdemann et Nicolson (1963). Dans un bêcher de 1 L, le sol de 50 g est submergé dans 0,5 L d'eau courante et remué pendant 1 mn avec une spatule. Après 10 à 30 s de décantation, le surnageant est passé à travers une série de 2 tamis de mailles différentes (500  $\mu\text{m}$  et 50  $\mu\text{m}$ ). Le même sol est à nouveau submergé, remué, et le tamisage humide répété 3 fois (Photo 2a).



Photo : W.M. YAMEOGO

**a**



Photo : W.M. YAMEOGO

**b**

**Photo 2.** Tamisage humide du sol (a) et récupération de spores (b)

Le dépôt dans le tamis de 500 µm de maille est constitué de débris et contient rarement des spores, il est donc rejeté. Le dépôt dans le tamis de 50 µm de maille contient le maximum de spores (Photo 2b). Il est récupéré avec un peu d'eau courante à l'aide d'une pissette et transféré dans des tubes à centrifuger. Après une première centrifugation à 2000 RPM (Rotation Par Minute) pendant 5 mn, le surnageant et les débris sont rejetés et le culot est suspendu dans une solution de saccharose à 50%. On procède à une agitation puis une deuxième centrifugation pendant 1 mn à 2000 RPM.

Les spores sont contenues dans le surnageant qui est passé à travers le tamis de 50 µm de maille et le culot est rejeté. Les spores dans le tamis sont rincées à l'eau courante pour éliminer le saccharose, puis désinfectées avec une solution d'antibiotique dont la composition est donnée à l'annexe 1. Les spores sont ensuite récupérées avec un peu d'eau à l'aide de pissette dans une boîte de Pétri dont le fond est tapissé de papier filtre quadrillé.

### 3.2.3. Dénombrement des spores



La boîte de Pétri contenant les spores est placée sous une loupe binoculaire et les spores sont observées. Sur chaque carré du papier filtre les spores sont caractérisées par type en fonction de la couleur et de la forme. Chaque type de spore est reconnu et compté. A l'aide d'une pipette pasteur, les spores sont séparées par type et déposées dans différentes boîtes de Pétri sur du papier filtre humidifié avec une solution physiologique (NaCl à 9%).

La densité de spores est alors déterminée pour chaque type de spore. Elle se définit comme étant le nombre de spores dans 100g de sol sec.

L'abondance relative (AR) est également déterminée pour chaque type de spore (Johnson *et al.*, 1991) par la formule suivante :

$$AR = \left[ \frac{\text{nombre total de spores observées d'un type dans tous les sites}}{\text{nombre total de spores observées dans tous les sites}} \times 100 \right]$$

### **3.2.4. Identification des spores**

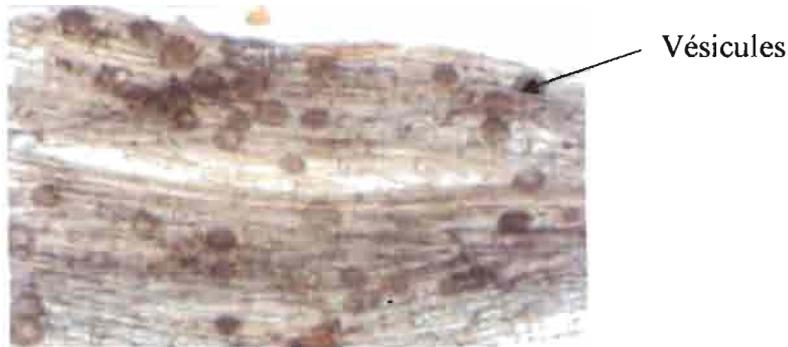
Les spores sont montées par type entre lame et lamelle dans du polyvinyl alcool lacto-glycerol (PVLG) dont la composition est donnée à l'annexe 2, pour leur étude anatomique (Omar *et al.*, 1979) et 20 autres spores par type sont mesurées afin de déterminer le diamètre moyen des spores. Les spores observées sont décrites et comparées aux spécimens de la collection INVAM (2009) (International Culture Collection of VA Mycorrhizal Fungi) afin de les identifier dans la mesure du possible.

### **3.2.5. Mesure de la fréquence et de l'intensité de mycorhization *in situ***

Des racines de plantes de niébé cultivées dans les champs ont été prélevées à la période de floraison fructification ; à raison de 5 plantes par champ. La plante est prélevée avec le sol dans un rayon de 15 cm et à la profondeur de pénétration des racines. Le sol contenant les racines est lavé dans un tamis de 500 µm de maille pour récupérer les racines fines.

Les racines fines sont coupées à une longueur de 1cm et chauffées dans une solution de KOH à 10% à 80°C pendant 1h, puis rincées à l'eau courante. Elles sont ensuite réchauffées à 80°C pendant 30 mn dans le colorant bleu trypan à 0,05% (Phillips et Haymann, 1970). Le traitement avec le KOH a pour but d'éliminer le cytoplasme des cellules. Ainsi on obtient une meilleure coloration des vésicules et arbuscules avec le bleu trypan.

L'intensité et la fréquence de mycorhization sont évaluées au microscope au grossissement 10 x 40. Pour chaque sol 10 fragments de racines par plante ont été déposés dans du glycérol (50%) entre lame et lamelle (Kormanik et McGraw, 1982), soit au total 50 fragments par champ. Pour chacun des fragments de racine de 1cm observé, la présence ou l'absence d'infection (vésicule et/ou arbuscule, hyphes) est notée à chaque millimètre puis exprimée en pourcentage d'infection (Photo 3).



**Photo 3.** Racine de niébé infectée présentant des vésicules (observation au microscope au grossissement 10 x 40)

Les pourcentages d'infection sont cotés de 0 à 5. Chaque cote correspond à une classe de pourcentage d'infection. Cote 0 : 0% ; cote 1 : 0 à 1% ; cote 2 : 1% à 10% ; cote 3 : 10% à 50% ; cote 4 : 50% à 90% ; cote 5 : > 90%. La fréquence F(%) et l'intensité I(%) de mycorhization sont calculées selon les formules suivantes (Trouvelot *et al.*, 1986).

**F (%) = (nombre de fragments mycorhizés / nombre total de fragments observés) x 100**

**I (%) = (95N<sub>5</sub> + 70N<sub>4</sub> + 30N<sub>3</sub> + 5N<sub>2</sub> + N<sub>1</sub>) x nombre total de fragments observés**

Avec : N<sub>5</sub> = nombre de fragment correspondant au cote 5

N<sub>4</sub> = nombre de fragment correspondant au cote 4

N<sub>3</sub> = nombre de fragment correspondant au cote 3

N<sub>2</sub> = nombre de fragment correspondant au cote 2

N<sub>1</sub> = nombre de fragment correspondant au cote 1

### **3.2.6. Isolement des rhizobiums associés au niébé dans les champs**

Lors de l'échantillonnage des plants, les nodules formés sur les racines ont été prélevés, nettoyés et conservés dans du glycérol à 4°C.

Cinq nodules par champ ont ensuite été choisis au hasard et désinfectés à l'aide du chlorure mercurique (0,1%) pendant 1 mn sous une hotte à flux laminaire. Après plusieurs rinçages à l'eau distillée stérile, les nodosités sont aseptiquement écrasées dans une goutte d'eau distillée stérile. Le liquide est ensuite étalé dans des boîtes de Pétri contenant du milieu gélosé YMA (Yeast Manitol Agar) dont la composition est donnée à l'annexe 3 (Vincent, 1970). Après 4 à 5 jours d'incubation à 30°C à l'étuve, les colonies bactériennes présentant des aspects différents dans chaque boîte sont purifiées séparément par repiquages successifs.

### **3.2.7. Test d'infectivité des isolats de rhizobium**

Les isolats purifiés obtenus ci-dessus sont utilisés pour préparer l'inoculum liquide. Chaque isolat est repiqué dans un tube à essai contenant 10 ml de milieu YMA sans agar. Au bout de 5 jours d'incubation, l'inoculum contenant environ  $10^9$  bactéries/ml est prêt pour utilisation.

La variété de niébé K VX 396—4—5-2D la plus rencontrée sur l'ensemble de nos sites a été utilisée pour tester l'infectivité des différents isolats. La culture s'est déroulée sous serre, dans des petits pots de 200 ml et sur un substrat sable pauvre (pH-H<sub>2</sub>O : 5,6 ; pH-KCl : 5.1 ; N total : 74 mg/kg de sol ; P total : 61 mg/kg de sol ; P assimilable : 2,6 mg/kg de sol ; sable : 91,2% ; limon : 4, 6% et argile 3,9%). Le substrat est stérilisé pendant 1h à 120°C afin d'éliminer les rhizobiums probables qui s'y trouveraient. Les graines de niébé sont désinfectées à l'eau de javel pendant 1 mn puis rincées abondamment à l'eau distillée stérile avant d'être semées à raison de 2 graines par pot. Au bout de 6 jours, les plantules sont démarquées en laissant un pied par pot. L'inoculation a consisté à l'apport de 1 ml de culture bactérienne par pot (Photo 4a). Chaque souche a été répétée 5 fois. Après l'inoculation les pots sont complètement remplis avec le sable stérilisé pour limiter les contaminations pendant l'arrosage.



Photo : W.M. YAMEOGO

**a**



Photo : W.M. YAMEOGO

**b**

**Photo 4.** Inoculation bactérienne du niébé (a) et récolte de nodules (b)

Les plantes sont arrosées deux fois par jour. Le matin l'arrosage se fait avec de l'eau distillée et le soir avec du milieu Jensen dilué au dixième dont la composition est donnée à l'annexe 4. Au bout de 30 jours de culture les plantes sont dépotés (Photo 4b), les mesures suivantes sont effectuées : le nombre et poids des nodules, la biomasse aérienne, et la biomasse souterraine.

### **3.2.8. Analyse et traitement des données**

Les données ont été traitées à l'aide du logiciel Minitab13. Les moyennes ont été comparées par le test de Tukey au seuil de 5%. L'analyse des données a porté sur la densité des spores, la fréquence et l'intensité de mycorhization. Les figures ont été tracées sur Excel 2003.

**QUATRIEME PARTIE :**

**RESULTATS ET DISCUSSION**

MENTION BIEN

## 4.1 RESULTATS

### 4.1.1. Caractéristiques physico-chimiques des sols échantillonnés

Les caractéristiques des sols des différents sites sont présentées dans le tableau III. Les analyses chimiques ont été faites avant et après la culture du niébé. La granulométrie étant une caractéristique pédologique stable, elle a été faite une seule fois avant la culture.

La granulométrie 3 fractions indique que les sols sont de texture à dominance sableuse, de 55,2% à 92,6%. Selon la teneur en sable, argile et limon, les sols sont sablo-limoneux (sols de Gonsé, Pissila, Pobé-Mengao1 et Soumousso 1) ou sablo-argileux pour les autres champs. Dans tous les champs, les sols sont acides avec un pH-H<sub>2</sub>O de 4,7 à 5,7 qui reste pratiquement invariable après la culture du niébé.

Pour les teneurs des sols en N et P, on constate que les sols issus de la zone soudanienne (Bérégadougou, Soumousso 1 et 2) présentent les teneurs les plus élevées. Pour le C organique, les sites de Soumousso 1 et 2 sont les plus riches avec 0,92 et 0,91%. Tous les sols sont en général pauvres en P assimilable, 2,4 à 11,8 mg/kg de sol. Le champ de Bérégadougou a le taux le plus élevé.

On note une très grande variabilité dans la teneur des différents champs en N, P, C organique et P assimilable avant la culture du niébé et après récolte. La tendance est à la hausse dans la majorité des sols pour le P total. Pour N total, seules les teneurs dans les sols des sites de Bérégadougou, Talé Mossi 2, Yakouta 1 et Yakouta 2 connaissent une augmentation. Les teneurs en C organique varient faiblement, avec une baisse pour Gonsé, Soumousso 1 et 2. On observe une forte baisse du P assimilable dans le cas de Talé Mossi 1 qui passe de 7,9 à 3,1 mg/kg de sol. Pour les autres champs, il y a soit une augmentation soit une diminution du P assimilable après la culture.

**Tableau III. Caractéristiques physico-chimiques des sols des 11 champs.**

Zones climatiques	Champs	pH-H <sub>2</sub> O		pH-KCl		Total N en mg/kg		C. org en % CO		Total P en mg/kg		P. ass en mg/kg		Sable (%)	Limons (%)	Argile (%)
		T0	TR	T0	TR	T0	TR	T0	TR	T0	TR	T0	TR	T0	T0	T0
Zone Soudanienne	B	4,7	5,0	3,6	3,9	338	365	0,45	0,45	153	152	11,8	8,2	80,5	0,2	19,3
	S1	4,9	5,4	4,2	4,5	441	397	0,92	0,82	112	137	5,3	7,0	85,4	5,1	9,5
	S2	5,0	5,6	4,4	4,6	438	374	0,91	0,66	132	142	5,2	6,7	80,4	11,6	8,0
Zone Soudano-sahélienne	G	5,4	5,6	4,6	4,6	315	271	0,47	0,43	96	112	3,2	2,8	60,3	27,8	11,9
	TM1	5,7	5,7	4,9	4,6	229	209	0,24	0,25	96	107	7,9	3,1	81,9	8,4	9,7
	TM2	5,6	5,6	4,8	4,6	191	238	0,22	0,29	88	110	5,2	4,2	83,9	8,0	8,1
Zone Sahélienne	P	5,7	5,7	4,9	4,8	250	194	0,29	0,29	89	103	5,2	4,2	55,2	29,9	14,9
	PM1	5,5	5,6	4,6	4,5	182	135	0,15	0,16	105	93	3,3	3,4	68,1	18,4	13,5
	PM2	5,5	5,7	4,6	4,6	176	174	0,18	0,19	99	116	3,6	3,8	86,2	5,5	8,3
	Y1	5,7	5,8	4,9	4,8	118	171	0,13	0,27	70	103	2,4	3,6	91,8	2,4	5,8
	Y2	5,7	5,8	4,9	5,0	124	168	0,14	0,22	74	102	2,5	3,8	92,6	2,4	5,1

B : Bérégadougou ;  
P : Pissila ;  
T0 : Sol avant semis ;

S1 : Soumousso1 ;  
PM1 : Pobé Mengao1 ;  
TR : Sol à la récolte

S2 : Soumousso2 ;  
PM2 : Pobé Mengao 2 ;

G : Gonsé ;  
Y1 : Yakouta 1 ;  
Y1 : Yakoua2

TM1: Talé Mossi1;

TM2: Talé Mossi2,

#### 4.1.2. Densité des spores dans les sols avant et après la culture du niébé.

La différenciation des spores, que nous avons adoptée, par rapport à la couleur, permet de distinguer 5 types (ou morphotypes) de spores dans les 11 champs. Il s'agit des spores de couleur noire, marron, marron foncé, blanche et blanc-jaune. En fonction du diamètre moyen mesuré sur 20 spores par morphotype, on distingue des spores de couleur noire et marron de grande taille (Tableau IV)

**Tableau IV.** Couleur et diamètre moyen des spores

Couleur des spores	Noire	Noire grosse	Marron	Marron grosse	Marron foncé	Blanche	Jaune blanc
Diamètre moyen des morphotypes de spores (µm)	81,75	441	87,25	434,5	84	191	267,5

✓ Densité des spores à T0 (avant la culture)

Le tableau (V) présente la densité des différents morphotypes de spores rencontrés dans les champs avant la culture du niébé.

**Tableau V.** Densité des morphotypes de spores des 11 champs à T0 (Avant culture)

Champs	Morphotypes des spores				
	Noir	Marron	Marron foncé	Blanc	Blanc-jaune
Bérégadougou (B)	443 <sup>ae</sup>	38 <sup>ab</sup>	80 <sup>ae</sup>	---	---
Gonsé (G)	893 <sup>b</sup>	19 <sup>b</sup>	268 <sup>b</sup>	---	---
Pissila (P)	223 <sup>c</sup>	55 <sup>ac</sup>	176 <sup>c</sup>	---	---
Pobé-Mengao 1 (PM1)	182 <sup>c</sup>	13 <sup>b</sup>	42 <sup>e</sup>	---	---
Pobé-Mengao 2 (PM2)	163 <sup>c</sup>	27 <sup>b</sup>	23 <sup>e</sup>	59 <sup>a</sup>	29 <sup>a</sup>
Soumousso 1 (S1)	570 <sup>ad</sup>	---	559 <sup>d</sup>	---	5 <sup>b</sup>
Soumousso 2 (S2)	617 <sup>d</sup>	130 <sup>d</sup>	294 <sup>b</sup>	---	---
Talé Mossi 1 (TM1)	387 <sup>e</sup>	48 <sup>ac</sup>	122 <sup>ac</sup>	---	---
Talé Mossi 2 (TM2)	209 <sup>c</sup>	64 <sup>c</sup>	109 <sup>ac</sup>	---	4 <sup>b</sup>
Yakouta 1 (Y1)	115 <sup>c</sup>	24 <sup>b</sup>	---	49 <sup>a</sup>	---
Yakouta 2 (Y2)	142 <sup>c</sup>	37 <sup>ab</sup>	---	43 <sup>a</sup>	---

Dans la même colonne, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Test de Tukey, Minitab 13).

Au temps T0, 5 morphotypes au total ont été rencontrés avec cependant une différence entre les champs. Le morphotype noir est le plus abondant et présent dans tous les champs. Sa densité varie entre 893 spores / 100 g de sol sec pour le champ de Gonsé et 115 spores/100g de sol sec pour le champ de Yakouta 1. Les plus fortes densités de ce type de spores sont ainsi observées dans les zones soudano-sahélienne (Gonsé) et soudanienne (Soumouso 1 et 2, Bérégadougou). Les champs de la zone sahélienne ont des densités de spores noires statistiquement différentes de celles des zones les plus humides sauf pour le site de Talé Mossi 1 qui se trouve à la lisière entre la zone sahélienne et la zone soudano-sahélienne.

Le morphotype marron a été rencontré dans 10 champs sur 11, il n'a pas été observé dans le champ de Soumouso 1. Cependant, le champ de Soumouso 2 présente la plus forte densité par rapport aux autres champs (130 spores/100g de sol sec). Quant au morphotype marron foncé, il n'a pas été observé dans les deux champs de Yakouta. Comme pour le type précédent, sa densité est la plus forte à Soumouso 2 (559 spores/100g de sol sec).

Les deux autres types, blanc et blanc-jaune sont les moins abondants et les moins fréquents dans les champs. Ils n'ont été observés chacun que dans 3 champs sur les 11. Ainsi, le morphotype blanc a été rencontré à Pobé-Mengao 2 et à Yakouta 1 et 2 ; et le blanc-jaune à Pobé-Mengao 2, Soumouso 1 et Talé Mossi 2. Leurs densités sont respectivement de 59, 49 et 43 spores/100g de sol sec pour le type blanc et, de 29, 4 et 5 spores/100g de sol sec pour le type blanc-jaune.

#### ✓ Densité des spores à TR

La densité des spores après récolte du niébé (TR) est présentée dans le tableau VI.

**Tableau VI. Densité des morphotypes de spores des 11 champs à TR (à la récolte)**

Champs	Morphotypes de spores						
	Noir	Marron	Marron foncé	Blanc-jaune	Blanc	Marron (gros)	Noir (gros)
Bérégadougou (B)	1366 <sup>a</sup>	58 <sup>a</sup>	60 <sup>a</sup>	78 <sup>ad</sup>	---	---	---
Gonsé (G)	1465 <sup>a</sup>	229 <sup>b</sup>	403 <sup>b</sup>		---	---	---
Pissila (P)	412 <sup>b</sup>	21 <sup>a</sup>	45 <sup>a</sup>	45 <sup>abe</sup>	---	---	---
Pobé-Mengao 1 (PM1)	200 <sup>b</sup>	60 <sup>a</sup>	67 <sup>a</sup>	23 <sup>be</sup>	15 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>
Pobé-Mengao 2 (PM2)	250 <sup>b</sup>	26 <sup>a</sup>	26 <sup>a</sup>	22 <sup>be</sup>	13 <sup>a</sup>	---	---
Soumousso 1 (S1)	1503 <sup>a</sup>	181 <sup>b</sup>	628 <sup>bc</sup>		5 <sup>a</sup>	---	---
Soumousso 2 (S2)	2492 <sup>c</sup>	206 <sup>b</sup>	811 <sup>c</sup>	5 <sup>b</sup>	---	6 <sup>a</sup>	---
Talé Mossi 1 (TM1)	204 <sup>b</sup>	46 <sup>a</sup>	114 <sup>a</sup>	104 <sup>d</sup>	---	---	15 <sup>b</sup>
Talé Mossi 2 (TM2)	220 <sup>b</sup>	62 <sup>a</sup>	50 <sup>a</sup>	61 <sup>ed</sup>	---	---	---
Yakouta 1 (Y1)	140 <sup>b</sup>	38 <sup>a</sup>	---	212 <sup>f</sup>	---	---	---
Yakouta 2 (Y2)	92 <sup>b</sup>	32 <sup>a</sup>	---	128 <sup>cd</sup>	---	---	---

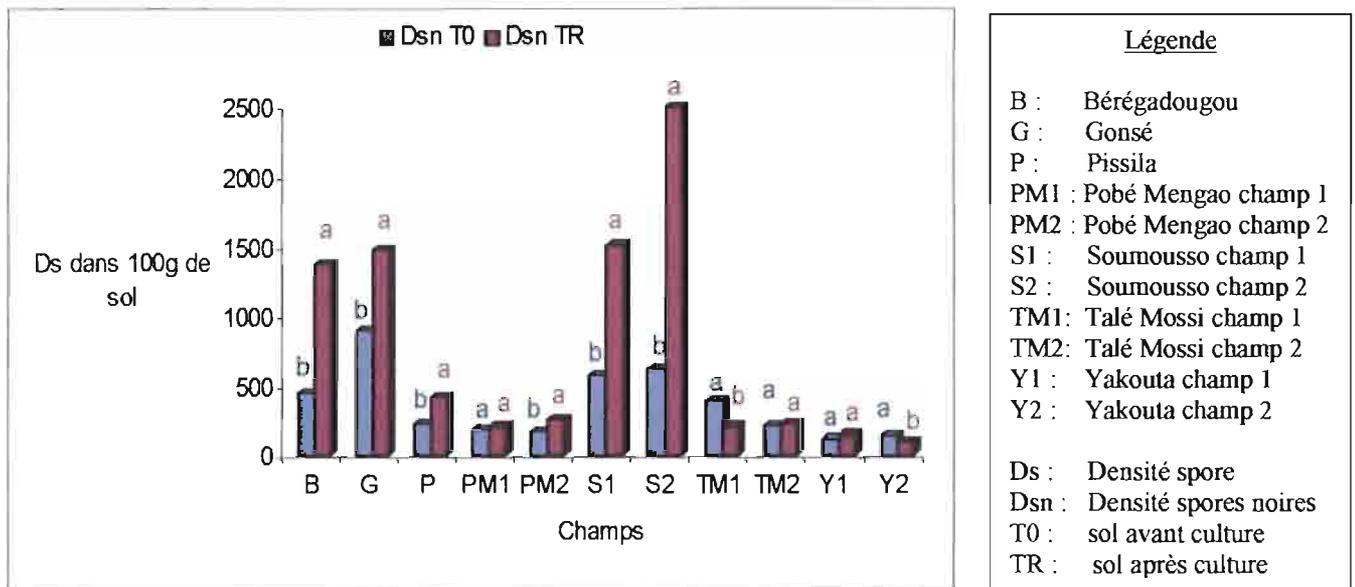
Dans la même colonne, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Test de Tukey, Minitab 13).

Comparativement au sol T0, le sol à la récolte (TR) présente aussi les 5 morphotypes de spores précédents, mais avec en plus la présence de grosses spores de couleur marron et noire, ce qui donne 7 types de spores en fonction de la couleur et de la taille.

Les principaux morphotypes, à savoir Noir, Marron et Marron foncé ont été également rencontrés en proportion importante. On observe en général une augmentation à la récolte (TR) de la densité des spores noires jusqu'à un facteur de 4 au niveau du champ de Soumousso 2 (Figure 8). Cependant pour les champs de Talé Mossi 1 et Yakouta 2, la densité de ces spores est en baisse. La densité des spores noires à la récolte varie significativement au seuil de 5% par rapport à la densité avant la culture, sauf dans le cas de Pobé mengao 1, Talé mossi 2 et Yakouta 1 (Figure 8). Les spores marron qui étaient absentes dans le champ de Soumousso 1 avant la culture apparaît en quantité assez importante dans ce champ à la récolte (181 spores/100g de sol sec). On note également une augmentation de la densité de ce type de spores après récolte pour la plupart des champs, mais au seuil de 5% la variation est non significative sauf dans le champ de Gonsé (Figure 9).

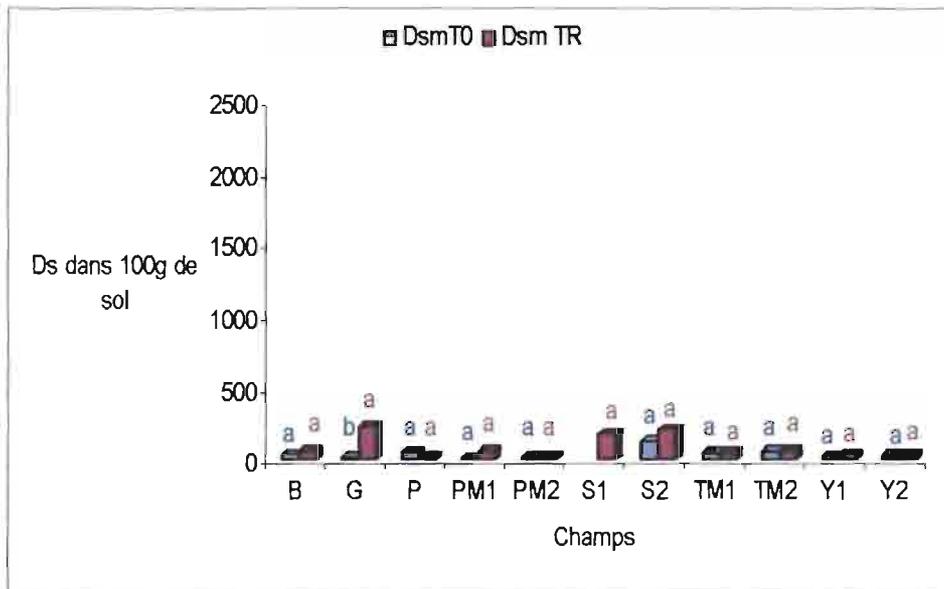
Les spores marron foncé restent absentes des champs de Yakouta 1 et 2 comme avant la culture. La densité de ces spores est significativement variable au seuil de 5% après la culture pour les champs de Pissila, Talé mossi 2 et Soumoussou 2 (Figure 10). Le morphotype blanc-jaune qui n'avait été rencontré que dans trois champs avant culture (Tableau V), a été identifié après récolte dans 9 champs (Tableau VI). Par contre, le type blanc reste présent dans trois champs dont Pobé-Mengao 2 avant et après culture (Tableau VI).

A la récolte, apparaissent les spores noires et marron de grande taille, qui étaient absentes au début, avec cependant des densités assez faibles de 4 à 15 pour les premières et 5 à 6 pour les secondes (Tableau VI).



**Figure 8.** Densité des spores de couleur noire dans les différents champs avant et après la culture du niébé.

Pour les histogrammes d'un même champ, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Test de Tukey, Minitab 13).



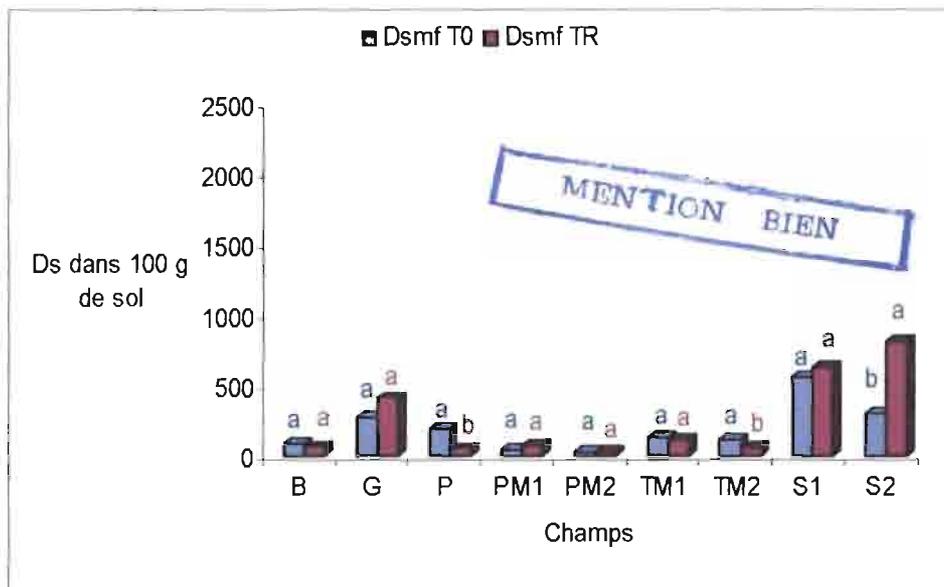
**Légende**

B : Bérégadougou  
 G : Gonsé  
 P : Pissila  
 PM1 : Pobé Mengao champ 1  
 PM2 : Pobé Mengao champ 2  
 S1 : Soumousso champ 1  
 S2 : Soumousso champ 2  
 TM1 : Talé Mossi champ 1  
 TM2 : Talé Mossi champ 2  
 Y1 : Yakouta champ 1  
 Y2 : Yakouta champ 2

Ds : Densité spore  
 Dsm : Densité spores marron  
 T0 : sol avant culture  
 TR : sol après culture

**Figure 9.** Densité des spores de couleur marron dans les différents champs pour les sols avant et après culture du niébé.

Pour les histogrammes d'un même champ, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Test de Tukey, Minitab 13).



**Légende**

B : Bérégadougou  
 G : Gonsé  
 P : Pissila  
 PM1 : Pobé Mengao champ 1  
 PM2 : Pobé Mengao champ 2  
 S1 : Soumousso champ 1  
 S2 : Soumousso champ 2  
 TM1 : Talé Mossi champ 1  
 TM2 : Talé Mossi champ 2  
 Y1 : Yakouta champ 1  
 Y2 : Yakouta champ 2

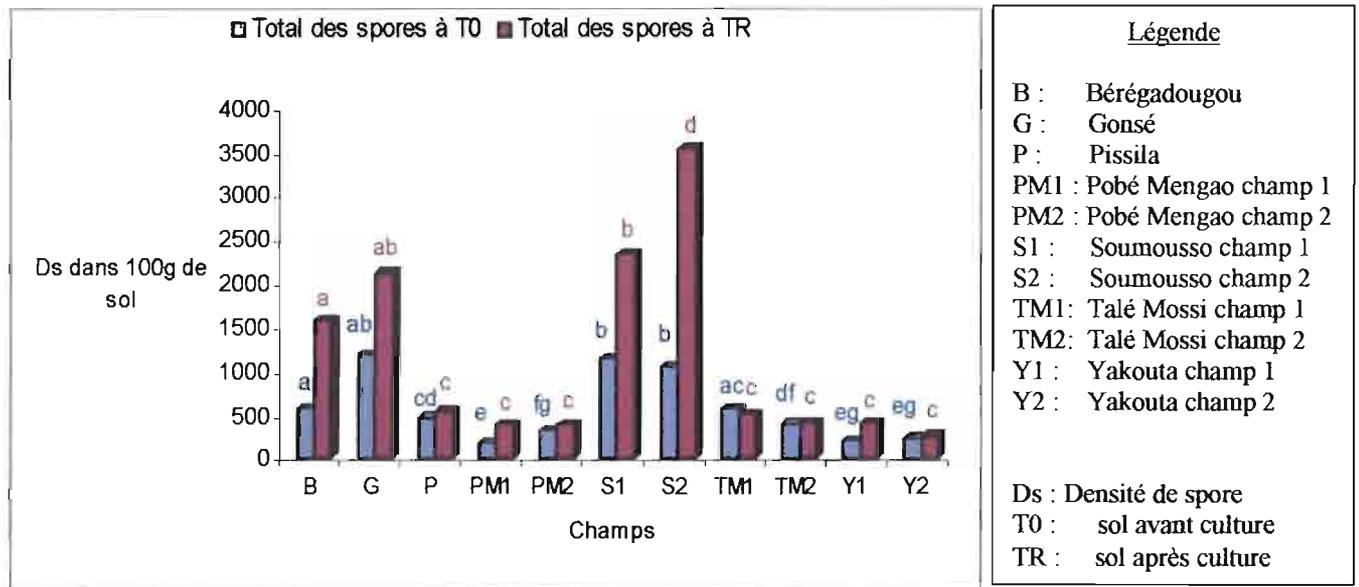
Ds : Densité spores  
 Dsmf : Densité spores marron foncé  
 T0 : sol avant culture  
 TR : sol après culture

**Figure 10.** Densité des spores de couleur marron foncé dans les différents champs avant et après la culture du niébé.

Pour les histogrammes d'un même champ, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Test de Tukey, Minitab 13).

✓ Densité totale des spores avant et après culture du niébé

La figure 11 présente la densité totale des spores par champ avant et après la culture du niébé. On remarque que la densité totale des spores augmente considérablement après la culture pour pratiquement tous les champs sauf pour Talé Mossi 1 où on observe une légère baisse.



**Figure 11.** Densité totale des spores dans les différents champs.

Pour les histogrammes de même couleur, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Test de Tukey, Minitab 13).

Les champs de Soumoussou 1 et 2 et Bérégadougou, situés dans la zone soudanienne et celui de Gonsé dans la zone soudano-sahélienne donnent les plus fortes densités de spores. Pour les champs de Pobé-Mengao 1, Pobé-Mengao 2, Yakouta 1 et Yakouta 2, situés dans la zone sahélienne et les champs de Pissila, Talé Mossi 1, Talé Mossi 2 situés à la lisière de la zone soudano-sahélienne et la zone sahélienne, il n'existe aucune différence significative (au seuil de 5%) pour la densité des spores à la récolte.

### 4.1.3. Corrélation entre la densité des spores et la fertilité des sols

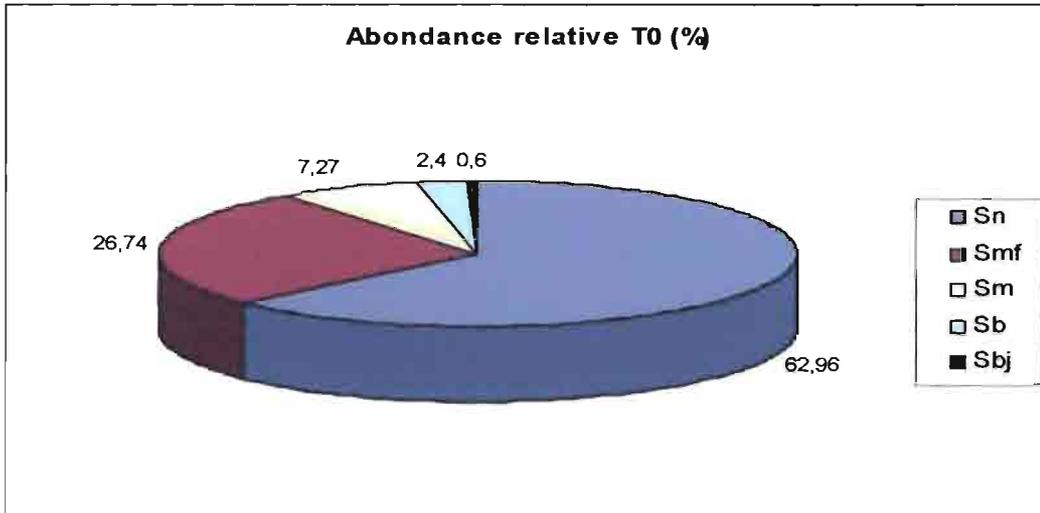
Le tableau VII présente les corrélations entre la densité des spores et la fertilité des sols en Azote N, Carbone C, Phosphore P et en Phosphore assimilable. Le coefficient de corrélation de Pearson est noté  $r$ . Il existe une forte corrélation entre la densité de spores et la teneur des sols en azote N et en carbone C ; aussi bien dans les sols avant la culture et à la récolte. Pour les teneurs en Phosphore total et phosphore assimilable la corrélation avec la densité est forte uniquement dans les sols à la récolte.

**Tableau VII.** Coefficient de corrélation de Pearson entre la densité des spores et la fertilité des sols

Coefficient de corrélation de Pearson ( $r$ )		Teneur en azote N		Teneur en C		Teneur en P		Teneur en P assimilable	
		T0	TR	T0	TR	T0	TR	T0	TR
Densité total des spores	T0	0,88		0,87		0,44		0,18	
	TR		0,86		0,87		0,74		0,61

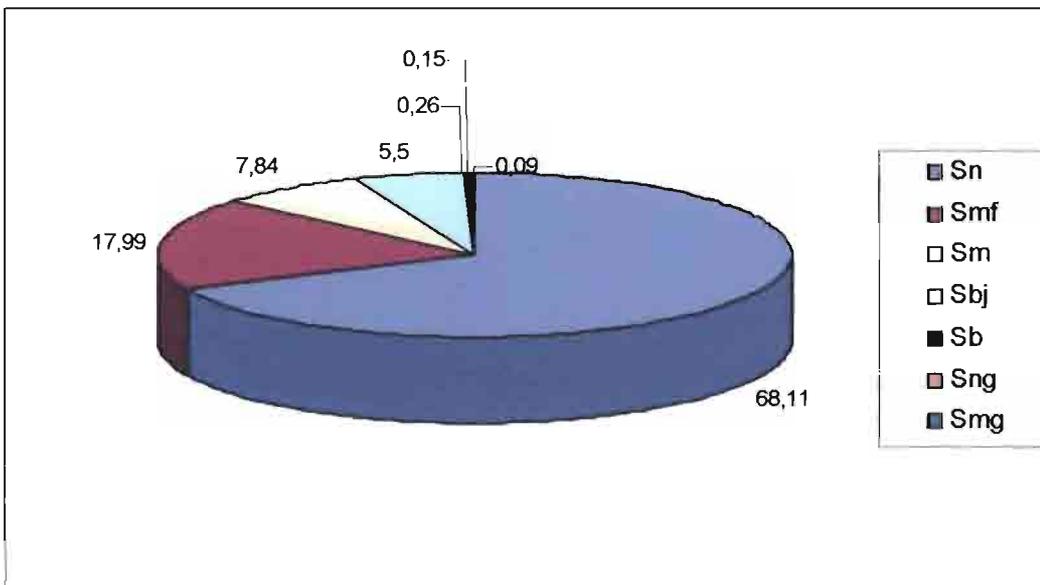
### 4.1.4. Abondance relative des types de spores

L'abondance relative des différents types de spores rencontrés dans les champs avant (T0) et après la culture du niébé (TR) est présentée respectivement sur les figures 12 et 13.



**Figure 12.** Abondance relative (%) des morphotypes de spores dans le sol avant la culture du niébé (T0).

Sn : spore noire; Sm : spore marron; Smf : spore marron foncé; Sbj : spore blanc jaune, Sb: spore blanche;



**Figure 13.** Abondance relative (%) des morphotypes de spores dans le sol après la culture du niébé (T0).

Sn : spore noire; Sm : spore marron; Smf : spore marron foncé; Sbj : spore blanc jaune, Smg : spore marron grosse; Sb: spore blanche; Sng: spore noire grosse

Les spores noires sont les plus abondantes dans l'ensemble des champs avec 62,96% et 68,11%, respectivement pour les sols T0 et TR. Puis viennent les spores de couleur marron foncée, marron et blanc-jaune. La densité des spores blanches, marron grosses et noires grosses reste très faible (moins de 1%).

#### 4.1.5. Diversité des champignons Glomeromycota

Parmi les spores observées la présence de structures caractéristiques (hyphes suspenseurs, saccule) sur certaines font qu'elles peuvent être classées en genre. Il est alors probable que ces spores appartiennent aux genres *Acaulospora*, *Gigaspora* et *Glomus*.

##### ✓ *Acaulospora*

Ce sont des spores solitaires, sessiles ou quelques fois reliées à leurs saccules sporifères qui est une structure à paroi mince formée par le gonflement apical d'un hyphe. Les spores se différencient latéralement à l'hyphe porteur de saccule (Photo 5). *Acaulospora* a été observé parmi les spores de couleur marron.

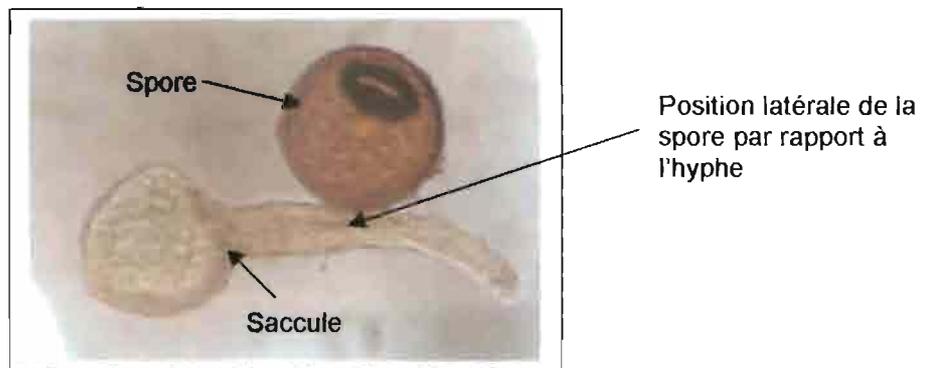


Photo : W.M.YAMEOGO

**Photo 5.** Spore marron de *Acaulospora* observée au microscope dans du Polyvinil – lacto-glycerol (PVLG) au grossissement 10 x 20

##### ✓ *Gigaspora*

Les spores du genre *Gigaspora*, dites « giant spore » selon l'étymologie du mot, sont des spores de grand diamètre. Ce sont des spores solitaires et l'hyphe suspenseur présente la morphologie de bulbe (Photo 6). Ce genre a été observé

parmi les spores de couleur blanche, blanc-jaune et noire grosse avec respectivement pour diamètre moyen 191  $\mu\text{m}$ , 267,5  $\mu\text{m}$  et 441 $\mu\text{m}$ .

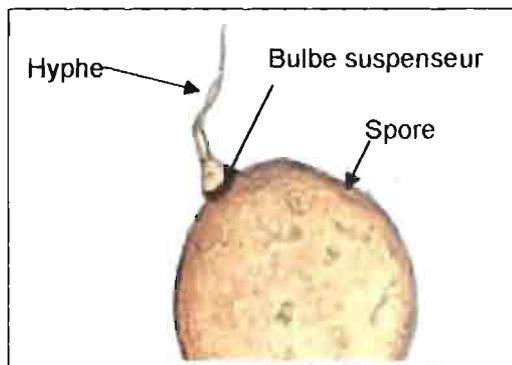


Photo : W.M. YAMEOGO

a

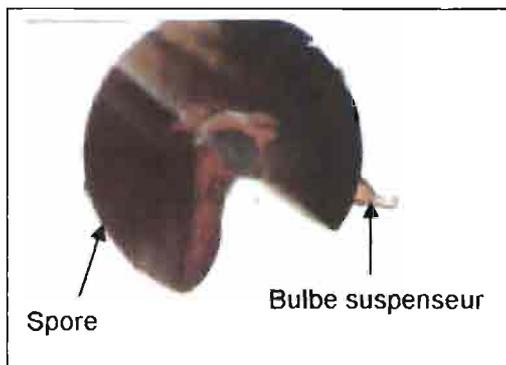


Photo : W.M.YAMEOGO

b

**Photo 6.** Spore blanc-jaune de *Gigaspora* (a) et spore noire *Gigaspora* (b) observée au microscope dans du PVLG au grossissement 10 x 20

#### ✓ Glomus

Les spores du genre *Glomus* sont le plus souvent en grappes (sporocarpe) et quelquefois solitaires. La présence de l'hyphe suspenseur qui relie la spore au mycélium est un élément caractéristique de ce genre (Photo 7). *Glomus* a été observé parmi les spores de couleur marron et marron foncé.

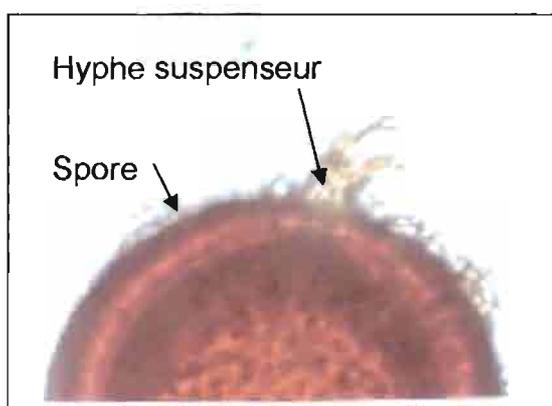
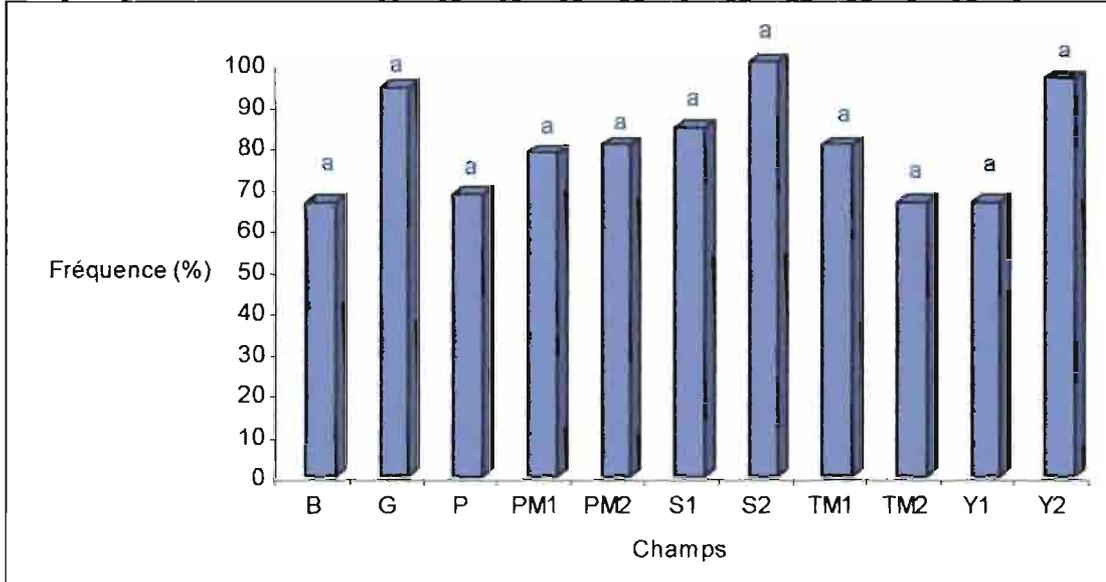


Photo : W.M.YAMEOGO

**Photo 7.** Spore marron foncé de *Glomus* observée au microscope dans du PVLG au grossissement 10 x 40.

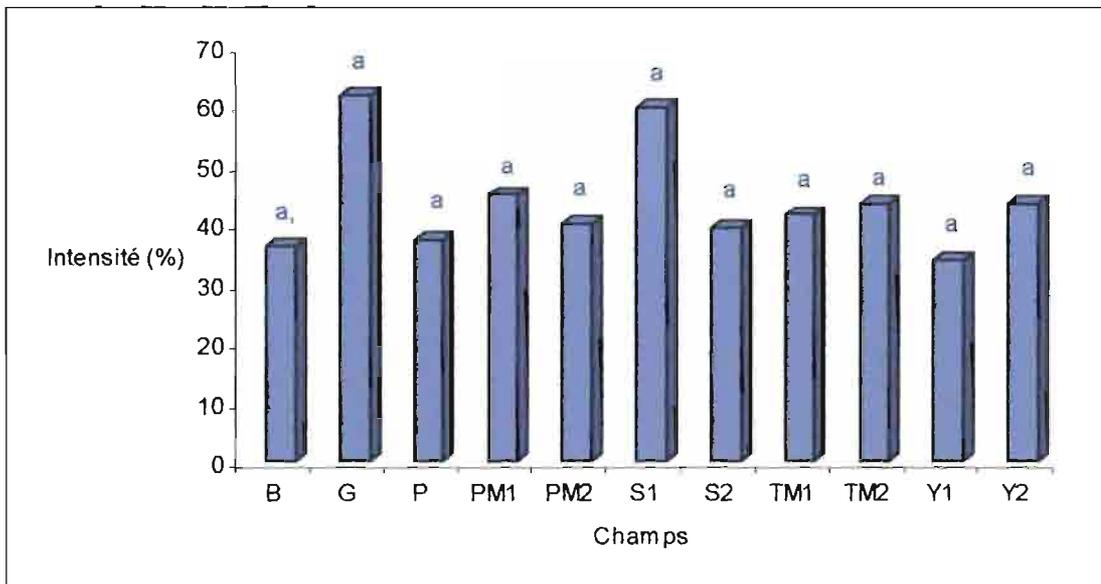
#### 4.1.6. La mycorhization naturelle du niébé *in situ*

La fréquence et l'intensité de mycorhization naturelle du niébé sont présentées ci-dessous (Figures 14 et 15).



**Figure 14.** Fréquence de mycorhization naturelle par champ sous culture du niébé.

Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Test de Tukey, Minitab 13).



**Figure 15.** Intensité de mycorhization naturelle par champ sous culture du niébé.

Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Test de Tukey, Minitab 13).

Pour les 11 champs étudiés, l'intensité et la fréquence de mycorhization naturelle ne diffèrent pas significativement au seuil de 5% selon le test de Tukey pour tous les champs. La mycorhization est fréquente dans tous les sites (69,38% à 100%). Quant à l'intensité, elle varie de 35% à 65%.

#### 4.1.7. Isolement et sélection de souches de rhizobiums infectives sur le niébé

L'isolement des souches rhizobiums à partir des nodules du niébé a donné au total 84 souches pour l'ensemble des 11 champs dont 6 à 10 souches par champ. L'inoculation du niébé avec ces souches de rhizobiums isolées donne les résultats présentés dans le tableau VIII.

**Tableau VIII.** Paramètres de croissance du niébé inoculé par les souches de rhizobium

Champs	Souche de rhizobium	NM nodule	PM nodule (g)	BAM (g)	BRM (g)
Yakouta 1(Y1) 10 SOUCHES	Y1-1a	2,8	0,009	0,179	0,343
	Y1-1b	4,6	0,011	0,146	0,295
	Y1-2a	3,2	0,011	0,143	0,289
	Y1-2b	3	0,007	0,123	0,310
	Y1-2c	2,4	0,007	0,164	0,253
	Y1-3a	3,6	0,009	0,137	0,261
	Y1-3b	3,2	0,012	0,144	0,263
	Y1-4a	3	0,010	0,133	0,278
	Y1-4b	2,6	0,009	0,110	0,301
	Y1-5	0	0,000	0,125	0,249
Yakouta 2 (Y2) 10 SOUCHES	Y2-1	3,2	0,016	0,121	0,398
	Y2-2a	3,6	0,027	0,114	0,344
	Y2-2b	5,2	0,014	0,112	0,399
	Y2-2c	3,2	0,020	0,128	0,412
	Y2-3a	4,8	0,014	0,126	0,407
	Y2-3b	3	0,012	0,077	0,306
	Y2-4a	2,8	0,011	0,132	0,447
	Y2-4b	4,4	0,018	0,112	0,407
	Y2-5a	3	0,012	0,098	0,344
	Y2-5b	3,6	0,013	0,100	0,323

Tableau VIII. (Suite / Paramètres de croissance du niébé inoculé par les souches de rhizobium).

Champs	Souche de rhizobium	NM nodule	PM nodule (g)	BAM (g)	BRM (g)
Pobé Mengao1 (PM1) 8 SOUCHES	PM1-1a	3,8	0,011	0,142	0,303
	PM1-1b	4	0,010	0,184	0,328
	PM1-2a	3,4	0,012	0,162	0,414
	PM1-2b	3,2	0,008	0,164	0,330
	PM1-3a	3,8	0,011	0,254	0,307
	PM1-3b	1,6	0,009	0,170	0,322
	PM1-4	4	0,014	0,190	0,428
	PM1-5	3,2	0,016	0,233	0,413
Pobé Mengao2 (PM2) 8 SOUCHES	PM2-1a	6	0,019	0,139	0,439
	PM2-1b	9,8	0,016	0,138	0,492
	PM2-2	6,4	0,023	0,148	0,518
	PM2-3a	4,8	0,018	0,125	0,426
	PM2-3b	6,8	0,021	0,126	0,436
	PM2-3c	6,6	0,018	0,134	0,477
	PM2-5a	4,6	0,056	0,106	0,379
	PM2-5b	4,4	0,012	0,117	0,335
Soumousso1 (S1) 8 SOUCHES	S1-1	5,4	0,061	0,201	0,400
	S1-2a	6,4	0,019	0,178	0,425
	S1-2b	5,6	0,012	0,139	0,359
	S1-3	8	0,015	0,171	0,355
	S1-4a	6,6	0,016	0,139	0,353
	S1-4b	6,2	0,014	0,127	0,379
	S1-4c	6	0,015	0,122	0,356
	S1-5	4,6	0,015	0,107	0,333
Gonsé (G) 8 SOUCHES	G-1a	2,6	0,010	0,206	0,399
	G-1b	2,8	0,013	0,221	0,412
	G-2	5,4	0,012	0,254	0,425
	G-3	4	0,009	0,193	0,405
	G-4a	2,6	0,011	0,205	0,362
	G-4b	3	0,010	0,187	0,400
	G-5a	2,4	0,012	0,167	0,409
	G-5b	3,2	0,012	0,160	0,450
Talé Mossi1 (TM1) 7 SOUCHES	TM1-1a	3,6	0,012	0,175	0,376
	TM1-1b	6,4	0,010	0,131	0,353
	TM1-2a	2,2	0,012	0,162	0,364
	TM1-2b	4,2	0,012	0,148	0,341
	TM1-3a	5,8	0,017	0,166	0,404
	TM1-4	5	0,014	0,186	0,337
	TM1-5	5,6	0,016	0,201	0,316
Talé Mossi 2 (TM2) 7 SOUCHES	TM2-1	3,8	0,020	0,195	0,374
	TM2-2a	4,4	0,016	0,147	0,381
	TM2-2b	4,8	0,014	0,186	0,334
	TM2-3	4	0,009	0,155	0,352
	TM2-4a	4	0,010	0,173	0,361
	TM2-4b	0,6	0,002	0,132	0,186
	TM2-5	2	0,082	0,1843	0,2722

Tableau VIII. (Suite / Paramètres de croissance du niébé inoculé par les souches de rhizobium).

Champs	Souche de rhizobium	NM nodule	PM nodule (g)	BAM (g)	BRM (g)
Soumousso 2 (S2) 6 SOUCHES	S2-1	4,4	0,020	0,146	0,408
	S2-2a	3,4	0,017	0,117	0,345
	S2-2b	3,8	0,022	0,114	0,395
	S2-4	3,6	0,014	0,109	0,353
	S2-5a	4	0,021	0,134	0,442
	S2-5b	4,4	0,019	0,125	0,371
Pissila (P) 6 SOUCHES	P-1	5	0,015	0,197	0,312
	P-2	4	0,011	0,196	0,346
	P-3a	3,2	0,012	0,178	0,322
	P-3b	3,4	0,013	0,196	0,406
	P-4	4,2	0,014	0,271	0,373
	P-5	3,6	0,011	0,215	0,412
Beregadougou (B) 6 SOUCHES	B-1a	4,2	0,019	0,141	0,414
	B-1b	1,6	0,016	0,096	0,413
	B-2	3,4	0,014	0,135	0,406
	B-3	3,8	0,011	0,121	0,405
	B-4a	2,6	0,015	0,090	0,350
	B-4b	4	0,011	0,371	0,346
	Témoin 1	0	0	0,093	0,279

N M nodule : Nombre moyen nodule

P M nodule : Poids moyen nodule

B A M : Biomasse aérienne moyenne

B R M : Biomasse racinaire moyenne

Toutes les souches de rhizobiums ont formées des nodules sauf la souche Y1-5 du champ Yakouta 1. Le nombre moyen de nodules formés par souche varie de 0,6 à 9,8. Les plants témoins n'ont présentés aucune nodule. La biomasse racinaire sèche varie entre 0,077g et 0,371g et la biomasse aérienne sèche entre 0,186g et 0,518g.

MENTION BIEN

## 4.2. DISCUSSION

La caractérisation physico-chimique des sols montre que le niébé s'adapte au pH acide (4,7 à 5,7) et aux sols à texture sableuse comme l'ont indiqué Franco *et al.* (1982). La teneur en phosphore dans les champs augmente en général pendant que pour l'azote la teneur diminue dans la majorité des champs. Contrairement au phosphore, l'azote est un élément très mobile dans le sol. Aussi l'azote peut être

perdu par dénitrification, par lessivage et par les exportations des cultures (Chausod, 1996). L'augmentation de la teneur en phosphore dans les champs peut être due aux apports d'engrais car si les rhizobiums peuvent apporter de l'azote au sol par la décomposition des nodules, les champignons mycorhiziens n'apportent pas de phosphore (Cardoso et Kuyper, 2006). L'absence de précision sur les doses d'engrais NPK apportées par champ, de la période de fertilisation et de mesure sur les récoltes ne permet pas d'établir un bilan apport et exportation par les cultures.

Les fortes densités de spores isolées sont celles de couleur noire avant comme après la culture du niébé suivies des types marron foncés et marron. On note en général une augmentation de la densité des spores après la culture et aussi l'apparition de nouveaux morphotypes qui étaient absents dans les sols avant culture. Ainsi la présence de grosses spores noires, marron et le nombre plus élevé de spores blanc-jaune et les autres morphotypes dans les sols à la récolte, permet de confirmer avec Li *et al.* (2007) que le sol prélevé juste après la culture donne plus de diversité et de densité de spores. Notre premier échantillonnage de sol est faite au mois de Mai – juin, avant la culture du niébé ; c'est-à-dire environ 6 mois après la culture précédente ou 6 mois secs. Cette durée des spores dans le sol, fait que plusieurs d'entre elles sont susceptibles à des attaques de parasites et sont vulnérables quant elles traversent la saison sèche. Juste après une culture, les spores sont jeunes avec les structures de caractérisation permettant de trouver une plus grande diversité. C'est ainsi que la méthode de piégeage de champignons en pépinière pour l'étude de la densité et diversité des champignons mycorhiziens d'un sol est la méthode la plus utilisée (Bâ *et al.*, 1996 ; Bouamri *et al.*, 2006). L'apparition de nouveaux types de spores dans les sols après récolte peut être liée soit à la présence de ces spores à un seuil non détectable avant culture soit à une sélection de ces spores par le niébé. En effet, l'utilisation de plante-hôtes différentes au cours du piégeage de champignons mycorhiziens peut révéler la présence de différentes espèces (Bouamri *et al.*, 2006).

Par rapport à la densité totale en spores, les champs ayant les plus grandes teneurs en azote et phosphore total correspondent aux champs à grande densité de spores ; Bérégadougou, Soumousso 1, Soumousso 2 et Gonsé. Ces champs sont également situés dans la partie humide du Burkina en zone soudanienne et soudano-sahélienne plus fertiles en général que la zone sahélienne. Cependant,

cette corrélation reste limitée à ces trois zones car ces sols sont relativement pauvres en N et P et caractérisent les sols tropicaux en général.

Par rapport aux précédents culturaux, les plus fortes densités sont observées dans les champs à culture niébé et niébé-céréales, puis viennent les cultures de céréales et enfin les jachères. Ces résultats sont à l'opposé de ceux de Li *et al.* (2007) qui ont montré que la densité des spores est plus grande dans les sols jamais cultivés, puis viennent les sols en jachère et enfin les sols cultivés. Cependant, leurs travaux ont été effectués dans un écosystème avec 625 mm / an de pluie et 21°,9 C à 43° C de température ; ce qui pourrait expliquer cette différence.

Les trois genres de Glomeromycota identifiés au cours de cette étude (*Acaulospora*, *Gigaspora* et *Glomus*) ont déjà été observés en zone soudanienne du Burkina Faso sous des plantations d'*Acacia holosericea* et *Acacia mangium* (Bâ *et al.*, 1996).

Les structures caractéristiques comme la couleur, la forme, la présence de sac sporifère, de bouclier de germination, de bulbe suspenseur permettent d'identifier les spores (Bâ *et al.*, 1996). Il est impossible d'identifier sur la base de la morphologie les spores lorsque leurs structures caractéristiques sont absentes (Bago *et al.*, 1998). Au cours de notre étude, seuls trois genres avec des structures caractéristiques ont pu être identifiés parmi les 7 morphotypes. Certaines structures caractéristiques ont pu être perdues au cours du processus d'extraction des spores et par conséquent il est difficile d'attribuer un genre à un morphotype. Aussi, la maturité des spores est asynchrone dans le sol (Manga *et al.* 2007) si bien que les caractéristiques d'un genre peuvent être identifiées chez différents morphotypes, cas du genre *Gigaspora* dont nous avons trouvé les caractéristiques au niveau des morphotypes blanc, blanc-jaune et noir gros.

Les spores ont des structures unicellulaires à paroi épaisse formée de plusieurs couches de texture. Des études ultra structurales permettent aussi d'identifier les champignons mycorhiziens. Des moyens techniques limités ne nous ont pas permis de distinguer les genres par rapport aux différentes parois constitutives.

De nos jours, la méthode de plus en plus utilisée, mais coûteuse pour identifier les genres et/ou espèces de champignons MA est la biologie moléculaire, en particulier l'amplification et le séquençage de différentes régions de l'ADN ribosomal suivie de l'étude des relations phylogénétiques (Lanfranco *et al.*, 2001).

Cependant, les critères morphologiques ci-dessus énumérés sont pris en compte dans ces études moléculaires.

L'un des objectifs principaux du projet étant l'identification des espèces pour une sélection des souches, les spores isolées feront l'objet d'étude morphologique plus précise et moléculaire dans le cadre de la collaboration avec les laboratoires du Nord.

Le niébé est une plante très mycorhizogène avec une fréquence naturelle de mycorhization de plus de 66% dans les 11 champs étudiés. Cela exprime l'habilité des champignons présents dans ces sols à s'associer avec le niébé dans notre cas (Ingleby *et al.*, 1996). L'intensité de mycorhization reste encore moyenne avec 34,1% à 61%. Aucune différence significative n'a été observée entre les champs par rapport à la fréquence et à l'intensité alors que la densité des spores varie. Ceci peut être dû au fait que les spores ne sont pas les seules à pouvoir réinfecter les plantes ; il y'a aussi les racines mycorhizées présentes dans le sol et les mycéliums extraracinaires (Trepanier, 1998 ; Fogain 2001). L'efficience de la mycorhization dépend des caractéristiques chimiques du sol (Pons et Gianinazzi-Pearson, 1984) surtout pour le phosphore, le potassium, l'azote et le pH. Selon ces auteurs, les fortes concentrations de phosphore, et le pH acide inhibent la germination de certaines espèces de spores alors que l'azote sous la forme de  $KNO_3$  n'a aucun effet inhibiteur. Comparativement aux résultats de ces auteurs, les teneurs en phosphore des champs étudiés restent généralement faibles et le pH faiblement acide pour être la cause d'une relative faible intensité de mycorhization.

Le niébé est capable de fixer l'azote atmosphérique de l'air lorsqu'il est en symbiose avec les bactéries fixatrices d'azote atmosphérique. La fixation d'azote permet la culture de la plante sur des sols pauvres en azote et limite les apports d'intrants (Bado 2002). Pour améliorer l'efficacité de cette symbiose, l'inoculation des plante-hôtes à l'aide de souches efficaces sélectionnées est importante. Le fonctionnement de la symbiose est d'autant plus complexe que l'apport de nouvelles souches de rhizobiums par l'inoculation peut créer une compétition (Kosslak *et al.* 1983). L'utilisation de souches de rhizobiums à partir de nodules prélevées sur des légumineuses indigènes est la méthode la plus efficace pour constituer une collection pour la production d'inoculum (Cleyet – Mareil, 1988). Pour les champs étudiés, nous avons isolé 6 à 10 souches de rhizobiums par champs, soit au total 84 souches. Une étude préliminaire a permis de déterminer en 30 jours de culture, l'infectivité, c'est-à-

dire la capacité à former des nodules avec le niébé, de 83 souches sur les 84 souches isolées. Cependant, il n'est pas sûr que toutes les souches obtenues soient différentes, d'où la nécessité de tester leur efficacité et d'étudier leur diversité à l'aide des outils de biologie moléculaire ; par exemple le PCR/RFLP (Polymerase Chain Reaction / Restriction Fragment Length Polymorphism) ; le séquençage de l'ADNr 18S.

## CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

L'étude de la biodiversité des champignons MA dans les sols sous culture du niébé a permis d'identifier 5 types de spores avant la culture du niébé et 7 types après récolte en utilisant la couleur et la taille des spores comme critère d'identification. La répartition de ces morphotypes de spores par densité décroissante est la suivante : les spores de couleur Noire (62,96% à 68,11%), Marron foncé (17,99% à 26,74%), Marron (7,27% à 7,84%), Blanc-jaune (2,5% à 5,5%) et Blanc, Marron grosse, Noire grosse (moins de 1%). Les densités des champignons MA dans les 11 champs diffèrent significativement. Les plus fortes densités sont observées dans les champs de la zone Soudanienne et Soudano-sahélienne (Soumousso, Bérégadougou, Gonsé) c'est-à-dire dans les régions les plus arrosées suggérant un effet climat dans la répartition des champignons MA.

Le niébé est une plante très mycorrhizogène avec une fréquence de mycorhization de plus de 66% et capable de se développer dans des sols acides et moins fertiles. En plus de cette symbiose mycorhizienne, le niébé s'associe aussi avec les rhizobiums permettant à la plante de fixer l'azote atmosphérique. L'isolement de souches de rhizobiums à partir des nodules dans les 11 champs a donné 83 souches infectives sur le niébé.

Par cette double symbiose, le niébé est capable d'améliorer sa nutrition minérale, hydrique, et d'être tolérante à diverses maladies. Il est alors important de bien connaître les conditions optimales de ces symbioses pour en faire bénéficier la plante. Ainsi, les perspectives qui se dégagent de cette étude peuvent être résumées comme suit :

- ✓ L'identification spécifique des morphotypes de champignons MA et des souches de rhizobiums isolées.
- ✓ La sélection de souches de rhizobiums et de champignons MA efficaces pour chaque variété de niébé cultivée, d'abord en conditions contrôlées en station.
- ✓ La recherche de conditions et de substrats pour la production d'inoculum en grande quantité des deux micro-organismes.

✓ L'évaluation de l'effet de la double inoculation, en milieu paysan, comme bio-fertilisant pouvant assurer une gestion durable des écosystèmes agricoles tout en soutenant une production végétale abondante et de qualité.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**ANONYME 1, 2009.** Les bactéries symbiotiques fixatrices d'azote atmosphérique.

<http://www.bact.Wisc.edu/Bact303/MajorGroupsOfProkaryotes>. Téléchargé le 04/2009.

**ANONYME 2, 2009.** Classification des champignons mycorhiziens à arbuscules.

<http://www.agro.ar.szczecin.pl/~jblaszkowski> . Téléchargé le 04/2009.

**AZCON-AGUILAR C. & BAREA J.M., 1992.** Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil borne plant pathogens – an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza* 6 : 457-464.

**BÂ A.M., DALPE Y. & GUISSOU T., 1996.** Les glomerales d' *Acacia holosericea* et d' *Acacia mangium*. *Bois et forets des tropiques* N°250 : 5 – 18.

**BADO B. V., 2002.** Rôle des légumineuses sur la fertilité des sols ferrugineux tropicaux des zones guinéennes (Farakô-bâ) et soudanienne (Kouaré) du Burkina Faso, Ph D. Université Laval, Canada.

*In* <http://www.infotheque.info/ressource/6093.html>.

**BAGO B., BENTIVENGA S. P., BRENAC V., DODD J.C., PICHE Y. & SIMON L. 1998.** Molecular Analysis of *Gigaspora* (Glomales Gigasporaceae). *New phytol.* 139: 581 – 588.

**BAREA J.M. & AZCON-AGUILAR C., 1982.** Interactions between mycorrhizal fungi and soil microorganisms. *In* *Mycorrhizes : biologie et utilisation*. Ed. INRA, les colloques de l'INRA, n°13, pp 181-193.

**BENNETT A.E., ALERS-GARCIA J. & BEVER J.D., 2006.** Three-way interactions among mutualistic mycorrhizal fungi, plants and plant enemies: hypotheses and synthesis. *The American Naturalist*, Vol. 167, n°2: 141-152.

**BOUAMRI B., DALPE Y., SERRHINI M. N. & BENNANI A., 2006.** Arbuscular Mycorrhizal fungi species associated with rhizosphere of *Phoenix dactylifera* L. in Morocco. African journal of biotechnology, Vol. 5(6): 510-516.

**CARDOSO I. M. & KUYPER T. W., 2006.** Mycorrhizas and tropical soil fertility in agriculture. Ecosystems and Environment, 116 : 72-84.

**CHAUSOD R., 1996.** La qualité biologique des sols: Evaluation et implication. Etude et gestion des sols, 3 (4), pp 261 – 277.

**CISSE N. & HALL A.E., 2003.** Culture traditionnelle du niébé au Sénégal : étude de cas. 27p. [In www.fao.org/waicent/faoinfo/...cisse/cowpea\\_cisse\\_f.htm](http://www.fao.org/waicent/faoinfo/...cisse/cowpea_cisse_f.htm)

**CLEYET-MAREL J. C., 1988.** Protocole de prélèvement et conservation de nodosités récoltées sur des racines de légumineuses. II Rhiz 1A. FAO. 2p.

**CORNET F., DIEM H. G. & DOMMERGUES Y.R., 1982.** Effet de l'inoculation avec *Glomus mosseae* sur la croissance d'*Acacia holosericea* en pépinière et après transplantation sur le terrain. *In Mycorrhizes : biologie et utilisation.* Ed. INRA, les colloques de l'INRA, n°13, pp 281-293.

**CRAUFURD P. Q., SUMMERFIELD R.J., ELLIS R.H. & ROBERT E.H., 1997.** Photoperiod, temperature and the growth and development of cowpea. *In Advances in cowpea research.* Singh B.B., Mohan Raj D.R., Dashielle K.E., Jackai L.E.N (Eds) IITA and JIRCAS, pp 75-86.

**DALPE Y., 2006.** Mycorrhizes et bénéfiques marginaux. Québec vert Mai/juin 2006. pp 8-9.

**DEHNE H. W., 1982.** Interaction between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plante pathogens. Phytopathology 72 : 1114-1119.

**DRABO I., OUEDRAOGO J.T., TIGNEGRE J.B., DABIRE C., BA N.M., SANON A., GNISSA G., NEYA B.J., PACO S., DIASSO G.A., OUEDRAOGO O., ILBOUDO D., TRAORE G.J., SANOU A., BOUNKOUNGOU D.A., TAPSOBA B., OUEDRAOGO T., TARPIGDIGA S., PATO R.J., NANEMA, WETA O., BATIONO B. & THIO J., 2008.** Amélioration variétale du niébé au Burkina Faso, poster présenté à la 8<sup>ème</sup> édition du FRSIT en 2008. Ouagadougou, Burkina Faso.

**EGLI S. & BRUNNER I., 2002.** Les mycorhizes: une fascinante biocénose en forêt. WSL Birmensdorf. 8p.

**EHLERS J.D. & HALL A.E., 1997.** Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). Field crops research 53 : 187-204.

**FALOULA H., 2006.** Paramètres physiologiques, biochimiques et agronomiques pertinents pour les programmes d'amélioration de l'adaptation du niébé (*Vigna unguiculata* L. Walp) au déficit hydrique. Thèse, Université Ouagadougou. 169P.

**FAO, 2009.** Agricultural production, crop primary database. Food and Agricultural Organisation of the United Nations, Rome.

<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx>. Téléchargé le 04/2009.

**FAOSTAT, 2004.** Agricultural production, crop primary database. Food and Agricultural Organisation of the United Nations, Rome. [http:// faostat.fao.org/faostat/](http://faostat.fao.org/faostat/) Telechargé le 10/2008.

**FARIA S.M., LEWIS G.P., SPRENT J.I. & SUTHERLAND J.M., 1989.** Occurrence of nodulation in the leguminosae. New phytol. 111: 607-619.

**FOGAIN R., NJIFENJOU S., KWA M., DEDERCK S. & LOWE J., 2001.** Mycorhization précoce et croissance de deux types de matériel végétal de plantain (Musa AAB). Cahier d'agriculture. Vol. 10, N° 3 : 195 – 197.

MENTION BIEN

**FRANCO A.A. & MUNNS D.N., 1982.** Acidity and aluminium restraints on nodulation, nitrogen fixation and growth of *Phaseolus vulgaris* in solution culture. *Soil sci. Am. J.* , 46 : 296 – 301.

**GARNOTEL J.L., 2006.** Le niébé : la plante. *In*

<http://ntec.free.fr/spip.php?article68lang=fr>. Téléchargé le 04/2009.

**GERDEMANN J. W. & NICOLSON T.H., 1963.** Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Br.mycol.soc.*46 : 235-244.

**GIANINAZZI-PEARSON V., 1982.** Importance des mycorhizes dans la nutrition et la physiologie des plantes. *In* *Mycorhizes : biologie et utilisation*. Ed. INRA, les colloques de l'INRA, n°13 pp 51-59.

**GIANINAZZI S., 1982.** L'endomycorhization contrôlée en agriculture, en horticulture et en arboriculture: problèmes et progrès. *In* *les mycorhizes : biologie et utilisation*. Les colloques de l'INRA, Dijon, France. n°13, pp 231-238.

**GUEYE M., 1983.** *Vigna unguiculata* en symbiose avec *Rhizobium* et *Glomus mosseae*. Thèse de 3<sup>ème</sup> cycle de l'Université Lyon1, France. 154p.

**INGLEBY K., DIAGNE O., DEANS J. D. , LINDLEY D. K., NEYRA M. & DUCOUSSO M., 1996.** Distribution of roots, arbuscular mycorrhizal colonisation and spores around fast – growing tree species in Senegal. *Forest ecology and management*. 90: 19 – 27.

**INGLEBY K., FAHMER A., WILSON J., NEWTON A. C., MASON P. A., & SMITH R. I., 2001.** Interactions between mycorrhizal colonisation, nodulation and growth of *Calliandra calothyrsus* seedlings supplied with different concentrations of phosphorus solution *Symbiosis*. Balaban, Philadelphia/ Rehovot, 30: 15-28.

**INVAM** (International culture collection of VA Mycorrhizal fungi); Téléchargé en 2009. <http://www.invam.caf.wvu.edu>.

**JOHNSON N.C., ZAK D.R., TILMAN D. & PFLEGER F. L., 1991.** Dynamics of vesicular – arbuscular mycorrhizae during old field succession. *Oecologia* 86 : 348 – 358.

**KORMANIK P.P. & MC GRAW A.C., 1982.** Quantification of vesicular arbuscular mycorrhizal in plants roots. *In* methods and principes of mycorrhizal research. (Ed), American phytopatological society, Minnesota, pp. 37-45.

**KOSSLAK R. M., BOHLOOL B. B. DOWDLE S. & SADOWSKY M. J. 1983.** Competition of *Rhizobium japonicum* strains in early stages of soybean nodulation. American society for microbiology, Washington. Vol. 46, n°4: 870-873.

**LANFRANCO L., BIANCIOTTO V., LUMINI E., SOUZA M., MORTON J.M. & BONFANTE P., 2001.** A combined morphological and molecular approach to characterize isolates of arbuscular mycorrhizal fungi in *Gigaspora* (Glomales). *New phytologist*. 152: 169-179.

**LE TACON F., 1985.** Les mycorhizes : une coopération entre plantes et champignons. *La recherche* 166: 624 – 632.

**LI L., LI T. & ZHAO Z. 2007.** Differences of arbuscular mycorrhizal fungal diversity and community between a cultivated land, an old field, and a nerver – cultivated field in a hot and arid ecosystem of southwest China. *Mycorrhiza* 17: 655 – 665.

**LINDERMAN R.G., 1994.** Role of VAM fungi in biocontrol. *In* *Mycorrhizae and plant health*, APS Press, USA. pp 1-26.

**MANGA A., DIOP T.A., TUINEN D.V. & NEYRA M., 2007.** Variabilité génétique des champignons mycorrhiziens associés à *Acacia seyal* en zone semi aride du sénégal. *Science et changements planetaires / secheresse*. Vol. 18, n°2: 129-133.

**NKOUANNESSI M., 2005.** The genetic morphological and physiological evaluation of African cowpea genotypes, Ph D, university of the free state Bloemfontein, South Africa. 131p.

**NWAGA D. & NGO NKOT L., 1998.** Tolérance à l'acidité *in vitro* de rhizobia isolées de *Vigna unguiculata* au Cameroun en comparaison avec *Bradyrhizobium japonicum*. Cahiers agricultures, 7: 407-410.

**OBATON M., 1992.** Facteurs pédoclimatiques limitant la fixation de l'azote chez les légumineuses. *In* Biological nitrogen fixation and sustainability of tropical agriculture. Ibadan IITA, : pp 57-66.

**OLLIVIER B., DIEM H.G., PINTA M. & DOMMERGEUS Y.R., 1982.** Influence de l'infection endomycorhizienne sur la concentration en P et Zn des parties aériennes de *Vigna unguiculata* (L. Walp) cultivé dans un sol Dek. *In* Mycorrhizes : biologie et utilisation. Ed. INRA, les colloques de l'INRA, n°13, pp 155-161.

**OMAR M. B., BOLLAND L., HEATHER W. A., 1979.** A permanent mounting medium for fungi. Bull. Br. Mycol. Soc. 13 : 31 – 32.

**OUEDRAOGO J.T., DRABO I., TIGNEGRE J.B., DABIRE C., SEREME P. & KONATE G., 2003.** Fiches techniques du niébé variétés kvx 396-4-5-2D, kvx 61-1, kvx 745-11P, Gorom local. INERA Burkina Faso.

**PADULOSI S. & NG N.Q., 1997.** Origine, taxonomy and morphology of *Vigna unguiculata* (L. Walp). *In* Advances in cowpea research. Singh B.B., Mohan R.D.L., Dashielle K.E., Jackai L.E.N (eds.) IITA pp 1-2.

**PASQUET R.S. & BAUDOIN J.P., 1997.** Cowpea. tropical plant breeding, CIRAD, Paris, 211 – 219 .

**PERET B., 2007.** Transport de l'auxine et développement du nodule actinorhizien chez l'arbre tropical *Casuarina glauca*. Thèse de doctorat de l'Université Montpellier II. France. 70p.

**PERNES J. & LOURD M., 1984.** Organisation des complexes. *In* Gestion des ressources génétiques des plantes. Tome 2. Lavoisier, Paris, pp 7 – 106.

**PHILLIPS J. M. & HAYMANN D. S., 1970.** Improved proceeding for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 69: 275-280.

**PLENCHETTE C., CLERMONT-DAUPHIN C., MEYNARD J.M. & FORTIN J.A., 2005.** Managing arbuscular mycorrhizal fungi in cropping systems. *Can. J. Plant Sci.* 85: 31-40.

**PONS F. & GIANINAZZI-PEARSON V., 1984.** Influence du phosphore, du potassium, de l'azote et du pH sur le comportement *in vitro* de champignons endomycorhizogènes a vesicules et arbuscules. *In* Cryptogamie, mycologie, Tome 5. pp 87 – 100.

**SANCHEZ P. A., 2002.** Soil fertility and hunger in Africa. *Science* 295: 2019 – 2020.

**SAVKA M.A., DESSAUX Y., OGER P. & ROSSBACH S., 2002.** Engineering bacterial competitiveness and persistence in the phytosphere. *Mol. Plant Microbes Interact.* 15: 866-874.

**SHARMA A.K., JOHRI B.N. & GIANINAZZI., 1992.** Vesicular arbuscular mycorrhizae in relation to plant disease. *World journal of microbiology and biotechnology.* Vol. 8: 559-563.

**SIEVERDING E., 1988.** Effect of soil temperature on performance of different VA mycorrhizal isolates with cassava. *Angewandte botanik.* Vol 62 n°5-6: 295 – 300.

**SINGH B.B., CHAMBLISS O.L. & SHARMA B., 1997.** Recent advances in cowpea breeding. *In* advances in cowpea research; Singh B.B., Mohan R.D.L., Dashielle K.E., Jackai L.E. (pub) JIRCAS – IITA Nigeria. pp 30-49.

**SOW H. A., DIOP T. A., NDIAYE F. MANGA A.G.B. & DIALLO A., 2008.** Influence de la mycorhization arbusculaire sur la culture intensive de l'oignon (*Allium cepa* L.) au senegal. Journal des sciences. Vol.8, N°1:1-6.

**SUMMERFIELD R. J., HUXLEY P.A. & STEELE W., 1974.** Cowpea (*vigna unguiculata* (L.) Walp.). Field crop abstracts 27: 300-312.

**TREPANIER M., 1998.** Effets des champignons endomycorhiziens sur le bouturage et la croissance de plante ligneuses ornementales. Maîtrise ès sciences. Université Laval, Canada. 90p.

**TROUVELOT A., KOUGH J.L. & GIANINAZZI-PEARSON V., 1986.** Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. *In* Aspects physiologiques et génétiques des mycorhizes. INERA (éd.), Dijon, France. pp 217 – 221.

**VINCENT J. M., 1970.** A manual for the practical study of root nodule bacteria. Blackwell scientific publications, Oxford. 164p.

**WIKIPEDIA, 2009.** La fixation biologique de l'azote.

[http://fr.wikipedia.org/wiki/fixation\\_biologique\\_de\\_l'azote](http://fr.wikipedia.org/wiki/fixation_biologique_de_l'azote). Téléchargé le 19/02/2009.

## **ANNEXES**

### **Annexe 1 (Page 27)**

#### Solution d'antibiotique pour la désinfection des spores

100 g Chroramine T hydrate  
10 g Streptomycine sulfate  
0,5 g Gentamicin sulfate

### **Annexe 2 (Page 28)**

#### Polyvinyl-lacto-glycerol (PVLG) pour observation des spores au microscope

100 ml Eau distillée  
100 ml Acide lactique  
10 ml Glycerol  
16,6 g Polyvinyl alcohol (PVA)

### **Annexe 3 (Page 29)**

#### Milieu YMA (Yeast Manitol Agar) pour culture des bactéries

10 g Mannitol  
0,5 g Glutamate – Na  
0,5 g  $K_2HPO_4$   
0,1 g NaCl  
10 ml Solution T ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  à 10 g/l)  
1 ml Solution U ( $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  à 40 g/l)  
1 ml Solution V ( $FeCl_3$  à 4 g/l)  
1 g Extrait de levure  
1 L Eau distillée (Qsp)  
pH= 6,8  
20 g Agar  
Pendant 20 mn à 120°C à l'autoclave

## Annexe 4 (Page 31)

### Milieu Jensen pour l'arrosage des plantes de niébé

10 ml Solution P ( $K_2HPO_4$  à 20 g/l)

10 ml Solution Q ( $MgSO_4, 7H_2O$  à 20 g / l et NaCl à 20 g / l)

20 ml Solution R ( $CaHPO_4$  à 50 g / l)

10 ml Solution D ( $FeCl_3$  à 1,6 g / l)

1 ml oligo-element de Jensen

1 L Eau distillée (qsp)

Ajuster pH à 6 ,7

#### Oligo-element de Jensen

2,86 g  $H_3BO_3$

2,03 g  $MnSO_4, 4H_2O$

0,22 g  $ZnSO_4, 5H_2O$

0,08 g  $CuSO_4, 5H_2O$

0,09 g  $Na_2MoO_4, H_2O$

1 L Eau distillé

MENTION BIEN