



UNIVERSITE D'ANTANANARIVO
FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE

MEMOIRE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME D'ETUDES APPROFONDIES EN
SCIENCES DE LA VIE OPTION BIOTECHNOLOGIE-MICROBIOLOGIE

Présenté par:

RASAMIARIVELO Andoharisoa Vahatriniaina

Maître ès Sciences

Partage des éléments nutritifs entre deux espèces
végétales par l'intermédiaire des symbiotes fongiques
et rhizobiens dans un système de culture riz pluvial-
haricot sur les Hautes Terres malgaches

Soutenu publiquement le 12 Mars 2014 devant la commission d'examen composée de:

Président : Pr JEANNODA Victor
Examineurs : Dr RANDRIANIERENANA Ando
: Pr RAHERIMANDIMBY Marson
Rapporteurs : Dr RANDRIAMBANONA Herizo
: Dr HDR RAMANANKIERANA Heriniaina



REMERCIEMENTS

Le présent travail, dans le cadre du projet FABATROPIMED, a été financé par l'Institut de Recherche pour le Développement et a été réalisé au sein de l'Unité 2 dans le Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement (LME) du Centre National de Recherches sur l'Environnement (CNRE) et dans le Laboratoire des RadioIsotopes (LRI). Je tiens donc à remercier chaque institution et les différents responsables ainsi que leur équipe de m'avoir accueilli.

J'adresse ma gratitude à Monsieur JEANNODA Victor, Professeur titulaire, Responsable de la formation doctorale « Sciences de la vie » à l'Université d'Antananarivo de nous avoir permis de soutenir ce mémoire et de nous faire l'honneur de présider ce mémoire.

J'exprime également ma reconnaissance à Madame le Docteur RANDRIANIERENANA Ando, Chef du Département de Biochimie Fondamentale et Appliquée et à Monsieur le Professeur RAHERIMANDIMBY Marson, Doyen de la Faculté des Sciences à l'Université d'Antananarivo, qui, malgré leurs nombreuses responsabilités, ont répondu à notre sollicitation de siéger en tant que membres du jury.

Que Monsieur le Docteur RANDRIAMBANONA Herizo, chercheur au Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement (LME) du Centre National de Recherches sur l'Environnement (CNRE), rapporteur de ce mémoire, trouve ici mes plus sincères remerciements pour les précieux conseils et les temps consacrés pour ce mémoire.

Un grand merci à Monsieur RAMANANKIERANA Heriniaina, Docteur HDR et Chef de Département du Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement (LME) du Centre National de Recherches sur l'Environnement (CNRE), co-rapporteur de ce mémoire, de m'avoir guidé tout au long de ce travail. Votre enseignement ont été d'une grande aide.

Mes profondes reconnaissances et mes vifs remerciements s'adressent à Monsieur Thierry BECQUER, Docteur HDR et Directeur de Recherche à l'UMR Eco&Sols de l'IRD, qui a codirigé ce mémoire, pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de juger ce travail. Le

temps que vous avez consacré à la lecture de ce document, les remarques pertinentes et votre disponibilité méritent ici notre profonde gratitude.

J'exprime mes vifs remerciements à Madame le Professeur REJO Félicitée, Directeur au Centre National de Recherches sur l'Environnement (CNRE) et Monsieur le Docteur RASOLOMAMPIANINA Rado, Chef du Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement (LME) du Centre National de Recherches sur l'Environnement (CNRE).

Madame RABEHARISOA Lilia, Docteur d'Etat ès Sciences Naturelles, Professeur à l'Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques et Directeur du Laboratoire des Radio Isotopes. Veuillez trouver ici le témoignage de notre profonde gratitude.

Nous ne saurions oublier d'adresser nos vives reconnaissances à toute l'équipe de recherche, particulièrement Madame RAZAFIMANANTSOA Marie-Paule, et les techniciens du Laboratoire des Radio Isotopes pour les aides précieuses qu'ils ont fournies.

Qu'il me soit enfin permis de remercier chaleureusement toute ma famille et mes amis du Centre National de Recherches sur l'Environnement (CNRE), leur soutien et leur aide ont été des plus précieux.

FABATROPIMED

« Services écologiques des légumineuses pour les cycles biochimiques de l'azote et du phosphore et la séquestration du carbone dans les systèmes de culture céréalières en Afrique et dans le bassin Méditerranéen »

La présente étude entre dans le cadre du projet FABATROPIMED. C'est un des 3 grands projets fédérateurs soutenus par Agropolis Fondation à partir de 2011 ; il regroupe pour une durée de quatre ans, 15 équipes de recherche, dont les UMR Eco&Sols, Innovation, LSTM et les unités SCA et Diascope du campus de Montpellier, en partenariat avec des Universités et des Institutions de Recherche de 5 pays africains (Madagascar, Tunisie, Maroc, Sénégal, Burkina-Faso).

Son objectif est d'analyser les bénéfices apportés par des légumineuses à graines pour les systèmes de culture céréalières et pour l'environnement dans des agro-écosystèmes d'Afrique méditerranéenne et tropicale :

- par réduction de l'utilisation des fertilisants minéraux et augmentation de la séquestration du carbone ;
- par augmentation des interactions entre les microorganismes du sol pour l'acquisition et l'utilisation de l'azote et du phosphore par les plantes.

Cinq principaux Work Package (WP) sont prévus dans le cadre de ce projet dont une recherche participative dans six agro-écosystèmes sur la base d'un diagnostic agronomique et environnemental (WP1) associé à une étude de durabilité et d'innovation (WP5) en interdisciplinarité avec le suivi des cycles de C, N et P des sols (WP2), la caractérisation de la diversité fonctionnelle microbienne, symbiotique et rhizosphérique (i.e. dans la zone d'influence des racines) (WP3) où le mémoire ci-après s'inscrit, et finalement la recherche des gènes d'efficacité, d'acquisition et d'utilisation du phosphore pour la fixation symbiotique de l'azote (WP4).

L'équipe de l'UMR Eco&Sols de l'IRD, le Laboratoire Microbiologie de l'Environnement (LME) au sein de l'Unité 2 du Centre National de Recherches sur l'Environnement (CNRE) et le Laboratoire des RadioIsotopes (LRI) ont permis de mener à terme ce mémoire.

TABLE DES MATIERES

GLOSSAIRE.....	i
LISTE DES TABLEAUX.....	i
LISTE DES FIGURES.....	i
LISTE DES PHOTOS.....	i
LISTE DES ANNEXES.....	i
LISTE DES ABREVIATIONS.....	i
INTRODUCTION.....	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	4
I. Rhizosphère.....	4
I.1. Rhizodéposition.....	4
I.2. Microflore de la rhizosphère.....	4
II. Concept de la coexistence et des interactions entre les espèces végétales au sein d'un écosystème.....	5
III. Symbiose.....	6
III.1. Symbiose rhizobienne.....	7
III.1.1. <i>Rhizobia</i> : bactéries fixatrices de l'azote.....	7
III.1.2. Fixation symbiotique de l'azote.....	7
III.1. Symbiose mycorhizienne.....	8
III.2.1. Champignons mycorhiziens.....	8
III.2.2. Classe et structure des champignons.....	9
III.2.2.1. La symbiose ectomycorhizienne.....	9
III.2.2.2. La symbiose endomycorhizienne arbusculaire à vésicules.....	10
IV. Fertilisation et amendement du sol.....	12
IV.1. Types d'engrais.....	12
IV.1.1. Fertilisants minéraux.....	12
IV.1.1. Fertilisants organiques.....	13
IV.1.2. Inocula biologiques.....	13
V. L'Azote et le Phosphore dans le sol et dans la plante.....	14

MATERIELS ET METHODES	15
I. MATERIELS	15
I.1. Matériels végétaux	15
I.1.1. Riz	15
I.1.2. Haricot.....	15
I.1.3. Sorgho	16
I.2. Sols et inocula d'étude	16
I.2.1. Sols rhizosphériques et plantes du site expérimental de Lazaina.....	16
I.2.2. Inocula racines.....	17
II. METHODES	18
II.1. Préparation du substrat de culture et mise en culture.....	18
II.2. Description du dispositif expérimental en serre.....	20
II.3. Evaluation des paramètres.....	21
II.3.1. Croissance des plantes.....	21
II.3.2. Nodulation des plantes	22
II.3.3. Taux d'endomycorhization	22
II.3.4. Teneur en Azote et en Phosphore.....	23
II.3.4.1. Phosphore total.....	23
II.3.4.2. Azote total	24
II.3.5. Activité microbienne du sol	24
II.3.5.1. Activité microbienne totale du sol	25
II.3.5.2. Activités des phosphatases microbiennes du sol.....	25
II.3.6. Détermination du Potentiel Infectieux Mycorhizogène des sols.....	26
II.3.6.1. Dénombrement de spores de champignons mycorhiziens	26
II.3.6.2. Estimation du Nombre Probable de Propagules dans le sol.....	27
II.3.7. Dénombrement de la microflore tellurique	28
II.3.8. Traitement statistique des données.....	29
RESULTATS	30
I. Analyse en composantes principales des variables : développement, teneurs en éléments nutritifs des plantes sous les quatre sols et les propriétés microbiologiques des sols	30

I.1. Relations entre le développement de haricot, les teneurs en éléments nutritifs et le type de sol.....	30
I.2. Relations entre le type de sol, les teneurs en éléments nutritifs et le développement de riz.....	31
I.3. Relations entre le type de sol et les propriétés microbiologiques des sols de haricot et de riz.....	32
II. Analyse de variance : effet système cultural et effet inoculation sur le riz et haricot du sol fumier/TSP20 S4	33
II.1. Effet du système cultural sur le riz et le haricot du sol fumier/TSP20 S4	33
II.1.1. Développement et taux de mycorhization.....	33
II.1.2. Nodulation : nombre des nodules.....	34
II.1.3. Teneurs en azote et en phosphore	35
II.1.4. Propriétés microbiologiques des sols	35
a. Activités enzymatiques des sols : activité des phosphatases et activité microbienne globale	35
b. Structure de la communauté microbienne des sols : spores, propagules, bactéries solubilisatrices du phosphate	36
II.2. Effet de l'inoculum sur le riz et le haricot du sol fumier/TSP20 S4	37
II.2.1. Développement et taux de mycorhization.....	37
II.2.2. Nodulation : nombre de nodules	38
II.2.3. Teneurs en azote et en phosphore	38
II.2.4. Propriétés microbiologiques des sols	39
a. Activités enzymatiques des sols : activité des phosphatases et activité microbienne globale	39
b. Structure de la communauté microbienne des sols : spores, propagules, bactéries solubilisatrices du phosphate	40
II.3. Effet de l'interaction du système cultural et de l'inoculum sur le riz et le haricot du sol fumier/TSP20 S4	41
II.3.1. Développement et taux de mycorhization.....	41
II.3.2. Nodulation : nombre de nodules	42
II.3.3. Teneurs en azote et en phosphore	42
II.3.4. Propriétés microbiologiques des sols	43

a. Activités enzymatiques des sols : activité des phosphatases et activité microbienne globale	43
b. Structure de la communauté microbienne des sols : spores, propagules, bactéries solubilisatrices de phosphate.....	44
DISCUSSION	47
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	52
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	53
ANNEXES	ii
RESUME.....	viii
ABSTRACT	x

GLOSSAIRE

Amendement : Produit apporté aux sols pour augmenter leur fertilité en améliorant leur pH (chaux, calcaire), leur structure (sable, vermiculite) ou leurs éléments nutritifs (compost, cendres de bois).

Biofertilisant : produit appliqué sur les graines, la surface de la plante, le sol contenant des microorganismes vivants (bactéries, champignons, actinomycètes, algues) qui sont capables de fournir des éléments nutritifs sous une forme utilisable, et aussi de sécréter des substances stimulant la croissance de la plante.

Cycle biogéochimique : Processus de transport et de transformation cyclique d'un élément ou composé chimique entre les grands réservoirs que sont la géosphère, l'atmosphère, l'hydrosphère.

Ecosystème : Ensemble formé par une association ou communauté d'êtres vivants (ou biocénose) et son environnement biologique, géologique, édaphique, hydrologique, climatique, etc. (le biotope).

Compétition par exploitation : Une forme de compétition par laquelle une espèce vivante réduit l'efficacité dans l'utilisation d'une ressource, et par conséquent diminue la disponibilité de cette ressource pour les autres espèces.

Compétition par interférence : Elle implique une interaction directe entre deux espèces vivantes comme la compétition pour des ressources limitées. Cette forme de compétition est typiquement néfaste pour les deux espèces d'individus.

Lessivage des sols : Entraînement des substances solubles du sol par un flux d'eau, qui provoque l'appauvrissement en éléments minéraux des couches superficielles des terrains.

Mycorhizes : Symbioses bénéfiques entre certains champignons du sol et la racine des végétaux supérieurs.

Nappe phréatique : Masse d'eau contenue dans les fissures du sous-sol ; elle est accessible généralement par le puits ou par le forage.

Niche écologique : Ensemble des paramètres environnementaux (climatiques, édaphiques, biotiques) au niveau d'une partie de l'écosystème dont dépend une espèce donnée et qui la différencie des autres espèces occupant le même habitat.

Nodule : Excroissance globuleuse, composée de cellules qui réduisent l'azote atmosphérique en ammonium, que développent certaines plantes au niveau de leurs racines, notamment de la famille des Fabacées.

Propagule : Assemblage de cellules au moyen duquel s'initie la multiplication du champignon

Rhizosphère : Partie du sol soumise à l'action des racines

Symbiote : Se dit d'être qui vit en symbiose c'est-à-dire une forme d'association entre deux espèces avec des effets bénéfiques pour chacune des espèces.

Tellurique : Qui concerne la terre ou le sol.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Azote (N) et Phosphore (P) dans le sol et dans la plante (Gobat <i>et al.</i> , 1998).	14
Tableau 2. Préparation des sols et proportions suivant le type de culture expérimenté en serre	19
Tableau 3. Proportions de sol stérilisé et de sol testé pour chaque niveau de dilution.....	27
Tableau 4. Influence du système cultural, monoculture ou coculture, sur le développement et le taux de mycorhization du riz et de haricot du sol fumier/TSP20 S4.....	34
Tableau 5. Influence du système cultural, monoculture ou coculture, sur les teneurs en azote et en phosphore des parties aériennes de riz et de haricot du sol fumier/TSP20 S4	35
Tableau 6. Influence du système cultural, monoculture ou coculture, sur les activités enzymatiques des sols de riz et de haricot.....	36
Tableau 7. Influence du système cultural, monoculture ou coculture, sur la structure de la communauté microbienne des sols de riz et de haricot.	36
Tableau 8. Influence de l'inoculum sur le développement et le taux de mycorhization du riz et de haricot du sol fumier/TSP20 S4.	37
Tableau 9. Influence de l'inoculum sur les teneurs en azote et en phosphore des parties aériennes de riz et de haricot du sol fumier/TSP20 S4.	39
Tableau 10. Influence de l'inoculum sur les activités enzymatiques des sols de riz et de haricot.....	39
Tableau 11. Influence de l'inoculum sur la structure de la communauté microbienne des sols	40
Tableau 12. Effet de l'interaction système cultural avec inoculum sur le développement et le taux de mycorhization du riz et de haricot du sol fumier/TSP20 S4.....	41
Tableau 13. Influence de l'interaction système cultural avec inoculum sur les teneurs en azote et en phosphore des parties aériennes de riz et de haricot du sol fumier/TSP20 S4	43
Tableau 14. Effet de l'interaction système cultural avec inoculum sur les activités enzymatiques des sols de riz et de haricot.....	44
Tableau 15. Effet de l'interaction système cultural avec inoculum sur la communauté microbienne des sols sous riz et sous haricot.....	45

LISTE DES FIGURES

<i>Figure 1.</i> Schéma simplifié du dispositif expérimental de l'essai en serre.	20
<i>Figure 2A. et B.</i> Relations entre la teneur en éléments nutritifs, le développement de Haricot et le type de sol.....	30
<i>Figure 3A. et B.</i> Relations entre les teneurs en éléments nutritifs, le développement de riz et le type de sol.....	31
<i>Figure 4A. et B.</i> Relations entre les propriétés microbiologiques des sols de haricot et de riz et le type de sol.....	32
<i>Figure 5.</i> Nombre de nodules sur les racines de haricot du sol TSP20/M20 S4 mono et coculture.	34
<i>Figure 6.</i> Influence de l'inoculation sur le nombre de nodules sur les racines de haricot du sol TSP20/M20 S4.	38
<i>Figure 7.</i> Effet de l'interaction système cultural avec inoculum sur le nombre de nodules sur les racines de haricot du sol TSP20/M20 S4.	42

LISTE DES PHOTOS

<i>Photo 1.</i> Nodules sur la racine de soja.	7
<i>Photo 2.</i> Structure de l'ectomycorhize et de l'endomycorhize à arbuscules et à vésicules	9
<i>Photo 3.</i> Diversités des spores.	10
<i>Photo 4.</i> Structures composant les mycorhizes à arbuscules et à vésicules.....	11
<i>Photo 5.</i> Vue partielle du site expérimental de Lazaina Avaradrano : culture intercalaire de riz pluvial-haricot sur des sols à différents niveaux de fertilisants.	17
<i>Photo 6.</i> Dispositif expérimental en serre montrant les cultures de riz pluvial et de haricot ..	21

LISTE DES ANNEXES

<i>Annexe 1.</i> Caractéristiques du site expérimental de Lazaina Avaradrano (2012).	ii
<i>Annexe 2.</i> Les solutions utilisées dans les déterminations des activités enzymatiques du sol ..	ii
<i>Annexe 3.</i> Calcul du Nombre Probable de Propagules mycorhiziens (méthode NPP) décrite par Porter (1979).	iv
<i>Annexe 4.</i> Composition du milieu TCP (Tricalcium orthophosphate)	v
<i>Annexe 5.</i> Résultats sur les caractéristiques en couleur et en taille des spores sur les sols à témoin et à TSP20/M20 de riz et de haricot avec ou sans la coculture	vi

LISTE DES ABREVIATIONS

ACP	: Analyse en Composantes Principales
ATP	: Adénosine TriPhosphate
CIRAD	: Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement
CNRE	: Centre National de Recherche sur l'Environnement
FDA	: Fluorescéine Di Acétate
FOFIFA	: FOibem-pirenena ho an'ny Fikarohana ampiharina ho Fampanandrosoana ny eny Ambanivohitra (Centre National de Recherche Appliquée au Développement Rural)
IRD	: Institut de Recherches pour le Développement
LME	: Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement
LRI	: Laboratoire des RadioIsotopes
M20	: Fumier à 20 Kg de P/ ha
MVA	: Mycorhize à Vésicules et à Arbuscules
NPP	: Nombre Probable de Propagules
PIB	: Produit Intérieur Brut
PIM	: Potentiel Infectieux Mycorhizogène du sol
PGPR	: Plant Growth Promoting Rhizobacteria
p-NPP	: para Nitrophénylphosphate
ppm	: partie par million
PSB	: Phosphate Solubilizing Bacteria
TCP	: milieu TriCalcium orthoPhosphate
TM	: Taux de Mycorhization
TSP20	: Triple SuperPhosphate à 20 Kg P/ ha
UFC	: Unité Formant une Colonie

INTRODUCTION

Introduction

INTRODUCTION

Sur les 148,3 millions d'hectares de riziculture dans le monde, environ 19,1 millions d'hectares (13%) sont du riz pluvial répartis sur trois continents : Asie (10,7 millions ha), Amérique latine (3,7 millions ha) et Afrique (2,3 millions ha) (FAO, 2013).

A Madagascar, la production de riz prend généralement une place prépondérante, d'une part, sur le plan économique, où elle occupe 92 % de la population active (MEI, 2010) et contribue à peu près pour le tiers du PIB (MinAgri/ CARD, 2010), d'autre part, sur le plan nutritionnel puisque la base alimentaire malgache est constituée essentiellement de riz, la consommation annuelle par habitant s'élève en moyenne à 97 kg an⁻¹(INSTAT, 2010).

Malgré les fortes potentialités du secteur agricole, le pays fait face à une baisse de production du riz, induisant des problèmes sérieux d'insécurité alimentaire, causée par les catastrophes naturelles (cyclone, inondation, invasion acridienne), les changements climatiques (sècheresse, pluies saisonnières), les faibles pouvoirs d'achat limitant l'accès aux intrants agricoles (semences, engrais) et la crise économique (FAO/PAM, 2013).

Pour autant, la riziculture pluviale ne cesse de se développer, plus particulièrement sur les Hautes Terres, et présente une alternative dans la production rizicole. Ce type de culture est effectué sans submersion sur les versants des collines ou « *Tanety* », dans lequel la plante est alimentée en eau par les pluies.

Les sols dans les systèmes des *tanety* sont malheureusement caractérisés par une faible teneur en éléments minéraux tels que l'azote (Muryama, 1979 ; Stangel, 1979 ; Lacharme, 2001) et le phosphore dont la fraction disponible pouvant être prélevée par la plante est restreinte (Morel, 2006). On assiste aussi à une mauvaise capacité de rétention de l'eau, à des sols à tendance acide et à une forte pression parasitaire (Poisson *et al.*, 1996).

Malgré ces contraintes, la riziculture pluviale a progressé de 64% en superficie contre 22% pour celle de la riziculture en général entre 1985 et 1999 (Dabat *et al.*, 2000). En 2009, pour la région de Vakinankaratra, elle atteint la deuxième place après la forme de riziculture SRA (Système de Riziculture Amélioré) de bas-fonds, avec 14,4% de la superficie rizicultivée et 9,6% de la production rizicole (MEI, 2010).

Compte tenu de ce contexte, l'augmentation de la production de riz par l'exploitation du riz pluvial tout en développant des pratiques agricoles accessibles aux paysans, performantes et agro-écologiques devient primordiale.

Introduction

Différentes techniques culturales peuvent être adoptées dans un système de riz pluvial (Domas *et al.*, 2008) ; et parmi elles compte l'association culturale qui est familière aux paysans malgaches. L'association culturale se définit par la culture en simultané de deux ou plusieurs espèces végétales ou variétés sur la même parcelle en même temps (Andrews et Kassam, 1976 ; Willey, 1979 ; Ofori et Stern, 1987). Elle est souvent pratiquée par les paysans afin d'améliorer la fertilité du sol (Dupin, 2011). En outre, plusieurs études ont démontré l'efficacité, en termes de production, des systèmes s'appuyant sur l'association de diverses espèces de plantes par rapport aux monocultures (Altieri, 1999 ; Tilman *et al.*, 2001 ; Ho, 2002). Par ailleurs, le potentiel bénéfique de l'association d'espèces par rapport aux cultures monospécifiques serait d'autant plus intéressant dans le cas où la disponibilité d'une ressource nutritive est faible (Maestre *et al.*, 2009), ce qui ferait des cultures associées des systèmes performants à bas niveau d'intrants. L'association céréale-légumineuse constitue le modèle dominant en raison de ses capacités d'améliorer l'acquisition de l'azote. De plus, la mise en évidence d'un effet positif pour le prélèvement de phosphore a déjà ouvert un nouveau champ de recherches (Li *et al.*, 2007). De surcroît, la pratique des associations culturales entre des légumineuses et le riz pluvial ont fait l'objet de plusieurs études, entre autres, par Ogutu *et al.* (2012) dans la partie Ouest du Kenya et par Henintsoa (2013) sur les Hautes Terres de Madagascar.

Les microorganismes du sol sont généralement impliqués dans l'amélioration de la croissance des plantes ainsi que dans leur protection contre les agents biologiques et les maladies (El-yazeid *et al.*, 2007). Ils colonisent également la rhizosphère ou l'intérieur des plantes en rendant les éléments nutritifs importants (azote, phosphore) plus disponibles grâce à leur implication dans des processus biogéochimiques tels que la fixation de l'azote atmosphérique et la solubilisation du phosphate minéral (Rokhzadi *et al.*, 2008). Par conséquent, ils sont utilisés comme biofertilisants ou inocula microbiologiques en agriculture. Le terme « biofertilisant » peut se définir comme des produits qui contiennent des cellules vivantes de différents types de microorganismes et qui sont appliqués aux graines, à la surface des plantes ou directement aux sols. L'exploitation de la diversité des microorganismes dans l'écosystème et les relations à bénéfices mutuels (symbiose, complémentarité) dans la rhizosphère, telles que les mycorhizes et les bactéries fixatrices d'azote, ne sont guère une technique nouvelle. D'ailleurs, des publications concernant ce point ont été rapportées maintes fois. Parmi ces publications, Li *et al.*, 2005 et Kolklar *et al.*, 2013 ont même démontré l'effet positif de la co-inoculation de mycorhizes et de bactéries fixatrices d'azote sur un système cultural associatif (maïs-haricot).

Introduction

L'objectif principal de cette étude est d'étudier le partage de l'azote (N) et du phosphore (P), dans un système plus respectueux de l'environnement du sol, qui associe riz pluvial-haricot en présence de symbiotes fongiques et rhizobiens sur des sols contenant des engrais chimiques limités. Par ailleurs, il a été émis comme hypothèses que la pratique culturale associative ainsi que l'utilisation de symbiotes fongiques et rhizobiens :

- optimiseraient le rendement du riz pluvial ;
- augmenteraient l'acquisition d'Azote et du Phosphore pour ce dernier
- permettraient également de gérer durablement la fertilité du sol avec une utilisation limitée de fertilisants chimiques, en agissant sur les propriétés microbiennes du sol.

Afin de vérifier ces hypothèses, les objectifs spécifiques suivants ont été définis:

- ❖ mesurer le développement du riz pluvial et du haricot sur des sols avec ou sans la coculture et inoculés par des symbiotes fongiques et/ou rhizobiens.
- ❖ Déterminer la teneur en azote et en phosphore des parties aériennes des plants de riz et de haricot
- ❖ analyser la structure et le fonctionnement de la communauté microbienne des sols

Ce document est structuré en une partie de synthèse bibliographique précédée du contexte général, puis une seconde partie incluant les matériels et méthodes suivie de la présentation des résultats obtenus et une dernière partie traitant la discussion et la conclusion.

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Rhizosphère

Selon Hartmann *et al.* (2008), la rhizosphère inclut à la fois les racines et la zone du sol entourant les racines et influencée par celles-ci. Cette définition est un élargissement de celle proposée par Hiltner en 1904. Elle constitue le siège des interactions complexes et variées entre les racines, les microorganismes telluriques et les composantes physico-chimiques du sol entraînant « l'effet rhizosphérique » (Katznelson *et al.*, 1962 ; Lemanceau et Heulin, 1998).

De ce fait, en comparaison du sol non rhizosphérique (sol hors de l'influence de la racine), la rhizosphère représente, par ses caractéristiques, un environnement plus riche et dynamique (Lynch et Wipps, 1990).

I.1. Rhizodéposition

La racine contribue essentiellement à la composition du sol rhizosphérique. En effet, elle représente la source principale de composés organiques (Balesdent et Balabane, 1996 ; Kuzyakov et Domanski, 2000 ; Rasse *et al.*, 2005). Le carbone des composés organiques représente un composant majeur pour la qualité de la rhizosphère (Citeau *et al.*, 2008) permettant le développement des microorganismes.

Le processus par lequel la racine libère des composés organiques est nommé la « rhizodéposition » (Shamoot *et al.*, 1968). Il est composé de :

- l'*exsudation* par diffusion passive de composés solubles de faibles masses moléculaires dont majoritairement des oses, des acides aminés ou des acides gras ;
- la *sécrétion* ou *excrétion* par transport actif de composés de fortes masses moléculaires comme des polysaccharides associés à une fraction protéique et des protéines mucilages ;
- la *lyse* par exfoliation des cellules de la coiffe racinaire.

I.2. Microflore de la rhizosphère

La rhizosphère représente un habitat favorable pour la prolifération, les activités et le métabolisme de nombreux microorganismes. Les bactéries représentent les microorganismes les plus nombreux et les plus variés, avec environ un milliard d'individus par gramme de sol. De plus, elles sont plus fortement stimulées par l'effet rhizosphérique que les actinomycètes,

Synthèse bibliographique

les champignons, les algues ou les protozoaires (Dommergues et Mangenot, 1970). Un groupe particulier de bactéries, les Rhizobactéries, se multiplient également dans cette zone d'habitat. Près de 5% d'entre eux, regroupés sous le nom de *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria* (PGPR), favorisent la croissance des plantes et les protègent contre les agents pathogènes (Suslow, 1982 ; Weller, 1988). Les plus fréquemment identifiées sont des *Pseudomonas* du groupe des fluorescents, le groupe des entérobactéries (cas du genre *Bacillus*) et des bactéries fixatrices d'azote (Bakker *et al.*, 1991 ; Kloepper, 1992).

La diversité microbienne de la rhizosphère peut influencer également sur la qualité de la fertilité du sol.

La plupart des microorganismes telluriques, hormis leur influence sur la croissance de la plante et la qualité du sol, jouent un rôle essentiel dans le contrôle des cycles biogéochimiques (Hinsinger *et al.*, 1996) et, en particulier, au niveau de la disponibilité des ressources nutritives puisque ces microorganismes sont les acteurs principaux de la transformation des éléments minéraux difficilement disponibles en des ressources plus assimilables pour la plante. Dans cette perspective, ces microorganismes impliqués dans les cycles biogéochimiques ont été expérimentés et décrits comme des biofertilisants potentiels dans le cadre d'une agriculture plus respectueuse de l'environnement (Rodriguez et Fragua, 1999 ; Johanson *et al.*, 2004 ; Selosse *et al.*, 2004 ; Douds *et al.*, 2005 ; Gentili et Jumpponen, 2006).

II. Concept de la coexistence et des interactions entre les espèces végétales au sein d'un écosystème

Le terme « coexistence » a été utilisé par les écologistes pour décrire une association équilibrée des espèces végétales différentes au sein d'un écosystème (Begon *et al.*, 1996 ; Hart *et al.*, 2003), et qui entraîne une interaction entre ces espèces. Lorsque les individus appartiennent à la même espèce, les interactions sont dites intraspécifiques tandis qu'elles sont interspécifiques dans le cas de plusieurs espèces différentes (Betencourt, 2012). Les effets des interactions sont généralement classés en deux types, négatifs ou positifs, qui se manifestent simultanément et d'une manière bidirectionnelle (Holzapfel et Mahall, 1999), respectivement désignés sous le nom de compétition ou de facilitation.

La *compétition* est définie comme la diminution des performances en termes de croissance, de reproduction et/ou de survie provoquée par un autre individu *via* la diminution de l'accès à la ressource (nutritive ou physique) (Betencourt, 2012). Cela peut être induit directement par la réduction de la disponibilité de la ressource suite au prélèvement de l'individu voisin ou à un prélèvement actif et simultané des deux individus pour une même

Synthèse bibliographique

ressource et la compétition est alors désignée respectivement comme une compétition par exploitation (exploitative competition) ou une compétition par interférence (interference competition), ou indirectement par l'intermédiaire de l'exsudation de molécules toxiques (Betencourt, 2012). Il en résulte les lois de la sélection naturelle qui tendent à favoriser l'espèce capable d'exploiter au maximum, et à son seul profit, les ressources disponibles (Went, 1973 ; Casper et Jackson, 1997)

La *facilitation* correspond à une augmentation des performances d'un individu suite à l'accroissement de la disponibilité de la ressource, induite par un autre individu, impliquant souvent une modification de l'environnement (Callaway, 1995 ; Brooker *et al.*, 2003 ; Bruno *et al.*, 2003). De plus, elle est définie comme étant la capacité d'une plante à influencer d'une manière favorable le développement d'une autre plante (Valiente-Banuet *et al.*, 1991; Dickie *et al.*, 2005).

Globalement, les compétitions et les facilitations entre les végétaux peuvent être soit i) d'ordre physique et mécanique, ou ii) d'ordre microbiologique par l'intermédiaire des microorganismes du sol (Lynch, 1990; Linderman 1988; Kennedy, 1998).

III. Symbiose

Au milieu des associations entre les espèces végétales s'expriment également diverses relations que les plantes et les organismes du sol établissent entre eux, sous l'influence des conditions environnementales (Van der Heijden, 2002 ; Armas *et al.*, 2004).

Au XIX^e siècle, Anton de Bary, rassembla sous le terme générique de symbiose (du grec *sym-* avec et *biosis-* vivre), tous les types d'association (parasitisme, commensalisme) entre deux organismes distincts. Van Beneden (1875) décrit par le terme de mutualisme, une association apportant des bénéfices réciproques aux deux espèces. Actuellement, une définition plus restreinte conclut que la symbiose est une nouvelle compétence métabolique acquise par l'un des partenaires et qui aboutit le plus souvent à la formation d'une nouvelle structure (Douglas, 1994).

Les relations symbiotiques présentent une très grande diversité impliquant des potentialités importantes du point de vue écologique: source de carbone organique, source d'azote et autres nutriments.

III.1. Symbiose rhizobienne

III.1.1. *Rhizobia*: bactéries fixatrices de l'azote

Le terme général de *Rhizobium* est particulièrement attribué aux bactéries GRAM négatif de la classe des α - et β - Protéobactéries, qui sont capables d'établir des associations symbiotiques avec les plantes de la famille des Légumineuses (Doyle et Luckow, 2003). Une grande diversité de bactéries fixatrices d'azote a été dénombrée et décrite, avec 14 genres et 50 espèces dont les capacités à infecter une légumineuse et à former un organe spécialisé « nodule » au niveau de la racine ont été démontrées (Sawada *et al.*, 2003). Les associations avec ces bactéries permettent essentiellement à la plante de pourvoir leur besoin nutritionnel en azote.

III.1.2. Fixation symbiotique de l'azote

Nombreux sont les végétaux qui ne peuvent pas assimiler l'azote moléculaire. Toutefois, les Fabacées puisent l'azote de l'association qu'elles établissent avec des microorganismes particuliers, capable de fixer l'azote atmosphérique (N_2) (Taiz et Zieger, 2002). Cette fixation biologique du diazote est catalysée par un complexe enzymatique appelé nitrogénase. En milieu anoxique, la bactérie réduit l'azote en ammonium (NH_4^+) assimilable par la plante, pour sa croissance et son développement (Rees et Howard, 2000 ; Brenic et Winans, 2005). En échange de l'ammonium, le partenaire végétal apporte à la bactérie la quantité d'énergie nécessaire pour la réduction du N_2 (soit 16 moles d'ATP par molécule) par des molécules carbonées issues de la photosynthèse. Ce processus biochimique s'effectue au niveau des organes spécialisés à la surface des racines des légumineuses : les nodules (Photo 1), par infection du tissu méristématique de l'hôte (Long, 1989).



Photo 1. Nodules sur la racine de soja.

(Source: <http://www.cetiom.fr/soja/cultiver-du-soja/inoculation>)

Néanmoins, dans la fixation de l'azote par les bactéries fixatrices de l'azote, la présence d'oxygène n'est pas le seul inhibiteur considérable ; la teneur en nitrate du sol est également un facteur limitant dans ce processus. En effet, les effets négatifs provoqués par le nitrate sur le rétablissement et le fonctionnement de la symbiose ont été rapportés par de nombreux auteurs (Stephens et Neyra, 1983 ; Drevon *et al.*, 1988 ; Streeter, 1988). Les effets néfastes sont expliqués par la perturbation de la pénétration du rhizobium dans le poil absorbant de la racine, l'interruption du développement des nodules et l'inhibition du mécanisme de fixation de l'azote. Ce dernier cas est causé par l'influence directe ou indirecte du nitrate sur l'efficacité de la barrière des nodules contre l'oxygène (Minchin *et al.*, 1986).

III.1. Symbiose mycorhizienne

III.2.1. Champignons mycorhiziens

Les champignons sont des microorganismes très répandus dans la rhizosphère après les bactéries, dont la densité varie de 10^4 à 10^5 /g de sol (Morel, 1996 ; Soufiane, 1998). Certains de ces champignons forment des *mycorhizes*, une association mutuelle avec la racine des végétaux supérieurs (Smith *et al.*, 1997). Effectivement, les mycorhizes sont des unions durables résultant de l'association entre les racines des végétaux et certains champignons du sol, et elles constituent des partenaires essentiels dans la relation sol-plante-microorganismes. D'ailleurs, certaines espèces végétales ne peuvent croître normalement sans leur symbiote fongique dont elles sont fortement dépendantes et avec qui elles co-évoluent (Janos, 1980 ; Hetrick, 1984 ; Brundrett, 1991 ; Gobat *et al.*, 2003).

La fonction de la mycorhize est primordiale dans tout ou une partie du cycle de la plante hôte croissant sur les sols peu ou pas fertiles (Bowen, 1973) et elle participe dans l'acquisition des éléments nutritifs. Le champignon, biotrophe obligatoire (Smith et Read, 2008), profite des ressources carbonées synthétisées par la plante *via* la photosynthèse qui sont indispensables à son métabolisme, à son cycle de développement et à sa fructification (Bolan, 1991 ; Finlay, 2008). En retour, les hyphes fongiques améliorent la nutrition hydrique et minérale de la plante hôte grâce à l'augmentation du volume de sol prospecté et à la production de diverses enzymes extracellulaires (phosphatase, phytase) susceptibles de mobiliser du phosphore à partir de composés complexes du sol (Manjunath *et al.*, 1989 ; Leyval & Berthelin, 1993 ; Gobat *et al.*, 2003).

III.2.2. Classe et structure des champignons

Les mycorhizes sont classées en plusieurs catégories selon les caractéristiques structurales et l'interface impliquée dans les échanges de nutriments entre les symbiotes. Smith et Read (1997) distinguent sept types de mycorhizes dont les principaux morphophytes sont caractérisés par les ectomycorhizes et les endomycorhizes (Photo 2).

- Les *ectomycorhizes*: les champignons formant les ectomycorhizes appartiennent au groupe des champignons supérieurs tels que les Basidiomycètes et les Ascomycètes (Miller, 1982), et possèdent plus de 5000 espèces (Molina *et al.*, 1992). Cependant, l'association avec les ectomycorhizes concerne un petit nombre d'espèces végétales, seulement 5% des plantes vasculaires particulièrement les espèces ligneuses (Garbaye, 1988).
- Les *endomycorhizes*: ce sont des champignons telluriques au phylum récemment érigé des Gloméromycètes (Schüssler *et al.*, 2001). Ils établissent une symbiose à bénéfices réciproques avec la grande majorité des familles de plantes (92%) (Wang et Qiu, 2006). Il existe 3 types d'endomycorhize : les endomycorhizes à pelotons, les endomycorhizes de type éricoïde et les endomycorhizes à vésicules et arbuscules qui intéressent particulièrement nos recherches.

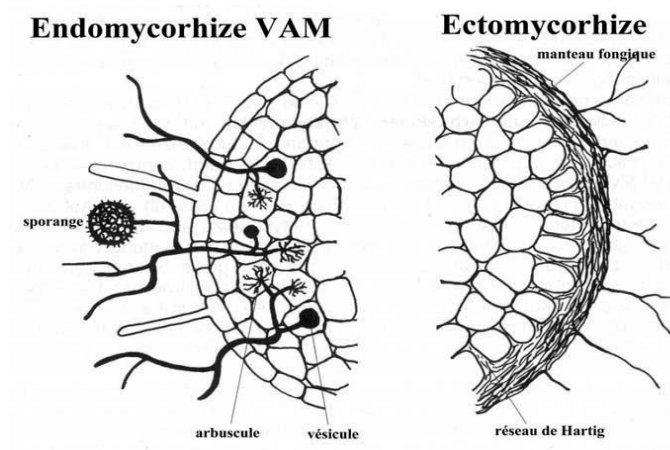


Photo 2. Structure de l'ectomycorhize et de l'endomycorhize à arbuscules et à vésicules

(Source: <http://www.prog-perception.com/IMG/jpg/Mycorhizes.jpg>)

III.2.2.1. La symbiose ectomycorhizienne

La symbiose ectomycorhizienne est caractérisée par la présence autour de la racine de l'hôte d'un manchon compact, qui est le manteau fongique, sans que le champignon ne pénètre les

Synthèse bibliographique

cellules corticales de l'hôte. Un réseau continu, appelé « réseau de Hartig », formé à partir des hyphes, au sein duquel s'effectuent les différents échanges avec l'hôte, s'insinue entre les cellules du cortex racinaire. (Comandini *et al.*, 2006).

L'ectomycorhize exerce une fonction particulière dans l'acquisition du phosphore inorganique dans la solution du sol pour la plante, également dans la mobilisation des formes organiques du phosphore dans le sol à l'aide de l'activité enzymatique de la phosphatase acide et de la phytase (Smith & Read, 2008 ; Ashford *et al.*, 1975 ; Bartlett & Lewis, 1973).

III.2.2.2. La symbiose endomycorhizienne arbusculaire à vésicules

L'origine de la symbiose mycorhizienne à arbuscules a été datée, grâce à des preuves fossiles, à 400 millions d'années auparavant (Remy *et al.*, 1994). Les caractéristiques de cette symbiose se traduisent par le développement du champignon à l'intérieur des cellules corticales, par l'inexistence de manteau fongique autour de la racine de l'hôte, de manchon extérieur et de réseau intercellulaire. Par contre, les hyphes se développent à la surface de la racine et s'étendent même, bien à l'extérieur, dans le sol (Shi *et al.*, 2007 ; Smith & Jakobsen, 2003). Par germination des hyphes, les champignons endomycorhizogènes produisent des organes mycorhiziens spéciaux, les spores, émis dans le sol. La diversité des spores est remarquable (Photo 3), et elle est souvent utilisée comme structure de référence pour l'identification morpho-anatomique des espèces.



Photo 3. Diversités des spores.

(Source: [http://www.erikastyger.com/Biodiversity_files/Erika Styger Mycorrhiza Diversity Madagascar Poster.pdf](http://www.erikastyger.com/Biodiversity_files/Erika%20Styger%20Mycorrhiza%20Diversity%20Madagascar%20Poster.pdf))

De plus, d'autres structures, des vésicules et des arbuscules (à l'origine du nom de ces types de champignons), sont établies par les hyphes à l'intérieur des cellules corticales (Srivastava, 1996) (Photo 4). Les vésicules permettent de stocker les substances de réserves fongiques tandis que les arbuscules représentent des sites d'échange de molécules et de nutriments entre la plante et le champignon (Smith et Read, 2008).

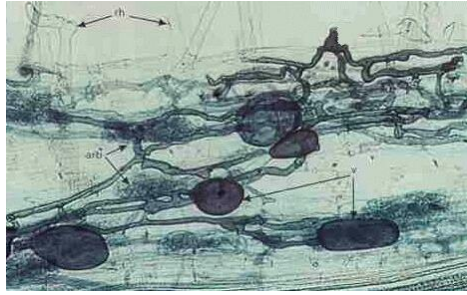


Photo 4. Structures composant les mycorhizes à arbuscules et à vésicules.

rh: hyphe, *arb* : arbuscule; *v*: vésicule

(Source: <http://www.cedre-noir.com/images/Photos/arbuscular.jpg>)

Intérêts de la symbiose endomycorhizienne à arbuscules

Les champignons endomycorhizes à arbuscules et à vésicules ont suscité beaucoup d'intérêts durant les 20 dernières années, grâce à leur effet favorable. Des auteurs ont rapporté les bienfaits des endomycorhizes sur la nutrition minérale et hydrique de la plante et dans la restauration du sol (Strullu *et al.*, 1991 ; Cavito & Miller, 2004 ; Manga, 2005 ; Ndiaye, 2005). D'une part, ils améliorent l'acquisition des éléments minéraux, peu mobiles, par la plante dans le sol comme le phosphore, le potassium, le cuivre et le zinc (Strullu, 1991 ; Harrison, 1999 ; Grant *et al.* 2005 ; Van Der Wal *et al.*, 2006). D'autre part, ils augmentent le volume et la surface d'absorption du sol potentiel grâce aux hyphes fongiques, ce qui influence considérablement la communauté rhizosphérique, la disponibilité et le recyclage des nutriments ainsi que la croissance de la plante (Hodge, 2000 ; Hoffland *et al.*, 2004 ; Rilling & Mummey, 2006).

De plus, l'état mycorhizé fournit également à la plante une meilleure résistance aux stress abiotiques (stress hydrique, salin ou la présence de métaux lourds) et aux stress biotiques. En effet, des plantes mycorhizées sont plus résistantes à certains pathogènes racinaires (Whipps, 2004) mais aussi foliaires (Liu *et al.*, 2007 ; Campos-Soriano *et al.*, 2011).

Cependant, la symbiose endomycorhizienne s'exprime mieux dans les sols pauvres en phosphore. La quantité en phosphore du sol est, en effet, un facteur déterminant dans la mise en place de la symbiose mycorhizienne. Une teneur élevée en phosphore abaisse la perméabilité membranaire des racines et réduit les métabolites de l'exsudation. Ce qui empêche l'initiation et la formation de l'association plante-champignon mycorhizien (Ratnayake *et al.*, 1978).

IV. Fertilisation et amendement du sol

Pour accomplir le processus de leur vie végétative, les plantes ont besoin d'eau et d'éléments nutritifs qu'elles trouvent sous forme minérale dans le sol. Par conséquent, le sol doit contenir ces éléments en quantité suffisante et avoir des caractéristiques facilitant leur disponibilité. Cependant, cela ne semble pas toujours être le cas, puisque certains sols sont pauvres en éléments nutritifs et que ces derniers sont difficilement disponibles. C'est le cas des sols ferrallitiques des sols tropicaux qui couvrent des surfaces importantes à Madagascar, qui sont pauvres en phosphore et fortement acides (Radanielson, 2004).

Des techniques culturales telles que la fertilisation et l'amendement du sol, utilisant des produits fertilisants (engrais), stimulent généralement la fertilité du sol. En effet, elles agissent sur les propriétés physiques et chimiques du sol telles que la capacité de minéralisation des éléments nutritifs, la rétention et la filtration de l'eau, la porosité du sol, la formation des agrégats stables (Tisdall & Oades, 1982 ; Soane, 1990 ; Hudson, 1994 ; Estevez *et al.*, 1996 ; Arriaga & Lowery, 2003). Elles interviennent également sur les propriétés biologiques du sol telles que : la biomasse microbienne du sol et les activités biologiques du sol (Gunapala et Scow, 1998). De plus, les produits fertilisants affectent le développement racinaire et la croissance de la plante.

IV.1. Types d'engrais

IV.1.1. Fertilisants minéraux

Substances d'origine minérale, ils sont produits soit par l'industrie chimique, soit par l'exploitation de gisements naturels (phosphate, potasse) et sont destinés essentiellement à la fertilisation minérale. Ils peuvent apporter à la plante non seulement les trois principaux composants nutritifs (l'azote, le phosphore et le potassium) mais aussi les micronutriments.

Généralement, on distingue les engrais simples et les engrais composés.

- Les engrais simples: ils contiennent un des éléments nutritifs majeurs (azote N, phosphore P ou potassium K)

Exemple : le Triple SuperPhosphate (TSP): un engrais minéral phosphaté obtenu par attaque chimique d'une roche phosphatée par de l'acide phosphorique. La teneur en phosphore est quantifiée en pentoxyde de phosphore P_2O_5 , soit à 46% de P_2O_5 . Le TSP, qui est soluble dans l'eau, corrige la carence en phosphore, et peut contenir également une dose faible de soufre. (FAO, 2006)

- Les engrais composés : ils contiennent au moins deux éléments nutritifs apportés à la plante.

Exemple : le NPK qui contient à la fois de l'azote, du potassium et du phosphore.

La fertilisation minérale permet de couvrir les besoins en nutriments de la plante de façon à assurer un bon développement des cultures et un rendement de qualité (Campbell *et al.*, 1995). Cette fertilisation contribue à accroître la production, par conséquent, la restitution de résidus de culture et la biomasse racinaire. Cependant, il semble que ce ne soit pas toujours suffisant pour maintenir l'azote total à un niveau adéquat et pour assurer une bonne qualité des sols (Mulvaney *et al.*, 2009 ; Nyiraneza *et al.*, 2009). De plus, l'utilisation excessive de fertilisants minéraux conduit à des risques sanitaires (cas de l'accumulation de nitrate dans les eaux potables) ; des risques environnementaux (cas de l'eutrophisation et de la dégradation du sol) ; et des risques sur l'épuisement des ressources minérales et des énergies non renouvelables. Ainsi, des engrais et des amendements organiques sont nécessaires en plus de la fertilisation minérale (Estevez *et al.*, 1996 ; N'Dayegamiye & Côté, 1996).

IV.1.1.Fertilisants organiques

Les fertilisants organiques dérivent principalement des sous-produits végétaux et animaux par des processus biologiques. Partiellement humidifiés et minéralisés sous l'action des microflore du sol, ils agissent sur les composants physico-chimiques et biologiques de la fertilité du sol. Les fertilisants organiques couvrent le fumier et le compost, et sont riches en nutriments.

Fumier : constitué de déjections animales (excréments, urines) et de résidus végétaux (feuilles mortes, pailles), il contient presque tous les macros et microéléments qui sont nécessaires pour la nutrition de la plante. Soit en moyenne, il comprend 0,5-1% N ; 0,15-0,20% P₂O₅ ; 0,5-0,6% K₂O et des micronutriments à de faibles quantités tels que du fer, du manganèse, du molybdate, de l'aluminium (FAO, 2006).

IV.1.2.Inocula biologiques

L'inoculum biologique est particulièrement utilisé comme engrais biologiques. Ce sont des produits qui contiennent des microorganismes vivants tels que des bactéries, des champignons, des actinomycètes et des algues, et inoculés par incorporation dans le système sol/plante, soit par un seul type de microorganisme soit par combinaison de microorganismes.

Synthèse bibliographique

Son implication dans le cycle biogéochimique aide surtout à la fixation de l'azote atmosphérique et la solubilisation ou la mobilisation des nutriments du sol grâce aux symbioses qu'ils établissent avec la plante.

Groupés en plusieurs catégories, les plus connus en agriculture sont :

- Bio-engrais fixateurs d'azote qui incluent entre autres : *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Clostridium*, *Acetobacter* et *Rhizobium*.
- Bio-engrais solubilisateurs ou mobilisateurs du phosphate qui comprennent généralement les microorganismes solubilisateurs du phosphate, tels que : *Bacillus*, *Pseudomonas* ou *Aspergillus*; également les mycorhizes essentiellement les endomycorhizes à vésicules et à arbuscules, qui sont d'excellentes mobilisatrices de nutriments.

V. L'Azote et le Phosphore dans le sol et dans la plante

L'azote et le phosphore sont des éléments vitaux autant pour le métabolisme de la plante que pour la qualité du sol.

Tableau 1. Azote (N) et Phosphore (P) dans le sol et dans la plante (Gobat *et al.*, 1998).

Forme dans le sol	Concentration dans le sol (S)		Rôles principaux dans la plante
	et dans la plante (Pl) (% matière sèche)		
<p>Azote (N)</p> <p><i>Organique</i> : plus de 95% du total.</p> <p>NH_4^+ : forme transitoire, retenue sur le complexe argilo-humique</p> <p>NO_3^- : principale source d'azote pour les plantes ; facilement lixivié.</p>	<p>S : 0,3 à 0,05</p> <p>Pl : 5 à 50</p>	<p>- Constituant des acides aminés, des protéines, des acides nucléiques et des lipides</p> <p>- Favorise la multiplication cellulaire et celle des chloroplastes</p> <p>- Favorise la synthèse des glucides</p> <p>- Forme des réserves dans les graines</p> <p>- Constituant d'hormones</p>	
<p>Phosphore (P)</p> <p><i>Organique</i> : dans les débris de la litière</p> <p><i>Minéral</i>: constituant non assimilable de certains minéraux (ex: apatite)</p> <p>HPO_4^{2-} ou $H_2PO_4^-$ (selon le pH) : formes assimilables</p>	<p>S : 0,1 à 1</p> <p>Pl : 1 à 5</p>	<p>- Constituant principal des protéines phosphorées (ex: lécithines)</p> <p>- Constituant de l'ADN, de l'ARN et des lipides phosphorés</p> <p>- Rôle dans le métabolisme des glucides et dans la mise à fruit</p> <p>- Transport d'énergie dans la cellule (ADP, ATP)</p>	

MATERIELS
ET
METHODES

MATERIELS ET METHODES

I. MATERIELS

I.1. Matériels végétaux

Pour l'association culturale, deux espèces de plantes différentes ont été utilisées. Le riz pluvial, de la famille des Poacées et le haricot, de la famille des Fabacées ont été choisis.

I.1.1. Riz

Classification systématique (<http://www.tropicos.org/>)

Règne	Plantae
Subdivision	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Classe	Equisetopsida
Sous classe	Magnoliidae
Superordre	Lilianae
Ordre	Poales
Famille	Poaceae
Genre	<i>Oryza</i>
Espèce	<i>Oryza sativa</i> L.

Généralités sur la variété

La variété « Ravokatra » ou FOFIFA 154 a été utilisée. Issue d'un croisement variétal et lancée par le Cirad et le Fofifa en 1995, cette variété est utilisée pour la culture de riz pluvial d'altitude (1000 à 1300m). Elle est adoptée par de nombreux paysans des Hauts Plateaux malgaches avec un rendement moyen d'environ 3000 kg/ha (MAEP, 2007).

I.1.2. Haricot

Classification systématique

Règne	Plantae
Subdivision	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta

Matériels et méthodes

Classe	Equisetopsida
Sous classe	Magnoliidae
Superordre	Rosanae
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Genre	<i>Phaseolus</i>
Espèce	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>

Généralités sur la variété

La variété du haricot dénommée « Ranjonomy » ou lingot blanc a été associée avec la culture du riz pluvial. Cette variété a été créée à partir de la sélection massale des populations locales du haricot blanc par le Fofifa en 1995. Elle constitue une variété commerciale, très prisée au niveau du marché local et extérieur et dont le rendement à l'hectare est de 1000-1200 kg (MAEP, 2007).

I.1.3. Sorgho

En outre, le Sorgho (*Sorghum sp*), une plante herbacée mycotrophe de la famille des Poaceae (Graminées), sera utilisé ultérieurement en tant que plante test lors de l'évaluation du Nombre Probable de Propagules (NPP) pour l'effectivité mycorhizogène du sol.

I.2. Sols et inocula d'étude

I.2.1. Sols rhizosphériques et plantes du site expérimental de Lazaina

Des échantillons de plantes et de sols ont été prélevés sur le site expérimental de Lazaina de l'année 2012 (Annexe 1).

L'expérimentation sur ce site consistait à tester l'efficacité d'un certain nombre de fertilisants et du mode de gestion de sol sur la culture intercalaire de riz (*Oryza sativa*) et de haricot (*Phaseolus vulgaris*) (Photo 5).



Photo 5. Vue partielle du site expérimental de Lazaina Avaradrano : culture intercalaire de riz pluvial-haricot sur des sols à différents niveaux de fertilisants.

Au stade de floraison du haricot, les sols rhizosphériques de type fertilisant :

- ❖ Témoin absolu (sans apport de phosphore) (S1)
- ❖ Minéral : TripleSuperPhosphate à 45% de P_2O_5 , apport 20 kg P ha^{-1} (TSP20) (S2)
- ❖ Organique : fumier à dose de 20 kg P ha^{-1} , composé essentiellement des excréments de bovin et de résidus et/ou pailles de riz (M20) (S3)
- ❖ Minéral et organique : TripleSuperPhosphate à $20 \text{ kg P TSP ha}^{-1}$ (TSP20) + fumier à 20 kg P ha^{-1} (M20) (S4)

ainsi que les plantes (haricot et riz) sur ces sols ont été récupérés et ont été utilisés pour notre expérimentation.

I.2.2. Inocula racines

Les racines issues des plantes (riz et haricot) de Lazaina ont servi de source de symbiotes fongiques et/ou rhizobiens et ont été utilisées directement comme inoculum sur nos cultures. Elles ont été coupées en morceau et ont été incorporées dans les sols.

Trois types d'inoculum ont été préparés :

- ❖ Inoculum de racines de haricot (I1)
- ❖ Inoculum de racines de riz (I2)
- ❖ Inoculum de mélange de racines de riz et de haricot (I3)

II. METHODES

II.1. Préparation du substrat de culture et mise en culture

Trois types de culture ont été ainsi réalisés pour l'expérience : culture de riz seul (Mo-Riz), de haricot seul (Mo-Haricot) et de riz-haricot associé (Co-Riz/Haricot), dont les sols de culture ont été préparés comme suit :

Le sol (de Lazaina) a été additionné de sable stérile (v/v) et de 5 ml d'inoculum ayant été mesuré à partir d'un bécher gradué. L'ensemble est ensuite bien mélangé et réparti dans des pots plastiques de 1 L avant d'être humidifié légèrement. 12 sols sur chaque type de culture ultérieure (Mo-Riz, Mo-Haricot, Co-Riz/Haricot) ont été préparés suivant le tableau 2.

Les pots ont été semés de graines de riz (deux grains) et/ou de haricot (une graine), puis, ont été déposés en serre (photopériode 12 h, température variant de 18 à 28°C). L'arrosage des plantes a été effectué 3 fois par semaine avec l'eau de robinet.

Matériels et méthodes

Tableau 2. Préparation des sols et proportions suivant le type de culture expérimenté en serre

(*Mo* : monoculture ; *Co* : coculture ; *I1* : inoculum de racines sous haricot ; *I2* : inoculum de racines sous riz ; *I3* : inoculum de mélange de racines sous riz et sous haricot ; *S1* : sol témoin ; *S2* : sol à TSP20 ; *S3* : sol à M20 (fumier) ; *S4* : sol à TSP20/M20)

<i>Type de culture</i>	<i>Sols de Lazaina (450 g)</i>	<i>Sol stérile (450 g)</i>	<i>Inoculum (5 ml)</i>
Mo-Riz	S1 : Sol témoin sous riz	Sable	I1
Mo-Riz	S2 : Sol TSP20 sous riz	Sable	I1
Mo-Riz	S3 : sol M20 sous riz	Sable	I1
Mo-Riz	S4 : sol TSP20/M20 sous riz	Sable	I1
Mo-Riz	S1 : Sol témoin sous riz	Sable	I2
Mo-Riz	S2 : Sol TSP20 sous riz	Sable	I2
Mo-Riz	S3 : sol M20 sous riz	Sable	I2
Mo-Riz	S4 : sol TSP20/M20 sous riz	Sable	I3
Mo-Riz	S1 : Sol témoin sous riz	Sable	I3
Mo-Riz	S2 : Sol TSP20 sous riz	Sable	I3
Mo-Riz	S3 : sol M20 sous riz	Sable	I3
Mo-Riz	S4 : sol TSP20/M20 sous riz	Sable	I3
Mo-Haricot	S1 : Sol témoin sous haricot	Sable	I1
Mo-Haricot	S2 : Sol TSP20 sous haricot	Sable	I1
Mo-Haricot	S3 : sol M20 sous haricot	Sable	I1
Mo-Haricot	S4 : sol TSP20/M20 sous haricot	Sable	I1
Mo-Haricot	S1 : Sol témoin sous haricot	Sable	I2
Mo-Haricot	S2 : Sol TSP20 sous haricot	Sable	I2
Mo-Haricot	S3 : sol M20 sous haricot	Sable	I2
Mo-Haricot	S4 : sol TSP20/M20 sous haricot	Sable	I2
Mo-Haricot	S1 : Sol témoin sous haricot	Sable	I3
Mo-Haricot	S2 : Sol TSP20 sous haricot	Sable	I3
Mo-Haricot	S3 : sol M20 sous haricot	Sable	I3
Mo-Haricot	S4 : sol TSP20/M20 sous haricot	Sable	I3
Co-Riz/Haricot	S1 : Sol témoin sous haricot + Sol témoin sous riz	Sable	I1
Co-Riz/Haricot	S2 : Sol TSP20 sous haricot + Sol TSP20 sous riz	Sable	I1
Co-Riz/Haricot	S3 : sol M20 sous haricot + sol M20 sous riz	Sable	I1
Co-Riz/Haricot	S4 : sol TSP20/M20 sous haricot + sol TSP20/M20 sous riz	Sable	I1
Co-Riz/Haricot	S1 : Sol témoin sous haricot + Sol témoin sous riz	Sable	I2
Co-Riz/Haricot	S2 : Sol TSP20 sous haricot + Sol TSP20 sous riz	Sable	I2
Co-Riz/Haricot	S3 : sol M20 sous haricot + sol M20 sous riz	Sable	I2
Co-Riz/Haricot	S4 : sol TSP20/M20 sous haricot + sol TSP20/M20 sous riz	Sable	I2
Co-Riz/Haricot	S1 : Sol témoin sous haricot + Sol témoin sous riz	Sable	I3
Co-Riz/Haricot	S2 : Sol TSP20 sous haricot + Sol TSP20 sous riz	Sable	I3
Co-Riz/Haricot	S3 : sol M20 sous haricot + sol M20 sous riz	Sable	I3
Co-Riz/Haricot	S4 : sol TSP20/M20 sous haricot + sol TSP20/M20 sous riz	Sable	I3

II.2. Description du dispositif expérimental en serre

Le dispositif expérimental (figure 1 et photo 6) a été réparti en 3 blocs qui correspondent aux 3 formes d'inoculation (**I1** : inoculation de racines de haricot, **I2** : inoculation de racines de riz, **I3** : inoculation de racines mixtes de riz/haricot). Un bloc contient trois cultures (**Mo-Riz** : riz en monoculture, **Mo-Haricot** : haricot en monoculture, **Co-Riz/Haricot** : riz associé à haricot). Chaque culture a été empotée sur les quatre types de sol quatre fois (**S1** : sol témoin, **S2** : sol à TSP20, **S3** : sol à M20, **S4** : sol à TSP20/M20).

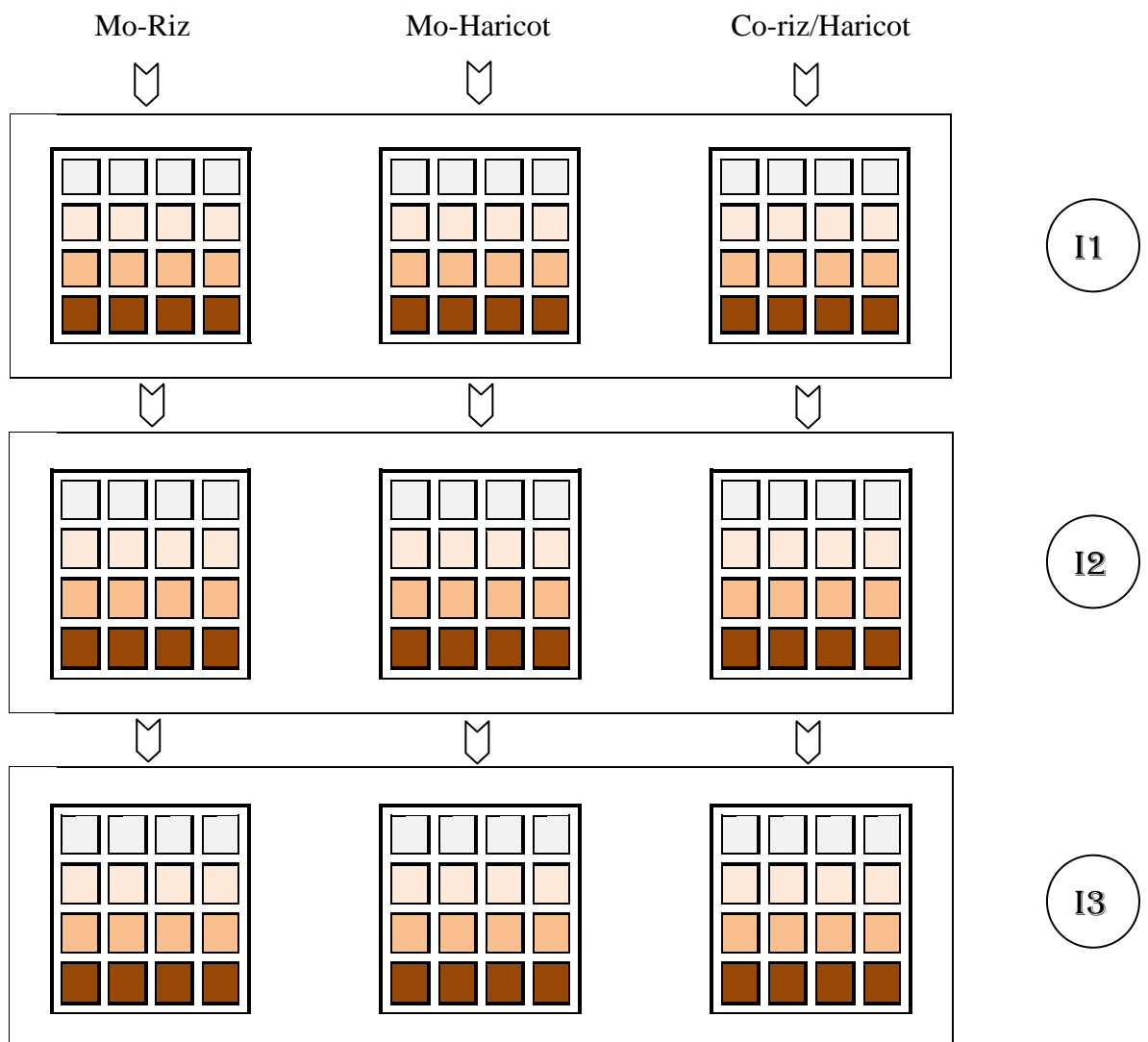


Figure 1. Schéma simplifié du dispositif expérimental de l'essai en serre.

Légendes : I1 : inoculum racines de haricot ; I2 : inoculum de racine de riz ; I3 : inoculum racines mixtes de riz/haricot

□ : Sol sans traitement (S1) ; □ : Sol à TSP20 (S2) ; □ : Sol à M20 (S3) ;
 ■ : Sol à (TSP20+M20) (S4)



Photo 6. Dispositif expérimental en serre montrant les cultures de riz pluvial et de haricot

II.3. Evaluation des paramètres

Au terme de 2 mois de culture (stade floraison du haricot), les plantes et les sols ont été récoltés, et les paramètres suivants ont été mesurés :

II.3.1. Croissance des plantes

Les échantillons de plantes ont été délicatement nettoyés puis leur croissance a été évaluée :

- la hauteur de chaque plante : du collet jusqu'au bourgeon terminal pour le haricot ; du collet au nœud terminal pour le riz
- la biomasse aérienne et racinaire : les parties aériennes et racinaires ont été pesées séparément après lavage pour les racines, puis séchage de la matière fraîche à l'étuve pendant une semaine à 65°C.

II.3.2. Nodulation des plantes

La présence de nodules est rencontrée uniquement sur les racines de plantules de haricot. Ils ont été comptés puis pesés après séchage pendant une semaine à 65°C.

II.3.3. Taux d'endomycorhization

La présence d'infection endomycorhizogène sur les racines est mise en évidence en suivant la technique de Phillips et Hayman (1970), par une observation au microscope optique après coloration.

Eclaircissement et coloration des racines

Sur chaque traitement, les échantillons de racines fines sont prélevés et soigneusement nettoyés. Les racines sont d'abord mises dans une solution de potasse (KOH) à 10% et placées dans l'étuve pendant 20 minutes à 90°C. Elles sont ensuite abondamment rincées à l'eau et trempées dans un bain acide de HCl à 1% pendant 5 minutes. Les racines ainsi éclaircies, sont ensuite colorées dans une solution de bleu de trypan à 0,05% pendant 20 minutes à 90°C.

Observation sous microscope

Les racines traitées sont découpées en fragments d'environ 1cm de longueur. Trente fragments choisis au hasard sont montés et écrasés entre lame et lamelle dans du glycérol à 40% à raison de 10 fragments par lame. Finalement, les fragments sont observés sous microscope à grossissement x40.

Calcul du taux d'infection

Le taux de colonisation fongique est exprimé par le pourcentage de racines colonisées par rapport au nombre total de racines observées. Ce taux de mycorhization (TM) est calculé selon la formule suivante :

$$TM = \frac{\text{Nombre de fragments de racines colonisées}}{\text{Nombre total de fragments de racines observées}} \times 100$$

II.3.4. Teneur en Azote et en Phosphore

Les analyses chimiques pour la détermination de la teneur en éléments minéraux des parties aériennes préalablement séchées puis broyées ont été effectuées au Laboratoire des RadioIsotopes (LRI) à Antananarivo.

II.3.4.1. *Phosphore total*

Après digestion des matériaux végétaux par l'acide nitrique, le dosage du phosphore a été fait selon la méthode au bleu (molybdate d'ammonium et acide ascorbique) de Murphy & Riley (1962).

Digestion

50 mg de matériel végétal ont été pesés et mis dans un tube de 10 ml. Par la suite, 1 ml d'acide nitrique (HNO_3) a été versé dans chaque tube, le tout a été déposé sur un bloc chauffant à température allant de 140 à 180°C jusqu'à digestion du contenu puis a été refroidi à température ambiante.

Dosage du phosphore

Une préparation de gamme étalon de concentrations respectives de 0,008, 0,1, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1, 2, 3 et 4 ppm ainsi qu'un témoin plante utilisant une plante de référence (maïs INRA V463) à la place des échantillons et un témoin blanc (sans aucun matériel végétal) ont été nécessaires. Le dosage colorimétrique, de la teneur en phosphore, a été effectué de la sorte :

- 2,5 ml de solution (filtrat de l'échantillon/ filtrat de plante de référence / gamme) + 7,5 ml eau distillée + 2 ml de réactif de dosage.
- Témoin blanc : 2,5 ml HNO_3 + 7,5 ml eau distillée + 2 ml de réactif de dosage.

Après développement de la coloration (environ 30 mn après ajout du réactif), la lecture de la densité optique a été procédée au spectrophotomètre à 882 nm.

Calcul

Les quantités de phosphore en mg l^{-1} dans les solutions d'attaque diluées sont directement comparables aux étalons. La dilution a été corrigée et le volume d'extrait a été ramené ainsi que la masse de la plante pour obtenir la quantité en mg kg^{-1} .

II.3.4.2. Azote total

L'azote total végétal a été déterminé par la méthode classique d'extraction de Kjeldahl. Le principe étant que le mélange salicylique concentré à chaud minéralise l'azote des matières organiques azotées en azote ammoniacal. Les autres substances sont oxydées (C en CO₂, H en H₂O). L'ammoniac (NH₃) libéré est immédiatement fixé par H₂SO₄ sous forme de (NH₄)₂SO₄. L'ammonium sera dosé par colorimétrie à flux continu sur une chaîne automatisée de Skalar. Le protocole est le suivant :

Extraction

Dans un tube pyrex muni d'un mini-entonnoir a été introduit successivement 50 mg d'échantillon de matériel végétal, 1,5 ml de réactif sulfo-salicylique, 50 mg de catalyseur (K₂SO₄+CuSO₄ + Se : 45/31/2) et 1ml de H₂SO₄ concentré. Le tout a été homogénéisé puis placé dans un bloc chauffant, à une température allant de 200 à 300°C, jusqu'à ce que le minéralisât ait été décoloré. Après refroidissement, le résidu a été transvasé dans une fiole jaugée et ramené à 50 ml.

A partir d'une solution N 5000 ppm, une gamme étalon a été préparée dont les concentrations finales sont : 0, 10, 20, 30, 40,50 ppm. Un témoin plante et un témoin blanc ont été également effectués.

Dosage colorimétrique

Avant le dosage, toutes les préparations ont été rediluées au 1/10^{ème} puis le dosage de NH₄⁺ par l'analyseur automatique utilisant 4 types de réactif : solution tampon, salicylate, dichloro-isocyanure et nitroprussiate a été effectué.

Calcul

Les quantités d'azote en mg l⁻¹ dans les solutions d'attaque diluées sont directement comparables aux étalons. La dilution a été corrigée et le volume d'extrait a été ramené ainsi que la masse de la plante pour obtenir la quantité en mg kg⁻¹.

II.3.5. Activité microbienne du sol

Dommergues (1972) a donné une signification de l'activité microbienne du sol comme étant l'activité qui correspond à l'intervention des microorganismes vivants agissant par leurs propres enzymes et de l'activité correspondant à l'intervention des enzymes du sol, en général à l'état adsorbé sur les colloïdes organiques ou minéraux. La mesure d'une activité

microbienne d'un sol donné se traduit par la mesure de la disparition d'un substrat présent dans le sol.

II.3.5.1. *Activité microbienne totale du sol*

La méthode qui consiste à mesurer l'activité microbienne globale du sol a été faite par l'hydrolyse de la Fluorescéine Di Acétate ou FDA (Schnürer & Rosswall, 1982), produit chimique qui présente l'avantage de considérer plusieurs groupes d'enzymes différentes puisque la FDA étant hydrolysée par des lipases, des protéases, des estérases, etc. Elle permet ainsi une mesure plus globale de l'activité microbienne du sol.

Dosage de la FDA

Un gramme d'échantillon de sol a été mis dans un tube vissé, additionné de 15 ml de solution tampon potassium phosphate à 60 mM (pH 7,6) et de 200 µl de FDA (Réf : F7378 Sigma). En même temps, un témoin enzyme (TE) avec de l'eau à la place de la FDA et un témoin substrat sans échantillon de sol ont été préparés.

Les préparations ont été ensuite incubées 1h sous agitation à 30°C. Pour arrêter la réaction, 0,5 ml de chaque préparation a été prélevé dans des tubes eppendorf avec 0,5 ml d'acétone. Puis, le mélange a été centrifugé pendant 5 mn à 10000tr/mn. A la fin, la lecture de la densité optique du surnageant préalablement filtré (Wattman N°1) a été mesurée au spectrophotomètre à 490 nm.

Détermination du produit d'hydrolyse

La concentration de FDA en µg hydrolysée par gramme de sol par heure a été obtenue en rapportant les valeurs de la densité optique sur la droite de régression de la gamme étalon préparée à partir de solution standard de Fluorescéine à des concentrations variant de 0 à 5 µg ml⁻¹.

II.3.5.2. *Activités des phosphatases microbiennes du sol*

Les phosphatases dans le sol peuvent être produites par un certain nombre de microorganismes : par beaucoup de champignons du sol sous forme d'enzymes intracellulaires et extracellulaires ; et par diverses espèces de bactéries, surtout celles qui sont associées à la rhizosphère (Rodriguez & Fraga, 1999). Ces enzymes sont essentiellement des hydrolases au sein desquelles on distingue les phosphomonoestérases, les phosphodiesterases, et d'autres hydrolases.

Matériels et méthodes

L'activité de la phosphatase dépend fortement du pH. Elle a été évaluée par la méthode d'hydrolyse d'une solution de para-NitroPhénylPhosphate (p-NPP), tamponnée d'une part à pH compris entre 5,8 et 6 pour la phosphatase acide et d'autre part à pH 11 pour la phosphatase alcaline, en para-Nitrophénol (Tabatabai, 1982).

Dosage du p-NPP

100mg de sol ont été pesés et mis en suspension dans 100 µl de p-NPP et 400 µl de tampon Mc Ivlain (Citrate Phosphate Buffer). Pour chaque essai, un témoin enzyme (TE) et un témoin substrat (TS) ont été préparés. Puis, l'incubation de chaque essai a été effectuée à 37 °C pendant 1h sous agitation. Après incubation, la réaction d'hydrolyse a été stoppée en incorporant 100 µl de solution de CaCl₂ à 0,5 M et 400 µl de NaOH à 0,5 M. Finalement, le contenu est centrifugé pendant 5 mn à 1000 tours/min, et le surnageant récupéré a été dosé au spectrophotomètre pour la lecture de la densité optique à 400 nm.

Calcul du produit d'hydrolyse

La quantité des produits de dégradation du phosphate en milieu acide et alcalin est exprimée en µg de p-Nitrophénol produit par gramme de sol sec par heure.

II.3.6. Détermination du Potentiel Infectieux Mycorhizogène des sols

Le Potentiel Infectieux Mycorhizogène (PIM) d'un sol représente sa richesse en propagules mycorhiziennes, de spores, de mycélium et de fragments de racines portant des structures mycorhiziennes et susceptibles d'initier chez la plante, la formation d'association mycorhizienne (Plenchette *et al.*, 1989).

Diverses méthodes permettent d'estimer le PIM d'un sol (Plenchette *et al.*, 1989). Toutefois, l'évaluation de la densité des spores et celle du Nombre Probable de Propagules fongiques dans le sol (NPP) seront les méthodes appliquées pour la détermination de la dynamique des communautés de champignons mycorhiziens de chaque sol.

II.3.6.1. Dénombrement de spores de champignons mycorhiziens

Les spores de champignons ont été extraites selon les différentes étapes décrites par Sieverding (1991).

100g de sol ont été pesés et mélangés avec de l'eau du robinet dans un erlenmeyer. Ce mélange sol-eau a été par la suite agité et filtré à travers des séries de tamisage humide de 200 µm, 100µm, 80µm et 50 µm.

Matériels et méthodes

Le contenu de chaque tamis a été recueilli dans un flacon contenant un peu d'eau distillée et soumis à une première centrifugation à 5000 tours/min pendant 5 mn. A l'issue de cette première centrifugation, le surnageant a été éliminé. Puis une deuxième centrifugation pendant 3 mn à 1000 tours en présence d'un gradient de saccharose 60% (60 : 100) a été réalisée.

Les spores restées en suspension dans le surnageant ont été récupérées par filtration à travers un filtre millipore sur du papier Wattman N°1. L'observation a été effectuée sous loupe binoculaire (grossissement x40) et le nombre de spores a été quantifié.

Un simple calcul permet ensuite d'exprimer le résultat en nombre de spores par 100g de sol.

II.3.6.2. Estimation du Nombre Probable de Propagules dans le sol

Porter (1979) a repris la méthode de Fischer & Yates (1963) afin de déterminer, par un procédé de dilution, la densité de propagules fongiques viables ne pouvant pas être dénombrée (Annexe 3).

Des échantillons de sol rhizosphérique ont été respectivement mélangés avec du sol sableux stérilisé à l'autoclave (140°C, 40 mn, 2 bars) selon les proportions indiquées dans le tableau 3.

Tableau 3. Proportions de sol stérilisé et de sol testé pour chaque niveau de dilution

	1	2	3	4	5	6
Sol stérilisé (g)	0	225	281,25	293,31	298,83	299,71
Sol testé (g)	300	75	18,75	4,69	1,17	0,29

Pour chaque dilution, le mélange des sols a été réparti dans des pots plastiques, avec environ 100g de sol/pot, et 3 répétitions ont été réalisées. Des graines de Sorgho (deux graines/pot) y ont été semées, et les plantes se sont développées pendant 21 jours en serre (température moyenne 18°C la nuit et 28°C la journée et une photopériode de 12h /12h) et les pots ont été fréquemment arrosés.

A la fin des 21 jours, les plantules qui se sont développées sur chaque pot, ont été récoltées. Par la suite, leur système racinaire ont été colorés selon le principe de Phillips & Hayman (1970) afin d'évaluer l'infection par les MVA. La présence d'un point de pénétration de champignon endomycorhizien (vésicule, arbuscule ou hyphe interne) au niveau des racines est considérée comme étant un résultat positif.

II.3.7. Dénombrement de la microflore tellurique

Le sol représente une des plus grandes sources de biodiversité de microorganismes (champignons et bactéries notamment). Le dénombrement de microorganismes telluriques a fait l'objet de nombreux travaux exposés dans les traités de microbiologie (Alexander, 1961 ; Coyne, 1999). Il existe une gamme de techniques utilisables pour dénombrer les microorganismes colonisateurs de la rhizosphère (Kloepper & Beauchamp 1992), mais le dénombrement sur gélose sélective demeure la technique la plus fréquemment employée.

Dans cette étude, les bactéries solubilisatrices de phosphate ou *Phosphate Solubilizing Bacteria* (PSB) ont été mises en évidence par la technique de suspension-dilution en cascade et par étalement sur milieu de culture solide TriCalcium orthoPhosphate (TCP) (Annexe 4) (Frey-Klett *et al.*, 2005), tout en maintenant le plan de travail aseptique.

Ce type de microorganismes constitue une population très importante de la rhizosphère (Sperberg, 1958 ; Alexander, 1977) capable de solubiliser le phosphate. Parmi les genres de bactéries avec ces capacités, il existe les *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Archeobacter*, *Flavobacterium* et *Erwinia*.

Pour chaque échantillon de sol, 5g ont été mélangés dans 45 ml d'eau distillée stérile. A partir de cette solution mère, des dilutions de 10^{-3} et 10^{-4} ont été réalisées et 100 μ l de la suspension de chaque dilution ont été étalés à la surface de milieu TCP.

L'estimation des bactéries capables de solubiliser le phosphate se fait par comptage à l'œil nu des Unités Formant des Colonies (UFC) par gramme de sol, présentant des halos translucides tout autour alors que le reste du milieu demeure opaque, après 2 à 3 jours d'incubation à 28°C.

$$N = \frac{\sum \text{colonies}}{V * (n_1 + 0.1 n_2) * d_1}$$

N : Nombre d'UFC par ml de produit initial par g de sol

\sum colonies : Somme des colonies des boîtes interprétables (2 boîtes par dilutions)

V : Volume de solution du produit déposé dans les boîtes

n_1 : Nombre de boîtes considérées à la première dilution retenue (2 boîtes)

n_2 : Nombre de boîtes considérées à la seconde dilution retenue (2 boîtes)

d_1 : Facteur de dilution de la première dilution retenue

II.3.8. Traitement statistique des données

Les données ont été soumises à une analyse en composantes principales (ACP) afin de visualiser les relations entre variables, ainsi que l'existence éventuelle de groupes d'individus ou de variables (Muracciole, 2009) à partir d'une représentation dans un espace de dimension réduite. Ensuite, les données ont été traitées par une analyse de variance ANOVA à deux facteurs au seuil de 5% et le test de Newman-Keuls a été utilisé pour les recherches de différence entre les groupes de moyenne statistiquement homogène. La transformation normalisante Box-Cox a été appliquée sur les valeurs du nombre des nodules avant les analyses, les données sur le nombre des nodules transformées, notées Y, ont été ainsi obtenues suivant la formule :

$$\frac{x^\lambda - 1}{\lambda}, \text{ avec } x : \text{données d'origine sur le nombre des nodules et } \lambda \text{ trouvé} = 0,193$$

Toutes les analyses statistiques ont été effectuées par le logiciel XLSTAT.

RESULTATS

RESULTATS

Les premières analyses consistent à effectuer des Analyses en Composantes Principales des variables : développement et teneurs en éléments nutritifs des plantes (H : haricot et R : riz) sous les quatre sols (S1 : sol témoin, S2 : sol à TSP20, S3 : sol à M20, S4 : sol à TSP20/M20) ainsi que les propriétés microbiologiques des sols. Les analyses en composantes principales permettront d'identifier le type de sol ayant le plus de relation positive avec les variables. Par conséquent, les analyses de variance à deux facteurs ultérieures, sur l'effet des deux traitements : système cultural et inoculation, se feront uniquement sur ce type de sol.

I. Analyse en composantes principales des variables : développement, teneurs en éléments nutritifs des plantes sous les quatre sols et les propriétés microbiologiques des sols

I.1. Relations entre le développement de haricot, les teneurs en éléments nutritifs et le type de sol

Les figures 2A et 2B montrent la projection sur le plan factoriel des données sur le développement et les teneurs en éléments minéraux des plants de haricot sur les quatre types de sol

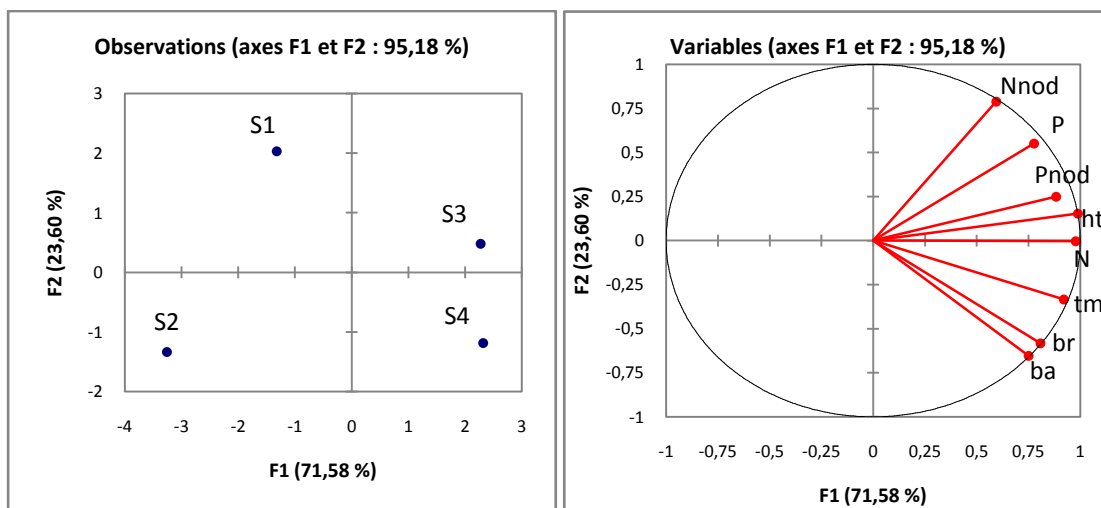


Figure 2A. et B. Relations entre la teneur en éléments nutritifs, le développement de Haricot et le type de sol

(*br* : biomasse racinaire ; *ba* : biomasse aérienne ; *ht* : hauteur des plantes ; *tm* : taux de mycorhization ; *N* : teneur en azote ; *P* : teneur en phosphore ; *Pnod* : poids des nodules ; *Nnod* : nombre des nodules ; *S1* : sol témoin ; *S2* : sol TSP20 ; *S3* : sol fumier M20 ; *S4* : sol TSP20/M20)

Résultats

Le plan factoriel F1xF2 absorbe 95,18% de la variance totale. Le premier axe F1 qui représente à lui seul 71,58% de l'inertie totale, a été retenu pour l'interprétation des résultats.

Selon la figure A et B et l'axe factoriel F1, toutes les variables : la croissance (biomasse aérienne, biomasse racinaire, hauteur), les teneurs en azote et en phosphore, la nodosité et le taux de mycorhization des plants de haricot, se regroupent en abscisse positive et caractérisent le sol à fumier (M20) et à fumier/triplesuperphosphate (M20/TSP20).

De plus, les liaisons entre ces variables montrent une forte corrélation positive ($r > 0,8$) avec l'axe F1. Ce qui signifie que le développement et les teneurs en azote et en phosphore du haricot sont proportionnels à la présence de nodules et de mycorhizes sur les racines du haricot.

I.2. Relations entre le type de sol, les teneurs en éléments nutritifs et le développement de riz

Les figures 3A et 3B montrent la projection sur le plan factoriel (F1xF2) des données sur le développement et les teneurs en éléments minéraux des plants de riz sur les quatre types de sol.

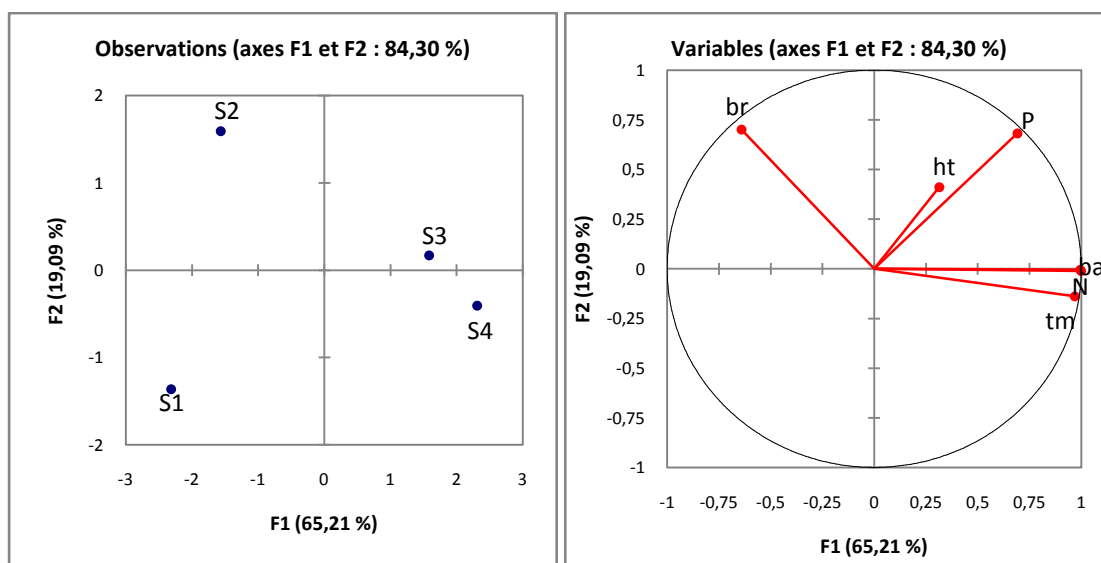


Figure 3A. et B. Relations entre les teneurs en éléments nutritifs, le développement de riz et le type de sol

(*br* : biomasse racinaire ; *ba* : biomasse aérienne ; *ht* : hauteur des plantes ; *tm* : taux de mycorhization ; *N* : teneur en azote ; *P* : teneur en phosphore ; *S1* : sol témoin ; *S2* : sol TSP20 ; *S3* : sol fumier (M20) ; *S4* : sol TSP20/M20)

L'interprétation des résultats a été faite dans le plan factoriel F1xF2 qui absorbe 84,30 % de l'inertie totale. Suivant l'axe factoriel F1 (65,21%), la biomasse racinaire des plants de riz

Résultats

oppose des autres variables : hauteur, biomasse aérienne, taux de mycorhization et teneurs en azote et en phosphore. Par contre, suivant l'axe F2, la biomasse racinaire, la hauteur, le taux de phosphore est à l'antipode de la biomasse aérienne, de la teneur en azote et du taux de mycorhization des plants du riz.

La carte des observations ainsi que la projection des variables (figure 3A et 3B) indiquent que le sol à TSP20 (S2) est lié uniquement à la croissance racinaire du riz et le sol à fumier (M20) (S3) est lié au développement en hauteur et à la teneur en phosphore des plants de riz. Le sol à fumier et TSP20 (S4) est, par contre, responsable de la croissance en biomasse aérienne, le taux de mycorhization et la teneur en azote du riz. On peut en déduire également que le taux de mycorhization stimule significativement le développement aérien et la teneur en azote du riz d'après la matrice de corrélation entre ces variables et le facteur F1 ($r > 0,9$).

I.3. Relations entre le type de sol et les propriétés microbiologiques des sols de haricot et de riz

Les figures 4A et 4B montrent la projection sur le plan factoriel (F1xF2) des données sur les propriétés microbiologiques des sols de haricot et de riz.

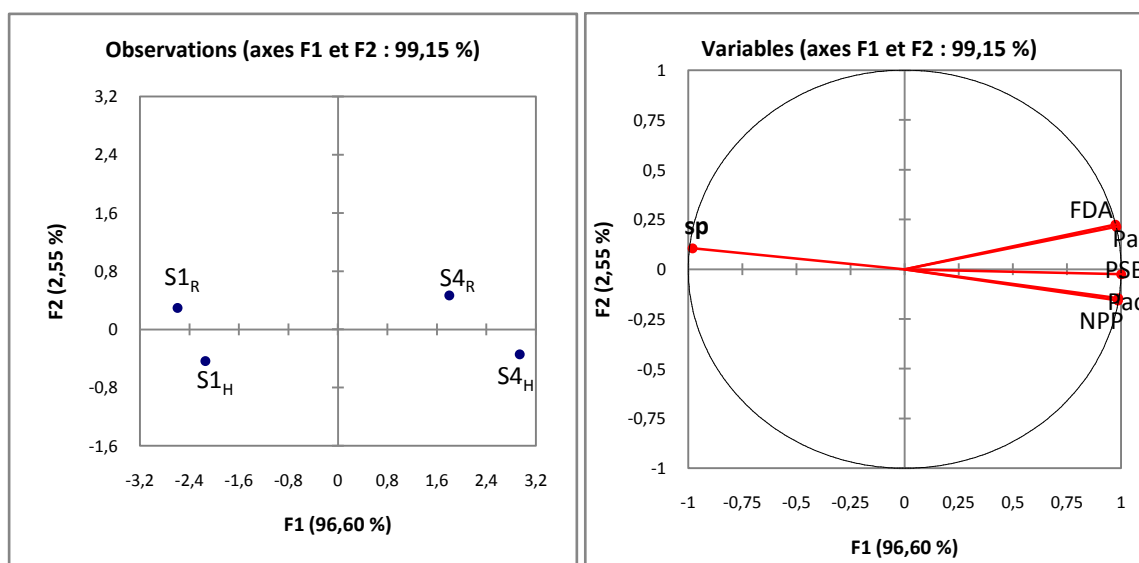


Figure 4A. et B. Relations entre les propriétés microbiologiques des sols de haricot et de riz et le type de sol

(*PSB* : Phosphorus Solubilizing Bacteria (bactéries solubilisatrices de phosphate) ; *NPP* : nombre probable de propagules ; *Pac* : phosphatase acide ; *Pal* : phosphatase alcaline ; *FDA* : activité microbienne globale ; *sp* : spores ; *S1_R* : sol témoin sous riz ; *S1_H* : sol témoin sous haricot ; *S4_R* : sol TSP20/M20 sous riz ; *S4_H* : sol TSP20/M20 sous haricot).

L'Analyse en Composantes Principales des 6 variables (*PSB*, *NPP*, spores, phosphatases acide et alcaline et l'activité microbienne globale), qui décrivent les propriétés

Résultats

microbiologiques des sols de riz et sol de haricot, a mis en évidence une dispersion de 99,15% des variables sur les axes factoriels F1x F2. Suivant l'axe F1 qui absorbe 96,60% de l'inertie, on identifie deux groupes hétérogènes constitués : d'une part, en abscisse positive, par les activités microbiennes du sol (FDA, phosphatase acide et alcaline), la flore solubilisatrice de phosphate ainsi que les propagules. D'autre part, en abscisse négative, par les spores.

La figure et l'axe F1 montrent distinctement l'effet de la présence de fumier et de TSP20 (T4) dans les sols de riz et de haricot par la liaison des individus : sol haricot sous M20/TSP20 et sol riz sous M20/TSP20 avec les 5 variables (PSB, NPP, phosphatases acide et alcaline et l'activité microbienne globale). Ces variables sont également fortement corrélées entre elles avec l'axe F1.

Brièvement, les trois ACP effectuées permettent de noter les faits suivants :

- la présence d'engrais organique (S3 : fumier seul) ou d'engrais, à la fois, organique et minéral (S4 : fumier/TSP20) est favorable au développement des plants de riz et de haricot et à l'infection des mycorhizes, ainsi que la formation de nodules chez le haricot.
- L'engrais organique ou l'engrais organique et minéral ensemble permet d'améliorer le rendement nutritif de riz et de haricot
- l'utilisation d'engrais organique et minéral (S4 : fumier/TSP20) stimule également les propriétés microbiologiques des sols de riz et de haricot et réduit la sporulation des mycorhizes dans ces sols.

II. Analyse de variance : effet système cultural et effet inoculation sur le riz et haricot du sol fumier/TSP20 S4

II.1. Effet du système cultural sur le riz et le haricot du sol fumier/TSP20 S4

II.1.1. Développement et taux de mycorhization

Les analyses de variance effectuées sur les poids secs de la biomasse totale et le taux de mycorhization des plants de riz et de haricot du sol fumier/TSP20 (S4) (tableau 4) ont montré que le développement de haricot a été influencé par le système cultural. En effet, l'association cultural sur le haricot a augmenté significativement la biomasse totale de ce dernier ($p < 0,05$).

Résultats

Tableau 4. Influence du système cultural, monoculture ou coculture, sur le développement et le taux de mycorhization du riz et de haricot du sol fumier/TSP20 S4

Traitements	Haricot		Riz	
	Biomasse totale (g)	Taux de mycorhization (%)	Biomasse totale (g)	Taux de mycorhization (%)
Monoculture	1,01 (b)	79,83 (a)	0,29 (a)	76,74 (a)
Coculture	1,34 (a)	83,88 (a)	0,23 (a)	80,67 (a)

Les données dans la même colonne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-keuls $p < 0,05$

Par contre, le développement de riz et le taux de mycorhization des deux plantes ne dépendent pas du système cultural du fait de l'absence de différence significative sur le développement de riz et le taux de mycorhization des deux plantes.

II.1.2. Nodulation : nombre des nodules

Les résultats (figure 5) montrent que le système cultural (mono ou associé) n'a pas eu d'effet sur la nodulation par absence de différence significative sur le nombre des nodules.

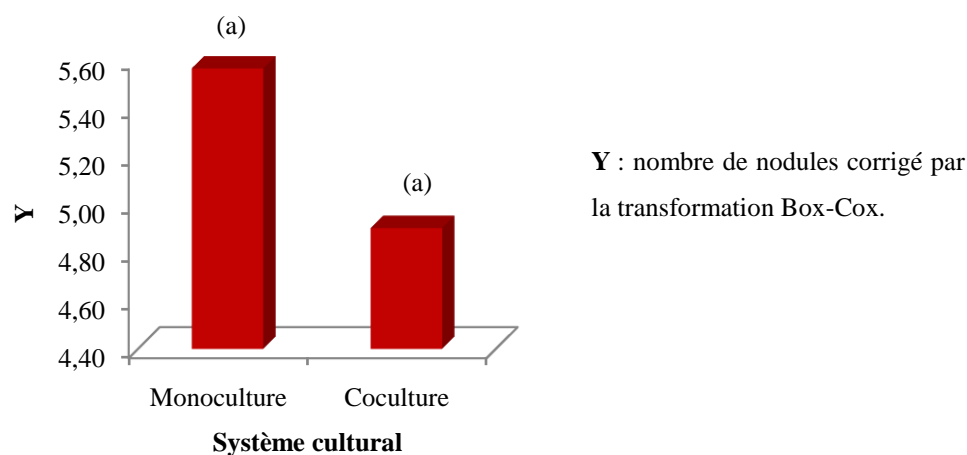


Figure 5. Nombre de nodules sur les racines de haricot du sol TSP20/M20 S4 mono et coculture.

Les bâtons chapeautés par une même lettre constituent un groupe statistiquement homogène, au seuil de probabilité 0,05, selon le test de Newman-Keuls.

Résultats

II.1.3. Teneurs en azote et en phosphore

Des comparaisons ont été réalisées entre les teneurs en azote et en phosphore des parties aériennes de riz et de haricot du sol fumier/TSP20 (S4) avec ou sans la coculture (tableau 5.). Dans le cas des deux plantes, les résultats révèlent que le système cultural a conduit à un effet significatif sur la teneur en phosphore.

Tableau 5. Influence du système cultural, monoculture ou coculture, sur les teneurs en azote et en phosphore des parties aériennes de riz et de haricot du sol fumier/TSP20 S4

Traitements	Haricot		Riz	
	Phosphore (mg.kg ⁻¹)	Azote (mg.kg ⁻¹)	Phosphore (mg.kg ⁻¹)	Azote (mg.kg ⁻¹)
Monoculture	1248,37 (a)	20560,21 (a)	783,61 (b)	16868,10 (a)
Coculture	1056,63 (b)	19638,93 (a)	1162,23 (a)	17470,59 (a)

Les données dans la même colonne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-keuls $p < 0,05$

Cependant, les réponses sur l'effet du système cultural sur la teneur en phosphore des parties aériennes des plantes sont opposées suivant les espèces végétales. En effet, la teneur en phosphore dans le haricot en culture seule est nettement meilleure que celle en coculture : $P_{\text{monoculture}} = 1248,372 \text{ mg/kg}$ contre $P_{\text{coculture}} = 1056,632 \text{ mg/kg}$, alors que le cas est inversé pour la teneur en phosphore dans le riz, soit : $P_{\text{monoculture}} = 783,617 \text{ mg/kg}$ contre $P_{\text{coculture}} = 1162,236 \text{ mg/kg}$. En ce qui concerne la teneur en azote du riz avec ou sans la coculture, les résultats obtenus n'ont pas de différence significative et la même tendance de résultats a été observé au niveau de la teneur en azote de haricot.

II.1.4. Propriétés microbiologiques des sols

a. *Activités enzymatiques des sols : activité des phosphatases et activité microbienne globale*

Les résultats des analyses des activités enzymatiques des sols sont résumés dans le tableau 6. Les activités phosphatasiques acides et les activités microbiennes globales des sols prélevés sous haricot ou sous riz ont toutes montré une différence significative selon le type de traitement système cultural. Effectivement, par rapport aux valeurs enregistrées sur le

Résultats

traitement en culture associé (riz-haricot), les quantités de fluorescéine et de p-nitrophénol acide produites par g de sol ont été deux fois plus élevés que lorsque le riz et le haricot ont été cultivés seuls.

Concernant l'activité des phosphatases alcalines des sols sous haricot ou sous riz, il n'a pas été noté une différence significative avec le traitement système cultural.

Tableau 6. Influence du système cultural, monoculture ou coculture, sur les activités enzymatiques des sols de riz et de haricot.

Traitements	Haricot			Riz		
	Fluorescéine ($\mu\text{g/h/g}$ de sol)	p-nitrophénol acide ($\mu\text{g/h/g}$ de sol)	p-nitrophénol alcaline ($\mu\text{g/h/g}$ de sol)	Fluorescéine ($\mu\text{g/h/g}$ de sol)	p- nitrophénol acide ($\mu\text{g/h/g}$ de sol)	p-nitrophénol alcaline ($\mu\text{g/h/g}$ de sol)
Monoculture	278,17 (b)	119,28 (b)	112,81 (a)	173,22 (b)	122,93 (b)	108,38 (a)
Coculture	537,61 (a)	215,39 (a)	130,37 (a)	537,61 (a)	215,39 (a)	130,37 (a)

Les données dans la même colonne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-keuls $p < 0,05$

b. Structure de la communauté microbienne des sols : spores, propagules, bactéries solubilisatrices du phosphate

Le tableau 7 montre les analyses de variances effectuées sur le nombre de spores, de propagules et de bactéries solubilisatrices de phosphate (PSB) sur des échantillons de sol prélevés sous haricot et sous riz sous l'effet du système cultural.

Tableau 7. Influence du système cultural, monoculture ou coculture, sur la structure de la communauté microbienne des sols de riz et de haricot.

Traitements	Haricot			Riz		
	Spores	NPP	PSB (UFC/g de sol)	Spores	NPP	PSB (UFC/g de sol)
Monoculture	2219 (a)	216 (a)	138 (a)	2295 (a)	113 (b)	121 (b)
Coculture	2111 (a)	320 (a)	156 (a)	2111 (a)	320 (a)	156 (a)

Les données dans la même colonne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-keuls $p < 0,05$. **NPP** : Nombre probable de propagule ; **PSB** : Phosphorus Solubilizing Bacteria (Bactéries solubilisatrices du phosphate)

Résultats

Les sols sous haricot ont révélé l'absence de l'influence du système cultural sur la communauté mycorhizienne (spores et propagules) et microbienne solubilisatrice de phosphate. Par contre, sur les sols sous riz, excepté les spores, le nombre de propagules et de flore solubilisatrice de phosphate dans les sols ont été influencés par le système cultural puisque ils ont été significativement abondants sur un traitement culture associée.

II.2. Effet de l'inoculum sur le riz et le haricot du sol fumier/TSP20 S4

II.2.1. Développement et taux de mycorhization

Les résultats sur le développement et le taux de mycorhization des plants de riz et de haricot du sol fumier/TSP20 ont été résumés dans le tableau 8.

Tableau 8. Influence de l'inoculum sur le développement et le taux de mycorhization du riz et de haricot du sol fumier/TSP20 S4.

Traitements	Haricot		Riz	
	Biomasse totale (g)	Taux de mycorhization (%)	Biomasse totale (g)	Taux de mycorhization (%)
I1	1,37 (a)	86,17 (a)	0,22 (b)	84,59 (a)
I2	0,86 (b)	86,59 (a)	0,22 (b)	86,10 (a)
I3	1,29 (a)	72,80 (b)	0,35 (a)	68,42 (a)

Les données dans la même colonne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-keuls $p < 0,05$. **I1** : inoculum de racines sous haricot ; **I2** : inoculum de racines sous riz ; **I3** : inoculum de racines sous riz/haricot.

Il a été constaté que le traitement inoculum a influé significativement le développement à la fois du riz et de haricot. La biomasse totale du riz ainsi que la biomasse du haricot ont augmenté en présence de l'inoculum de racines de riz/haricot (I3). Les valeurs de la biomasse totale de chaque plante sont respectivement de 1,298 g pour le haricot et 0,350g pour le riz. Concernant le taux de mycorhization, l'infection mycorhizienne sur les racines de haricot atteint plus de 86% avec l'inoculum riz (I2) ou l'inoculum haricot (I1). Cependant, l'inoculation n'a pas eu d'effet sur l'infection mycorhizienne des racines de riz.

Résultats

II.2.2. Nodulation : nombre de nodules

L'estimation de la nodulation sous l'effet de l'inoculation est représentée sur la figure 6.

L'inoculum racine a influencé significativement le nombre de nodules. L'inoculum racines de haricot (I1) a été le plus efficace et a donné une quantité élevée de nodules sur les racines de haricot.

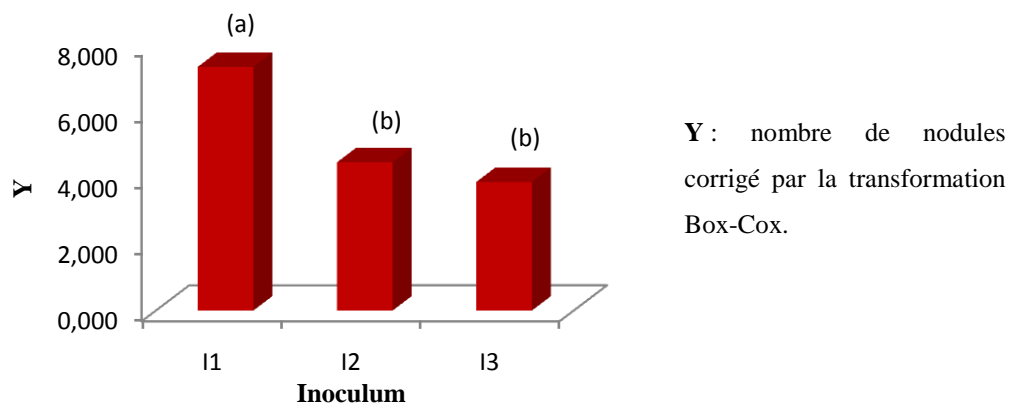


Figure 6. Influence de l'inoculation sur le nombre de nodules sur les racines de haricot du sol TSP20/M20 S4.

I1 : inoculum de racines sous haricot ; **I2** : inoculum de racines sous riz ; **I3** : inoculum de racines sous riz/haricot. Les bâtons chapeautés par une même lettre constituent un groupe statistiquement homogène, au seuil de probabilité 0,05, selon le test de Newman-Keuls.

II.2.3. Teneurs en azote et en phosphore

L'inoculum a agi considérablement sur les teneurs en azote et en phosphore des parties aériennes du riz ainsi que la teneur en azote du haricot (tableau 9). Ces teneurs ont été particulièrement importantes en présence de l'inoculum de racines sous riz/haricot (I3). Cependant, l'inoculation n'a pas eu d'effet sur la teneur en phosphore du haricot par absence de différence significative entre le traitement inoculum.

Résultats

Tableau 9. Influence de l'inoculum sur les teneurs en azote et en phosphore des parties aériennes de riz et de haricot du sol fumier/TSP20 S4.

Traitements	Haricot		Riz	
	Phosphore (mg.kg ⁻¹)	Azote (mg.kg ⁻¹)	Phosphore (mg.kg ⁻¹)	Azote (mg.kg ⁻¹)
I1	1186,19 (a)	20061,18 (ab)	957,97 (a)	16386,03 (b)
I2	1145,57 (a)	18795,35 (b)	847,53 (b)	16023,93 (b)
I3	1125,74 (a)	21442,18 (a)	1113,27 (a)	19098,09 (a)

Les données dans la même colonne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-keuls $p < 0,05$. **I1** : inoculum de racines sous haricot ; **I2** : inoculum de racines sous riz ; **I3** : inoculum de racines sous riz/haricot

II.2.4. Propriétés microbiologiques des sols

a. *Activités enzymatiques des sols : activité des phosphatases et activité microbienne globale*

Les résultats sur les activités enzymatiques des sols (phosphatases et activité microbienne globale) sous l'effet de l'inoculum sont consignés dans le tableau 10.

Tableau 10. Influence de l'inoculum sur les activités enzymatiques des sols de riz et de haricot.

Traitements	Haricot			Riz		
	Fluorescéine (µg/h/g de sol)	p-nitrophénol Acide (µg/h/g de sol)	p-nitrophénol Alcaline (µg/h/g de sol)	Fluorescéine (µg/h/g de sol)	p-nitrophénol Acide (µg/h/g de sol)	p-nitrophénol Alcaline (µg/h/g de sol)
I1	403,21 (a)	153,13 (b)	122,26 (a)	358,09 (a)	124,36 (a)	119,53 (a)
I2	378,45 (a)	122,85 (b)	108,14 (a)	344,48 (a)	172,77 (a)	109,33 (a)
I3	442,02 (a)	226,03 (a)	134,36 (a)	363,69 (a)	210,35 (a)	129,26 (a)

Les données dans la même colonne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-keuls $p < 0,05$. **I1** : inoculum de racines sous haricot ; **I2** : inoculum de racines sous riz ; **I3** : inoculum de racines sous riz/haricot.

Résultats

L'inoculum a influencé significativement l'activité des phosphatases acides du sol de haricot. La quantité de p-nitrophénol produite la plus élevée, en milieu acide du sol haricot, a été sous l'inoculum de racines sous riz/haricot (I3).

Cependant, l'activité des phosphatases acides du sol de riz ainsi que l'activité microbienne globale et l'activité des phosphatases alcalines des sols de riz et de haricot n'ont pas été significativement affectées par le type d'inoculum utilisé.

b. Structure de la communauté microbienne des sols : spores, propagules, bactéries solubilisatrices du phosphate

Les résultats sur la structure de la communauté microbienne des sols sous haricot et sous riz ont été rapportés dans le tableau 11.

Pour les sols sous haricot, il a été noté que l'abondance des spores est significativement liée à la présence de l'inoculum de racines de riz (I2) dans les sols. Cependant, le traitement inoculum n'agit pas significativement sur le nombre de propagules ainsi que celui de bactéries solubilisatrices de phosphate.

Tableau 11. Influence de l'inoculum sur la structure de la communauté microbienne des sols de riz et de haricot.

Traitements	Haricot			Riz		
	Spores	NPP	PSB (UFC/g de sol)	Spores	NPP	PSB (UFC/g de sol)
I1	2109 (b)	295 (a)	185 (a)	2095 (b)	251 (a)	180 (a)
I2	2480 (a)	202 (a)	135 (a)	2564 (a)	157 (a)	105 (c)
I3	1906 (b)	309 (a)	121 (a)	1950 (a)	242 (a)	130 (b)

Les données dans la même colonne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-keuls $p < 0,05$. **I1** : inoculum de racines sous haricot ; **I2** : inoculum de racines sous riz ; **I3** : inoculum de racines sous riz/haricot ; **NPP** : Nombre probable de propagule ; **PSB** : Phosphorus Solubilizing Bacteria (Bactéries solubilisatrices du phosphate).

En ce qui concerne les sols sous riz, il a été constaté un impact significatif du traitement inoculum sur la quantité de spores et de bactéries solubilisatrices de phosphate dans les sols. Le nombre de spores a été augmenté de 2564 spores/g de sol en présence de l'inoculum de racines de riz (I2) tandis que le nombre de bactéries solubilisatrices de phosphate a été accru de 180 UFC/g de sol en présence de l'inoculum de racines de riz/haricot (I3). Toutefois, le

Résultats

traitement inoculum n'a pas d'effet significatif sur le nombre probable de propagules des deux sols.

II.3. Effet de l'interaction du système cultural et de l'inoculum sur le riz et le haricot du sol fumier/TSP20 S4

II.3.1. Développement et taux de mycorhization

L'effet de l'interaction des deux traitements : système cultural avec inoculum sur le développement et le taux de mycorhization des plants de riz et de haricot du sol fumier/TSP20 (S4) a été résumé dans le tableau 12.

Tableau 12. Effet de l'interaction système cultural avec inoculum sur le développement et le taux de mycorhization du riz et de haricot du sol fumier/TSP20 S4

Traitements	Haricot		Riz	
	Biomasse totale (g)	Taux de mycorhization (%)	Biomasse totale (g)	Taux de mycorhization (%)
Mo-I1	1,14 (a)	82,35 (ab)	0,14 (c)	78,19 (a)
Mo-I2	0,44 (b)	78,19 (ab)	0,22 (bc)	88,88 (a)
Mo-I3	1,45 (a)	78,94 (ab)	0,30 (b)	63,15 (a)
Co-I1	1,59 (a)	90 (a)	0,51 (a)	85 (a)
Co-I2	1,28 (a)	95 (a)	0,21 (bc)	83,33 (a)
Co-I3	1,14 (a)	66,66 (b)	0,18 (bc)	73,68 (a)

Les données dans la même colonne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-keuls $p < 0,05$. **Mo** : monoculture ; **Co** : coculture ; **I1** : inoculum de racines sous haricot ; **I2** : inoculum de racines sous riz ; **I3** : inoculum de racines sous riz/haricot

L'interaction des deux traitements agit significativement sur le développement des plants de riz et de haricot ainsi que sur l'infection mycorhizienne des plants de haricot. En ce qui concerne la biomasse totale des plants de haricot et de riz, les valeurs sont relativement faibles sur les traitements système monocultural avec inoculum de racines sous riz (Mo-I2) et système monocultural avec inoculum de racines sous haricot (Mo-I1). Toutefois, la combinaison du système de culture associée avec inoculum de racines sous haricot (Co-I1)

Résultats

augmente la biomasse totale de haricot et de riz ainsi que le taux de mycorhization des plants de haricot.

Le taux de mycorhization des plants de riz n'a pas été affecté par l'interaction des deux traitements. D'ailleurs, le coefficient de détermination R^2 par lequel la variable taux de mycorhization est expliqué par les traitements : système cultural avec inoculum est faible (soit 0,34). Ce qui signifie que la variable taux de mycorhization est en grande partie expliquée par le sol fumier/TSP20 (S4) utilisé.

II.3.2. Nodulation : nombre de nodules

La figure 7 montre l'effet de l'interaction des traitements : système cultural avec inoculum sur le nombre de nodules.

Il a été constaté que le traitement système monoculturel avec inoculum de racines de haricot (Mo-I1) a entraîné une augmentation significative du nombre de nodules sur les racines de la légumineuse.

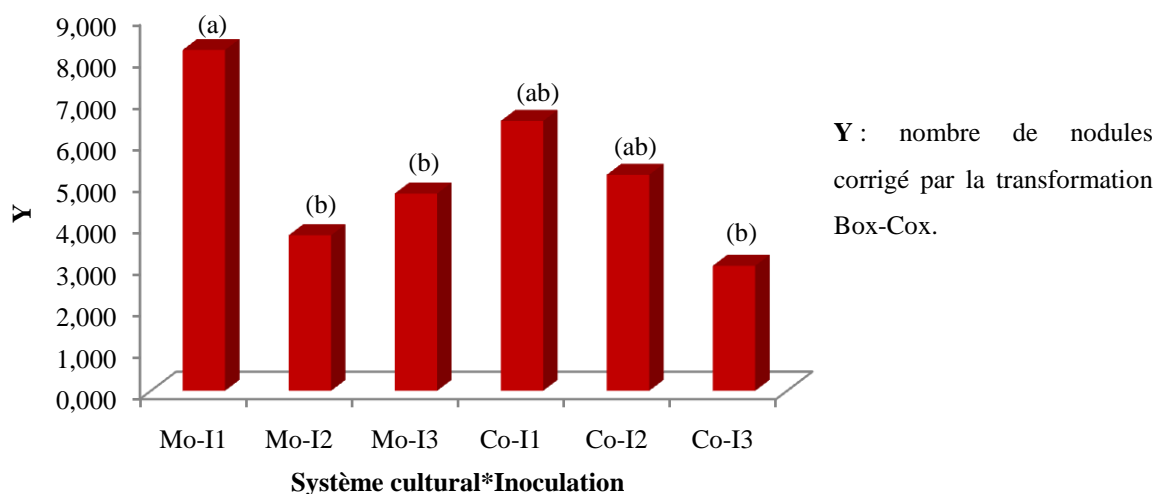


Figure 7. Effet de l'interaction système cultural avec inoculum sur le nombre de nodules sur les racines de haricot du sol TSP20/M20 S4.

Mo : monoculture ; **Co** : coculture ; **I1** : inoculum de racines sous haricot ; **I2** : inoculum de racines sous riz ; **I3** : inoculum de racines sous riz/haricot. Les bâtons chapeautés par une même lettre constituent un groupe statistiquement homogène, au seuil de probabilité 0,05, selon le test de Newman-Keuls

II.3.3. Teneurs en azote et en phosphore

D'après le tableau 13, les teneurs en éléments minéraux des parties aériennes des plants de haricot n'ont pas été influencées par les traitements : système cultural avec inoculum par

Résultats

l'absence de différence significative entre les modalités et le coefficient de détermination R^2 qui est de moins 0,5.

Tableau 13. Influence de l'interaction système cultural avec inoculum sur les teneurs en azote et en phosphore des parties aériennes de riz et de haricot du sol fumier/TSP20 S4

Traitements	Haricot		Riz	
	Phosphore (mg.kg ⁻¹)	Azote (mg.kg ⁻¹)	Phosphore (mg.kg ⁻¹)	Azote (mg.kg ⁻¹)
Mo-I1	1197,64 (a)	20845,04 (a)	724,56 (c)	16505,18 (b)
Mo-I2	1241,40 (a)	18915,55 (a)	828,77 (bc)	16384,69 (b)
Mo-I3	1306,06 (a)	21920,06 (a)	797,51 (bc)	17714,43 (b)
Co-I1	1174,74 (a)	19277,32 (a)	1191,39 (ab)	16266,88 (b)
Co-I2	1010,08 (a)	18675,15 (a)	866,28 (bc)	15663,17 (b)
Co-I3	985,07 (a)	20964,31 (a)	1429,03 (a)	20481,74 (a)

Les données dans la même colonne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-keuls $p < 0,05$. **Mo** : monoculture ; **Co** : coculture ; **I1** : inoculum de racines sous haricot ; **I2** : inoculum de racines sous riz ; **I3** : inoculum de racines sous riz/haricot

Par ailleurs, les teneurs en éléments nutritifs des parties aériennes des plants de riz ont été significativement affectées par les traitements : système cultural avec inoculum. D'ailleurs le pourcentage de R^2 , à plus de 65%, permet d'affirmer que les variables teneurs en éléments nutritifs sont expliquées par le traitement système cultural, le traitement inoculum et leur interaction. De plus, Il a été trouvé que la combinaison de système de culture associée avec inoculation de racines sous riz/haricot (Co-I3) a significativement amélioré les teneurs en azote et en phosphore des plants de riz, soit : P= 1429,032 mg.kg⁻¹ et N= 20481,741 mg.kg⁻¹).

II.3.4. Propriétés microbiologiques des sols

a. *Activités enzymatiques des sols : activité des phosphatases et activité microbienne globale*

Contrairement à l'activité des phosphatases alcalines des sols des deux plantes (avec $R^2 < 0,26$) sur le tableau 14, l'activité microbienne globale ainsi que l'activité des phosphatases acides des sols de riz et de haricot sont fortement influencées par l'interaction du système cultural - inoculum (avec $R^2 > 0,7$).

Résultats

Tableau 14. Effet de l'interaction système cultural avec inoculum sur les activités enzymatiques des sols de riz et de haricot

Traitements	Haricot			Riz		
	Fluorescéine (µg/h/g de sol)	p-nitrophénol acide (µg/h/g de sol)	p-nitrophénol alcaline (µg/h/g de sol)	Fluorescéine (µg/h/g de sol)	p-nitrophénol acide (µg/h/g de sol)	p-nitrophénol alcaline (µg/h/g de sol)
Mo-I1	264,28 (b)	132,93 (bc)	107,43 (a)	174,04 (b)	75,39 (b)	101,97 (a)
Mo-I2	239,20 (b)	64,12 (c)	101,49 (a)	171,27 (b)	163,96 (ab)	103,97 (a)
Mo-I3	331,03 (b)	160,79 (b)	129,50 (a)	174,36 (b)	129,44 (b)	119,29 (a)
Co-I1	542,14 (a)	173,33 (b)	137,09 (a)	542,14 (a)	173,33 (ab)	137,09 (a)
Co-I2	517,69 (a)	181,58 (b)	114,78 (a)	517,69 (a)	181,58 (ab)	114,78 (a)
Co-I3	553,01 (a)	291,27 (a)	139,23 (a)	553,01 (a)	291,27 (a)	139,23 (a)

Les données dans la même colonne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-keuls $p < 0,05$. **I1** : inoculum de racines sous haricot ; **I2** : inoculum de racines sous riz ; **I3** : inoculum de racines sous riz/haricot

La combinaison de système de culture associée avec l'inoculation de racines sous riz/haricot (Co-I3) a été favorable à l'activité enzymatique des sols. Pour le sol sous haricot associé au riz avec inoculation de racines sous riz/haricot (traitement Co-I3), les valeurs sur les produits des activités enzymatiques du sol ont été : fluorescéine= 553,01µg/h/g de sol et p-nitrophénol_{acide}= 291,271µg/h/g de sol. Dans le cas du sol sous riz associé au haricot avec inoculation de racines sous riz/haricot (traitement Co-I3) : fluorescéine produite= 553,01µg/h/g de sol et p-nitrophénol_{acide} produit= 291,271µg/h/g de sol, p-nitrophénol_{alcaline} produit= 139,232µg/h/g de sol.

b. Structure de la communauté microbienne des sols : spores, propagules, bactéries solubilisatrices de phosphate

Le tableau 15 résume l'effet de l'interaction des deux traitements système cultural et inoculum sur la communauté microbienne des sols sous riz et sous haricot.

Concernant les sols de haricot, la communauté mycorhizienne (spores et propagules) n'a pas été influencée par le traitement système cultural avec inoculum. En effet, il n'y a pas de différence significative sur la communauté mycorhizienne (spores et propagules).

Néanmoins, l'interaction du traitement système cultural avec inoculum agit significativement sur la communauté bactérienne solubilisatrice de phosphate du sol. L'abondance de bactéries

Résultats

solubilisatrices de phosphate a été remarquée dans les sols sur le traitement système en monoculture - inoculum de racines sous haricot (Mo-I1) avec PSB= 163 UFC/g de sol.

Tableau 15. Effet de l'interaction système cultural avec inoculum sur la communauté microbienne des sols sous riz et sous haricot

Traitements	Haricot			Riz		
	Spores	NPP	PSB (UFC/g de sol)	Spores	NPP	PSB (UFC/g de sol)
Mo-I1	2199 (a)	217 (a)	163 (a)	2171 (bc)	131 (a)	157 (b)
Mo-I2	2484 (a)	186 (a)	135 (bc)	2652 (a)	97 (a)	105 (c)
Mo-I3	1974 (a)	246 (a)	115 (c)	2062 (bc)	112 (a)	102 (c)
Co-I1	2019 (a)	372 (a)	203 (b)	2019 (bc)	372 (a)	203 (a)
Co-I2	2477 (a)	217 (a)	108 (c)	2477 (ab)	217 (a)	108 (c)
Co-I3	1838 (a)	372 (a)	156 (b)	1838 (c)	372 (a)	156 (b)

Les données dans la même colonne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-keuls $p < 0,05$. **NPP** : Nombre probable de propagule ; **PSB** : Phosphorus Solubilizing Bacteria (Bactéries solubilisatrices du phosphate)

A propos des sols de riz, hormis le nombre probable de propagules, la quantité de spores et de flore solubilisatrice de phosphate a été significativement influencée par l'interaction du traitement système cultural avec inoculum. D'une part, l'interaction du traitement système en monoculture avec inoculum racines de riz (Mo-I2) a accru significativement la quantité de spores dans les sols. D'autre part, l'interaction du traitement système en culture associée avec inoculum racines de haricot (Co-I1) est essentiellement favorable au développement de bactéries solubilisatrices de phosphate dans les sols.

Brièvement, l'interaction du système cultural associatif et de l'inoculation peut affecter positivement le rendement du riz pluvial. D'ailleurs, la bonne combinaison pour la croissance est le système en culture associée avec inoculum racines de haricot (Co-I1). Concernant les teneurs en éléments nutritifs, il a été constaté que l'application combinée de la coculture avec l'inoculation de racines de riz/haricot (Co-I3) constitue le traitement adéquat pour l'amélioration des teneurs en azote et en phosphore dans les parties aériennes de riz. Finalement, les activités enzymatiques importantes sur les sols sous l'effet de la coculture et

Résultats

de l'inoculation présentant de racines de haricot (Co-I1 ou Co-I3) permettent de déduire que ces deux traitements combinés sont efficaces pour la gestion de la fertilité du sol.

DISCUSSION

DISCUSSION

Cette étude est impliquée dans l'amélioration du rendement de production du riz pluvial et dans l'utilisation limitée de fertilisants chimiques pour la gestion de la fertilité du sol. Elle se propose de comprendre le partage du phosphore et de l'azote entre deux espèces végétales le haricot et le riz dans un système cultural associé, combiné à une inoculation rhizobienne et/ou fongique sur des sols à résidus de fertilisants phosphatés. Par ailleurs, les suivis de la croissance des plantes ainsi que des propriétés microbiologiques des sols ont été évoqués.

Influence du sol fumier (M20)/ TripleSuperPhosphate (TSP20) (S4) sur la culture de haricot et de riz

Les ACP ont révélé l'affinité du développement des plantes avec le sol fumier (S3) et le sol fumier (M20)/ TripleSuperPhosphate (TSP20) (S4). Une similitude a été confirmée par les travaux de Rakotoson (2009) où les traitements mixtes (TSP et fumier) et de fumier seul équivalant à un apport de 30kg P/ha ont donné une augmentation significative de la biomasse végétale au niveau de la culture. Pichot *et al.* (1973) et Raharinosy (1983) ajoutent même que le fumier seul à forte dose augmente le rendement, mais ne permet pas d'entretenir la fertilité phosphatée du sol, et que la combinaison du fumier et des engrais minéraux à des doses moyennes permettent d'obtenir des rendements plus optimaux.

Ces résultats ont également montré l'importance d'un amendement en phosphore à la fois organique et minérale du sol sur la nodulation, qui est corrélée avec l'acquisition de l'azote. D'après Shu-Jie *et al.* (2007), la fertilisation phosphatée sur les espèces de légumineuses entraîne une augmentation de l'activité de la nitrogénase des nodules et de l'accumulation de l'azote dans les plantes. Ce qui signifie que la fixation de l'azote atmosphérique par les microorganismes nécessite de l'énergie, sous forme d'ATP par le phosphore apporté par le triple superphosphate, mais aussi de matières organiques à travers le fumier qui est un intrant riche en carbone organique. A son tour les Légumineuses procurent la fertilisation azotée nécessaire à laquelle dépendent les Graminées. Sur l'apport de l'azote par les nodules, Peoples et Herridge (1990) constatent même que la décomposition des nodosités peut apporter 3 à 40kg de N ha⁻¹ sur la culture selon les espèces étudiées.

Discussion

Coexistence entre deux espèces végétales : cas riz-haricot et partage des éléments nutritifs

Les résultats obtenus sur les teneurs en éléments minéraux des parties aériennes des plantes ont montré particulièrement une meilleure acquisition de l'azote et du phosphore pour le riz en association que pour le haricot avec le même système cultural. En effet, au sein d'une association culturale, l'aptitude à absorber les éléments nutritifs diffère d'une plante à une autre due à la différence morphologique des racines et à la capacité des échanges cationiques des plantes (Eskandiri & Ghanbari, 2010). D'autant plus que les légumineuses sont moins compétitrices particulièrement pour le phosphore lorsqu'elles sont associées avec des céréales (Martin & Snaydon, 1982 ; Francis, 1989).

De leur côté, Eskandiri & Ghanbari (2010) n'ont trouvé aucune influence significative de la culture mixte sur le haricot alors que les teneurs en azote et en phosphore du blé ont significativement augmenté sur culture mixte. De plus, Hisinger *et al.* (2011) confirment que les céréales sont avantageuses dans l'acquisition de l'azote ainsi que du phosphore due à une croissance développée de leur racine.

Néanmoins, dans la littérature, au sujet de la distribution de l'azote et du phosphore dans les plantes au sein d'une association culturale, certains auteurs ont trouvé une augmentation à la fois de la teneur des éléments nutritifs dans les matériaux végétaux de deux espèces en association (légumineuse-céréale) (Kolkhar *et al.*, 2013).

Caractéristiques microbiologiques des racines et impact de l'inoculation racines du sol

D'après les résultats, les inoculations par des racines sous haricot (I1) et sous riz/haricot (I3) ont amélioré la croissance des plantes. La présence d'une diversité de microorganismes au niveau de la racine justifie cette réponse de l'inoculation. Nombreuses sont les études qui ont abouti à l'identification des microorganismes de rhizobactéries tels que le groupe des Protéobactéries et des Endobactéries (Sun *et al.*, 2008 ; Joshi et Bhatt, 2011 ; Pereira *et al.*, 2011) ainsi que des mycorhizes à arbuscules et à vésicules (Youpensuk et Yimyam, 2005 ; Scheublin et Van Der Heijden, 2006 ; Malina Singha et Sharma, 2013) qui colonisent les racines des légumineuses et des céréales.

D'une part, les bactéries présentes sur les racines « rhizobactéries » sont désignées comme bénéfiques à la croissance des plantes et représentent les *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR). Des auteurs ont démontré la capacité des rhizobactéries à stimuler la croissance de la plante suite à la colonisation des racines de la plante (Kloepper et Schroth 1978 ; Kloepper *et al.*, 1989 ; Cleyet-Marcel *et al.*, 2001). D'autre part, Artursson *et al.*

Discussion

(2006) ont rapporté l'interaction entre mycorhizes à arbuscules et à vésicules et rhizobactéries et leur potentialité dans la stimulation de la croissance de la plante.

Pour le sol sous la culture de riz, il a été constaté que la flore microbienne solubilisatrice de phosphate, la teneur en phosphore dans les plants de riz ainsi que l'activité des phosphatases acides ont été affectées par l'inoculum de racines sous haricot ou de racines sous riz/haricot. En effet, le phosphate inorganique disponible pour la plante est libéré grâce aux bactéries solubilisatrices de phosphate qui secrètent des phosphatases (Smith & Read, 1997).

Par ailleurs, l'absorption par les plantes des nutriments dans le sol, spécialement les éléments insolubles comme par exemple le phosphore a été facilitée par les mycorhizes (Smith *et al.* 2003, 2004 ; Li *et al.*, 2006).

Finalement, il a été montré que l'effet de l'inoculum de racines de riz est moins efficace que l'inoculum de racines de haricot (I1) et de riz/haricot (I3). En effet, la composition de la communauté microbienne de la zone racinaire dépend du type de la racine, de l'espèce de plante, de l'âge de la plante ainsi que du type de sol (Campbell, 1985).

Interaction système cultural associatif – inoculation

Les résultats obtenus ont montré qu'il existe un effet positif de l'interaction système de culture associée avec inoculum racines de haricot ou de racines de riz/haricot par amélioration de la croissance ainsi que des teneurs en éléments minéraux particulièrement du riz. D'ailleurs, la combinaison tripartite mycorhize-bactéries fixatrices d'azote-légumineuse dans un système de culture associée a été discutée par plusieurs auteurs (Legberg & Koide, 2005 ; Li *et al.*, 2005 ; Teng *et al.*, 2010 ; Bhattacharjee & Sharma, 2012 ; Musa *et al.*, 2012 ; Kolklar *et al.*, 2013).

Dans le cas de l'acquisition des éléments minéraux, même si le taux en azote du haricot a été légèrement réduit par compétitivité en association culturale, celui du riz a donné un excellent rendement en azote, on peut ainsi confirmer le rôle des légumineuses et la fixation symbiotique par les rhizobactéries du type des bactéries fixatrices d'azote dans le système légumineuse-graminée où il y a possibilité de transfert de l'azote d'une plante à une autre après stimulation des légumineuses dans la fixation de l'azote (He *et al.*, 2003; Shen *et al.*, 2004). De plus, selon Zheng & Song (2000) les mycorhizes à arbuscules et à vésicules coopèrent avec les bactéries fixatrices d'azote des légumineuses en affectant la nodulation. Par conséquent, il y aura un effet sur l'acquisition de l'azote. Finalement, dans une association culturale, la symbiose mycorhizienne transfère des éléments nutritifs comme l'azote entre les plantes *via* les réseaux d'hyphe (Johansen & Jensen, 1996).

Discussion

Effet « compétition »

La coexistence des plantes a amélioré significativement le développement de haricot, celle-ci n'a pas eu d'effet sur le développement du riz par compétition. Nos résultats corroborent ceux obtenus par Ogutu *et al.* (2012) qui soutiennent l'existence de compétition entre deux espèces en association, toutefois il a observé une diminution de la biomasse sèche du riz et une augmentation de la croissance en biomasse de la légumineuse. La diminution de la croissance de l'une des plantes en coexistence est due à la compétition entre les espèces végétales pour des éléments qui ont des effets positifs sur la croissance de la plante tels que l'espace, la lumière, les éléments nutritifs, la matière organique ou l'oxygène, selon Trenbath, 1976.

Par ailleurs, la compétition entre les plantes dépend du type d'espèces concernées dans l'association; mais de plus, de plusieurs facteurs dont les conditions environnementales ou encore les propriétés microbiologiques du sol.

Nos résultats ont également révélé que, en même temps que l'effet de compétition, la coexistence des deux plantes a facilité l'augmentation des activités microbiennes du sol. Dans certaines littératures, des auteurs soutiennent que l'effet de compétition peut coexister en même temps avec l'effet de facilitation (Geno & Geno, 2001 ; Zhang & Li, 2002).

Propriétés microbiologiques des sols et qualité du sol

L'engrais fumier (S3) ou fumier/TSP20 (S4) qui a été présent dans le sol est lié positivement à la présence de communauté microbienne ainsi que les activités microbiennes des sols. En effet, certains auteurs expliquent que les activités de la biomasse microbienne peuvent augmenter après addition de source d'énergie telle que des amendements organiques (Bolton *et al.*, 1985 ; Goyal *et al.*, 1993 ; Höflich *et al.*, 2000).

Quant à la prolifération des mycorhizes à arbuscules et à vésicules, Harinikumar *et al* (1990) démontrent que dans les sols tropicaux l'application de matières organiques soit sous la forme de fumier ou de compost stimule la prolifération de mycorhizes à arbuscules et à vésicules.

Le sol à fumier (S3) et à fumier/TSP20 (S4) sont également corrélés à la formation de nodules sur le haricot d'après les résultats obtenus. Shu-Jie *et al.* (2007) confirment cette influence, et expliquent que la fertilisation phosphatée sur les espèces de légumineuses entraîne une augmentation de l'activité de la nitrogénase, des nodules en nombre et en masse, puis l'accumulation de l'azote dans les plantes. Puisque la fixation de l'azote atmosphérique par les microorganismes nécessite de l'énergie sous forme d'ATP mais aussi de matières organiques ; le fumier (apport en matière organique) et le triple superphosphate (apport en phosphore) leur fournissent ces substrats nécessaires dans le processus de fixation.

Discussion

Des études ont déjà montré les variations significatives de la communauté microbienne dans la rhizosphère des espèces de plante en association par rapport en culture séparée (Song *et al.*, 2007 ; Wang *et al.*, 2007 ; Li *et al.*, 2010). De plus, Wang *et al.* (2007) expliquent que dans un système associatif, les mélanges de racines entraînent une plus large communauté microbienne grâce à la mixture des communautés respectives de chacun des deux espèces. Cette zone de mélange racinaire est plus riche en composés organiques qui sont issus des exsudats racinaires et rhizodépôts en quantité également importante. Hartmann *et al.* (2009) et Dennis *et al.* (2010) confirment ainsi que les quantités des exsudats racinaires et rhizodépôts influent considérablement sur la diversité de la communauté microbienne et de leur activité. Ces faits démontrent l'importance de l'abondance de la communauté et des activités microbiennes dans les sols étudiés sous la culture associative.

Selon, Barea *et al.*, 2005, la qualité biologique du sol fait référence à l'abondance, à la diversité et à l'activité des organismes vivants qu'il abrite.

**CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES**

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

En guise de conclusion, le choix d'une culture associative entre le riz et le haricot, la facilité de la technique d'inoculation par l'utilisation de simples racines, et l'utilisation limitée de fertilisants chimiques mais en présence à la fois des fertilisants phosphatés minérales et des fertilisants organiques à des doses optimales dans les sols peuvent constituer des facteurs d'amélioration du rendement du riz pluvial. Dans cette étude, il a été révélé que les teneurs en éléments minéraux dans les parties aériennes du riz pluvial ont été affectées positivement par la culture associée du riz avec le haricot mais également par l'inoculum en présence de racines de haricot. De plus, l'implication des microorganismes du sol (rhizobactéries et endomycorhizes) ainsi que l'interaction du tripartite endomycorhize à arbuscules- bactéries fixatrices d'azote- légumineuse dans le mécanisme de la coexistence végétale, montrent particulièrement de bonnes croissance et acquisition ainsi qu'un meilleur partage des éléments nutritifs des plants de riz. Il a été aussi démontré que les sols, sous le système de culture associative, permettent de maintenir la fertilité des sols qui correspondent à l'abondance de la communauté et des activités microbiennes des sols. Les résultats ainsi obtenus ont permis de vérifier les hypothèses émises.

A l'issue de cette étude, différentes voies de recherches peuvent être exploitées d'autant plus que la filière « riz », pour l'amélioration de sa production, constitue un domaine en perpétuelle recherche à Madagascar. Ainsi, les aspects suivants peuvent être considérés :

- ❖ Evaluer les caractéristiques physico-chimiques des sols.
- ❖ Evaluer les rendements en grains et en gousses.
- ❖ Améliorer simultanément les rendements des deux espèces en association culturale.
- ❖ Considérer plusieurs types d'association culturale moins compétitive et plus complémentaire entre les espèces.
- ❖ Caractériser les espèces de champignons endomycorhizes et bactéries fixatrices d'azote les plus performantes.
- ❖ Effectuer une application à grande échelle de culture associée riz-pluvial légumineuse en présence de symbiotes fongiques et rhizobiens
- ❖ Effectuer des études approfondies de l'effet de ce type de technique sur la gestion de la fertilité du sol et sur les impacts environnementaux.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Alexander M. 1961. *Introduction to soil microbiology*. John Wiley and Sons, Inc., New York. 436 pages.

Alexander M. 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. New York: Wiley and Sons.

Altieri M.A. 1999. The ecological role of biodiversity in agroecosystems *Agr Ecosyst Environ* 74:19-31.

Andrews D.J., Kassam A.H. 1976. *The importance of multiple cropping in increasing world food supplies*. pp. 1-10.

Aon M.A., Colaneri A.C., 2001. Temporal and spatial evolutions of enzymatic activities and physico-chemical properties in an agricultural soil. *Applied Soil Ecology* 18, 255–270.

Armas C., Ordiales R., Pugnaire F. 2004. Measuring plant interactions: a new comparative index, *Ecology* 85(10): 2682-2686.

Arriaga J.F., and Lowery B. 2003. Soil physical properties and crop productivity of an eroded soil amended with cattle manure. *Soil Sci.* 168:888–899.

Artursson V., Finlay D.R. et Jansson J.K. 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environnemental Microbiology*. 8 (1):1-10.

Ashford A.E., Ling Li M., Chilvers G.A. 1975. Polyphosphate in *Eucalypt mycorrhizas*: a cytochemical demonstration. *New Phytologist*. 74: 447-453.

Bakker P.A.H.M., Van Peer R. and Schippers B. 1991. Suppression of soil-borne plant pathogens by fluorescent pseudomonads: mechanisms and prospects. In: Beemster, A.B.R., G. J. Bollen, M. Gerlagh, M. A. Ruissen & B. Schippers (eds), *Biotic Interactions and Soil-borne Diseases*, pp. 217—230, Elsevier, Amsterdam.

Références bibliographiques

- Balesdent J. & Balabane M. 1996.** Major contribution of roots to soil carbon storage inferred from maize cultivated soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 28, 1261-1263.
- Barea J.M., Pozo M.J., Azcon R., Azcon-Aquilar C. 2005.** Microbial co-operation in the rhizosphere. *J Exp Bot* 56:1761–1778.
- Bartlett E.M., Lewis D.H. 1973.** Surface phosphatase activity of mycorrhizal roots of beech. *Soil Biology and Biochemistry*, 5, 249-257.
- Begon M., Townsend C.R., Harper J.L. 1996.** *Ecology from Individual to Ecosystem*. Backwell. Scientific Publications, 876 pages.
- Benzécri J.P. 1977.** « *Histoire et Préhistoire de l'Analyse des données : Partie 5* », *Les Cahiers de l'analyse des données*, 2 :9-40.
- Betencourt E. 2012.** *Interactions entre céréale et légumineuse en association et acquisition de phosphore du sol : processus rhizosphériques sous-jacents*. Thèse de Doctorat en Ecosystème. Centre International d'études supérieures en Sciences Agronomiques., Montpellier. 244 pages.
- Bhattacharjee S. and Sharma G.D. 2012.** Effect of dual inoculation of Arbuscular Mycorrhiza and *Rhizobium* on the Chlorophyll, Nitrogen and Phosphorus Contents of Pigeon Pea (*Cajanus cajan L.*). *Advances in Microbiology*. 2: 561-564.
- Bolan N.S. 1991.** A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil* 134:189-207.
- Bolton H., Elliot L.F., Papendick R.I., Bezdicek D.F. 1985.** Soil microbial biomass and selected soil enzyme activities: effect of fertilization and cropping practices. *Soil Biol. Biochem.* 17: 297-302.
- Bowen, G.D. 1973.** Mineral nutrition of ecto-mycorrhizae, p.151-205. In G. C. Marks and T. T. Kozłowski (eds.), *Ectomycorrhizae- Their ecology and physiology*. Academic Press, Inc., New York and London.

Références bibliographiques

Brencic, A., and Winans S.C. 2005. Detection of and response to signals involved in host microbe interactions by plant-associated bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 69: 155-194.

Brooker R.W., Maestre F.T., Callaway R.M., Lortie C.L., Cavieres L.A., Kunstler G., Liancourt P., Tielborger K., Travis J.M.J., Anthelme F., Armas C., Coll L., Corcket E., Delzon S., Forey E., Kikvidze Z., Olofsson J., Pugnaire F., Quiroz C.L., Saccone P., Schiffrers K., Seifan M., Touzard B., Michalet R. 2003. Facilitation in plant communities: the past, the present, and the future. *Journal of Ecology* 96: 18-34.

Brundrett M. 1991. Mycorrhizas in natural ecosystems. *Advances in Ecological Research*, 21, 171-313.

Bruno J.F., Stachowicz J.J., Bertness M.D. 2003. Inclusion of facilitation into ecological theory. *Trends in Ecology and Evolution* 18: 119-125.

Callaway R.M. 1995. Positive interactions among plants. *Botanical Review* 61:306-349.

Campbell C.A., Selles F., Zentner R.P., McConkey B.G., McKenzie R.C., Brandt S.A. 1997. Factors influencing grain N concentration of hard red spring wheat in the semiarid prairie. *Can. J. Plant Sci.* 77: 53-62.

Campbell R. 1985. *Plant Microbiology*. Baltimore: Edward Arnold. p.191.

Campos-Soriano L., Garcia-Martinez J., Segundo B.S. 2011. The arbuscular mycorrhizal symbiosis promotes the systemic induction of regulatory defence-related genes in rice leaves and confers resistance to pathogen infection. *Molecular Plant Pathology* 13: 579–592.

Cardoso I.M., Boddington M., Janssen B.H., Oenema O., Kuyper T.W. 2003. Distribution of mycorrhizal fungal spores in soils under agroforestry and monocultural coffee systems in Brazil. *Agrofor Systm* 58: 33-43.

Casper B.B., Jackson R.B. 1997. Plant competition underground. *Annual Review of Ecology and Systematics* 28: 545-570.

Références bibliographiques

Cavito M.E. and M.H. Miller. 2004. Changes in mycorrhiza development in maize induced by crop mangment practices. *Plant and Soil*. 198 (2): 185-192.

Citeau L., Bispo A., Bardy M., King D. 2008. *Gestion durable des sols* - Editions Quae, Versailles.

Cleyet-Marcel J.C., Larcher M., Bertrand H., Rapior S., Pinochet X. 2001. Plant growth enhancement by rhizobacteria. In: MorotGaudry J.F.(eds), *Nitrogen assimilation by plants: physiological, biochemichal and molecular aspects*. Science Publishers, Plymouth, pp 185–197.

Comandini O., Contu M., Rinaldi A.C. 2006. An overview of Cistus ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 16:381–395.

Coyne M.S. 1999. Soil microbiology: an exploratory approach. Delmar Publishers, New York.*Curr.Opin. Chem. Biol.* 4(5): 559-566.

Dabat M.H., Fabre P., Bockel J.M., Razafimandimby L., Rakotoarisoa J., Rakotovao J.M., 2000. Diagnostic et perspectives de la filière riz à Madagascar. *FAO-Unité de Politique de Développement Rural*. Ministère de l’Agriculture Ouvrage, 200 pages.

De Bary A. 1879. *Die Erscheinung der Symbiose*. Vortrag auf der Versammlung der Deutschen Naturforscher und Aertze zu Cassel. Verlag von Karl J. Trubner, Strasburg, pp. 1–30.

Dennis P.G, Miller A.J, Hirsch P.R. 2010. Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities? *FEMS Microbiol Ecol* 72: 313–327.

Dickie I.A., Schnitzer S.A., Reich P.B., Hobbie S.E. 2005. Spatially disjunct effects of co-occurring competition and facilitation. *Ecology Letters* 8: 1191-1200.

Références bibliographiques

Domas R., E. Penot, H. Andriamalala, S. Chabierski. 2008. When uplands join the rice fields in Lake Alaotra. Agriculture conservation diversification and innovation on upland zones. In *Regional workshop on conservation agriculture*, Phonsavanh, Lao PDR. 25pages.

Dommerges Y. 1972. *Microbiologie du sol : évolution et intérêt agronomique*. Vandoeuvres- Nancy : Centre de Pédologie biologique du C.N.R.S. 22pages.

Dommergues Y., Mangenot F. 1970. *Ecologie microbienne du sol*. Paris: Masson, 76pages.

Douds D.D., Galvez L., Janke R.R., Wagoner P. 1995. Effects of tillage and farming system upon populations and distributions of vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi. *Agric. Ecosyst. Environ.* 52, 111–118.

Douglas A.E. 1994. *Symbiotic interactions*: Oxford University Press.

Doyle J.J., Luckow M.A. 2003. Update on Phylogeny The Rest of the Iceberg. Legume Diversity and Evolution in a Phylogenetic Context. *Plant Physiology*, 131, 900–910.

Drevon J.J., Kalia V.C., Heckmann M.O., Soussana, J.F., Salsac L. 1988. Inhibition of nitrogen fixation by nitrate assimilation in legume–Rhizobium symbiosis. *Plant Physiol. Biochem.* 26: 197-203.

Dupin B. 2011. *Agroécologie à Madagascar : Analyse des conditions d'adoption paysannes de diverses techniques agroécologiques à partir des expériences de coopération d'AVSF*. 74 pages.

El-Yazeid A.A., Abou-Aly H.A., Mady M.A. and Moussa S.A.M. 2007. Enhancing growth, productivity and quality of squash plants using phosphate dissolving microorganisms (bio phosphor) combined with boron foliar spray. *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 3(4): 274-286.

Eskandiri H., Ganbhari A. 2010. Environnemental Ressource Consumption in Wheat (*Triticum aestivum*) and Bean (*Vicia faba*) Intercropping: Comparison of Nutrient Uptake and Light Interception. *Notulae Scientia Biologicae* 2(3): 100-103.

Références bibliographiques

Estevez B.A., A. N'Dayegamiye and D. Coderre. 1996. The effect of earthworm abundance and selected soil properties after 14 years of solid cattle manure and NPK, Mg fertilizer application. *Can. J. Soil Sci.* 76:351-355.

FAO/PAM (Organisation Des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture/ Programme Alimentaire Mondial). 2013. *Rapport d'évaluation de la sécurité alimentaire à Madagascar*, 75 pages.

FAO (Organisation Des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture). 2013. *Système amélioré de riziculture pluvial*.

FAO (Organisation Des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture). 2006. Sources of plant nutrients and soil amendments. In *Plant nutrients for food security: a guide for integrated nutrient management*. Pp. 91-136.

Finlay R. D. 2008. Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *Journal of Experimental Botany* 59:115-1126.

Fischer R.A. & Yates F., 1963. *Statistical tables for biological, agricultural and medical research*. 6th ed., Londres: Oliver and Boyd, 155 pages.

Francis C.A. 1989. Biological efficiencies in multiple cropping system. *Adv. Agron.* 42:1-42.

Frey-Klett P., Chavatte M., Clause M.L., Courrier S., Le Roux C., Raaijmakers J., Martinotti M.G., Pierrat J.C., Garbaye J., 2005. Ectomycorrhizal symbiosis affects functional diversity of rhizosphere fluorescent pseudomonads. *New Phytologist* 165, 317-328.

Garbaye J. 1988. Growth response of eucalyptus in the Congo to ectomycorrhizal inoculation. *Forest Ecology and management*. 24, 151-157.

Geno L. and Geno B. 200. *Polyculture Production – Principles, Benefits and Risks of Multiple Cropping Land Management Systems for Australia*. A report for the rural industries research and development corporation. *CIRDC*. Publication N° 01/34.

Références bibliographiques

Gentili F. and Jumpponen A. 2006. Potential and possible uses of bacterial and fungal biofertilizers. In *Handbook of microbial biofertilizers*. eds. by M. K. Rai. p. 543. The Haworth press, New York.

Ghanbari A. and Lee H.C. 2002. Intercropped field beans (*Vicia faba*) and wheat (*Triticum aestivum*) for whole crop forage: effect of nitrogen on forage yield and quality. *The Journal of Agricultural Science*, 138: 311-314.

Giovannetti M., Schubert A., Cravero M.C., Salutini L. 1988. Spore production by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus monosporum* related to host species, root colonization and plant growth enhancement. *Biology and Fertility of Soils* 6: 120-124.

Gobat J.M., Aragno M. & Matthey W. 2003. *Le sol vivant: bases de pédologie – biologie des sols*. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes.

Gobat J.M., Aragno M., Matthey W. 1998. *Le Sol vivant, bases de pédologie biologie des sols*. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 519 pages.

Goyal S., Mishra M.M., Dhankar S.S., Kapoor K.K., Batra R. 1993. Microbial biomass turnover and enzyme activities following application of farm yard manure to field soils with and without previous long-term application. *Biol. Fertility of Soils* 15: 60-64.

Grant C., S. Bittman, M. Montreal, C. Plenchette and C. Morel. 2005. Soil and Fertilizer Phosphorus: Effects on plant P supply and mycorrhizal development. *Can. J. Iant. Sci.*, 85:3-14.

Guadarrama P., Castillo-Argüero S., Ramos-Zapata J.A., Camargo-Ricalde S.L. & Alvarez-Sánchez J. 2008. Propagules of arbuscular mycorrhizal fungi in a secondary dry forest of Oaxaca Mexico. *Revista de Biología Tropical*, 56(1): 269-277.

Gunapala N., and Scow K.M. 1998. Dynamics of soil microbial biomass and activity in conventional and organic farming systems. *Soil Biology Biochemistry*, 30(6): 805-816.

Références bibliographiques

Harinikumar K.M., Bagyaraj D.J. and Mallesha B.C., 1990. Effect of intercropping and organic soil amendments on native VA mycorrhiza in semi-add tropics. *Arid Soil Research and Rehabilitation* 4, 193-197.

Harrison M. 1999. Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50: 361–389.

Hart M.M., Reader R.J., Klironomos J.N. 2003. Plant coexistence mediated by arbuscular mycorrhizal fungi. *Trends in Ecology and Evolution*, 18: 1187-1195.

Hartmann A., Rothballer M., and M. Schmid. 2008. Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. *Plant Soil*, 312: 7-14.

Hartmann A., Schmid M., van Tuinen D. & Berg G., 2009. Plant-driven selection of microbes. *Plant Soil*, 321, 235-257.

He X.H., Critchley C., Bledsoe C. 2003. Nitrogen transfer within and between plants through common mycorrhizal networks (CMNs). *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22 : 531-567.

Henintsoa M. 2013. *Disponibilité et dynamique du carbone, de l'azote et du phosphore sous association cultural Riz-Haricot soumise à différents types de fertilisation phosphatée apportée à dose croissante. Cas de l'expérimentation agronomique de Lazaina sur sol ferrallitique de « Tanety ».* Thèse de DEA. Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques d'Antananarivo. 88 pages.

Hetrick B. A. D. and Bloom J. 1986. The influence of host plant on production and colonisation ability of vesicular-arbuscular mycorrhizal spores. *Mycologia* 78, 32–36.

Hetrick, B.A.D. 1984. Ecology of VA mycorrhizal fungi. In *VA Mycorrhizae* eds by C. L. Powell & D. J. Bagyaraj, pp. 35-56, CRC Press, Boca Raton, Louisiana. USA.

Références bibliographiques

Hinsinger P., Betencourt E., Bernard L., Brauman A., Plassard C., Shen J., Tang, X., Zhang F. 2011. P for two, sharing a scarce resource e soil phosphorus acquisition in the rhizosphere of intercropped species. *Plant Physiology* 156:1078-1086.

Hinsinger P., Jaillard B., Arvieu J.C. 1996. *Le sol: un patrimoine menacé, le point scientifique*. INRA, Département de Science du sol; Paris. 124 pages.

Ho M.W. 2002. *Biodiverse systems two to three times more productive than monoculture*. Science in society, pp. 13-14.

Hodge A., 2000. Microbial ecology of the arbuscular mycorrhiza — *FEMS Microbiology Ecology* 32: 91-96.

Hoffland E., Kuyper T.W., Wallander H., Plassard C., Gorbushina A.A., Haselwandter K., Holmström S., Landeweert R., Lundström U.S., Rosling A., Sen R., Smits M.M., van Hees P.A.W, van Breemen N. 2004. The role of fungi in weathering — *Front Ecol Environ.* 2(5): 258–264.

Höflich G., Tauschke M., Kühn G., Rogasik J. 2000. Influence of agricultural crops and fertilization on microbial activity and microorganisms in the rhizosphere. *J. Agron. Crop Sci.*184: 49-54.

Holzappel C., Mahall B.E. 1999. Bidirectional facilitation and interference between shrubs and annuals in the Mojave Desert. *Ecology*, 80, 1747-1761.

Hudson B.D. 1994. Soil organic matter and water holding capacity. *J. Soil and Water Conserv.* 49: 189-194.

INSTAT (Institut National de laStatistique/Direction des Statistiques des Ménages). 2010. *Enquête Périodique auprès des Ménages 2010* : Rapport principal, Antananarivo, Madagascar.

Janos D.P. 1980. Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica* 12: 56-64.

Références bibliographiques

Johansen A., Jensen E.S. 1996. Transfer of N and P from intact or decomposing roots of pea to barley interconnected by an arbuscular mycorrhizal fungus. *Soil Biology Biochemistry*, 28, 73-81.

Johanson J.F., Paul L.R., Finlay R.D., 2004. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiol. Ecol.* 48:1-13.

Joshi P., Bhatt A.B. 2011. Diversity and function of plant growth promoting Rhizobacteria associated with wheat Rhizosphere in North Himalayan Region. *International Journal of Environmental Sciences* 1(6) :1135-1143.

Katznelson H., Rouatt J.W., Peterson E.A. 1962. The rhizosphere effect of mycorrhizal and non mycorrhizal roots of yellow birch seedlings. *Canadian Journal of Botany* 40: 337-382.

Kennedy A.C. 1998. The rhizosphere and spermosphere. In: Sylvia D.M., Fuhrmann J.J., Hartel P.G., Zuberer D.A.(eds), *Principles and applications of soil microbiology*. Upper Saddle River, New Jersey: Prentice Hall, 389-407.

Kloepper J.W. 1992. Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. In FB Metting Jr (eds), *Soil Microbial Ecology: Applications in Agricultural and Environmental Management*. Marcel Dekker Inc., New York, pp. 255-274.

Kloepper J.W., C.J. Beauchamp. 1992. Issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria. *Can. J. Microbiol.* 38: 1219-1232.

Kloepper J.W., Lifshitz R., Zablutowicz R.M. 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol* 7:39-43.

Kloepper J.W., Schroth M.N. 1978. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. *Proceedings of the Fourth International Conference on Plant Pathogen Bacteria*, vol. 2. INRA, pp 879-882.

Références bibliographiques

Kolkar K.P., Lakshman H.C. and Hosamani P.A. 2013. Synergetic effect of AM fungus and *Rhizobium* inoculation on *Arachis hypogaeae L.* in unsterile soil. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 4(2): 518-524.

Kucey R.M.N. and Leggett M.E. 1989. Increased yields and phosphorus uptake by Westar canola (*Brassica napus L.*) inoculated with a phosphate solubilizing isolate of *Penicillium bilaji*. *Canadian Journal of Soil Science* 62: 423-432.

Kuzyakov Y., and G. Domanski. 2000. Carbon input by plants into the soil. *Review. J. Plant Nutr. Soil Sci.* 163, 421-431.

Lacharme M. 2001. *La fertilisation minérale du riz*. Memento Technique de Riziculture. 17 pages.

Legberg Y., Koide R.T. 2005. Arbuscular mycorrhizal fungi, rhizobia, available soil P and nodulation grandnut (*Arachis hypogaea*) in Zimbabwe. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 110: 143-148.

Lemanceau P., Heulin T. 1998. La rhizosphère. In: *Sol : interface fragile*. Paris : Inra : 93-106.

Leyval C., Berthelin J. 1993. Rhizodeposition and net release of soluble organic compounds of pine and beech seedlings inoculated with rhizobacteria and ectomycorrhizal fungi. *Biol. Fert. Soils* 15: 259-267.

Li H.G., Shen J.B., Zhang F.S., Marschner P., Cawthray G., Rengel Z. 2010. Phosphorus uptake and rhizosphere properties of intercropped and monocropped maize, faba bean, and white lupin in acidic soil. *Biol Fert Soil* 46: 79–91.

Li H.Y., Smith S.E., Holloway R.E., Zhu Y.G., Smith F.A. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi contribute to phosphorus uptake by wheat grown in a phosphorus-fixing soil even in the absence of positive growth responses. *New Phytologist*, 172, 536-543.

Références bibliographiques

Li S.M., Li L., Zhang F.S. 2005. Effect of inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium* on the P uptake in faba bean/maize intercropping system. *Chinese Journal of Ecology Agriculture*, 13, 136-139 (in Chinese).

Li L., Li S.M., Sun J.H., Zhou L.L., Bao X.G., Zhang H.G., Zhang F.S. 2007. Diversity enhances agricultural productivity via rhizosphere phosphorus facilitation on phosphorus deficient soils. *Proceeding National Academy of Science of the USA* 104:11192–11196.

Linderman R.G. 1988. Mycorrhizal interactions with the rhizosphere microflora: the mycorrhizosphere effect. *Phytopathology*. 78: 366-371.

Liu J., Maldonado-Mendoza I., Lopez-Meyer M., Cheung F., Town C.D., Harrison M.J. 2007. Arbuscular mycorrhizal symbiosis is accompanied by local and systemic alterations in gene expression and an increase in disease resistance in the shoots. *The Plant Journal* 50: 529-544.

Long S.R. 1989. Rhizobium-legume nodulation: life together in the underground. *Cell*, 56 (2):203-214.

Lynch J.M. 1990. Introduction: some consequences of microbial rhizosphere competence for plant and soil. In: *The Rhizosphere* eds by John Wiley & Sons Ltd, Essex pp. 1-10.

Lynch J.M. and Whipps J.M. 1990. Substrate flow in the rhizosphere. *Plant and Soil* 129: 1–10.

MAEP (Ministère de l'Agriculture de l'Élevage et de la Pêche). 2007. Mise en place de collection généalogique et de collections testées. Rapport final, Catalogue des variétés. Projet d'appui à la diffusion des techniques agro-écologiques à Madagascar. 111 pages.

Maestre F.T., Callaway R.M., Valladares F., Lortie C.J. 2009. Refining the stress-gradient hypothesis for competition and facilitation in plant communities. *Journal of Ecology*, 97:199-205.

Références bibliographiques

Malina Singha F., Sharma G.D. 2013. Biodiversity of Rhizospheric Soil Bacteria and Arbuscular Mycorrhizal (AM) Fungi in Some of the Wild Medicinal Legumes of Barak Valley. *Current World Environment*. 8(1): 123-126.

Manga A.G.B. 2005. *Biodiversité des champignons mycorhiziens arbusculaires d'Acacia seyal Del et évaluation de leurs potentialités symbiotiques en milieu salé.* Thèse de Doctorat de 3ème cycle, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, 118 pages.

Manjunath A., Hue N.V., Habte M. 1989. Response of *Leucaena leucocephala* to vesicular–arbuscular mycorrhizal colonization and rock phosphate fertilization in an oxisol. *Plant Soil*. 114:127-133.

Martin M. P. and R.W. Snaydon. 1982. Intercropping barley and beans: Effects of planting pattern. *Exp. Agric.* 18:139-148.

MEI (Ministère de l'Economie et de l'Industrie- Direction des Etudes et de Modélisation Economique). 2010. Evaluation de la filière riz à Madagascar, 141 pages.

Miller O.K. 1982. Taxonomy of ecto and ectendomycorrhizal fungi. In: *Methods and mycorrhizal researches* by N.C. Schenk. American Phytopathology Press, St Paul, Minesota pp. 510-517.

MinAgr/CARD (Ministère de l'Agriculture/ Coalition for African Rice Development). 2010. Stratégie Nationale de Développement Rizicole (NRDS), 23 pages.

Minchin F.R., Minguez M.L., Sheehy J.E., Witt Y.F.J. & Skot L. 1986. Relationships between nitrate and oxygen supply in symbiotic fixation by white clover. *Exp. Bot.* 37, 1103-1113.

Molina R., Massicotte H., Trappe J.M. 1992. Specificity phenomena in mycorrhizal symbioses: community-ecological consequences and practical implications. In: Allen MF, eds. *Mycorrhizal Functioning: an Integrative Plant-Fungal Process*. New York: Chapman and Hall, pp. 357-423.

Références bibliographiques

Morel C. 2006. *Mobilité et biodisponibilité du phosphore dans les sols: mécanismes, modélisations et diagnostic.* Stock et flux de phosphore dans les écosystèmes terrestres et aquatiques, et impacts environnementaux. pp. 5-6.

Morel R. 1996. *Les sols cultivés.* 2^e édition. Lavoisier, Paris. 378 pages.

Mulvaney R.L., Khan S.A. & Ellsworth T.R. 2009. Synthetic nitrogen fertilizers deplete soil nitrogen: A global dilemma for sustainable cereal production. *J. Environ. Qual.* 38, 20 pages.

Muracciole V. 2009. *Définition et mise en place d'un outil temps réel d'analyse des caractéristiques physiques des semences sèches.* Thèse de Doctorat. Université d'Angers. 174 pages.

Murayama N. 1979. *The importance of nitrogen for rice production.* Ouvrage Nitrogen and Rice: pp. 5-18.

Murphy J., Riley J.P., 1962. A modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. *Analyt. Chem. Acta* 27, 31-36.

Musa M.E., Elsheik E.A.E., Mohamed Ahmed I.A. and Babiker E.E. 2012. Intercropping Sorghum (*Sorghum bicolor L.*) and Cowpea (*Vigna unguiculata L.*): Effect of *Bradyrhizobium* Inoculation and Fertilization on Minerals Composition of Sorghum Seeds. *ISRN Agronomy*: 9 pages.

Muthukumar T., Udaiyan K., 2000. Influence of organic manures on arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Vigna unguiculata* (L.) Walp in relation to tissue nutrients and soluble carbohydrate in roots under field conditions. *Biology and Fertility of Soils* 31: 114-120.

N'Dayegamiye A. et Côté D. 1996. Effet d'application à long terme de fumier de bovins, de lisier de porc et d'engrais minéral sur la teneur en matière organique et la structure du sol. *Agro. sol* 9 (1): 31-45.

Références bibliographiques

Ndiaye F. 2005. *Utilisation des champignons mycorhiziens arbusculaires et valorisation des ressources naturelles en agriculture et en sylviculture.* Thèse de Doctorat de 3ème cycle, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, 108 pages.

Nyiraneza J., Chantigny M.H., N'Dayegamiye A., and M.R. Laverdière. 2009. Dairy Cattle Manure Improves Soil Productivity in Low Residue Rotation Systems. *Agron. J.* 101:207–214.

Ofori F., Stern W.R. 1987. Cereal-legume intercropping systems. *Advance in Agronomy* 41:41-90.

Ogotu M.O., Ouma G., Ogolla H., Okech J.N. and Kidula N. 2012. Rainfed rice-legume based cropping systems for sustainable food security and soil fertility improvement in Western Kenya. *ARPJ Journal of Agricultural and Biological Science.* 7 (9): 1-12.

Peoples M.B. and D.F. Herridge. 1990. Nitrogen fixation by legumes in tropical and subtropical agriculture. *Adv. Agron.* 44:155-223.

Pereira P., Ibanez F., Rosenblueth M., Etcheverry M. and Martinez-Romero E. 2011. Analysis of the Bacterial Diversity Associated with the Roots of Maize (*Zea mays L.*) through Culture-Dependent and Culture-Independent Methods. *International Scholarly Research Network.* 10 pages.

Phillips J.M. and Hayman D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 55: 158-161.

Pichot J., Truong B. et Burdin, S. 1973. Evolution du phosphore dans un sol ferralitique soumis à différents traitements agronomiques. *L'agronomie tropicale.* pp. 131-146.

Plenchette C., Perrin R., Duvert P., 1989. The concept of soil infectivity and a method for its determination as applied to endomycorrhizas. *Can. J. Bot.* 67, 112–115.

Références bibliographiques

Poisson C., Puard M., Dechanet R., 1996. Amélioration de la résistance variétale au froid du riz d'altitude. In Poisson C., Rakotoarisoa J. (eds), *Séminaire riz d'altitude*, 29 mars - 5 avril 1996, Antananarivo, Madagascar. Cirad. Montpellier, France. 6 pages.

Porter W., 1979. The « Most Probable Number » method for enumerating infective propagules of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Australian Journal of Soil Research*, 17, pp. 515-519.

Rabeharisoa L. 2004. *Gestion de la fertilité et de la fertilisation phosphatée des sols ferrallitiques des Hautes Terres de Madagascar*. Thèse de Doctorat d'Etat ès Sciences Naturelles. Université d'Antananarivo. 2004. 213 pages.

Radanielson A. 2004. Etude de la valorisation et de la rentabilité de la fertilisation azotée du riz pluvial dans différents types de rotations culturales pratiquées dans la région du Vakinankaratra. Ingénieur en Agriculture. Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques d'Antananarivo, 115 pages.

Raharinosy R.V. 1983. Etude de l'influence des différentes doses de fumier sur la libération du phosphore d'un sol ferrallitique de Madagascar. *Cahier ORSTOM*. Vol. XX, 2, pp. 129-146.

Rakotoarisoa J., Oliver R., Dusserre J., Muller B., Douzet J.M., Michellon R., Razafinjara A.L., Rajeriarison C., Scopel E., 2010. Bilan de l'azote minéral au cours du cycle du riz pluvial sous système de culture en semis direct sous couverture végétale en sol ferrallitique argileux à Madagascar. *Etude et Gestion des Sols*, 17 (2) :169-186.

Rakotoson T. 2009. *Effets de l'utilisation du fumier de ferme et du superphosphate triple sur la fertilité phosphatée des sols ferrallitiques sous culture de riz pluvial*. Ingénieur en agriculture. Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques d'Antananarivo, 41pages.

Rasse D.P., Rumpel C. et Dignac M.-F., 2005. Is soil carbon mostly root carbon? Mechanisms for a specific stabilization. *Plant and Soil*, 269, 341-356.

Ratnayake M., Leonard R.T., Menge J.A. 1978. Root exudation in relation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhizal formation. *New Phytol.* 81: 543-552.

Références bibliographiques

Rees D.C. & J. B. Howard.2000. Nitrogenase: standing at the crossroads. *Curr.Opin. Chem. Biol.* 4(5): 559-566.

Remy W., T.N. Taylor, H. Hass, and H. Kerp. 1994. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 91:11841-11843.

Rilling M.C., Mummey D.L. 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New physiologist.* 171:41-53.

Rodríguez H. & Fraga R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion.*Biotechnol Adv* 17, 319–339.

Rokhzadi A., Asgharzadeh A., Darvish F., Nourmohammadi G. and Majidi E. 2008. Influence of plant growth-promoting rhizobacteria on dry matter accumulation and yield of chickpea (*Cicer arietinum*L.) under field condition. *Am-Euras. J. Agric. Environ. Sci.* 3(2): 253-257.

Sarapatka B. 2003. *Phosphatase activities (ACP, ALP) in agrosystem soils.*Ph.D.Thesis, Swedish Univ. of Agric. Sci., Uppsala. 113 pages

Sawada H., Kuykendall L.D. & Young J.M.2003. Changing concepts in the systematics of bacterial nitrogen-fixing legume symbionts. *J Gen Appl Microbiol*49, 155–179.

Scheublin T.R., Van Der Heijden M.G.A. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi colonize non-fixing root nodules of several legume species. *New Physiologist.* 172: 732-738.

Schnurer J. and Rosswall T. 1982. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Appl. Environ. Microbiol.* 43: 1256-1261.

Schubler A., Schwarzott D. and Walker C. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycol. Res.* 105: 1413-1421.

Références bibliographiques

Selosse M.A., Baudoin E., Vandenkoornhuysen P. 2004. Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants — *Compte Rendu Biologie* 327: 639-648.

Shamoot S., McDonald L., Batholomew W. 1968. Rhizodeposition of organic debris in soil. Soil Science Society of America Proceeding 32, 817-820.

Shen Q.R., Chu G.X., Cao J.L., Cao Y., Yin X.Y. 2004. Yield advantage of groundnut intercropped with rice cultivated in aerobic soil from the viewpoint of plant nitrogen nutrition. *Scientia Agricultura Sinica*, 37, 117-1182. (in Chinese).

Shi, Z.Y., Zhang L.Y., Li X.L., Feng G., Tian C.Y., Christie P. 2007. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with desert ephemerals in plant communities of Junggar Basin, northwest China. *Applied Soil Ecology*, 35 (1): 10-20.

Shu–Jie M., Yun–Fa Q., Xiao– Zeng H., An M. 2007. Nodule formation and development in soybean (*Glycine max L.*) response to phosphorus supply in solution culture. *Pedosphere J* 17(1): 36–43.

Sieverding E., 1991. *Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems.* Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit, 371 pages.

Smith H.F., O'Connor P.J., Smith S.E., Smith F.A. 1997. (Vesicular) arbuscular mycorrhizas of durian and other plants of forest gardens in W. Kalimantan, Indonesia. Pp 192-199 in *Forest Soils in the Humid Tropics: Characteristics, Ecology and Management* eds by Schulte A., Ruhayat D. Springer-Verlag, Berlin, Germany.

Smith S.E. and Read D.J. 1997. *Mycorrhizal symbiosis.* Academic press, 2nd eds. London. 605 pages.

Smith S.E., Read D.J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis* 3rdeds, New York: Academic Press, 815 pages.

Références bibliographiques

Smith S.E., Smith F.A. & Jakobsen I. 2004. Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake. *New Phytologist*, 162, 511–524.

Smith S.E., Smith F.A., Jakobsen I. 2003. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. *Plant Physiology*, 133, 16-20.

Soane B.D. 1990. The role of organic matter in soil compactibility: A review of some practical aspects. *Soil and Tillage Research*, 16, 179-201.

Song Y.N., Zhang F.S., Marschner P., Fan F.L., Gao H.M., Bao X.G., Sun J.H. & Li L. 2007. Effect of intercropping on crop yield and chemical and microbiological properties in rhizosphere of wheat (*Triticum aestivum L.*), maize (*Zea mays L.*), and faba bean (*Vicia faba L.*). *Biol Fert Soils* 43: 565–574.

Soufiane B. 1998. *Isolement à partir de la rhizosphère des conifères de bactéries et d'actinomycètes antagonistes aux champignons phytopathogènes.* Mémoire de maîtrise. Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation. Université de Laval, Québec. 69 pages.

Sperberg J.I. 1958. The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. *Aust J Agric Res*, 9:778.

Srivastava D.R. Kapoor, S.K. Srivastava and K.G. Mukerji. 1996. Vesicular arbuscular mycorrhiza- an overview In: *Concepts in Mycorrhizal Research*, eds. Mukerji K.G. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp. 1-39.

Stangel P.J. 1979. Nitrogen requirement and adequacy of supply for rice production. In *Nitrogen and rice*. International Rice Research Institute. P.O. Box 933. Manila, Philippines. pp. 45–69.

Stephens B.D. & Neyra C.A. 1983. Nitrate and nitrite reduction in relation to nitrogenase activity in soybean nodules and *Rhizobium japonicum* bacteroids. *Plant Physiol.* 71: 731-735.

Références bibliographiques

Streeter, J. 1988. Inhibition of legume nodule formation and N₂ fixation by nitrate. *Crit. Rev. Cytol.* 7: 1-23.

Strullu D.G. 1991. Mycorrhizes et developpement des plantes. In : Strullu D.G. (eds), *Les mycorrhizes des arbres et plantes cultivées*. Paris: Tech.Doc-Lavoisier, 1991: 51-83.

Strullu D.G., Romand C., Plenchette C. 1991. Axenic culture and encapsulation of the intraradical forms of *Glomus sp.* *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 7: 292-297.

Sun L., Qiu F., Zhang X., Dai X., Dong X., Song W. 2008. Endophytic bacterial diversity in rice (*Oryza sativa L.*) roots estimated by 16S rDNA sequence analysis. *Microbial Ecology.* 55(3):415-424.

Suslow T.V. 1982. Role of root colonizing bacteria in plant growth. *Phytopathogenic prokaryotes*, vol 1. Academic Press, New York, pp. 187 – 223.

Tabatabai M.A. 1982. Assay of enzymes in soil. In *Methods of Soil Analysis*, Vol. 2 (eds. A.L. Page), Am. Soci Agron and Soil Sci. Soc. Am, Madison, WI. pp. 922–947.

Taiz L. and Zeiger E. 2002. *Plant Physiology, Third Edition*. Sinauer Associates, Sunderland, MA. 690 pages.

Teng Y., Luo Y., Sun X., Tu C., Xu L., Liu W., Li Z. and Christie P. 2010. Influence of arbuscular mycorrhiza and *Rhizobium* on phytoremediation by alfalfa of an agricultural soil contaminated with Weathered PCBs: a field study. *International Journal of Phytoremediation.* 12: 516-533.

Tilman D., Reich P.B., Knops J., Wedin D., Mielke T. and Lehman C. 2001. Diversity and productivity in a long-term grassland experiment. *Science*, 294: 843-845.

Tisdall J.M. and J.M. Oades. 1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *J. of Soil Sci.* 33:141-163.

Références bibliographiques

Trenbath B.R. 1976. Plant interactions in mixed crop communities, p. 129-170. In: R.I. Papendick, P.A. Sanchez, and G.B. Triplett (eds.), *Multiple cropping*. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, Wis. ASA Spec. Publ. 27.

Valiente-Banuet A., Vite F., Zavala-Hurtado JA. 1991. Interaction between the cactus *Neobuxbaumia tetetzo* and the nurse shrub *Mimosa luisana*. *Journal of the Vegetation Science*. 2: 11-14.

Van Beneden J. 1875. *Les commensaux et les parasites dans le règne animal*. Bibliothèque Scientifique Nationale, vol. 18. Paris.

Van der Heijden M.G.A. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi as a determinant of plant diversity. In: *Search of underlying mechanisms and general Principles Mycorrhizal Ecology* eds by M.G.A Van Der Heijden & I. Sanders. Ecological Studies, 157: 243-265, Springer-Verlag, Berlin.

Van Der Wal A.; J.A. Van Veen; A.S. Pijl; R.C. Summerbell and W.D. Boer. 2006. Constraints on development of fungal biomass and decomposition processes during restoration of arable sandy soil. *Soil Biology & Biochemistry*. 38: 2890-2902.

Wang B. & Qiu Y.L. 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza*, 16 (5): 299-363.

Wang D.M., Marschner P., Solaiman Z. & Rengel Z. 2007. Growth, P uptake and rhizosphere properties of intercropped wheat and chickpea in soil amended with iron phosphate or phytate. *Soil Biol Biochem* 39: 249–256.

Weller D.M. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 26: 379-407.

Went F.W. 1973. Competition among Plants. *Proc. Nat. Acad. Sci USA* 70(2): 585-590.

Whipps J.M. 2004. Prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. *Canadian Journal of Botany* 82: 1198–1227.

Références bibliographiques

Willey R. 1979. Intercropping-its importance and research needs: Competition and yield advantages. *Field Crop Abstracts* 32:1-10.

Xiao T., Yang Q., Ran W., Xu G. and Shen Q. 2010. Effect of inoculation with Arbuscular Mycorrhizal Fungus on Nitrogen and Phosphorus utilization in Upland Rice-Mungbean intercropping system. *Agricultural Sciences in China* 9(4): 528-535.

Youpensuk S., Yimyam N., Rerkasem B. and Dell B. 2005. Arbuscular mycorrhizal fungi associated with upland rice in a rotational shifting cultivation system. *International Rice Research Note* 30 (2): 22-23.

Zhang F.S., Li L. 2002. Using competitive and facilitative interactions in intercropping systems enhances crop productivity and nutrient-use efficiency. *Plant and Soil*, 248:305-312.

Zheng W.W., Song Y.N. 2000. Effect mycorrhiza fungi and *Rhizobium* on wingbean growth and nitrogen fixation. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 15: 50-55. (in Chinese)

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1. Caractéristiques du site expérimental de Lazaina Avaradrano (2012).

Le dispositif expérimental a été mis en place dans le Fokontany de Mahatsinjo à 3 km de Lazaina (18°46'53.56''S ; 47°32'05.03''E, altitude 1290 m), Commune Rurale d'Ambohimanga Rova, Région Analamanga, à environ 12 km au Nord d'Antananarivo. Les sols présentent un caractère ferrallitique. Le terrain sur lequel le dispositif a été installé appartient à la Société Vohitra Environnement. Avant la mise en place du premier essai, en 2006, le sol était en défriche depuis plus de dix ans avec une végétation composée essentiellement de « bozaka » dont *Aristida sp* (Poaceae).

Le climat du site est du type tropical d'altitude avec une pluviométrie annuelle de 1300 mm et des températures annuelles allant de 15 à 23°C. Les caractéristiques physicochimiques du sol du site avant la mise en place de la première expérimentation en 2006 sont données dans le tableau ci-dessous.

Tableau sur les caractéristiques physico-chimiques du sol du site d'expérimentation avant la mise en place du premier essai en 2006. (Source : Rasoamaharo, 2008)

Teneur en phosphore total	Teneur en azote total	Pourcentage d'argile	pH eau
200 mg P Kg ⁻¹	1 mg N Kg ⁻¹	26 %	5,4

Annexe 2. Les solutions utilisées dans les déterminations des activités enzymatiques du sol

1- Tampon Mac Ilvain (citrate phosphate Buffer)

a- Solution A à 0,1M

C'est une solution d'acide citrique de 19,21g/litre d'eau distillée.

b- Solution B à 0,2M

53,65g de Na₂HPO₄ · 7H₂O (dibasic sodium phosphate) ou 71,7g de Na₂HPO₄ · 12H₂O sont dissouts dans 1 litre d'eau déminéralisée.

Pour préparer le tampon proprement dit au pH recommandé, il faut le mélange des deux solutions A et B selon le tableau ci-dessous :

Annexes

A(X)	B(Y)	pH
44,6	5,4	2,6
42,2	7,8	2,8
39,8	10,2	3
37,7	12,3	3,2
35,9	14,1	3,4
33,9	16,1	3,6
32,3	17,7	3,8
30,7	19,3	4
29,4	20,6	4,2
27,8	22,2	4,4
26,7	23,3	4,6
25,2	24,8	4,8
24,3	25,7	5
23,3	26,7	5,2
22,2	27,8	5,4
21	29	5,6
19,7	30,3	5,8
17,9	32,1	6
16,9	33,1	6,2
15,4	34,6	6,4
13,6	36,4	6,6
9,1	40,9	6,8
6,5	43,6	7

2- Solution tampon potassium phosphate

8,7g de K_2HPO_4 et 1,3g de KH_2PO_4 sont dissouts dans 800ml d'eau distillée. Le pH de la solution est ensuite mesuré et ajusté à 7,6 à l'aide de la soude et le tout est enfin complété à 1 litre. La solution est soit utilisée directement, sinon elle est conservée à 4°C.

Annexes

Annexe 3. Calcul du Nombre Probable de Propagules mycorhiziens (méthode NPP) décrite par Porter (1979).

Le nombre probable de propagules fongiques (NPP) contenu dans le pot sans dilution est donné:

$$\text{Log}_{10}NPP = x \log a - K$$

Où a est le facteur de dilution soit 4 dans notre cas.

$$\text{Donc } \text{Log}_{10}NPP = 0.60206x - K$$

x représente le niveau fertile moyen

x= nombre total de plants mycorhizés/ nombre de culture pour chaque dilution.

(x= nombre total de plants mycorhizés/ 5)

La valeur de K doit être lue dans la table proposée par W.L Stevens (Fischer & Yates, 1963):

x	Nombre de dilution			y	Nombre de dilution		
	4	5	6 ou plus		4	5	6 ou plus
0.4	0.704	0.706	0.0707	3.5			0.55
0.6	0.615	0.617	0.618	3			0.548
0.8	0.573	0.576	0.577	2.5		0.545	0.545
1	0.555	0.558	0.559	2	0.537	0.537	0.537
1.5	0.545	0.551	0.553	1.5	0.522	0.522	0.522
2	0.573	0.548	0.551	1	0.488	0.488	0.488
2.5		0.545	0.552	0.8	0.464	0.464	0.464
			0.552*	0.6	0.431	0.431	0.431
				0.4	0.375	0.375	0.375

La valeur de K est déterminée en entrant dans la table avec x ou y.

y représente le niveau stérile moyen => y= nombre de niveau de dilution-x

soit dans notre cas: y=6-x

La valeur moyenne de la variance de $\text{Log}_{10}NPP$ est $(1/n) \log_2 \log a$

Où n est le nombre de répétition pour chaque dilution.

Soit pour un facteur de dilution de 4 et pour 6 dilutions réalisées:

$$\text{Variance } (\text{Log}_{10}NPP) = 0.091/5 = 0.0182$$

Annexes

Annexe 4. Composition du milieu TCP (Tricalcium orthophosphate)

NH ₄ Cl	5 g
NaCl	1 g
MgSO ₄	1 g
Ca ₃ (PO ₄) ₂	4 g
Glucose	10 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH	7,2

Annexes

Annexe 5. Résultats sur les caractéristiques en couleur et en taille des spores sur les sols à témoin et à TSP20/M20 de riz et de haricot avec ou sans la coculture

I1: inoculum sous haricot; **I2:** inoculum sous riz; **I3:** inoculum mixte (sous riz et haricot) ; **S1:** sol sans fertilisant (témoin); **S4:** sol à TSP20/M20.

Origine des sols	Inoculum	Type de sols	Couleur de spore	Taille de spore			
				200 μm	100 μm	80 μm	50 μm
Sol sous Haricot	I1	S1	Clares	3	67	113	58
			Brunes	5	88	276	167
			Noires	9	133	869	488
		S4	Clares	0	18	99	56
			Brunes	3	68	322	129
			Noires	7	152	642	703
	I2	S1	Clares	6	24	94	171
			Brunes	3	72	342	236
			Noires	11	180	808	595
		S4	Clares	4	26	75	108
			Brunes	3	58	414	282
			Noires	9	213	660	632
	I3	S1	Clares	2	68	172	62
			Brunes	5	112	276	284
			Noires	12	91	596	568
S4		Clares	1	57	77	71	
		Brunes	3	46	186	214	
		Noires	4	116	722	522	
Sol sous Riz	I1	S1	Clares	2	20	120	20
			Brunes	7	48	276	176
			Noires	7	192	765	660
		S4	Clares	5	16	107	48
			Brunes	2	42	156	164
			Noires	8	176	780	668
	I2	S1	Clares	7	92	54	156
			Brunes	14	310	570	128
			Noires	6	232	568	712
		S4	Clares	6	64	131	124
			Brunes	7	120	292	222
			Noires	7	244	713	722
	I3	S1	Clares	4	76	176	176
			Brunes	7	204	356	248
			Noires	4	172	820	644
S4		Clares	5	47	103	118	
		Brunes	8	148	432	283	
		Noires	4	159	598	572	
Sol sous Riz-Haricot	I1	S1	Clares	2	68	172	62
			Brunes	5	112	276	284
			Noires	12	91	596	568
		S4	Clares	1	57	77	71

Annexes

	I2	S1	Brunes	3	46	186	214
			Noires	4	116	722	522
			Clares	4	76	176	176
			Brunes	7	204	356	248
			Noires	4	172	820	644
Sol sous Riz-Haricot	I2	S4	Clares	5	47	103	118
			Brunes	8	148	432	283
			Noires	4	159	598	572
	I3	S1	Clares	2	72	84	32
			Brunes	4	56	222	192
			Noires	6	96	972	344
		S4	Clares	1	32	108	70
			Brunes	6	36	258	242
			Noires	4	68	660	353

Comparaison des couleurs de spores entre le sol cultivé par du haricot seul (SI) ou en coculture (SIII).

Inoculum	Sol de culture	Fertilisant	Couleur des spores		
			Claire	Brune	Noire
I1	SI	S1	241 a	536 abcd	1499 hi
		S4	173 a	522 abcd	1504 hi
	SIII	S1	302 a	681 bcde	1266 gh
		S4	206 a	449 abc	1364 hij
I2	SI	S1	295 a	653 bcde	1594 hi
		S4	213 a	757 cde	1514 hi
	SIII	S1	432 abc	815 de	1640 i
		S4	273 a	871 ef	1333hij
I3	SI	S1	225 a	242 a	1561 hi
		S4	230 a	336 ab	1408 hi
	SIII	S1	190 a	474 abc	1418 hi
		S4	211 a	542 abcd	1085 fg

Les données sur les colonnes et lignes suivies par les mêmes lettres ne présentent pas de différence significative au seuil de 5% selon le test de Newman-keuls. **I1**: inoculum sous haricot; **I2**: inoculum sous riz; **I3**: inoculum mixte (sous riz et haricot) ; **S1**: sol sans fertilisant (témoin); **S4**: sol à TSP20/M20.

Annexes

Comparaison des couleurs de spores entre le sol cultivé par du riz seul (SII) ou en coculture (SIII).

Inoculum	Sol de culture	Fertilisant	Couleur des spores		
			Claire	Brune	Noire
I1	SII	S1	162 a	507 abcd	1624 jk
		S4	176 a	364 abc	1632 jk
	SIII	S1	302 ab	681 de	1266 hi
		S4	206 ab	449 abcd	1364 ij
I2	SII	S1	309 ab	1022 fg	1518 ijk
		S4	325 abc	641 cde	1686 k
	SIII	S1	432 abcd	815 ef	1640 jk
		S4	273 ab	871 efg	1333 ij
I3	SII	S1	224 ab	356 abc	1578 jk
		S4	259 ab	453 abcd	1350 ij
	SIII	S1	190 ab	474 abcd	1418 ijk
		S4	211 ab	542 bcd	1085 gh

Les données sur les colonnes et lignes suivies par les mêmes lettres ne présentent pas de différence significative au seuil de 5% selon le test de Newman-keuls. **I1**: inoculum sous haricot; **I2**: inoculum sous riz; **I3**: inoculum mixte (sous riz et haricot) ; **S1**: sol sans fertilisant (témoin); **S4**: sol à TSP20/M20.

Comparaison des tailles de spores entre le sol cultivé par du haricot seul (SI) ou en coculture (SIII).

Inoculum	Sol de culture	Fertilisant	Taille des spores (µm)			
			200 µm	100 µm	80 µm	50 µm
I1	SI	S1	17 a	288 abc	1258 klm	713 fgh
		S4	10 a	238 abc	1063 ijkl	888ghij
	SIII	S1	20 a	271 abc	1044 ijkl	914 ghij
		S4	8 a	219 abc	985 hijkl	807 fg hi
I2	SI	S1	20 a	276 abc	1244 klm	1002 hijkl
		S4	16 a	297 abc	1149 jklm	1022 ijkl
	SIII	S1	15 a	452 cde	1352 m	1068 ijkl
		S4	12 a	354 bcd	1133 jklm	973 hijkl
I3	SI	S1	17 a	176 abc	960 hijk	880 ghij
		S4	12 a	146 ab	1026 ijkl	790 fg hi
	SIII	S1	12 a	224 abc	1278 lm	568 def
		S4	11 a	136 ab	1026 ijkl	665 efg

Les données sur les colonnes et lignes suivies par les mêmes lettres ne présentent pas de différence significative au seuil de 5% selon le test de Newman-keuls. **I1**: inoculum sous haricot; **I2**: inoculum sous riz; **I3**: inoculum mixte (sous riz et haricot) ; **S1**: sol sans fertilisant (témoin); **S4**: sol à TSP20/M20.

Annexes

Comparaison des tailles de spores entre le sol cultivé par du riz seul (SII) ou en coculture (SIII).

Inoculum	Sol de culture	Fertilisant	Taille des spores (µm)			
			200	100	80	50
I1	SII	S1	16 a	260 abc	1161 jklm	856 ghi
		S4	15 a	234 abc	1043 hijk	880 ghi
	SIII	S1	20 a	271 abc	1044 hijk	914 ghij
		S4	8 a	219 abc	985 hijk	807 fgh
I2	SII	S1	27 a	634 efg	1192 klm	996 hijk
		S4	20 a	428 bcde	1136 jklm	1068 hijkl
	SIII	S1	15 a	452 cde	1352 m	1068 hijkl
		S4	17 a	354 bcd	1133 jklm	973 hijk
I3	SII	S1	18 a	232 abc	1248 lm	660 efg
		S4	9 a	176 abc	1197 klm	680 efg
	SIII	S1	11 a	224 abc	1278 lm	568 def
		S4	12 a	136 ab	1026 hijk	665 efg

Les données sur les colonnes et lignes suivies par les mêmes lettres ne présentent pas de différence significative au seuil de 5% selon le test de Newman-keuls.

I1: inoculum sous haricot; **I2:** inoculum sous riz; **I3:** inoculum mixte (sous riz et haricot); **S1:** sol sans fertilisant (témoin); **S4:** sol à TSP20/M20.

RESUME

Partage des éléments nutritifs entre deux espèces végétales par l'intermédiaire des symbiotes fongiques et rhizobiens dans un système de culture riz pluvial-haricot sur les Hautes Terres malgaches

Dans l'amélioration du rendement de riz pluvial et de la fertilité du sol, une expérimentation sur des cultures de riz pluvial (*Oryza sativa*) et de haricot (*Phaseolus vulgaris*) seules ou en association, sur des sols contenant peu ou pas de fertilisants phosphatés et sous l'effet de symbiotes mycorhiziens et/ou rhizobiens a été conduite en serre. Les inocula mycorhiziens et/ou rhizobiens sont directement issus de racines de riz et/ou de haricot. Par la suite, une étude a été portée sur l'évaluation des teneurs en azote et en phosphore dans les parties aériennes de chaque espèce de plantes. Par ailleurs, le développement des plantes ainsi que le fonctionnement des microorganismes telluriques ont été mesurés.

Les résultats ont révélé l'influence positive de l'association culturale et de l'inoculation de racines sur le rendement du riz pluvial par l'amélioration de la croissance et des teneurs en éléments minéraux de la plante. En effet, l'association culturale a augmenté de 3,5% et de 48% les teneurs en azote et en phosphore du riz comparée à la monoculture. En présence d'inoculum racines mixtes de riz et de haricot, la croissance du riz a augmenté considérablement et la biomasse sèche a atteint 0,350g. De même, des teneurs élevées en azote N= 19098 mg kg⁻¹ et en phosphore P= 1113 mg kg⁻¹ ont été obtenues en présence de l'inoculum racines mixtes de riz et de haricot. Par ailleurs, l'interaction inoculation de racines avec la coculture a des effets positifs sur la croissance de la plante et les teneurs en éléments nutritifs. D'une part, la biomasse sèche du riz la plus élevée, soit 0,516g, a été observée sur le traitement coculture avec inoculum racines de haricot. D'autre part, la combinaison coculture avec inoculum racines mixtes de riz et de haricot a été plus performante en produisant des teneurs importantes en phosphore P= 1429 mg kg⁻¹ et en azote N= 20481 mg kg⁻¹.

Cependant, malgré la stimulation de la croissance des plants de haricot en coculture, les teneurs en azote et en phosphore de la partie aérienne sèche des plants de haricot ont été réduites de 5,5% et de 15%. Ceci est dû à l'effet de compétition entre les espèces en coexistence. De plus, l'interaction du système de culture associée avec inoculation de racines n'a pas eu d'effet significatif sur les teneurs en éléments nutritifs du haricot.

Les résultats ont également montré que sur les sols à fumier et à TripleSuperPhosphate (comme apport de matières organiques et de phosphore) et en système cultural associatif, les propagules mycorhiziennes ont été abondantes et la quantité de bactéries solubilisatrices de phosphate a été plus de 30% comparée aux sols issus de culture seule. Par ailleurs, l'activité microbienne globale ainsi que l'activité des phosphatases acides ont été significativement augmentées, ce qui améliore la qualité du sol.

Mots clés : association culturale, azote, phosphore, effet de complémentarité et de compétition, endomycorhizes à arbuscules et à vésicules, bactéries fixatrices d'azote, flore solubilisatrice de phosphate.

ABSTRACT

Sharing nutrient contents between upland rice-bean intercropping system mediated by fungi and rhizobial symbiots in the highlands of Madagascar.

In order to enhance upland rice yield and soil fertility, an experiment which consists on cultivation of upland rice (*Oryza sativa*) and bean (*Phaseolus vulgaris*) separately or mixed crops, with low or zero phosphorus fertilizers in soils and uninoculated with mycorrhizal and rhizobial symbionts, was conducted in a greenhouse condition. Symbionts were directly prepared from rice and bean roots. Eventually, a special emphasis will be made on the plant nitrogen and phosphorus contents assessment of each species. In addition, plant growth, microorganisms and enzyme activity in soils were examined.

The results revealed that intercropping system and roots inoculation influenced positively rice yield by improving rice growth and nutrient contents. Indeed, mixed cropping increased up to 3.5% and 48 % the levels of nitrogen and phosphorus in rice dry matter compared with cultivated plant separately. The presence of bean and rice roots as inoculation increased the rice growth considerably and reached a dry biomass of 0.350 g. Similarly, the higher nutrient contents in rice, P=1113 mg kg⁻¹ and N= 19098 mg kg⁻¹, was obtained with bean and rice roots inoculation. Moreover, interaction between roots inoculation and intercropping system had positive effects on rice growth and nutrient uptakes. On the one side, the higher rice dry biomass, 0.516 g, was observed on mixed culture with bean roots inoculum. On the other side, mixed culture with bean and rice roots inoculum produced higher levels of nutrient on rice plant : P= 1429 mg kg⁻¹ and N= 20481 mg kg⁻¹.

However, although bean growth was stimulated by mixed culture, the levels of nitrogen and phosphorus in bean dry matter were reduced up to 5.5% and 15% due to the competition between co-occurring species. In addition, interaction between intercropping system and roots inoculation had no significant effect on nutrient uptakes for bean plant.

The results also showed that in intercropping culture soil with manure and TripleSuperPhosphate as organic matter and phosphorus supply, there were large number of mycorrhizal propagules and the amount of phosphate solubilizing bacteria was 30% more than those recorded on monoculture. As well, overall microbial activity and acid phosphatase were significantly increased on those treatments indicating soil quality improvement.

Key words: intercropping system, phosphorus, nitrogen, competition and facilitation, arbuscular mycorrhizal fungi, bacteria nitrogen fixation, phosphate solubilizing bacteria.