



UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE

Mémoire pour l'obtention du Diplôme d'Etudes Approfondies en Sciences de la vie

Option : Biotechnologie-Microbiologie



Présenté par:

**RASATANDRIANOMBANA Nirina Andrianina**

Maître ès Sciences

Soutenu publiquement le..... devant la commission d'examen composée de:

Président:

Rapporteurs:

Examineurs:





# Tables des matières

<b>PRESENTATION DU PROJET FABATROPIMED</b>	<b>VI</b>
<b>GLOSSAIRE</b>	<b>VIII</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX</b>	<b>X</b>
<b>LISTES DES ABREVIATIONS</b>	<b>IV</b>
<b>LISTES DES FIGURES</b>	<b>VI</b>
<b>LISTES DES PLANCHES</b>	<b>VI</b>
<b>INTRODUCTION</b>	<b>11</b>
<b>SYNTHESES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>15</b>
<b>I. Description et production du haricot</b>	<b>16</b>
1. Description et position taxonomique du haricot	16
2. Culture et production du haricot	17
<b>II. Les symbioses racinaires chez le haricot</b>	<b>17</b>
1. La symbiose fixatrice d'azote atmosphérique	17
2. La symbiose endomycorhizienne	18
3. Impact des fertilisants sur la dynamique des microorganismes rhizosphériques	19
<b>III. Sites d'études :</b>	<b>21</b>
1. Antsirabe :	21
2. Analavory :	21
<b>MATERIELS ET METHODES</b>	<b>22</b>
<b>I. Matériel végétal :</b>	<b>23</b>
<b>II. Dispositif expérimental et prélèvement des échantillons</b>	<b>24</b>
<b>III. Méthodologie</b>	<b>25</b>

1.	Influence de la fertilisation du sol et de la variété de haricot vert nain sur le développement, le rendement de production et les symbioses racinaires-----	25
a.	Calcul du rendement de production -----	25
b.	Mesure des biomasses sèches (aérienne et racinaire)-----	25
c.	Calcul du taux de nodulation des racines-----	26
d.	Calcul du taux d'endomycorhization des racines -----	26
2.	Impact de la fertilisation du sol sur la dynamique de la communauté de champignons endomycorhiziens associées aux deux variétés de haricot vert nain -----	26
a.	Diversité morphologique et densité des propagules de spores de champignons endomycorhiziens en fonction du type de fertilisation du sol et de la variété de haricot vert nain utilisé -----	27
b.	Evaluation du Nombre Probable de Propagules (NPP) de champignons endomycorhiziens susceptibles d'infecter un plant de haricot selon le type de fertilisation et la variété utilisée -----	28
3.	Importance du type de fertilisation du sol et la variété de haricot vert nain sur les paramètres chimiques du sol de culture.-----	29
a.	Analyse de la teneur en azote assimilable dans le sol -----	29
b.	Analyse de la teneur en phosphore assimilable du sol -----	29
<b>IV.</b>	<b>Traitements statistiques des données-----</b>	<b>29</b>
	<b>RESULTATS -----</b>	<b>30</b>
1.	Développement et rendement de production des deux variétés de haricot vert nain en fonction de la fertilisation du sol-----	31
2.	Dynamique de la communauté de champignons endomycorhiziens associées aux deux variétés de haricot vert nain-----	35
3.	Teneur en azote et en phosphore assimilable dans le sol en fonction du type de fertilisation et de la variété de haricot-----	40
4.	Analyses en composantes principales des données-----	41
a.	Résultat de l'analyse en composante principale indiquant la relation entre les facteurs Variété 02, les types de fertilisation et les paramètres mesurées -----	41
b.	Résultat de l'analyse en composante principale indiquant la relation entre les facteurs Variété 06, les types de fertilisation et les paramètres mesurées -----	43
	<b>DISCUSSION-----</b>	<b>46</b>
	<b>Conclusion générale et perspectives -----</b>	<b>50</b>
	<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES -----</b>	<b>52</b>
	<b>ANNEXES-----</b>	<b>60</b>
	Dosage de l'azote du sol-----	61

Solution tampon-----	61
Milieu de culture YMA-----	61
Calcul du nombre le plus probable de propagules mycorhiziens (méthode NPP) décrite par Porter (1979).-----	62
– Exemple de calcul des NPP. -----	62
Composition du bleu trypan : -----	63

## PRESENTATION DU PROJET 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. »

Le projet Fabatropimed financé par **Agropolis Fondation** a débuté en 2011. Il regroupe, pour une durée de quatre ans, 15 équipes de recherche des UMR Eco&Sols, Innovation, LSTM et les unités SCA et Diascope du campus de Montpellier, en partenariat avec des universités originaires des 8 pays dont Madagascar, Tunisie, Maroc, Sénégal, Mali, Burkina-Faso, Algérie, et l'Égypte.

Son objectif est d'augmenter le bénéfice des légumineuses pour les systèmes de culture céréalière et l'environnement dans des agro-écosystèmes d'Afrique méditerranéenne et tropicale par la réduction de l'utilisation des fertilisants minéraux, l'augmentation de la séquestration du carbone et la valorisation des interactions entre les microorganismes du sol pour favoriser l'acquisition et l'utilisation de l'azote et du phosphore par les plantes.

Fabatropimed mène une recherche participative dans six agro-écosystèmes sur la base d'un diagnostic agronomique et environnemental divisé en cinq « Works pack »(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 et de l'atmosphère (WP2), la caractérisation de la diversité fonctionnelle microbienne, symbiotique et rhizosphérique (i.e. dans la zone d'influence des racines) (WP3) et la recherche des gènes d'efficacité d'acquisition et d'utilisation du phosphore pour la fixation symbiotique de l'azote (WP4).

Les actions de recherches ont été réalisées par l'intermédiaire de ce mémoire de fin d'étude pour l'obtention d'un Diplôme d'Etudes Approfondies en partenariat avec la société Lecofruit, une société Malgache spécialisée dans la production et l'exportation de légumes issus d'agriculture biologique et conventionnelle. Ce travail a été réalisé par une approche d'écologie fonctionnelle des interactions plante-microorganisme- sol-atmosphère avec une espèce de légumineuses, *Phaseolus vulgaris* en monoculture dans un système cultural à fertilisation biologique. Fabatropimed considère les légumineuses comme des ingénieurs écologiques du fonctionnement biologique des sols, en étudiant les Interactions symbiotiques et rhizosphériques. Il porte sur i) l'efficacité de l'utilisation de nutriments et l'interaction entre nitrogène et phosphore, ii) l'utilisation de légumes afin de produire des aliments pour les

animaux ou pour les humains à haute teneur protéinique avec réduction d'intrants et iii) la biodiversité des bactéries dans les sols et de mycorhize.

## GLOSSAIRE

**Albumen:** tissu de réserve de la graine pouvant être de nature glucidique, lipidique ou protéique.

**Amendement:** apport d'un produit fertilisant ou d'un matériau destiné à améliorer la qualité des sols

**Arbuscules:** mycélium d'un champignon présent dans les cellules des parties souterraines d'une plante. Excroissances d'hyphes mycéliens en forme de petits arbres que l'on retrouve dans les mycorhizes VA dont le rôle c'est d'assurer le transfert des éléments nutritifs présents dans le sol, tout particulièrement les phosphates, vers le système racinaire.

**Autofécondation:** fécondation d'un ovule par du pollen issu de la même plante.

**Biocénose:** l'ensemble des êtres vivants coexistant dans un espace défini (le biotope), ainsi que leur organisation et leur richesse spécifique.

**Chimiotactisme:** effet d'attraction ou de répulsion exercé par certaines substances sur une cellule vivante capable de nager ou de ramper pour se rapprocher ou s'éloigner du point d'où diffuse cette substance.

**Ellipsoïde:** caractère se référant à la forme d'une ellipse

**Endosymbiontes:** partenaire symbiotique qui vit à l'intérieur des cellules de son hôte

**Exsudats racinaires:** Liquide excrété par les racines des végétaux. Il contient de l'eau, des sels minéraux (phosphore, potassium, etc.), des glucides, des acides organiques (acide formique pour l'orge et le cresson, acide malique pour le pois et le maïs, etc.), des acides aminés, des enzymes, des vitamines... Ces composés sont utilisés comme aliments par les microorganismes du sol.

**Fertilisants:** produits destinés à assurer ou à améliorer la nutrition des végétaux et les propriétés des sols.

**Interactions :** Action réciproque qu'exercent l'un sur l'autre deux ou plusieurs systèmes physiques.

**Javellisé :** action de rajouté de l'eau de javel dans l'eau ou sur un matériel pour le stériliser

**Microflore :** ensemble des êtres vivants différents du règne animal, de très petite taille (microorganismes, champignons, etc.), généralement non chlorophylliens, qui vivent dans les milieux obscurs et humides tels que le sol, l'intestin des animaux.



**Monophylétique** : se dit des groupes zoologiques ou botaniques considérés comme dérivés d'une seule espèce primordiale, d'un ancêtre commun.

**Mucilage** : substance polysidique (composée de glucides) présente chez de nombreux végétaux. Cette substance gonfle au contact de l'eau et forme une solution visqueuse (gel), parfois collante.

**Mycorhize**: organe spécifique issue d'une association symbiotique qui s'établit entre un ou plusieurs espèces de champignon avec les racines d'une plante

**Nappes aquifères** : strate perméable de roche, sable ou gravier porteuse d'eau douce, formant un réservoir d'eau souterraine.

**Nodule** : structure qui se forme au niveau des racines des légumineuses après l'infection de la plante par des bactéries fixatrices d'azote conférant ainsi à la plante la capacité à utiliser l'azote atmosphérique

**Organelles**: petites structures internes différenciées, c'est à dire délimitées par une membrane, de la cellule vivante. Chacune exerce une fonction spécialisée dans la cellule.

**Papilionacée**: plante de l'ordre des légumineuses, à fleurs papilionacées, telle que le lupin, le trèfle, l'ajonc ou le haricot. (Pour certains auteurs, les papilionacées forment une famille, pour d'autres une simple sous-famille, d'où leur autre nom de papilionidés.)

**PGPR** : bactéries de la rhizosphère capables d'interactions avec les plantes, stimulant leurs croissances.

**Rhizosphère** : région du sol directement soumise à l'influence par les racines et où coexistent divers espèces de microorganismes bénéfiques ou non pour la plante

**Saprophyte**: Organismes (végétaux supérieurs, des champignons et des microorganismes) qui se nourrissent de matière organique morte.

**Symbiose** : association intime et durable entre deux organismes hétérospécifiques et où chacun d'eux tire un bénéfice à cette association.

**Variété** : caractère de diversification d'individus dans les actions ou les éléments constitutifs sont différents.

**Zygomorphe**: Se dit des fleurs qui ont un seul plan de symétrie, généralement vertical, comme les pois, les violettes, les linaires, les orchidacées, etc., ce qui est l'indice d'une évolution très poussée.

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Production de haricots (en tonnes) à Madagascar entre l'année 2000-2006.....	17
Tableau 2 : Traitement appliqué sur les différentes parcelles de cultures.....	23
Tableau 3 : Proportion relative du mélange sable stérilisé et sol de culture .....	28
Tableau 4: Développement de la variété 02 selon le type de fertilisation.....	31
Tableau 5 : Développement de la variété 06 selon le type de fertilisation.....	31
Tableau 6 : Synthèse des comparaisons multiples par paires pour les deux Variétés.....	32
Tableau 7 : Synthèse des comparaisons multiples par paires pour les Traitements.....	33
Tableau 8: Synthèse des comparaisons multiples par paires pour les deux variétés et les traitements .....	34
Tableau 9 : Densité de spores de champignons endomycorhiziens des deux variétés 02 et 06 en fonction des traitements fertilisant .....	35
Tableau 10: Nombre probable de propagules (NPP/100g de sol) de Champignons endomycorhiziens par 100g de sol pour les deux variétés de haricot vert.....	36
Tableau 11: Synthèse des comparaisons multiples par paires pour Variété.....	36
Tableau 12: Synthèse des comparaisons multiples par paires pour Traitements .....	37
Tableau 13: Synthèse des comparaisons multiples par paires pour Variété*Traitements .....	38
Tableau 14: Teneur en azote assimilable par la plante ( $\text{NO}_3$ ) pour les deux variétés 02 et 06 (mg/kg de sol).....	40
Tableau 15 :Teneur en Phosphore assimilable (P résine) dans le sol en fonction du type de fertilisation (mg/kg de sol) .....	40
Tableau 16 : Matrice des corrélations entre les différents paramètres .....	43
Tableau 17: Matrice des corrélations entre les différents paramètres .....	44
Tableau 18 : Présence de structures mycorhiziennes pour chaque plant et pour chaque dilution (+ : plant mycorhizé) .....	62

## LISTES DES ABREVIATIONS

ACP : analyse en composante principale

BA : biomasse aérienne

BR : biomasse racinaire

FAO: organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture.

IRD 2: amendements composé de compost, de phosphate, de phosphore

IRD 3: amendements composé de compost, de phosphate, de phosphore rajouté d'engrais azoté à 300Kg/ ha

IRD 4: amendements composé de compost, de phosphate, de phosphore rajouté d'engrais azoté à 600Kg/ ha

IRD 5: amendements composé de compost, de phosphate, de phosphore rajouté d'engrais azoté à 900Kg/ ha

Maep: Ministère de l'agriculture, de l'élevage et de la pêche de Madagascar

MVA : mycorhizes à vésicules et à arbuscules

N spores : nombres de spores

P NOD : poids secs des nodules racinaire

NOD/plt ou ND: nombre de nodules par plantes

NPP : nombre le plus probable de propagules

PGPR : plant growth promoting rhizobium

PIM : potentiel infectieux mycorhizogène du sol

Rdt : rendement de production

TM : taux de mycorhization

## **LISTES DES FIGURES**

Figure 1: Structure anatomique des deux principaux types de mycorhize (A: Coupe transversale d'une racine avec mycorhize ectotrophe, B : Coupe d'une racine avec mycorhize endotrophe à vésicule et à arbuscule) (Source: Fritsche, 1998).....	19
Figure 2 : Schémas simplifié du dispositif expérimental .....	24
Figure 3: Diversification de la couleur des spores associées à la variété 02.....	39
Figure 4: Diversification de la couleur des spores associées à la variété 06.....	39
Figure 5 : Analyse en composante principale pour la variété 02 .....	42
Figure 6 : Analyse en composante principale de la variété 06.....	44

## **LISTES DES PLANCHES**

Planche 1 : Nodules sur le système racinaire du soja.....	18
Planche 2 : Nodules sur le système racinaire du haricot .....	18
Planche 3 : Dispositif expérimental établi sur terrain .....	25

# **INTRODUCTION**

Dans les contextes actuels de changement climatique et de désertification des terres, il convient, pour obtenir un rendement de production optimal, de considérer à la fois la fertilité du sol et la qualité de l'environnement, en adoptant des techniques culturales adéquates (St. Clair & Lynch, 2010). En effet, dans les années à venir, la production agricole devra à la fois répondre aux besoins continuellement croissants de la population mondiale et préserver l'environnement au même titre que les ressources naturelles (FAO, 2009). Sachant que dans plusieurs pays, l'extension des surfaces cultivables est quasiment impossible, la sécurité alimentaire devrait être basée principalement sur l'augmentation du rendement de production (Kouadio *et al.*, 2011). Or, d'une part, la fertilisation et le potentiel de la plante sont les deux principaux facteurs qui influencent le fonctionnement du sol et le rendement de production végétale (Dikinya & Mufwanzala, 2010 ; Baohanta *et al.*, 2012), et d'autre part, les plantes pour leur croissance et pour assurer une meilleure production ont des besoins nutritionnels basiques en azote, en phosphore et en potassium ainsi qu'en d'autres éléments secondaires tels que le calcium, le soufre, le magnésium, le fer, le manganèse et le cuivre (Tyler & Olsson, 2001 ; Graham & Stangoulis, 2003 ; Morgan & Connolly, 2013). Certains de ces éléments sont naturellement présents dans le sol mais leur teneur ainsi que leur disponibilité varient considérablement d'un type de sol à un autre (Marschner *et al.*, 2003 ; Jones *et al.*, 2004). De ce fait, trouver l'équilibre entre les nutriments absorbés par la plante et le stock dans le sol s'avère être un mécanisme complexe. Par ailleurs, les agriculteurs, notamment ceux dans les pays en voie de développement, ne possèdent pas les connaissances nécessaires en matière de propriétés du sol que ce soit du point de vue biologique que physico-chimique. Ils essayent de pallier le problème en augmentant la teneur en fertilisant à apporter au sol, principalement en fertilisants chimiques, pour augmenter le rendement de production. Les résultats obtenus par le FAO en 2003 confirment cette constatation avec une augmentation de 6,2 kg/ha à 118,7 kg/ha entre 1961 et 2000 alors que pour les pays développés, cette augmentation a été seulement de l'ordre de 40,4 kg/ha à 80,5 kg/ha seulement. Malheureusement, ses actions n'apportent pas souvent les résultats escomptés mais entraînent d'autres situations souvent catastrophiques au niveau des propriétés physico-chimiques ainsi que sur le fonctionnement de la faune ou de la flore dans le sol (Siavoshi *et al.*, 2011).

Le manque de connaissances sur les besoins réels du sol en matière de fertilisation conduit souvent à des sur-fertilisations ou sous fertilisations à l'origine de la baisse du rendement de production. Or, l'application des fertilisants chimiques sur le long terme affecte en même temps les propriétés physico-chimiques et microbiologiques du sol (Acton & Gregorich, 1995

; Zhonga & Cai, 2007 ; Stark *et al.*, 2007 ; Savci, 2012). Cette deuxième entité est souvent négligée dans les pratiques de fertilisation alors qu'elle garantit non seulement le maintien durable de la fertilité du sol mais aussi une meilleure productivité (Magdoff & Weil, 2004). Une modification au niveau de la diversité et de la densité des microorganismes du sol reflète un changement profond en matière de fertilité du sol (Patra *et al.*, 2008 ; Islam *et al.*, 2009). Parmi les indicateurs microbiologiques les plus sensibles à la variation de la disponibilité en nutriments dans le sol, la communauté de champignons mycorhiziens et les bactéries fixatrices d'azote sont les plus étudiés (Allen, 1992 ; Garbaye, 1994 ; Smith & Read, 1997 ; Duponnois & Plenchette, 2003 ; Ramanankierana *et al.*, 2006 ; Smith & Read, 2008 ; Sanon, 2009). En effet, ce sont deux composantes qui sont fortement impliquées dans le cycle biogéochimique et l'amélioration de la croissance des plantes (Duponnois *et al.*, 2005 ; 2007 ; Faye *et al.*, 2009). D'où l'importance de trouver le type de fertilisation adéquate ainsi que la variété intéressante pour garantir une productivité optimale, respectueuse de la fertilité du sol et le fonctionnement de ces deux types de communautés microbiennes. Généralement, divers types d'amendements organiques, minéraux ou encore mixtes ainsi que divers systèmes culturels sont pratiqués sans considération préalable des composantes biologiques du sol.

À l'échelle mondiale, le haricot vert, avec ses multiples variétés, figure parmi les légumes les plus consommés à cause de sa faible teneur en calories et sa richesse en d'autres substances nutritives (Meiners *et al.*, 1976; Messina, 1999 ; Díaz-Batalla *et al.*, 2006 ; Mario Paredes *et al.*, 2009). En 2006, la totalité des demandes en importation de haricot se sont élevées en 277 000 tonnes dont la moitié provient des pays Africains. Les principaux pays producteurs par ordre d'importance sont la Chine, l'Indonésie, la Turquie, l'Inde, l'Égypte, l'Espagne, l'Italie, le Maroc, Belgique, les États-Unis, la Thaïlande et le Pays-Bas tandis que les principaux exportateurs sont le Maroc, le Kenya et l'Égypte, suivis par le Sénégal, l'Éthiopie, la Zambie et le Burkina Faso (Eurostat, 2004 ; FAO, 2006 ; Paqui, 2007). Pour le cas de Madagascar, non seulement la qualité des produits ne satisfait pas les normes préétablies dans le marché international mais la production ne peut pas répondre à la demande des pays importateurs. Ces problèmes sont étroitement liés à la fertilité du sol ainsi qu'à la lacune de connaissances sur l'écologie et les besoins en éléments nutritifs du haricot (SIC/DSEC FOFIFA, 2013). Or, les grands exportateurs comme le Kenya et la Chine ont depuis fort longtemps priorisé ces trois facteurs pour améliorer leur productivité. Des nombreuses recherches ont démontré que le développement et la productivité ainsi que la qualité des gousses des haricots sont fortement dépendants des symbioses que la plante établisse avec deux groupes de microorganismes

bénéfiques du sol dont les bactéries fixatrices d'azote et les champignons endomycorhiziens à vésicules et à arbuscules (Bhattarai *et al.*, 2011).

De ce fait, en choisissant comme site d'étude des parcelles multilocales de production de haricot de la société Lecofruit Madagascar, l'hypothèse sur laquelle repose ce projet de recherche stipulait que "*les différentes techniques de fertilisation du sol ainsi que la variété de haricot cultivée affecteraient d'une part la dynamique des communautés bactériennes fixatrices d'azote et de champignons mycorhiziens, et d'autre part, la qualité physico-chimique des sols de culture et par la même occasion le rendement de production*". L'objectif principal a été de décrire l'évolution des communautés de bactéries fixatrices d'azote et de champignons endomycorhiziens à vésicules et à arbuscules ainsi que la dynamique des deux nutriments majeurs (azote et phosphore) des sols sous les différentes techniques de fertilisation appliquées et la variété de haricot utilisée. Les résultats obtenus permettront de proposer une ou des techniques de fertilisation qui favoriseront ces formes d'associations symbiotiques au bénéfice de la plante, de la fertilité du sol et du rendement. De ce fait, les objectifs spécifiques seront donc de :i) évaluer le développement du haricot vert, *Phaseolus vulgaris* et le rendement de production par type de fertilisant adopté et de variété cultivée, ii) décrire la dynamique des communautés de bactéries symbiotiques fixatrices d'azote et de champignons mycorhiziens à vésicules et à arbuscules et iii) mesurer la dynamique des deux éléments nutritifs majeurs (azote et phosphore) pour les plantes.



# **SYNTHESES BIBLIOGRAPHIQUES**

## I. Description et production du haricot

### 1. Description et position taxonomique du haricot

Le haricot, connu sous l'appellation scientifique *Phaseolus vulgaris*, est une plante herbacée annuelle caractérisée par une floraison de couleur blanche, rose ou violette. Il s'agit d'une floraison zygomorphe du type Papilionacée possédant 5 sépales soudés, 5 pétales (généralement 3 libres entre eux et 2 soudés) et 10 étamines dont généralement 9 soudées par leur filet et un sac ovarien multiple (Fatou, 2002). Dans la plupart des cas, la fleur réalise une autofécondation et développe un fruit ou gousse droite ou légèrement courbé. Les graines, sans albumen, sont riches en protéines et en glucides d'où l'appellation de viande maigre. Elles sont rondes, ellipsoïdes quelque peu aplaties ou arrondies. Le haricot est originaire d'Amérique latine et centrale où il a été domestiqué depuis plus de 8000 ans (Gepts & Debouck, 1991). La culture du haricot est, en Amérique latine et dans plusieurs pays d'Afrique et d'Asie, l'une des plus importantes cultures vivrières, et constitue une grande source de protéines végétales pour la consommation humaine et animale. Le haricot est une plante couramment cultivée comme légume, dont le fruit, le haricot vert ou "mange-tout" et les graines sont appréciés par leur goût et leur richesse en protéines. Les Indiens qui l'appelaient "ayacolt" la cultivaient depuis des millénaires. Christophe Colomb le découvre sur l'île de Cuba. Le haricot a été introduit en Europe au début du XVI<sup>e</sup> siècle, mais il restera pendant de nombreuses années un légume consommé en grains. Au XVIII<sup>e</sup> siècle, ce sont les Italiens qui commencèrent à manger les gousses des haricots, cueillies avant maturité, comme légume.

Selon Guignaed (1998) la position systématique du haricot est la suivante

<b>Règne :</b>	Végétale
<b>Embranchement :</b>	Spermatophytes
<b>Sous-embranchement :</b>	Angiospermes
<b>Classe :</b>	Dicotylédones
<b>Ordre :</b>	Fabales
<b>Famille :</b>	Fabacées
<b>Genre :</b>	<i>Phaseolus</i>
<b>Espèce :</b>	<i>vulgaris</i>
<b>Nom vernaculaire:</b>	Haricot (Malagasy : « tsaramaso »)

## 2. Culture et production du haricot

Pour le cas de Madagascar, la culture des légumineuses comme le haricot et le pois du cap tient une place importante dans l'agriculture mais ce sont généralement des cultures localisées. La culture du haricot, seul ou en association avec d'autres plantes vivrières, occupe environ 10% des superficies cultivées en culture vivrières et se pratique principalement sur les hautes terres de la grande île, dans les Régions de Vakinankaratra, d'Itasy et du Ménabe (Andriamalala, 2003 ; Andrianiaina, 2006). D'après le Service de la Statistique Agricole (Annuaire agricole ; 2004) la culture du haricot à Madagascar occupe environ 80 000 ha dans les années 2000 avec un rendement de production qui augmente certes mais pas d'une manière très spectaculaire (Tableau 1) (Maep, 2009). En effet, si en 1995 Madagascar à exporter 6 075 tonnes de haricots, ce chiffre est réduit de moitié dans les années 2000 dues à la fois à l'insuffisance de la production mais également à la mauvaise qualité du produit (FAO, 2011). Le manque d'éléments nutritifs majeurs tels que l'azote, le phosphore ou encore de calcium sont les principaux facteurs limitant qui affectent à la fois le rendement de production et la qualité des gousses ou des graines de haricots (Kondorosi, 2013).

**Tableau 1 : Production de haricots (en tonnes) à Madagascar entre l'année 2000-2006**

Année	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Surface de culture de haricot	82 990	82 985	82 990	83 020	83 039	74 446	83 300
Production de haricot en grain sec	74 080	75 050	70 380	75 000	69 823	78 175	87 500

Source: Maep (Ministère de l'agriculture, de l'élevage et de la pêche), 2009

### II. Les symbioses racinaires chez le haricot

Le haricot durant sa croissance s'associe en symbiose avec au moins deux types de microorganismes pour améliorer sa nutrition. Ainsi, son système racinaire peut renfermer à la fois des organes spécifiques, techniquement appelé nodule et mycorhize, issues de ces associations symbiotiques (Frank, 1885 ; Kammoun, 1983 ; Bensimon, 2007).

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

Cette forme de symbiose s'établit entre les plants de haricots au niveau de son système racinaire et des bactéries spécifiques dont la majorité appartient au genre *Rhizobium* (Brink & Belay, 2006). L'association se traduit par la formation d'un organe spécifique appelé nodule (planche photo n°1 et 2) à l'intérieur duquel vivent les bactéries fixatrices d'azote (Patriarca *et al.*, 2004 ; Gage, 2004; Stacey *et al.*, 2006).



**Photo 1 : Nodules sur le système racinaire du soja**

**Photo 2 : Nodules sur le système racinaire du haricot**

**Source:** <http://www.cetiom.fr> et Lecofruit

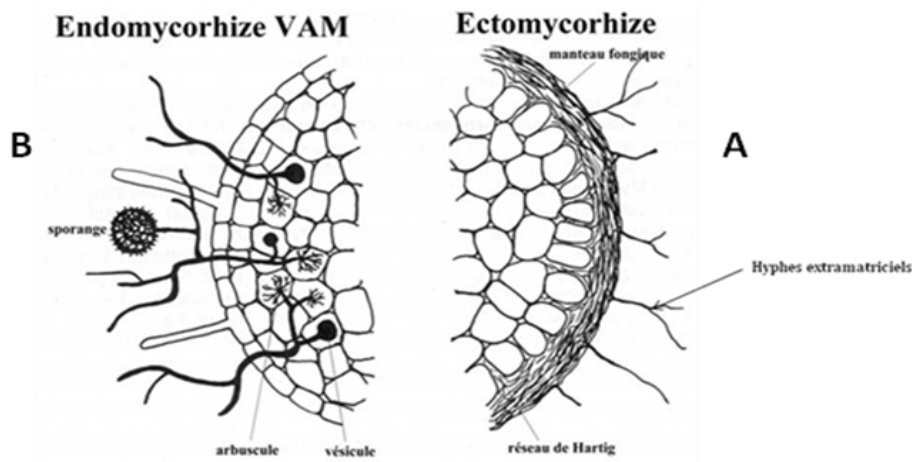
De ce fait, étant donné que les plantes ne possèdent pas la capacité d'utiliser l'azote atmosphérique, leur association avec les bactéries fixatrices d'azote leur permet d'en bénéficier à des quantités suffisamment élevées pour assumer quelques fonctions basiques dans leur croissance (Gaudry, 2012 ; Revellin, 2013). Il est à noter que l'azote tient une importance capitale dans la vie d'une plante car il intervient dans la fabrication des protéines et la production des matières sèches (Chapin, 1980 ; FAO, 1997 ; Merrigout, 2006).

## **2. La symbiose endomycorhizienne**

La symbiose mycorhizienne (du grec «mukês» pour champignon et «rhiza» pour racine) est l'association symbiotique qui s'établit entre un champignon vivant dans le sol et les racines d'une plante hôte donnant naissance à la formation d'un organe spécifique appelé mycorhize (Durrieu, 1993; Egli et Brunner, 2002). Ces organes peuvent se développer à l'intérieur des cellules de la racine et produire des structures en forme de vésicules ou arbuscules, *endomycorhize à vésicules ou à arbuscules*, ou à l'extérieur entourant un bout de racine, *ectomycorhize*, et former une sorte de structure racinaire très caractéristique et visible à l'œil nu contrairement au premier type (Figure 1) (Meotto, 1996 ; Drénou, 2006 ; Balzergue, 2012). Ces deux formes d'associations mycorhiziennes sont les plus répandues dans la nature et les plus étudiées également (Brundrett, 2002 et 2004 ; Smith & Read, 2008).

La plante fournit les éléments carbonés indispensables à la croissance et à la reproduction du champignon tandis que ce dernier assure une meilleure nutrition minérale et hydrique à la plante ((Plenchette, 1982 ; Wallander & Wickman, 1999 ; Chena *et al.*, 2005). Généralement, l'élément concerné est le phosphore mais les autres nutriments tels que l'azote, le zinc, le

cuivre, etc. ne sont pas exclus (Dommergues & Mangenot, 1970 ; Allen *et al.*, 1981 ; Plenchette, 1982 ; Smith & Read, 1997 ; 2008).



**Figure 1:** Structure anatomique des deux principaux types de mycorhize (A: Coupe transversale d'une racine avec mycorhize ectotrophe, B : Coupe d'une racine avec mycorhize endotrophe à vésicule et à arbuscule) (Source: Fritsche, 1998).

### 3. Impact des fertilisants sur la dynamique des microorganismes rhizosphériques

La fertilité du sol peut se définir comme étant sa capacité à fournir aux plantes les nutriments dont elles ont besoin pour leur croissance (FABQ, 2005 ; Heather *et al.*, 2009; Abail, 2013). Globalement, cette notion met en jeu divers paramètres physiques, chimiques et biologiques fortement conditionnées par l'environnement extérieur tel que le climat, l'utilisation du sol, le type de fertilisation, etc. (Barbier, 1955 ; Ventura *et al.*, 2006, Annabi *et al.*, 2008). Les plantes quant à elles interagissent en permanence avec diverses sortes de microorganismes dès la sortie des graines jusqu'à la mort de la plante (Dessaux, 2010). Ces microorganismes tiennent une importance capitale dans leur état sanitaire ainsi que dans leur nutrition (Wardle, 2002 ; Paul, 2007).

La majorité de ces interactions s'effectuent généralement au niveau d'une zone spécifique appelée rhizosphère (Davet, 1996 ; Cabala, 2004). Cette dernière se définit comme étant la zone de sol qui entoure la racine et qui est directement ou indirectement soumise à l'influence de cette dernière par la production d'exsudats racinaires ou par l'intermédiaire des nombreux microorganismes interagissant entre eux et avec la plante (Badri *et al.*, 2009). Elle se trouve être le lieu privilégié des principaux échanges et réactions qui s'effectuent entre la plante et le sol (Lemanceau & Heulin, 1998). Les microorganismes rhizosphériques interviennent activement dans ce processus par diverses voies telles que la dégradation des matériaux

complexes, la libération des certains nutriments, le transport des nutriments à partir de la solution du sol vers les cellules racinaires de la plante etc. (FAO, 1999). Toutefois, leur potentiel est fortement lié à la qualité du sol du point de vue propriétés physico-chimiques et microbiologiques (Morel, 1989, Marilley *et al.*, 1998 ; Stephan *et al.*, 2000 ; Yang & Crowley, 2000 ; Wieland *et al.*, 2001). Si le sol est pauvre en éléments nutritifs, un apport extérieur par l'intermédiaire de la fertilisation est requis (Dechamplain & Gosselin ; 2002) afin de stimuler l'activité des microorganismes du sol (Denison & Kiers, 2004; Hutton *et al.*, 2007).

Certains groupes de microorganismes peuvent avoir des effets positifs sur l'assimilation ou la disponibilité des nutriments dans la rhizosphère permettant ainsi de réduire les apports en fertilisant qui parfois sont très coûteux (Fuchs, 1999). Tels sont le cas des bactéries et des champignons, libre ou vivant en symbiose avec les plantes, comme les bactéries fixatrices d'azote atmosphérique (Bhattacharjee *et al.*, 2008 ; Elhassan *et al.*, 2010) et les champignons mycorhiziens (Elhassan *et al.*, 2010 ; Gianinazzi *et al.*, 2010). Cependant, il est important de souligner que la dynamique de ces populations microbiennes dépend fortement de la qualité du sol et de la couverture végétale (Lemanceau, 1999). Il a été rapporté que le niveau de fertilité minérale ou organique du sol ou le substrat de culture et/ou le statut nutritionnel de la plante hôte, qui dépend notamment de la fertilisation appliquée aux plants pendant leur croissance, ont une influence majeure dans l'établissement de la mycorhization des plants (Redon, 2009 ; Utobo *et al.*, 2011, ). Cette forme d'association est particulièrement active lorsque les éléments tels que le phosphore sont peu disponibles ou peu mobiles dans le sol (Egli & Bruner, 2002 ; Dalpe & Monreal, 2003.). Le même cas se représente avec les bactéries symbiotiques fixatrices d'azote atmosphérique qui favorisent la transformation d'azote libre N<sub>2</sub> en NO<sub>3</sub> assimilable par les plantes principalement pour les cas de pauvreté du sol en azote (Nultsch, 1998 ; Gobat *et al.*, 2010).

Néanmoins, il est parfaitement possible de favoriser l'action de ces microorganismes grâce à une fertilisation adéquate du sol afin d'assurer une meilleure productivité et la qualité des récoltes notamment en culture vivrière. Dans le cas du haricot, il a été rapporté que cette plante maraîchère très consommée n'est pas très exigeante en matière de nutrition (Mbouss 1998 ; FAO, 2011). Il suffit juste à trouver l'équilibre entre les divers types de fertilisant existant et considérer leur impact sur les communautés microbiennes du sol (Fertial, 2010).

### **III. Sites d'études :**

#### **1. Antsirabe :**

Le site d'étude « ferme de Vonivato » se situe dans la commune rurale d'Andranomanelatra, localisée dans le district d'Antsirabe II de la région du Vakinankaratra sur les Hautes Terres centrales malgaches. Situé à 16 km au Nord d'Antsirabe, à une altitude moyenne de 1 645 m, il bénéficie d'un régime climatique tropical d'altitude, avec une température moyenne annuelle inférieure ou égale à 20 °C (Rakotoarisoa, 2010). Le sol du site expérimental a été classé par Zebrowski et Ratsimbazafy (1979) comme un sol ferrallitique fortement désaturé, typique, rajeuni, humifère, sur matériaux volcaniques acides, et par Raunet (1981) comme un sol ferrallitique gibbsitique, fortement désaturé, rouge ou ocre, sur alluvions volcano-lacustres. Notre site se trouve donc sur les roches cristallines des hautes terres ayant subi des mouvements tectoniques, séismiques d'où la richesse du sous sol.

#### **2. Analavory :**

Le site d'Analavory, ferme de « Be ny tompony, est situé dans la région de Bongolava, limitée par les coordonnées géographiques : entre 17,76 et 19,46° de latitude Sud et 45,48 et 47,08° de longitude Est. Cette région est marquée par la dominance des sols ferrallitiques couverts par de faibles couvertures végétales. Leur composition est très varié, allant des argiles latéritiques et fertiles jusqu'aux cuirasses imperméables. Les sols de cette région sont compacts et assez difficiles à travailler. Malgré cela, convenablement amendés ils donnent de bons rendements.

Dans cette région du moyen ouest, l'exploitation incessante des terres dégrade le sol. Les sols de "tanety" sont soit du type ferrallitique brun jaune, soit du type brun rouge. Ces types de sol sont connus pour leur bonne capacité d'échange et donnent de bons rendements, mais la faible profondeur de l'horizon organique nécessite l'apport d'engrais.

## **MATERIELS ET METHODES**



## I. Matériel végétal :

Le matériel végétal pour cette étude est le haricot vert de type nain, *Phaseolus vulgaris*, appartenant à la société Lecofruit. Les semis utilisés appartiennent à la variété codée 02, cultivée dans le site d'Antsirabe, et la variété codée 06, cultivée dans le site d'Analavory.

La société oriente plutôt ses pratiques culturales vers l'agriculture biologique. C'est la raison pour laquelle les traitements appliqués au sol pour la culture du haricot vert nain appartiennent au groupe de fertilisant organique à base de compost et d'éléments minéraux d'origine naturelle.

5 types de fertilisations organiques ont été apportés à 5 parcelles différentes. L'objectif principal était de définir la teneur et les constituants d'un fertilisant permettant d'obtenir des résultats favorables au développement des associations symbiotiques tout en améliorant le rendement de production végétale.

**Tableau 2 : Traitement appliqué sur les différentes parcelles de cultures**

Traitements	Sigle
900 Kg/ha de compost + 230 Kg/ha de phosphate + 300Kg/ha de potasse	<b>IRD2</b>
900 Kg/ha de compost + 230 Kg/ha de phosphate + 300Kg/ha de potasse + 30kg/ha engrais 30 + 3kg/ha engrais 30 15 jours après le semi	<b>IRD3</b>
900 Kg/ha de compost + 230 Kg/ha de phosphate + 300Kg/ha de potasse + 60kg/ha engrais 30 + 3kg/ha engrais 30 15 jours après le semi	<b>IRD4</b>
900 Kg/ha de compost + 230 Kg/ha de phosphate + 300Kg/ha de potasse + 90kg/ha engrais 30 + 3kg/ha engrais 30 15 jours après le semi	<b>IRD5</b>

- Le phosphate utilisé est le phosphate bi-calcique à 25% administré comme engrais en fumure de fond.
- Le compost est à base de paille de riz
- La potasse utilisée est sous forme de sulfate de potasse contenant 50% de K ; 1.30% Ca ; 43% SO<sub>3</sub> et 2% Cl.
- Les engrais azotés sont biologiques sous forme de biocorne contenant 11 unités d'azote par kilo.
- Engrais 30 : composé de fientes de poules et de patentkali (annexe n°5)

## II. Dispositif expérimental et prélèvement des échantillons

Le schéma et la planche photo ci-après (figure n°2), (Planche photo n°3) représentent le dispositif expérimental avec les 4 traitements cités précédemment. Chaque parcelle de 1 m x 100 m représente un traitement. Le semis a été effectué en deux lignes sur chaque parcelle avec un espacement d'environ 50 cm entre les lignes et 25 cm entre chaque trou d'une même ligne. Le prélèvement des échantillons a été effectué par randomisation en prenant soin d'éviter les effets de bordure suivant les techniques décrites par Vincent (1970) et Somasegaran & Hoben (1994). Il s'agit de creuser environ 15 cm autour de la plante et 20 cm dans le sol pour extraire la plante et son système racinaire. Ensuite, il faut dégager soigneusement avec la main la terre adhérente (sol rhizosphérique) aux racines en prenant soin de ne pas endommager les nodules. Les racines avec leurs nodules ont été débarrassées délicatement des restes de terre par un lavage à l'eau de robinet.

Les prélèvements des échantillons de sol ont été effectués durant le stade de floraison du haricot.

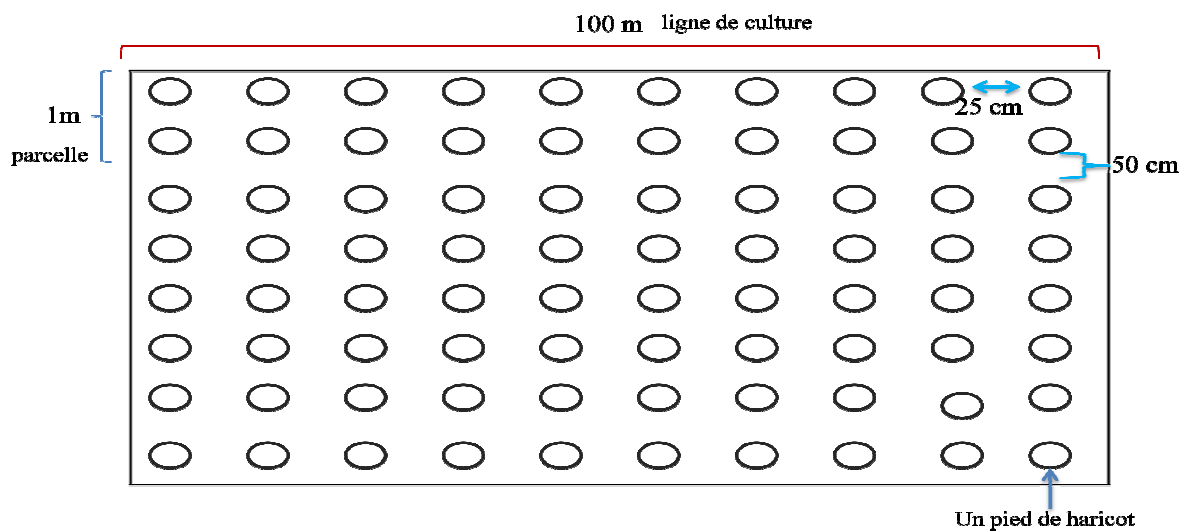


Figure 2 : Schémas simplifié du dispositif expérimental



**Photo 3 : Dispositif expérimental établi sur terrain**

### **III. Méthodologie**

#### **1. Influence de la fertilisation du sol et de la variété de haricot vert nain sur le développement, le rendement de production et les symbioses racinaires**

Le rendement (Kg /ha) du haricot a été évalué par pesage du poids frais des gousses. La période de récolte se déroule généralement 6 semaines après le semis et s'étale sur 6 à 8 semaines après la première récolte. 5 plantes par traitements ont été prélevées au hasard pour toutes les évaluations. Les gousses, la partie racinaire avec les nodules et la partie aérienne ont été séparées dans différents conteneurs puis conservés à 4°C jusqu'à l'utilisation.

##### **a. Calcul du rendement de production**

Les gousses fraîches de haricot vert nain ont été nettoyées à l'eau du robinet, laissées égoutter pendant quelque temps avant d'être pesées. Le rendement de production par Kg et par hectare a été obtenu par la formule suivante :

$$\text{Rdt} = \frac{\text{Production en kilos des parcelles}}{\text{Surface en ha des parcelles}}$$

##### **b. Mesure des biomasses sèches (aérienne et racinaire)**

Les parties racinaires ainsi que les parties aériennes ont été nettoyées soigneusement à l'eau du robinet puis séchées à 60°C pendant 72h à l'étuve. Le pesage a été ensuite effectué à l'aide d'une balance de précision au sein du Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement du

CNRE. Les résultats sont exprimés en grammes de matière sèche pour la biomasse aérienne et biomasse racinaire.

### **c. Calcul du taux de nodulation des racines**

Le taux de nodulation est exprimé en nombre de nodules par plante pour chaque traitement. Pour ce faire, les nodules pour chaque plante ont été prélevés de la racine, comptés puis conservés dans des cryotubes contenant du silicagel (Date, 1982). Ces derniers ont été bouchés avec une couche de 1 cm de coton cardé jusqu'aux utilisations ultérieures. Ainsi conditionnés, les nodules peuvent être conservés pendant plus d'un an au réfrigérateur à 4°C (Cleyet-Marel, 1989).

### **d. Calcul du taux d'endomycorhization des racines**

Les mycorhizes à vésicules et à arbuscules ne sont pas visibles à l'œil nu à la différence des ectomycorhizes. Leur présence dans les racines des plants de haricot a été vérifiée sous microscope optique après des séries de colorations effectuées selon la méthode décrite par Phillips et Hayman (1970). Tout d'abord, les racines fines de chaque plant de haricot prélevées sur le terrain ont été soigneusement nettoyées à l'eau du robinet. Le cytoplasme des cellules a été par la suite clarifié par trempage des racines fines dans une solution de KOH 10% à 90°C pendant 20 minutes. Enfin, la coloration a été effectuée, après refroidissement et rinçage, par immersion dans une solution de Bleu trypan pendant 15 minutes à 90°C. Pour chaque système racinaire, 100 fragments de racine fine de 1 cm de long ont été étalés entre lame et lamelle et examinés sous microscope optique (Grossissement x40).

Les vésicules et les mycéliums de champignons MVA présents dans le cytoplasme sont colorés en bleu. Un morceau de racine est considéré comme mycorhizé s'il montre au moins un point d'infection par les hyphes de champignons mycorhiziens. Le taux d'endomycorhization est donné par la formule suivant :

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

## **2. Impact de la fertilisation du sol sur la dynamique de la communauté de champignons endomycorhiziens associées aux deux variétés de haricot vert nain**

La dynamique de la communauté de champignons endomycorhiziens dans le sol peut être représentée par le potentiel infectieux mycorrhizogène ou PIM du sol. Cette notion caractérise non seulement sa richesse en propagules fongiques présentes sous forme de spores, de mycélium ou hyphes et de morceaux de racines supportant des structures mycorrhiziennes, mais aussi la capacité de ces propagules à former des mycorhizes (infection des racines) dans les conditions du sol en question (Plenchette *et al.*, 1989). Il est possible d'évaluer le PIM du sol à partir des différentes méthodes bien distinctes mais intimement liées à savoir : l'évaluation de la densité des spores, l'évaluation du nombre probable de propagules fongiques dans le sol (NPP) [culture des plantes hautement mycotrophes sur des séries de sols dilués], dénombrement des bouts de racines endomycorhizées dans le sol et la mesure de la longueur des hyphes extra matriciels des champignons mycorrhiziens (Plenchette *et al.*, 1989). Dans cette étude, les deux premières méthodes ont été choisies pour estimer la dynamique des communautés de champignons mycorrhiziens de chaque type de sol.

Il est important de souligner que ce PIM du sol est fortement dépendant des caractéristiques du sol tel que sa structure, sa fertilité, les conditions environnantes et même par la plante qui se développe sur le sol (Sanon, 2009).

**a. Diversité morphologique et densité des propagules de spores de champignons endomycorhiziens en fonction du type de fertilisation du sol et de la variété de haricot vert nain utilisé**

La méthode décrite par Sierverding (1991) a été utilisée pour l'isolement et le dénombrement des spores de champignons endomycorhiziens dans le sol. À partir de chaque échantillon de sol sous les plants de haricots soumis à différents types de fertilisation, 100 g de sol ont été prélevés dans un bécher contenant de l'eau puis agités vigoureusement afin d'écraser les mottes de terre. La solution ainsi obtenue a été filtrée à travers une série de tamis (200, 100, 80 et 50  $\mu\text{m}$ ), sous un jet continu d'eau du robinet. Les filtrats ont été par la suite transférés dans des tubes de centrifugation puis centrifugés à 5000 rpm (révolutions par minute) pendant 5 min. Le surnageant a été éliminé puis remplacé par une solution de saccharose 60%. Une nouvelle centrifugation a été réalisée à 1000 rpm pendant 3 minutes. Les spores ayant migré par gradients de concentration ont été filtrées à travers un papier Wattman à l'aide d'un filtre millipore. L'observation a été effectuée sous loupe binoculaire pendant laquelle les spores ont été dénombrées puis classées selon leur couleur (Walker, 1983).

**b. Evaluation du Nombre Probable de Propagules (NPP) de champignons endomycorhiziens susceptibles d'infecter un plant de haricot selon le type de fertilisation et la variété utilisée**

Le sorgho (*Sorghum bicolor*), une graminée hautement mycotrophe (Duponois *et al.*, 2012) de la famille des POACEAE a été utilisé pour cette technique d'évaluation du NPP. Cette technique permet d'estimer la capacité de champignons endomycorhiziens à initier des associations symbiotiques avec la plante à partir des inocula présents dans le sol sous forme de spores (Grego *et al.*, 2000), d'hyphes ou mycélium et de débris de racines portant des structures mycorhiziennes (Plenchette *et al.*, 1989). Il s'agit d'évaluer à base d'un certain nombre de répétition et de dilution successive du sol d'origine, la moyenne des répétitions ayant montrées au moins un point d'infection de la racine par les hyphes du champignon. Il ne faut pas confondre cette méthode avec l'évaluation du taux de mycorhization qui lui consiste à compter la totalité des points d'infection par les hyphes dans un morceau de racine.

Pour ce faire, le sorgho, a été cultivé sur chaque échantillon de sol avec les 5 traitements différents. L'expérimentation a été conduite sous conditions contrôlées dans la serre expérimentale du Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement/CNRE durant 21 jours. La méthode du nombre le plus probable de propagules NPP, décrite par Porter (1979), a été utilisé pour le calcul en se basant sur la table de Fisher (Fischer & Yates, 1970). Pour ce faire, six dilutions avec du sable stérilisé ont été réalisées pour chaque échantillon de sol et pour chaque variété de haricot avec trois répétitions pour chaque dilution. Des godets contenant 100g de chaque dilution ont été disposés en randomisation totale sous serre.

Les proportions relatives à chaque mélange de sable stérilisé et le sol de culture prélevé dans les deux sites d'études sont donné par le tableau suivant :

**Tableau 3 : Proportion relative du mélange sable stérilisé et sol de culture**

<b>Dilution</b>	<b>1</b>	<b>1/4</b>	<b>1/16</b>	<b>1/64</b>	<b>1/256</b>	<b>1/1024</b>
Sable stérilisé (en g)	0	225	281,25	295,3	299,1	299,7
Sol non stérilisé (en g)	300	75	18.75	4,69	0,85	0,29

L'observation des points d'infections par les champignons endomycorhiziens a été réalisée après 21 jours de culture selon la technique décrite par Phillips & Haymann (1970) comme il a été décrit précédemment. Chaque morceau de racine montrant au moins un point d'infection (pénétration d'hyphes dans la racine) est considéré comme mycorhizée. Le nombre de godet

ayant présenté des plans mycorhizés a été retenu pour le calcul du NPP donné en annexe (annexe n°3).

### **3. Importance du type de fertilisation du sol et la variété de haricot vert nain sur les paramètres chimiques du sol de culture.**

L'analyse physico-chimique des échantillons de sols a été réalisée au laboratoire des Radio isotopes de l'Université d'Antananarivo Madagascar. L'évolution des paramètres chimiques, indicatrices de la dynamique des nutriments majeurs dans le sol, des sols utilisés avec les différents types de fertilisants a été suivi. Du fait de leur importance dans le développement des plantes et le rendement de production, les deux éléments majeurs, azote et phosphore ont été choisis pour servir d'indicateur partiel de la fertilité du sol lors de cette étude. Par ailleurs, ce sont deux paramètres qui sont intimement liés aux deux types de microorganismes étudiés ici.

#### **a. Analyse de la teneur en azote assimilable dans le sol**

La mesure de la teneur en azote sous forme de  $\text{NO}_3^-$  (azote minéral) contenu dans le sol de culture soumis aux différentes techniques de fertilisation a été réalisée selon la méthode décrite par Skalar (2008). (Détails en annexe 1)

Le nitrate  $\text{NO}_3^+$  (azote assimilable) a été déterminé par la réaction de Griess après réduction du nitrate en nitrite par un réducteur cadmium-cuivre (Nyon, 2006). La couleur rosée a été mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde 540 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration initiale en Nitrates+Nitrites dans l'échantillon.

#### **b. Analyse de la teneur en phosphore assimilable du sol**

Un des tests les plus largement répandus pour évaluer le phosphore assimilable du sol est l'utilisation de la résine (Fixen & Grove, 1990). L'estimation de la fraction du phosphore du sol utilisable par les plantes est donc mesurée par cette méthode par adsorption d'anions sur une membrane de résine.

### **IV. Traitements statistiques des données**

Les logiciels STATISTICA, ExcelSTAT et SPAD ont été utilisés pour le traitement des données obtenus. Des analyses en composante principale (ACP) et des analyses de variance (ANOVA) ont été réalisées afin de mettre en évidence l'importance des traitements appliqués ou de la variété de haricot utilisé sur le développement de la plante ainsi que le rendement de production.

## **RESULTATS**



## 1. Développement et rendement de production des deux variétés de haricot vert nain en fonction de la fertilisation du sol

Les tableaux (Tableau 4 et 5) suivants présentent le rendement de production, le taux de nodulation, le taux de mycorhization ainsi que les biomasses (aérienne et racinaire) du haricot en fonction du type de fertilisation et selon la variété semée par la société Lecofruit Madagascar.

**Tableau 4: Développement de la variété 02 selon le type de fertilisation**

Variété 02 Cultivée à Antsirabe					
Traitements	NOD/plt	Rdt (Kg/ha)	M AER	M RAC	TM
<b>IRD2</b>	193,20 (a)	52,10 (a)	8,26 (a)	1,32 (a)	41,00 (a)
<b>IRD3</b>	236,40 (a)	62,80 (b)	14,65 (a)	1,37 (ab)	68,22 (b)
<b>IRD4</b>	462,00 (b)	63,30 (b)	16,19 (a)	2,53 (b)	70,74 (b)
<b>IRD5</b>	301,00 (a)	54,60 (a)	14,03 (a)	1,67 (ab)	80,87 (b)

Les données dans la même colonne suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-Keuls ( $p < 5\%$ )

**Signe :** NOD/plt : nombre de nodules par plant; Rdt: rendement ; BA: biomasse aérienne ; BR : biomasse racinaire ; TM: taux de mycorhization

**IRD2 :** apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse; **IRD3 :** apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 30kg engrais 30, 3kg engrais 30 à +15j du semis; **IRD4 :** apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 60kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis; **IRD5 :** apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 90kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis;

**Tableau 5 : Développement de la variété 06 selon le type de fertilisation**

Variété 06 Cultivée à Analavory					
Traitements	NOD/plt	Rdt (Kg/ha)	M AER	M RAC	TM
<b>IRD2</b>	71,00 (a)	17,80 (a)	10,86 (a)	1,63 (a)	64,00 (a)
<b>IRD3</b>	68,00 (a)	18,30 (a)	15,41 (a)	2,22 (a)	83,05 (ab)
<b>IRD4</b>	96,00 (a)	20,50 (a)	13,99 (a)	1,90 (a)	88,50 (ab)
<b>IRD5</b>	85,80 (a)	18,60 (a)	14,80 (a)	1,80 (a)	81,40 (b)

Les données dans la même colonne suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman Keuls ( $p < 5\%$ )

**Signe :** NOD/plt : nombre de nodules par plant; Rdt: rendement ; BA: biomasse aérienne ; BR : biomasse racinaire ; TM: taux de mycorhization

**IRD2 :** apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse; **IRD3 :** apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 30kg engrais 30, 3kg engrais 30 à +15j du semis; **IRD4 :** apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 60kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis; **IRD5 :** apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 90kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis;

## Résultats

Les résultats ont montré que pour la variété de haricots verts nain 02 cultivée à Antsirabe, l'utilisation du traitement IRD4 a donné des résultats satisfaisants en matière de taux de nodulation, de taux de mycorhization, de rendement de production et de développement racinaire des plants de haricots. Par contre, avec la variété 06 cultivée à Analavory, aucune différence significative n'a été observée entre les différents paramètres évalués exceptés avec le taux de mycorhization qui a été significativement plus élevé avec les traitements IRD4 et IRD5.

Ces résultats suggèrent que les deux variétés (02 et 06) ont des comportements différents vis-à-vis des techniques de fertilisation appliquées au sol. Le résultat d'une analyse de variance à deux facteurs réalisée avec le logiciel Excel STAT (Détails en annexe) confirme cette constatation pour le rendement de production, le taux de nodulation et le taux de mycorhization avec respectivement un Coefficient de détermination de 97%, 65% et 58,8%.

**Tableau 6 : Synthèse des comparaisons multiples par paires pour les deux Variétés**

<b>Modalité</b>	<b>Moyenne (NOD/plt)</b>	<b>Groupes</b>
Variété 02	274,421	A
Variété 06	104,000	B
<b>Modalité</b>	<b>Moyenne (Rdt (Kg/ha))</b>	<b>Groupes</b>
Variété 02	5821,842	A
Variété 06	1880,000	B
<b>Modalité</b>	<b>Moyenne (TM)</b>	<b>Groupes</b>
Variété 06	79,238	A
Variété 02	65,633	B

Les lettres en capitales différents pour chaque modalité indiquent une différence significative selon le test de Newman-Keuls ( $p < 5\%$ )

**Signle :** NOD/plt : nombre de nodule par plantes ; Rdt : rendement de production ; TM : taux de mycorhization

Le tableau 6 ci-dessus représente le résultat de la comparaison multiple par paires pour le facteur « variété » selon le test de Newman-Keuls ( $p < 5\%$ ). Il a été constaté que la variété 02 donne toujours des résultats hautement significatifs par rapport à la variété 06 pour le taux de nodulation et le rendement de production. Par contre, la variété 06 est particulièrement favorable à l'établissement de la symbiose mycorhizienne avec une moyenne du taux de mycorhization significativement élevée par rapport à celle avec la variété 02.

## Résultats

En ce qui concerne la différence entre le potentiel des traitements appliqués (tableau 7), le résultat indique que le traitement IRD3 et IRD4 sont significativement plus performant que les deux autres pour l'amélioration du rendement de production et du taux de nodulation. Par contre, la symbiose mycorhizienne a été favorisée par le traitement IRD5.

**Tableau 7 : Synthèse des comparaisons multiples par paires pour les Traitements**

<b>a</b>		
<b>Modalité</b>	<b>Moyenne (NOD/plt)</b>	<b>Groupes</b>
IRD4	288,500	A
IRD3	172,500	B
IRD2	147,000	B
IRD5	136,100	B
<b>b</b>		
<b>Modalité</b>	<b>Moyenne (Rdt (Kg/ha))</b>	<b>Groupes</b>
IRD4	4190,000	A
IRD3	4055,000	A
IRD5	3660,000	B
IRD2	3240,556	C
<b>c</b>		
<b>Modalité</b>	<b>Moyenne(Tmyc)</b>	<b>Groupes</b>
IRD5	81,136	A
IRD4	79,620	A
IRD3	75,636	A
IRD2	51,983	B

Les lettres en capitales différents pour chaque modalité indiquent une différence significative selon le test de Newman-Keuls ( $p < 5\%$ )

**Sigle :** **IRD2** modalité de fertilisation contenant apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse;  
**IRD3** : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 30kg engrais 30, 3kg engrais 30 à +15j du semis;  
**IRD4** : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 60kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis;  
**IRD5** : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 90kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis;

La confrontation multiple par paires des deux facteurs (variété et Traitements) (Tableau 8 a, b, c) confirme ces constatations. La combinaison de la variété 02 avec les traitements de fertilisation IRD4 et IRD3 a donné des résultats significativement élevés en matière de rendement de production et taux de nodulation du haricot vert nain. Par contre, le taux de mycorhization significativement élevé a été enregistré avec la variété 06 pour tous les traitements de fertilisation appliqués sauf pour traitement IRD2.

Résultats

**Tableau 8: Synthèse des comparaisons multiples par paires pour les deux variétés et les traitements**

<b>a</b>			
<b>Modalité</b>	<b>Moyenne (NOD/plt)</b>	<b>Groupes</b>	
VO2 IRD4	462,000	A	
VO2 IDR3	236,400		B
VO2 IRD2	197,500		B
VO2 IRD5	186,400		B
VO6 IRD4	115,000		B
VO6 IDR3	108,600		B
VO6 IRD2	106,600		B
VO6 IRD5	85,800		B
<b>b</b>			
<b>Modalité</b>	<b>Moyenne (Rdt (Kg/ha))</b>	<b>Groupes</b>	
VO2 IRD4	6330,000	A	
VO2 IDR3	6280,000	A	
VO2 IRD5	5460,000		B
VO2 IRD2	5066,250		B
VO6 IRD4	2050,000		C
VO6 IDR5	1860,000		C
VO6 IRD3	1830,000		C
VO6 IRD2	1780,000		C
<b>c</b>			
<b>Modalité</b>	<b>Moyenne (TM)</b>	<b>Groupes</b>	
VO6 IRD4	88,500	A	
VO6 IRD3	83,050	A	
VO6 IRD5	81,400	A	
VO2 IRD5	80,872	A	
VO2 IRD4	70,740	A	
VO2 IDR3	68,222	A	
VO6 IRD2	64,000	A	
VO2 IRD2	36,963		B

Les lettres en capitales différents pour chaque modalité indiquent une différence significative selon le test de Newman-Keuls ( $p < 5\%$ )

## Résultats

**Sigle :** VO2 variété 02 ; VO6 variété 06 ; NOD/plt : nombre de nodule par plantes ; Rdt : rendement de production ; TM : taux de mycorhization

**IRD2** modalité de fertilisation contenant apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse; **IRD3** : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 30kg engrais 30, 3kg engrais 30 à +15j du semis; **IRD4** : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 60kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis; **IRD5** : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 90kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis;

### 2. Dynamique de la communauté de champignons endomycorhiziens associées aux deux variétés de haricot vert nain

Les résultats de l'évaluation de la densité des spores de champignons endomycorhiziens et le nombre probable de propagules (NPP) de champignons endomycorhiziens, contenus dans le sol, susceptibles d'infecter une plante hôte, en fonction du type de fertilisation et de la variété de haricots verts nain utilisée sont donnés par les tableaux suivants :

Le nombre total de spores de champignons endomycorhiziens isolés à partir du sol rhizosphérique de la variété 02 et de la variété 06 est représenté sur le tableau 9 ci-contre :

**Tableau 9 : Densité de spores de champignons endomycorhiziens des deux variétés 02 et 06 en fonction des traitements fertilisant**

Traitements	IRD2	IRD3	IRD4	IRD5
Variété 02	1438,33 (a)	2472,67(b)	2624(b)	1739,67(ab)
Variété 06	3831,33(b)	3031,67(ab)	3125,33(ab)	1016,33(a)

Les données sur la même ligne suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-Keuls ( $p < 5\%$ )

**Sigle :** **IRD2** modalité de fertilisation contenant apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse; **IRD3** : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 30kg engrais 30, 3kg engrais 30 à +15j du semis; **IRD4** : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 60kg engrais 30 et 3kg engrais 30 à +15j du semis; **IRD5** : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 90kg engrais 30 et 3kg engrais 30 à +15j du semis;

Les spores peuvent être à la fois une forme de survie lors des conditions défavorables telles que l'insuffisance d'éléments nutritifs, ou la sécheresse, mais ce sont également des moyens de reproduction et d'infection particulièrement efficace pour le champignon endomycorhiziens durant son cycle de vie. Lors de cette étude, les traitements IRD3 et IRD4 ont favorisé significativement la propagation des spores de champignons endomycorhiziens dans le sol de culture pour la variété 02 tandis que pour la variété 06, le traitement IRD2 a donné un nombre de spore significativement élevé (Tableau 9).

Le nombre probable de propagules de champignons endomycorhizien susceptibles d'infecter une plante hôte pour les deux variétés de haricot est donné par le tableau suivant (tableau 10) :

## Résultats

**Tableau 10: Nombre probable de propagules (NPP/100g de sol) de Champignons endomycorhiziens par 100g de sol pour les deux variétés de haricot vert**

Traitements	IRD2	IRD3	IRD4	IRD5
Variété 02	80,40(b)	85,54(b)	38,18(a)	31,08(a)
Variété 06	30,87(a)	12,18(a)	61,67(ab)	131,3 (c)

Les données sur la même ligne suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman Keuls ( $p < 5\%$ )

**Sigle :** **IRD2** modalité de fertilisation contenant apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse; **IRD3** : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 30kg engrais 30, 3kg engrais 30 à +15j du semis; **IRD4** : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 60kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis; **IRD5** : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 90kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis;

Comme il a été énoncé précédemment, le NPP d'un sol reflète le potentiel de propagules telles que les spores, les hyphes et les racines mycorhizées contenues dans le sol à re-initier une association symbiotique avec le système racinaire d'une plante mycotrophe. Pour la variété 02, les traitements IRD2 et IRD3 favorisent significativement le développement du potentiel infectieux mycorhizogène du sol avec respectivement 80,40 NPP/100g de sol et 85,54 NPP/100g de sol. Une valeur du NPP significativement élevée ( $p < 5\%$ ) qui traduit une activité des propagules de champignons endomycorhiziens a été obtenue avec le traitement IRD5 avec 131,3 NPP/100g de sol contre 30,87 NPP/100g de sol pour IRD2, 12,18NPP/100g de sol pour IRD3 et 61,67NPP/100g de sol pour IRD4 (Tableau11) en ce qui concerne la variété 06. Ces résultats semblent confirmer les constatations précédentes sur le comportement des deux variétés vis-à-vis des fertilisants utilisés lors de cette étude.

Cependant, les évaluations des interactions entre les facteurs variétés et fertilisations par une analyse de variance selon le test de Newman-Keuls ( $p5\%$ ) représentées par les tableaux suivants (tableau 11) indiquent une autre constatation.

**Tableau 11: Synthèse des comparaisons multiples par paires pour Variété**

Modalité	Moyenne (NPP/100g de sol)	Groupes
Variété 06	20,910	A
Variété 02	19,601	A

Modalité	Moyenne (N Spore/100g de sol)	Groupes
Variété 06	2764,273	A
Variété 02	2068,667	A

Les lettres en capitales différents pour chaque modalité indiquent une différence significative selon le test de Newman-Keuls ( $p < 5\%$ )

**Sigle:** NPP/100g de sol : nombre le plus probable de propagules contenus dans 100g de sol

## Résultats

En effet, d'après ce dernier tableau, le comportement des deux variétés de haricots n'est pas significativement différent ( $p < 5\%$ ) concernant le nombre de spore ou le nombre probable de propagules de champignons mycorhiziens contenue dans le sol de culture susceptibles d'infecter une plante hôte.

Le tableau 12 ci-après résume l'importance des traitements de fertilisation appliqués sur le NPP du sol et le nombre de spore de champignons endomycorhiziens contenus dans le sol.

**Tableau 12: Synthèse des comparaisons multiples par paires pour Traitements**

Modalité	Moyenne (NPP/100g)	Groupes
IRD5	27,068	B
IRD2	18,546	A
IRD3	18,337	A
IRD4	16,643	A

Modalité	Moyenne (N Spore/100 de sol)	Groupes
IRD4	2874,667	B
IRD3	2781,200	B
IRD2	2634,833	B
IRD5	1378,000	A

Les lettres en capitales différents pour chaque modalité indiquent une différence significative selon le test de Newman-Keuls ( $p < 5\%$ )

**Sigle :** **IRD2** modalité de fertilisation contenant apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse;  
**IRD3 :** apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 30kg engrais 30, 3kg engrais 30 à +15j du semis;  
**IRD4 :** apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 60kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis;  
**IRD5 :** apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 90kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis;

La majorité des traitements de fertilisation appliqués n'a pas eu d'impact significatif sur le PIM du sol lors de cette étude, excepté celui avec l'IRD5 qui a été de 27,06 NPP par 100g de sol. Le nombre de spore avec IRD4, IRD3 et IRD2 a été significativement plus faible par rapport avec celui observé pour IRD5.

Les tableaux (13 a, b, c) ci-contre présentent la synthèse des comparaisons multiples par paires pour Variété\*Traitements selon le test de Newman-Keuls ( $p < 5\%$ ).

Les nombres probables de propagules (NPP) ne sont pas significativement différents pour tous les traitements de fertilisation et ce, quelle que soit la variété de haricots verts nain utilisée (tableau 13 a ou b ou c). Par contre, la fertilisation du sol avec le traitement IRD2, IRD3 et IRD4 avec la variété 06 favorise significativement la propagation des spores de champignons endomycorhiziens dans le sol. Ce qui suggère que la variété 02 n'est pas très

## Résultats

performante pour développer des associations endomycorhiziennes et promouvoir le développement des propagules de champignons endomycorhiziens.

**Tableau 13: Synthèse des comparaisons multiples par paires pour Variété\*Traitements**

Modalité	Moyenne (NPP/100g)	Groupes
Variété-06*IRD 5	43,776	A
Variété-02*IRD 3	28,515	A
Variété-02*IRD 2	26,801	A
Variété-06*IRD 4	20,558	A
Variété-02*IRD 4	12,729	A
Variété-02*IRD 5	10,360	A
Variété-06*IRD 2	10,292	A
Variété-06*IRD 3	3,070	A

Modalité	Moyenne (N Spore/100g de sol)	Groupes
Variété-06*IRD 2	3831,333	A
Variété-06*IRD 3	3244,000	A B
Variété-06*IRD 4	3125,333	A B
Variété-02* IRD 4	2624,000	A B
Variété-02*IRD 3	2472,667	A B
Variété-02*IRD 5	1739,667	A B
Variété-02*IRD 2	1438,333	B
Variété-06*IRD 5	1016,333	B

Les lettres en capitales différents pour chaque modalité indiquent une différence significative selon le test de Newman-Keuls ( $p < 5\%$ )

**Signe :** **IRD2** modalité de fertilisation contenant apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse; **IRD3** : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 30kg engrais 30, 3kg engrais 30 à +15j du semis; **IRD4** : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 60kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis; **IRD5** : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 90kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis; **N spores** nombre de spores dans 100g de sol ; **NPP** nombre le plus probable de propagules.

Par ailleurs, une étude morphologique effectuée sur les spores isolées a permis d'établir des classements qui ont complété les informations sur la dynamique de la communauté de champignons endomycorhiziens dans le sol. Les figures suivantes résument les résultats obtenus :

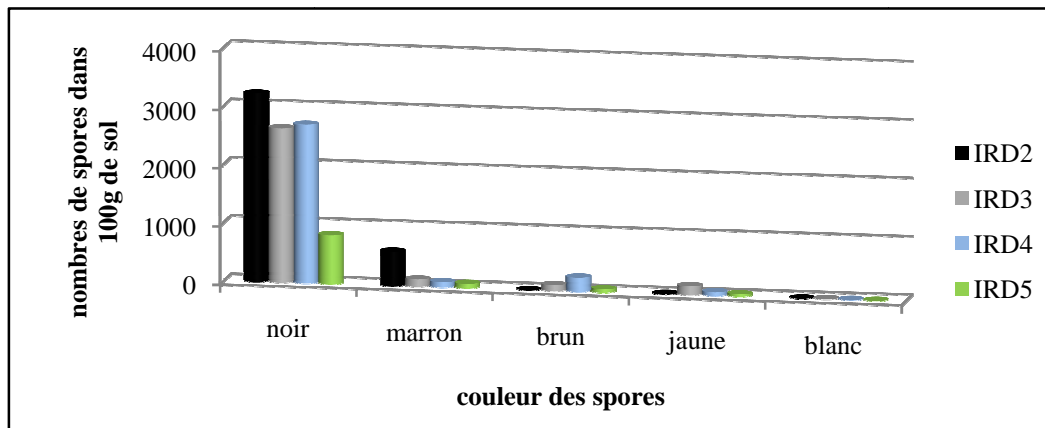
Ces résultats montrent que quel que soit le type de fertilisation adopté, les spores de couleur noire sont toujours significativement (à  $p < 5\%$ ) nombreuses par rapport aux autres couleurs pour les deux variétés de haricots verts nains, suivies par les spores de couleur marron puis brune et enfin les jaunes et les blanches. Cette dominance pourrait suggérer la prolifération d'au moins une espèce de champignons endomycorhiziens favorisée par la fertilisation organique. Pourtant, il faut des études plus approfondies avant de pouvoir statuer sur l'identité



## Résultats

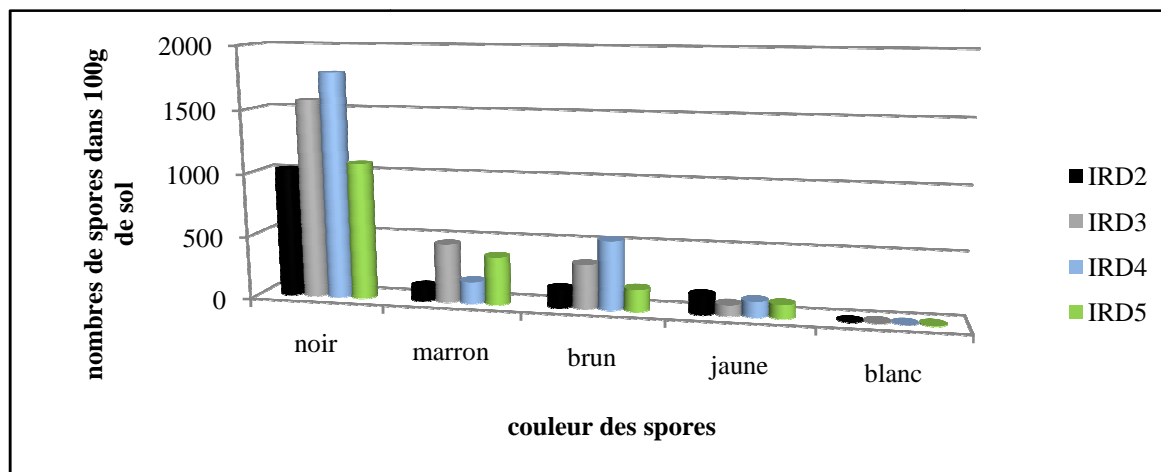
des individus concernés. Les spores noires en question sont particulièrement nombreuses dans les sols traités avec les fertilisants IRD4 et IRD3 par rapport aux autres traitements et ce, pour les deux variétés de haricots verts nains.

**Figure 3: Diversification de la couleur des spores associées à la variété 02**



**Sigle :** IRD2 modalité de fertilisation contenant apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse; IRD3 : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 30kg engrais 30, 3kg engrais 30 à +15j du semis; IRD4 : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 60kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis; IRD5 : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 90kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis;

**Figure 4: Diversification de la couleur des spores associées à la variété 06**



**Sigle :** IRD2 modalité de fertilisation contenant apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse; IRD3 : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 30kg engrais 30, 3kg engrais 30 à +15j du semis; IRD4 : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 60kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis; IRD5 : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 90kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis;

## Résultats

### 3. Teneur en azote et en phosphore assimilable dans le sol en fonction du type de fertilisation et de la variété de haricot

L'influence de la fertilisation sur la teneur en azote et en phosphore assimilable du sol est donnée par les tableaux ci-dessous pour les deux variétés 02 et 06 (Tableau 14 et 15).

**Tableau 14: Teneur en azote assimilable par la plante (NO<sub>3</sub>) pour les deux variétés 02 et 06 (mg/kg de sol)**

Traitements	IRD2	IRD3	IRD4	IRD5
Variété 02	2,48(a)	3,42(a)	2,73(a)	2,89(a)
Variété 06	4,89(b)	1,72(a)	7,84(c)	8,17(c)

*Les données sur la même ligne suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman Keuls ( $p < 5\%$ )*

**Signe :** IRD2 modalité de fertilisation contenant apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse; IRD3 : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 30kg engrais 30, 3kg engrais 30 à +15j du semis; IRD4 : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 60kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis; IRD5 : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 90kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis; Tableau 15: Teneur en Phosphore assimilable (P résine) dans le sol en fonction du type de fertilisation (mg/kg de sol)

Pour les quatre types de fertilisation adoptée, aucune différence significative ( $p < 5\%$ ) n'a été observée concernant la teneur en azote assimilable du sol sous la variété 02. Par contre, avec la variété 06, une teneur en azote assimilable significativement élevée a été enregistrée pour les traitements IRD4 et IRD5 par rapport à celle observée avec le traitement IRD3 et IRD2. Cette augmentation de la teneur en azote assimilable pourrait être liée à la composition de ces deux types de fertilisant caractérisé par une teneur assez conséquente d'éléments azoté tel que la fiente de poule et l'engrais bio corne. La minéralisation de ces derniers libère de l'azote sous différentes formes dont la plupart sont transformées par les microorganismes du sol en azote directement assimilable par les plantes.

**Tableau 15 :Teneur en Phosphore assimilable (P résine) dans le sol en fonction du type de fertilisation (mg/kg de sol)**

Traitements	IRD2	IRD3	IRD4	IRD5
Variété 02	23,29(b)	19,20(b)	25,5(b)	16,88(a)
Variété 06	31,56(b)	25,24(a)	45,25(c)	25,6(a)

*Les données sur la même ligne suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman Keuls ( $p < 5\%$ )*

**Signe :** IRD2 modalité de fertilisation contenant apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse; IRD3 : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 30kg engrais 30, 3kg engrais 30 à +15j du semis; IRD4 : apport 3

## Résultats

charrettes compost, phosphate, potasse, 60kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis; **IRD5** : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 90kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis

En ce qui concerne la teneur en phosphore assimilable, elle a été significativement faible avec le traitement IRD5 pour la variété 02 et la variété 06. Ce qui suggère que ce traitement limite la disponibilité du P dans le sol pour les deux variétés. Le traitement IRD4 par contre a montré une teneur significativement élevée en P assimilable pour la variété 06. Ce résultat suggère que la teneur en engrais influence considérablement la disponibilité des éléments nutritifs comme le phosphore dans le sol.

### **4. Analyses en composantes principales des données**

Les résultats d'une analyse en composante principale donnés par les deux figures suivantes (Figure 5 pour la variété 02 et figure 6 pour la variété 06) corroborent aux constatations précédentes.

#### **a. Résultat de l'analyse en composante principale indiquant la relation entre les facteurs Variété 02, les types de fertilisation et les paramètres mesurés**

Pour la figure 5, les deux axes 1 et 2 qui représentent respectivement 58,53% et 32,72% de l'inertie totale ont été retenus pour l'interprétation des résultats.

L'axe F1 divise les points en deux groupes dont le premier situé en abscisse positive est constitué par les points V2T5 (traitement IRD 5) et V2T2 (traitement IRD2) et le deuxième situé en abscisse négative est constitué par les points V2T3 (traitement IRD3), V2T4 (traitement IRD4), NO3 (Teneur en azote assimilable), TM (Taux de Mycorhization), BA (Biomasse aérienne), Rdt (Rendement), BR (Biomasse racinaire), ND (Taux de nodulation), Pr (Phosphore assimilable).

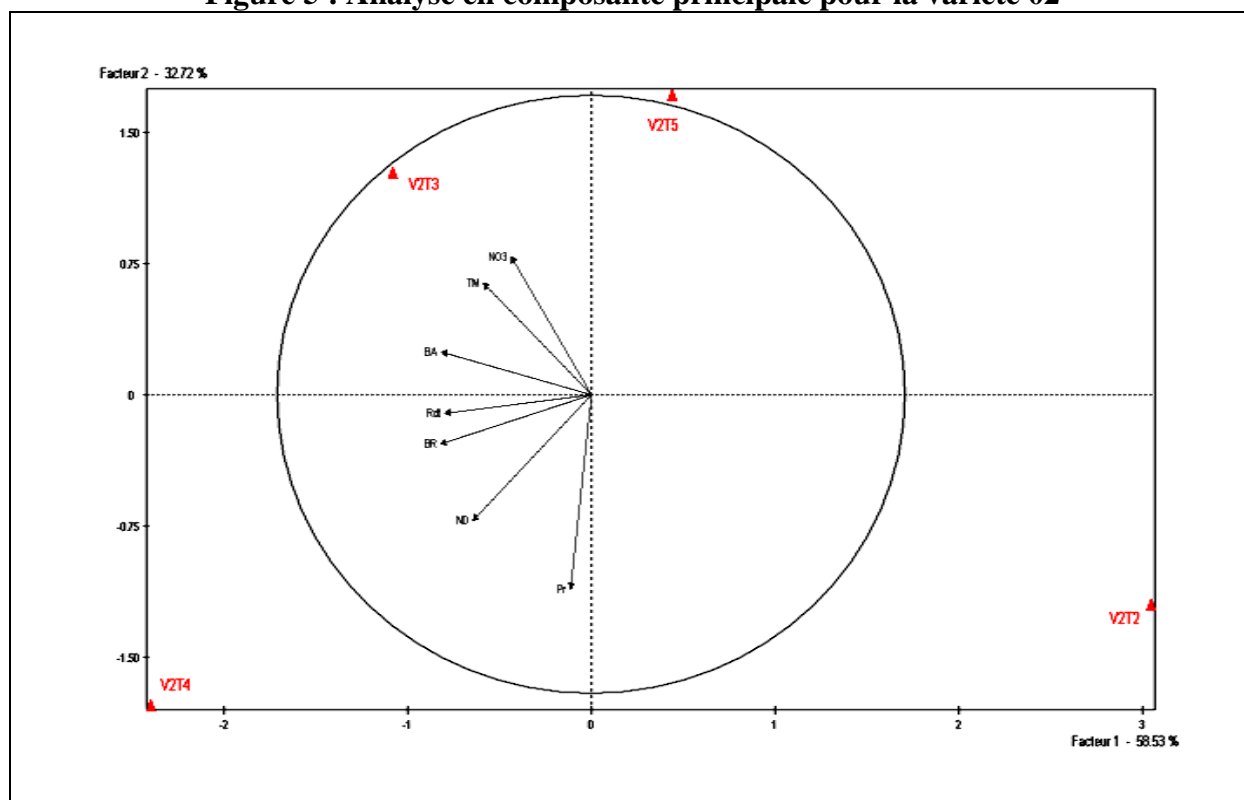
L'axe F2 par contre regroupe en ordonnée positive les points V2T3 (traitement IRD3), V2T5 (traitement IRD5), NO3 (teneur en azote assimilable), TM (Taux de Mycorhization) et BA (Biomasse aérienne) et en ordonnée négative Rdt (Rendement), BR (Biomasse racinaire), ND (Taux de nodulation), Pr (Phosphore assimilable), V2T2 (traitement IRD2) et V2T4 (traitement IRD4).

La liaison entre le Rendement de production est très forte avec le Taux de nodulation (ND) selon le tableau de matrice des corrélations linéaires (annexe c). Pourtant, elles sont toujours positives mais assez faible avec le taux de mycorhization (TM), la teneur en azote assimilable (NO3) et en phosphore assimilable (Pr) pour la variété 02. Ces paramètres sont

## Résultats

caractéristiques des traitements IRD4 (V2T4) et IRD3 (V2T3). Par contre, le taux de nodulation (ND) est négativement corrélé avec la teneur en azote assimilable (N03) dans le sol. Ce qui signifie que si la teneur de ce dernier augmente le taux de nodulation va diminuer. Ces constatations confirment les résultats énoncés précédemment, car dès que l'apport en engrais 30 (riche en azote) dépasse les 60Kg/ha (traitement IRD4), le taux de nodulation diminue d'une manière significative avec le traitement IRD5 dont l'apport était de 90Kg d'engrais 30/ha.

**Figure 5 : Analyse en composante principale pour la variété 02**



**Signe :** **V2T2** variété 02 traité avec IRD2 : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse; **V2T3** variété 02 traité avec IRD3 : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 30kg engrais 30, 3kg engrais 30 à +15j du semis; **V2T4** variété 02 traité avec IRD4 : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 60kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis; **V2T5** variété 02 traité avec IRD5 : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 90kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis;

**TM** taux de mycorhization ; **BA** biomasse aérienne ; **BR** biomasse racinaire ; **Rdt** rendement de production ; **Pr** phosphore résine ; **ND** nombre de nodules ; **N03** azote assimilable

Ci-après le tableau de la matrice des corrélations entre les différents variables traités dans l'ACP ci-dessus :

## Résultats

**Tableau 16 : Matrice des corrélations entre les différents paramètres**

	<b>Rdt</b>	<b>TM</b>	<b>ND</b>	<b>BA</b>	<b>BR</b>	<b>NO3</b>	<b>Pr</b>
<b>Rdt</b>	1,00						
<b>TM</b>	0,46	1,00					
<b>ND</b>	0,74	0,23	1,00				
<b>BA</b>	0,83	0,87	0,62	1,00			
<b>BR</b>	0,93	0,54	0,90	0,88	1,00		
<b>NO3</b>	0,58	0,52	-0,11	0,56	0,32	1,00	
<b>Pr</b>	0,26	0,50	0,72	-0,10	0,38	-0,56	1,00

**Sigle :** **TM** taux de mycorhization ; **BA** biomasse aérienne ; **BR** biomasse racinaire ; **Rdt** rendement de production ; **Pr** phosphore résine ; **ND** nombre de nodules ; **NO3** azote assimilable

### **b. Résultat de l'analyse en composante principale indiquant la relation entre les facteurs Variété 06, les types de fertilisation et les paramètres mesurées**

En ce qui concerne la figure y de la variété 06, ce sont toujours les deux premiers axes unitaires F1 et F2 qui ont été retenues pour l'interprétation des résultats car elles représentent respectivement 42,73% et 34,45% de l'inertie totale.

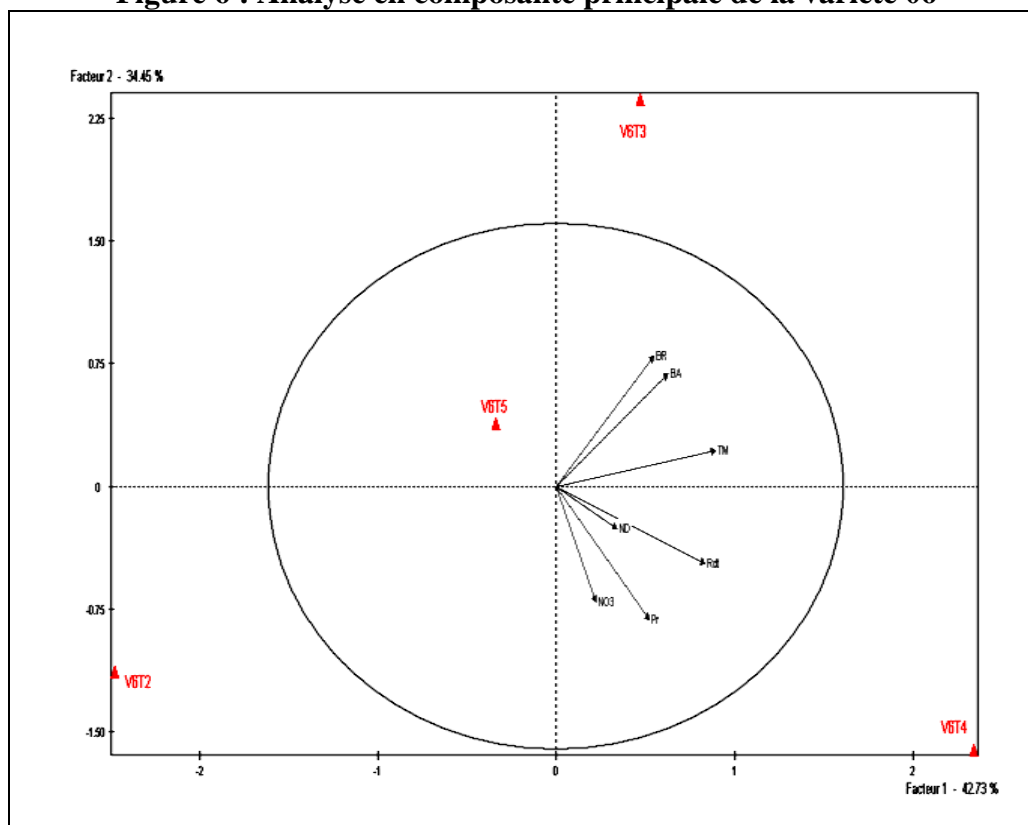
L'axe F1 regroupe en abscisse positive, les points V6T3 (traitement IRD3), V6T4 (traitement IRD4), NO3 (Teneur en azote assimilable), TM (Taux de Mycorhization), BA (Biomasse aérienne), Rdt (Rendement), BR (Biomasse racinaire), ND (Taux de nodulation), Pr (Phosphore assimilable) et en abscisse négative les points V6T5 (traitement IRD5) et V6T2 (traitement IRD2).

L'axe F2 regroupe en ordonnée positive les points V6T5 (traitement IRD5), V6T3 (traitement IRD3), BR (Biomasse racinaire), TM (Taux de Mycorhization), BA (Biomasse aérienne) et en ordonnée négative les points V6T4 (traitement IRD4), NO3 (Teneur en azote assimilable), Pr (Phosphore assimilable), V6T2 (traitement IRD2), Rdt (Rendement).

D'après le tableau ci-dessous représentant la matrice de corrélation en annexe, le taux de mycorhization et la teneur en phosphore assimilable (Pr) sont positivement corrélés avec le rendement de production de la variété 06 de haricot vert nain. De plus, la liaison entre le taux de mycorhization de la variété 06 et la biomasse aérienne est forte. Ce qui suggère que la symbiose mycorhizienne influence positivement le développement ainsi que le rendement de production de la variété 06 contrairement à la variété 02.

## Résultats

**Figure 6 : Analyse en composante principale de la variété 06**



**Signe :** **V6T2** variété 06 traité avec IRD2 : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse; **V6T3** variété 06 traité avec IRD3 : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 30kg engrais 30, 3kg engrais 30 à +15j du semis; **V6T4** variété 02 traité avec IRD4 : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 60kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis; **V6T5** variété 02 traité avec IRD5 : apport 3 charrettes compost, phosphate, potasse, 90kg engrais 30 3kg engrais 30 à +15j du semis ;

**TM** taux de mycorhization ; **BA** biomasse aérienne ; **BR** biomasse racinaire ; **Rdt** rendement de production ; **Pr** phosphore résine ; **ND** nombre de nodules ; **NO3** azote assimilable

**Tableau 17: Matrice des corrélations entre les différents paramètres**

	<b>Rdt</b>	<b>TM</b>	<b>ND</b>	<b>BA</b>	<b>BR</b>	<b>NO3</b>	<b>Pr</b>
<b>Rdt</b>	1,00						
<b>TM</b>	0,77	1,00					
<b>ND</b>	0,39	0,10	1,00				
<b>BA</b>	0,32	0,85	-0,21	1,00			
<b>BR</b>	0,16	0,66	0,27	0,81	1,00		
<b>NO3</b>	0,56	0,24	-0,37	-0,06	-0,57	1,00	
<b>Pr</b>	0,83	0,30	0,65	-0,24	-0,20	0,47	1,00

**Signe :** **TM** taux de mycorhization ; **BA** biomasse aérienne ; **BR** biomasse racinaire ; **Rdt** rendement de production ; **Pr** phosphore résine ; **ND** nombre de nodules ; **NO3** azote assimilable

## Résultats

Ces résultats obtenus par l'ACP indiquent que le traitement IRD4 se démarque des autres traitements pour les deux variétés de haricots verts nains utilisés concernant la stimulation des communautés de bactéries fixatrices d'azote et de champignons endomycorhiziens.

## **DISCUSSION**



## Discussion

L'objectif principal de cette étude était de décrire l'évolution des communautés des bactéries fixatrices d'azote (BFN) et des champignons endomycorhiziens à vésicules et à arbuscules (MVA) ainsi que la dynamique des deux nutriments majeurs (azote et phosphore) des sols en fonction du type de fertilisation adoptée et de la variété de haricot cultivé. Deux variétés de haricots verts nains, appartenant à la société Lecofruit Madagascar, destinées à l'exportation ont été utilisées à savoir la variété 02 et la variété 06. En ce qui concerne la fertilisation du sol, quatre traitements composés par divers éléments organiques à différents teneurs ont été appliqué au sol. Ainsi, il y avait, pour IRD2 le mélange de 900 Kg/ha de compost + 230 Kg/ha de phosphate + 300Kg/ha de potasse, pour IRD3 les trois composantes précédentes ont été additionnées de 300kg/ha d'engrais 30 (composition donnée en annexe) avant le semis et 3Kg/ha 15 jours après le semis, pour IRD4 les mêmes compositions que l'IRD3 mais la teneur de l'engrais 30 a été augmenté à 600Kg/ha pour l'apport avant et 300kg/ha 15 jours après le semis, et enfin pour IRD5, la teneur en engrais 30 a été de 900kg/ha avant le semis et 300kg/ha 15 jours après le semis. Le développement des plants de haricots ainsi que le rendement de production ont été donc évalués selon la fertilisation appliquée et la variété de haricot utilisée. Ensuite, la dynamique des communautés de BFN et de MVA a été décrite afin de déterminer le type de fertilisation et la variété adéquate pour favoriser ces formes d'associations symbiotiques. Enfin, L'impact de ces différents paramètres et les facteurs variétés ou traitements ont été évalués sur la dynamique de l'azote assimilable et du phosphore assimilable par les plantes dans le sol.

Les résultats ont montré que la variété de haricots verts nain 02 de Lecofruit Madagascar possède un fort potentiel par rapport à la variété 06 non seulement en matière de l'établissement de symbiose fixatrice d'azote et symbiose mycorhizienne mais également pour le rendement de production. L'influence de la variété sur le rendement de production a déjà été rapporté par plusieurs auteurs sur différents types de plantes cultivées telles que le niébé, le soja ou le maïs et même sur le haricot (Santalla et al., 2001 ; Nyembo et al., 2012 ; N'GBESSO et al., 2013). Dans la plupart des cas, ce sont les variétés améliorées pour posséder une certaine caractéristique telle que la résistance à une maladie, la tolérance au sel, à la sécheresse, une aptitude améliorée pour l'acquisition des éléments nutritifs majeurs, qui sont les plus performants (Scoones, 1999 ; Ali, 2005 ; ONN, 2013). Lors de ce travail, ce rendement optimal de la variété 02 est fortement lié au taux de nodulation racinaire du haricot ainsi qu'à la fertilisation du sol avec mélange de 900Kg/ha de compost 300kg/ha de

## Discussion

phosphate 230kg/ha de potasse, 60kg/ha d'engrais 30 puis un rajout de 3 kg engrais 30 à 15 jours après le semis (Traitement IRD4). D'une part, il a déjà été rapporté qu'il existe deux seuils limitant pour la teneur en phosphore et en azote du sol et qu'ils affectent à la fois la formation, le développement et le fonctionnement des nodules (Achakzai, 2007 ; Fonder *et al.*, 2010). Ce qui pourrait expliquer le résultat obtenu qui indique qu'au-delà de 60 Kg d'apport d'engrais 30, un engrais remarquablement riche en azote, par ha, le nombre des nodules et le rendement de production de la variété 02 diminuent significativement. D'autre part, le rendement de production est fortement lié à la capacité des nodules à fixer l'azote atmosphérique, le potentiel de la plante à acquérir les éléments nutritifs mais également de la disponibilité de ces éléments dans le sol (Anon, 2004 ; Oniruzzaman 2009; Konate *et al.*, 2012).

En ce qui concerne la dynamique de la communauté de champignons endomycorhiziens, ni la variété de haricots verts ni la fertilisation adoptée n'ont eu d'impact significatif sur la capacité des propagules de champignons endomycorhiziens à initier la symbiose mycorhizienne. Par contre, le nombre de spores contenus dans le sol, notamment les spores de couleur noire, a été significativement affecté par les traitements IRD2, IRD3 et IRD4 sur lesquelles a été cultivée la variété 06. Il faut dire que la propagation ainsi que l'efficacité des propagules de champignons endomycorhiziens dans le sol dépend de plusieurs facteurs tels que les propriétés physico-chimiques, biochimiques et microbiologiques (Sieverding, 1991 ; Kabir *et al.*, 1998 ; Johnson *et al.*, 2003 ; Schalamuk *et al.*, 2006). Il est donc difficile d'affirmer avec précision l'importance des facteurs utilisés lors de cette étude sur la dynamique de la communauté de champignons endomycorhiziens dans le sol. Pourtant, des études ont déjà démontré qu'une sur-fertilisation en éléments azotés influence négativement la formation des spores de champignons endomycorhiziens (Le Tacon, 2000 ; Pierart, 2012). Ce résultat est en accord avec celui obtenu lors de cette étude qui a montré qu'au-delà de 60 kg/ha d'apport d'engrais riche en azote (engrais 30), le nombre de spores diminue significativement ( $p < 5\%$ ). Néanmoins, il est important de souligner que ni le taux de mycorhization ni NPP ni le nombre de spores n'ont eu d'impact significatif sur le rendement de production de haricot et ce, quel que soit la variété utilisée, contrairement au taux de nodulation. D'une part, le même résultat a déjà été rapporté par Schroeder & Janos (2004), Branscheid *et al.* (2010) et Breuillin *et al.* (2010) qui l'a attribué à une fertilisation phosphatée inadéquate. D'autre part, il se pourrait que la communauté de champignons endomycorhiziens ait tout simplement contribué en tant qu'agent stimulateur de la croissance de plante soit dans la protection contre les agents

## Discussion

pathogènes soit sur la libération des éléments nutritifs contenus dans le sol soit dans la tolérance aux stress soit en stimulant les autres communautés microbiennes bénéfiques contenues dans le sol (Duponnois *et al.*, 2005 ; Ramanankierana *et al.*, 2006; Azcon-Aguilar *et al.*, 2009 ; Garbaye, 2013).

Le résultat sur les teneurs en phosphore et en azote assimilables contenus dans le sol confirme cette suggestion concernant les autres implications des champignons endomycorhiziens dans la vie de la plante. En effet, la variété 06 qui a montré un fort potentiel pour établir une association mycorhizienne a été caractérisée par un sol significativement riche en P et N assimilable, principalement pour le traitement IRD4 (mélange de 900Kg/ha de compost 3kg/ha de phosphate 2,3kg/ha de potasse, 60kg/ha d'engrais 30 puis un rajout de 3 kg engrais 30 à 15 jours après le semis). Des nombreuses études ont montré l'implication des champignons mycorhiziens dans la mobilisation des éléments nutritifs tels que l'azote et le phosphore à partir des substrats naturels (Antunesa *et al.*, 2007 ; Finlay, 2008 ; Dell & Plassard, 2010). Cette augmentation de la teneur en N et P assimilable pourrait également être due au fait que l'engrais utilisé a été constitué essentiellement par des composés simples facilement décomposables dans le sol. De ce fait, le résultat des deux analyses en composante principale respective des deux variétés confirme tous ces constatations. En effet, une teneur trop élevée en élément azoté affecte négativement la nodulation des racines qui à son tour influence le développement de la plante ainsi que le rendement de production principalement avec la variété 02. Par contre, la variété 06 est nettement plus dépendante à la symbiose mycorhizienne en ce qui concerne le développement et le rendement de production. De ce fait, la communauté de champignons endomycorhiziens associés aux deux variétés de haricots verts nains influence indirectement leur rendement de production par la libération d'azote et de phosphore directement assimilable par la plante. En effet, il a été maintes fois démontrées que ce sont les deux principaux facteurs qui influencent le développement ainsi que le rendement de production des plantes (Van Averbek *et al.*, 2007 ; Zhang *et al.*, 2011; Tanwar *et al.*, 2013).

## Conclusion générale et perspectives

Les résultats montrent que la biomasse microbienne, par son développement, assure la disponibilité et la répartition des ressources nutritives dans le sol au bénéfice de la plante. Ceci par la dégradation des matières organiques en éléments minéraux simples et accessible par la plante.

Le traitement IRD4 contenant 900 Kg/ha de compost + 230 Kg/ha de phosphate + 300Kg/ha de potasse + 60kg/ha engrais 30 + 3kg/ha engrais 30 15 jours après le semi favorise la croissance nodulaire des plants mais augmente aussi considérablement le rendement de production. Contrairement au traitement contenant le maximum de fertilisants azotés IRD5 (900 Kg/ha de compost + 230 Kg/ha de phosphate + 300Kg/ha de potasse + 90kg/ha engrais 30 + 3kg/ha engrais 30 15 jours après le semis) qui lui favorise plutôt la formation des associations endomycorhiziennes dans le système racinaire du haricot vert nain. En effet, une bonne prolifération des propagules de champignons mycorhiziens contenus dans le sol pour le traitement contenant le mélange de 900 Kg/ha de compost + 230 Kg/ha de phosphate + 300Kg/ha de potasse + 90kg/ha engrais 30 + 3kg/ha engrais 30 à 15 jours après le semis (IRD5) a été enregistré pour les deux variétés de haricot vert nain 02 et 06. Cependant, force est de constater que la variété 02 est plus significativement plus performante en terme de rendement mais aussi de réponse positive sur les deux formes de symbioses (bactériennes et mycorhiziennes).

Il a été également constaté que le taux de nodulation du système racinaire peut influencer favorablement le rendement de production non seulement par la fixation d'un surplus d'azote mais également par d'autres propriétés encore inconnues qui caractérisent la population des bactéries fixatrices d'azote qui y sont présentes. Il faudra donc choisir le traitement qui favorise à la fois le développement de cette forme d'association et l'amélioration du rendement de production.

Toutefois, il serait intéressant de mieux cerner la participation des champignons endomycorhiziens dans le développement des plants de haricot vert nain au même titre que l'efficacité des souches de rhizobia isolées lors de cette étude. D'une part, des tests d'infectivité et d'efficacité des souches de nodules et de bactéries fixatrices d'azote des plants de haricot seront donc réalisés en conditions contrôlées pour obtenir des souches performantes utilisables à d'autres finalités. D'autre part, les souches de champignons endomycorhiziens de la rhizosphère des deux variétés de haricot vert nain 02 et 06 seront

isolées puis sélectionnées selon leur aptitude à réinfecter une plante hôte mycotrophe. En plus de leur capacité à influencer le développement et la production végétale, une étude plus poussée vers le maintien de la santé de la plante nécessite également d'être conduite. Ces perspectives permettront de mettre en place des dispositifs d'inoculation microbienne mono ou multi-souches qui pourraient faire office d'une alternative intéressante pour contrôler la perturbation de la vie microbienne d'un sol de culture.

Parallèlement, l'importance de la fertilisation phosphatée sur ces deux communautés microbiennes mérite également d'être considérée étant donné qu'il s'agit tout de même de l'un des nutriments majeurs pouvant devenir un facteur limitant pour le développement de la plante.


## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Aarssen I. W. 1983. Ecological combining ability and competitive combining ability in plants: toward a general evolutionary theory of coexistence in systems of competition. *American Naturalist* 122: 707-731
- Agriculture et Agroalimentaire Canada. Les champignons mycorhiziens arbusculaires et leur symbiose végétale, en ligne sur [info@agr.gc.ca](mailto:info@agr.gc.ca), dernière consultation 2012-06
- Alvarez Gaël, Aubert Claude, Basson Alain. Activités biologiques et fertilité des sols : intérêts et limites des méthodes analytiques disponibles. In : commission « agronomie – systèmes de production » de l'ITAB, état et activités biologiques des sols, 2002, Paris, p.28
- Andriamalala N.V. 2003
- Andrianiaina Harivola Patrick. Etude en laboratoire de comportement de quelques variétés de *Phaseolus Vulgaris* L.:IL5(50-1), IL5(50-7), IL5(56-1), IL5(56-4), RJ2 et LB vis-à-vis de *Acanthoscelides obtectus*. Antananarivo: ENS. Diplôme de CAPEN, 2006, 99p.
- Atlas & Bartha 1987. *Microbial ecology: fundamentals and applications*. Addison-Wesley Pub. Co., 1981 - 560 pages
- Augusto L., Badeu V., D. Arrouays et al. Caractérisation des sols à échelle régionale par compilation de données. *Etude et Gestion des Sols*, 2006, vol 13, n°1, p.07-22.
- Azcon-Aguilar C., Barea J.M., Gianinazzi S., Gianinazzi-Pearson V., (Editors) 2009. *Mycorrhizas: functional processes and ecological impact (Les mycorhizes: processus fonctionnels et impact écologique)* Springer Verlag, Berlin-Heidelberg.
- Begon M, Harper JL, Townsend CR. 1996. *Ecology: individuals, populations and communities*, 3<sup>rd</sup> ed. Oxford, UK:Blackwell.
- Brink, M. & Belay G. (Editeurs). 2006. *Resources Végétales de l'Afrique Tropicale 1. Céréales et légumes sec.* [Traduction de : *Plant Resources of Tropical Africa 1. Cereal and Pulses*. 2006]. Fondation PROTA, Wageningen, Pays-Bas/BackHuys Publishers, Leiden, Pays-Bas/CTA, Wageningen, Pays-Bas. 328 pp.
- C.J.Beauchamp. Mode d'action des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et potentiel de leur utilisation comme agent de lutte biologique. *Phytoprotection*, 1993, vol. 74, n°1, p.19-27

## Références Bibliographiques

- Calvet Raoul. Le sol propriétés et fonction. Tome 2. Phénomènes physiques et chimiques: application agronomiques et environnementales. Edition France agricole, Dunod, 2003, 417p. ISBN 2-85557-084-0;
- Campos F., Padilla J., Vázquez M. *et al.* Expression of nodule-specific genes in *Phaseolus vulgaris* L. *Journal Plant Molecular Biology*, 1987, vol9; n°6, p.521-532.
- Comparaison de l'efficience de la nutrition azotée du riz pluvial en labour et en semis direct sous couverture végétale cas des sols ferrallitiques humifères d'andranomanelatra dans la région du Vakinankaratra Rakotoarisoa Jacqueline, 2012
- Dalpé Yolande. Les mycorhizes : un outil de protection des plantes mais non une panacée. *Phytoprotection*, vol. 86, n° 1, 2005, p. 53-59. [en ligne] disponible sur <http://id.erudit.org/iderudit/011715ar>
- Davet Pierre. Vie microbienne du sol et production végétale. Inra édition. 1996, 295p. ISBN 2-7380-0648-5.
- Dechamplain Net Gosselin L. Les champignons mycorhiziens, Juillet 2002,
- Diaw N. Utilisation des cultures de *Rhizobium* pour la culture du haricot (*Phaseolus vulgaris*) au Sénégal : 2002. Université Cheikh Anta Diop Dakar : thèse de doctorat, Biologie Végétale.
- Diouf D. Ndoye I., Fall D. Caractérisation phénotypique et symbiotique de souches de *Mesorhizobium spp.* nodulant *Acacia seyal* Del. *Journal des Sciences et Technologies* – 2008. Vol. 7. pp. 1 – 10
- Doivimergues Y.. Microbiologie du sol : évolution et intérêt agronomique : 1972. p.22
- Dommergues YR, 1978. interaction between Non pathogenic soil microorganisms and plants. (YR and SV Krupa eds) p.443
- Duponnois, R. - Bacteria Helping Mycorrhiza Development - In : *Soil Biology*, Vol. 7 – 2005.
- François De Paul Mako N'GBESSO ; Lassina FONDIO ; Brice Evrard Konan DIBI ; Hortense Andé DJIDJI et Christophe N'Guessan KOUAME. (2013). Étude des composantes du rendement de améliorées de niébé [*Vigna unguiculata* (L.) Walp]. *Journal of Applied Biosciences* 63: 4754 -4762.
- Fuchs Jacques G., Biophyt SA. (1999). les produits biologiques: bien les connaître pour mieux les utiliser. Cours dispensé les 18 et 19 Janvier 1999 à Paris organisé par AGREF-formation.



- Garbaye, J., (1991). Biological interactions in the rhizosphere. *Experientia* 47 : 370-375.
- Giles E.D. Oldroyd and J. Allan Downie.Coordinating Nodule Morphogenesis with Rhizobial Infection in Legumes.AnnualReview of Plant Biology, 2008, Vol. 59, p.519-546 .
- Gilles Béna. Diversité et Evolution des bactéries Symbiotiques Fixatrices d'azote. Habilitation à diriger des Recherches. Agronomie. Montpellier : Université de Montpellier 2, 2008, 51p.
- Guene N.F. Nodulation and nitrogen fixation of field grown common bean (*Phaseolus vulgaris*) as influenced by fungicide seed treatment. African Journal of Biotechnology Vol. 2 (7), pp. 198–201, July 2003
- Guene Ndèye F.D. Utilisation des inoculums de rhizobium pour la culture du haricot (*Phaseolus vulgaris*) au Sénégal. Thèse de Doctorat en Biologie Végétale, Université du Sénégal, 2002,p.112
- Gwyn A. Beattie and Jo Handelsman.A rapid method for the isolation and identification of rhizobium from root nodules. Journal of Microbiological Methods, 1989, n°9, p. 29-33.
- Henry, A.; Kleinman, P.J.A.; Lynch, J.P. (2009). Phosphorus runoff from a phosphorus deficient soil under common bean (*Phaseolus vulgaris*L.) and soybean (*Glycine max*L.) genotypes with contrasting root architecture. *Plant Soil* 317: 1–16.
- Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées Par Claire Doré,F. Varoquaux
- Howard Scott Gentry. 1969. Origin of the Common Bean, *Phaseolus vulgaris*. *Economic Botany* 23(1) pp. 55-69
- J Garbaye. (2013). La symbiose mycorrhizienne: une association entre les plantes et les champignons. Collection Synthèse. Editions QU  . 251p
- Joner EJ, Leyval C., 2003, Phytoremediation of organic pollutants using mycorrhizal plants : a new aspect of rhizosphère interactions. *Agronomie* 23 :495-502.
- Kabir Z, O'Halloran IP, Widden P, Hamel C. 1998. Vertical distribution of arbuscular mycorrhizal fungi under corn (*Zea mays* L.) in no-till and conventional tillage systems. *Mycorrhiza* 8:53–55.
- Kammoun S.. Isolement et caractérisation de rhizobium tropicaux nodulant la Luzerne. Microbiologie des sols. Dakar: Université d'Orstom,1983,p.31

## Références Bibliographiques

- Kondorosi, E., P. Mergaert & A. Kereszt (2013). A paradigm for endosymbiotic life: Cell differentiation of Rhizobium bacteria provoked by host plant factors. *Annu. Rev. Microbiol.* 67:611-628.
- L'taief B., Sifi B., Mainassara Z. A. *et al.* Effet de la fertilisation azotée, de l'inoculation par Rhizobium sp et du régime des pluies sur la production de la biomasse et la teneur en azote du pois chiche. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2009, vol13, n°4, p.537-544.
- Lemanceau, P., Heulin, T. (1998). La rhizosphère. In: P. Stengel, S. Gelin, Sol Interface Fragile (p. 93-106).
- Linderman, R.G., (1988). Mycorrhizal interactions with the rhizosphere microflora: the mycorrhizosphere effect. *Phytopathology* 78: 366-371.
- M. Santalla, J.M. Amurrio, A.P. Rodiño & A.M. de Ron. (2001). Variation in traits affecting nodulation of common bean under intercropping with maize and sole cropping. *Euphytica* 122: 243–255.
- M. Schultze and A. Kondorosi. Regulation of symbiotic root nodule development. *Annual Review Of Genetics.* 1998, Vol. 32, p.33-57.
- Maougal R. T. Technique de production d'inoculum Rhizobial. Etude de cas pois chiche (*Cicer arietinum*.L): Inoculation et nodulation. *Biotechnologie végétales.* Constantine : Université Mentouri, 2004, p.163.
- Matiru VN & DakoraFD, 2004. Potential use of rhizobial bacteria as promoters of plant growth for increased yield in landraces of African cereal crops. *African Journals Biotechnology* 3:1-7
- Mbengue M. Perception et transduction du signal bactérien facteur Nod dans l'établissement de la symbiose rhizobium-légumineuse : recherche et caractérisation de partenaires du LysMRLK LYK3 un récepteur putatif des facteurs Nod chez *Medicago truncatula*. Thèse de Doctorat Biosciences Végétale. Toulouse : Université Toulouse 3, 2010, 207p.
- Nathalie Fonder, Benoît Heens et Dimitri Xanthoulis. (2010). Optimisation de la fertilisation azotée de cultures industrielles légumières sous irrigation. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, Volume 14 (1) : 103-111
- M. M Oniruzzaman, G. M. A. Halim and Z. A. Firoz. (2009). Performances of French bean as influenced by plant density and nitrogen application. *Bangladesh J. Agril. Res.* 34(1) : 105-111

## Références Bibliographiques

- Ndoye I. Contribution à l'étude de la symbiose entre *Azorhizobium*, *Rhizobium* et *Sebsania rostrata*. Lille: Université des Sciences et Techniques, Microbiologie. Doctorat de l'USTL,1990,p.189.
- Nora Alkama. Adaptation de la symbiose rhizobienne chez le haricot à la déficience en phosphore : détermination de la réponse de la plante en termes d'échanges gazeux et de flux minéraux échangés avec la rhizosphère. Thèse de doctorat en Physiologie. Montpellier : Sup Agro Montpellier, 2010, 110p.
- Nyembo Kimuni Luciens, Useni Sikuzani Yannick, Mpundu Mubemba Michel, Bugeme Mugisho David, Kasongo Lenge Emery, Baboy Longanza Louis. (2012). Effets des apports des doses variées de fertilisants inorganiques (NPKS et Urée) sur le rendement et la rentabilité économique de nouvelles variétés de *Zea mays* L. à Lubumbashi, Sud-Est de la RD Congo. *Journal of Applied Biosciences* 59: 4286–4296.
- Orellana R. G., Fan F. F.. Nodule Infection by Bean Yellow Mosaic Virus in *Phaseolus vulgaris*, *Applied And Environmental Microbiology*, 1978, Vol. 36, n°. 6, p. 814-818, printed in U.S.A.
- P. H. Graham and J. C. Rosas. Nodule development and nitrogen fixation in cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. as influenced by planting density. *The Journal of Agricultural Science*, 1978, vol.90,n°1,p.19-29. Published online: 27 March 2009
- P. M. Antunesa, K. Schneiderb, D. Hillisc, J.N. Klironomosa. (2007). Can the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* actively mobilize P from rock phosphates? *Pedobiologia* 51 (2007) 281—286
  - Plassard and B. Dell (2010). Phosphorus nutrition of mycorrhizal trees. *Tree Physiology* 30, 1129–1139
- R Duponnois, , A Colombet, , V Hien, , J Thioulouse. (2005). The mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendment influence plant growth and microbial activity a in the rhizosphere of *Acacia holosericea*. *Soil Biology & Biochemistry* 37 : 1460–1468
- Rabesandratana Andriatahiry Tsiriniaina: Mémoire de DEA. DEA Agronomies. Université d'Antananarivo.2012.56p.
- Ramanankierana N, Rakotoarimanga N, Thioulouse J, Randrianjohany E, Ramaroson L, Kisa M, Duponnois R. 2006. The ectomycorrhizosphere effect influences functional diversity of soil microflora. *International Journal of Soil Sciences* 1 : 8-19.

## Références Bibliographiques

- Ramanankierana, H., (2005). La symbiose mycorhizienne dans la domestication de *Uapaca bojeri* (Euphorbiaceae), plante ligneuse endémique de Madagascar. [Thèse de doctorat]. Université d'Antananarivo ; 138p.
- Robert M. 1996. Le sol : interface dans l'environnement, ressource pour les développement. Masson. 244 p.
- Robert M.; Moore J. L.; Keunho C. et al. Relating foliar dehydration tolerance of mycorrhizal *Phaseolus vulgaris* to soil and root colonization by hyphae. *Journal of Plant Physiology*, 2003, vol.160, n°10, p. 1147-1156
- Roger D. Finlay. (2008). Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *Journal of Experimental Botany* 59(5): 1115–1126
- S. Schalamuk, S. Velazquez, H. Chidichimo, M. Cabello. (2006). Fungal spore diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with spring wheat: effects of tillage. *Mycologia*, 98(1): 16–22
- Samba, R. T., S. N. Sylla , et al. (2002). “Biological nitrogen fixation in *Crotalaria* species estimated using the 15 N isotope dilution method.” *African Journal of Biotechnology* Vol. 1((1)): 17-22.
- Sangakkara U.R. et al. Growth, Yield and Nodule Activity of *Phaseolus vulgaris* L. as Affected by Soil Moisture. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 1994,vol172, n°1, p.62-68.
- Sanon A A 2009. Le concept de niche écologique associé à la co-existence des espèces végétales : mise en évidence du rôle de la symbiose mycorhizienne et de sa microflore associée dans la structuration de la strate herbacée en milieu tropical. Doctorat de l'Université Henri Poincaré, Nancy I, Géosciences; 228p.
- Saoudi Mouna. Les bactéries nodulant les légumineuses (B.N.LP) : caractérisation des bactéries associées aux nodules de la légumineuse *Astragalus armatus* Algérie : Université Mentouri de Constantine. Mémoire de Magister. p.99
- Selosse M A, Baudoin E, Vandenkoornhuyse P, 2004. Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants. *comptes rendus biologie* (2004); n°327. p639-648.
- Somasegaran, P.; Hoben, H. J. Handbook for rhizobia: methods in legume-Rhizobium technology. Springer-Verlag New York Inc .1994,450p, ISBN [0-387-94134-7](https://doi.org/10.1007/978-1-4613-9413-7).
- Soufiane, 1998 ; Morel, 1996

## Références Bibliographiques

- Tanwar, A. Aggarwa, N. Kadian and A. Gupta. (2013). Arbuscular mycorrhizal inoculation and super phosphate application influence plant growth and yield of *Capsicum annuum*. *Soil J. Soil Sci. Plant Nutr.* 13(1): 55-66.
- Traore S. A. Contribution à l'étude de la nodulation de tige par *Rhizobium* chez une légumineuse aquatique *Sesbania pubesciens*. Dakar: université de Cheikh AntaDiop. DEA en écologie Microbienne,1991,p.98.
- W Van Averbeke, KA Juma and TE Tshikalange. (2007). Yield response of African leafy vegetables to nitrogen, phosphorus and potassium: The case of *Brassica rapa* L. subsp. *chinensis* and *Solanum retroflexum* Dun. *Water SA* 33 ( 3): 355-362
- Yvon R. Dommergues, François Mangenot Masson et Cie. *Écologie microbienne du sol* 1970 - 796 pages
- Zhang J, Jin H, Li W, Wang Y, Zhang J. (2011). Correlation analysis soil nutrition as well as yield and active compounds of *Coptis teeta*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 36(19):2629-31

# **ANNEXES**

## ANNEXE 1

### Dosage de l'azote du sol

Le dosage de l'azote dans le sol se fait en deux étapes : l'extraction et le dosage. Elle peut être utilisée pour la détermination de N-NH<sub>4</sub>, N-NO<sub>3</sub>, Al, SO<sub>4</sub> et Urée dans les sols.

L'échantillon est agité avec une solution de Chlorure de potassium (1M) dans le rapport 1/10 pendant une heure. L'extrait est obtenu par filtration de la suspension.

**Solution tampon** (extraction de l'azote) : pH=8,2

Chlorure d'Ammonium.....	50g
Solution d'ammoniaque.....	± 1 ml
Eau distillée.*.qsp.....	1000ml
Brij 35 (30%).....	3 ml
NH <sub>4</sub> Cl distillée	
NH <sub>4</sub> OH (25%)	
H <sub>2</sub> O solution stable 1 semaine	

La solution est gardée à 4°C avant utilisation et le ph est vérifié tous les 3 jours.

## ANNEXE 2

### Composition du milieu de culture

#### Milieu de culture YMA:

Mannitol .....	10g
Glutamate de Sodium.....	0,5g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	0,5g
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O.....	0,1g
NaCl.....	0,05g
CaCl <sub>2</sub> , 2H <sub>2</sub> O.....	0,04g
Extrait de levure.....	1g

Agar.....10g

pH=6,8

### ANNEXE 3

#### Potentiel infectieux mycorhizogène

– Dilution du PIM :

*Calcul du nombre le plus probable de propagules mycorhiziens (méthode NPP) décrite par Porter (1979).*

Nombre de dilution (s)				Nombre de dilution (s)			
x	4	5	6 et plus	y	4	5	6 et plus
0,4	0,704	0,706	0,707	3,5			0,55
0,6	0,615	0,617	0,618	3,0			0,548
0,8	0,573	0,576	0,577	2,5		0,545	0,545
1,0	0,555	0,558	0,559	1,5	0,522	0,522	0,522
1,5	0,545	0,551	0,553	1,0	0,488	0,488	0,488
2,0	0,537	0,548	0,551				
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

Table d'estimation des organismes estimés par la méthode de dilution de sol (W. L. Stevens).

– *Exemple de calcul des NPP.*

Un exemple de résultats est donné dans le tableau suivant.

**Tableau 18 : Présence de structures mycorhiziennes pour chaque plant et pour chaque dilution (+ : plant mycorhizé)**

Dilution de sol	Rep I	Rep II	Rep III	Total des pots avec plantes mycorhizées
1	+	+	+	3
1/4	+	+	+	3
1/16	+	+	+	3
1/64	+	+	+	3



1/256	+	+	+	3
1/1024	+	+	-	14

Rep : répétition

**Calcul :**

$\text{Log}_{10}\text{MPN} = (x \log a) - K$ , avec  $x$  = moyenne des pots avec plantes mycorhizés soit dans ce cas :  $14/3 = 4.6$  et  $a$  est le facteur de dilution soit ici 4.

$y = s - x$   $y$  est requis pour trouver  $K$  ;  $s$  est le nombre de dilution, dans l'exemple,  $s = 6$ ,  $K$  est donné dans la table de Fischer et Yates (1948 ; 1970)

$$y = 6 - 4,6 = 1.4$$

$x$  est supérieur à 2,5, mais  $y$  est inférieur à 3,5, donc on cherche  $K$  dans la table pour  $y = 1,4$  ; on trouve  $K = 0,515$  d'où  $\text{Log}_{10}\text{MPN} = [4,6 (0,602) - 0,515 = 2.254$  et  $\text{MPN} = 179.47$  propagules pour 100 g de sol.

**ANNEXE 4**

**Composition du bleu trypan :**

- Poudre de bleu trypan .....5g
- Acide acétique .....250ml
- Eau distillée qsp .....1000ml

**Réactif colorant:**

- Acide Ortho-Phosphorique.....150ml
- $\text{H}_3\text{PO}_4$  (85%)
- Sulfanilamide.....10 gr
- $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$
- Chlorhydrate d'  $\alpha$  -naphtyl éthylène diamine.....0,5 gr
- $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2$
- Eau distillée.\* qsp.....1000 ml

## ANNEXE 5

### Composition de Patentkali :

- 30% Oxyde de potassium ( $K_2O$ ) soluble dans l'eau
- 10% Oxyde de magnésium ( $MgO$ ) soluble dans l'eau
- 42% Anhydride sulfurique ( $SO_3$ ) soluble dans l'eau

Engrais pauvre en chlore mais repond à 100% aux besoins des végétaux.

### Composition du biocorne :

- N-P-K = 11-0-0
- Matières minérales = 15.2%
- Matières organiques = 84.8%

**Nom :** RASATANDRIANOMBANA

**Prénoms :** Nirina Andrianina

**Titre :** Evaluation de la potentialité en bactéries fixatrices d'azote et en champignons mycorhiziens à vésicules et à arbuscules dans un réseau multi-local de parcelle de haricot: fertilisation biologique.

Décrire l'évolution des communautés de bactéries fixatrices d'azote ou de champignons endomycorhiziens à vésicules et à arbuscules, du rendement de production ainsi que les deux éléments nutritifs majeurs (azote et phosphore assimilable) des sols en fonction des différentes techniques de fertilisation et de la variété de haricot vert nain utilisée (variété 02 et variété 06) constitue l'objectif principal de ce travail. Les expérimentations ont été conduites dans deux localités différentes (Anstirabe et Analavory) qui servent de fermes de culture pour la société Lecofruit Madagascar.

Les résultats ont montré que la fertilisation du sol avec le mélange de 900 Kg/ha de compost + 230 Kg/ha de phosphate + 300Kg/ha de potasse + 60kg/ha engrais 30 + 3kg/ha engrais 30 15 jours après le semis (IRD4) favorise à la fois le développement de l'association symbiotique fixatrice d'azote avec le taux de nodulation et un rendement de production significativement élevés par rapport aux autres traitements. Il a été également constaté qu'il existe un certain seuil (60Kg/ha d'engrais 30) concernant la teneur en fertilisant azoté tolérée pour l'établissement des symbioses racinaires et le rendement de production maximal. Ces effets ont été très marqués avec la variété 02 contrairement à la variété 06 qui elle a été plutôt favorable au développement des associations mycorhiziennes. Il faut donc dire que les deux variétés présentent des réponses et de comportements très différents vis-à-vis des fertilisants adoptés et leurs interactions avec les microorganismes du sol. Néanmoins, lors de cette étude, la communauté de champignons endomycorhiziens n'influence pas directement le rendement de culture du haricot contrairement aux communautés des bactéries fixatrices d'azote. Leur implication pourrait donc se situer au niveau de la protection de la plante contre les agents pathogènes ou l'acquisition des éléments nutritifs comme l'azote et le phosphore.