



AGRICULTURE TROPICALE &
DÉVELOPPEMENT DURABLE

UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

**ECOLE SUPERIEURE DES SCIENCES
AGRONOMIQUES**

Mention : Agriculture Tropicale & Développement Durable
Parcours : Bio-fonctionnement des Sols et Environnement

**Mémoire de Fin d'études en vue de l'obtention d'un Diplôme d'Ingénieur Agronome au
grade de Master II**

**EFFETS DES PRATIQUES CULTURALES SUR
LA BOUCLE MICROBIENNE DU SOL : CAS DE LA CULTURE
DE RIZ PLUVIAL SUR SOL FERRALLITIQUE**

Présenté par Mlle RALALASON Hasina Miharisoa

Promotion : VAHATRA

Soutenu le 12 août 2016 devant le jury composé de :

Président : Docteur Harilala ANDRIAMANIRAKA
Examineur : Docteur Norosoa Christine RAZAFINDRAMANANA
Maîtres de stage : Docteur Jean TRAP
Madame Mahafaka Patricia RANOARISOA
Encadreur pédagogique : Monsieur Augustin HERINDRANOVONA



REMERCIEMENTS

Avant tout, je remercie Dieu Tout Puissant pour sa grâce de m'avoir permis d'arriver à ce niveau et parvenir à réaliser ce mémoire de fin d'études. A Dieu seul la gloire !

Ensuite, je tiens à adresser mes profondes reconnaissances à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce travail. J'adresse mes sincères remerciements à :

- Monsieur Harilala ANDRIAMANIRAKA, Docteur en Sciences Agronomiques, Chef de la mention Agriculture Tropicale et Développement Durable, d'avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire ;
- Madame Norosoa Christine RAZAFINDRAMANANA, Docteur en Sciences Agronomiques, enseignant chercheur à l'ESSA, d'avoir bien voulu faire partie des membres du jury en tant qu'examineur ;
- Monsieur Jean TRAP, Docteur en Ecologie Fonctionnelle, Chargé de recherche à l'IRD au sein de l'UMR Eco&Sols, en accueil au Laboratoire des RadioIsotopes, pour son aide, ses précieux conseils et sa disponibilité, qui a su patiemment transférer ses connaissances.
- Monsieur Augustin HERINDRANOVONA, Enseignant chercheur à l'ESSA, d'avoir accepté d'être mon encadreur pédagogique pour cette étude. Ses précieux conseils et ses recommandations m'ont été d'une grande importance pour pouvoir mener à bien ce travail;
- Madame Mahafaka Patricia RANOARISOA, doctorante en Ecologie Fonctionnelle et Sciences Agronomiques à Montpellier SupAgro et l'ESSA, d'avoir co-encadré mon travail et de m'avoir offert ses aides tout le long de mon stage ;
- Toute l'équipe de l'IRD et celle du LRI qui m'ont accueilli chaleureusement et mis à ma disposition tout le nécessaire pour la réalisation de cette étude ;
- Monsieur Hery Manantsoa RAZAFIMAHATRATRA, Docteur en Sciences Agronomiques, Enseignant chercheur à l'ESSA et Responsable du Parcours Biofonctionnement des Sols et Développement Durable, de nous avoir fait connaissance de l'opportunité de ce stage
- Tout le corps enseignant de l'ESSA pour ces cinq années de formation qui nous ont conduit jusqu'à la réalisation de ce mémoire de fin d'étude

Je ne saurais oublier de remercier tous mes amis stagiaires au sein du LRI, en particulier : Koloina, Anne-Lysse, Sariaka et Mirana. Je remercie également tous ceux dont je n'ai pas pu citer ici mais qui ont participé vivement à la réalisation de ce travail. Que vous puissiez trouver dans ce mémoire l'image de votre notable contribution et ma plus profonde reconnaissance.

Spécialement, j'adresse mes chaleureux remerciements à toute ma famille, surtout à mes chers parents qui m'ont toujours soutenu moralement et financièrement. Que Dieu vous bénisse.

Merci à tous

Hasina

TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX	i
LISTE DES CLICHES	i
LISTE DES FIGURES	i
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS	ii
GLOSSAIRE	iii
FINTINA	iv
RESUME	v
ABSTRACT	vi
1 INTRODUCTION	1
2 MATERIELS ET METHODES	3
2.1 Effet des variétés de riz pluvial sur la boucle microbienne	3
2.1.1 Matériels biologiques	3
2.1.2 Echantillonnage et préparation des sols.....	3
2.1.3 Dispositif expérimental	4
2.1.4 Variables mesurées	4
2.1.5 Traitement des données	6
2.2 Effets des pratiques culturales sur la boucle microbienne du sol	6
2.2.1 Choix des parcelles.....	6
2.2.2 Echantillonnage de sol.....	7
2.2.3 Matériels biologiques	8
2.2.4 Dispositif expérimental	8
2.2.5 Variables mesurées	9
2.2.6 Traitement de données.....	11
2.3 Limites de la méthodologie.....	12
3 RESULTATS	13
3.1 Effet des variétés de riz pluvial sur la boucle microbienne	13
3.1.1 Production de biomasse sèches en fonction des traitements et des variétés de riz..	13

3.1.2	Allocation de biomasse des variétés utilisées en fonction de la présence de nématodes bactérivores.....	14
3.1.3	Nombre final de nématodes.....	14
3.2	Effet des pratiques agricoles sur la boucle microbienne.....	15
3.2.1	Biomasse et nutrition à la fin de l'expérimentation.....	15
3.2.2	Densité finale de nématodes.....	21
3.3	Indicateurs agronomiques et pédologiques de prédiction des effets des nématodes.....	22
4	DISCUSSIONS ET RECOMMANDATIONS.....	24
4.1	Effet des variétés de riz pluvial sur la boucle microbienne du sol.....	24
4.2	Effets des pratiques culturales sur la boucle microbienne du sol.....	26
4.3	Indicateurs agronomiques et pédologiques de prédiction des effets des nématodes bactérivores sur la croissance du riz pluvial.....	30
5	CONCLUSION.....	32
6	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	34

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Présentation des 9 parcelles étudiées.....	7
Tableau 2: Azote total dans la plante.....	18
Tableau 3: Teneur moyenne en azote total et quantité moyenne d'azote total dans la biomasse totale de la plante.....	19
Tableau 4 : F-value de l'analyse de variances à 2 facteurs (Traitement et pratiques) de la biomasse de la plante et de la quantité de N total dans la plante.....	21

LISTE DES CLICHES

Cliché 1 : Dispositif expérimental de l'expérience 1	4
Cliché 2 : Elutriation de sol et récupération des nématodes.....	5
Cliché 3: Echantillonnage de carottes de sol	8
Cliché 4: Fumigation des carottes de sol	9

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Quantité de biomasses sèches de la partie aérienne et racinaire des variétés de riz pluvial après 3 semaines de croissance.....	13
Figure 2 : Rapport shoot/root en fonction des traitements biologiques (B et B+N) et des variétés de riz pluvial.	14
Figure 3: Nombre final de nématodes en fonction des variétés de riz pluvial utilisées	15
Figure 4: Quantité de biomasses sèches de la partie aérienne et racinaire du riz pluvial après 6 semaines de croissance en fonction des traitements biologiques pour toutes parcelles confondues	15
Figure 5: Quantité de biomasses sèches en fonction des parcelles regroupées selon les pratiques de culture.	16
Figure 6: Effet des nématodes sur la production de biomasses.....	17
Figure 7: Effet des nématodes sur la quantité d'azote total (mg N) de la plante.....	20
Figure 8: Nombre final de nématode en fonction des parcelles	21
Figure 9: Prédiction des effets des nématodes bactéricivores sur la croissance du riz à l'aide des variables agronomiques et pédologiques.....	22

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ANOVA :	Analysis of variance (analyse de variances)
BMS :	boucle microbienne du sol
C :	carbone
ESSA :	Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques
FOFIFA :	Foibem-pirenena momba ny fikarohana ampin'ny fampanandroana ny eny Ambanivohitra
IRD :	Institut de Recherche pour le Développement
LRI :	Laboratoire des RadioIsotopes
mm :	millimètre
N :	azote
ONG :	organisation non gouvernementale
P :	phosphore
pH :	potentiel hydrogène
PLS-R:	Partial Least Squares regression
SCV :	Système de culture sur Couverture Végétale permanente
VIP :	variable importance of projection

GLOSSAIRE

Biodisponibilité d'un élément : capacité d'un élément à être assimilé par les plantes, la faune ou les microorganismes du sol. Pour la plante, il s'agit de phyto-disponibilité.

Elevage monoxénique : élevage d'une seule espèce

Exsudation racinaire : émission par les racines de produits organiques diffusant dans la rhizosphère

Fumigation au chloroforme : traitement sous dessiccateur du sol humide par la vapeur de chloroforme durant une nuit à l'obscurité. La fumigation induit l'élimination de la microfaune du sol et la lyse des cellules microbiennes du sol.

Microcosmes : modèle clos d'un écosystème permettant la manipulation de l'environnement au laboratoire.

Minéralisation : production de nutriments minéraux, et donc assimilables par la plante à partir de la matière organique du sol et des résidus de culture (débris végétaux) grâce à l'activité microbienne enzymatique du sol.

Rapport shoot/root : rapport entre la biomasse aérienne et la biomasse racinaire.

Rhizosphère : zone du sol proche des racines des plantes et soumise à leur influence directe

FINTINA

Ny "boucle microbienne du sol" (BMS) dia zavatra miseho manodidina ny fakan'ny zavamaniry noho ny asan'ny bibikely mihinana bakteria anaty tany. Izany dia mampitombo vonjimaika ny singa samihafa azon'ny voly ampiasaina izay voatahiry anatin'ny selan'ny bakteria. Ny fahaizana mitrandraka io tranga voajanahary anaty tany io dia fomba iray mety hahafahana manatsara ny fahasahan'ny tany ka mitarika amin'ny fahatsaran'ny voly vary an-tanety. Mbola tsy nisy fikarohana natao momba ny BMS teto Madagasikara. Izany indrindra no nipoiran'ity asa fikarohana ity izay mandalina ny vokatry ny fomba fiasa ara-pambolena (fisafidianana ny karazana masomboly ampiasaina, fitondrana zezika, fampivadiana voly samihafa na fifampidimbiasamboly) eo amin'ny BMS. Andrana karazana roa no notanterahina : (i) fambolena karazana vary (*Oryza sativa*) an-tanety valo amin'ny tany izay nandrahoana mba namonoana ny bibikely rehetra tao aminy. (ii) fambolena ny karazam-bary B22 amin'ny santionan-tany isan-karazany nalaina tamin'ny toerana sivy samy hafa (tany Imerintsiatosika), natao tanaty tioba, ka novonoina ny bibikely tao anatin'ny tamin'ny alalan'ny entona "chloroforme". Isaky ny fanandramana, tranga roa no nampitahana : fampidirana bakteria irery ihany (B) sy fampidirana bakteria sy nematoda mpihinana bakteria (B+N). Rehefa tapitra ny andrana dia norefesina ny vokatry azo (ravina sy faka), tahan'ny azota amin'ny zavamaniry ary ny isan'ny nematoda farany. Ny valin'ny andrana voalohany dia naneho fa ny karazana vary B22 ihany no mamaly tsara ny asan'ny nematoda, izany hoe namokatra ravina mihoatra noho ny faka. Ho an'ny andrana faharoa, ny vokatry ny asan'ny nematoda eo amin'ny fitomboan'ny vary dia mety ho tsara, na tsy miandany na koa voasarona noho ny tontolo manodidina ny vary (habetsahan'ny tsiro azon'ny voly ampiasaina anaty tany, fampivadiana ny voly vary amin'ny legioma).

Teny manan-danja: nematoda mpihinana bakteria, fitomboana, azota, fifandraisana amin'ny samy bibikely

RESUME

La « boucle microbienne » (BM) du sol est une fonction écologique clef des écosystèmes assurée par les interactions entre les racines, les bactéries, et les bactérivores du sol, dont les nématodes. Plus précisément, l'action des nématodes bactérivores permet d'augmenter la phyto-disponibilité des nutriments en libérant des nutriments bloqués temporairement dans la biomasse microbienne. La maîtrise de cette fonction des sols pourrait constituer une alternative agronomique significative pour améliorer la fertilité minérale des sols à Madagascar qui est l'un des principaux enjeux de la réussite de la riziculture pluviale. Pourtant, aucune étude sur la BM n'a été réalisée à Madagascar. Dans l'objectif d'étudier l'effet des pratiques culturales du riz pluvial (choix de la variété, le type de fertilisation, association ou rotation) sur la BM, deux expériences en microcosmes ont été conduites : (i) croissance de huit variétés de riz pluvial (*Oryza sativa*) dans du sol défauné par autoclavage, (ii) croissance de la variété B22 dans des carottes de sol en place prises sur 9 parcelles (Imerintsiatosika) en système de riz pluvial puis défaunées par fumigation. Pour chaque expérimentation, deux traitements ont été comparés : inoculation avec des bactéries seules (B), inoculation avec des bactéries et nématodes bactérivores (B+N). A la fin des expérimentations, la biomasse, la teneur en azote dans la plante et le nombre final de nématodes ont été mesurées. Les résultats de la première expérience ont montré que seule la variété (B22) répond positivement à l'action des nématodes bactérivores en présentant le meilleur rapport d'allocation de biomasse entre le compartiment aérien et le compartiment racinaire. Les observations de la deuxième expérience ont montré que les effets des nématodes sur la croissance et la nutrition du riz pluvial peuvent être positifs, neutres ou négatifs en fonction des paramètres environnementaux (pH) ou des paramètres agronomiques (présence d'arbre, association avec une légumineuse). En conclusion, cette étude montre que la BM est une fonction importante des sols qui peut être optimisée en fonction des pratiques au sein du système de culture de riz pluvial à Madagascar.

Mots clés : nématode bactérivore, croissance de la plante, nutrition de la plante, azote, interaction biologique

ABSTRACT

The “soil microbial loop” (SML) is a key ecological function occurring in the rhizosphere of plants achieved by the interaction between soil bacteria and bacterivores, such as nematodes. More precisely, the presence of bacterivorous nematodes increases the nutrient plant availability by releasing them from the microbial biomass. Optimizing this function could constitute an alternative way to improve the soil nutrient availability which is one of the main issues of the success of upland rice (*Oryza sativa*) growth in Madagascar. However, no study on the SML has been carried out yet in Madagascar and no study at all has been conducted in field conditions. We thus aimed at studying the effect of the agricultural practices (rice cultivars, fertilization type, association or rotation) on the SML in upland rice in Madagascar. For that purpose, two trials in microcosms were conducted: (I) one trial with eight upland rice cultivars growing in fauna-free soil inoculated or not with nematodes, in order to assess the ability of cultivar to interact with nematodes, (II) a second trial with the cultivar B22, co-inoculated or not with nematodes, growing in intact soil cores collected from 9 different upland rice plots in regards to agronomic practices (Imerintsiatosika, highlands of Madagascar). At the end of the experiments, the plant biomass, the nitrogen content in the plant and the final number of nematodes were measured. According to the results of the first trial, we found that the cultivar B22 allocated more biomass in shoot and less in root in presence of the bacterivorous nematodes while the other cultivars did not. For the second trial, the effects of nematodes on upland rice growth can be positive, neutral or negative according to environmental parameter (pH) and agronomic descriptors (presence of tree, association with a legume). In conclusion, the SML can be highly optimize in upland rice systems in Madagascar thanks to adapted relevant agricultural practices.

Key words: soil bacterivorous nematodes, plant growth, plant nutrition, nitrogen, biological interactions

INTRODUCTION

1 INTRODUCTION

L'importance du riz dans l'alimentation des malgaches n'est plus à démontrer. En effet, il constitue en général 44% de la production de cultures vivrières (Ralaifenomanana, 2009). Cependant, les besoins en riz ne cessent de croître chaque année suite à une forte croissance démographique de la population. De ces faits, les bas-fonds deviennent de plus en plus saturés par la riziculture irriguée et les possibilités d'expansion de ce type de culture sont de plus en plus limitées spatialement. La pratique de la riziculture dite « pluviale » s'élargit alors sur les collines ou « tanety » des Hautes Terres, notamment depuis l'utilisation de variétés de riz tolérantes aux conditions contraignantes d'altitude et d'humidité des tanety (Raboin et *al.*, 2013).

Essentiellement ferrallitiques, les sols des tanety occupent près de 65% de la surface agricole utile de Madagascar (Rabeharisoa, 2004). Généralement acides (pH souvent inférieurs à 5), ces sols présentent une faible teneur en matière organique (environ 2% seulement) et une très faible fertilité minérale (Randriamanantsoa et *al.*, 2013). Le phosphore (P), un élément indispensable pour la croissance des plantes est le plus faiblement disponible avec une teneur en P assimilable généralement inférieure à 10 mg P kg⁻¹ (Rabeharisoa, 2004). Par conséquent, la faible fertilité minérale des sols de tanety est la principale contrainte de la productivité de la riziculture pluviale.

Malheureusement, l'utilisation des engrais chimiques par les paysans sur ce type de sol n'est pas envisageable car le coût est trop élevé (Andrianjafy, 2004). Les pratiques agricoles constituent donc un levier important par lequel les paysans peuvent améliorer la production des cultures de riz sur tanety. D'une manière générale, la pratique de culture traditionnelle sans restitution des éléments exportés, appauvrit davantage ces sols, entraînant un impact négatif sur la productivité des cultures en particulier sur le long terme (Randriamboavonjy, 2005). Les pratiques de culture avec restitution ou apport de matière organique (MO) sont susceptibles d'augmenter localement la quantité de MO, et potentiellement les nutriments issus de celle-ci si l'activité biologique des sols est forte. Au vu du contexte agricole et démographique actuel de Madagascar, il apparaît donc urgent d'identifier ou de concevoir des pratiques favorables afin d'améliorer de manière durable, ou au minima de maintenir, la fertilité minérale des sols des tanety.

A travers leurs activités, les nombreux organismes du sol jouent un rôle central pour le bon fonctionnement des agrosystèmes, en particulier en régulant la biodisponibilité des nutriments (N et P) pour les plantes cultivées (Gobat et *al.*, 2004 ; Alteri, 1999 ; Barrios, 2007). En effet, la microfaune du sol, peut contribuer à environ 30% de la disponibilité du N et du P pour la plante (Clarholm, 1985 ; Trap et *al.*, 2016). Parmi les microorganismes du sol qui contribuent à l'augmentation de la disponibilité des nutriments, les « micro-régulateurs » ou également nommés « microbivores », s'élèvent au premier rang (Coleman et *al.*, 1999). En 1985, Clarholm conceptualise un phénomène écologique lié à cette biodisponibilité des éléments induite par ces microbivores : la boucle microbienne du sol (BMS). La BMS correspond à la capacité des bactériovores du sol (majoritairement des protozoaires et des nématodes) d'augmenter la disponibilité des nutriments (surtout N et P) pour les plantes en libérant les nutriments bloqués

temporairement dans la biomasse microbienne et en augmentant l'activité des cellules bactériennes. Néanmoins, très peu d'études sur la BMS ont été menées sur les sols tropicaux pauvres en nutriments. Aucune étude sur la boucle microbienne des sols n'a été réalisée à Madagascar. Ainsi, la question centrale se pose : « le contrôle de la BMS constitue-t-elle une alternative pour améliorer ou maintenir la fertilité minérale des sols ferrallitiques de Madagascar et par conséquent améliorer la croissance du riz pluvial ? »

La présente étude répond en partie à cette question en étudiant l'action des nématodes bactérivores sur la culture de riz pluvial sur sols ferrallitiques à Madagascar. L'objectif général est d'étudier les effets des pratiques du riz pluvial (choix de la variété, fertilisation, association ou rotation) sur la BMS afin de fournir des indicateurs écologiques prédictifs de cette fonction aux agronomes. Les objectifs spécifiques sont donc de (i) déterminer les effets des variétés de riz pluvial utilisées sur la BMS, (ii) étudier les effets des nématodes bactérivores sur la BMS en fonction des pratiques de riz pluvial sur sols ferrallitiques et (iii) identifier des indicateurs agronomiques et pédologiques permettant de prédire les effets des nématodes sur la croissance du riz pluvial.

Par rapport à ces objectifs, les hypothèses testées au cours de l'étude sont les suivantes :

Hypothèse 1 : La variété de riz pluvial utilisée par l'agriculteur peut avoir un impact variable sur la boucle microbienne du sol.

Hypothèse 2 : La boucle microbienne du sol est plus ou moins prononcée en fonction des pratiques culturales (association, rotation ou monoculture).

Hypothèse 3 : Des indicateurs agronomiques et pédologiques permettent de prédire les effets des nématodes bactérivores sur la croissance du riz pluvial.

Deux expérimentations en microcosmes ont été menées pour vérifier ces hypothèses. Les différentes parties de ce document détailleront les démarches méthodologiques adoptées pour vérifier ces hypothèses, puis les résultats qui ont été obtenus ainsi que les discussions et recommandations correspondantes.

MATERIELS

ET

METHODES

2 MATERIELS ET METHODES

2.1 Effet des variétés de riz pluvial sur la boucle microbienne

2.1.1 Matériels biologiques

2.1.1.1 Variétés de riz

Nous avons choisi 8 variétés de riz pluvial utilisées en milieu agricole pour résoudre différents problèmes agronomiques (lutte contre la pyriculariose ou contre le Striga, faible fertilité des sols, altitude, etc.). Les 8 variétés de riz suivantes ont été utilisées : B22 (ou Fotsiambo), FOFIFA 182, FOFIFA 172, FOFIFA 152, FOFIFA 154, Nerica 4, Chomrong Dhan (CD) et WAB 880.

Les graines de riz proviennent de la collection variétale du FOFIFA. (cf. Annexe 1)

2.1.1.2 Nématodes bactérivores

Les nématodes ont été extraits par élutriation (Seinhorst, 1962), à partir de 300g de sol frais prélevé à la tarière (0-10cm) dans une parcelle de bozaka (Madagascar). Un piégeage actif par filtration de 48 heures a permis la collecte des individus vivants. L'élevage monoxénique de nématodes bactérivores a été mis en place sur *E. colis*. Brièvement, à l'aide d'une loupe binoculaire, une femelle gravide est sélectionnée et inoculée sur *E. Colis*. La femelle gravide et les œufs sont collectés à l'aide d'une pipette puis stérilisés à l'eau de javel. Après stérilisation, les œufs sont placés sur une culture fraîche de bactéries. Comme les nématodes ont un cycle de 4 à 6 jours, le repiquage se fait régulièrement, environ toutes les deux semaines. Les élevages monospécifiques sont maintenus en milieu gélosé de TSA (Tryptic Soy Agar) contenant 1% d'agar, 3 g.l⁻¹ de Tryptic Soy Broth (Fluka ref 22092). Le cholestérol est ajouté à froid (concentration finale de 5 mg/L) après autoclavage du milieu (Irshad, 2011). Pour les multiplier, les nématodes sont repiqués près du bec benzen (en conditions stériles) pour éviter toute contamination bactérienne, dans de nouvelles boîtes Pétri contenant le même milieu de culture TSA et la même bactérie comme substrats. Le nématode bactérivore sélectionné appartient au genre *Cephalobidae*.

2.1.2 Echantillonnage et préparation des sols

Pour étudier l'effet des variétés de riz sur la BMS, tous les autres facteurs doivent être uniformisés. En d'autres termes, les conditions expérimentales doivent être uniformes, en particulier la qualité du sol, d'où le choix d'un seul site pour l'échantillonnage de sol.

Pour cette étude, le sol utilisé est un sol natif sous « bozaka » pris près d'un site d'expérimentation du Laboratoire des RadioIsotopes (LRI) se trouvant à Lazaina (cf. Annexe 2). Seuls les dix premiers centimètres ont été prélevés à l'aide d'un « angady » dans un quadrat d'environ un mètre carré. Le sol a ensuite été homogénéisé dans une grande bassine, séché en serre puis tamisé à 2mm pour éliminer les cailloux ou grosses mottes.

Les sols tamisés ont d'abord été ramenés à une même condition : absence de nématodes. Le sol a été humidifié puis défauné à 120°C (autoclavage) pendant 10 minutes pour éliminer les nématodes natifs du sol. Après le passage à l'autoclave, le sol a été de nouveau tamisé pour uniformiser son état, puis réparti dans des pots en plastiques de 500ml.

2.1.3 Dispositif expérimental

Pour chacune des huit variétés de riz, nous avons mis une graine pré-germée par pot contenant 300g de sol (cf. Annexe 3). Les graines ont été stérilisées et pré-germées pour les rapporter aux mêmes conditions. Avec les graines, nous avons effectué d'autres apports selon 2 modalités : ajout de bactéries et de nématodes bactéricivores (10 individus par gramme de sol) ou traitement « B+N » ; et ajout uniquement de bactéries ou traitement « B ».

Pour minimiser les risques d'erreur, nous avons 4 répétitions pour chaque modalité. En tout, il a fallu 64 pots (8 variétés x 2 modalités x 4 répétitions) pour cette expérimentation. Des apports d'eau se font selon l'état des sols dans les pots. Une semaine après le semis, un re-semis a été fait pour quelques pots où les graines n'ont pas levées. Ces pots ont alors été arrêtés une semaine plus tard que les autres. Après 3 semaines d'expérience, la biomasse des plantes a été mesurée et la différence de croissance entre les traitements « sans nématode » et « avec nématode » a été calculée. Cette expérience permet de voir si le choix des variétés est une pratique qui peut influencer la BMS à court terme. La durée de cette expérience nous permet de voir la réponse précoce.



Cliché 1 : Dispositif expérimental de l'expérience 1

Source : Auteur, 2016

2.1.4 Variables mesurées

Pour évaluer les effets des variétés sur la BMS, nous avons mesuré la biomasse totale produite ainsi que la densité des nématodes dans le sol à la fin de l'expérimentation.

2.1.4.1 Mesure de biomasse

A la fin de l'expérience, après dépotage, les parties aériennes et racinaires sont séparées au niveau du collet, lavées à l'eau puis mises à l'étuve à 60°C pendant 48 heures. Après séchage, les biomasses de la plante ont été pesées à l'aide d'une balance de précision. La biomasse est exprimée en gramme (g).

2.1.4.2 Densité des nématodes

Les nématodes ont été extraits par élutriation à partir de 150 ± 20 g de sol frais. L'élutriation permet de séparer les nématodes des particules minérales et organiques, de masses volumiques supérieures aux nématodes. L'eau contenant des nématodes est filtré à travers trois tamis de maille de $50\mu\text{m}$, ce qui permet d'éliminer les particules fines ($<50\mu\text{m}$) sachant que les nématodes ont une longueur supérieure à $200\mu\text{m}$. Un piégeage actif par filtration de 48 heures a permis la collecte des individus vivants. En effet, les nématodes et les autres particules retenues sont placés sur un filtre en ouate (papier kleenex) contenu dans une petite assiette remplie d'eau. Les nématodes vivants traversent le filtre, se séparent des débris et sont retrouvés dans l'eau. Le comptage est ensuite effectué à la loupe binoculaire. Enfin, la densité de nématodes retrouvés par gramme de sol est calculée. Etant donné qu'aucune technique ne permettra d'extraire la totalité des nématodes contenus dans un échantillon de sol, une gamme d'étalonnage a été réalisée avec notre sol d'étude. Le sol a été défauné par autoclavage, puis réinoculé de nématodes dont la densité est connue. Pour cet étalonnage, un taux d'extraction de 84% a été obtenu, celui-ci est utilisé pour corriger les résultats d'extraction de nématodes.



Cliché 2 : Elutriation de sol et récupération des nématodes

Source : Auteur, 2016

2.1.5 Traitement des données

Les données brutes ont été enregistrées sous Microsoft Excel. Les valeurs des variables ont été exprimées en moyenne pour chaque traitement (absence ou présence de nématodes bactéricivores). Les moyennes des valeurs des variables ont été comparées entre elles à l'aide d'une analyse de variances (ANOVA) à un facteur. L'ANOVA est significative lorsque le niveau de probabilité (p) est inférieur au niveau de probabilité théorique au risque $\alpha = 5\%$. Si toutes les moyennes des variables ne sont pas égales ($p < 0,05$), l'ANOVA a été suivie par le test post ANOVA de Tukey HSD pour identifier les différents groupes de moyennes. Le test de Shapiro a ensuite été réalisé pour vérifier la normalité des résidus du modèle de l'ANOVA. Les tests statistiques ont été réalisés à partir du logiciel statistique R version 3.2.1 (2015).

2.2 Effets des pratiques culturelles sur la boucle microbienne du sol

2.2.1 Choix des parcelles

Le site d'étude se situe dans la région Itasy, zone d'étude du projet INDICE et des activités de l'ONG « Agrisud International ». Plus précisément, nous nous sommes intéressés à des parcelles se trouvant dans le Fokontany d'Imerimandroso, commune rurale Imerintsiatosika, district d'Arivomamo, au Nord-Ouest d'Antananarivo (cf. Annexe 2). La proximité de la zone d'étude par rapport au Laboratoire des RadioIsotopes d'Antananarivo est une condition importante car nous devons traiter les échantillons de sol assez tôt après l'échantillonnage afin de faire les analyses biologiques.

Dans cette étude, nous nous sommes focalisés sur les systèmes de riz pluvial : en association, en rotation ou en monoculture. L'objectif de la sélection des parcelles est d'obtenir des parcelles représentatives des pratiques culturelles existantes dans la zone d'étude, telle que la fertilisation chimique ou l'amendement organique (apport de fumier ou compost) ou la pratique du système de culture sur couverture végétale (SCV), au sein du système de culture étudié, le riz pluvial. L'approche choisie est celle de « la parcelle paysanne » qui consiste à échantillonner au sein de parcelles appartenant aux paysans puis de traiter les résultats. Cette approche, contrairement aux essais agronomiques classiques, permet d'être plus proche de la réalité du terrain, en lien avec nos objectifs de l'étude. L'inconvénient de cette approche est notre forte dépendance à la nature et aux caractéristiques des parcelles existantes. Une première visite sur le terrain a été faite à Imerintsiatosika au mois de février 2016 pour identifier les différentes pratiques culturelles des paysans à l'aide d'un technicien d'Agrisud et de deux maitre-exploitants. Les parcelles étudiées appartiennent à des paysans qui sont en étroite collaboration avec AgriSud International. Neuf parcelles ont été sélectionnées, correspondant au nombre maximal possible de parcelles à traiter au laboratoire (Tableau 1). Nous avons également échantillonné une parcelle de jachère et un bozaka comme référence.

Tableau 1 : Présentation des 9 parcelles étudiées

Parcelle	Couverture	Précédents
P1	Riz+ maïs + eucalyptus [compos t+ engrais vert]	Bozaka + eucalyptus
P2	Maïs + poids de terre [compost]	Riz pluvial [fumier]
P3	Jachère (eucalyptus)	Riz pluvial [fumier]
P4	Haricot vert [fumier, engrais chimique]	Riz pluvial [fumier]
P5	Riz en monoculture [fumier]	Bozaka
P6	Riz, bordure poids de terre [fumier]	Bozaka
P7	Riz, bordure maïs [fumier+cendres de paille de riz]	Bozaka
P8	Riz + stylosanthès (bordure téphrosia)	Stylosanthès (bordure téphrosia)
P9	Bozaka	Bozaka

En [...] : type de fertilisation utilisée pour la culture

Toutes les parcelles sont sur des sols ferrallitiques argileux ou argilo-limoneux (cf. Annexe 4).

Nous pouvons donc en déduire que les conditions stationnelles sont semblables entre les parcelles et seuls les effets des pratiques sont responsables des différences observées sur la boucle microbienne. Les détails des caractéristiques pédologiques des parcelles sont présentés en Annexe 5. Généralement, la densité apparente (DA) est plus élevée pour les parcelles en monoculture (parcelles 5,6 et 7) par rapport à celle des parcelles en rotation (parcelles 2,3 et 4). Elle est maximale sous une couverture de bozaka et moyenne dans les parcelles en association. Ensuite, la capacité de rétention en eau (CR) est élevée dans les parcelles en monoculture et faible dans les parcelles en rotation. Avec des pH acides (inférieurs à 5,5), les sols présentent des valeurs de CEC faibles (comprises entre 1,8 et 3,5 Cmol^+/kg de sol) et de faibles teneurs en phosphore assimilables (P_i) caractérisant les sols ferrallitiques. Généralement, nos parcelles sont caractérisées par des rapports C/N faibles (entre 7,5 et 9) mais des rapports C/P élevés, ceci indique une matière organique faiblement décomposée. Les teneurs en P_i et phosphore microbien (P_{mic}) varient en fonction des parcelles. De même pour le nombre initial de nématodes qui varie beaucoup. Il est important de noter qu'il s'agit des nématodes natifs du sol (toutes espèces confondues).

2.2.2 Echantillonnage de sol

Pour la seconde expérimentation, il est très important que la qualité du sol résultant des pratiques ne soit pas perturbée lors de l'échantillonnage et du traitement du sol. En effet, plusieurs études sur la BMS ont été menées avec des sols remaniés : les conditions expérimentales des expériences déjà faits présentent des dispositifs hautement artificiels (utilisation de boîte de pétri). Ces études ne permettent pas de prendre en compte l'état de l'environnement du terrain, et donc l'effet potentiel des pratiques sur la qualité du sol.

L'objectif de l'étude étant d'évaluer l'effet des pratiques culturales sur la boucle microbienne sur sol non perturbé, nous devons travailler sur du sol non remanié (pas de tamisage ni de mélange) afin de conserver, autant que possible, la structure du sol au champ.

Des carottes de sol ont été prélevées à l'aide de cylindre en PVC pour prendre le sol en place (4,5cm de diamètre et 12cm de hauteur), 10 carottes ont été prélevées par parcelle. Les carottes de sol ont été maintenues dans les cylindres en PVC et ont été doucement transportées au laboratoire. Un échantillon composite de 5 prélèvements à la bêche, a également été collecté par parcelle afin d'obtenir un échantillon moyen pour les analyses physico-chimiques et biologiques.



Cliché 3: Echantillonnage de carottes de sol

Source : Auteur, 2016

2.2.3 Matériels biologiques

2.2.3.1 Variété de riz

La variété de riz pluvial utilisée est la variété Fotsiambo ou B22. Il s'agit de la variété la plus cultivée par les agriculteurs au sein de notre zone d'étude. Les caractéristiques de cette variété sont présentés en annexe (cf. Annexe 6)

2.2.3.2 Nématode bactériovore

Le nématode bactériovore utilisé est le genre *Cephalobidae*, le même que pour la première expérimentation. Le protocole suivi pour l'obtention de nématode est identique à celui décrit dans la section 2.1.1.2.

2.2.4 Dispositif expérimental

L'expérimentation est conduite dans des conditions les plus proches possibles de la réalité sur le terrain, c'est-à-dire directement avec les carottes de sol en place au sein des cylindres en PVC. Une fois les carottes arrivées au laboratoire, nous avons effectué deux séries (2x2 heures) de fumigation au chloroforme afin d'éliminer les nématodes natifs. Le traitement au chloroforme permet de tuer les nématodes sans perturber excessivement le sol. Néanmoins, la fumigation a un effet négatif sur la communauté microbienne (les bactéries et les champignons natifs du sol).



Cliché 4: Fumigation des carottes de sol

Source : Auteur, 2016

Pour chaque parcelle, nous avons alors réalisé une suspension bactérienne issue des sols natifs (100g de sol + 400ml d'eau distillée), puis filtré à 1,2 μm pour tuer les nématodes et autres microorganismes. Nous avons inoculé cette suspension de bactéries et de champignons dans les carottes de chaque parcelle. Après 7 jours de mise à l'équilibre à l'obscurité et à température ambiante, les carottes ont été divisées en deux lots. Un lot de carottes de sol (5 carottes par parcelle) a été inoculé en nématodes bactériovores (traitement « B+N ») et l'autre lot a servi de contrôle (traitement contrôle noté « B »).

Pour le traitement « B+N », nous avons apporté 10 nématodes par gramme de sol. Le dénombrement des nématodes a été fait sous loupe binoculaire. Nous avons utilisé le même jus d'élevage (filtré ou non selon le cas) pour uniformiser le substrat apporté dans les carottes (la composition du jus d'élevage pourrait avoir des effets sur le sol). Le même jour d'inoculation des nématodes, deux graines de riz (variété B22) ont été semées dans chaque carotte. Les graines ont été placées directement dans les carottes à la surface. Enfin, les carottes ont été placées sous serre pour une durée de 6 semaines.

2.2.5 Variables mesurées

2.2.5.1 Mesures avant l'expérimentation

Des mesures de paramètres pédologiques ont été réalisées sur les échantillons de sol des 9 parcelles lors de l'échantillonnage des carottes de sol (voir section 2.2.1.). Ces mesures ont été réalisées sur des échantillons de sol composite. En outre, les variables agronomiques ont été établies à partir de

codes (cf. Annexe 7). Ces données sont ensuite utilisées comme variables explicatives dans la prédiction des effets des nématodes bactériovores pour la seconde expérience.

➤ **pH (eau et KCl)**

Le pH a été mesuré sur des suspensions de sols dans une solution, avec une proportion en poids égal à 1/2,5. Ainsi, 5 g de sol a été agité dans 12,5 ml d'eau distillée. La mesure a été effectuée à l'aide d'une électrode de verre combinée après 30 minutes d'agitation. Une seconde mesure est réalisée après addition de KCl M (0,93g de KCl sel/12,5ml) pour mesurer l'acidité totale des sols.

➤ **Teneurs en C total**

La méthode de Walkley-Black a été employée pour mesurer la teneur en carbone organique du sol. C'est une méthode chimique qui consiste à oxyder, à chaud, la matière organique du sol tamisé et préparé à 0,2 mm, avec du dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) en excès, en solution sulfurique. Le surplus de dichromate de potassium, inversement proportionnel à la quantité de matières organiques oxydées, est ensuite déterminé par titrage avec une solution de sulfate ferrosoammoniacale. Le carbone total s'exprime en $g.Kg^{-1}$ de sol sec.

➤ **N total et P total**

La détermination du N total du sol consiste à minéraliser les différentes formes d'azote par l'acide sulfurique concentré, réduire sous forme nitrite et doser par colorimétrie automatique le NH_4^+ (Méthode de Kjeldahl). Pour mesurer le P total, l'attaque se fait par l'acide perchlorique concentré à chaud d'un échantillon de sol broyé à 0,2mm (Jackson, 1958). La teneur en N total et celle en P total sont exprimées en %.

2.2.5.2 Mesures à la fin de l'expérimentation

La BMS est seulement un concept théorique qui décrit un phénomène se produisant dans le sol. Pour évaluer les effets des pratiques (i.e. qualité des sols des parcelles) sur la BMS, la croissance et la nutrition de la plante ont été étudiées. En d'autres termes, nous avons mesuré la production de biomasse ainsi que la teneur en azote dans la plante. Ensuite, nous avons aussi compté la densité finale de nématodes trouvés dans les carottes avec traitement « B+N ».

➤ **Mesure de la biomasse**

Comme pour la première expérimentation, nous avons mesuré la biomasse finale produite au niveau des différentes carottes de sol (10 carottes x 9 parcelles). Les biomasses aérienne et racinaire ont été récupérées, lavées puis séparées au niveau du collet. Après séchage à 60°C à l'étuve, les biomasses ont été pesées à l'aide de la balance de précision.

➤ **Mesure de la teneur en en azote dans la plante**

Après avoir été séchées puis pesées, les plantes ont été conditionnées dans des sachets plastiques pour les analyses d'azote total et de phosphore total. Les échantillons ont ensuite été broyés finement à l'aide de billes en céramique et d'un broyeur mécanique. La concentration en azote a été mesurée à l'aide d'un analyseur élémentaire CHNS/O Flash 2000. Les analyses ont été externalisées à Eco&Sols Montpellier où l'analyseur est disponible. Seule la concentration en azote dans la plante a déjà été mesurée. La détermination de la concentration en phosphore total est encore en cours.

➤ **Densité de nématodes**

La méthode utilisée pour déterminer le nombre final de nématodes bactériovores est la même que celle utilisée pour la première expérimentation (décrite dans la section 2.1.4.2).

2.2.6 Traitement de données

Comme pour la première expérimentation, des analyses de variances des moyennes (ANOVA) ont été faits pour chaque traitement. En outre, pour vérifier l'existence d'un effet significatif des pratiques agricoles, une ANOVA à 2 facteurs a également été réalisée ayant comme facteurs : le traitement (inoculation de bactéries seules et inoculation de bactéries et nématodes bactériovores) et la pratique culturale (association, rotation, monoculture, bozaka).

Pour mesurer la taille de l'effet des nématodes (TE) sur la production de biomasses, nous avons utilisé la formule suivante (Sackett et al., 2010) :

$$TE = \text{Ln} (B+N/B)$$

où B+N est la moyenne de la biomasse produite en présence de nématodes et B la moyenne de celle produite en absence de nématodes. Pour déterminer si les effets sont significatifs ou non, nous avons fait le test de Student. En d'autres termes, le test de Student nous a permis de voir si les moyennes des effets sont significativement différentes de 0. La même méthode a été utilisée pour évaluer les effets des nématodes bactériovores sur la concentration en azote total dans la plante. Les tests statistiques (test de Student et ANOVA) ont été tous réalisés à partir des logiciels statistiques R version 3.2.1 (2015).

Pour évaluer l'importance des différentes variables agronomiques et pédologiques dans la prédiction de l'effet des nématodes bactériovores sur la croissance du riz, la méthode de régression PLS-R (Partial Least Squares regression) a été utilisée. Ce test de régression a été réalisé à l'aide du logiciel statistique Tanagra 1.4.5 (Rakotomalala, 2005). La régression PLS est une méthode itérative développée par Herman Wold dans les années 1960 et permet la construction de modèles prédictifs quand les variables sont nombreuses et fortement corrélées entre elles.

Cette méthode a été utilisée parce que le nombre de variables (15) dépasse celui des observations (9 pratiques) (Binard, 2012). La sélection de nombre de facteur à considérer a été

faite automatiquement par la commande PLS-Selection (Rakotomalala, 2005). Pour pouvoir traiter les paramètres agronomiques (association, précédent cultural ou type de fertilisation) qui sont des données qualitatives avec les données pédologiques qui sont numériques, nous avons procédé à une transformation de variables (cf. Annexe 7). La qualité du modèle a été évaluée à l'aide de la proportion de la variance des variables dépendantes (Q^2) qui peuvent être prédites par le modèle. Au seuil de 5%, le test est dit significatif quand la valeur de Q^2 excède la valeur critique de 0,0975 (Tenenhaus, 1998).

2.3 Limites de la méthodologie

Pour la première expérimentation, les conditions d'expérimentation ne sont pas optimales pour aller au-delà de 3 semaines. En effet, nous avons dû arrêter l'expérimentation après 3 semaines d'incubation en raison de problèmes pour quelques répétitions (problèmes de plantes cassées dues probablement au manque de nutriments dans le sol).

Pour la deuxième expérimentation, nous avons été limités par le volume des carottes de sol. Si nous avons pris un volume plus grand, le temps nécessaire pour la fumigation serait plus long. Pourtant, la fumigation doit être faite juste après l'échantillonnage de sol. De plus, la capacité du dessiccateur pour la fumigation étant de 10 carottes par série, le nombre de parcelles a été limité. Ensuite, le volume de sol dans les carottes n'a pas permis une croissance des plantes au-delà de 6 semaines.

Enfin, nous n'avons pas pu faire des répétitions sur les analyses de certains paramètres pédologiques en raison de certaines limites du côté logistique et d'un manque d'échantillons de sol. Pour s'assurer de la représentativité des résultats pour la régression PLS, nous n'avons considérées comme variables explicatives que les mesures de paramètres pédologiques où il y a eu des répétitions d'analyses (pour la représentativité des données).

RESULTATS

3 RESULTATS

3.1 Effet des variétés de riz pluvial sur la boucle microbienne

3.1.1 Production de biomasse sèches en fonction des traitements et des variétés de riz

La figure 1 présente les moyennes des biomasses produites (aériennes et racinaires) en fonction des traitements et des variétés de riz pluvial utilisées.

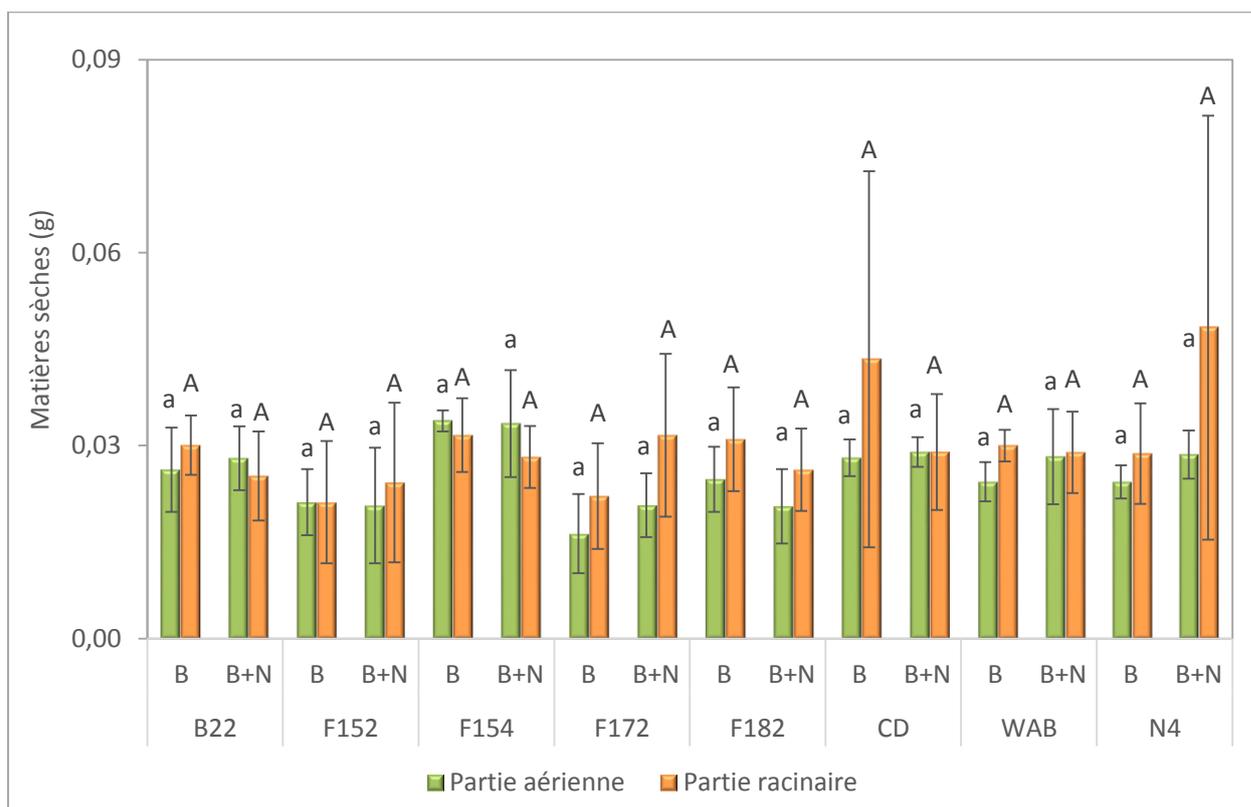


Figure 1: Quantité de biomasses sèches de la partie aérienne et racinaire des variétés de riz pluvial après 3 semaines de croissance.

Les barres verticales correspondent à l'écart-type. Les mêmes lettres indiquent l'absence de différence significative au seuil de 5%.

Pour les 8 variétés de riz pluvial utilisées, les moyennes des biomasses aériennes en fonction des traitements biologiques (inoculation de bactéries seules ou B et co-inoculation de bactéries et nématodes bactéricivores ou B+N) ne sont pas différentes significativement entre elles (p value > 0,05 ; figure 1). La présence de nématodes bactéricivores dans les pots inoculés en bactéries et nématodes bactéricivores n'a donc pas eu d'effet significatif sur la production de biomasse aérienne. Il en est de même pour les biomasses racinaires (absence d'effet significatif de l'inoculation de nématodes bactéricivores) comme le montre la figure 1.

3.1.2 Allocation de biomasse des variétés utilisées en fonction de la présence de nématodes bactériovores

La figure 2 présente le rapport entre la biomasse aérienne sur la biomasse racinaire ou rapport « shoot/root ». Il s'agit d'un paramètre d'allocation de la biomasse permettant de mesurer la capacité d'une plante à favoriser la production de feuille par rapport à celle de racine.

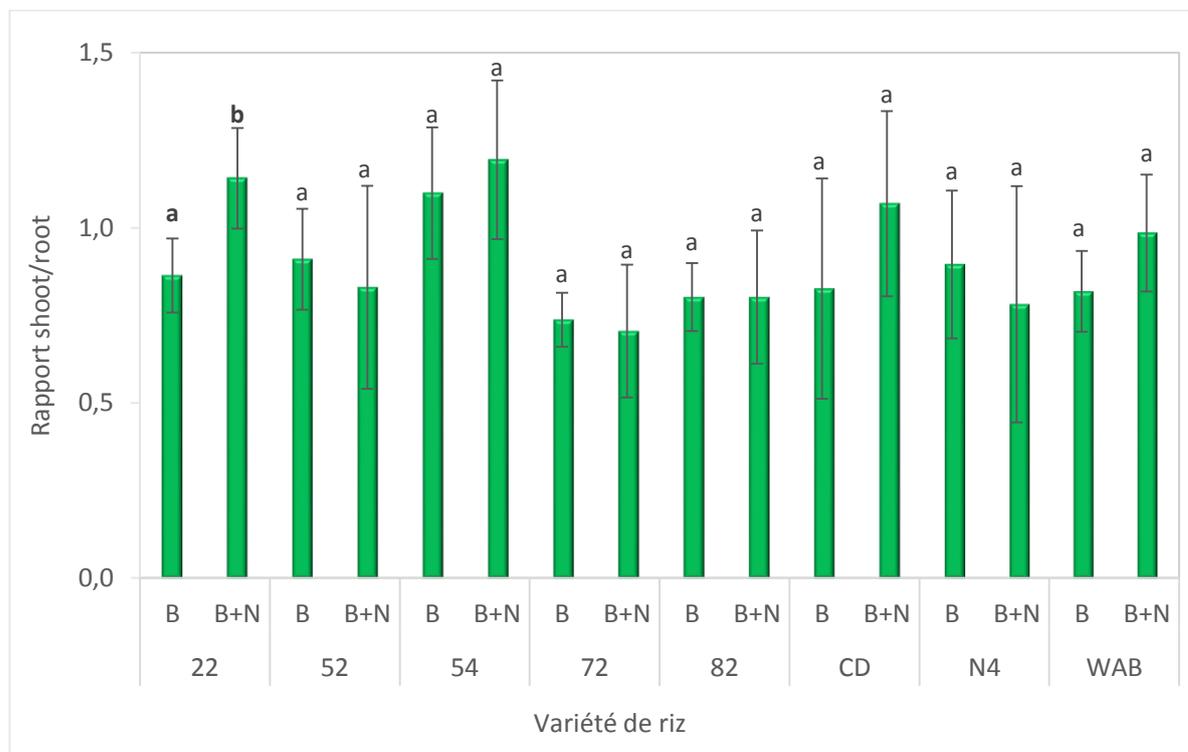


Figure 2 : Rapport shoot/root en fonction des traitements biologiques (B et B+N) et des variétés de riz pluvial.

Les lettres (a et b) correspondent aux différences significatives d'après le test d'ANOVA à un facteur (traitement : B et B+N) pour chaque variété au seuil de 5%.

D'après nos résultats, il n'y a pas de différence significative entre les rapports shoot/root des variétés de riz pluvial utilisées, à l'exception de la variété B22 (p value = 0,036). Cette variété est donc la seule qui répond à la présence des nématodes bactériovores après 3 semaines de croissance.

3.1.3 Nombre final de nématodes

Le nombre final de nématodes ainsi que les erreurs standards en fonction des variétés de riz pluvial sont présentés dans la figure 3. Les résultats du test d'ANOVA indiquent l'absence de différence significative entre les moyennes de nombre final de nématodes bactériovores retrouvés dans les pots inoculés en nématodes (figure 3) pour chaque variété. Les variétés de riz pluvial n'ont donc pas d'influence significative sur le nombre de nématodes bactériovores ($p = 0,54$; cf. Annexe 8.1).

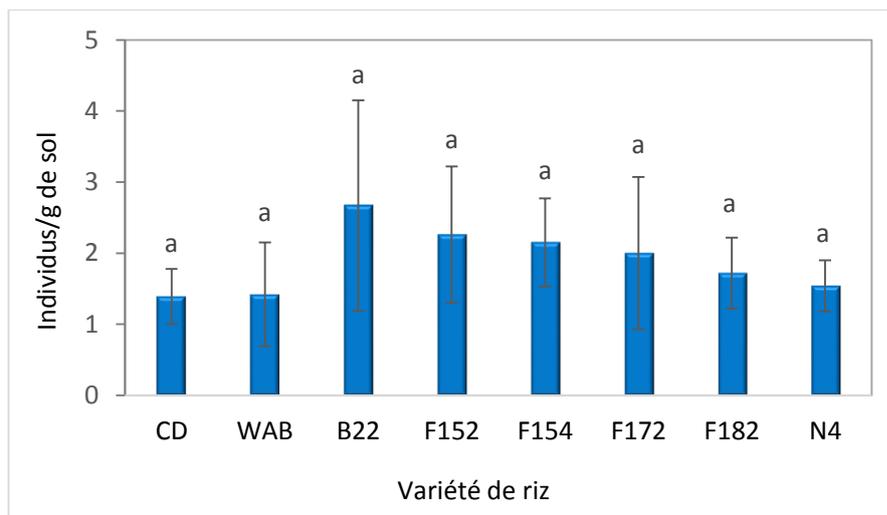


Figure 3: Nombre final de nématodes en fonction des variétés de riz pluvial utilisées

Les barres verticales correspondent à l'écart-type. Les mêmes lettres indiquent l'absence de différence significative au seuil de 5%.

Toutefois, nous avons trouvés plus de nématodes dans les pots contenant la variété B22 par rapport aux autres. Le nombre de nématode trouvé avec la variété B22 est 1,7 fois plus élevé que celui trouvé avec N4.

3.2 Effet des pratiques agricoles sur la boucle microbienne

3.2.1 Biomasse et nutrition à la fin de l'expérimentation

3.2.1.1 Production de biomasses sèches

➤ Biomasses produites en fonction des traitements biologiques

Les biomasses moyennes sèches pour toutes les parcelles confondues en fonction de la présence ou non de nématodes sont présentées dans la figure 4 suivante :

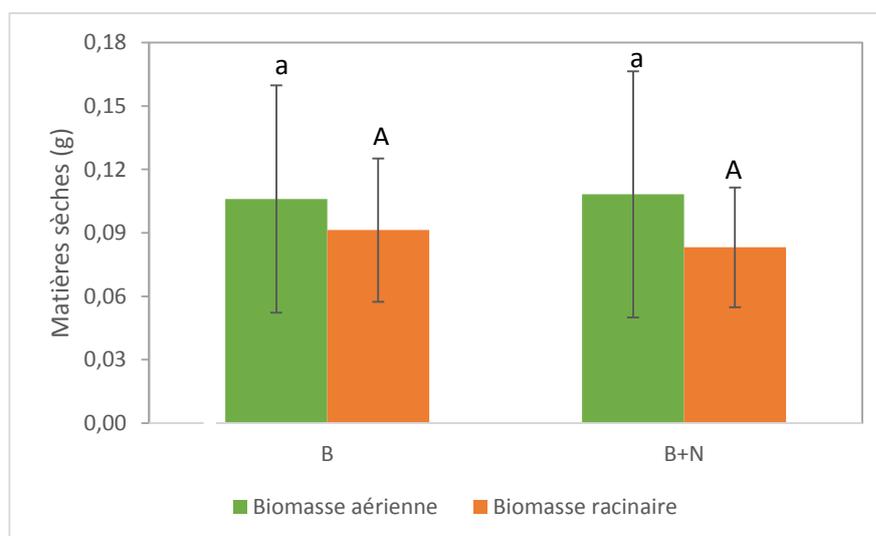


Figure 4: Quantité de biomasses sèches de la partie aérienne et racinaire du riz pluvial après 6 semaines de croissance en fonction des traitements biologiques pour toutes parcelles confondues

Les barres verticales correspondent à l'écart-type. Les mêmes lettres indiquent l'absence de différence significative au seuil de 5%.

Les moyennes des biomasses aériennes ne sont pas significativement différentes entre les deux traitements (p value = 0,853). La présence de nématodes n'a donc pas eu d'effet significatif sur la production de biomasses aériennes toutes pratiques confondues. Nous observons aussi le même cas pour la partie racinaire (p value = 0,216, cf. Annexe 8.2). De façon générale, nous n'avons pas de différence significative entre les traitements « B » (inoculation en bactéries seules) et « B+N » (inoculation en bactéries et nématodes bactéricivores). Malgré l'absence de différence significative, la plante a produit plus de biomasse aérienne et moins de biomasse racinaire dans les microcosmes inoculés en bactéries et nématodes que dans les microcosmes inoculés en bactéries seules.

➤ Biomasse produite en fonction des parcelles d'étude

La figure 5 présente la quantité de biomasse produite en fonction des parcelles d'étude. Les résultats montrent que les moyennes des biomasses produites varient significativement en fonction des parcelles (cas des parcelles 8 et 1, figure 5). En tenant compte de la quantité de biomasses produites, le riz a poussé le mieux dans les microcosmes de la parcelle 8 (association riz+stylosanthes+tephrosia), comparativement à la parcelle 3 (jachère).

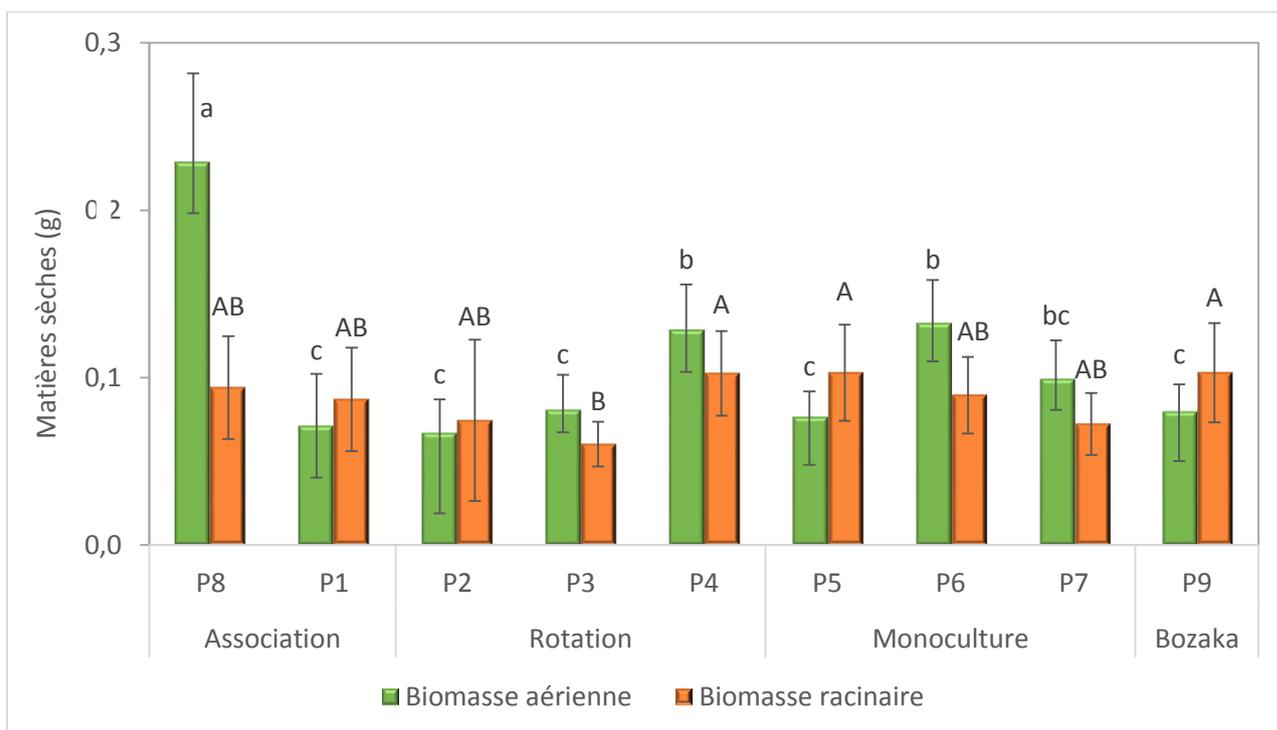


Figure 5: Quantité de biomasses sèches en fonction des parcelles regroupées selon les pratiques de culture.

Les lettres minuscules entre parenthèses indiquent le groupement des moyennes des parcelles. Les mêmes lettres indiquent l'absence de la différence significative au seuil de 5%.

Pour la partie aérienne, nous avons 3 groupes distincts de moyennes (a, b et c). Les parcelles 2 et 3 appartiennent au même groupe (a), il n’y a donc pas de différence significative entre les biomasses aériennes produites dans ces deux parcelles. Tandis que les biomasses aériennes des parcelles 3 (jachère) et 4 (rotation riz/haricot/patate douce) ne sont pas différents significativement. De même pour les parties racinaires, nous observons une différence significative entre la production de biomasse dans les microcosmes des parcelles 3 (jachère) et 9 (bozaka) mais pas de différence entre les microcosmes des parcelles 3 et 4 ni entre la parcelle 3 et la parcelle 2 (rotation riz/maïs+pois de terre). Ensuite, nous observons des différences significatives de la biomasse finale du riz entre les microcosmes des parcelles en association (entre P1 et P8) et des parcelles en monoculture de riz (P5, P6 et P7).

3.2.1.2 Effet des nématodes sur la production de biomasse

L’effet des nématodes bactériovores sur la production de biomasse du riz, mesuré à travers l’indice de la taille de l’effet (TE), varie en fonction des parcelles (figure 6).

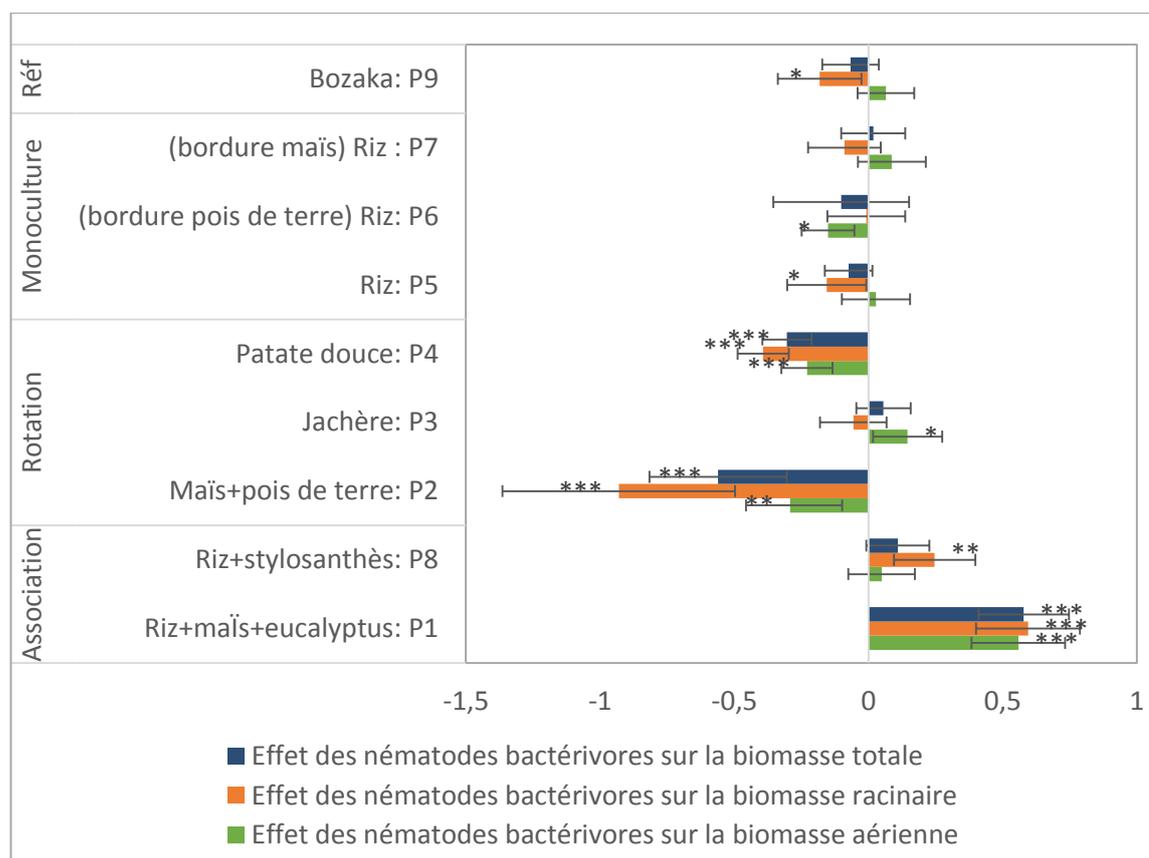


Figure 6: Effet des nématodes sur la production de biomasses.

“*” signifie que la moyenne est significativement différente de 0 au seuil de 5% (test de Student). * : p value < 0,05 ; ** : p value < 0,01 ; *** : p value < 0,001. Les barres verticales correspondent à l’intervalle de confiance à 95%.

Parmi les parcelles en association, la parcelle 1 répond significativement à l’effet des nématodes bactériovores sur la biomasse totale (TE = 0,5, p value = 2,47.10⁻⁷). L’ajout de nématodes

bactérovores dans les sols défaunés issus de la parcelle 1 a donc contribué à la production de biomasse à la fois aérienne et racinaire. De même, la plante répond positivement à la présence des nématodes bactérovores dans les microcosmes issus de la parcelle 8 mais l'effet observé est significatif seulement pour la partie racinaire (TE = 0,25 ;p-value = 2,58.10⁻³).

Ensuite, au niveau des parcelles en rotation, les parcelles 2 et 4 présentent des effets négatifs significatifs sur les biomasses totales (TE = -0,56 p-value = 1,43.10⁻³ et TE = -0,30 p-value = 5,04.10⁻⁷ respectivement). En d'autres termes, les quantités de biomasse obtenues avec le traitement « B » y sont plus importantes par rapport à celles obtenues avec le traitement « B+N ». En revanche, la parcelle 3 (jachère) a induit un effet positif significatif des nématodes bactérovores sur la production de biomasse aérienne (p value = 0,0276).

L'effet des nématodes sur la biomasse racinaire et totale au niveau des microcosmes issus de la parcelle de référence (bozaka) est négatif mais l'effet sur la biomasse aérienne est positif. Cependant, cet effet positif n'est pas significatif (p value = 0,2114). La parcelle 5 (monoculture) engendre un effet positif des nématodes bactérovores sur la production de biomasse aérienne (TE = 0,03) mais un effet négatif sur la biomasse racinaire (TE = -0,16). Nous observons le même cas pour la parcelle 7. Toutefois, ces effets ne sont pas significatifs.

3.2.1.3 Azote totale dans la plante

➤ Azote total en fonction des traitements étudiés

Le tableau 2 présente les teneurs moyennes en azote total (N total) ainsi que les quantités moyennes de N total dans la plante à la fin de l'expérimentation.

Tableau 2: Azote total dans la plante.

Traitement	Teneur en N total (µg N/mg MS)	Quantité de N total (mg N)
B	20,16 ± 3,54 (a)	3,97 ± 1,49 (A)
B+N	20,90 ± 2,69 (a)	4,08 ± 1,93 (A)

Les mêmes lettres indiquent l'absence de différence significative au seuil de 5%. (Moyenne ± écartype)

La teneur en N total dans les plantes qui ont poussées dans les microcosmes inoculés en bactérie et nématode bactérovore (B+N) est plus élevée que celle des plantes qui ont poussées dans les microcosmes inoculés en bactéries seules (Tableau 2). Cependant, cette différence n'est pas significative. De même, il n'y a pas de différence significative entre les quantités moyennes de N total des deux traitements étudiés (p-value = 0,775, cf. Annexe 8.4). Toutefois, la quantité moyenne de N total dans la plante du traitement B+N (3,97 mg N) est légèrement plus élevée que celle du traitement B (4,08 mg N).

➤ Azote total en fonction des parcelles

La teneur en N total dans la biomasse totale des plantes varie faiblement en fonction des parcelles étudiées, à l'exception des parcelles 6 et 9 (Tableau 3). En effet, il y a une différence significative entre les teneurs moyennes en N total des plantes issues des microcosmes de ces deux parcelles, i.e. la parcelle 6 présente une valeur moyenne 1,4 fois plus élevée (25 mg N/mg de matières sèches) que celle de la parcelle 9 qui est notre parcelle de référence (bozaka).

Tableau 3: Teneur moyenne en azote total et quantité moyenne d'azote total dans la biomasse totale de la plante.

	Parcelles	Teneur en N total ($\mu\text{g N/mg MS}$)	Quantité de N total (mg N)
Association	P8	20,61 \pm 4,57 bc	6,68 \pm 2,19 A
	P1	20,66 \pm 2,44 bc	3,27 \pm 1,24 CD
Rotation	P2	20,64 \pm 1,95 bc	2,82 \pm 1,04 D
	P3	19,51 \pm 2,47 bc	2,78 \pm 0,76 D
	P4	21,22 \pm 2,11 ab	4,86 \pm 0,93 BC
Monoculture	P5	19,45 \pm 2,18 bc	3,49 \pm 0,68 CD
	P6	25,00 \pm 1,94 a	5,60 \pm 0,89 AB
	P7	20,35 \pm 2,51 bc	3,53 \pm 1,04 CD
Bozaka	P9	17,36 \pm 1,14 c	3,17 \pm 0,65 CD

Les mêmes lettres indiquent l'absence de différence significative entre les moyennes au seuil de 5%. (Moyenne \pm écartype)

Pour les parcelles en association, il y a une différence significative de la quantité moyenne de N total dans la plante produite entre les parcelles 1 et 8 (Tableau 3). La quantité moyenne de N total des plantes issues des microcosmes de la parcelle 8 est deux fois plus élevée (6,68 mg N) que celle de la parcelle 1.

Au niveau des parcelles en rotation, nous n'observons pas de différence significative entre la parcelle 2 et la parcelle 3 (même groupe D). Toutefois, les quantités moyennes en N total des plantes issues des microcosmes de ces deux parcelles sont significativement différentes de celle des plantes issues des microcosmes de la parcelle 4. Celle-ci est environ 1,7 fois plus élevée que la teneur moyenne en N total issue des parcelles 2 et 3.

Parmi les parcelles en monoculture, la parcelle 6 (groupe AB) engendre une quantité de N total différente de manière significative de celle des parcelles 5 et 7 (groupe CD). Enfin, la parcelle 9 (bozaka) appartient au même groupe de moyenne (D) que les parcelles 1, 2, 3, 5 et 7 : il n'y a pas de différence significative entre les quantités de N total des plantes obtenues dans les microcosmes issues de ces parcelles.

3.2.1.4 Effets des nématodes sur l'azote total dans la plante

La figure 7 présente les effets des nématodes bactériovores sur la quantité d'azote total (N total) dans la plante en fonction des parcelles. La présence de nématodes dans les microscomes issus de la parcelle 9 (bozaka) a eu un effet positif sur la quantité d'N total dans la plante (TE = 0,04). Cependant, cet effet n'est pas significatif (p-value = 0,5104).

Pour les parcelles en monoculture, nous observons des effets négatifs des nématodes bactériovores sur la quantité d'N total dans la plante mais ces effets sont significatifs uniquement pour les parcelles 5 et 6 (p-value = $3,64 \cdot 10^{-3}$ et $4,31 \cdot 10^{-5}$ respectivement).

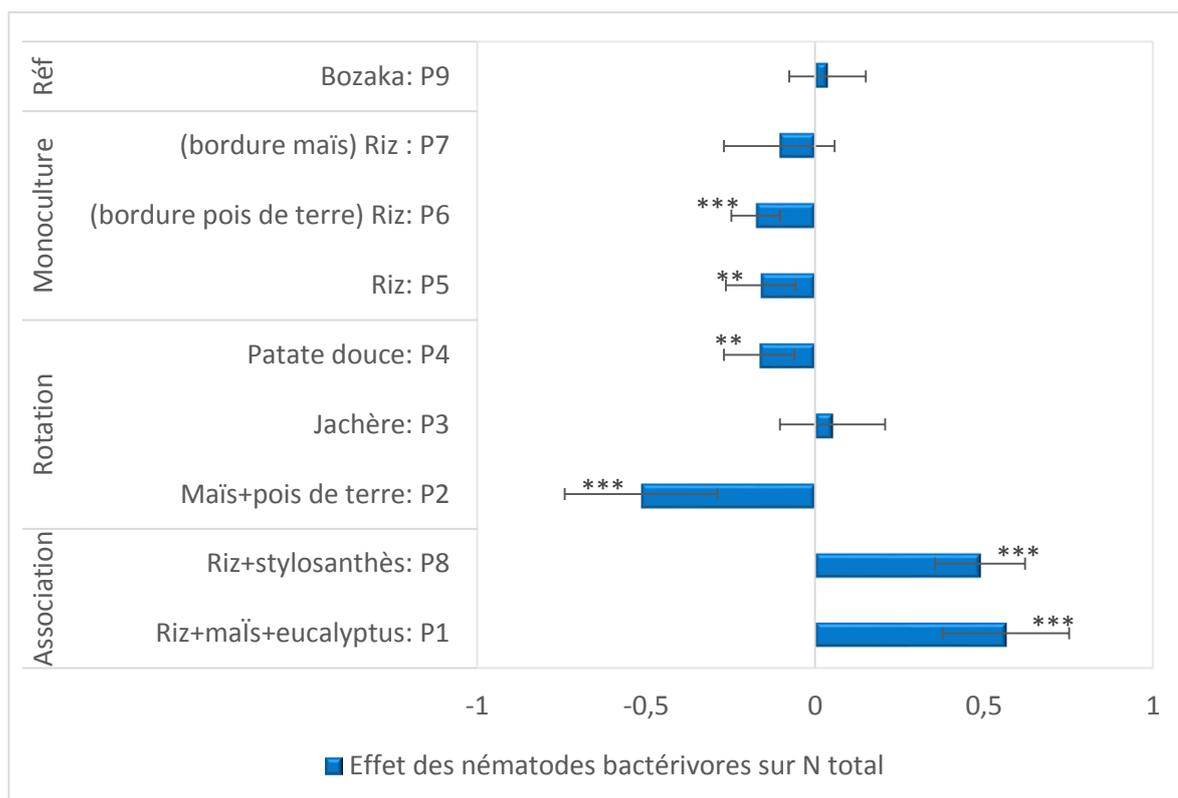


Figure 7: Effet des nématodes sur la quantité d'azote total (mg N) de la plante.

La présence de “*” signifie que la moyenne est significativement différente de 0 au seuil de 5% (test de Student). * : p value < 0,05 ; ** : p value < 0,01 ; *** : p value < 0,001

Pour les parcelles en rotation, les effets des nématodes bactériovores sur l'accumulation en N total sont significativement négatifs au niveau des parcelles 2 (maïs + pois de terre) et 4 (haricot). Au contraire, la parcelle 3 a engendré un effet positif mais non significatif de la présence des nématodes bactériovores. Enfin, les parcelles 1 et 8 (en association) ont induit des effets positifs très significatifs (p-value = $1,884 \cdot 10^{-06}$ et $8,37 \cdot 10^{-08}$ respectivement).

➤ Intéraction entre la pratique culturale et la présence de nématode bactérivore

Le tableau 4 nous montre que l'interaction entre la pratique culturale et la présence de nématodes bactérivores a un effet significatif tant sur la biomasse aérienne que sur la biomasse racinaire, ainsi que sur la quantité de N total dans la plante (cf. Annexe 8.3).

Tableau 4 : F-value de l'analyse de variances à 2 facteurs (Traitement et pratiques) de la biomasse de la plante et de la quantité de N total dans la plante

Facteurs	Biomasse aérienne	Biomasse racinaire	Quantité de N total
Nématode (N)	0,041	1,830	0,104
Pratique agricole (P)	6,449 ***	1,892	4,891 **
P*N	0,669	5,337 **	5,072 **

* : p value < 0,05 ; ** : p value < 0,01 ; *** : p value < 0,001.

3.2.2 Densité finale de nématodes

D'après les résultats du test ANOVA, il n'y a pas de différence significative entre les densités finales de nématodes échantillonnés dans chaque microcosme en fonction des parcelles à la fin de l'expérience (figure 8).

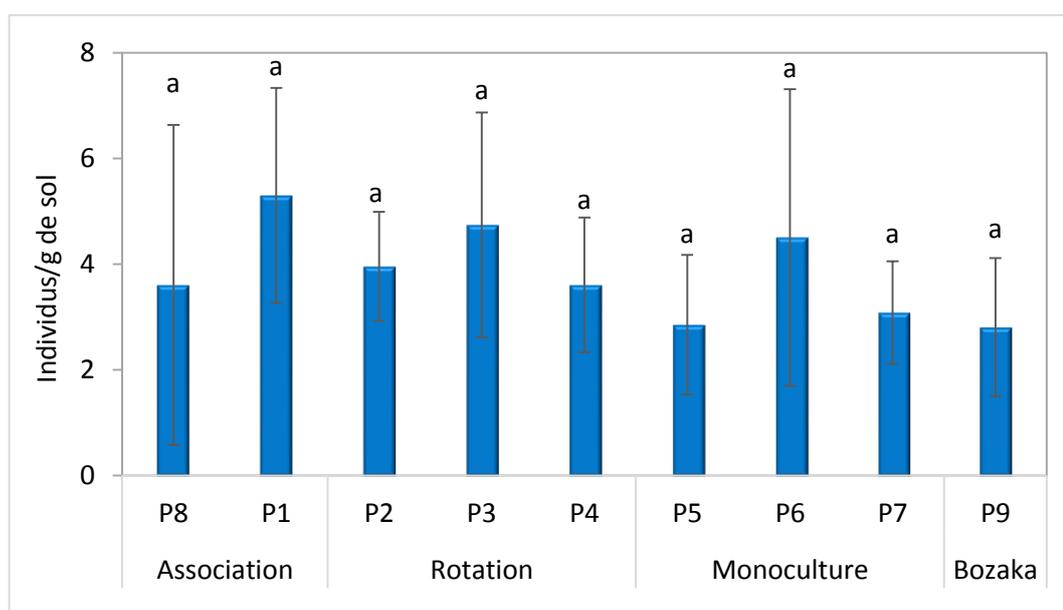


Figure 8: Nombre final de nématode en fonction des parcelles

Les mêmes lettres (a) indiquent l'absence de différence significative entre les moyennes de nombre final de nématode au seuil de 5%. (p value = 0.687).

Les pratiques agricoles n'ont donc pas d'influence sur la capacité des sols à accueillir les nématodes (p value = 0,687, cf. Annexe 8.5). Néanmoins, les microcosmes de certaines parcelles présentent des valeurs plus élevées. Par exemple, les microcosmes des parcelles 1 (association riz + maïs + eucalyptus) et 3 (jachère) présentent une densité finale plus élevée que les autres parcelles : 5,3 et 4,7 individus par gramme de sol, respectivement. Les microcosmes des parcelles 5

(monoculture) et 9 (bozaka) présentent les valeurs les plus faibles : environ 2,8 individus par gramme de sol (figure 8).

3.3 Indicateurs agronomiques et pédologiques de prédiction des effets des nématodes

La figure 9 présente les résultats des régressions PLS pour la construction d'un modèle de prédiction des effets des nématodes bactériovores sur la production de biomasse totale du riz pluvial après les 6 semaines de croissance. Nous avons considéré toutes les différentes variables agronomiques et pédologiques que nous avons mesurées comme variables descriptives (ou explicatives) pour établir une relation linéaire entre celles-ci et les effets des nématodes sur la production de biomasses totales (TE). Le modèle PLS explique environ 81,5% de la variabilité de la variable réponse, i.e. l'effet des nématodes sur la biomasse totale (figure 9). Le modèle de prédiction est significatif avec une qualité de prédiction de $Q^2 = 0,32$ ($Q^2 > 0,0975$). La régression est très significative (p -value $< 0,001$).

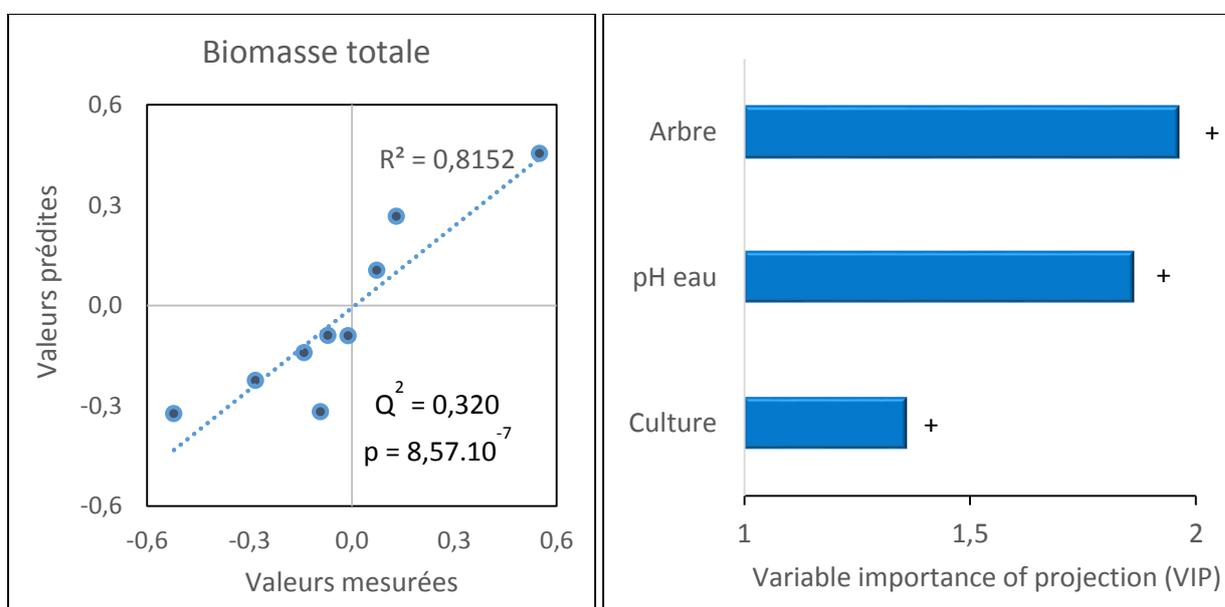


Figure 9: Prédiction des effets des nématodes bactériovores sur la croissance du riz à l'aide des variables agronomiques et pédologiques

Les signes « + » indiquent l'existence d'une influence positive des variables explicatives sur la variables cible (production de biomasse totale).

Les « Variable Importance of Projection » ou VIP reflètent l'importance des variables explicatives dans la construction du modèle et dans la capacité de celui-ci à prédire la variable cible. Par convention, les variables qui ont des $VIP > 1$ sont les plus pertinentes. Les variables agronomiques qui contribuent le plus à la construction du modèle sont : la présence d'arbre dans la parcelle (Arb) et la nature de la culture en place (Culture). Parmi celles-ci, c'est la variable « Arb » qui présente la valeur de VIP la plus élevée (1,96). Elle a une influence positive sur l'effet des nématodes, donc la présence d'arbre est un levier agronomique qui peut influencer positivement la fonction de

boucle microbienne. Ensuite, l'effet des nématodes sur la croissance du riz dépend en grande partie de la culture en place (Culture).

Ensuite, selon ces résultats, nous pouvons dire que si la culture en place est du riz, l'effet des nématodes sera positif. Au contraire, si la culture n'est pas du riz, l'effet risque d'être neutre ou négatif.

Parmi les variables pédologiques, le rapport pH_{eau} constitue le meilleur prédicteur ($VIP=1,86$). Il agit positivement sur l'effet bénéfique des nématodes sur la croissance du riz. Plus le pH_{eau} diminue, plus l'effet des nématodes sur la biomasse totale produite est négatif.

Il est important de noter que les variables qui sont présentées ci-dessus sont seulement celles qui ont une valeur de $VIP > 1$. Les influences des autres variables utilisées dans la prédiction sont présentées en annexe (Annexe 9).

DISCUSSIONS

4 DISCUSSIONS ET RECOMMANDATIONS

4.1 Effet des variétés de riz pluvial sur la boucle microbienne du sol.

Les variétés de riz pluvial ont-elles un effet significativement différent sur la boucle microbienne ?

L'objectif de cette étude est de tester l'hypothèse selon laquelle la boucle microbienne du sol peut être plus ou moins prononcée en fonction de la variété utilisée par l'agriculteur. Cette hypothèse repose sur le constat établi par Somasundaram et ses collaborateurs (2008) qui ont observé des effets différents du protiste *Acanthamibeae* sur 16 variétés de riz. Les auteurs expliquent cette différence de réponse dans la capacité des variétés à exsuder le carbone organique, qui correspond à l'énergie indispensable pour initier la boucle microbienne (Clarholm, 1985, Clarholm, 1981). D'après ces auteurs, les variétés de riz qui peuvent excréter beaucoup de carbone vont répondre positivement aux protistes. Les amibes ont une action similaire à celle des nématodes bactérovores (Bonkowski and Clarholm, 2012). A l'instar des nématodes, les amibes se nourrissent de bactéries et excrètent les nutriments à proximité des racines des plantes. Les protistes et les nématodes sont donc en compétition pour les cellules bactériennes. Dans notre expérience, nous avons observé des résultats différents de ceux de Somasundaram et al. (2008). En effet, les moyennes des biomasses produites ne sont pas significativement différentes entre les traitements biologiques étudiés (inoculation de bactérie seules ou « B » et co-inoculation de bactéries et nématodes bactérovores ou « B+N »). Il est important néanmoins de noter que l'expérience n'a duré que trois semaines car nous voulions mesurer l'effet précoce des nématodes sur la plante. Une durée plus longue aurait peut-être pu donner des résultats plus prononcés. Une expérience complémentaire devra donc être initiée.

Cette absence de différence significative peut également s'expliquer par l'effet de la méthode choisie pour éliminer les nématodes natifs du sol : l'autoclavage. Il s'agit d'une méthode de défaunation largement utilisée pour étudier le rôle des nématodes dans le cycle des nutriments. (Ingham et al., 1985; Xiao et al., 2010). Cette technique permet d'éradiquer tous les organismes du sol, à l'exception des bactéries et des champignons mais elle présente certains inconvénients. En effet, elle entraîne une libération importante de nutriments, surtout en azote (Alpehi and Scheu, 1993; Powlson and Jenkinson, 1976 ; Bonkowski et Clarholm, 2012). Ces nutriments proviennent généralement des organismes tués par l'autoclavage (Clarholm, 1985 ; Brookes et al., 1985). L'augmentation de la concentration des nutriments disponibles dans le sol après autoclavage a pu masquer l'effet des nématodes bactérovores dans les traitements B+N (inoculation de bactéries et nématodes bactérovores). Les nutriments indispensables pour la croissance de la plante étaient disponibles dans les sols pour les deux traitements. Néanmoins, cette hypothèse est peu probable pour deux raisons : (i) la première est que Somasundaram et al. (2008) ont également utilisé cette méthode et ont observé des effets des protistes sur la croissance du riz et (ii) même si il y a eu

libération de nutriments, la quantité libérée n'est pas suffisamment importante par rapport au nutriment nativement présent dans le sol et par rapport aux besoins de la plante pour masquer les effets potentiels des nématodes. Pour valider ou rejeter cette hypothèse, il serait intéressant de conduire une expérience similaire mais avec une autre méthode de défaunation. Par exemple, la fumigation au chloroforme pourrait être utilisée à la place de l'autoclavage. La fumigation au chloroforme vapeur s'avère être une méthode efficace et efficiente (rapide et peu coûteuse) pour défauner le sol sans le perturber de manière excessive, comparativement aux autres méthodes (Powlson and Jenkinson, 1976).

En outre, une autre hypothèse peut être avancée : l'utilisation d'un prédateur bactériovore différent par Soumasundaram et al. (2008) peut expliquer la différence entre nos résultats. En effet, ils ont utilisé des protozoaires (amibes) qui sont de meilleurs prédateurs bactériovores par rapport aux nématodes. Ainsi, une expérience similaire à celle que nous avons conduite, mais incluant les protozoaires, avec ou sans les nématodes, pourrait induire un effet plus prononcé des actions des bactériovores sur la boucle microbienne pour la même durée d'incubation.

En calculant le rapport entre la biomasse aérienne et la biomasse racinaire (le « shoot/root »), nous avons observé une différence significative des valeurs des rapports shoot/root en fonction des traitements biologiques (B et B+N) seulement pour la variété la variété B22. Plus exactement, la présence de nématodes bactériovores permet d'augmenter la production de biomasse aérienne et limite la production de biomasse racinaire. Il est connu que la production de biomasse aérienne permet de collecter les photons pour la photosynthèse alors que la biomasse racinaire est utilisée pour prélever les nutriments dans le sol chez les plantes annuelles (Hebert et al., 2001) et notamment chez le riz (Noguera et al., 2010). Une augmentation du shoot/root par la présence des nématodes indique une meilleure disponibilité des nutriments dans le sol, en accord avec l'hypothèse de la boucle microbienne (Clarholm, 1985). Par conséquent, la variété B22 est la seule variété qui répond positivement à la présence de nématodes bactériovores et cette réponse se traduit par une meilleure allocation de la biomasse.

Cette réponse de la variété B22 à la présence des nématodes peut provenir de deux raisons. La première est celle proposée par Somasundaram et al. en 2008. D'après ces auteurs, les variétés capables de perdre beaucoup de carbone via les racines répondent positivement à la présence des bactériovores (des protistes dans leur cas). Il est donc possible que le taux de rhizodéposition varie en fonction des variétés de riz pluvial et qu'elle soit élevée pour la variété B22. Pour tester cette hypothèse, il faudrait conduire une autre expérience de mesure du taux de carbone perdue par unité de temps pour toutes les variétés. La deuxième raison est liée à la capacité des variétés à favoriser la présence des nématodes. En effet, pour les traitements B+N, 10 nématodes par gramme de sol ont été inoculés. A la fin de l'expérience, le nombre de nématode a diminué pour toutes les variétés, ce qui signifie que 10 individus par gramme de sol est une valeur supérieure à la capacité des sols de Imerintsitosika à accueillir les populations de nématodes bactériovores.

De plus, il n'y a pas de différence significative en fonction des variétés. Néanmoins, le nombre final de nématode bactériovores a été le plus élevé dans les pots contenant cette même variété B22. Il est donc possible que la variété B22 favorise la croissance des populations de nématodes, soit via le taux de perte de carbone racinaire (hypothèse ci-dessus), soit via d'autres facteurs de contrôle qui restent inconnus.

Nous pouvons donc conclure que parmi les 8 variétés de riz pluvial utilisées, c'est la variété B22 qui répond au mieux à la présence de nématodes bactériovores dans la rhizosphère. C'est une des raisons pour laquelle nous avons utilisé cette variété pour l'expérience 2.

4.2 Effets des pratiques culturales sur la boucle microbienne du sol

L'objectif de cette deuxième expérience est d'étudier l'effet des pratiques culturales du riz pluvial sur une fonction majeure des sols assurée par les nématodes bactériovores : la « boucle microbienne » à l'aide d'une méthode innovante non destructive de sol. D'après Clarholm (1985), cette fonction « BM » décrit plusieurs mécanismes écologiques qui aboutissent à une libération des nutriments (N et P) par les nématodes à proximité des racines des plantes. Les impacts des pratiques culturales sur la BM sont évalués par la mesure de la production de biomasse (croissance de la plante) et la quantité d'azote total dans la plante (nutrition de la plante). La méthode d'échantillonnage en carottes de sol non perturbées permettent de prendre en compte l'effet des pratiques agricoles sur les paramètres pédologiques, ce qui n'est pas le cas des études récentes dont l'objectif est le même mais où le sol est tamisé (Gebremikael et al., 2014, Gebremikael et al., 2015).

La co-inoculation de bactéries et de nématodes bactériovores permet-elle d'améliorer la croissance du riz pluvial ?

Notre premier objectif a été de mesurer l'effet des nématodes sur la croissance de la plante. Dans un premier temps, pour toutes les parcelles confondues, nous avons observé que la quantité moyenne de biomasse aérienne et racinaire produite n'est pas significativement différente pour les traitements étudiés (inoculation en bactéries seules ou « B » et inoculation en bactéries et nématodes bactériovores ou « B+N »). Néanmoins, lorsque l'effet des nématodes est interprété en fonction des parcelles, nous avons observé que celui-ci est parfois négatif, parfois neutre ou positif. La présence des nématodes bactériovores a donc un effet variable sur la production de biomasse aérienne qui dépend du sol utilisé pour la croissance du riz. Ce résultat est très original et contredit la plupart des études qui montrent le plus souvent un effet positif (Bjornlund et al., 2012, Ingham et al., 1985, Djigal et al., 2004), plus rarement neutre (Bonkowski et al., 2000), des nématodes sur la croissance de la plante. Il permet donc d'ores et déjà de conclure que les nématodes n'ont pas exclusivement des effets positifs, contrairement à ce qui est rapporté et synthétisé dans la littérature (Trap et al., 2016). Par exemple, Ingham (1985) a observé que les plantes poussent mieux, i.e. produisent plus de biomasse aérienne, dans les sols inoculés en bactéries et nématodes bactériovores que dans les sols inoculés en bactéries seules. Ce résultat positif des bactériovores (nématodes) sur

la biomasse totale de la plante a été également observé avec d'autres espèces de nématodes bactériovores (Djigal et al., 2010, Djigal et al., 2004) ou avec d'autres organismes bactériovores tels que les protistes (Clarholm, 1985, Bonkowski et al., 2000, Koller et al., 2013). L'explication principale fournie par les scientifiques est que les plantes ont pu prélever plus de nutriments (en particulier l'azote) en raison de l'augmentation de la minéralisation de l'azote (libération de NH_4^+ dans le sol) par l'action des nématodes bactériovores. L'augmentation de la disponibilité des nutriments par les nématodes serait donc le mécanisme principal impactant la nutrition de la plante et la croissance de la plante. Une autre hypothèse repose sur la capacité des bactériovores à accroître l'architecture racinaire des plantes (Bonkowski, 2004, Bonkowski and Brandt, 2002). Un gain de l'architecture racinaire (plus de coiffes racinaires, racines plus longues, ramification plus élevée) permettrait aux plantes de prospector un volume de sol plus élevé et donc d'augmenter le prélèvement des nutriments par la plante. Malheureusement, nous n'avons pas pu mesurer l'architecture racinaire du riz, ce qui nous limite dans notre capacité à rejeter ou valider cette hypothèse non nutritionnelle. Pour conclure, les mesures de biomasse permettent de mettre l'accent sur deux aspects importants : (i) l'effet des nématodes peut être négatif et par conséquent, (ii) d'autres mécanismes, en particulier négatif, doivent être identifiés et pris en compte.

La co-inoculation de bactéries et de nématodes bactériovores permet-elle d'améliorer la nutrition du riz pluvial ?

Comme pour la biomasse, nous avons mesuré les teneurs en azote (N) dans la plante (biomasse aérienne + biomasse racinaire) à la fin de l'expérience et calculé les quantités moyennes en N total de la plante (mg N par g de plante). Ces dernières se sont révélées non significativement différentes entre les deux traitements étudiés (inoculation de bactéries seules et co-inoculation de bactéries et nématodes bactériovores) pour toutes parcelles confondues. De même, la co-inoculation de bactéries et de nématodes bactériovores n'a pas eu d'effet significatif sur les quantités en N total dans la plante (mg N) accumulés durant la période de l'expérience. Néanmoins, les quantités de N total dans les plantes diffèrent significativement en fonction des parcelles. Nous pouvons donc également conclure, à l'instar de la biomasse, que l'effet des nématodes sur l'acquisition et l'assimilation de l'azote par le riz est dépendant du sol et des pratiques agricoles.

Plus précisément, l'ordre décroissant (de la teneur plus élevée à la plus faible) de la teneur en N total dans les plantes ($P_6 > P_4 > P_1 > P_2 > P_8 > P_7 > P_3 > P_5 > P_9$) en fonction des parcelles est différente de l'ordre décroissant des quantités de N total ($P_8 > P_6 > P_4 > P_7 > P_5 > P_1 > P_9 > P_2 > P_3$) accumulées dans les plantes. Ces différences significatives peuvent être expliquées par l'existence de deux phénomènes différents selon les conditions du milieu. En effet, par l'effet de prédation des organismes bactériovores, dont les nématodes, les plantes augmentent la quantité en N total (i) soit en augmentant la teneur en N ($\mu\text{g N/g}$ de matière sèche) de la biomasse aérienne sans avoir un impact sur la quantité totale de biomasse, (ii) soit en augmentant la quantité de la biomasse aérienne mais en conservant la même teneur (Trap et al, 2016). Dans ce dernier cas, il se peut que

la plante produise plus de biomasse mais sans augmenter la concentration en azote dans la plante. Nos résultats sont confirmés par ceux de Irshad et al. (2011) avec la plante « *Pinus pinaster* ». L'accumulation en ^{15}N (issu des bactéries marquées) dans la biomasse aérienne est significativement plus élevée pour l'inoculation en bactérie seule (B) que pour la co-inoculation de bactérie et nématodes bactérivores (B+N). Tandis que pour la même expérimentation, la quantité de biomasse aérienne produite n'a pas de différence significative entre les deux traitements (B et B+N). Nous pouvons en conclure que la plante a pris plus d'azote sans avoir augmenté sa biomasse. Donc, en fonction des sols, la présence des nématodes peut avoir un effet positif sur la teneur ou sur la quantité totale d'azote, ou parfois des effets neutres ou négatifs.

L'analyse globale montre que la quantité en N total dans la plante est toujours plus élevée pour les plantes dans les microcosmes inoculées en nématode bactérivores. Cela montre l'effet positif global (même non significatif) des nématodes bactérivores sur la nutrition de la plante.

La co-inoculation des bactéries avec leurs prédateurs active les relations trophiques dans la boucle microbienne (Bonkowski et al., 2009). Selon la littérature, les nématodes bactérivores exercent un impact positif sur l'évolution de la communauté bactérienne du sol (Djigal et al., 2010, Chen et al., 2007), régulant ainsi la minéralisation des éléments nutritifs. Face à la pression de prédation, les bactéries accélèrent leur taux de multiplication (Villenave, 2004). Mais vu la durée de notre expérimentation courte, les plantes n'ont pas pu accumuler assez de nutriments en présence des nématodes pour produire plus de biomasse. Une expérimentation similaire à celle-ci sur une durée plus longue pourrait présenter des résultats différents d'un point de vue de l'effet significatif des nématodes sur la nutrition azotée. Il est important de noter également qu'en plus de l'azote, le phosphore est un élément très important à Madagascar car il s'agit souvent de l'élément qui limite la productivité de la plante et de la communauté microbienne des sols (Randriamanantsoa et al., 2013, Oberson et al., 1997). Il serait donc intéressant de mesurer la quantité de phosphore dans les tissus de la plantes. Ces analyses sont en cours.

Quels sont les impacts des pratiques agricoles sur la boucle microbienne du sol ?

Les résultats précédents montrent que les nématodes peuvent induire des effets positifs, neutres ou négatifs sur la biomasse et la nutrition du riz en fonction des parcelles. Par exemple, la plante a répondu positivement à l'action des nématodes bactérivores dans les microcosmes issus de la parcelle 1, tant sur la partie aérienne que sur la partie racinaire. De même pour la parcelle 8, mais l'effet est seulement significatif pour la biomasse racinaire. Il existe donc des facteurs de contrôle qui sont responsables de ces observations. Les différentes parcelles ont toutes une originalité en termes de pratiques agricoles. L'ANOVA à 2 facteurs (traitements et parcelles) présenté dans le tableau 4 montre que l'interaction entre les 2 facteurs (présence de nématodes bactérivores et pratique agricole) a une influence significative sur l'action des nématodes bactérivores (p -value < 0,05), ce qui confirme l'effet interactif des nématodes et des parcelles. Ce résultat souligne aussi l'importance des pratiques agricoles comme un levier pour agir sur la BM des sols. En effet, les

effets des nématodes bactériovores sur la croissance et la nutrition de la plante semblent être influencés par des conditions environnementales du milieu. Ces derniers sont variables en fonction des pratiques agricoles.

Les parcelles 8 et 1 citées ci-dessus sont toutes en association. Par contre, les parcelles 2 et 4 ont induit des effets négatifs des nématodes bactériovores sur la production de biomasse totale (à la fois aérienne et racinaire). Ces deux parcelles sont des parcelles en rotation. Selon les pratiques de culture, nous avons généralement des effets positifs des nématodes bactériovores dans les microcosmes des parcelles en association ; des effets neutres et des effets négatifs au niveau des microcosmes issus des autres parcelles (en rotation, en monoculture et bozaka). Nous pouvons alors dire que l'association de cultures permet d'avoir un effet positif des nématodes bactériovores.

Ensuite, la présence de légumineuses dans la parcelle 2 peut aussi expliquer l'effet négatif significatif des nématodes bactériovores. En effet, la capacité de ces plantes à fixer l'azote organique (N_2) peut augmenter la disponibilité de l'azote dans la couche supérieure du sol (Vitousek et al., 2002). La croissance de la plante dans les microcosmes de la parcelle 2, et surtout l'acquisition de l'azote par la plante, ont été alors indépendantes de la présence de nématodes bactériovores en raison de la plus forte disponibilité de N dans le sol. La parcelle 4, dont le précédent cultural, étant le haricot, présente également un effet significativement négatif, ce qui renforce cette hypothèse. En outre, l'utilisation de l'engrais minéral (NPK) pour ce précédent cultural a probablement acidifié le sol et limité le développement des nématodes. Afin de pouvoir tester ces hypothèses, ou du moins avoir des éléments pour vérifier ces hypothèses, il est nécessaire d'utiliser des outils statistiques tels que les régressions PLS (cf. section 4.3)

La qualité des sols étudiés a-t-elle un impact sur le développement des nématodes bactériovores ?

En début d'expérience, le même nombre de nématode bactériovores *Cephalobidae sp.* (10 individus par gramme de sol) a été inoculé dans les carottes « bactéries+nématodes ». A la fin de l'expérimentation, des nématodes ont été retrouvés dans tous les carottes de sol défaunées puis inoculées en bactéries et nématodes bactériovores et aucun dans les carottes inoculées en bactéries seules. Cela montre la réussite de l'inoculation en nématodes et l'efficacité de la méthode de défaunation utilisée (fumigation).

Toutefois, pour toutes les parcelles, nous avons observé une diminution de la population finale par rapport à la population initiale inoculée (10 individus/g de sol). Ceci s'oppose aux résultats de Gebremikael et al. (2013) où le nombre de nématodes a augmenté au cours du temps d'incubation dans deux traitements avec nématodes (en présence ou en absence de plante). La différence entre nos résultats peut s'expliquer par deux hypothèses : (i) soit la densité de nématode au début de l'expérience était trop élevée (supérieure à la capacité d'accueil du sol), (ii) soit la population de nématode a augmenté initialement puis diminué en fin d'expérience. Il est important de noter que

nous avons eu des difficultés à prendre les carottes de sol en raison de la compaction des sols au moment de l'échantillonnage. Il est donc possible que la compaction du sol ait limitée le développement de la population de nématodes (Trap et al., 2015, Elliott et al., 1980). Les nématodes se sont probablement développés, puis ont atteint un nombre maximal par rapport à la disponibilité de nourritures (bactéries) et ont eu à la fin une compétition en nourriture, ce qui a entraîné la diminution en nombre. Le manque de ressources (carbone organique et certainement le phosphore disponible dans le sol) limite la croissance bactérienne, entraînant ainsi la diminution de la population de nématodes (Djigal, 2003). A l'aide d'une expérimentation en microcosmes, Holajier (2015) a trouvé que le nombre de nématode « *Cephalobus persegnis* » a augmenté initialement puis suivi d'une diminution. La qualité du sol peut donc fortement impacter le développement des populations de nématodes libres.

En outre, nous pouvons aussi considérer l'hypothèse que le nombre de nématode final a variée en fonction de la teneur en phosphore disponible dans le sol. Dans une expérimentation en microcosmes, Irshad (2011) n'a eu pas de différence significative entre le nombre de nématode final dans des sols à des concentrations en P variables mais la biomasse finale de nématode est très faible s'il n'y a eu aucun apport de source de phosphore dans les traitements. Les auteurs ont donc conclu que le nombre de nématode bactériovore peut servir d'indicateur de la disponibilité des nutriments dans le sol. Ainsi, une faible concentration en P disponible peut limiter le développement des bactéries et par conséquent limiter aussi l'augmentation en nombre des nématodes en raison du manque de nourriture. Ceci peut expliquer nos résultats : malgré l'absence de différence significative, le nombre de nématodes dans les carottes de sol varie en fonction des parcelles. Par exemple, $5,3 \pm 2,04$ et $3,61 \pm 3,03$ nématodes/g de sol ont été dénombrés dans les microcosmes issus des parcelles 1 et 8 respectivement. Ces parcelles ont des valeurs de phosphore disponible (P_i) plus élevée, soit 4,1 mgP/kg (P_1) et 8,6 mgP/kg (P_8). Au contraire, avec des valeurs de P_i plus faibles, 0,6 mgP/kg (P_5) et 0,3 mgP/kg (P_9), les parcelles 5 et 6 ont engendré des nombres de nématodes bactériovores plus faibles, $2,86 \pm 1,32$ et $2,81 \pm 1,31$ nématodes/g de sol respectivement (cf. Annexe 5).

4.3 Indicateurs agronomiques et pédologiques de prédiction des effets des nématodes bactériovores sur la croissance du riz pluvial.

Quels sont les paramètres environnementaux qui influencent le plus les effets des nématodes bactériovores ?

➤ Rôle du pH_{eau} du sol

Le pH du sol régule la disponibilité des nutriments dans le sol, en particulier celui de phosphore. Dans les sols acides, particulièrement abondants en zone tropicale, la plus grande partie du phosphore inorganique (P_i) est liée aux minéraux argileux 1/1 et aux oxy(hydr)oxydes de Fe et d'Al (Plassard et al., 2015). La quantité d'ions orthophosphates (P_i) retenue par adsorption sur les

sites d'échanges dépend du pH de la solution du sol. Plus le pH diminue, plus il sera fortement adsorbé et sera peu disponible pour les bactéries du sol (manque de ressources pour les nématodes). Les nématodes peuvent localement agir sur le pH via la respiration. En effet, en présence de nématodes, la respiration microbienne augmente fortement (Coleman et al., 1978). Cette augmentation locale de concentration de CO₂ peut impacter le pH. Ce qui confirme l'importance du pH dans la détermination des effets des nématodes bactériovores sur la croissance et la nutrition des plantes annuelles.

➤ Rôles des paramètres agronomiques

La présence d'arbres

Les régressions PLS ont permis d'identifier plusieurs variables agronomiques clés dans la prédiction de la boucle microbienne du sol. La présence d'un arbre dans une parcelle peut faciliter les effets positifs des nématodes bactériovores sur la production de biomasse de riz. En effet, les parcelles 1 (présence d'eucalyptus) et 8 (présence de Tephrosia) présentent des effets positifs des nématodes. Plusieurs hypothèses peuvent être formulées. Premièrement, les racines de l'arbre peuvent modifier la porosité du sol (Oades, 1993, Jones et al., 1997, Angers and Caron, 1998). Le volume des espaces vides (macro et/ou micropore) dans le sol peut donc augmenter. Cela facilite probablement la rétention en eau, ce qui est favorable pour le développement des nématodes ainsi qu'à leur déplacement. Roon et al. (2012) ont montré que le développement des nématodes peut être impacté par l'humidité du sol. Les nématodes bactériovores peuvent prospecter plus d'espaces qui seraient inaccessibles en absence des racines. Deuxièmement, à une échelle plus grande, la présence d'un arbre ou d'une plante ligneuse peut permettre l'apport de carbone en surface via la litière, ce qui pourrait stimuler la boucle microbienne du sol. Néanmoins, la teneur en carbone organique ne semble pas être un descripteur pertinent d'après les VIP. Cette seconde hypothèse est donc peu probable.

Le type de culture en place

Nos résultats PLS montrent que l'effet des nématodes bactériovores sur la production de biomasse dépend de nature de la culture en place (Culture). En fonction de la culture en place, la quantité de nutriment apportée par l'agriculteur est variable. L'apport de fertilisant surtout organique augmente localement la quantité de carbone disponible pour les bactéries. Plus il y aura du carbone dans le sol, plus les bactéries vont proliférer. La prédation par les bactériovores, notamment les nématodes, va libérer les nutriments présents dans la biomasse microbienne (Clarholm, 2005 ; Kuikman et al., 1991). Une première partie de ces nutriments libérés sera prélevée par la plante, une seconde partie sera immobilisée par les oxydes métalliques et l'argile du sol (pour le phosphore) ou perdue par lixiviation (pour l'azote), et une troisième partie sera de nouveau immobilisée par les bactéries. Ainsi, l'augmentation de la biodisponibilité de nutriments va

permettre l'amélioration de la croissance de la plante. Par contre, pour une parcelle de bozaka, il n'y a aucun apport, ce qui explique l'effet négatif des nématodes par manque de ressources.

Pour conclure, ce sont la présence d'arbre, le type de culture en place lors de l'échantillonnage ainsi que le pH qui ont le plus d'impacts sur la BM.

CONCLUSION

5 CONCLUSION

Cette étude a permis de mettre en évidence les effets des pratiques culturales du riz pluvial sur une fonction majeure des sols assurée par les nématodes bactéricivores : la boucle microbienne du sol. Naturellement présente dans le sol rhizosphérique, cette fonction décrit plusieurs mécanismes écologiques complexes qui aboutissent à une libération des nutriments par les nématodes à proximité des racines des plantes (Clarholm, 2002, Clarholm, 1985, Bonkowski, 2004).

Un des résultats majeurs de notre étude est que les effets des nématodes bactéricivores sur la croissance du riz pluvial sont variables en fonction des pratiques culturales prises en compte (choix de la variété, association, rotation ou fertilisation).

En effet, la première expérience avec les 8 variétés de riz pluvial a montré l'absence d'effet significatif des variétés de riz utilisées sur les effets des nématodes bactéricivores sur la croissance du riz pluvial. L'hypothèse selon laquelle « la variété de riz pluvial utilisée a un impact sur la boucle microbienne du sol » (hypothèse 1) n'est donc pas totalement vérifiée. Cependant, la variété B22 se distingue des autres variétés par sa capacité à produire plus de biomasse aérienne avec moins de biomasse racinaire en présence des nématodes bactéricivores. En d'autres termes, la variété B22 modifie son allocation de biomasse lorsque les nématodes sont présents dans sa rhizosphère. D'autre part, cette variété est celle utilisée par nos agriculteurs dans notre zone d'étude. Nous pouvons donc conclure que l'allocation de la biomasse lors de la mise en place de la boucle microbienne est variable en fonction des variétés utilisées.

La deuxième expérience réalisée sur des carottes de sol en place a montré que l'interaction des effets des traitements biologiques (inoculation de bactéries seules ou « B » et co-inoculation de bactéries et nématodes bactéricivores ou « B+N) et la pratique culturale (association, rotation, monoculture ou bozaka) a un effet significatif sur la croissance et la nutrition du riz pluvial. En d'autres termes, l'effet des nématodes bactéricivores sur la croissance et la nutrition azotée du riz pluvial est dépendant des pratiques agricoles. Ce qui vérifie notre deuxième hypothèse.

Ensuite, les résultats de la régression PLS ont permis d'identifier des indicateurs potentiels ou variables agronomiques et pédologiques qui sont les plus pertinents dans la prédiction des effets des nématodes bactéricivores sur la croissance du riz pluvial. Ceci vérifie l'hypothèse que « des indicateurs agronomiques et pédologiques permettent de prédire les effets des nématodes bactéricivores sur la croissance du riz pluvial », selon notre troisième hypothèse. En effet, les effets des nématodes bactéricivores sur la croissance du riz pluvial peuvent être prédits par les facteurs environnementaux et agronomiques suivants : présence d'arbre (plante ligneuse) au niveau de la parcelle, la nature de la culture en place et le pH du sol.

De tous ces résultats, nous pouvons conclure que les effets des nématodes sur la croissance du riz pluvial peuvent être positifs, neutres ou encore négatifs en fonction des paramètres

environnementaux (disponibilité des ressources, association avec une légumineuse, pH...). L'augmentation de la phyto-disponibilité ne peut être alors attribuée aux effets des nématodes seuls. Une méthode par traçage isotopique des nutriments pourrait être une alternative pour étudier la contribution réelle des nématodes dans la BM.

Toutefois, il est intéressant de vérifier si les observations en microcosmes sous conditions semi-contrôlées sont transposables aux champs. En réalité, en plus des nématodes bactérivores, d'autres organismes du sol (prédateurs : protozoaires, ou autres nématodes omnivores) interviennent dans la BM du sol. Dans ce cas, pour estimer les facteurs explicatifs de la BM dans l'ensemble de la chaîne trophique, le recours à l'étude d'une situation témoin est à privilégier pour avoir une base de comparaison (non fumigé ni autoclavé). Pour conclure, d'autres études complémentaires sur la fertilité du sol de Madagascar seront encore nécessaires pour maîtriser ou maintenir la fertilité naturelle du sol tout en minimisant les intrants coûteux.

6 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alphei, J., Scheu, S., 1993. Effects of biocidal treatments on biological and nutritional properties of a mull-structured woodland soil. *Geoderma* 56, 435–448.
- Altieri, M. A., 1999. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 74, 19-31.
- Angers, D. A. & Caron, J., 1998. Plant-induced changes in soil structure: Processes and feedbacks. *Biogeochemistry*, 42, 55-72.
- Barrios, E., 2007. Soil biota, ecosystem services and land productivity. *Ecological Economics*, 64, 269-285.
- Baudoin, E., Benizri, E. & Guckert, A.; 2003. Impact of artificial root exudates on the bacterial community structure in bulk soil and maize rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 1183-1192.
- Bonkowski, M. & Brandt, F., 2002. Do soil protozoa enhance plant growth by hormonal effects? *Soil Biology and Biochemistry*, 34, 1709.
- Bonkowski, M. & Clarholm, M., 2012. Stimulation of plant growth through interactions of bacteria and protozoa: Testing the auxiliary microbial loop hypothesis. *Acta Protozoologica*, 51, 237-247.
- Bonkowski, M., 2004. Protozoa and plant growth: the microbial loop in soil revisited. *New Phytologist*, 162, 617-631.
- Bonkowski, M., Cheng, W., Griffiths, B. S., Alphei, J. & Scheu, S., 2000. Microbial-faunal interactions in the rhizosphere and effects on plant growth. *European Journal of Soil Biology*, 36, 135-147.
- Bonkowski, M., Villenave, C. & Griffiths, B., 2009. Rhizosphere fauna: the functional and structural diversity of intimate interactions of soil fauna with plant roots. *Plant and Soil*, 321, 213-233.
- Brookes, P. C., Landman, A., Pruden, G. & Jenkinson, D. S., 1985. Chloroform fumigation and the release of nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 17, 837-842.
- Chen, X., Liu, M., Hu, F., Mao, X. & Li, H., 2007. Contributions of soil micro-fauna (protozoa and nematodes) to rhizosphere ecological functions. *Acta Ecologica Sinica*, 27, 3132-3143.
- Clarholm M., 1981. Protozoan Grazing of Bacteria in Soil - Impact and Importance. *Microbial Ecology*, 7, 343-350.

- Clarholm M., 1985. Interactions of bacteria, protozoa and plants leading to mineralization of soil-nitrogen. *Soil Biology & Biochemistry*, 17, 181-187.
- Clarholm M., 2002. Bacteria and protozoa as integral components of the forest ecosystem their role in creating a naturally varied soil fertility. *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 81, 309-318.
- Coleman, D. C., Anderson, R. V., Cole, C. V., Elliott, E. T., Woods, L. & Campion, M. K., 1978. Trophic interactions in soils as they affect energy and nutrient dynamics. Flows of metabolic and biomass carbon. *Microbial Ecology*, 4, 373-380.
- Djigal, D., Baudoin, E., Philippot, L., Brauman, A. & Villenave, C., 2010. Shifts in size, genetic structure and activity of the soil denitrifier community by nematode grazing. *European Journal of Soil Biology*, 46, 112-118.
- Djigal, D., Brauman, A., Diop, T. A., Chotte, J. L. & Villenave, C., 2004. Influence of bacterial-feeding nematodes (Cephalobidae) on soil microbial communities during maize growth. *Soil Biology & Biochemistry*, 36, 323-331.
- Elliott, E. T., Anderson, R. V., Coleman, D. C. & Cole, C. V., 1980. Habitable pore-space and microbial trophic interactions. *Oikos*, 35, 327-335.
- Gebremikael, M. T., Buchan, D. & De Neve, S., 2014. Quantifying the influences of free-living nematodes on soil nitrogen and microbial biomass dynamics in bare and planted microcosms. *Soil Biology & Biochemistry*, 70, 131-141.
- Gebremikael, M. T., De Waele, J., Buchan, D., Soboksa, G. E. & De Neve, S., 2015. The effect of varying gamma irradiation doses and soil moisture content on nematodes, the microbial communities and mineral nitrogen. *Applied Soil Ecology*, 92, 1-13.
- Gobat, J. M., Aragno, M. & Matthey, W., 2004. *The Living Soil: Fundamentals of Soil Science and Soil Biology*. U.S.
- Hebert, Y., Guingo, E. & Loudet, O., 2001. The response of root/shoot partitioning and root morphology to light reduction in maize genotypes. *Crop science*, 41, 363-371.
- Hinsinger, P., 2001. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant And Soil*, 237, 173-195.
- Hinsinger, P., Herrmann, L., Lesueur, D., Robin, A., Trap, J., Waithaisong, K. & Plassard, C., 2015. Impact of roots, microorganisms and microfauna on the fate of soil phosphorus in the rhizosphere. *Annual Plant Reviews, Phosphorus Metabolism in Plants*, 48, 377.

Irshad U., 2011. Relations trophiques dans la rhizosphère : effet des interactions entre champignon ectomycorhizien, bactéries et nématodes bactérivores sur le prélèvement minéral du Pin maritime (*Pinus pinaster*). Thèse de doctorat, p 80.

Jones, C. G., Lawton, J. H. & Shachak, M., 1997. Positive and negative effects of organisms as physical ecosystem engineers. *Ecology*, 78, 1946-1957.

Koller, R., Rodriguez, A., Robin, C., Scheu, S. & Bonkowski, M., 2013. Protozoa enhance foraging efficiency of arbuscular mycorrhizal fungi for mineral nitrogen from organic matter in soil to the benefit of host plants. *New Phytologist*, 199, 203-211.

Noguera, D., Rondón, M., Laossi, K.-R., Hoyos, V., Lavelle, P., de Carvalho, M. H. C. & Barot, S., 2010. Contrasted effect of biochar and earthworms on rice growth and resource allocation in different soils. *Soil biology and Biochemistry*, 42, 1017-1027.

Oades, J., 1993. The role of biology in the formation, stabilization and degradation of soil structure. *Geoderma*, 56, 377-400.

Oberson, A., Friesen, D. K., Morel, C. & Tiessen, H., 1997. Determination of phosphorus released by chloroform fumigation from microbial biomass in high P sorbing tropical soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 29, 1579-1583.

Powlson, D. & Jenkinson, D., 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil II. Gamma irradiation, autoclaving, air-drying and fumigation. *Soil Biology and Biochemistry*, 8, 179-188.

Rabeharisoa L., 2004. Gestion de la fertilité et de la fertilisation phosphatée des sols ferrallitiques des hautes terres de Madagascar, Thèse de Doctorat d'Etat ES Sciences Naturelles. Université d'Antananarivo

Raboin L.M., Ramanantsoaniririna A., Dzido J.L., Radanielina T., Tharreau D., Dusserre J., Ahmadi N., 2013. Création variétale pour la riziculture d'altitude à Madagascar : bilan de 25 années de sélection. *Cahiers Agriculture*, 2013, Volume 22, Numéro 5, p 64 – 73.

Ralaifenomanana, F., 2009. Analyse de la situation nationale des technologies agricoles et de la dissémination à Madagascar. Programme Multi-Pays de la Productivité Agricole de la SADC ,p 18

Randriamanantsoa, L., Morel, C., Rabeharisoa, L., Douzet, J.-M., Jansa, J. & Frossard, E., 2013. Can the isotopic exchange kinetic method be used in soils with a very low water extractable phosphate content and a high sorbing capacity for phosphate ions? *Geoderma*, 200-201, 120.

Randriamboavonjy J. C., 2005. Recherche en vue de l'amélioration de la productivité des sols ferrallitiques et des rendements de récoltes sur les hautes terres centrales de Madagascar, Thèse de Doctorat d'Etat ES-Sciences Physiques

- Somasundaram, S., Bonkowski, M. & Iijima, M., 2008. Functional role of mucilage-border cells: a complex facilitating protozoan effects on plant growth. *Plant production science*, 11, 344-351.
- Trap, J., Bernard, L., Brauman, A., Pablo, A.-L., Plassard, C., Ranoarisoa, M. P. & Blanchart, E., 2015. Plant Roots Increase Bacterivorous Nematode Dispersion through Nonuniform Glass-bead Media. *Journal of Nematology*, 47, 296.
- Trap, J., Bonkowski, M., Plassard, C., Villenave, C. & Blanchart, E., 2016. Ecological importance of soil bacterivores for ecosystem functions. *Plant and Soil*, 398, 1-24.
- Vitousek, P. M., Cassman, K., Cleveland, C., Crews, T., Field, C. B., Grimm, N. B., Howarth, R. W., Marino, R., Martinelli, L., Rastetter, E. B. & Spret, J. I., 2002. Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation. *Biogeochemistry*, 57, 1-45.

ANNEXES

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Critères agronomiques des 8 variétés de riz utilisées	I
Annexe 2: Carte de localisation des zones d'étude	I
Annexe 3 : Prégermination des graines de riz	II
Annexe 4 : Textures des 9 parcelles à Imérintsiatosika.....	II
Annexe 5 : Caractéristiques pédologiques des 9 parcelles	III
Annexe 6 : Caractéristiques de la variété de riz pluviale B22 ou Fotsiambo	V
Annexe 7 : Transformation de variables.....	VI
Annexe 8 : Résultats des tests statistiques.....	VI
Annexe 9 : Les VIP dans les résultats de la régression PLS	IX

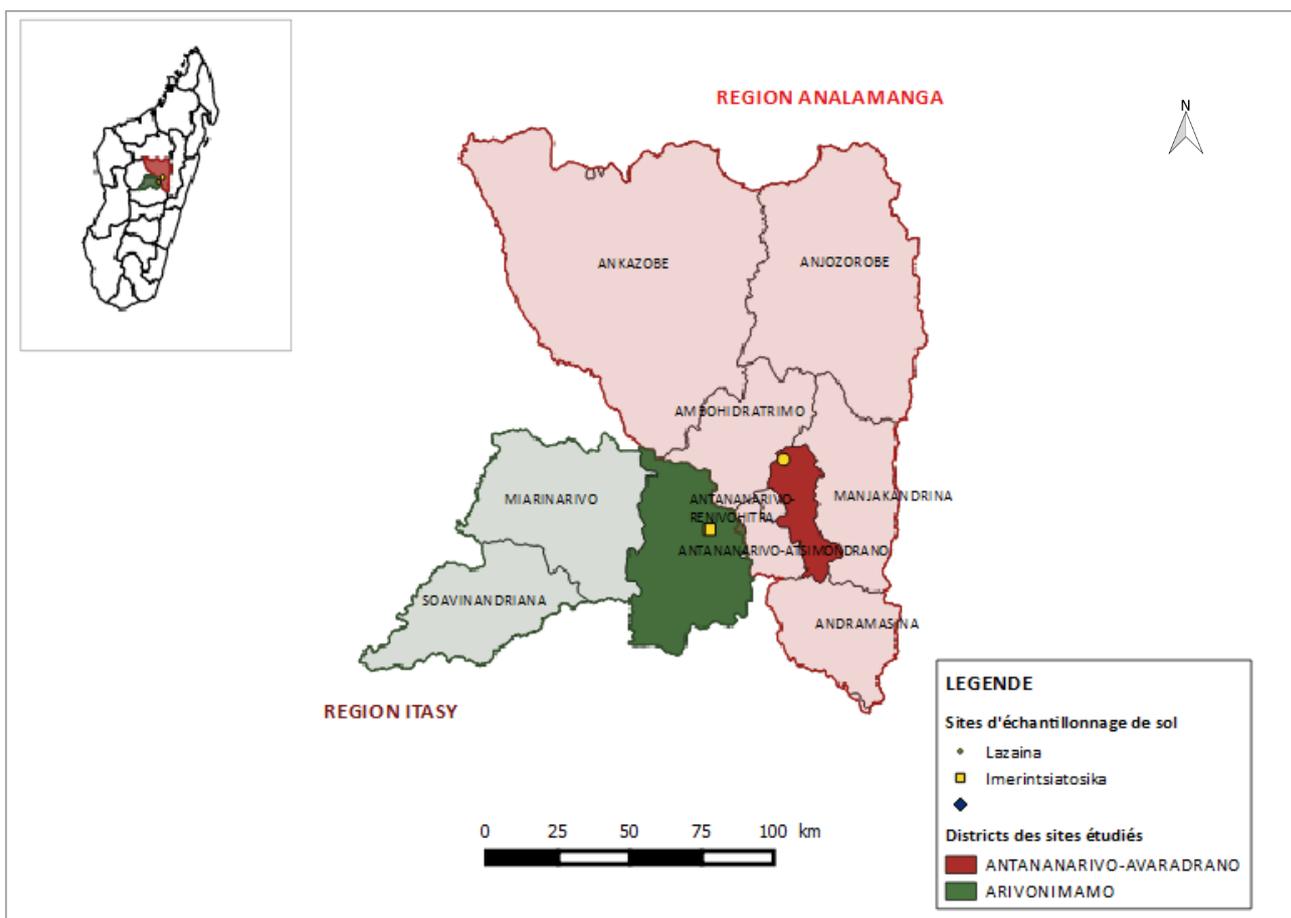
ANNEXES

Annexe 1 : Critères agronomiques des 8 variétés de riz utilisées

Variétés	Critères de sélection
B 22	Variété résistante à la pyriculariose
F 182	Variété approprié pour une culture à 700-1200 m d'altitude.
F 172	Variété résistante à la pyriculariose, culture optimale : 1200-1650m d'altitude
F 152	Variété très sensible à la pyriculariose.
F154	Variété très sensible à la pyriculariose.
N4	Variété résistante au parasite racinaire STRIGA, Culture optimale entre 700-1200 m d'altitude.
CD	Variété qui pousse bien, surtout à 1650-1900 m d'altitude et est tolérante à la pyriculariose.
WAB 880	Culture optimale entre 700-1200 m d'altitude.

Source : FOFIFA et AgriSud International, 2015

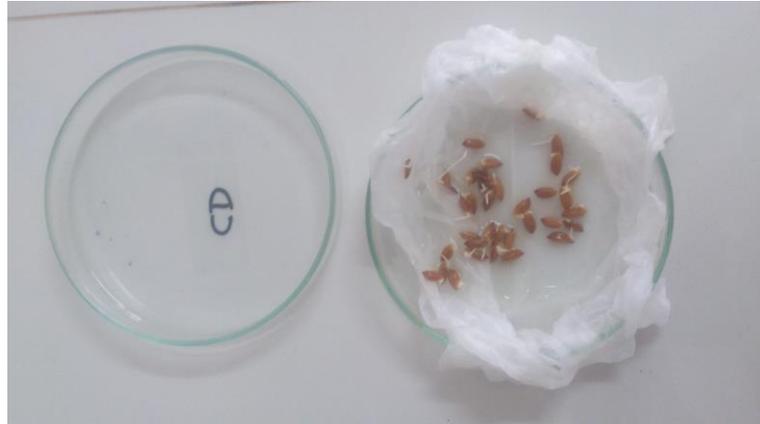
Annexe 2: Carte de localisation des zones d'étude



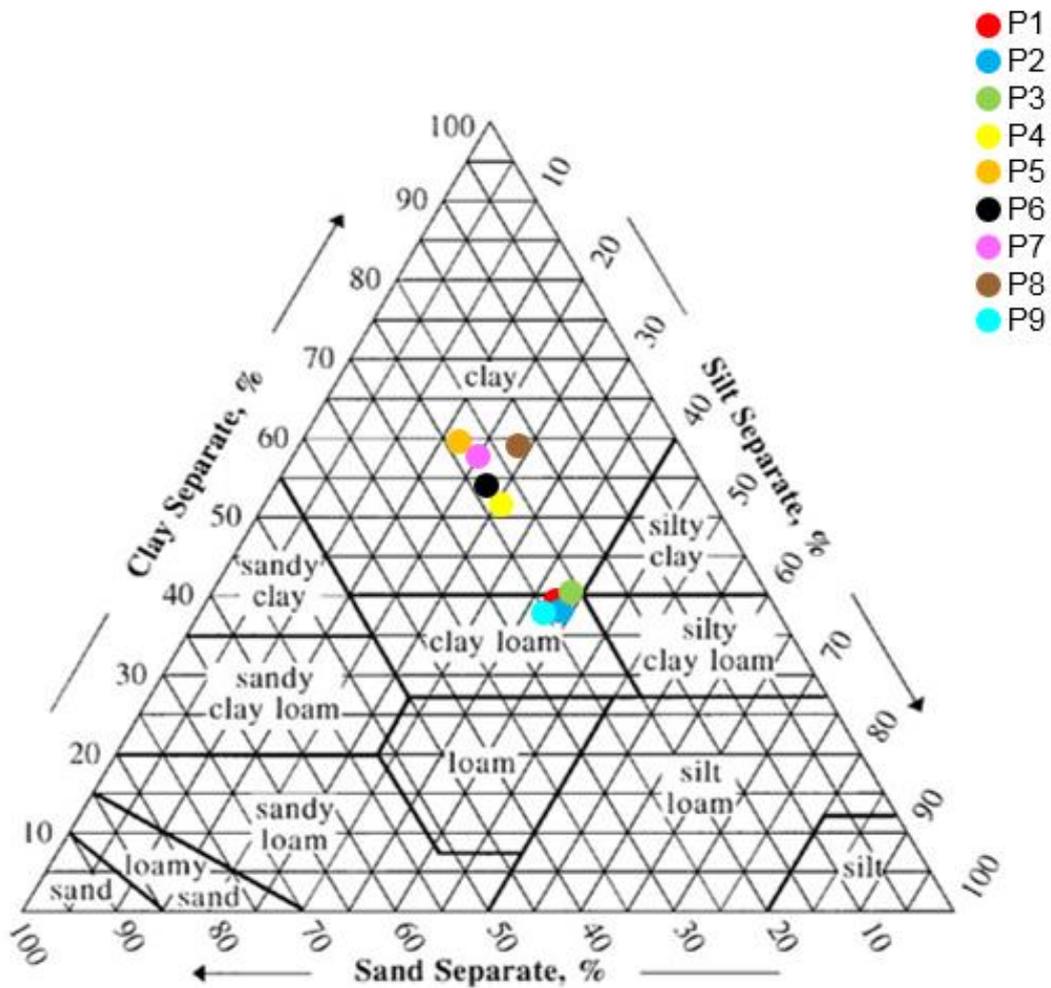
Source: BD200 FTM

Annexe 3 : Prégermination des graines de riz

Les graines des variétés ont été stérilisées pendant 30 secondes avec de l'eau de javel diluée à 3%, puis rincées 3 fois avec de l'eau stérilisée (eau filtrée à 1,2µm) et mis en étuve à 30°C pendant 3 jours afin de favoriser un taux de germination maximal.



Annexe 4 : Textures des 9 parcelles à Imérintsiatosika



Annexe 5 : Caractéristiques pédologiques des 9 parcelles

Les analyses des sols effectués au début de l'expérimentation permettent de caractériser l'état général des sols et la variabilité inter-parcelle qui résulte des différentes pratiques. Les caractéristiques pédologiques des parcelles étudiées sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Variables	Unités	Parcelles regroupées par pratique culturale								
		Association		Rotation			Monoculture			Bozaka
		P1	P8	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P9
A%	%	38,4	58,6	38,0	39,5	50,3	58,9	52,8	56,8	37,7
LF%	%	29,7	19,1	30,2	29,5	19,3	13,0	17,8	15,2	31,0
LG%	%	7,5	3,9	7,3	8,9	5,6	3,4	4,5	4,3	5,8
S.F%	%	8,2	6,2	8,2	8,6	9,9	8,2	9,0	8,6	7,3
S.G%	%	16,2	12,1	16,3	13,4	14,9	16,4	15,9	15,0	18,2
DA	g/cm ³	1,01	0,95	0,98	0,99	0,96	1,04	1,06	1,07	1,22
CR	%	25,9	16,6	18,7	26,6	33,8	34,8	32,3	26,0	17,8
pH eau		5,3	5,2	4,6	5,1	5,0	4,7	5,0	5,0	5,4
pH KCl		4,4	4,1	4,3	4,3	4,1	4,1	4,2	4,2	4,3
K	Cmo ⁺ /Kg	0,1	0,2	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Ca	Cmo ⁺ /Kg	0,6	1,1	0,6	0,5	0,8	0,5	0,5	0,5	0,8
Mg	Cmo ⁺ /Kg	0,4	0,6	0,2	0,2	0,3	0,1	0,2	0,1	0,3
K/Mg		0,2	0,4	0,3	0,2	0,3	0,4	0,4	0,5	0,3
Ca/Mg		1,7	1,8	3,2	2,7	3,0	3,7	3,3	3,3	2,7
CEC	Cmo ⁺ /Kg	2,8	3,5	2,4	2,0	2,6	1,8	2,0	1,8	2,7
C	g/kg	27,5	23,3	29,8	26,2	26,7	30,9	25,5	26,7	33,9
N tot	g/Kg	3,3	3,1	3,8	3,3	3,1	3,5	2,8	3,0	4,2
P tot	g/Kg	1,0	1,2	0,9	0,9	0,9	0,7	0,7	0,7	0,8
C/N		8,3	7,5	7,9	8,1	8,6	8,8	9,0	8,9	8,0
C/P		27,5	20,1	32,6	27,9	30,0	44,0	34,5	38,7	39,9
NH4	‰	0,15	0,16	0,14	0,17	0,20	0,16	0,15	0,23	0,24
Pr	mg P/l	7,2	12,0	6,7	5,6	13,2	12,0	13,4	13,9	5,3
Pi	mg P/kg	4,1	8,6	0,6	1,6	5,6	0,6	2,0	1,3	0,3
Nem i	Ind/g sol	3,6	6,3	3,9	2,7	7,6	6,6	5,0	10,7	3,3
Pmic	mg P/kg	2,7	2,3	4,4	5,2	7,3	4,4	3,3	4,4	4,6

Mesure des variables pédologiques

Granulométrie

Elle consiste à déterminer l'importance pondérale relative des différentes classes de particules minérales d'un échantillon de sol tamisé à 2 mm, suivant l'échelle d'Atterberg réduite à

5 fractions (Argiles, Limons Fins ou LF, Limons Grossiers ou LG, Sables Fins ou SF, Sables Grossiers ou SG). Le dosage des particules les plus fines (A et LF) se fait par décantation et celui des particules plus grossières (LG, SF & SG) par tamisage à sec.

Capacité de rétention en eau

Pour déterminer cette variable, une carotte de sol est saturée en eau pendant 2 heures dans une bassine. L'eau en excès est perdue par ressuyage sur un plateau de sable pendant une heure. L'humidité du sol est ensuite mesurée à l'aide de l'humidimètre. La quantité perdue correspond à la capacité de rétention en eau de l'échantillon. Elle est exprimée en pourcentage.

Densité apparente (DA)

La DA correspond à la masse volumique du sol, c'est-à-dire la mesure du poids sec du sol contenu dans un volume connu. Un cylindre a été échantillonné dans chaque parcelle. Le volume exact du cylindre est connu. Le poids de sol contenu dans le cylindre est évalué au laboratoire après séchage à l'étuve et pesée (Yoro & Godo, 1990). La densité apparente de l'échantillon correspond au poids par volume et est exprimée en g.cm^{-3} .

Phosphore assimilable et microbien

Parallèlement, la quantité de phosphore de la biomasse microbienne, noté « P mic », a été estimée par la méthode de fumigation-extraction. L'équivalent de 2 g de sol sec a été agité pendant 16h en présence de bandes de résines échangeuses d'anions dans de l'eau distillée, de l'eau distillée et de l'hexanol et de l'eau avec apport de P (à concentration connue) pour corriger l'absorption du phosphore libéré durant la fumigation-extraction. Le phosphore est ensuite dosé par colorimétrie au vert de malachite. Cette méthode permet aussi de déterminer la teneur en phosphore assimilable (Pi ou phosphore inorganique) dans le sol. Les teneurs en P mic et en Pi sont exprimées en mg P kg^{-1} de sol sec.

CEC et des bases échangeables

Le sol est considéré comme un squelette porteur de charges électriques négatives. Ces charges, qui varient suivant le pH du sol, sont neutralisées par des cations (= porteurs de charges positives). Ces cations sont l'objet de la mesure des bases échangeables (BE). Pour obtenir ces informations, le complexe échangeable du sol est saturé à l'aide d'une solution de chlorure de cobaltihexammine en excès (formule $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+} 6\text{Cl}^-$). Les cations présents sur le complexe du sol sont déplacés par les ions cobaltihexammine. La CEC est calculée par différence entre le nombre de moles de charges + apportées dans la solution d'échange (cobaltihexammine) et la quantité restant en solution après échange. Pour ce faire, le cobalt en solution est dosé par spectrométrie d'absorption atomique en flamme. Les cations échangeables suivants : Ca^{2+} , Mg^{2+}

et K⁺ ont été dosés dans la solution d'échange. Les valeurs des CEC et BE sont exprimées en Cmol⁺/Kg.

Annexe 6 : Caractéristiques de la variété de riz pluviale B22 ou Fotsiambo

CARACTERES MORPHOLOGIQUES

Panicule

Longueur :	longue
Type :	intermédiaire

Feuille

Angle de la feuille paniculaire :	horizontal
--------------------------------------	------------

Grain

Couleur du paddy :	jaune foncé
Couleur de l'apex :	jaune
Longueur du paddy :	9,3 mm
Couleur du caryopse :	blanc
Longueur du caryopse :	7,5 mm
Longueur du grain usiné :	7,3 mm
Translucidité :	Petite tâche

CARACTERES AGRONOMIQUES

Région de culture :	Alaoatra Mangoro, Analamanga, Bongolova, Itasy
Saison de culture :	Pluviale
Aptitude culturale :	Pluviale
Hauteur du plant :	Haute
Rendement à l'usinage :	70%
Cycle (à maturité) :	92-100 jours
Poids 1000 grains (paddy) :	35,2 g
Tallage :	Moyen
Rendement moyen :	3-4 t /ha

Comportement vis-à-vis des bioagresseurs : résistance à la pyriculariose

Source : Catalogue National des Espèces et Variétés cultivées (CNEV), 2010

Annexe 7 : Transformation de variables

Les données agronomiques ont été codées en variables semi-quantitatives.

Parcelle	Fum_16	Com_16	Culture	Leg	Arb	Maïs	Prec
P1	0	1	1	0	1	1	0
P2	0	1	0	1	0	1	1
P3	1	0	0	0	1	0	1
P4	1	0	0	0	0	0	2
P5	1	0	1	0	0	0	0
P6	0	1	1	1	0	0	0
P7	1	0	1	0	0	1	0
P8	0	0	1	1	1	0	2
P9	0	0	0	0	0	0	0

Fum_16: apport de fumier (2016), 0: non/1: oui ; **Com_16**: présence de compost (2016), 0: non/1: oui ; **Culture**: présence de riz pour 2016, 0: non (autres) /1: oui (riz) ; **Leg**: présence de légumineuse au niveau de la parcelle, 0: non /1: oui (haricot, pois de terre) ; **Arb** : présence d'arbre au niveau de la parcelle, 0: non /1: oui ; **Maïs** : présence de maïs, 0: non /1: oui ; **Prec**: précédent cultural (0=bozaka, 1=riz, 2=autres)

Annexe 8 : Résultats des tests statistiques

Annexe 8.1 : ANOVA, nombre de nématode à la fin de l'expérimentation 1

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Nem\$variété	7	5,339	0,7627	0,867	0,546
Residuals	24	21,107	0,8795		

Annexe 8.2 : ANOVA, quantité de biomasse produite

- En fonction des traitements (toutes parcelles confondues)

Biomasse aérienne

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
biom1\$Parcelle	1	0,00011	0,0001085	0,035	0,853
Residuals	88	0,27630	0,0031398		

Biomasse racinaire

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
biom1\$Parcelle	1	0,00151	0,0015145	1,553	0,216
Residuals	88	0,08581	0,0009751		

➤ En fonction des parcelles

Biomasse aérienne

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
biom1\$trait	1	0,21314	0,026643	34.11	<2.10 ⁻¹⁶ ***
Residuals	81	0,06327	0,000781		

Signif. codes: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 '.' 0,1 ' ' 1

Biomasse racinaire

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
biom1\$trait	1	0,01887	0,0023590	2,792	0,00882 **
Residuals	81	0,06845	0,0008451		

Signif. codes: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 '.' 0,1 ' ' 1

Annexe 8.3 : Anova à 2 facteurs : traitement biologique (Nem) x Pratique (P)

Effet des facteurs étudiés (traitement et pratique) sur N total dans la plante

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
azote\$P	3	34,97	11,655	4,891	0,00354 **
azote\$Nem	1	0,25	0,248	0,104	0,74775
azote\$P:azote\$Nem	3	36,26	12,085	5,072	0,00285 **
Residuals	82	195,39	2.383		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Effet des facteurs étudiés (traitement et pratique) sur la biomasse aérienne de la plante

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
biom\$P	3	0,05172	0,017241	6,449	5,65.10 ⁻⁴ ***
biom\$Nem	1	0,00011	0,000108	0,041	0,840869
biom\$P:biom\$Nem	3	0,00536	0,001787	0,669	0,573778
Residuals	82	0,21922	0,002673		

Effet des facteurs étudiés (traitement et pratique) sur la biomasse racinaire de la plante

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
biom\$P	3	0,00470	0,001566	1,892	0,13735
biom\$Nem	1	0,00151	0,001515	1,830	0,17983
biome\$P:biom\$Nem	3	0,01325	0,004417	5,337	0,00208 **
Residuals	82	0,06786	0,000828		

Annexe 8.4 : ANOVA, quantité de N total

En fonction des traitements (B et B+N)

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
azote\$Mod	1	0,25	0,2481	0,082	0,775
Residuals	88	266,62	3,0297		

En fonction des parcelles

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
azote\$Mod	1	150,4	18,803	13,08	6,26.10 ⁻¹² ***
Residuals	81	116,4	1,437		

Annexe 8.5 : ANOVA, nombre de nématode à la fin de l'expérimentation

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Nem\$Parcelle	1	25,4	3,175	0,702	0,687
Residuals	8	135,6	4,521		

Annexe 9 : Les VIP dans les résultats de la régression PLS

