



*VIGNA UNGUICULATA*  
en symbiose avec  
*RHIZOBIUM* et *GLOMUS MOSSEAE*

**Mamadou GUEYE**

**O.R.S.T.O.M. = Paris - 1983**

*Cet ouvrage a fait l'objet d'une Thèse de Doctorat de troisième cycle (Écologie Microbienne) soutenue le 17 décembre 1982 devant l'Université Claude Bernard (Lyon I).*

« La loi du 11 mars 1957 n'autorisant, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article 41, d'une part, que les «copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective» et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, «toute représentation ou reproduction intégrale, ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause, est « illicite (alinéa 1er de l'article 40).

« Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc « une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du Code Pénal».

A ma femme,  
A mes parents et amis,  
Aux paysans de tous les pays du monde.

### Remerciements

Les travaux qui font l'objet de ce mémoire ont été réalisés au laboratoire de biologie des sols de l'ORSTOM à Dakar (SENEGAL) du 1er/11/1980 au 30/10/1982.

Je remercie tout particulièrement et très sincèrement Monsieur Y. DOMMARGUES qui, lors d'un stage que j'ai effectué dans le même laboratoire (1er au 31 Août 1977), a su m'intéresser à la fixation biologique de l'azote et à son intérêt agronomique. Au cours des travaux présentés dans ce mémoire, il m'a fait profiter de sa compétence et de son expérience. Qu'il trouve ici l'expression de ma très sincère reconnaissance.

J'exprime également mes remerciements et ma profonde gratitude à Mademoiselle A.M. GOUNOT qui a bien voulu présider ce jury, à Messieurs R. BARDIN et A. MOIROUD qui ont dirigé mes études avec sérieux et compétence à l'université Claude Bernard LYON 1 ainsi qu'à Madame V. GIANINAZZI-PEARSON qui m'a fait l'honneur de participer au jury de cette thèse.

Je remercie aussi très sincèrement H.G. DIEM et B. DREYFUS pour les conseils, le soutien et l'aide constants qu'ils m'ont apportés dans la réalisation de ce travail.

Mes remerciements s'adressent également à M. BOUREAU (ORSTOM-Dakar SENEGAL) pour sa précieuse aide technique, K. MULONGOY (IITA-Ibadan NIGERIA) et S. THIAW (CNRA-Bambey SENEGAL) pour l'octroi des cultivars de Vigna unguiculata.

Je remercie aussi tous les chercheurs et les techniciens du laboratoire de biologie des sols de l'ORSTOM de Dakar (SENEGAL) pour l'amitié et l'aide qu'ils m'ont témoignées tout au long de ce travail. Qu'ils me pardonnent si je peux les citer tous. Le concours de J. BAKHOUM, O. CAMARA, I. DIAWARA (dactylographie), L. FALL, L. MANEL et M. NIANG m'a été très précieux.

Enfin je remercie les autorités sénégalaises, la direction générale de l'ORSTOM et Monsieur Edgar J. DASILVA (division scientifique de l'UNESCO) qui m'ont offert le cadre et les moyens de réaliser ce travail.

*"On ne peut commander la nature qu'en lui obéissant"*

J.J. ROUSSEAU, 1750. Discours sur  
les Sciences et les Arts.

GLOSSAIRE

**BACTERISATION** : méthode qui consiste à enrober les graines des légumineuses avant semis avec une culture d'une ou des souches de Rhizobium. Synonyme : Inoculation.

**COMPETITIVITE** (competitiveness): aptitude d'une souche de Rhizobium à noduler une plante-hôte en présence d'autres souches de Rhizobium ayant la même spécificité; une souche très compétitive par définition forme 100% des nodules sur une plante donnée.

**CONCENTRATION D'UN ELEMENT**: quantité de cet élément contenue dans l'unité de poids sec de tissu végétal. Elle est exprimée en % ou en ppm.

**CULTIVAR** : variété cultivée d'une espèce végétale. La notion de cultivar est le parallèle de la notion de souche en microbiologie.

**EFFECTIVITE** (effectiveness): (ou efficacité). Aptitude d'une souche à fixer l'azote dans le nodule. Il existe divers degrés dans l'effectivité, une souche de Rhizobium peut être inefficace, peu effective, effective ou très effective.

**INDICE DE RECOLTE**: rapport de la valeur d'un paramètre (poids sec, teneur totale en azote, phosphore ou autre élément) caractérisant les graines à la valeur du même paramètre caractérisant les parties aériennes d'une plante au moment de la récolte:

$$( I.R. = \frac{\text{graines}}{\text{parties aériennes}} ) .$$

**INFECTIVITE** (infectiveness): aptitude d'une souche à induire la formation de nodule. La notion d'infectivité n'implique pas que la souche considérée soit effective.

**NITROGENASE** : complexe enzymatique responsable de la réduction de l'azote atmosphérique, formé de deux protéines: une ferromolybdo-protéine et une ferroprotéine.

**NODULATION** : résultat de la succession d'évènements se traduisant par l'apparition d'un nodule (ou nodosité).

**PERFORMANCES SYMBIOTIQUES** : ensemble des deux principaux caractères du système fixateur symbiotique, à savoir l'aptitude à noduler et l'aptitude à fixer l'azote atmosphérique.

**REPONSE A L'APPORT DE PHOSPHORE** : pourcentage d'augmentation relative d'un paramètre concernant la plante (poids sec, teneur totale en azote, phosphore ou autre élément) à la suite de l'apport de phosphate soluble.

**REPONSE A LA MYCORHIZATION**: pourcentage d'augmentation relative d'un paramètre concernant la plante (poids sec, teneur totale en azote, phosphore ou autre élément) à la suite de l'inoculation avec une souche de mycorhize.

**TENEUR TOTALE D'UN ELEMENT**: produit de la concentration de cet élément par le poids sec de tissu végétal.

## Résumé

En milieu stérile, par criblage, on a obtenu une souche de Rhizobium ORS407 compétitive et effective. Par criblage des cultivars de Vigna unguiculata, on a également obtenu un système très performant constitué par le cultivar 58-185 associé à ORS407. Mais lorsque l'on a utilisé ORS407 au champ (c'est à dire dans un sol non stérile) l'inoculation n'a pas accru le rendement de Vigna unguiculata probablement en raison du fait que l'effectivité de ORS407 n'était pas supérieure à celle des souches natives.

La réponse de Vigna unguiculata à la mycorhization par Glomus mosseae varie en fonction des cultivars considérés; les cultivars les plus intéressants à ce point de vue étaient les suivants : 58-185, Vita 1.

L'apport de phosphore (même à dose élevée 80 ppm) est favorable à la mycorhization; il en est de même pour le zinc apporté à la dose de 2 à 5 ppm.

Chez Vigna unguiculata, inoculé avec Glomus mosseae, l'absorption du phosphore comporte les quatre phases suivantes: établissement de la symbiose mycorhizienne, accroissement de l'activité mycorhizienne, décroissance de l'activité mycorhizienne et stabilisation de l'activité mycorhizienne.

Ces résultats ont été discutés en vue de leur exploitation éventuelle pour l'amélioration de la croissance et de la fixation de l'azote par Vigna unguiculata.

MOT-CLES

Vigna unguiculata - Rhizobium - Effectivité - Compétitivité - Fixation de l'azote - Endomycorhizes à vésicules et à arbuscules - Glomus mosseae - Phosphore - Zinc.

## Introduction

La mise en valeur des sols tropicaux exige l'apport de quantités importantes d'engrais azotés qui sont très coûteux. La fixation de l'azote permet de réduire cette consommation d'engrais. Nous avons étudié la fixation de l'azote dans le cas d'une légumineuse tropicale, Vigna unguiculata.

Vigna unguiculata [L.] Walp, ou cowpea, ou niébé<sup>2</sup>, originaire d'Afrique, vraisemblablement du Nigéria (RACHIE et ROBERT, 1974), est une plante nutritivement importante car ses graines sont très riches en protéines (tableau 1). D'autre part, il entre dans la composition de beaucoup de mets africains et ses feuilles peuvent constituer un excellent foin pour le bétail.

Tableau 1. Composition nutritionnelle pour 100g de graines sèches de Vigna unguiculata (TOURY et al., 1967)

Calories	342
Protides (g)	23,1
Lipides (g)	1,4
Glucides (g)	61,4

Vigna unguiculata est très cultivé au Sénégal (Fig. 1) et généralement en alternance avec le sorgho, le maïs ou le mil. Les rendements sont généralement faibles : 45000 t pour une superficie de 120000 ha étaient prévues en 1973 (SENE et al., 1971) Ceci s'explique par l'intervention de divers facteurs limitants dont le niveau relativement faible de la fertilité chimique des sols et probablement aussi de la faible efficacité des symbioses racinaires.

Le travail présenté ici est une contribution à l'étude du rôle de deux symbiotes racinaires, Rhizobium et Glomus mosseae, dans la croissance et la nutrition de Vigna unguiculata cultivé dans des sols déficients en azote, phosphore et accessoirement zinc.

<sup>2</sup>Nom de Vigna unguiculata en Wolof, principale langue nationale du SENEGAL.

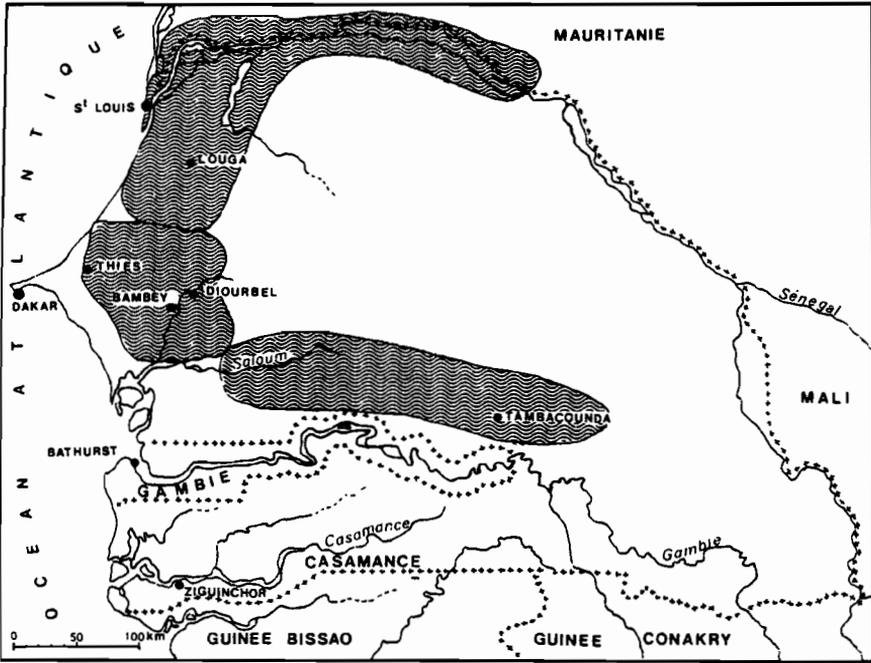


Fig 1.

## LE SENEGAL.

Zones de culture de *Vigna unguiculata*.

(SENE, LAURENT et NOIAYE 1971).

**Chapitre I**

**RAPPEL CONCERNANT LA FIXATION BIOLOGIQUE DE L'AZOTE  
CHEZ *VIGNA UNGUICULATA* (L.) Walp.**



### 1. Symbiose Vigna unguiculata-Rhizobium

De très nombreux auteurs ont observé et rapporté l'existence de la symbiose Vigna unguiculata-Rhizobium (BAGYARAJ et al., 1978; DAY, J.M. et al., 1978; MINCHIN, F.R. et al., 1978; STAYER, 1978). Comme pour toutes les symbioses fixatrices d'azote, l'association Vigna unguiculata-Rhizobium est régie par trois groupes de facteurs : (1) des facteurs inhérents aux Rhizobium (effectivité et compétitivité des Rhizobium), (2) des facteurs inhérents à la plante-hôte (3) des facteurs climatiques et édaphiques.

#### 1.1. Effectivité des Rhizobium

L'effectivité d'une souche de Rhizobium définit son aptitude à fixer l'azote. L'effectivité d'une souche de Rhizobium est influencée par :

- 1/ des facteurs intrinsèques: l'effectivité varie considérablement dans un groupe de Rhizobium nodulant la même légumineuse. Ainsi MULONGOY et al. (1980) ont vérifié qu'il existe une grande variation de l'effectivité des Rhizobium isolés de Vigna unguiculata poussant au Nigéria.
- 2/ des facteurs extrinsèques: l'effectivité des Rhizobium varie avec la température, mais la température optimale de fixation se situe autour de 33°C (DART et MERCER, 1955 in RACHIE et ROBERTS, 1974). L'application de phosphore augmente le pouvoir fixateur. L'effectivité des Rhizobium peut varier également suivant les localités (MULONGOY, 1980).

#### 1.2. Compétitivité des Rhizobium

Dans chaque sol, il existe tout un assortiment de souches natives de Rhizobium capables de noduler une légumineuse donnée. Lors de l'introduction d'une souche exogène, celle-ci se trouve donc en compétition avec les souches natives. On désigne sous le terme de compétitivité, l'aptitude d'une souche de Rhizobium à

noduler une légumineuse hôte en présence d'autres souches ayant la même spécificité. Chez Vigna unguiculata, SANOGHO (1980), utilisant la technique de marquage par les antibiotiques, a montré une grande variation de la compétitivité des Rhizobium. On peut expliquer la compétitivité par deux hypothèses :

- 1/ la compétitivité peut être liée au caractère intrinsèque d'une souche [caractère qui peut être fondé par exemple sur la production de bactériocines (SCHWINGHAMER, 1975) et sur la mobilité];
- 2/ la compétitivité peut être liée à la supériorité numérique d'un souche (AMARGER, 1979): lorsque plusieurs souches de Rhizobium effectives sont en compétition, le nombre de nodules formés par une souche donnée A est dans une certaine mesure relié au nombre de Rhizobium A présents dans la rhizosphère.

La notion de compétitivité se distingue de la notion d'infectivité. En effet, des souches de Rhizobium non infectives peuvent être très compétitives. WINARNO et LIE (1979), ont montré que des souches de Rhizobium, quoique ne nodulant pas le pois, étaient plus compétitives que des Rhizobium infectifs. Ce type de compétition est montré sur le soja, dans le cas d'une souche non infective, qui sous certaines conditions supprime toute nodulation (JARA, 1981).

### 1.3. Influence du génotype de la plante-hôte.

Beaucoup d'auteurs ont souligné l'importance des facteurs génétiques de la plante-hôte dans la symbiose. Il existe en effet chez la plante-hôte des facteurs héréditaires contrôlant non seulement la résistance à l'infection, le temps d'apparition des nodules et le nombre de ces nodules, mais surtout l'effectivité de la symbiose fixatrice. Chez Vigna unguiculata, la fixation est contrôlée par plusieurs gènes ainsi que l'ont montré MILLER et ZARY (1981). Les expériences de ces auteurs ont montré que des gènes spécifiques de la plante pouvaient régir la quantité d'azote fixé ( $C_2H_2$  réduit).

## 2. Symbiose-Vigna unguiculata-endomycorhize à vésicules et à arbuscules (VA) [Planche I]

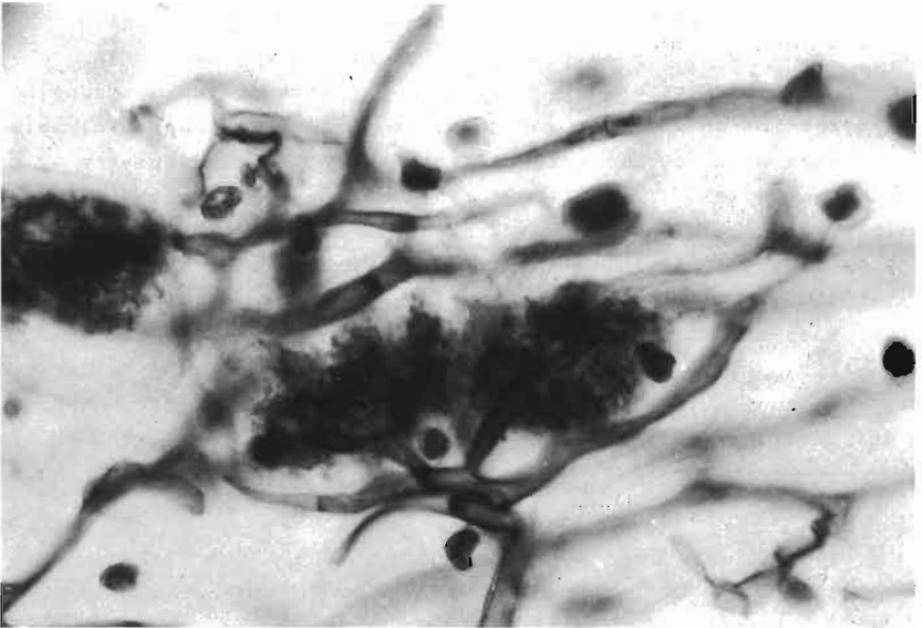
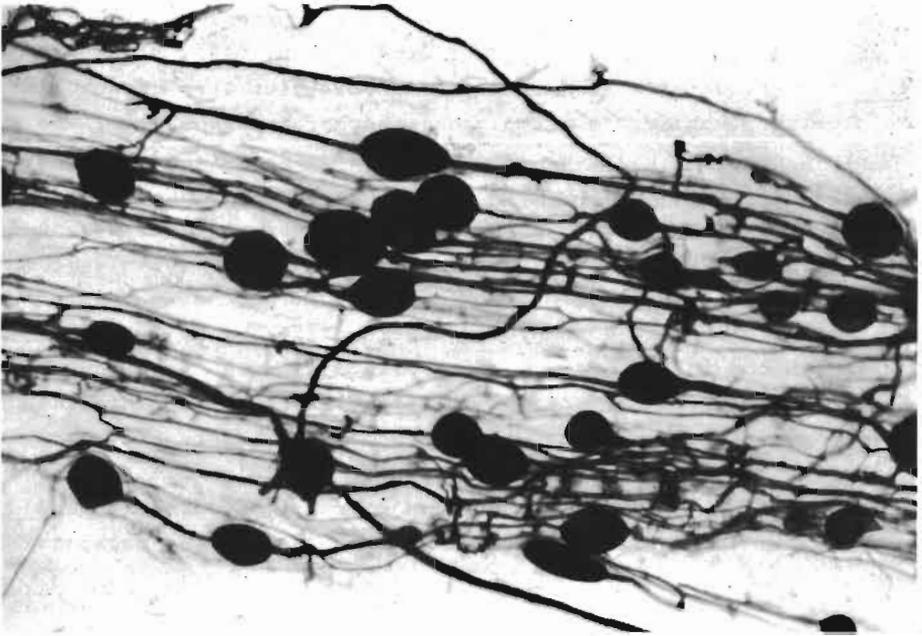
On admet en général que l'association légumineuse-endomycorhize VA ne présente pas de spécificité (MOSSE, 1972; SANDERS et al. 1977). En effet une même légumineuse peut être infectée par plusieurs souches de champignons endomycorhiziens VA. Il en est ainsi de Vigna unguiculata qui peut être infecté par Glomus mosseae, Glomus macrocarpus, Glomus epigaeus ou Gigaspora margarita (OLLIVIER, 1981). Aussi, une même souche de champignon endomycorhizien VA peut s'associer à de nombreuses espèces végétales (MOSSE et al., 1973). Mais ce concept ne doit pas faire oublier le fait que la plante-hôte peut répondre différemment à l'endomycorhization. Lorsqu'il existe, le principal effet bénéfique de cette association réside dans la stimulation de la croissance de la légumineuse. Cette stimulation de la croissance est essentiellement, mais pas uniquement, la conséquence d'une amélioration de la nutrition minérale qui semble s'exercer spécialement dans des conditions édaphiques marginales (sols carencés en phosphore et en certains oligoéléments).

### 2.1. Concentration et teneur totale en phosphore

L'apport de phosphore soluble aux plantes non mycorhizées provoque une stimulation de la croissance comparable à celle des plantes inoculées avec un champignon endomycorhizien VA (MOSSE, 1973, MENGE et al., 1978). La présence des champignons endomycorhiziens VA améliore donc l'absorption du phosphore, mais ces champignons ne solubilisent pas les complexes phosphatés (HAYMAN et MOSSE, 1972). L'effet bénéfique des endomycorhizes VA se manifeste avec le maximum d'intensité lorsque la teneur du sol en phosphore assimilable est de l'ordre de 10 à 40 ppm.<sup>4</sup> En fait, l'inoculation avec les champignons endomycorhiziens VA a pour effet d'améliorer le rendement des engrais phosphatés solubles apportés à faible dose par l'agriculteur. Dans le cas de Vigna unguiculata, l'amélioration de l'absorption de phosphore a été vérifiée par ISLAM et AYANABA (1981), OLLIVIER (1981):

<sup>4</sup>OLLIVIER, 1981.

A



B

la teneur totale en phosphore contenu dans les parties aériennes est toujours plus élevée dans les plantes mycorhizées que dans les plantes non mycorhizées.

### 2.2. Concentration en azote

L'augmentation de la concentration en azote a été observée chez des légumineuses infectées par les champignons endomycorhiziens VA (MOSSE et al., 1976). Cet effet serait dû plutôt à l'augmentation de la nodulation et de l'activité nitrogénasique résultant de l'amélioration de la nutrition phosphatée qu'à l'augmentation de l'absorption directe de nitrate ou d'azote ammoniacal du sol.

### 2.3. Concentration en oligoéléments

Quand la diffusion d'un oligoélément dans le sol devient un facteur limitant pour la croissance de la plante, les champignons endomycorhiziens VA jouent un rôle dans l'assimilation de cet élément (RHODES et GERDEMAN, 1978). Les endomycorhizes VA améliorent substantiellement l'absorption des éléments pas ou peu mobiles tels que le zinc et le cuivre, deux oligoéléments qui sont souvent à des teneurs plus fortes dans les plantes mycorhizées que dans les plantes non mycorhizées (WARCUP, 1975; MENGE et al., 1978). L'infection mycorhizienne peut augmenter l'absorption du zinc et du cuivre à partir des solutions de sol renfermant une faible teneur de ces oligoéléments (LAMBERT et al., 1979).

### 2.4. Influence du génotype de la plante-hôte

Il est admis que le pouvoir infectif des endomycorhizes VA varie avec la souche, mais il y a très peu d'informations sur le rôle du génotype de la plante-hôte dans la réponse à la mycorhization. Pour un même champignon endomycorhizien VA, la réponse à la mycorhization d'une espèce végétale peut varier d'un cultivar à un autre. Cet effet variétal a été mis en évidence par

#### PLANCHE I

Photo A: Vésicules de Glomus mosseae dans une racine de Vigna unguiculata cv. 58-185 (x 65)

Photo B: Arbuscules de Glomus mosseae dans une racine de Vigna unguiculata cv. 58-185 (x 65)

BERTHEAU et al (1980) dans le cas du blé et par OLLIVIER (1981) dans le cas de Vigna unguiculata.

Pour résumer cette introduction, on peut dire que les travaux sur l'écologie de la symbiose Vigna unguiculata-Rhizobium sont assez peu développés. Nous n'avons pratiquement pas d'informations sur la compétition entre Rhizobium de Vigna unguiculata. Il n'existe pratiquement aucune étude sur le comportement de cette association symbiotique dans le cas de sols pauvres, carencés non seulement en azote, mais aussi en phosphore où les endomycorhizes VA pourraient jouer un rôle important. Notre objectif a donc été de tenter d'approfondir les aspects suivants de l'association de Vigna unguiculata avec Rhizobium sp. et Glomus mosseae:

- 1/ effectivité et compétitivité des souches de Rhizobium cowpea sur Vigna unguiculata.
- 2/ influence du génotype de la plante-hôte sur la symbiose Vigna unguiculata-Glomus mosseae.
- 3/ réponse de Vigna unguiculata à l'inoculation avec Glomus mosseae en présence de différentes doses de phosphore et de zinc.
- 4/ étude cinétique de la réponse de Vigna unguiculata à l'inoculation par Glomus mosseae.

**Chapitre II**

**MATÉRIEL ET MÉTHODES**



## 1. Souches de microorganismes

### 1.1. Souches de Rhizobium

Nous avons utilisé une collection de huit souches de Rhizobium qui appartiennent au vaste groupe Rhizobium cowpea (Tableau 2). Nous avons cultivé toutes ces souches à 30°C, sous agitation constante pendant 6 à 7 jours à raison de 150 tours/mn, dans le milieu YEM contenant par litre d'eau distillée  $K_2HPO_4$  : 0,5g;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  : 0,2 g; NaCl: 0,1 g; mannitol: 10 g; levure: 1 g. Nous avons ajusté le milieu à un pH égal à 6,8.

### 1.2. Souche de champignon endomycorhizien VA

Nous avons utilisé une souche de champignon endomycorhizien VA souche de Glomus mosseae, provenant de la station expérimentale de Rothamsted (ANGLETERRE). Nous avons multiplié le champignon sur des racines de Vigna unguiculata cultivé sur sol stérile pendant 7 semaines: les modalités de l'inoculation sont décrites au paragraphe 6.2. de ce chapitre.

## 2. Anticorps fluorescents

Avec la collaboration de E.L. SCHMIDT, nous avons préparé les anticorps correspondant aux souches de Rhizobium. Nous avons ensuite marqué ces anticorps à l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC).

### 2.1. Préparation des antigènes

Nous avons centrifugé une culture pure de Rhizobium âgée de 6 jours à 5000 g pendant 15mn. Nous avons ensuite lavé les cellules trois fois avec de l'eau physiologique stérile (0,85% NaCl). Après lavage, nous les avons mises en suspension dans de l'eau physiologique stérile 0,85% NaCl jusqu'à une concentration de  $10^9$  cellules de Rhizobium/ml. Après, nous avons maintenu la suspension à 100°C pendant 1 heure pour éliminer les antigènes flagellaires. Nous avons conservé les antigènes ainsi obtenus à + 4°C en pré-

Tableau 2. Liste des souches de Rhizobium cowpea utilisées

<u>Souches</u>	<u>Hôtes d'origine</u>	<u>Laboratoire d'isolement</u>
ORS 403	<u>Glycine max</u> (cv. Malayan)	ORSTOM <sup>(1)</sup> - Dakar SENEGAL
ORS 406	<u>Glycine max</u> (cv. Malayan)	ORSTOM - Dakar SENEGAL
ORS 407	<u>Glycine max</u> (cv. Malayan)	ORSTOM - Dakar SENEGAL
NIG	<u>Glycine max</u> (cv. Malayan)	IITA <sup>(2)</sup> - Ibadan NIGERIA
CB 756**	<u>Macrotyloma africanum</u>	CSIRO <sup>(3)</sup> - Brisbane AUSTRALIE
BA11	<u>Arachis hypogaea</u>	Nitragin Company USA
THA 205***	<u>Arachis hypogaea</u>	THAÏLANDE
TAL 1000	<u>Arachis hypogaea</u>	NIFTAL Hawaii USA

\*\* CB756 est d'origine rhodésienne, mais diffusé par le CSIRO

\*\*\*THA205 est d'origine thaïlandaise, mais existe dans la collection de Rhizobium de l'USDA (United State Department of Agriculture) à Beltsville.

(1) ORSTOM: Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer.

(2) IITA : International Institute of Tropical Agriculture

(3) CSIRO: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization.

sence de merthiolate de sodium 0,1% (sodium-éthyl mercurisalicylate:  $C_9H_9O_2HgNa$  S).

### 2.2. Production de l'antisérum

Nous avons obtenu l'antisérum par injections répétées d'antigène à un lapin âgé de 1 mois selon le protocole décrit au tableau 3. Au 16ème jour, nous avons déterminé le titre du sang récolté par agglutination indirecte en utilisant du sérum de chèvre antiglobulines de lapin marqué au FITC. Le titre étant supérieur à 1/1280, nous avons laissé le lapin à jeun jusqu'au 18ème jour pour une récolte totale ou partielle du sang. Si le titre était inférieur à 1/1280, des injections sous cutanées de 2ml d'antigène seraient nécessaires chaque semaine jusqu'à l'obtention du titre désiré. Nous avons purifié l'antisérum recueilli par précipitations successives au sulfate d'ammonium 3,9M dont nous avons éliminé l'excès par dialyse contre de l'eau physiologique 0,85% NaCl, pH = 7,2.

### 2.3. Conjugaison des anticorps et du fluorochrome

Après la détermination de la teneur en protéines de l'antisérum par la méthode de LOWRY (1951), nous avons conjugué les anticorps avec une solution de FITC selon la méthode de SCHMIDT (1968), pendant 6 heures, à l'abri de la lumière et en présence de merthiolate de sodium 0,1%. Nous avons éliminé l'excès de fluorochrome par passage du conjugué sur une colonne de séphadex G50 (Sigma) et élution avec un tampon phosphate salin pH 7,2 (PBS: 0,01M phosphate 0,15M NaCl).

### 2.4. Contrôle de la spécificité des anticorps fluorescents (Planche II).

Les tests de spécificité ont porté sur les anticorps fluorescents correspondant aux huit souches de Rhizobium cowpea de notre collection (ORS 403, ORS 406, ORS 407, NIG, CB756, 3A11, THA 205 et TAL 1000) et sept autres souches de Rhizobium japonicum. Ils ont montré (tableau 4) que tous les anticorps sont spécifiques

Tableau 3. Protocole d'immunisation pour l'obtention  
d'anticorps de lapin anti-Rhizobium

Jours	Opération	Volume (ml)
1	Injection IV	0,5
2	Injection IV	1,0
3	Injection IV	1,5
4-5-6	Repos	
7	Injection IV	1,5
8	Injection IV	2,0
9	Injection IV et SC	4,0 (2 et 2)
16	Récolte de sang pour la détermination du titre	
18	Ponction cardiaque	30
25	Injection SC	2
32	Ponction cardiaque	40

IV : Intra Veineuse

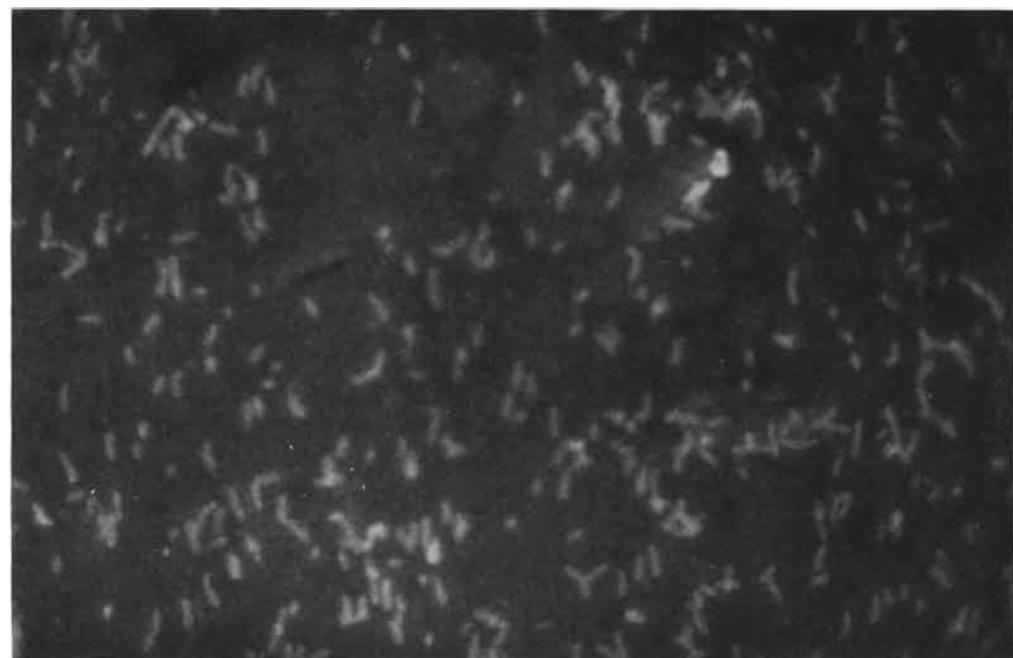
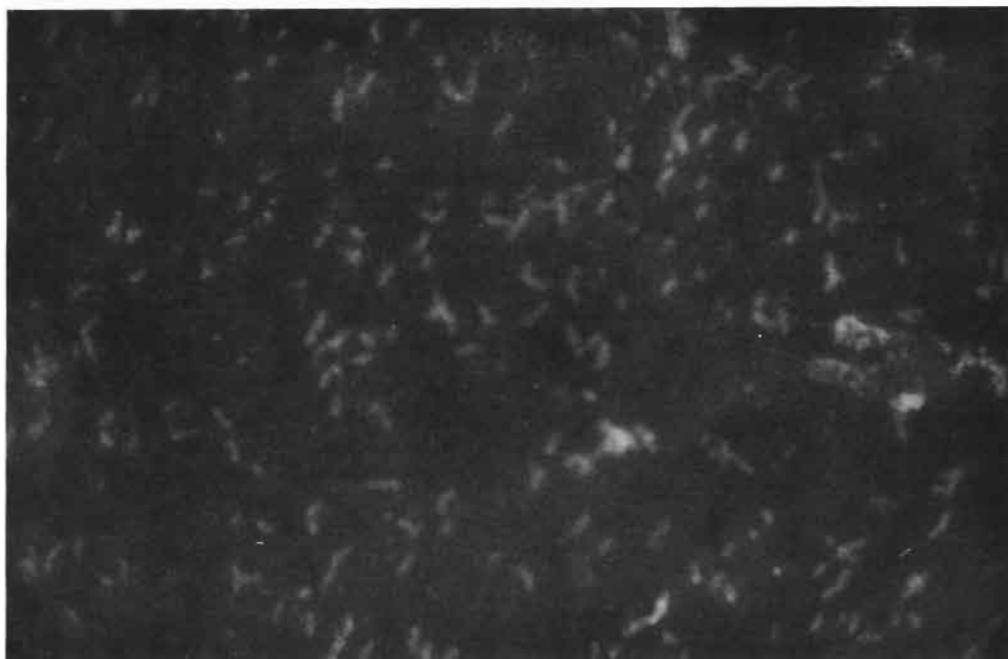
SC : Sous Cutanée

PLANCHE II

Photo A: Rhizobium ORS 403 marqué avec l'anticorps fluorescent  
anti ORS 403 (X 100)

Photo B: Rhizobium TAL1000 marqué avec l'anticorps fluorescent  
anti TAL 1000 (X 100)

**A**



**B**

Tableau 4. Test de contrôle de spécificité des anticorps fluorescents utilisés

Souches testées	Anticorps fluorescents anti -							
	ORS 403	ORS 406	ORS 407	NIG	CB 756	8A11	THA 205	TAL 1000
<u>Rhizobium cowpea</u>								
ORS 403	+	-	-	-	-	-	-	-
ORS 406	-	+	-	-	-	-	-	-
ORS 407	-	-	+	-	-	-	-	-
NIG	-	-	-	+	-	-	-	-
CB 756	-	-	-	-	+	-	-	-
8A11	-	-	-	-	-	+	-	-
THA 205	-	-	-	-	-	-	+	-
TAL 1000	-	-	-	-	-	-	-	+
<u>Rhizobium japonicum</u> **								
USDA 31 (Beltsville USA)	-	+	-	-	-	-	-	-
USDA 110 (Beltsville USA)	-	-	-	-	-	-	-	-
USDA 123 (Beltsville USA)	-	-	-	-	-	-	-	-
USDA 135 (Beltsville USA)	-	-	-	-	-	-	-	-
USDA 138 (Beltsville USA)	-	-	-	-	-	-	-	-
61A72 (Nitragin Company USA)-	-	-	-	-	-	-	-	-
61A93 (Nitragin Company USA)	-	-	-	-	-	-	-	-
+ : fluorescence positive      - : fluorescence négative								
** : Nous avons indiqué entre parenthèses les laboratoires détenteurs des souches								

sauf l'anticorps anti-ORS 406 qui réagit positivement avec la souche de Rhizobium japonicum USDA 31.

## 2.5. Repérage d'une souche de Rhizobium donnée

### 2.5.1. Dans un nodule

Dans le cadre de l'étude de la compétition entre différentes souches de Rhizobium, nous avons récolté des nodules de Vigna unguiculata âgé de 21 jours et qui avait été préalablement inoculé par une souche ou un mélange de souches de Rhizobium en proportions égales. Nous avons stérilisé superficiellement les nodules par immersion dans de l'éthanol 95% pendant 30 s. Nous avons ensuite plongé chaque nodule dans un tube à hémolyse contenant 1ml d'eau distillée stérile. Nous avons écrasé tous les nodules à l'aide d'une tige en verre préalablement plongée dans l'éthanol et passée à la flamme. Après nous avons prélevé une goutte de chaque broyat que nous avons déposée sur une lame de verre nettoyée à l'éthanol. Ensuite, nous avons appliqué sur le frottis séché une goutte d'un anticorps fluorescent donné. Après 30mn d'incubation dans une enceinte humide, à la température ambiante, nous avons éliminé l'excès d'anticorps fluorescent par lavage à l'eau distillée.

### 2.5.2. Dans un sol

Pour observer les Rhizobium présents dans un sol, nous avons procédé comme suit. Nous avons pris des membranes de filtration millipore en acétate de cellulose HBGO 2500, 0,45µm, 25mm que nous avons colorées à l'encre de chine. Nous avons éliminé l'excès de l'encre de chine par lavage à l'eau du robinet. Nous avons ensuite versé sur ces filtres une suspension de sol non stérile dispersé au WARING BLENDER et floculé par un mélange  $\text{Ca(OH)}_2$ - $\text{MgCO}_3$ :2-5 (poids à poids). Nous avons ensuite déposé sur les membranes de la gélatine rhodamine isothiocynate d'abord, et ensuite après séchage les anticorps fluorescents correspondant aux souches de Rhizobium de notre collection. Cette méthode nous

a permis de savoir si le sol étudié renfermait ou non une des souches de Rhizobium de notre collection ou une autre souche de Rhizobium ayant une réaction croisée avec une souche de la collection.

### 2.6. Observations microscopiques

Nous avons observé toutes les préparations, lames de verre ou membranes d'acétate de cellulose, sur un microscope à épifluorescence équipé d'une lampe à vapeur de mercure HBO50, d'un filtre d'excitation XP490 et d'un filtre d'arrêt FP520.

### 3. Cultivars de Vigna unguiculata

Nous avons utilisé les cultivars de Vigna unguiculata suivants :

- des cultivars fournis par le Centre de Recherche Agronomique de Bambey, principale station expérimentale de l'Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (ISRA): 58-185, 59-25, Ndiambour et Bambey 30;
  - des cultivars fournis par l'International Institute of Tropical Agriculture de Ibadan (NIGERIA): TVu 179, TVu 652, Vita 1, Vita 4; Vita 5, Vita 7, Vita 8, TVx 1850-01E et TVx 1952-01E.
- La durée des cycles végétatifs de ces cultivars varie entre 80 et 90 jours.

### 4. Sols

Nous avons axé notre étude sur trois types de sol: sol Dior de surface prélevé à Bel-Air (Dakar), sol Dior de profondeur prélevé également à Bel-Air et sol Dek prélevé à Bambey. Les principales caractéristiques physico-chimiques sont résumées dans le tableau 5.

### 5. Culture des plantes

#### 5.1. Germination des graines

Nous avons stérilisé les graines par trempage dans  $HgCl_2$  0,1% pendant 3mn. Après trois lavages soigneux avec de l'eau distillée

Tableau 5. Caractéristiques physico-chimiques des sols utilisés

Sol	ppm					Granulométrie %			pH(KCl)	pH (eau)
	C total	N total	N minéralisable	P total	P assimilable (OLSEN,1954)	Argile	Limon	Sable		
Dek (Bambey)	5100	380	103,5	74,8	4,4	6,4	7,3	86,3	7,0	7,8
Dior (Bel-Air surface)	3900	340	69,0	206,8	26,4	4,5	2,7	92,8	6,5	7,2
Dior (Bel-Air profondeur 50cm)	840	60	40,9	96,8	22,0	3,7	2,1	94,2	4,8	5,7

Toutes ces analyses ont été effectuées au laboratoire de Chimie de l'ORSTOM de Dakar (SENEGAL).  
Les caractéristiques sont identiques après stérilisation.

stérile, nous les avons mises à germer à 30°C dans des boîtes de Petri contenant de l'eau gélosée à 0,9% stérile ou dans des cuvettes contenant du sable stérile et recouvertes par une toile en matière plastique. Les plantules ainsi obtenues sont repiquées dans des jarres Léonard ou des pots en terre cuite.

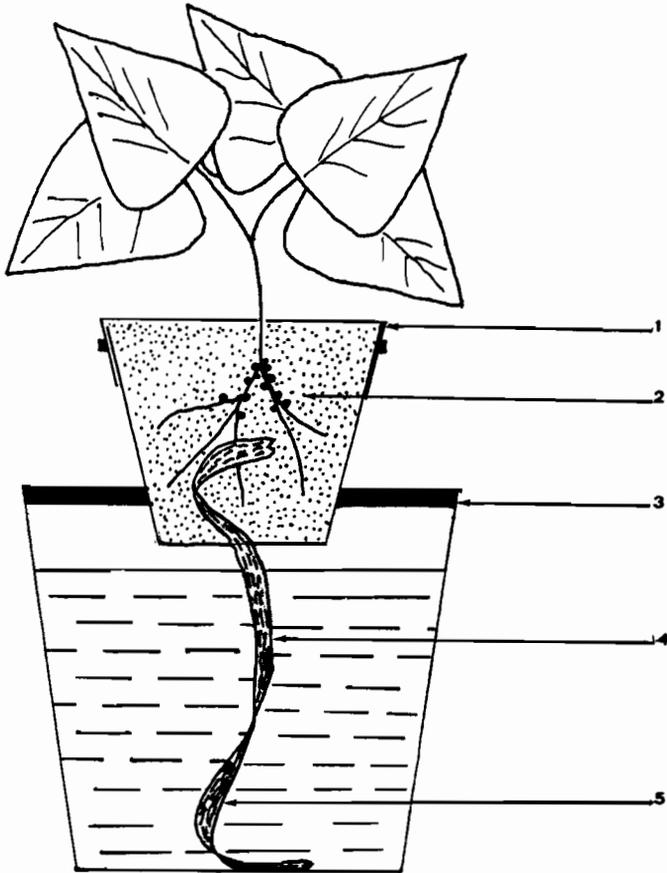
### 5.2. Culture des plantes dans les jarres Léonard modifiées

Nous avons utilisé un dispositif voisin de celui des jarres Léonard (Vincent, 1970). Une jarre Léonard modifiée (Fig.2) est un ensemble de deux pots encastrés par l'intermédiaire d'une couronne de polystyrène expansé. Le pot inférieur (diamètre:14cm; hauteur: 12cm) peint en noir pour la protection contre la lumière (algues) contient de l'eau et non une solution nutritive pour éviter toute concentration ultérieure d'éléments minéraux dans le pot supérieur (diamètre: 6cm; hauteur: 8cm) qui reçoit une mèche stérile et du sol stérile. La mèche trempe dans l'eau du pot inférieur. Le pot supérieur est recouvert de papier aluminium en double épaisseur maintenu par un bracelet de caoutchouc. Il est préférable, à la place du papier aluminium, de déposer sur le sol stérile, du sable hydrofugé et stérilisé. Pour obtenir du sable hydrofugé, nous avons mélangé sous la hotte, 1 kg de sable avec 100ml d'une solution de paraffine 6% dans du toluène. Nous avons repiqué les plantules obtenues comme indiqué au § 5.1 dans ces dispositifs Léonard à raison de une par pot et une fois par semaine, nous avons changé l'eau du pot inférieur.

### 5.3. Culture des plantes dans les pots en terre cuite

Les sols, légèrement humidifiés<sup>(\*)</sup> ont été répartis dans des pots en terre cuite de 18cm de diamètre à raison de 1,5 kg de sol par pot. Les pots remplis de sol et recouverts de papier "Craft" ont été ensuite stérilisés à l'autoclave pendant 1 heure à 120°C. Nous avons repiqué les plantules obtenues comme indiquées au § 5.1. dans ces pots à raison de deux par pots. Nous avons arrosé quotidiennement avec 100ml d'eau du robinet. En plus, une fois

(\*) Approximativement 50% de la capacité au champ.



1. Papier Aluminium
2. Sol stérile
3. Fibre de polystyrène
4. Mèche
5. Eau

2 cm

Fig. 2. - Culture d'une plante de *Vigna unguiculata* en jarre Léonard modifiée.

par semaine, nous avons arrosé avec 100ml de solution HEWITT sans azote ni phosphore contenant par litre  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ : 90 g;  $K_2SO_4$ : 87g;  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ : 147 g; Fe-EDTA: 2g; solution d'oligoéléments: 1ml. La solution d'oligoéléments renferme par litre:  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ : 2,23g;  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ : 0,24;  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ : 0,29 g;  $H_3BO_3$ : 3,10 g;  $Na_2O_4Mo$ ,  $2H_2O$ : 0,25 g; NaCl: 5,9 g. La solution HEWITT employée pour l'arrosage a été diluée au quart. Tous les pots ont été placés en plein air sur des tables (h = 1m) pour éviter toute contamination ultérieure causée généralement par les vents de sable fréquents en saison sèche.

#### 5.4. Culture des plantes dans les buses

Il s'agit de dispositifs voisins de ceux utilisés par LEGG et SLOGER, (1975) et qui sont constitués de cylindres (ou buses) enfoncés dans le sol. Ces cylindres, en chlorure de polyvinyl, sont ouverts aux deux extrémités (diamètre : 30cm; hauteur: 50cm). Au fond de chaque cylindre, nous avons disposé une toile en matière plastique percée de trous assez grands pour faciliter le drainage dans le cas d'un arrosage trop important mais trop petits pour laisser passer les racines. Nous avons rempli les cylindres avec du sol non stérile. Le sol nécessaire au remplissage de toutes les buses a été préalablement homogénéisé. Cinq plantules obtenues comme indiqué au § 5.1, ont été plantées dans chaque buse et nous avons apporté la solution HEWITT diluée au quart une fois par semaine. L'utilisation des buses présente deux avantages: (a) les plantes se trouvent dans des conditions très voisines de celles qui existent au champ et (b) l'homogénéisation du sol permet d'éliminer l'hétérogénéité considérable que l'on rencontre dans les sols tropicaux.

### 6. Méthodes d'inoculation

#### 6.1. Inoculation avec les souches de Rhizobium

Au cours du semis ou du repiquage, nous avons procédé à l'inoculation en versant sur chaque graine (1ml) ou sur la radicle de chaque plantule (5ml), une suspension de Rhizobium

provenant d'une culture pure âgée de 6 jours et contenant  $10^9$  cellules par ml. Pour les pots et les buses l'inoculation a été identique.

#### 6.2. Inoculation avec *Glomus mosseae*

Au moment de l'expérience, nous avons soigneusement prélevé des racines infectées par *Glomus mosseae* que nous avons lavées à l'eau du robinet. Puis nous avons découpé ces racines en fragments de 1cm. Chaque fragment comportait une vingtaine de spores et une quantité indéterminée de hyphes de *Glomus mosseae*. L'inoculation a consisté à appliquer la même quantité de ces fragments (1g de poids frais) contre les radicelles des plantules au moment du repiquage. Les plantules témoins non mycorhizées ont reçu 1ml de l'eau de lavage des racines infectées, filtrée sur papier Whatmann n°1 afin qu'elles soient contaminées avec les mêmes microorganismes à l'exception du champignon endomycorhizien VA retenu sur le filtre.

#### 7. Détermination de la fréquence et de l'intensité d'infection mycorhizienne.

D'une plante de *Vigna unguiculata* âgée de 7 semaines, nous avons récupéré des fragments du système racinaire que nous avons colorés au bleu de trypan selon la méthode de PHILLIPS et HAYMAN (1970); nous avons mis les fragments dans des tubes à essai contenant 5ml de KOH 10% qui ont été ensuite placés au bain marie 90°C pendant 1 h. Nous avons ensuite rincé les fragments racinaires à l'eau et, après addition de HCl 1%, nous les avons colorés pendant 5mn à 90°C dans une solution de bleu de trypan 0,1% dans du lactophénol. Après un deuxième rinçage, nous avons soigneusement disposé les fragments de racine sur un papier filtre placé dans une boîte de Pétri. La lecture se fait à la loupe binoculaire (X65). La fréquence (F) et l'intensité (I) d'infection sont déterminées ainsi :

$$F = \frac{\text{nombre de fragments infectés}}{\text{nombre total de segments observés}} \times 100$$

$$I = \frac{\text{longueur infectée du segment}}{\text{longueur totale du segment infecté}} \times 100$$

## 8. Méthode d'analyse

### 8.1. Pesée des parties aériennes des plantes

Nous avons séché les parties aériennes des plantes à l'étuve 56°C pendant 72 heures jusqu'à poids constant.

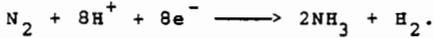
### 8.2. Détermination de la quantité d'azote fixé

#### 8.2.1. Activité réductrice d'acétylène (ARA)

Tous les 3 jours, et à la même heure, nous avons mesuré l'ARA des plantes. Nous avons alors introduit le système racinaire nodulé de chaque plante dans un flacon de 250ml que nous avons fermé hermétiquement. Ensuite, nous avons injecté en surpression 12ml d'acétylène dans le flacon. Après 30 et 60mn d'incubation à 25°C, nous avons effectué des prélèvements gazeux de 0,5ml que nous avons analysés par chromatographie en phase gazeuse, sur un chromatographe VARIAN Aérograph, série 1400 équipé d'une colonne sphérosil (1,20m). Les températures ont été les suivantes: injecteur : 120°C; colonne: 75°C; détecteur à ionisation de flamme: 150°C. Le débit du gaz vecteur N<sub>2</sub> a été de 40ml/mn.

L'ARA totale est exprimée en umoles d'éthylène formé par heure et par plante (umoles C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/h/plante). L'ARA spécifique est exprimée par unité de poids sec de nodules (umoles C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/h/g). On sait que la mesure de l'ARA ne peut constituer qu'une approche semi quantitative de l'azote fixé. En effet la première source d'erreur réside dans le fait que le coefficient de conversion théorique (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>: NH<sub>3</sub>) qui est de 3:1 varie considérablement en

fonction des conditions environnementales (variations journalières par exemple) et en fonction des facteurs intrinsèques. On sait en outre que la réaction de la nitrogénase est :



Les protons, entrant en compétition avec l'acétylène, 20 à 40% du flux d'électrons impliqué donnent lieu à une production d'hydrogène (HANUS et al., 1981) [Planche III]. Il n'y a pas actuellement de méthode adéquate pour calibrer l'éthylène formé avec l'azote fixé, mais il semble que le rapport de conversion est approximativement 4: 1 pour les légumineuses (HARDY et al. 1973 in LARUE et PATTERSON, 1981).

#### 8.2.2. Evaluation de l'azote fixé: méthode par différence (WEBER, 1966).

On peut admettre que l'azote fixé est représenté par la différence :

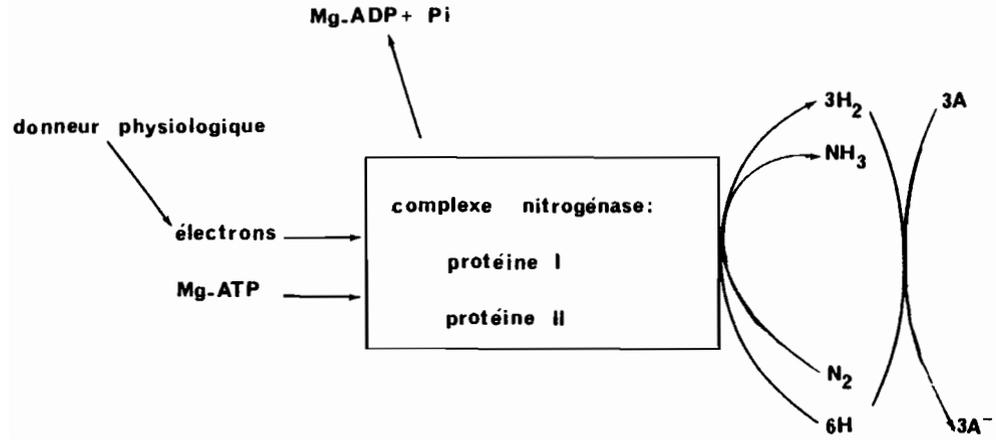
$$\text{N}_2 = \text{N total des plantes inoculées} - \text{N total des plantes non inoculées}$$

à condition bien entendu que les plantes témoins absorbent des quantités d'azote du sol identiques à celles absorbées par les plantes inoculées. Cette condition n'est en fait pas remplie. On s'en rapproche toutefois sensiblement lorsque le sol utilisé est très pauvre en azote minéral ou minéralisable.

##### 8.2.2.1. Minéralisation

Nous avons broyé les parties aériennes des plantes séchées à l'étuve 56°C dans un broyeur THOMAS-WILEY MILL, Model ED-5. Nous avons introduit 20mg de poudre végétale dans un matras. Nous y avons ajouté 1,5ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré et avons porté à ébullition, quand l'émission de vapeur a cessé, nous avons arrêté le chauffage. Après refroidissement, nous avons ajouté cinq gouttes d'eau oxygénée et avons porté de nouveau à ébullition. Nous avons arrêté le chauffage après la réémission de fumées blanches.

P L A N C H E III



Shéma de transfert des électrons dans les bactéroïdes  
A :Accepteur d'électrons

#### 8.2.2.2. Distillation et dosage de l'azote

La distillation a été réalisée dans un appareil de PARNAS-WAGNER avec déplacement de l'azote ammoniacal par 5ml de soude. Le distillat a été recueilli dans un bécher contenant 20ml d'eau distillée et cinq gouttes de réactif de TASHIRO (1 volume de bleu de méthylène à 0,70% dans l'alcool 95°C pour 5 volumes de rouge de méthyl à 0,15% dans l'alcool 95°C. La coloration provoquée par le réactif de TASHIRO est verte en milieu alcalin, mauve en milieu acide). Nous avons placé un barreau d'agitation dans le bécher, et, afin d'éviter les pertes d'azote ammoniacal, nous avons plongé l'extrémité du réfrigérant dans l'eau du bécher. Le dosage a été effectué au cours de la distillation par une solution de HCl N/70 apportée à l'aide d'une microburette permettant d'apprécier le 1/100 de ml (microburette de METHROM de 10ml). Nous avons ajouté l'acide chlorhydrique jusqu'à obtention d'une coloration gris-bleue stable identique à la coloration initiale.

#### 8.2.2.3. Détermination de la concentration en azote (N%) des parties aériennes.

Le poids atomique de l'azote étant de 14, à 1ml de solution HCl N/70 correspond  $\frac{14}{70} = 0,2\text{mg}$  d'azote. Un calcul simple permet de déterminer la concentration en azote (N%) des parties aériennes. Si X ml de HCl N/70 sont nécessaires pour neutraliser l'azote ammoniacal provenant de 20mg de poudre végétale, la concentration en azote est calculée comme suit :

$$\frac{0,2X \times 100}{20} = X \%$$

### 8.3. Dosage du phosphore

#### 8.3.1. Minéralisation

A 100 mg de poudre végétale (parties aériennes des plantes séchées et broyées), nous avons ajouté 3ml de  $\text{HNO}_3$  R.P. La solution a été chauffée très lentement pendant 30mn. Après elle a été

portée à ébullition. Pour éviter une évaporation forte et rapide, nous avons adapté un entonnoir et une bille sur les matras. La solution s'est éclaircie au cours de la minéralisation et l'addition de 0,5ml de  $\text{HClO}_4$  R.P. au bout de 1 heure a favorisé sa limpidité. Après évaporation à sec, le résidu a été repris par 3ml de  $\text{HNO}_3$  R.P. puis ajusté à 25ml avec de l'eau distillée.

#### 8.3.2. Dosage

Nous avons dosé le phosphore à l'aide d'un mélange complexant obtenu en ajoutant des quantités égales de solutions de molybdate d'ammonium à 5% et de métavanadate d'ammonium à 0,25% dans l'eau distillée. A 10ml de minéralisat, nous avons ajouté 5ml de mélange complexant. Après le développement et la stabilisation de la coloration jaune, nous avons mesuré la D.O. à 470 nm sur un spectrophotomètre CARL ZEISS P.M. QII.

#### 8.3.3. Détermination de la concentration en phosphore des parties aériennes

Nous avons déterminé la concentration en phosphore des parties aériennes par rapport à une gamme étalon à partir de solutions connues  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  mélangées à  $\text{HNO}_3$ .

#### 8.4. Dosage du zinc et du cuivre

Le zinc et le cuivre ont été dosés par absorption atomique au laboratoire des Services Scientifiques Centraux de l'ORSTOM à Bondy (FRANCE) selon la méthode d'atomisation électrothermique (PINTA: 1968 et 1973).

### 9. Analyses statistiques

#### 9.1. Test de DUNCAN (1955)

Nous avons utilisé le test de DUNCAN au risque de 1% ou 5% pour la comparaison des moyennes.

### 9.2. Analyse factorielle

Nous avons également fait une expérience factorielle du type  $(3^m \times 2^n) \times r$  en un seul bloc de k unités dans laquelle :

m désigne le nombre de facteurs à trois niveaux;

n désigne le nombre de facteurs à deux niveaux;

r désigne le nombre de répétitions;

k désigne le nombre de traitements.

L'analyse de cette expérience a été conduite suivant la méthode de VAN DEN DRIESCHE (BECK et al. 1969).



**Chapitre III**

**ETUDE DE L'EFFECTIVITÉ ET DE LA COMPETITIVITÉ DES SOUCHES  
DE *RHIZOBIUM* VIS-A-VIS DE *VIGNA UNGUICULATA***



### 1. Objectif

Pour améliorer les rendements des cultures des légumineuses, un des procédés les plus utilisés actuellement est la bactériation des semences appelée aussi, improprement d'ailleurs, inoculation. Pour cela, une sélection rigoureuse des souches de Rhizobium est nécessaire. Deux qualités primordiales sont requises: l'effectivité et la compétitivité. Nous avons étudié ces deux caractères chez huit souches de Rhizobium inoculées à Vigna unguiculata, cultivé sur sol stérile et sur sol non stérile.

### 2. Expériences sur sol stérile

#### 2.1. Etude de l'effectivité des souches de Rhizobium

##### 2.1.1. Première expérience: Comparaison de l'effectivité des souches de Rhizobium ORS 403, ORS 406, ORS 407, NIG et CB 756 inoculées à Vigna unguiculata

Dans cette première expérience (29.01.1981 au 28.02.1981), nous avons utilisé le cultivar 58-185 que nous avons cultivé pendant 28 jours sur sol Dior stérile de "Bel-Air profondeur" en jarre de Léonard modifiées. Nous avons effectué six traitements :

- plantes non inoculées (témoins);
- plantes inoculées respectivement avec ORS 403, ORS 406, ORS 407 NIG et CB 756.

#### Résultats

En se fondant sur les mesures d'ARA par plante et d'ARA spécifique, on peut distinguer deux groupes de Rhizobium (Fig. 3 A et 3 B): un premier groupe de Rhizobium effectifs (ORS 407 et CB 756) et un second groupe de Rhizobium moins effectifs (ORS 403, ORS 406 et NIG). En effet ORS 407 et CB 756 ont eu une ARA par plante maximale supérieure à 7  $\mu\text{moles C}_2\text{H}_4/\text{h/plante}$  et une ARA

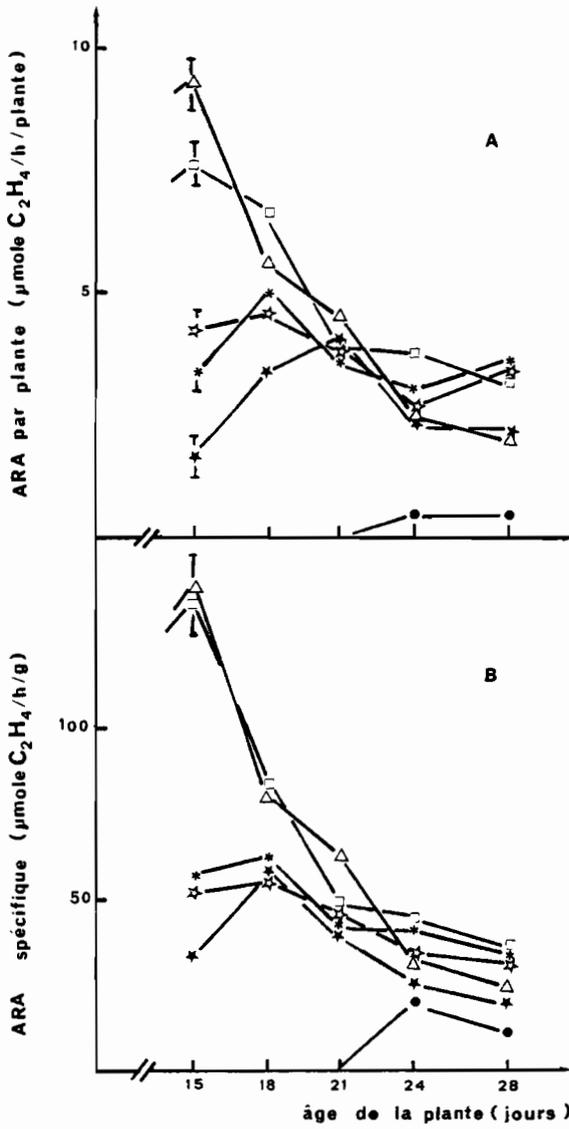


Fig. 3. - Activité réductrice d'Acétylène (ARA) mesurée sur *Vigna unguiculata* cv. 58-185 cultivé sur sol Dior stérile "Bel-air profondeur".

\*—\* ORS403    △—△ ORS407    \*—\* NIG  
 ×—× ORS406    □—□ CB756    ●—● Témoins

spécifique maximale supérieure à 100  $\mu\text{moles C}_2\text{H}_4/\text{h/g}$  de nodules secs. ORS 403, ORS 406 et NIG ont eu des valeurs nettement inférieures. D'autre part, jusqu'à 3 semaines après inoculation, les ARA par plante et spécifique de ORS 407 et CB 756 sont restées supérieures à celle des autres souches.

Quelle que soit la souche de Rhizobium utilisée, le poids sec des parties aériennes des plantes inoculées est supérieur à celui des plantes non inoculées. Cependant, le poids sec des parties aériennes de toutes les plantes inoculées est pratiquement identique (tableau 6). Avec toutes les souches de Rhizobium, la concentration en azote (N%) des parties aériennes augmente rapidement dans le temps. Elle reste toujours plus élevée dans les plantes inoculées que dans les plantes non inoculées. De plus, elle est plus forte chez les plantes inoculées avec ORS 406 ou ORS 407 que chez les plantes inoculées avec ORS 403, CB 756 ou NIG (Fig. 4). L'azote fixé, déterminé par la méthode par différence, est également plus élevé chez les plantes inoculées avec ORS 407 ou ORS 406 que chez les plantes inoculées avec ORS 403, CB 756 ou NIG (tableau 6).

Les résultats de cette expérience ont permis de faire le classement des souches de Rhizobium ORS 403, ORS 406, ORS 407, NIG et CB 756 inoculées au cultivar 58-185 en fonction de l'ARA par plante, de l'ARA spécifique et de l'azote fixé (tableau 7). Il en ressort que quel que soit le paramètre utilisé la souche ORS 407 est plus effective que les autres souches. La souche ORS 403 est la moins effective.

#### Discussion

On peut admettre que l'utilisation d'un sol pauvre en azote minéral et minéralisable tel que le sol de "Bel-Air profondeur" donne une assez bonne idée de l'azote fixé mesuré par la méthode par différence et permet ainsi de classer les souches suivant leur effectivité. Cette expérience nous a également confirmé le fait

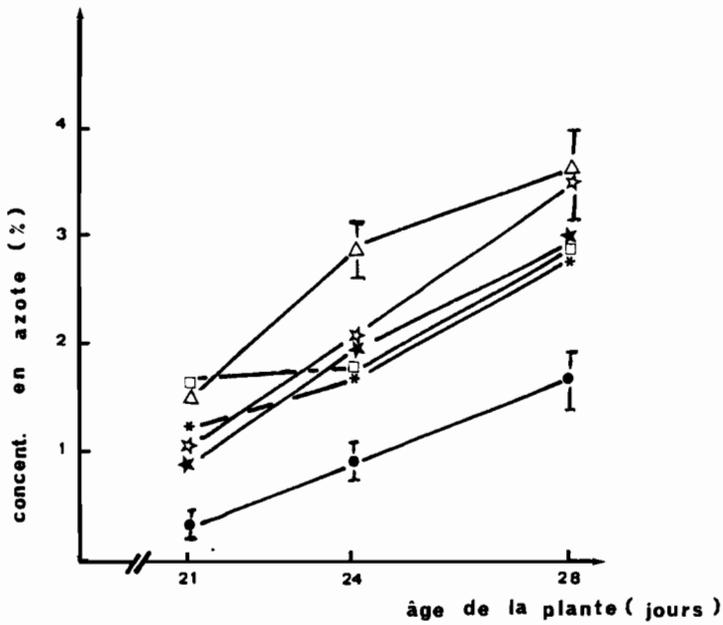


Fig. 4. - Teneur en azote des parties aériennes de *Vigna unguiculata* cv. 58-185 cultivé sur sol Dior stérile "Bel-air profondeur".

(x—x) ORS403; (Δ—Δ) ORS407; (\*—\*) NIG;  
 (☆—☆) ORS406; (□—□) CB756; (●—●) Témoin

Tableau 6. Poids sec (g/plante) et concentration en azote (N%) des parties aériennes au 28ème jour de Vigna unguiculata cv. 58-185 cultivé sur sol Dior stérile de "Bel-Air profondeur" et inoculé avec les souches de Rhizobium ORS 403, ORS 406, ORS 407, NIG et CB 756.

Traitements	Poids sec des parties aériennes (g/plante)	N %	N total (mg/plante)	N fixé (méthode par différence) (mg/plante)
Témoin	0,50 a	1,68 a	14,2 a	
ORS 403	1,10 ab	2,95 b	32,4 b	18,2 a
ORS 406	1,10 ab	3,61 c	39,7 c	25,5 b
ORS 407	1,35 b	3,56 c	41,7 c	27,5 b
NIG	1,25 b	2,79 b	34,1 b	19,9 a
CB 756	1,20 b	2,95 b	35,3 b	21,1 a

- Chaque valeur est la moyenne de quatre répétitions

Dans chaque colonne les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à P = 0,01 d'après le test de DUNCAN (1955).

Tableau 7. Classement des souches de Rhizobium ORS 403, ORS 406, ORS 407, NIG et CB 756 inoculées à Vigna unguiculata cv. 58-185 cultivé sur sol Dior stérile de "Bel-Air profondeur" pendant 28 jours.

Classement	ARA par plante <sup>(1)</sup>	ARA spécifique <sup>(2)</sup>	N fixé (méthode par différence) <sup>(3)</sup>
1	ORS 407	ORS 407	ORS 407
2	CB 756	CB 756	ORS 406
3	NIG	NIG	CB 756
4	ORS 406	ORS 403	NIG
5	ORS 403	ORS 406	ORS 403

(1) d'après la figure 3

(2) d'après la figure 4

(3) d'après la figure 7

bien connu qu'à l'intérieur d'un groupe de Rhizobium nodulant la même légumineuse, il existe des différences significatives du point de vue de leur effectivité.

De cette expérience nous pouvons tirer deux conclusions :

(i) une souche isolée à partir d'une légumineuse se développant dans des conditions écologiques très éloignées de celles où on doit l'utiliser, peut faire preuve d'une effectivité supérieure à celle de souches isolées d'un milieu caractérisé par des conditions environnementales identiques à celles où l'on testera la souche. C'est le cas des souches CB 756 d'origine rhodésienne ou NIG d'origine nigériane qui sont plus effectives que ORS 403 isolée à Dakar (SENEGAL). D'autre part, (ii) une souche de Rhizobium très performante dans une situation donnée (telle que CB 756, souche de référence) n'est pas toujours aussi effective dans d'autres situations. Dans notre expérience, elle s'est révélée moins effective que ORS 407 comme elle s'était révélée moins effective sur Vigna unguiculata en Inde que les souches locales USAB 94, 120, et 125 (BAGYARAJ et HEDGE, 1978).

2.1.2. Deuxième expérience : Comparaison de l'effectivité des souches de Rhizobium ORS 403, ORS 406, ORS 407, NIG, CB 756, 8A11, THA205 et TAL 1000 inoculées à Vigna unguiculata.

Cette expérience (1.04.1981 au 15.05.1981) complète la première. Aux cinq souches étudiées précédemment, nous avons ajouté les souches de Rhizobium 8A11, THA205 et TAL 1000. Nous avons utilisé le même cultivar 58-185 que nous avons cultivé pendant 45 jours sur sol Dior stérile de "Bel-Air surface" en pots de terre cuite. Nous avons effectué neuf traitements :

- plantes non inoculées (témoins);
- plantes inoculées respectivement avec ORS 403, ORS 406, ORS 407, NIG, CB 756, 8A11, THA205 et TAL 1000.

### Résultats

Les mesures d'ARA spécifique ont confirmé les résultats de la première expérience: ORS 407 et CB 756 ont une ARA spécifique maximale plus élevée que celle des autres souches utilisées (Fig. 5). Cependant, une des souches non étudiées précédemment (8A11) a une ARA spécifique maximale voisine de celle de ORS 407 et CB 756. Le poids sec des parties aériennes des plantes inoculées est toujours supérieur à celui des plantes non inoculées. En outre, il est plus élevé chez les plantes inoculées respectivement avec ORS 407, CB 756 ou 8A11 que chez les plantes inoculées avec les autres souches (tableau 8). De même la concentration en azote (N%) augmente avec le temps et reste toujours plus élevée chez les plantes inoculées. Au 45ème jour la différence de teneur en azote entre les plantes inoculées avec ORS 407, CB 756 ou 8A11 et les plantes inoculées avec les autres souches est très significative (Fig. 6, tableau 8). La teneur totale en azote est aussi plus élevée chez ORS 407, CB 756 ou 8A11 (tableau 8).

Les résultats de cette deuxième expérience ont permis de faire le classement des souches ORS 403, ORS 406, ORS 407, NIG, CB 756, 8A11, THA 205 et TAL 1000 inoculées au cultivar 58-185 en fonction de l'ARA spécifique et de l'azote fixé mesuré par la méthode par différence (tableau 9). Il en ressort que ORS 407 est la souche la plus effective, ce qui confirme la première expérience. Elle est suivie de CB756 et de 8A11.

### Discussion

Nous avons réalisé cette deuxième expérience dans des conditions différentes de celles de l'expérience précédente (cf: § 2.1.1.): climat, sol et dispositif expérimental. L'effectivité des souches de Rhizobium mesurée par l'ARA ou par l'azote fixé a varié en valeur absolue. Il fallait s'y attendre; on sait en effet que l'effectivité des Rhizobium varie en fonction des conditions climatiques qui étaient sensiblement différentes dans cette deuxième expérience. Elle varie aussi en fonction des conditions

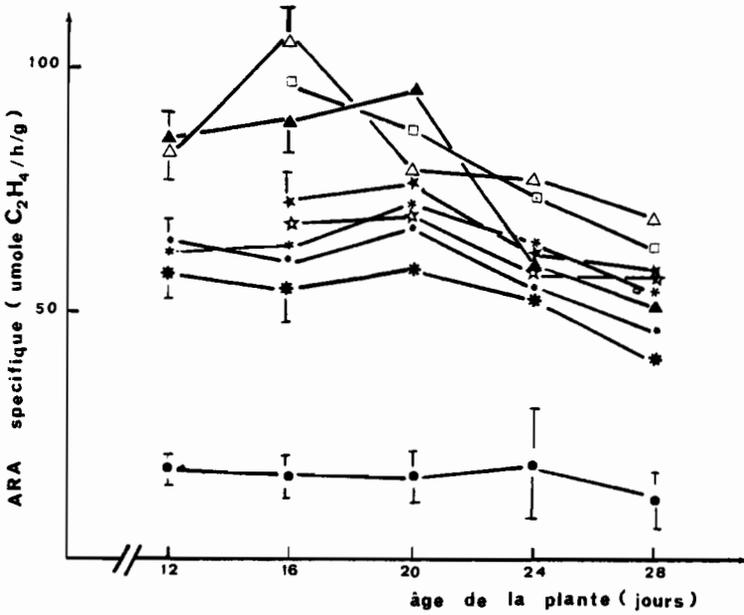


Fig. 5. - ARA spécifique mesurée sur *Vigna unguiculata* cv. 15-185 cultivé sur sol Dior stérile de "Bel-air surface".

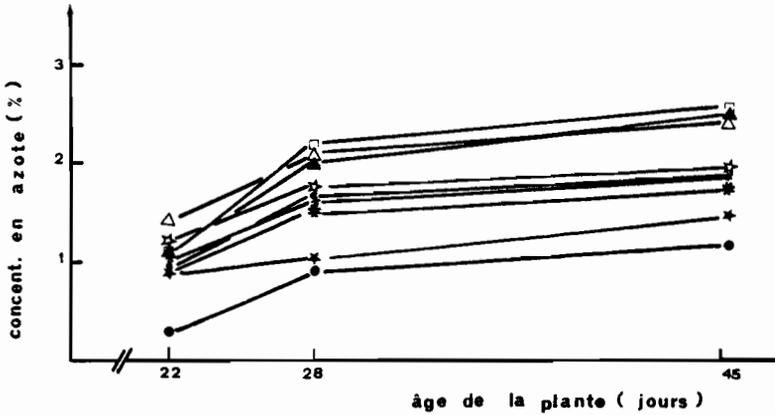


Fig. 6. - Concentration en azote (N%) des parties aériennes de *Vigna unguiculata* cv. 15-185 cultivé sur sol Dior stérile "Bel-air surface".

( $\times$ — $\times$  ORS403;  $\Delta$ — $\Delta$  ORS407; \*—\* NIG;  $\bullet$ — $\bullet$  THA205  $\bullet$ — $\bullet$  Témoin  
 $\times$ — $\times$  ORS406;  $\square$ — $\square$  CB756;  $\blacktriangle$ — $\blacktriangle$  BA11 \*—\* TAL1000)

Tableau 8. Poids sec des parties aériennes (g/plante) et concentration en azote (N%) et azote fixé (mg/plante) au 45ème jour de Vigna unguiculata cv. 58-185 cultivé sur le sol Dior stérile de "Bel-Air surface" et inoculé avec les souches de Rhizobium ORS 403, ORS 406, ORS 407, NIG, CB756, 8A11, THA205 et TAL 1000.

Souches	Poids sec des parties aériennes (g/plante)	N %	N total (mg/plante)	N fixé (méthode par dif- férence) (mg/plante)
Témoin	1,6 a	2,02 a	33 a	
ORS 403	2,7 b	2,32 b	63,5 b	30,5
ORS 406	2,6 b	2,86 c	74,2 c	41,2
ORS 407	4,1 c	3,38 d	139,3 d	106,3
NIG	2,7 b	2,72 c	73,2 c	40,2
CB 756	3,5 d	3,40 d	119,7 e	86,7
8A11	3,2 d	3,42 d	111, e	78
THA 205	2,4 b	2,76 c	66,5 bc	33,5
TAL 1000	2,4 b	2,72 c	66,2 bc	33,2

- Chaque valeur est la moyenne de quatre répétitions

Dans chaque colonne les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à P = 0,01 d'après le test de DUNCAN (1955).

Tableau 9. Classement des souches de Rhizobium ORS 403, ORS 406, ORS 407, NIG CB756, 8A11, THA 205 et TAL 1000 inoculées à Vigna unguiculata cv. 58-185 cultivé sur sol Dior stérile de "Bel-Air surface" en fonction de l'ARA spécifique et de l'azote fixé pendant 45 jours.

<u>Classement</u>	<u>ARA spécifique</u> <sup>(1)</sup>	<u>N fixé</u> <sup>(2)</sup> (méthode par différence)
1	ORS 407	ORS 407
2	CB 756	CB 756
3	8A11	8A11
4	ORS 403	ORS 406
5	NIG	NIG
6	ORS 406	THA 205
7	THA 205	TAL 1000
8	TAL 1000	ORS 403

(1) : d'après la figure 6

(2) : d'après le tableau 8

édaphiques : pH (MUNNS, 1968 in DOMMERGUES et MANGENOT, 1970), niveau nutritif (DART et al., 1977). Néanmoins, nous avons confirmé le résultat de la première expérience: ORS 407 est la souche la plus effective suivie de CB 756.

2.1.3. Troisième expérience : Comparaison de l'efficacité des souches de Rhizobium ORS 407, CB 756 et 8A11 inoculées à trois cultivars différents de Vigna unguiculata

Le succès ou l'échec de l'association entre le Rhizobium et la plante-hôte dépend entre autres, de déterminants génétiques appartenant aux deux partenaires. Dans la deuxième expérience, nous avons observé que les souches les plus effectives sur le seul cultivar 58-185 étaient ORS 407, CB 756 et 8A11. L'objectif de la troisième expérience rapportée dans ce paragraphe (1.06. 1981 au 15.07. 1981) est d'étudier l'effectivité de ces trois souches associées à des cultivars différents. Nous avons choisi les cultivars 58-185, Ndiambour et Bambe 30 étudiés par OLLIVIER (1981) que nous avons cultivés pendant 45 jours sur sol Dior stérile de "Bel-Air profondeur" en pots de terre cuite. Pour chaque cultivar, nous avons effectué quatre traitements :

- plantes non inoculées (témoins);
- plantes inoculées respectivement avec ORS 407, CB 756 et 8A11.

Résultats

Les cultivars 58-185, Ndiambour et Bambe 30 ont montré des différences de comportement vis à vis des trois meilleures souches de Rhizobium sélectionnées à la deuxième expérience: ORS 407, CB 756 et 8A11. Le poids sec des parties aériennes du cultivar 58-185 est identique pour les trois souches de Rhizobium. Chez le cultivar Ndiambour, le poids sec des parties aériennes est plus élevé avec ORS 407 et pour le cultivar Bambe 30, le poids sec des parties aériennes est plus élevé avec 8A11 (tableau 10). L'ARA par plante du cultivar Bambe 30 est resté relativement stable et élevé jusqu'au 35ème jour. Cette stabilité relative de l'ARA par

Tableau 10. Poids sec des parties aériennes (g/plante) et concentration en azote (N%) au 45ème jour de *Vigna unguiculata* cv. 58-185, Ndiambour et Bambey 30 cultivés sur sol Dior stérile de "Bel-Air profondeur" et inoculés avec les souches de *Rhizobium* ORS 407, CB756 et 8A11.

Souches	58-185		Ndiambour		Bambey 30	
	Poids sec des parties aériennes (mg/plante)	N %	Poids sec des parties aériennes (mg/plante)	N %	Poids sec des parties aériennes (mg/plante)	N %
Témoin	1,6 a	2,1 a	1,84 a	1,98 a	3,13 a	2,00 a
ORS 407	3,95 b	3,94 b	4,28 b	3,35 b	5,31 b	3,82 b
CB 756	3,70 b	3,76 b	2,89 c	3,80 c	4,97 b	3,60 b
8A11	3,52 b	3,5 b	3,34 d	3,36 b	6,53 c	3,40 c

- Chaque valeur est la moyenne de quatre répétitions

Dans chaque colonne les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à P = 0,01 d'après le test de DUNCAN (1955).

plante s'est manifestée également chez le cultivar Ndiambour avec la souche CB 756. L'ARA par plante du cultivar 58-185 a baissé à partir du 24ème jour pour les trois souches de Rhizobium (Fig. 7). Par contre, l'ARA spécifique est identique pour tous les cultivars et pour chaque souche de Rhizobium. D'autre part chez un même cultivar, la concentration en azote (N%) est sensiblement la même pour les trois souches de Rhizobium jusqu'au 35ème jour, mais au 45ème jour elle est forte chez le cultivar Ndiambour avec CB 756, et plus faible chez le cultivar Bambey 30 avec 8A11 (Fig. 9, tableau 10). L'azote fixé mesuré par la méthode par différence est plus élevé chez les cultivars 58-185 et Ndiambour lorsqu'ils sont inoculés avec ORS 407 et chez le cultivar Bambey 30 lorsqu'ils est inoculé avec 8A11 (tableau 11).

Les résultats de cette troisième expérience permettent de classer les souches de Rhizobium ORS 407, CB 756 et 8A11, inoculées aux cultivars 58-185 Ndiambour et Bambey 30 en fonction de l'azote fixé (tableau 12). Il en ressort que sur les cultivars 58-185 et Ndiambour, la souche ORS 407 est la plus effective alors que sur Bambey 30, la souche 8A11 est la plus effective.

#### Discussion

Beaucoup d'auteurs ont remarqué l'importance du génotype de la plante-hôte dans les interactions Rhizobium-légumineuse: DIATLOFF et BROCKWELL (1976) sur le soja, ROBERT (1981) sur le haricot. Notre expérience a montré que l'interaction Rhizobium cowpsa Vigna unguiculata n'échappe pas à la règle. En effet nos résultats ont montré que les meilleures associations étaient ORS 407xcv.58-185, ORS 407xcv. Ndiambour, et 8A11 cv.xBambey 30. Ces résultats rappellent ceux déjà obtenus par MINCHIN et al. (1978): ces auteurs avaient en effet trouvé des différences significatives sur la croissance et le rendement de quatre cultivars de Vigna unguiculata associés à quatre souches de Rhizobium.

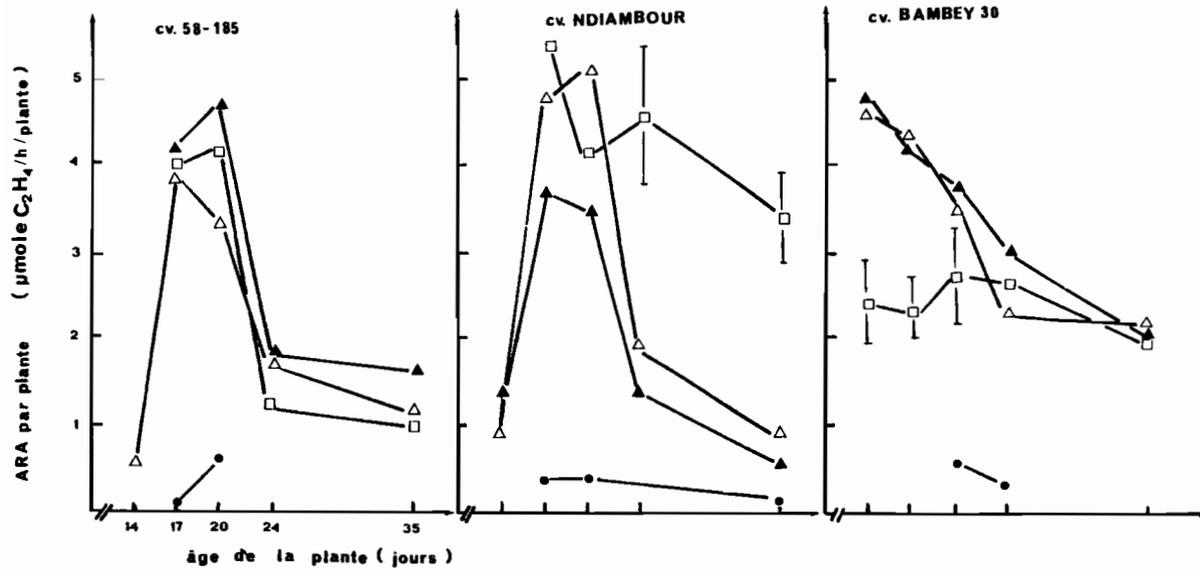


Fig. 7. - ARA par plante mesurée sur *Vigna unguiculata* cultivé sur sol Dior stérile de "Bel-Nir profondeur".

(△—△ ORS407; □—□ CB756; ▲—▲ BA11 ●—● Témoin)

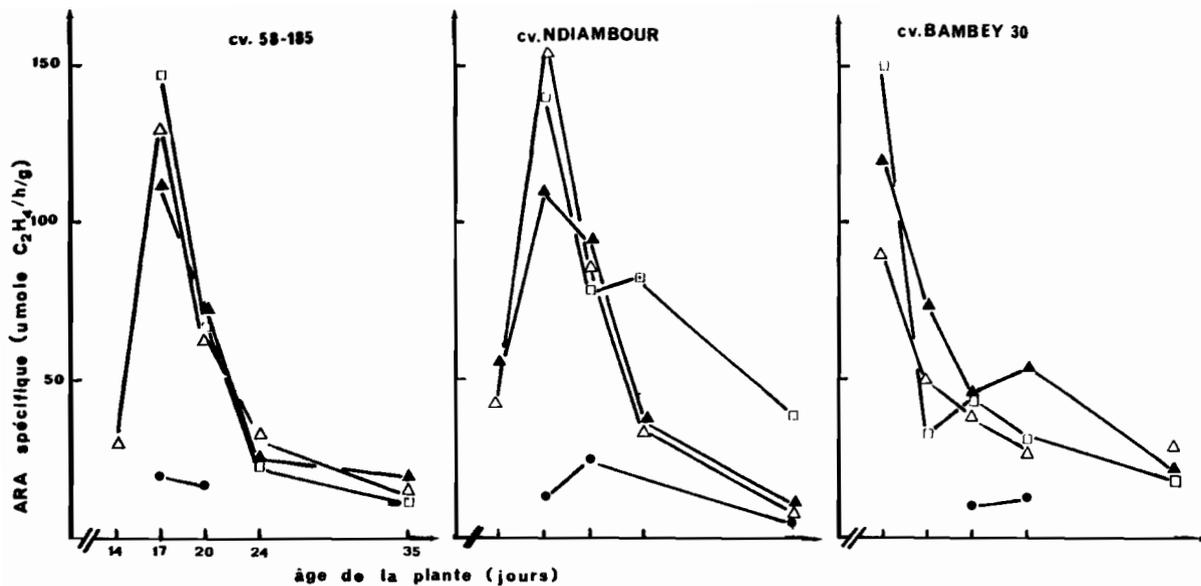


Fig. 8. - ARA spécifique mesurée sur *Vigna unguiculata* cultivé sur sol Dior stérile de "Bel-Air profondeur".

(△—△ ORS407; □—□ CB755; ▲—▲ 8A11; ●—● Temoin)

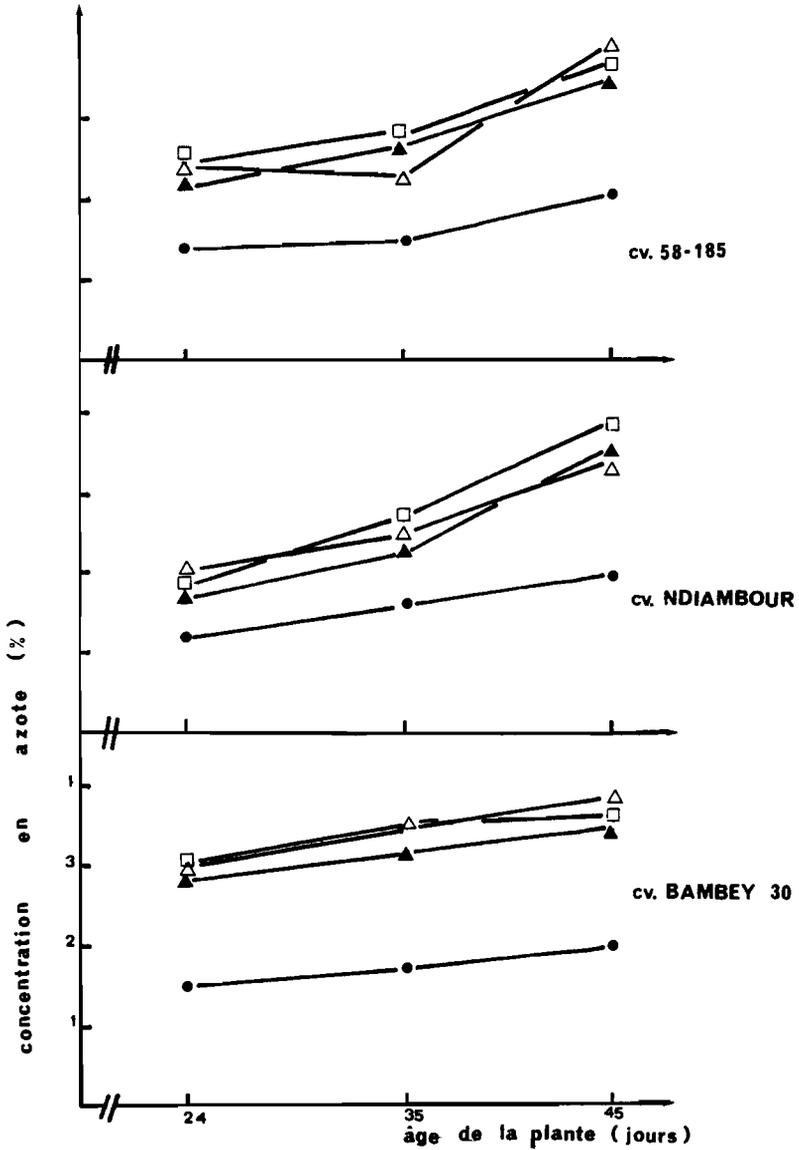


Fig. 9. - Concentration en azote (N%) des parties aériennes de *Vigna unguiculata* A. cv. 58-185, B. cv. Ndiambour ; C. cv. Bambey 30.

( △——△ ORS407; □——□ CB756; ▲——▲ 8A11; ●——● Témoin)

Tableau 11. Azote fixé exprimé en mg/plante au 45ème jour par Vigna unguiculata cv.58-185, Ndiambour et Bambey 30 cultivés sur sol Dior stérile de "Bel-Air profondeur" et inoculés avec les souches de Rhizobium ORS 407, CB756 et 8A11.

Souches	58-185		Ndiambour		Bambey 30	
	N total	N <sub>2</sub> fixé (1)	N total	N <sub>2</sub> fixé (1)	N total	N <sub>2</sub> fixé (1)
Témoin	33,0 a		36,5 a		62,7 a	
ORS 407	157,0 b	124,0 a	143,4 b	106,9 a	191,2 b	128,5 a
CB 756	141,5 c	108,5 b	109,7 c	73,2 b	190,0 b	127,3 a
8A11	123,3 d	90,3 c	112,2 c	75,7 b	222,0 c	159,3 b

(1) : mesuré par la méthode par différence

- Chaque valeur est la moyenne de quatre répétitions

Dans chaque colonne les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à P = 0,01 d'après le test de DUNCAN (1955).

Tableau 12. Classement des souches de Rhizobium ORS 407, CB 756 et 8A11 inoculées à *Vigna unguiculata* cv. 58-185, Ndiambour et Bambey 30 en fonction de l'azote fixé pendant 45 jours déterminé par la méthode par différence.

Classement	cv. 58-185	cv. Ndiambour	cv. Bambey 30
1	ORS 407	ORS 407	8A11
2	CB 756	8A11	ORS 407
3	8A11	CB 756	CB 756

## 2.2. Etude de la compétitivité des souches de Rhizobium

### 2.2.1. Première expérience : Compétitivité entre les souches de Rhizobium ORS 403, ORS 407 et CB 756 inoculées à Vigna unguiculata

Dans l'expérience rapportée ici (9.08.1980 au 19.09.1980), nous avons étudié la compétition entre les souches de Rhizobium ORS 403, ORS 407 et CB 756 inoculées à Vigna unguiculata cv.58-185 cultivé pendant 30 jours sur sol Dior stérile de "Bel-Air profond" en pots de terre cuite. Nous avons effectué alors huit traitements :

- plantes non inoculées (témoins);
- plantes inoculées respectivement avec une des souches ORS 403, ORS 407 et CB 756;
- plantes inoculées respectivement avec les mélanges suivants des souches apportées en proportions égales: ORS 403 + ORS 407; ORS 403 + CB 756 et ORS 407 + CB 756;
- plantes inoculées avec le mélange, en proportions égales, de trois souches: ORS 403 + ORS 407 + CB 756.

Nous avons récolté 20 nodules par plante et avons observé les bactéroïdes au microscope après leur marquage avec les anticorps fluorescents anti ORS 403, anti ORS 407 et anti CB 756.

#### Résultats (tableau 13)

Les nodules des plantes inoculées seulement avec ORS 403 ou ORS 407 ou CB 756 contenaient uniquement les Rhizobium correspondant ORS 403 ou ORS 407 ou CB 756.

Les nodules des plantes inoculées avec le mélange ORS 403 + ORS 407 contenaient soit les Rhizobium ORS 403 (40%), soit les Rhizobium ORS 407 (60%). La souche ORS 407 était un peu plus compétitive que la souche ORS 403.

Les nodules des plantes inoculées avec le mélange ORS 403 + CB 756 contenaient soit les Rhizobium ORS 403 (47%), soit les Rhizobium

Tableau 13. Compétition entre les souches de Rhizobium ORS 403, ORS 407 et CB 756 sur Vigna unguiculata cv. 58-185 cultivé sur sol Dior stérile de "Bel-Air de profondeur" pendant 30 jours: pourcentage de nodules infectés par les différentes souches.

Traitements	Infections simples par <sup>(1)</sup> :			Infection mixte par
	ORS 403	ORS 407	CB 756	
Témoin	0	0	0	0
ORS 403	100	0	0	0
ORS 407	0	100	0	0
CB 756	0	0	100	0
ORS 403 + ORS 407	40	60	0	0
ORS 403 + CB 756	47 (+33)	0	20 (+33)	33(ORS403 + CB756
ORS 407 + CB 756	0	54 (+ 23)	23 (+ 23)	23(ORS407 + CB756)
ORS 403 + ORS 407 + CB756	0	53 (+ 27)	20 (+ 27)	27(ORS407 + CB756)

(1): Entre parenthèses et précédé du signe + : pourcentage de nodules présentant une infection mixte qui est rapporté également dans la colonne "infection mixte".

CB 756 (20%), soit à la fois les deux souches de Rhizobium ORS403 et CB 756 (33%). La souche ORS 403 était sensiblement plus compétitive que la souche CB 756.

Les nodules des plantes inoculées avec le mélange ORS 407 + CB 756 contenaient soit le Rhizobium ORS 407 (54%), soit le Rhizobium CB 756 (23%), soit à la fois les deux souches de Rhizobium ORS 407 et CB 756 (23%). La souche de Rhizobium ORS 407 est plus compétitive que la souche CB 756.

Les plantes inoculées avec le mélange des trois souches de Rhizobium ORS 403 + ORS 407 + CB 756 ont donné des nodules infectés soit par ORS 407 (53%), soit par CB 756 (20%), soit simultanément par les deux souches ORS 407 et CB 756 (27%). D'autre part, lorsque l'infection est simple, les cortex des nodules étaient respectivement rouges, ou beiges avec des rayures selon que les plantes étaient inoculées avec ORS 403, ou ORS 407 (Planche IV). Mais lorsque l'infection est mixte, il n'y avait pas de différence de couleur des cortex des nodules qui étaient tous blancs.

#### Discussion

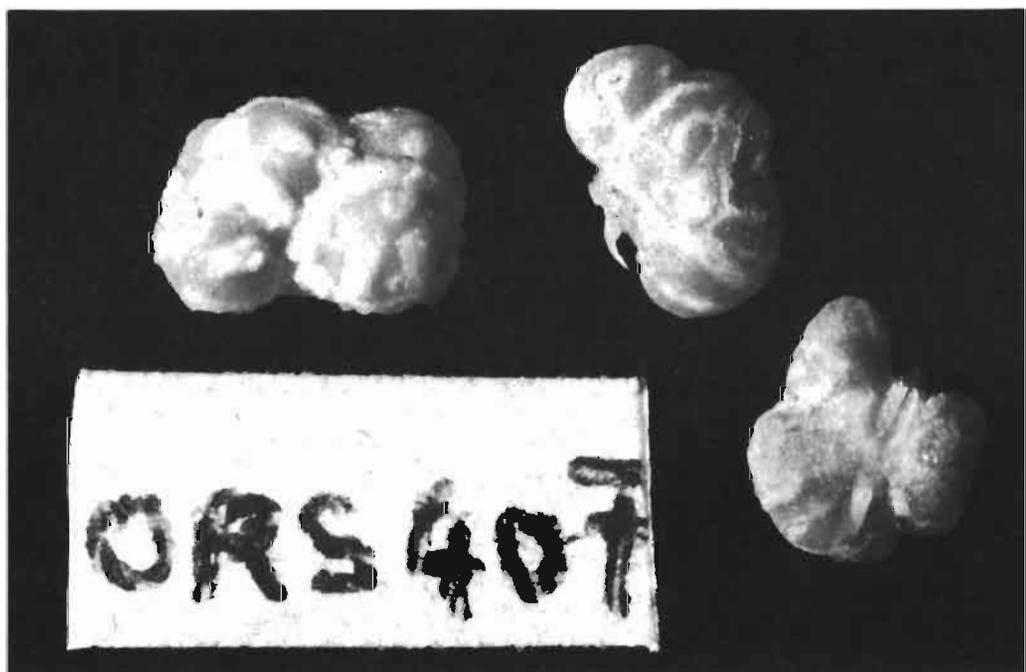
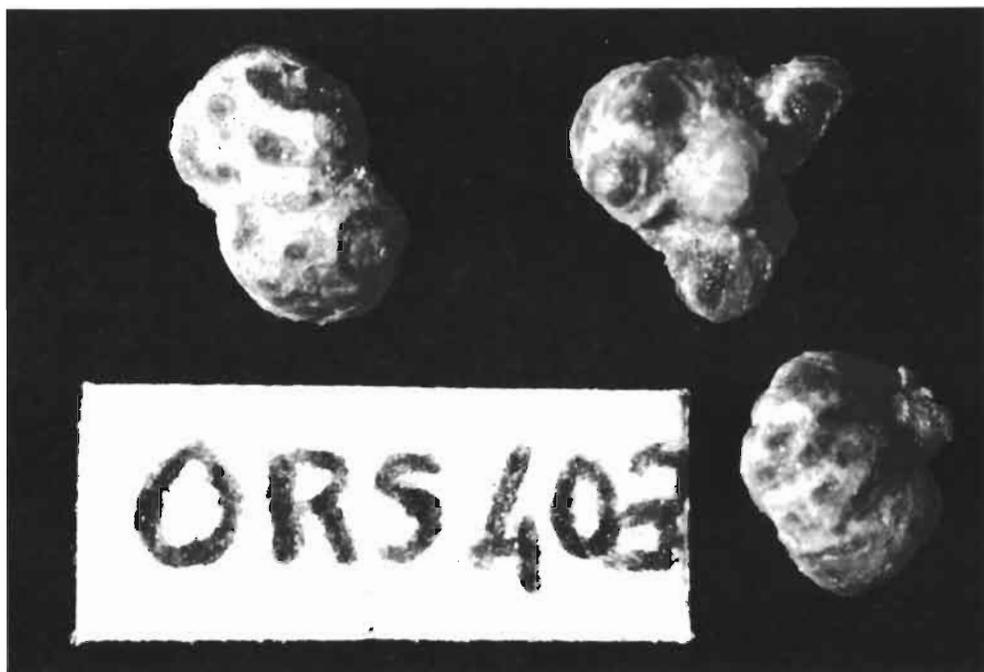
La souche locale ORS 407 est plus compétitive que la souche importée CB 756. Cela peut s'expliquer par une meilleure adaptation de la souche locale. Notre expérience a montré que la coloration externe du nodule (qui n'a rien à voir avec la coloration de l'intérieur du nodule par la leghémoglobine) peut être liée à la souche de Rhizobium infectant et qu'elle pourrait être utilisée dans l'étude de la compétitivité des Rhizobium. De pareilles observations ont été faites récemment par EAGLESHAM et al. (1982) sur différentes légumineuses: Arachis hypogaea, Vigna unguiculata, Glycine max. Selon ces auteurs, cette coloration externe du nodule serait due à un pigment synthétisé par la plante, ou le Rhizobium, ou les deux. Dans tous les cas, l'étude de cette pigmentation pourrait conduire à une meilleure compréhension des interactions

#### PLANCHE IV

Photo A: Nodules de Vigna unguiculata cv. 58-185 infecté par Rhizobium ORS 403 (X 8)

Photo B: Nodules de Vigna unguiculata cv. 58-185 infecté par Rhizobium ORS 407 (X 8)

A



B

Rhizobium-légumineuse à l'intérieur du nodule. Nos observations ont cependant montré que cette coloration de l'épiderme des nodules ne peut être utilisée dans le cas d'infections mixtes.

2.2.2. Deuxième expérience : Compétitivité entre les souches de Rhizobium ORS 407, CB 756 et 8A11 inoculées à Vigna unguiculata

Lors des expériences précédentes, nous avons sélectionné les souches de Rhizobium ORS 407, CB 756 et 8A11 pour leur grande effectivité sur le cultivar 58-185 (tableau 9). D'autre part, alors que dans l'expérience précédente, nous avons étudié la compétition dans le cas de mélanges simples de deux ou trois souches, dans l'expérience rapportée ici (1.06.1981 au 30.06.1981), nous avons accru la complexité du modèle expérimental en étudiant non seulement des mélanges de deux souches mais aussi des mélanges de six souches de façon à tenter de reproduire la complexité de la situation in situ. En conséquence, nous avons effectué les traitements suivants :

- plantes non inoculées (témoins);
- plantes inoculées respectivement avec les souches ORS 407 seule, CB 756 seule, 8A11 seule et le mélange M1 des souches ORS 403, ORS 406, NIG, THA 205 et TAL 1000 en proportions égales;
- plantes inoculées avec les mélanges en proportions égales ORS 407 + CB 756, ORS 407+8A11, ORS 407+M1, CB 756+8A11, CB 756+M1 et 8A11+M1;
- plantes inoculées avec le mélange en proportions égales de ORS 407+CB 756+8A11+M1.

Nous avons récolté 35 nodules par plante et avons observé les bactéroïdes au microscope après leur marquage avec les anticorps fluorescents anti ORS 403, anti ORS 406, anti ORS 407, anti NIG, anti CB 756, anti 8A11, anti THA 205 et anti TAL 1000.

### Résultats

Nous avons fait des observations similaires à celles que nous avons faites à la première expérience (tableau 14). Les plantes inoculées avec ORS 407 seul, CB 756 seul ou 8A11 seul ont donné des nodules dans lesquels nous n'avons trouvé que ORS 407, CB 756 ou 8A11.

Les plantes inoculées avec le mélange M1 ont donné des nodules dont 53% étaient infectés par la seule souche de Rhizobium NIG qui a été la plus compétitive des souches de Rhizobium constituant ce mélange.

Dans cette expérience, nous avons confirmé la dominance de la souche ORS 407 sur les autres Rhizobium y compris la souche NIG. Ainsi nous avons trouvé que ORS 407 est dominant sur CB 756 qui est dominant sur 8A11. Les souches THA 205 et TAL 1000 n'ont pas été compétitive.

### Discussion

A la première expérience de compétition (§ 2.2.1.), nos observations ont porté sur un nombre insuffisant de nodules (20 par plante). Bien que nous ayions augmenté le nombre de nodules observés, cela n'a pas changé le résultat fondamental: la dominance de ORS 407 sur les autres souches de Rhizobium. Mais cette expérience a surtout mis en évidence le fait que Vigna unguiculata est une légumineuse qui se prête très facilement à une infection mixte. La fréquence de cette infection mixte peut être liée au volume de sol faible et limité dans lequel se développent les plantes. Des auteurs (SCHMIDT, 1978) avaient déjà observé cette infection mixte chez d'autres légumineuses, mais à un pourcentage plus faible.

### 3. Expérience sur sol non stérile

Les expériences précédentes ont été conduites dans des conditions éloignées des conditions existant au champ puisque nous avons

Tableau 14. Compétition entre les souches de Rhizobium ORS 407, CB 756 et 8A11 sur Vigna unguiculata cv. 58-185 cultivé pendant 30 jours sur sol Dior stérile de "Bel-Air de profondeur": pourcentage de nodules infectés par les différentes souches.

Traitements	Infection simple par <sup>(1)</sup> :								Infection mixte par
	ORS403	ORS406	ORS407	NIG	CB756	8A11	THA205	TAL100	
Témoin	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ORS 407	0	0	100	0	0	0	0	0	0
CB756	0	0	0	0	100	0	0	0	0
8A11	0	0	0	0	0	100	0	0	0
M 1	20(+20)	7	0	53(+20)	0	0	0	0	20(ORS403+NIG)
ORS407+CB756	0	0	47(+28)	0	25(+28)	0	0	0	28(ORS407+CB756)
ORS407+8A11	0	0	53(+34)	0	0	13(+34)	0	0	34(ORS407+8A11)
ORS407+M1	13	0	47(+14)	26(+14)	0	0	0	0	14(ORS407+NIG)
CB756 + 8A11	0	0	0	0	26(+61)	13(61)	0	0	61(CB756+8A11)
CB756 + M 1	0	0	0	57	43	0	0	0	0
8A11 + M 1	26(+41)	0	0	13	0	20(+41)	0	0	41(ORS403+8A11)
ORS407+CB756 +8A11+M1	20	0	40(+13)	20	0(+13)	0	7	0	13(ORS407+CB756)

M1 : ORS 403 + ORS 406 + NIG + THA 205 + TAL 1000

(1) : Entre parenthèses et précédé du signe + : pourcentage de nodules présentant une infection mixte qui est rapporté également dans la colonne "infection mixte".

toujours utilisé du sol préalablement stérilisé. Ces expériences ont montré que parmi les souches de Rhizobium testées, les souches ORS 407 et CB 756 étaient les plus compétitives. Il importait de vérifier si ces souches se montraient encore compétitives dans les conditions existant au champ. C'est pourquoi nous avons effectué l'expérience suivante qui consiste à inoculer Vigna unguiculata cv. 58-185 semé dans un sol non stérile. L'expérience a été conduite du 7.04.1982 au 11.06.1982 en buses suivant le dispositif décrit au chapitre II, § 5.4. qui simule de façon très satisfaisante les conditions du champ. Le sol utilisé a été le sol de "Bel-Air profondeur".

Nous avons effectué quatre traitements avec cinq répétitions non randomisées :

- plantes non inoculées (témoins);
- plantes inoculées avec ORS 407 seul;
- plantes inoculées avec CB 756 seul;
- plantes inoculées avec le mélange M2 en proportions égales des souches ORS 403, ORS 406, ORS 407, NIG, CB 756, 8A11, THA205 et TAL 1000.

### 3.1. Résultats

#### 3.1.1. Etude de la compétitivité des souches introduites vis-à-vis des souches natives

Pour mener à bien l'étude de la compétitivité des souches utilisées, il était indispensable au préalable de vérifier par marquage avec les anticorps fluorescents suivant le protocole décrit au chapitre II, § 2.5.2. que le sol étudié ne contenait pas de souches de Rhizobium présentant des réactions croisées avec ORS 403, ORS 406, ORS 407, NIG, CB 756, 8A11, THA205 ou TAL 1000. Nous n'avons effectivement obtenu aucune réaction croisée avec les anticorps fluorescents correspondant à ces souches (tableau 15, témoin) à l'exception d'une réaction croisée avec ORS 403 qui pourrait s'expliquer par une contamination, mais le pourcentage est faible.

Tableau 15. Compétitivité des souches de Rhizobium ORS 407 et CB 756 et la mélange M2 sur Vigna unguiculata cv. 58-185 cultivé dans des conditions simulant celles du champ pendant 9 semaines pourcentage de nodules infectés.

Traitements	Infection simple par (1)								Infection mixte par	Nodules ne présentant pas de réaction croisée
	ORS403	ORS406	ORS407	NIG	CB756	8A11	THA205	TAL1000		
Témoin	7 (2)	0	0	0	0	0	0	0	0	93
ORS 407	0	0	85	0	0	0	0	0	0	15
CB 756	0	0	0	0	83	0	0	0	0	17
M 2	6(+14)	0	21(+22)	8(+17)	12(+11)	0(+25)	0(+17)	0	14(ORS403+8A11) 11(ORS407+CB756) 11(ORS407+8A11) 17(NIG + THA205)	0

- M 2 : ORS403 + ORS406 + ORS 407 + NIG + CB756 + 8A11 + THA205 + TAL 1000

- (1) : Entre parenthèse et précédé du signe +: pourcentage de nodules présentant une infection mixte qui est également rapporté dans la colonne "infection mixte"

- (2) : Contamination ou réaction croisée.

Nous avons appliqué le test des anticorps fluorescents sur 40 nodules par plante. Les souches de Rhizobium ORS 407 et CB 756 ont été plus compétitives que les souches natives naturellement présentes dans le sol (tableau 15); les plantes inoculées avec ORS 407 seul ont donné des nodules dont 85% ne contenaient que ORS 407; il en a été de même avec les plantes inoculées avec CB 756 seul. Les plantes inoculées avec le mélange M2 ont montré la prédominance de ORS 407. En outre, beaucoup de nodules ont été doublement infectés. Ces résultats ont d'autre part confirmé ceux que nous avons obtenus dans les expériences précédentes: les souches les plus compétitives sur le cultivar 58-185 ont été ORS 407, NIG et CB 756.

### 3.1.2. Influence de l'inoculation sur le poids de Vigna unguiculata et ses teneurs totales en azote et en phosphore.

Nous avons constaté qu'il n'y a pas eu de différence significative entre les plantes témoins et les plantes inoculées avec ORS 407, CB 756 ou avec le mélange M2 en ce qui concerne le poids sec des parties aériennes, des gousses et des graines (tableau 16). Quant aux nodules, nous n'avons pas mesuré leur poids car nous avons sacrifié les 2/5 pour l'étude de la compétitivité; leur nombre était pratiquement identique.

Il n'y a pas eu de différence significative non plus en ce qui concerne les concentrations en azote (N%) et phosphore (P%) des parties aériennes, les teneurs totales en azote et en phosphore (tableau 17) ou l'indice de récolte (tableau 18) qui a été identique pour tous les traitements et pour tous les paramètres.

### 3.2. Discussion

Les résultats obtenus montrent clairement que les souches de Rhizobium ORS 407 et CB 756 étaient très compétitives vis à vis des souches natives. On pouvait donc s'attendre à ce que l'inoculation de Vigna unguiculata avec ces souches augmente de façon

Tableau 16. Poids sec (g/cinq plantes) des parties aériennes, des gousses et des graines de Vigna unguiculata cv.58-185 cultivé dans des conditions simulant celles du champ pendant 9 semaines et inoculé avec les souches de Rhizobium ORS 407, CB 756 et le mélange de souches M2

Traitements	Poids sec (g/5 plantes)		
	Parties aériennes	Gousses	Graines
Témoin	92,5 a	102,0 a	86,9 a
ORS 407	96,1 a	107,0 a	92,3 a
CB 756	91,0 a	101,2 a	85,6 a
M 2	97,1 a	110,0 a	93,7 a

- M2 : ORS 403 + ORS 406 + ORS 407 + NIG + CB 756 + 8A11 + THA 205  
+ TAL 1000

- Chaque valeur est la moyenne de cinq répétitions.

Dans chaque colonne, les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à  $P = 0,01$  d'après le test de DUNCAN (1955).

Tableau 17. Concentration en N et P (%) des parties aériennes et des graines de Vigna unguiculata cv. 58-185 cultivé dans des conditions simulant celles du champ pendant 9 semaines et inoculé avec les souches de Rhizobium ORS 407, CB 756 et le mélange de souches M2.

Traitements	Parties aériennes				Graines			
	N %	N total	P %	P total	N %	N total	P %	P total
Témoin	2,49 a	2320,1 a	0,112 a	99,0 a	3,10 a	2685,6 a	0,25 a	232,0 a
ORS 407	2,48 a	2376,5 a	0,115 a	102,5 a	3,20 a	2924,0 a	0,24 a	244,5 a
CB 756	2,50 a	2305,4 a	0,110 a	95,8 a	3,15 a	2726,2 a	0,25 a	228,5 a
M 2	2,51 a	2417,8 a	0,110 a	103,7 a	3,33 a	3071,5 a	0,22 a	220,0 a

- M2 : ORS 403 + ORS 406 + ORS 407 + NIG + CB 756 + 8A11 + THA 205 + TAL 1000

- N et P sont exprimés en mg/5 plantes

- Chaque valeur est la moyenne de cinq répétitions

Dans chaque colonne, les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes

à P = 0,01 d'après le test de DUNCAN (1955).

Tableau 18. Indice de récolte (I.R.) de Vigna unguiculata cv. 58-185 cultivé dans des conditions simulant celles du champ pendant 9 semaines et inoculé avec les souches de Rhizobium ORS 407, CB 756 et le mélange des souches M2

$$(I.R. = \frac{\text{graines}}{\text{parties aériennes}}).$$

Traitements	Poids sec	N total	P total
Témoin	0,939	1,15	2,34
ORS 407	0,960	1,23	2,38
CB 756	0,940	1,18	2,38
M 2	0,965	1,27	2,12

M 2: ORS 403 + ORS 406 + ORS 407 + NIG + CB 756 + 8A11 + THA 205

TAL 1000.

sensible la croissance de la légumineuse. Or il n'en a rien été. On est conduit à émettre l'un ou l'autre des hypothèses suivantes: (a) les souches natives étaient au moins aussi effectives que les souches introduites; (b) l'effectivité des souches introduites pouvait être atténuée par certains facteurs extrinsèques tel que le pH du sol.

#### 4. Discussion Générale

##### 1/ Effectivité de la souche de Rhizobium ORS 407

L'effectivité varie considérablement à l'intérieur d'un groupe de Rhizobium nodulant la même légumineuse. L'effectivité varie également selon l'origine des souches de Rhizobium. Nos expériences ont montré que les huit souches de Rhizobium, toutes appartenant au groupe cowpea, ont une effectivité très différente. Il apparaît que les souches importées et en particulier les souches de référence telle que la souche CB756, ne sont pas toujours plus performantes que les souches locales. Nos expériences ont montré, en accord avec BAGYARAJ et HEDGE (1978) qu'il peut exister une souche locale plus effective que les souches importées. Pour notre cas, il s'agit de la souche ORS 407 qui a été plus effective sur les cultivars 58-185 et Ndiambour de Vigna unguiculata. Cependant, cette meilleure effectivité ne s'exprime pas sur le cultivar Bambey 30, ce qui montre, comme l'avaient souligné MINCHIN et al. (1978) l'influence du génotype de la plante-hôte sur l'effectivité des souches de Rhizobium.

##### 2/ Compétition de la souche de Rhizobium ORS 407

En sol stérile et non stérile, la souche ORS 407 est apparue comme une souche très compétitive dans le cas de sa symbiose avec le cultivar 58-185. Mais la généralisation à d'autres cultivars doit être faite avec prudence. En effet il est possible que la souche ORS 407 ne soit pas plus compétitive lorsqu'elle est associée à d'autres cultivars de Vigna unguiculata étant donné que l'on sait que la compétitivité d'une souche de Rhizobium peut dépendre du génotype de la plante-hôte (CALDWELL et VEST, 1968; ROUGHLEY et al., 1976).

### 3/ Relation entre compétitivité et effectivité

Les résultats du criblage des huit souches de Rhizobium ont donc montré que la souche ORS 407 est la plus effective et la plus compétitive sur Vigna unguiculata cv. 58-185. Nous retrouvons là un résultat similaire de celui de STAMFORD et NEPTUNE (1978) qui avaient trouvé parmi les Rhizobium qu'ils étudiaient une souche plus effective et plus compétitive que les autres souches. La compétitivité de la souche effective ORS 407 vis à vis des souches moins effectives sur le cultivar 58-185 semble montrer une corrélation entre la compétitivité et l'effectivité d'une souche de Rhizobium. Mais une telle corrélation pourrait être fortuite et on ne peut exclure l'hypothèse que le caractère de compétitivité d'une souche est indépendante de son aptitude à fixer l'azote (HAM, 1980).

### 4/ Marquage des souches par pigmentation de l'épiderme nodulaire

La pigmentation externe des nodules de Vigna unguiculata peut être l'expression phénotypique du Rhizobium infectant. Elle pourrait être utilisée, comme le pensent EAGLESHAM et al. (1982) à l'étude de la compétitivité des Rhizobium, mais à condition toutefois que ce caractère génétique soit stable et surtout qu'il n'y ait pas d'infections mixtes qui en fait sont plus fréquentes qu'on ne l'imagine en général.

### 5/ Absence d'effet de l'inoculation sur la croissance de Vigna unguiculata dans un sol non stérile

Nos résultats montrent que contrairement à ce que l'on admet en général, l'absence d'effet de l'inoculation sur la croissance de la légumineuse ne peut être attribuée uniquement à l'absence de compétitivité des souches introduites. Il y a donc lieu de faire appel aux hypothèses suivantes :

(a) réduction de l'effectivité des souches introduites, cette réduction ayant des causes multiples; concentration élevée en azote et en phosphore dans le sol (SUMMERFIELD et al., 1977), propriété physico-chimique du sol, pH notamment (MUNNS et al.,

1977); (b) effectivité au moins égale des souches natives qui, bien que moins compétitives, pourraient contribuer très efficacement à la nutrition azotée de la plante.

En conclusion si dans le cadre de notre étude, nous n'avons pas obtenu par criblage des Rhizobium à la fois compétitifs et très effectifs, il n'en est pas moins nécessaire de poursuivre l'effort dans cette voie. D'un autre côté, on peut envisager la manipulation génétique pour "construire" des souches plus effectives que celles dont nous disposons actuellement.



**Chapitre IV**

**INFLUENCE DU GÉNOTYPE DE LA PLANTE-HÔTE SUR LA SYMBIOSE  
*VIGNA UNGUICULATA* – *GLOMUS MOSSEAE***



### 1. Objectif

On sait que certaines plantes répondent mieux à la mycorrhization que d'autres. A l'intérieur même d'une espèce végétale donnée, la réponse à la mycorrhization peut varier également en fonction du cultivar (BERTHEAU, 1979). Nous avons essayé de vérifier ce fait avec Vigna unguiculata dans le cas de 11 cultivars et de classer ces cultivars en fonction de leur réponse à la mycorrhization.

### 2. Dispositif expérimental

L'expérience (9.11.1981 au 27.12.1981) a porté sur les cultivars 58-185, 59-25, TVu 179, TVu 652, Vita 1, Vita 4, Vita 5, Vita 7, Vita 8, TVx 1850-01E et TVx 1952-01E. Le sol Dek utilisé a été choisi en raison de sa carence en phosphore de façon à bien mettre en évidence l'effet de l'inoculation avec Glomus mosseae. Bien que ce sol soit relativement riche en azote minéral, la concentration en cet élément n'est pas assez élevée pour inhiber la nodulation et la fixation de l'azote. Toutes les plantes ont été cultivées sur sol stérile en pots de terre cuite. Nous avons arrosé quotidiennement avec 100ml d'eau de robinet et chaque semaine avec une solution HEWITT sans azote ni phosphore diluée au quart. Il y a eu trois traitements :

- plantes non mycorrhizées, inoculées seulement avec Rhizobium ORS 407 (R) ;
- plantes inoculées avec Rhizobium ORS 407 et Glomus mosseae (RM) ;
- plantes non mycorrhizées, inoculées avec Rhizobium ORS 407 seulement et ayant reçu du phosphore soluble sous forme de supertriple (45%  $P_2O_5$ ) à raison de 8 ppm (RP).

Nous avons considéré que la réponse de Vigna unguiculata à la mycorrhization ( $\Delta$ ) pourrait être mesurée par le pourcentage d'augmentation relative d'une caractéristique donnée de la plante [poids sec des parties aériennes (C), teneurs totales en azote (N), en phosphore (P), en zinc (Zn) et en cuivre (Cu)] à la suite de

son infection par Glomus mosseae

$$\Delta = \frac{r_m - r}{r} \times 100$$

$r_m$  : valeur de la caractéristique considérée dans le cas du traitement RM.

$r$  : valeur de la caractéristique considérée dans le cas du traitement R.

Il est apparu nécessaire aussi de prendre en considération la réponse de Vigna unguiculata à l'apport de phosphore ( $\delta$ ), cette réponse étant mesurée par le pourcentage d'augmentation relative des caractéristiques citées ci-dessus.

$$\delta = \frac{r_p - r}{r} \times 100$$

$r_p$  : valeur de la caractéristique considérée dans le cas du traitement RP

$r$  : valeur de la caractéristique considérée dans le cas du traitement R.

Par exemple, si on considère le poids sec des parties aériennes (C) pour le cultivar 58-185 (tableau 19), on trouve :

$$\Delta C = \frac{3,7 - 1,6}{3,7} \times 100 = 132 \quad \text{et} \quad \delta C = \frac{3,6 - 1,6}{1,6} \times 100 = 125.$$

### 3. Résultats

#### 3.1. Infection mycorhizienne

La fréquence d'infection mycorhizienne n'a pas semblé dépendre du cultivar. Par contre, l'intensité de l'infection a varié suivant les cultivars. Elle est passée de 51% pour TVx 1952-01E à 72% pour 58-185 et TVu 179 (tableau 19).

#### 3.2. Croissance de la plante et nodulation

Les résultats obtenus ont montré que, pour tous les cultivars,

Tableau 19. Poids sec des parties aériennes et des nodules; infection mycorhizienne de 11 cultivars de Vigna unguiculata cultivé pendant 7 semaines sur sol Dek stérile et inoculé avec Glomus mosseae

Cultivars	Traitements	Parties aériennes (g/plante)	Nodules (g/plante)	Infection mycorhizienne	
				Fréquence	Intensité
58-185	R	1,6 a	0,044 a	0	0
	RP	3,6 b	0,097 b	0	0
	RM	3,7 b	0,099 b	100	72
59-25	R	1,4 a	0,054 a	0	0
	RP	2,8 b	0,103 b	0	0
	RM	2,8 b	0,099 b	100	60
TVu 179	R	1,4 a	0,042 a	0	0
	RP	2,6 b	0,095 b	0	0
	RM	2,8 b	0,094 b	98	72
TVu 652	R	1,6 a	0,050 a	0	0
	RP	3,1 b	0,084 b	0	0
	RM	3,3 b	0,108 c	100	68
Vita 1	R	1,5 a	0,057 a	0	0
	RP	3,7 b	0,099 b	0	0
	RM	3,3 b	0,075 c	98	61
Vita 4	R	0,9 a	0,007 a	0	0
	RP	2,8 b	0,064 b	0	0
	RM	2,2 c	0,053 b	100	70
Vita 5	R	1,5 a	0,014 a	0	0
	RP	2,7 b	0,043 b	0	0
	RM	2,7 b	0,051 b	100	67
Vita 7	R	1,7 a	0,034 a	0	0
	RP	2,5 b	0,093 b	0	0
	RM	2,7 b	0,072 c	98	66
Vita 8	R	1,7 a	0,071 a	0	0
	RP	3,3 b	0,141 b	0	0
	RM	2,8 b	0,097 c	100	71
TVx 1850-01E	R	1,7 a	0,030 a	0	0
	RP	2,5 b	0,064 b	0	0
	RM	2,2 b	0,047 b	98	71
TVx 1952-01E	R	1,4 a	0,030 a	0	0
	RP	2,8 b	0,074 b	0	0
	RM	2,3 b	0,062 b	79	51

- Chaque valeur est la moyenne de cinq répétitions

- Pour chaque cultivar et pour chaque paramètre, les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à  $P = 0,05$  d'après le test de DUNCAN (1955).

R: plantes inoculées avec Rhizobium ORS 407 seulement. RP: plantes inoculées avec Rhizobium ORS 407 et ayant reçu du phosphore soluble (8 ppm)

RM : plantes inoculées avec Rhizobium ORS407 et Glomus mosseae

l'inoculation avec Glomus mosseae et l'apport de phosphore soluble ont augmenté de façon significative le poids sec des parties aériennes et celui des nodules (tableaux 19 et 22).

Fait remarquable, des différences entre cultivars se sont manifestées, dans la réponse de Vigna unguiculata à la mycorhization en ce qui concerne le poids sec des parties aériennes ( $\Delta C$ ) (tableau 22). En fonction de cette réponse, nous avons classé les cultivars en trois catégories :

1. cultivars répondant bien à la mycorhization ( $\Delta C > 120$ ):  
58-185, Vita 1, Vita 4.
2. cultivars répondant moyennement à la mycorhization  
( $120 > \Delta C > 60$ ): 59-25, TVu 179, TVu 652, Vita 5, Vita 7,  
Vita 8, TVx 1952-01E.
3. Cultivar répondant faiblement à la mycorhization ( $60 > \Delta C$ ):  
TVx 1850-01E.

En outre, nous avons trouvé une corrélation positive entre la réponse à la mycorhization ( $\Delta C$ ) et la réponse à l'apport de phosphore ( $\delta C$ ) en ce qui concerne le poids sec des parties aériennes (tableau 23), ce qui est un argument supplémentaire en faveur du fait que les endomycorhizes VA exercent un effet trophique qui est lié à la nutrition phosphatée.

### 3.3. Teneur totale en azote

Pour tous les cultivars, l'apport de phosphore soluble et l'inoculation avec Glomus mosseae ont augmenté de façon significative la teneur totale en azote des parties aériennes (tableau 20).

Compte tenu de la réponse de Vigna unguiculata à la mycorhization en ce qui concerne la teneur totale en azote ( $\Delta N$ ) (tableau 22), nous avons classé les cultivars comme suit :

1. cultivar répondant bien à la mycorhization ( $\Delta N > 120$ ): 58-185
2. cultivars répondant moyennement à la mycorhization  
( $120 > \Delta N > 60$ ) : 59-25, Vita 1, Vita 4, Vita 5, Vita 7, Vita 8,

TVu 179, TVu 652, TVx 1952-01E.

3. cultivar répondant faiblement à la mycorhization ( $60 > \Delta N$ ):  
TVx 1850-01E.

Nous n'avons trouvé aucune corrélation entre la réponse à la mycorhization par Glomus mosseae ( $\Delta N$ ) et la réponse à l'apport de phosphore ( $\delta N$ ) en ce qui concerne la teneur totale en azote (tableau 23). Ce résultat montre qu'en dehors de l'effet trophique vis à vis du phosphore mis en évidence au paragraphe précédent, les endomycorhizes VA pourraient jouer un effet non négligeable sur la nutrition azotée, cet effet ne résultant pas uniquement de l'amélioration de la nutrition phosphatée, mais d'un effet trophique autre que celui concernant le phosphore ou d'un effet spécifique non encore défini.

#### 3.4. Teneur totale en phosphore

Pour tous les cultivars, l'apport de phosphore soluble et l'inoculation avec Glomus mosseae ont augmenté de façon significative la teneur totale en phosphore des parties aériennes (tableau 20).

Compte tenu de la réponse de Vigna unguiculata à la mycorhization en ce qui concerne la teneur totale en phosphore ( $\Delta P$ ) (tableau 22) nous avons classé les cultivars comme suit :

1. cultivars répondant bien à la mycorhization ( $\Delta P > 120$ ):  
58-185, Vita 1, Vita 4, Vita 5, Vita 8.
2. cultivars répondant moyennement à la mycorhization  
( $120 > \Delta P > 60$ ): 59-25, TVu 179, TVu 652, TVx 1952-01E.
3. cultivars répondant faiblement à la mycorhization  
( $60 > \Delta P$ ): Vita 7, TVx 1850-01E.

Nous avons trouvé une corrélation positive entre la réponse à la mycorhization par Glomus mosseae ( $\Delta P$ ) et la réponse à l'apport de phosphore ( $\delta P$ ) en ce qui concerne la teneur en phosphore (tableau 23), résultat auquel il fallait s'attendre puisque le sol Dek est carencé en phosphore.

Tableau 20. Concentration et teneur totale en N et P (%) de  
11 cultivars de Vigna unguiculata cultivés pendant  
7 semaines sur sol Dek stérile et inoculés avec  
Glomus mosseae

Cultivars	Traitements	N %	N total (mg/plante)	P %	P total (mg/plante)
58-185	R	2,30 a	40,4 a	0,095 a	1,48 a
	RP	2,56 ab	82,8 b	0,105 a	3,78 b
	RM	2,87 b	106,7 c	0,110 a	4,10 b
59-25	R	2,63 a	40,5 a	0,11 a	1,52 a
	RP	2,85 a	74,7 b	0,122 a	3,44 b
	RM	2,94 a	81,7 b	0,097 a	2,68 c
TVu 179	R	2,45 a	34,7 a	0,10 ab	1,36 a
	RP	2,55 a	64,2 b	0,125 b	3,26 b
	RM	2,79 b	77,5 b	0,085 a	2,36 c
TVu 652	R	2,35 a	40,5 a	0,090 a	1,40 a
	RP	2,53 b	73,8 b	0,112 a	3,50 b
	RM	2,67 b	88,6 b	0,105 a	3,48 b
Vita 1	R	1,94 a	32,4 a	0,075 a	1,06 a
	RP	2,19 a	71,4 b	0,115 b	4,20 b
	RM	3,06 a	68,4 b	0,095 ab	3,15 c
Vita 4	R	2,02 a	29,0 a	0,100 a	0,90 a
	RP	3,20 b	56,7 b	0,097 a	2,68 b
	RM	2,14 a	47,1 c	0,092 a	2,02 c
Vita 5	R	2,21 a	34,0 a	0,080 a	1,20 a
	RP	2,62 a	70,2 b	0,132 b	3,48 b
	RM	2,42 a	66,0 b	0,110 b	2,98 b
Vita 7	R	1,91 a	32,1 a	0,092 a	1,52 a
	RP	2,48 b	61,5 b	0,142 b	3,48 b
	RM	2,60 b	70,8 b	0,077 a	2,09 c
Vita 8	R	2,79 a	46,8 a	0,090 a	1,46 a
	RP	3,00 a	99,0 b	0,177 b	5,80 b
	RM	2,99 a	84,3 b	0,110 a	3,38 c
TVx 1850-01E	R	1,90 a	36,4 a	0,105 a	1,74 a
	RP	2,19 ab	47,9 ab	0,125 a	3,14 b
	RM	2,46 b	56,1 b	0,102 a	2,32 c
TVx 1952-01E	R	2,42 a	34,4 a	0,107 a	1,51 a
	RP	2,39 a	66,5 b	0,160 b	4,48 b
	RM	2,50 a	58,5 b	0,107 a	2,50 c

- Chaque valeur est la moyenne de cinq répétitions

- Pour chaque cultivar et pour chaque paramètre les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à  $P = 0,05$  d'après le test de DUNCAN (1955).

R : plantes inoculées avec Rhizobium ORS 407 seulement

RP : plantes inoculées avec Rhizobium ORS 407 et ayant reçu du phosphore soluble (8 ppm)

RM : plantes inoculées avec Rhizobium ORS 407 et Glomus mosseae

### 3.5. Teneurs totales en zinc et en cuivre

Chez tous les cultivars, l'apport de phosphore soluble et l'inoculation avec Glomus mosseae ont augmenté significativement la teneur totale en zinc des parties aériennes (tableau 21).

Compte tenu de la réponse de Vigna unguiculata à la mycorhization en ce qui concerne la teneur totale en zinc ( $\Delta Z_n$ ) (tableau 22), les cultivars ont été classés comme suit :

1. cultivars répondant à la mycorhization ( $\Delta Z_n > 120$ ): 58-185, TVu 179, TVu 652, Vita 1, Vita 4.
2. cultivars répondant moyennement à la mycorhization ( $120 > \Delta Z_n > 60$ ): 59-25, Vita 5, Vita 7, Vita 8, TVx 1850-01E.
3. cultivars répondant faiblement à la mycorhization ( $60 > \Delta Z_n$ ): TVx 1952-01E.

En ce qui concerne le cuivre, l'apport de phosphore soluble et l'inoculation avec Glomus mosseae ont augmenté significativement la teneur totale en cuivre des parties aériennes (tableau 21).

Nous avons classé les cultivars en fonction de leur réponse à la mycorhization en ce qui concerne la teneur totale en cuivre ( $\Delta Cu$ ) (tableau 22) comme suit :

1. cultivars répondant mieux à la mycorhization ( $\Delta Cu > 120$ ): TVu 652, Vita 1.
2. cultivars répondant moyennement à la mycorhization ( $120 > \Delta Cu > 60$ ): 58-185, TVu 179, TVx 1850-01E, TVx 1952-01E.
3. cultivars répondant faiblement à la mycorhization ( $60 > \Delta Cu$ ): 59-25, Vita 4, Vita 5, Vita 7, Vita 8.

Pour les teneurs totales en zinc et en cuivre, nous avons trouvé une corrélation positive entre la réponse à la mycorhization par Glomus mosseae et la réponse à l'apport de phosphore (tableau 23). Il est difficile d'expliquer l'existence de cette corrélation autrement que par un effet de l'amélioration de la nutrition phosphatée de la plante sur l'absorption du zinc et du

Tableau 21. Concentration et teneur totale en Zn et Cu de  
11 cultivars Vigna unguiculata cultivés pendant  
7 semaines sur sol Dek stérile et inoculés avec  
Glomus mosseae

Cultivars	Traitements	Zn (ppm)	Zn total	Cu (ppm)	Cu total
58-185	R	16,67 a	26,30 a	3,0	4,75 a
	RP	14,67 a	52,80 b	3,0	10,80 b
	RM	24,30 b	90,50 c	2,5	9,30 c
59-25	R	20,00 a	28,40 a	2,5	3,35 a
	RP	14,60 b	41,60 b	2,5	7,10 b
	RM	22,30 a	62,04 c	1,5	4,17 a
TVu 179	R	20,00 a	27,20 a	2,0	2,72 a
	RP	19,30 a	50,63 b	3,5	9,17 b
	RM	24,00 b	66,72 c	2,0	5,16 c
TVu 652	R	21,00 a	33,60 a	1,5	2,40 a
	RP	12,67 b	39,77 b	3,0	9,42 b
	RM	23,00 a	76,36 c	2,0	6,64 c
Vita 1	R	15,00 a	22,20 a	3,0	4,44 a
	RP	10,60 b	39,26 b	2,0	7,36 b
	RM	19,30 c	64,15 c	3,0	9,96 c
Vita 4	R	19,30 a	17,40 a	2,5	2,25 a
	RP	14,30 b	40,78 b	2,5	6,85 b
	RM	21,60 a	47,67 c	1,5	3,30 c
Vita 5	R	18,60 a	28,75 a	2,5	3,85 a
	RP	11,30 b	30,36 b	3,5	8,58 b
	RM	21,00 a	57,12 c	2,0	5,44 c
Vita 7	R	15,30 a	25,75 a	3,0	5,02 a
	RP	17,30 ab	42,97 b	3,0	7,44 b
	RM	19,50 b	52,57 c	2,0	5,44 a
Vita 8	R	20,30 a	33,74 a	1,0	1,66 a
	RP	15,00 b	49,50 b	2,0	6,60 b
	RM	25,60 c	72,35 c	3,0	8,46 c
TVx 1850-01E	R	17,30 a	28,76 a	2,0	3,32 a
	RP	15,00 a	37,80 b	2,0	5,04 b
	RM	22,60 b	51,66 c	2,5	5,70 b
TVx 1952-01E	R	22,00 a	36,52 a	1,5	2,13 a
	RP	17,00 b	42,80 b	2,5	6,95 b
	RM	19,60 b	44,82 b	1,5	3,51 c

- Zn total et Cu total sont exprimés en  $\mu\text{g/plante}$

- Chaque valeur est la moyenne de cinq répétitions sauf pour les valeurs de la première colonne (trois répétitions) et la troisième colonne (deux répétitions)

- Pour chaque cultivar et pour chaque paramètre, les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à  $P = 0,05$  d'après le test de DUNCAN (1955).

R : plantes inoculées avec Rhizobium ORS 407 seulement

RP : plantes inoculées avec Rhizobium ORS 407 seulement et ayant reçu du phosphore soluble (8 ppm)

RM : plantes inoculées avec Rhizobium ORS 407 et Glomus mosseae

Tableau 22. Réponse à l'apport de P ( $\delta$ ) et à la mycorhization ( $\Delta$ ) en ce qui concerne le poids sec des parties aériennes, N total, P total, Zn total et Cu total de 11 cultivars de Vigna unguiculata cultivés pendant 7 semaines sur sol Dek stérile et inoculés avec Glomus mosseae

Cultivars	Parties aériennes		N total		P total		Zn total		Cu total	
	$\delta_C^{(1)}$	$\Delta_C^{(2)}$	$\delta N$	$\Delta N$	$\delta P$	$\Delta P$	$\delta Zn$	$\Delta Zn$	$\delta Cu$	$\Delta Cu$
58-185	125	132	104	164	155	177	100	244	127	95
59-25	102	98	84	101	126	77	46	118	112	24
TVu 179	87	98	85	123	139	73	86	145	237	89
TVu 652	96	107	82	118	150	149	18	127	292	176
Vita 1	145	121	120	111	296	197	76	189	65	124
Vita 4	208	144	95	65	197	124	141	174	204	46
Vita 5	78	81	106	94	190	148	5	98	122	41
Vita 7	45	60	91,5	120	128	37	66	104	48	8
Vita 8	94	66	111,5	80	297	131	46	114	297	409
TVx 1850-01E	48	25	31,5	54	80	33	31	79	51	71
TVx 1952-01E	98	67	93,5	70	196	65	17	22	226	64

$$(1) \quad \delta = \frac{r_p - r}{r} \times 100$$

$$(2) \quad \Delta = \frac{r_m - r}{r} \times 100$$

r : valeur d'une caractéristique considérée dans le cas du traitement R

rp: valeur d'une caractéristique considérée dans le cas du traitement RP

rm: valeur d'une caractéristique considérée dans le cas du traitement RM

Tableau 23. Corrélation entre la réponse à l'apport de P et la réponse à la mycorhization chez 11 cultivars de Vigna unguiculata cultivés pendant 7 semaines sur sol Dek stérile et inoculés avec Glomus mosseae.

	<u>Parties aériennes</u>	<u>N total</u>	<u>P total</u>	<u>Zn total</u>	<u>Cu total</u>
<u>Coefficient de corrélation (rs)</u>	0,847	0,054	0,572	0,791	0,705
<u>Nature de la corrélation</u>	P	A	P	P	P

A : Absence de corrélation

P : Corrélation positive

cuivre. Quoiqu'il en soit, l'effet de la mycorhization sur la nutrition en zinc et en cuivre est claire. On reviendra sur ce point dans la discussion.

#### 4. Discussion

##### 4.1. Variabilité de la réponse à la mycorhization

Les résultats présentés ici montrent qu'il n'existe pas de relation entre l'infection et la réponse à la mycorhization. Ces résultats confirment également le rôle du génotype de la plante-hôte dans la réponse à l'infection mycorhizienne déjà signalé par MORLEY et MOSSE (1976) et TRINICK (1977) dans le cas du lupin, BERTHEAU (1979) dans le cas du blé et OLLIVIER (1981) dans le cas de Vigna unguiculata. En étudiant 11 cultivars de Vigna unguiculata, nous avons pu effectuer un classement de ces cultivars fondé sur les caractéristiques suivantes : poids sec des parties aériennes, teneur totale en azote, teneur totale en phosphore. Si les classements réalisés selon chacune de ces caractéristiques ne sont pas tout à fait identiques, ils indiquent les mêmes tendances quant à la réponse des plantes à la mycorhization. Ainsi le cultivar 58-185 répond toujours de façon très marquée à la mycorhization tandis que le cultivar TVx 1850-01E est le moins affecté par la mycorhization.

L'utilisation des caractéristiques teneurs totales en zinc et en cuivre aboutit à un classement différent des cultivars. Dans l'état actuel de nos connaissances, nous ne pouvons expliquer la cause de cette modification du classement.

L'existence d'une variabilité très grande dans la réponse à la mycorhization pose le problème de l'intérêt que pourrait présenter sur le plan agronomique, l'utilisation de cultivars répondant bien à la mycorhization. Ce qui nous amène à suggérer que la sélection de tels cultivars pourrait contribuer au succès de l'inoculation des plantes par les endomycorhizes VA. De ce point de vue, en ce qui concerne Vigna unguiculata, nos résultats ont révélé que le cultivar 58-185, plutôt que les autres cultivars,

devrait être utilisé en cas d'inoculation avec les endomycorhizes VA pour augmenter son rendement. Il est intéressant de noter que les agronomes du centre de recherche de Bambey avaient déjà empiriquement constaté la supériorité du cultivar 58-185. Nos résultats expliquent, du moins en partie, l'origine de cette supériorité.

#### 4.2. Rôle des mycorhizes dans la nutrition phosphatée de *Vigna unguiculata*

L'existence d'une corrélation positive entre la réponse à l'apport de phosphore soluble et la réponse à la mycorhization avec *Glomus mosseae* confirme le fait bien connu que l'effet des mycorhizes est essentiellement trophique vis à vis du phosphore (MOSSE, 1976; HAYMAN, 1978; TINKER, 1978). L'amélioration de la nutrition phosphatée pourrait être l'origine de l'amélioration de la nutrition en zinc et en cuivre. Mais il s'agit là seulement d'une hypothèse.

#### 4.3. Rôle des mycorhizes dans la nutrition azotée de *Vigna unguiculata*

On peut imaginer trois hypothèses :

- a - l'endomycorhization, en améliorant la nutrition phosphatée favoriserait indirectement la fixation de l'azote par la légumineuse (SMITH et al., 1979);
- b - l'endomycorhization se traduirait par une amélioration de l'absorption de l'azote minéral du sol (il est admis que les mycorhizes n'interviennent pas dans la minéralisation);
- c - l'endomycorhization, en améliorant la nutrition en oligoéléments favoriserait indirectement la fixation de l'azote par la plante.

L'absence de corrélation entre la réponse à l'apport de phosphore soluble et l'effet de la mycorhization en ce qui concerne la teneur totale en azote (§ 3.3.) suggérerait que l'hypothèse "a" ne serait pas la seule à envisager.

Chapitre V

**REPONSE DE *VIGNA UNGUICULATA* A L'INOCULATION AVEC *GLOMUS MOSSEAE*  
EN PRÉSENCE DE DIFFÉRENTES DOSES DE PHOSPHORE ET DE ZINC**



### 1. Objectif

Il est bien connu que des doses relativement élevées en phosphore réduisent l'infection des plantes par les endomycorhizes VA. (DAFT et NICHOLSON, 1969). Nous avons voulu vérifier ce concept en effectuant une première expérience ayant pour objet de vérifier si l'apport de phosphore à des doses croissantes modifiaient la réponse de Vigna unguiculata à la mycorhization dans un sol carensé en phosphore.

Des expériences préliminaires ayant montré que le sol Dek utilisé présentait probablement une carence en zinc, il nous a paru intéressant de vérifier si des apports combinés ou non de phosphore et de zinc pouvaient influencer la réponse de Vigna unguiculata à la mycorhization. Une deuxième expérience a été mise en place pour répondre à cette question.

### 2. Première expérience: étude de la réponse de Vigna unguiculata à la mycorhization en présence de différentes doses de phosphore.

Dans cette expérience (8.03.1981 au 30.04.1982), nous avons cultivé les plantes de Vigna unguiculata cultivar 58-185 pendant 54 jours sur le sol Dek stérile en pots de terre cuite. Nous avons effectué deux groupes de traitements :

- plantes inoculées avec Rhizobium ORS 407 seulement (témoins) et ayant reçu du phosphore soluble sous forme de supertriple à 0, 20, 60, 100 et 180 ppm P;
- plantes inoculées avec Rhizobium ORS 407 et Glomus mosseae, ayant reçu également du phosphore soluble sous forme de supertriple à 0, 20, 60, 100 et 180 ppm P.

Nous avons arrosé quotidiennement avec 100ml d'eau du robinet et toutes les semaines avec 100ml de la solution HEWITT sans azote, ni phosphore ni zinc, dilué au quart.

## 2.1. Résultats

Infection mycorhizienne. La fréquence de l'infection mycorhizienne ne dépend pas de la dose de phosphore apporté (tableau 24). Bien que des différences ont apparues en ce qui concerne l'intensité de l'infection, elles n'ont pas été significatives.

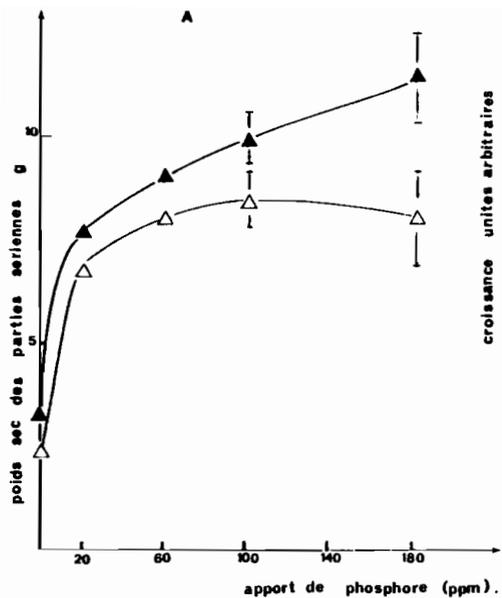
### 2.1.1. Croissance de la plante et nodulation (tableau 24)

Dans le cas des plantes non inoculées avec Glomus mosseae (NM) l'apport de phosphore soluble à des doses croissantes jusqu'à 100 ppm a augmenté le poids sec des parties aériennes. Les doses supérieures à 100 ppm n'ont pas eu d'effet sur la croissance de la plante. La courbe d'action physiologique du phosphore (Fig. 10 A) a présenté trois zones: une zone où la réponse à l'apport de phosphore a été très marquée (concentrations en phosphore inférieures à 60 ppm), une zone où l'effet du phosphore a été encore net, mais moins marqué (concentration en phosphore comprises entre 60 et 140 ppm) et une zone où la réponse à l'apport de phosphore a été nulle (concentrations en phosphore supérieures à 140 ppm).

Dans le cas des plantes inoculées avec Glomus mosseae (M), l'apport de phosphore soluble à des doses croissantes, même supérieures à 100 ppm P a augmenté significativement le poids sec des parties aériennes. Sur la courbe d'action physiologique, la zone pour laquelle l'accroissement de l'apport de phosphore a été sans effet, disparaît aux doses élevées de phosphore et correspond à une croissance améliorée de la plante.

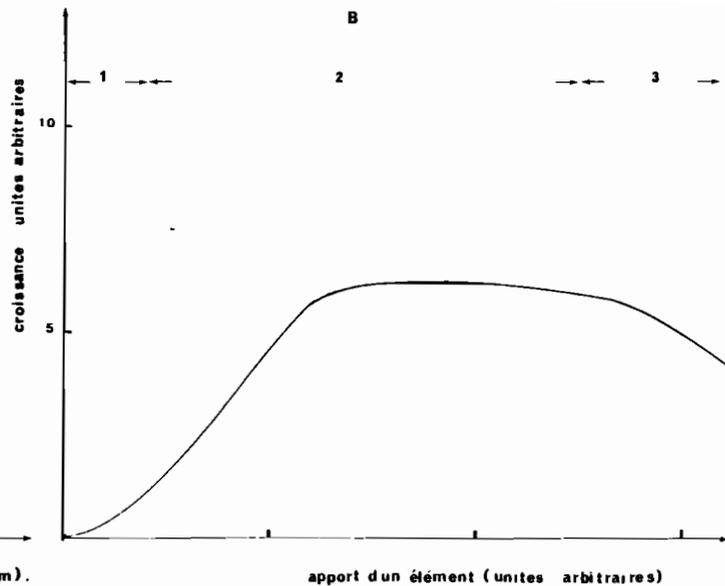
### 2.1.2. Concentration en phosphore (P%) et teneur totale en phosphore (voir tableau en annexe I).

Lorsque l'apport de phosphore a atteint 100 ppm, l'effet de la mycorhization a été accru: la concentration en phosphore (P%) et la teneur totale en phosphore ont été significativement supérieures chez les plantes mycorhizées (Fig. 11).



▲—▲ Mycorhize  
 △—△ Non mycorhize

Fig. 10 A. - Courbe d'action physiologique du phosphore sur *Vigna unguiculata* cv. 58-185.



1. Zone de déficience  
 2. Zone de croissance optimale  
 3. Zone de toxicité

Fig. 10 B. - Courbe d'action physiologique théorique (HELLER, 1977).

Tableau 24. Poids sec des parties aériennes et des nodules et infection mycorhizienne de Vigna unguiculata cv. 58-185 cultivé pendant 54 jours sur sol Dek stérile, inoculé avec Glomus mosseae et à différentes doses de P.

Apport de P (ppm)	Parties aériennes (g/plante)		Nodules (mg/plante)		Infection mycorhizienne (%)							
					Fréquence		Intensité (%)					
	N	M (1)	NM	M (2)	NM	M	NM	M				
0	2,46	a	3,13	a	30,16	a	86,16	a	0	100	0	47
20	6,78	b	7,85	b	96,60	b	119,00	b	0	100	0	39
60	8,06	c	8,71	c	230,50	c	255,00	c	0	100	0	47
100	8,53	c	9,96	d	347,60	d	329,30	d	0	100	0	60
180	8,18	c	11,40	e	261,16	c	424,50	e	0	100	0	47

(1) NM Non Mycorhizé

(2) M Mycorhizé

- Chaque valeur est la moyenne de cinq répétitions

- Pour chaque colonne, les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à P = 0,05 d'après le test de DUNCAN (1955).

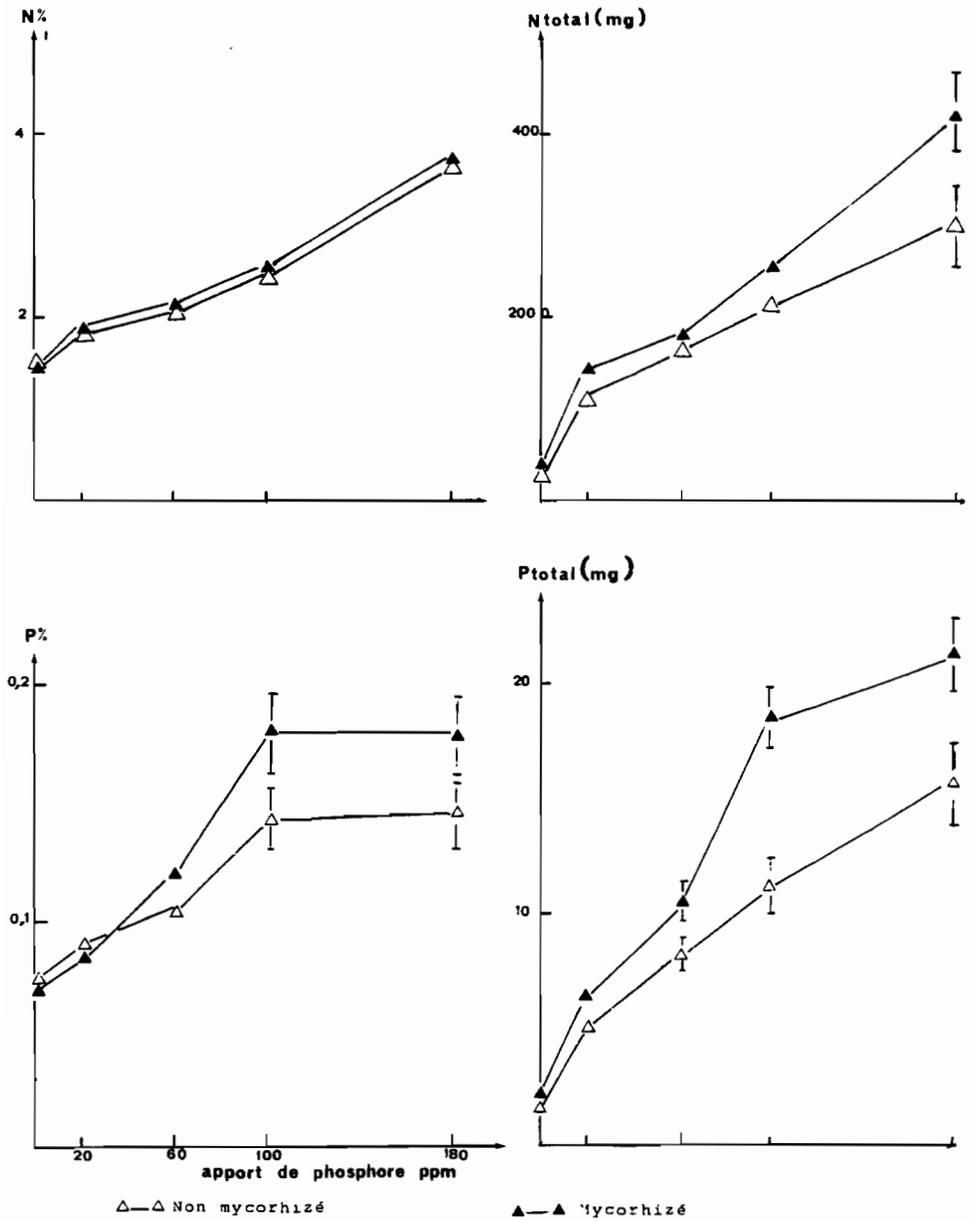


Fig. 11. - Influence de différentes doses de phosphore sur *Vigna unguiculata* cv. 58-185.

### 2.1.3. Concentration en azote (N%) et teneur totale en azote (voir tableau en annexe I)

Les courbes de concentration en azote (N%) ont été similaires chez les plantes mycorhizées et non mycorhizées (Fig. 11) alors que les courbes correspondant à la teneur totale en azote (Fig. 11) ont été significativement différentes suivant que les plantes étaient mycorhizées ou non.

### 2.2. Discussion

BETHLENFALVAY et YODER (1981), sur milieu synthétique ont montré qu'aux faibles concentrations en phosphore, l'infection mycorhizienne est indépendante de la concentration en phosphore. Mais aux fortes concentrations en phosphore, l'infection mycorhizienne diminue quand la concentration en phosphore augmente. Nos résultats qui sont en contradiction avec ceux de ces auteurs, ont montré que même aux fortes concentrations en phosphore, l'infection mycorhizienne est indépendante de la concentration en phosphore. Cette contradiction s'explique par le fait que dans notre système, le phosphore a été apporté une fois pour toutes au début de l'expérience et qu'il a été constamment dilué dans le sol à la suite de son absorption par la plante, ce qui n'est pas le cas chez les auteurs précités qui eux, renouvelaient toujours le milieu nutritif utilisé de façon à maintenir les concentrations en phosphore constantes.

Considérons la courbe théorique d'action physiologique qui traduit l'effet des doses croissantes d'un élément sur la croissance d'une plante (HELLER, 1977), elle présente trois zones (Fig. 10 B): une zone de déficience, une zone de croissance optimale et une zone de toxicité. Nos résultats ont montré que dans le cas des plantes non inoculées avec Glomus mosseae (NM), la courbe d'action du phosphore sur la croissance de Vigna unguiculata n'est pas conforme à la courbe théorique car elle ne montre pas la zone de déficience. Cela est certainement dû au fait que le sol Dek contenait au départ une quantité faible mais non négligeable de phosphore assimilable.

Contrairement à certains auteurs qui rapportent l'absence de l'effet des endomycorhizes VA sur la croissance de la plante-hôte lors de forts apports de phosphore (DAFT et NICHOLSON, 1969), nos expériences ont montré que même aux apports élevés de phosphore, le poids sec des parties aériennes des plantes inoculées avec Glomus mosseae (M) est toujours supérieur à celui des plantes non mycorhizées (NM). Il s'agit là d'une véritable valorisation du phosphore, même lorsqu'il est apporté à de fortes doses. Cette valorisation est d'autant plus remarquable que Glomus mosseae fait disparaître la zone de non réponse observée sur la courbe d'action du phosphore des plantes non mycorhizées.

### 3. Deuxième expérience: étude de la réponse de Vigna unguiculata à la mycorhization en présence de différentes doses de phosphore et de zinc.

Nous avons utilisé une expérience factorielle à six répétitions, les trois facteurs étudiés étant les suivants :

- facteur A (doses de zinc): 0 ( $Zn_0$ ), 2 ( $Zn_2$ ) ou 5ppm ( $Zn_5$ )
- facteur B (doses de phosphore): 20 ( $P_{20}$ ) ou 80 ppm ( $P_{80}$ );
- facteur C (Glomus mosseae): absence (NM) ou présence (M).

Nous avons cultivé les plantes de Vigna unguiculata, cultivar 58-185 sur le sol Dek stérile pendant 54 jours (8.03.1982 au 30.04.1982). Les résultats d'analyse ont été interprétés en utilisant la méthode de calcul statistique de Van DEN DRIESSCHE (BECK et al., 1969). Nous avons présenté le calcul statistique détaillé de cette expérience en annexe II.

#### 3.1. Résultats

Tous les résultats sont récapitulés au tableau 25.

##### 3.1.1. Poids sec des parties aériennes

Il y a eu un effet significatif ( $P = 0,05$ ) libre de toute interaction de l'endomycorhization (tableau 26): qu'il y ait eu ou non apport de zinc ou phosphore, l'inoculation avec Glomus

Tableau 25. Poids sec des parties aériennes et des nodules, N total et P total de Vigna unguiculata cultivé sur sol Dek stérile pendant 54 jours, inoculé (M) ou non inoculé (NM) avec Glomus mosseae pour différents niveaux de P et Zn.

Traitement	Poids sec parties aériennes (g/plante)	Poids sec nodu- les (mg/plante)	N total (mg/plante)	P total (mg/plante)
Zn <sub>0</sub> P <sub>20</sub> NM	3,40	90,00	75,60	2,80
Zn <sub>2</sub> P <sub>20</sub> NM	4,00	101,00	84,80	2,92
Zn <sub>5</sub> P <sub>20</sub> NM	3,60	94,00	78,90	3,10
Zn <sub>0</sub> P <sub>80</sub> NM	4,30	108,90	91,52	3,38
Zn <sub>2</sub> P <sub>80</sub> NM	5,60	123,00	103,35	3,77
Zn <sub>5</sub> P <sub>80</sub> NM	5,40	113,20	95,03	3,51
Zn <sub>0</sub> P <sub>20</sub> M	3,80	123,50	103,74	3,84
Zn <sub>2</sub> P <sub>20</sub> M	4,30	126,70	106,40	3,88
Zn <sub>5</sub> P <sub>20</sub> M	4,50	137,10	115,08	4,25
Zn <sub>0</sub> P <sub>80</sub> M	4,90	161,90	136,05	5,03
Zn <sub>2</sub> P <sub>80</sub> M	6,20	195,80	164,40	6,00
Zn <sub>5</sub> P <sub>80</sub> M	6,05	197,47	165,75	6,13

(1): pour la signification des abréviations, voir texte §.3.

mosseae a augmenté le poids sec des parties aériennes de 13%.

D'autre part, il y a eu une interaction entre l'apport de zinc et celui de phosphore sur le poids sec des parties aériennes (tableau 27) :

- a/ l'apport de zinc (2 à 5 ppm) a augmenté le poids sec des parties aériennes de 13,9% à 20 ppm de phosphore et de 26,3% à 80 ppm de phosphore.
- b/ en l'absence d'apport de zinc, l'accroissement de l'apport de phosphore a entraîné une augmentation du poids sec des parties aériennes de 27,7% mais en présence de zinc (2 à 5 ppm) l'effet de l'apport du phosphore a été plus marqué : + 41,7%.

### 3.1.2. Poids sec des nodules

Il y a eu un effet principal significatif ( P = 0,05) libre de toute interaction de l'apport du zinc (tableau 28) : que les plantes aient été mycorhizées ou non, l'apport de zinc à une dose de 2 à 5 ppm a augmenté le poids sec des nodules de 12,3%.

Il y a eu également une interaction entre l'apport de phosphore et la mycorhization avec Glomus mosseae (tableau 29) :

- a/ en l'absence d'inoculation avec Glomus mosseae, l'accroissement de l'apport de phosphore a exercé un effet plus marqué sur le poids sec des nodules(+27,4%) que l'accroissement observé en présence de Glomus mosseae (+ 16,2%). L'effet conjugué de Glomus mosseae et de l'apport de phosphore a donné le poids de nodule le plus élevé (157,36mg).
- b/ lorsque l'on a appliqué la plus faible dose de phosphore (20ppm), l'effet de la mycorhization a été relativement plus important (+ 50,4%) que celui observé pour la forte dose de phosphore (+ 37,2%).

### 3.1.3. Teneur totale en azote

Il y a eu un effet principal significatif (P = 0,05) libre de toute interaction de l'apport du zinc (2 ou 5 ppm) sur la teneur

totale en azote (tableau 30): que les plantes aient été mycorhizées ou non, l'apport de zinc à une dose de 2 ou 5 ppm a augmenté la teneur totale en azote des parties aériennes de 12,3%.

Il y a eu une interaction significative entre l'apport de phosphore et la mycorhization avec Glomus mosseae (tableau 31): l'inoculation avec Glomus mosseae a augmenté la teneur totale en azote de 35,7% à 20 ppm de phosphore et de 60,8% à 80 ppm de phosphore.

#### 3.1.4. Teneur totale en phosphore

Il y a eu un effet principal significatif ( $P = 0,05$ ) libre de toute interaction de l'apport de zinc (2 ou 5 ppm) sur la teneur en phosphore (tableau 32): que les plantes aient été mycorhizées ou non, l'apport de zinc à une dose de 2 ou 5 ppm a augmenté la teneur totale en phosphore des parties aériennes de 11,4%.

Nous avons en outre trouvé une interaction entre l'apport de phosphore et la mycorhization avec Glomus mosseae (tableau 33): l'inoculation avec Glomus mosseae a augmenté la teneur totale en phosphore de 35,7% à 20 ppm de phosphore et de 61,1% à 80 ppm de phosphore.

### 3.2. Discussion

Les trois facteurs étudiés (apport de zinc aux doses de 2 et 5 ppm, apport de phosphore aux doses de 20 et 80 ppm et mycorhization avec Glomus mosseae) ont exercé un effet favorable sur les quatre paramètres étudiés chez Vigna unguiculata: poids sec des parties aériennes, poids sec des nodules, teneurs totales en azote et en phosphore.

#### 3.2.1. Effet de la mycorhization avec Glomus mosseae

La mycorhization avec Glomus mosseae a accru le poids sec des parties aériennes indépendamment de l'un ou l'autre des deux autres facteurs étudiés: apport de zinc ou de phosphore. Cette

augmentation faible mais significative est parfaitement conforme à nos connaissances sur l'effet des endomycorhizes VA dans les sols carencés en phosphore tel que le sol Dek.

Mais cet effet de la mycorhization avec Glomus mosseae n'a pas été indépendant de l'apport de phosphore en ce qui concerne le poids sec des nodules, la teneur totale en azote et la teneur totale en phosphore. L'apport de la plus forte dose de phosphore joint à la mycorhization avec Glomus mosseae a permis dans tous les cas d'obtenir un poids maximum de nodules et une teneur totale plus élevée en azote et en phosphore. En d'autres termes, l'apport de phosphore soluble n'apparaît nullement incompatible (tout au moins jusqu'à la dose de 80 ppm) avec la mycorhization.

### 3.2.2. Effet de l'apport de zinc

Sauf en ce qui concerne le poids sec des parties aériennes, l'effet de l'apport de zinc sur les autres paramètres (poids sec des nodules, teneur totale en azote et teneur totale en phosphore) a été indépendant de toute interaction, ce qui peut être interprété comme indiquant que la faible concentration en zinc est un facteur limitant dans le sol considéré. Ce résultat s'explique par le fait que le sol Dek utilisé est carencé en zinc et que l'apport de cet élément est nécessaire. Nous confirmons ainsi les résultats de OLLIVIER et al. (1982) qui avaient trouvé que le zinc est à des concentrations anormalement faibles dans le même sol Dek.

### 3.2.3. Effet de l'apport du phosphore

L'effet de l'apport de phosphore n'a jamais été libre d'interaction. Dans le cas de l'effet sur le poids sec des parties aériennes, on a observé une interaction (tableau 27) avec l'apport de zinc. Dans le cas des autres paramètres (poids des nodules, teneur totale en azote et teneur totale en phosphore), l'interaction a été manifestée avec la mycorhization. Nous avons commenté cette interaction au paragraphe 3.2.1. ci-dessus.

L'expérience que nous venons d'exposer montre clairement qu'il n'y a pas incompatibilité entre la mycorhization et l'apport de certains composés tels que le phosphore et le zinc, tout au moins si l'on se place dans la limite des doses utilisées. En ce qui concerne plus particulièrement l'apport de phosphore, cette expérience confirme la précédente: il y a possibilité "d'addition" des effets favorables de l'apport de phosphore et de l'effet de la mycorhization (tableaux 29, 31, 33). Le fait que l'accroissement de la dose de phosphore (de 20 à 80 ppm) entraîne un accroissement de l'effet de la mycorhization (tableau 32) sur la teneur totale en azote pourrait s'expliquer par un effet spécifique des mycorhizes autre que l'effet trophique dans la nutrition phosphatée. Mais une telle interprétation devrait être vérifiée par des expériences plus précises.

Tableau 26. Effet principal de la mycorhization Glomus mosseae sur le poids sec des parties aériennes (g/plante) de Vigna unguiculata.

		<u>Glomus mosseae</u>	
		<u>Absence</u>	<u>Présence</u>
		4,38	4,95

Tableau 27. Interaction entre l'apport de Zn et celui de P sur le poids sec des parties aériennes (g/plante) de Vigna unguiculata

		Phosphore	
		<u>20 ppm</u>	<u>80 ppm</u>
Apport	0 ppm	3,60	4,60
de Zn	2-5 ppm	4,10	5,81

Tableau 28. Effet principal de l'apport de Zn sur le poids sec des nodules (mg/plante) de Vigna unguiculata

		Zinc	
		<u>0 ppm</u>	<u>2-5 ppm</u>
		121,07	136,03

Tableau 29. Interaction apport de P x mycorhization avec Glomus mosseae sur le poids sec des nodules (mg/plante) de Vigna unguiculata

		Phosphore	
		<u>20 ppm</u>	<u>80 ppm</u>
NM		90,00	114,70
M		135,40	157,36

Tableau 30. Effet principal de l'apport de Zn sur l'azote total des parties aériennes (mg/plante) de Vigna unguiculata

	Zinc	
	0 ppm	2-5 ppm
	101,72	114,21

Tableau 31. Interaction apport de P x mycorhization avec Glomus mosseae sur l'azote total des parties aériennes (mg/plante) de Vigna unguiculata

	Phosphore	
	20 ppm	80 ppm
NM	79,76	96,63
M	108,27	155,40

Tableau 32. Effet principal de l'apport de Zn sur le phosphore total des parties aériennes (mg/plante) de Vigna unguiculata

	Zinc	
	0 ppm	2-5 ppm
	3,76	4,19

Tableau 33. Interaction apport de P x mycorhization avec Glomus mosseae sur le phosphore total des parties aériennes (mg/plante) de Vigna unguiculata

	Phosphore	
	20 ppm	80 ppm
NM	2,94	3,55
M	3,99	5,72

Chapitre VI

**ETUDE CINÉTIQUE DE LA RÉPONSE DE *VIGNA UNGUICULATA*  
À LA MYCORHIZATION PAR *GLOMUS MOSSEAE***



### 1. Objectif

Nous avons observé lors des expériences d'inoculation de Vigna unguiculata qu'au début du cycle végétatif, les plantes inoculées avec Glomus mosseae semblaient se développer moins bien que les plantes témoins. Puis progressivement, la croissance des plantes inoculées avec Glomus mosseae rattrapait celle des plantes témoins. D'où l'idée de faire une étude cinétique des variations de la croissance, de la concentration en phosphore (P%), de la teneur totale en phosphore, de la concentration en azote (N%) et de la teneur totale en azote des plantes de Vigna unguiculata mycorhizées et non mycorhizées afin de vérifier si effectivement la plante-hôte mycorhizée subissait une "crise" au début de son cycle végétatif.

### 2. Conditions expérimentales

Nous avons choisi deux cultivars de Vigna unguiculata: 58-185 qui répond bien à la mycorhization et Vita 4 qui répond moyennement à la mycorhization. Nous les avons cultivés pendant 55 jours (3.06.1982 au 27.07.1982) sur sol Dek stérile en pots de terre cuite en présence et en absence de Glomus mosseae. Toutes les plantes ont reçu au départ un apport de phosphore soluble sous forme de supertriple (10 ppm P) et ont été inoculées avec la souche de Rhizobium ORS 407. Nous avons arrosé quotidiennement avec 100 ml d'eau du robinet et toutes les semaines avec 100 ml de la solution HEWITT sans azote, ni phosphore, ni zinc diluée au quart. Pour chaque cultivar, nous avons effectué un prélèvement tous les 5 jours pour les mesures de la concentration en phosphore (P%) et tous les 10 jours pour les mesures des autres paramètres: poids sec des parties aériennes, teneur totale en phosphore, concentration en azote (N%) et teneur totale en phosphore.

### 3. Résultats

Tous les résultats sont indiqués dans les tableaux de l'annexe III.

Infection mycorhizienne. Au 55ème jour, nous avons mesuré le taux d'infection mycorhizienne: la fréquence et l'intensité d'infection ont été respectivement de 100% et 76% pour le cultivar 58-185, de 100% et 71% pour le cultivar Vita 4. Les plantes non inoculées n'ont pas été infectées par un champignon endomycorhizien.

### 3.1. Poids sec des parties aériennes.

Chez les deux cultivars, le poids sec des parties aériennes a augmenté en fonction du temps. A partir du 40ème jour pour le cultivar 58-185, du 30ème jour pour le cultivar Vita 4, le poids sec des parties aériennes des plantes mycorhizées a été plus élevé que celui des plantes non mycorhizées (Fig.12 A).

### 3.2. Concentration en azote (N%) et teneur totale en azote.

Chez les deux cultivars, la concentration en azote (N%) a augmenté en fonction du temps mais n'a pas été affecté par l'inoculation avec Glomus mosseae (Fig.12A).

La teneur totale en azote a augmenté avec le temps

A partir du 40ème jour pour le cultivar 58-185, du 30ème jour pour le cultivar Vita 4, la teneur totale en azote chez les plantes mycorhizées a été plus élevée que chez les plantes non mycorhizées.

### 3.3. Concentration en phosphore (P%) et teneur totale en phosphore

Chez les deux cultivars, la concentration en phosphore (P%) des plantes non mycorhizées a diminué en fonction du temps jusqu'à une valeur minimale limite à partir de laquelle elle est restée sensiblement stable. La concentration en phosphore (P%) des plantes mycorhizées a également diminué jusqu'à une valeur minimale inférieure à celle des plantes non mycorhizées, puis a augmenté jusqu'à un maximum avant de diminuer progressivement vers une valeur limite stable plus élevée que les précédentes. La figure 12B représente la variation de la concentration en phosphore (P%)

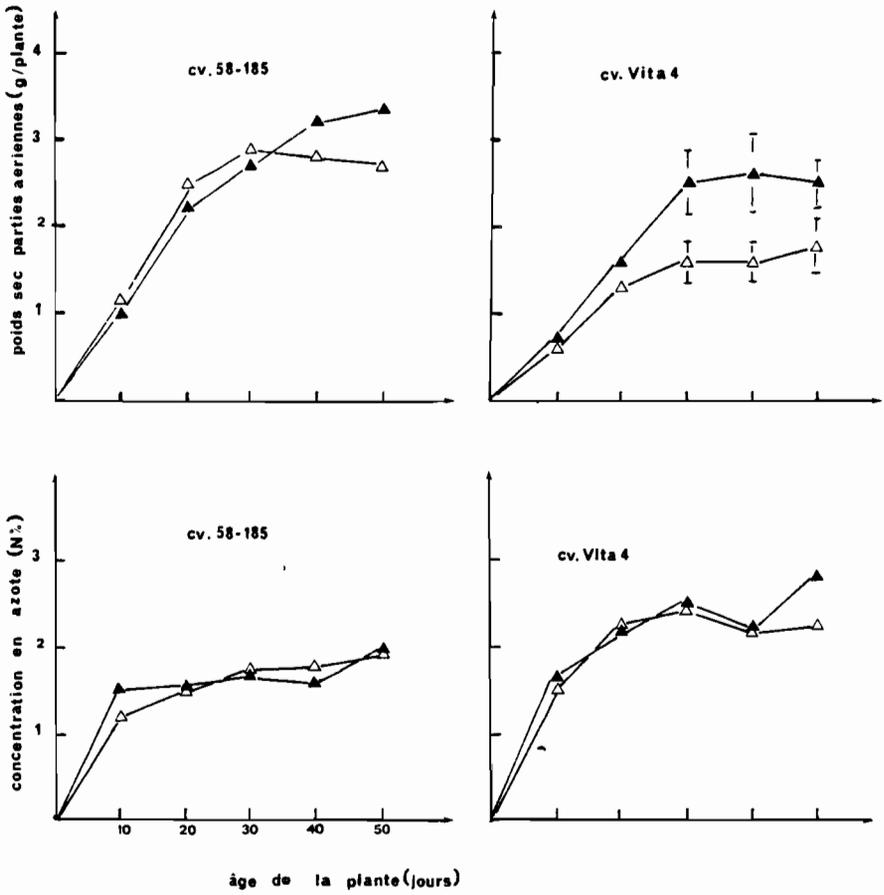
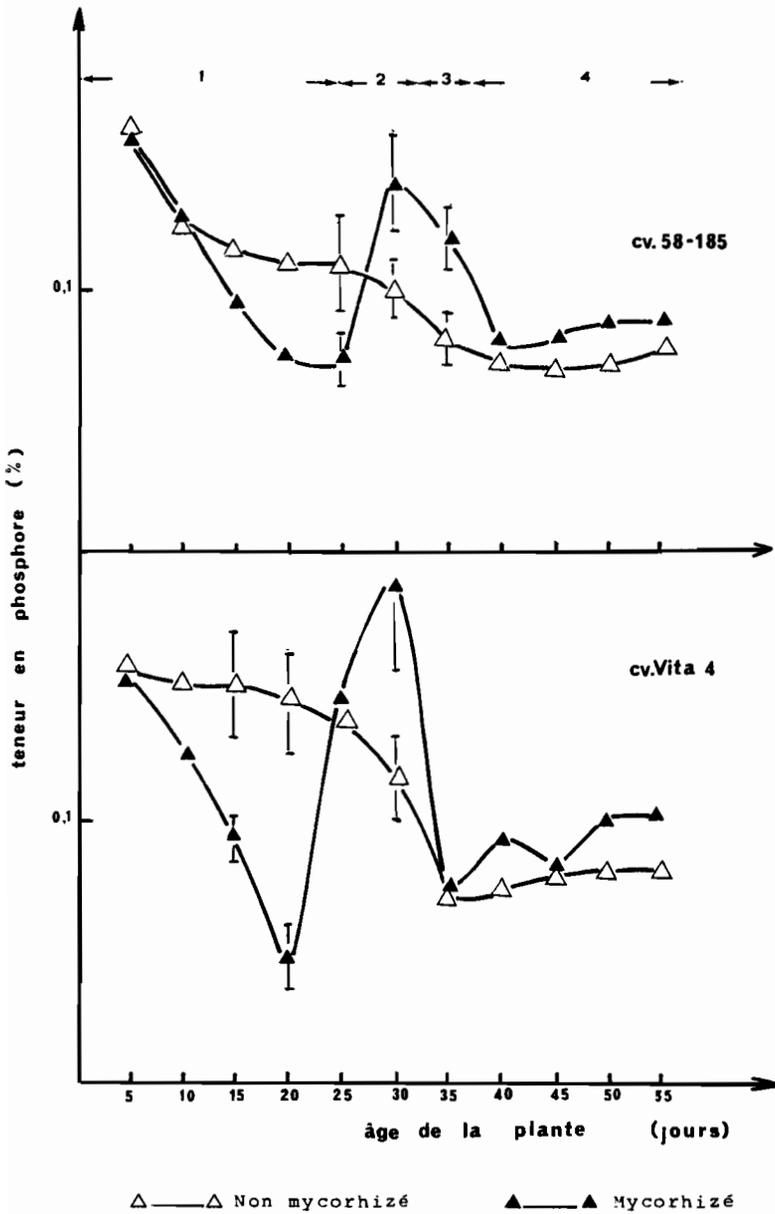


Fig. 12 A. - Réponse de *Vigna unguiculata* cv. 58-185 et Vita 4 à l'inoculation par *Glomus mosseae* en fonction du temps.

△—△ Non mycorhizé      ▲—▲ Mycorhizé



- △ — △ Non mycorrhizé      ▲ — ▲ Mycorhizé
1. Phase de "crise" ;
  2. Phase d'augmentation de l'activité mycorhizienne ;
  3. Phase de diminution de l'activité mycorhizienne ;
  4. Phase de stabilisation de l'activité mycorhizienne.

Fig. 12 B. - Réponse de *Vigna unguiculata* cv. 58-185 et Vita 4 à l'inoculation par *Glomus mosseae* en fonction du temps.

en fonction pour les deux cultivars mycorhizés et non mycorhizés. Elle permet de distinguer quatre phases en ce qui concerne les plantes mycorhizées.

- une première phase qui correspond à l'établissement de la symbiose mycorhizienne: c'est la phase de "crise" au cours de laquelle il y a diminution de la concentration en phosphore (P%);
- une deuxième au cours de laquelle il y a augmentation de la concentration en phosphore (P%): c'est la phase d'accroissement de l'activité mycorhizienne;
- une troisième phase de décroissance de l'activité mycorhizienne: la concentration en phosphore (P%) diminue;
- une quatrième phase de stabilisation de l'activité mycorhizienne.

La teneur totale en phosphore a également augmenté en fonction du temps et à partir du 30ème jour elle a été plus élevée dans les plantes mycorhizées que dans les plantes non mycorhizées.

#### 4. Discussion

##### 4.1. Concentration en phosphore (P%)

La phase de crise décrite lors de l'étude de la cinétique de la concentration en phosphore pourrait correspondre à la phase d'infection de Vigna unguiculata par Glomus mosseae qui serait très précoce (7ème à 10ème jour après l'inoculation). En effet, GERMANI et al (1980), puis CORNET (comm. pers.) ont montré qu'en milieu tropical, la colonisation des plantes par les mycorhizes s'effectuait très tôt vers le 10ème jour après l'inoculation. Malheureusement, nous n'avons pas effectué l'étude cinétique de l'infection de Vigna unguiculata par Glomus mosseae. Cette étude sera entreprise ultérieurement afin d'examiner en particulier la relation susceptible d'exister entre la concentration du phosphore dans les tissus végétaux, l'infection par Glomus mosseae, la nodulation et la fixation de l'azote (ARA). Il sera nécessaire d'effectuer les observations à une date précoce (à partir du 5ème jour).

L'accroissement de l'activité mycorhizienne pourrait correspondre à une activation du processus de transport du phosphore par les endomycorhizes et du processus de transfert du phosphore du champignon à la plante au niveau des arbuscules. Il serait

alors intéressant de suivre la cinétique de la production phosphatase.

La décroissance de l'activité mycorhizienne est un processus de ralentissement qui aboutit à une stabilisation.

Il est donc nécessaire d'effectuer une analyse cinétique encore plus fine que celle que nous avons faite.

#### 4.2. Concentration en azote

Il est intéressant de noter que contrairement à la cinétique de la concentration en phosphore (P%), la courbe en fonction du temps de la concentration en azote ne comporte pas les quatre phases, ce qui suggère que les endomycorhizes VA ne sont pas impliqués directement dans la nutrition azotée de la plante.

#### 4.3. Poids sec des parties aériennes

Cette expérience a montré qu'au cours du cycle végétatif de Vigna unguiculata, il y a eu une amélioration de la croissance de la plante à la suite de l'inoculation avec Glomus mosseae, sans doute parce que la dose de phosphore apporté était faible.

## Conclusion

Nous avons essayé en étudiant la symbiose de Vigna unguiculata avec Rhizobium . et Glomus mosseae de répondre à un certain nombre de questions :

1/ Peut-on augmenter le rendement au champ de Vigna unguiculata par inoculation avec les Rhizobium ?

L'étude que nous avons effectuée sur l'effectivité et la compétitivité de huit souches de Rhizobium associées à Vigna unguiculata cultivé sur le sol Dior nous a permis de constater que la souche ORS 407, souche locale isolée de Glycine max cv. Malayan a été la plus compétitive, même en sol non stérile, et plus effective sur le cultivar 58-185. Cependant, au champ, l'inoculation de ce cultivar par ORS 407 n'a pas augmenté le rendement de la plante. En effet, cette souche quoique plus compétitive, n'était pas plus effective que les souches natives du sol utilisé.

Par conséquent, contrairement à ce que l'on pourrait attendre, l'absence d'effet de l'inoculation sur la croissance de Vigna unguiculata ne peut être attribuée à un défaut de compétitivité de la souche utilisée mais à l'insuffisance de l'effectivité de cette souche.

Nous pensons donc qu'il est possible d'augmenter au champ les rendements de Vigna unguiculata par inoculation avec les Rhizobium à condition de disposer des souches à la fois compétitives et effectives qu'on pourrait obtenir par criblage ou par manipulation génétique.

2/ Y a-t-il une influence du cultivar sur les potentialités de la fixation d'azote par Vigna unguiculata ?

Oui. En effet la performance symbiotique de ORS 407 sur Vigna unguiculata n'est pas vérifiée sur tous les cultivars étudiés. L'effectivité de la souche varie en fonction du génotype de la

plante et la meilleure association a été Rhizobium ORS 407 x Vigna unguiculata cv. 58-185. Il faut donc souligner l'importance du déterminisme génétique de la plante-hôte et l'intérêt de la recherche des combinaisons cultivars x souches de Rhizobium les plus performantes dans l'amélioration des rendements des cultures de Vigna unguiculata.

- 3/ Quelle est la réponse de différents cultivars à l'inoculation avec les endomycorhizes à vésicules et à arbuscules ?

Notre étude a montré que parmi 11 cultivars de Vigna unguiculata le cultivar 58-185 a répondu le plus favorablement à l'inoculation avec Glomus mosseae en ce qui concerne l'augmentation du poids des parties aériennes, de la teneur totale en azote et de la teneur totale en phosphore. Ceci revêt probablement une grande importance sur le plan agronomique. En cas d'inoculation avec les endomycorhizes VA dans le but d'augmenter le rendement des cultures de Vigna unguiculata, il est préférable d'utiliser le cultivar 58-185 qui a mieux répondu à la mycorhization par Glomus mosseae.

- 4/ La fertilisation par apport de phosphore et de zinc, peut-elle modifier la réponse à la mycorhization ?

L'effet de la mycorhization avec Glomus mosseae sur le cultivar 58-185 n'est pas totalement indépendante de l'apport de phosphore. Les effets conjugués de l'apport de phosphore soluble et de la mycorhization avec Glomus mosseae ont permis d'obtenir sur le cultivar 58-185 un poids maximum des nodules et une teneur totale plus élevée en azote et en phosphore. Il n'a donc pas obligatoirement antagonisme entre l'apport de phosphore assimilable (tout au moins jusqu'à la dose de 80 ppm) et la mycorhization de Vigna unguiculata, cultivar 58-185.

- 5/ Quelle est, après inoculation avec les endomycorhizes VA, la cinétique de l'absorption du phosphore par Vigna unguiculata ?

La courbe de variation en fonction du temps de la concentra-

tion du phosphore (P%) dans les tissus des deux cultivars 58-185 et Vita 4 de Vigna unguiculata inoculé avec Glomus mosseae a montré quatre phases :

- une première phase de "crise" au cours de laquelle la concentration en phosphore (P%) diminue.
- une deuxième phase correspondant à une augmentation de la concentration en phosphore (P%) : c'est la phase de l'accroissement de l'activité mycorhizienne.
- une troisième phase correspondant à une diminution de la concentration en phosphore (P%) : c'est la phase de décroissance de l'activité mycorhizienne.
- une quatrième phase correspondant à la stabilisation de l'activité mycorhizienne : la concentration en phosphore devient constante.

6/ Quel est l'effet de Glomus mosseae sur la teneur totale en zinc chez Vigna unguiculata ?

Glomus mosseae améliore l'absorption du zinc par Vigna unguiculata 58-185 dans les sols où cet oligoélément sous forme utilisable est à une dose limite.



**BIBLIOGRAPHIE**



- AMARGER, N. 1979. Competitive ability and selection of Rhizobium strains. Physiologie Végétale. 17, 671-672.
- ASIMI, S., 1979. Interactions entre les endomycorhizes VA, le Rhizobium et le phosphore du sol chez le soja (Glycine max (L) Merrill, var. amsoy). Thèse de 3ème cycle, Dijon, 32 p.
- ASIMI, S., GIANINAZZI-PEARSON, V. et GIANINAZZI, S. 1980. Influence of increasing soil phosphorus levels on interactions between vesicular - arbuscular mycorrhizae and Rhizobium in soybeans. Can. J. Bot. 58, 2200-2205.
- ASIMI, S., GIANINAZZI-PEARSON, V., GIANINAZZI, S., OBATON, M. et BERTHEAU, Y. 1978. Interactions entre les endomycorhizes à vésicules et arbuscules (VA) et le Rhizobium chez le soja. 103ème Congrès National des Sociétés Savantes, fasc. I: 247-256.
- AYANABA, A. et LAWSON, T.L. 1976. Diurnal changes in acetylene reduction in field-grown cowpeas and soybeans. Soil Biol. Biochem. 9, 125-129.
- AZCON, R., BAREA, J.M. et HAYMAN, D.S. 1976. Utilization of rock phosphate in alkaline soils by plants inoculated with mycorrhizal fungi and phosphate solubilizing bacteria. Soil. Biol. Biochem. 8, 135-138.
- BAGYARAJ, D.J. and HEDGE, S.V. 1978. Response of cowpea (Vigna unguiculata L. Walp.) to Rhizobium seed inoculation. Curr. Sci. 47, 548-549.
- BALANDREAU, J.P., MILLIER, C.R. et DOMMERGUES, Y.R. (1974). Diurnal variations of nitrogenase activity in the field. Appl. Microbiol. 24, 662-665.
- BAUZON, D., VAN DEN DRIESSCHE, R. et DOMMERGUES, Y. 1969. L'effet litière. I. Influence in situ des litières forestières sur quelques caractéristiques biologiques du sol. Oecol. Plant. 4, 99-122.

- BECK, G., DOMMERGUES, Y. et VAN DEN DRIESSCHE, R. 1969. L'effet litière. II. Etude expérimentale du pouvoir inhibiteur des composés hydrosolubles des feuilles et des litières forestières vis-à-vis de la microflore tellurique. Oecol. Plant. 4, 237-266.
- BERTHEAU, Y. 1979. Les mycorhizes du blé: effet variétal et quelques aspects biochimiques. Thèse de doctorat 3ème cycle. Université de Dijon 40 p.
- BERTHEAU, Y., GIANINAZZI-PEARSON, V. and GIANINAZZI, S. 1980. Développement et expression de l'association endomycorhizienne chez le Blé. I. Mise en évidence d'un effet variétal. Ann. Amél. Plantes 30, 67-78.
- BETHLENFALVAY, G.J. et YODER, J.F. 1981. The Glycine-Glomus - Rhizobium symbiosis. 1. Phosphorus effect on nitrogen fixation and mycorrhizal infection. Physiol. Plant. 52, 141-145.
- BRADLEY, R., BURT, A.J. et READ, D.J. 1981. Mycorrhizal infection and resistance to heavy metal toxicity in Calluna vulgaris. Nature. 292, 335-337.
- CALDWELL, B.E. , VEST, G. 1968. Nodulation interaction between soybean genotypes and serogroups of Rhizobium japonicum. Crop. Sci. 8, 680-682.
- COX, G., MORAN, K.J., SANDERS, F., NOCKOLDS, C. et TINKER, P.B. 1980. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhiza. III. Polyphosphate granules and phosphorus translocation. New Phytol. 84, 649-659.
- COX, G.C. et SANDERS, F.E.T., 1974. Ultrastructure of the host fungus interface in a vesicular-arbuscular mycorrhiza. New Phytol. 73, 901-912.
- CRUSH, J.R. 1974. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhizas. VII. Growth and nodulation of some herbage legumes. New Phytol., 73, 743-749.

- DAFT, M.J. et EL-GIAHMI, A.A. 1974. Effects of endogone mycorrhiza on plant growth. VII. Influence of infection on the growth and nodulation french bean (Phaseolus vulgaris). New Phytol. 73, 1139-1147.
- DAFT, M.J. et NICOLSON, T.H. 1966. Effect of Endogone mycorrhiza on plant growth. New Phytol. 65, 343-350.
- DAFT, M.J. et NICOLSON, T.H. 1969. Effect of Endogone mycorrhiza on plant growth. II. Influence of soluble phosphate on endophyte and host in maize. New Phytol., 68: 945-952.
- DART, P.J., HUXLEY, P.A., EAGLESHAM, A.R.J., MINCHIN, F.R., SUMMERFIELD, R.J. et DAY, J.M. 1977. Nitrogen nutrition of cowpea (Vigna unguiculata). II. Effects of short-term applications of inorganic nitrogen on growth and yield of nodulated and non nodulated plants. Expl. Agric. 13, 241-252.
- DAY, J.M., ROUGHLEY, R.J., EAGLESHAM, A.R.J., DYE, M. et WHITE, S.P. 1978. Effect of high soil temperatures on nodulation of cowpea Vigna unguiculata. Ann. Appl. Biol. 88, 476-481.
- DIATLOFF, A. et BROCKWELL, J. 1976. Ecological studies of root-nodule bacteria introduced into field environments. 4. Symbiotic properties of Rhizobium japonicum and competitive success in nodulation of two Glycine max cultivars by effective strains. Austr. J; Exp. Agric. Anim. Husb. 16, 514-521.
- DOMMERGUES, Y.R. 1978. The plant microorganism system. In: Interaction between non-pathogenic soil microorganisms and plants. (Dommergues, Y.R. et KRUPA, S.V. Eds.) Amsterdam, Elsevier, 1-37.
- DOMMERGUES, Y. et MANGENOT, F. 1970. Ecologie microbienne du sol. (Eds. Masson et Cie) Paris VI.
- DUNCAN, D.B. 1955. Multiple range and multiple F tests. Biometrics. 11, 1-42.

- EAGLESHAM, A.R.J., AHMAD, M.H., HASSOUNA, S., SEAMAN, B. et GOLDMAN, B.J. 1982. Cowpea Rhizobia producing dark nodules and their use in competition studies. Proc. in 2<sup>nd</sup> advisory committee meeting. Cornell University, Ithaca, N.Y., U.S.A.
- EAGLESHAM, A.R.J., MINCHIN, F.R., SUMMERFIELD, R.J., DART, P.J., HUXLEY, P.A. and DAY, J.M. 1977. Nitrogen nutrition of cowpea (Vigna unguiculata). III. Distribution of nitrogen within effectively nodulated plants. Expl. Agric. 13, 369-380.
- GERMANI, G. DIEM, H.G. et DOMMERGUES, Y. 1980. Influence of 1-2-dibromo-3-chloropropane (DBCP) fumigation on mycorrhizal infection of field-grown groundnut. In. Tropical Mycorrhiza Research (Ed. by P. Mikola). Charendon Press Oxford. 245-246.
- GIANINAZZI-PEARSON, V., FARDEAU, J.-C., ASIMI, S and GIANINAZZI, S. 1981. Source of additional phosphorus absorbed from soil by vesicular-arbuscular mycorrhizal soybeans. Physiol. Veg. 19, 33-44.
- GILMORE, A.E. 1971. The influence of endotrophic mycorrhizae on the growth of peach seedlings. J. Am. Soc. Hort. Sci. 96: 35-38.
- GIOVANNETTI, M. et MOSSE, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytol. 84, 489-500.
- GODSE, D.B., WANI, S.P., PATIL, R.B. and BAGYARAJ, D.J. 1978. Response of cowpea Vigna unguiculata (L.) Walp. to Rhizobium VA mycorrhiza dual inoculation. Curr. Sci., 47, 784-785.
- GRAW, D., 1979. The influence of soil pH on the efficiency of vesicular-arbuscular mycorrhiza. New Phytol. 82, 687-695.
- GUNZE, M.B. et HENNESSY, M.R. 1980. Effect of host-applied auxin on development of endomycorrhiza in cowpeas. Trans. Br. Mycol. Soc. 74, 247-251.
- HAM, G.E. 1980. Inoculation of legume with Rhizobium in competition with naturalized strains. In: Nitrogen fixation, volume II. (Newton, W.E. et Orme-Johnson, W.H. ed.) University Park Press, Baltimore, 131-138.

- HANUS, F.J., ALBRECHT, S.L., ZABLOTOWICZ, R.M., EMERICH, D.W., RUSSEL, S.A. and EVANS, H.J. 1981. Yield and N content of soybean as influenced by Rhizobium japonicum inoculants possessing the hydrogenase characteristic. Agron. J. 73, 368-372.
  
- HARDY, R.W.F., BURNS, R.C. et HOLSTON, R.D. 1973. Application of the acetylene-ethylene assay for measurement of N<sub>2</sub> fixation. Soil. Biol. Biochem. 5 : 47-81.
  
- HARDY, R.W.F., HOLSTEN, R.D., JACKSON, E.K. et BURNS, R.C. 1968. The acetylene assay for N<sub>2</sub> fixation: laboratory and field evaluation: Plant. Physiol. 43, 1185-1207.
  
- HAYMAN, D. 1978. Endomycorrhizae. In: Interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants. (Y.R. Dommergues and S.V. Krupa, Eds). Elsevier, Amsterdam, 401-447.
  
- HAYMAN, D.S. et MOSSE, B. 1971. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. I. Growth of Endogone - inoculated plants in phosphate deficient soils. New Phytol. 70, 19-27.
  
- HAYMAN, D.S. et MOSSE, B. 1972. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. III. Increased uptake of labile-P from soil. New Phytol. 71, 41-47.
  
- HELLER, R. 1977. Abrégé de physiologie végétale. Tome 1 Nutrition. Masson Paris, New York, Barcelone, Milan. 244 p.
  
- HERRIDGE, D.F., ATKINS, C.A., PATE, J.S. and RAINBIRD, R.M. 1978. Allantoin and allantoic acid in the nitrogen economy of the cowpea (Vigna unguiculata [L.] Walp.) Plant Physiol. 62, 488-495.
  
- HEWITT, E.J. 1966. Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition. Technical communication N°22, 2nd ed. Commonwealth Agricultural Bureaux, London.
  
- HUGHES, M., MARTIN, L.W. et BREEN, P.J. 1978. Mycorrhizal influence on the nutrition of strawberries. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 103, 179-181.

- ISLAM, R. and AYANABA, A. 1981. Effect of seed inoculation and pre-infecting cowpea (Vigna unguiculata) with Glomus mosseae on growth and seed yield of the plants under field conditions. Plant and Soil, 61, 341-350.
- ISLAM, R., AYANABA, A. and SANDERS, F.E. 1980. Response of cowpea (Vigna unguiculata) to inoculation with V.A.-mycorrhizal fungi and to rock phosphate fertilization in some unsterilized Nigerian Soils. Plant and Soil. 54, 107-117.
- JACKSON, N.E., FRANKLIN, R.E. and MILLER, R.H. 1972. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizae on growth and phosphorus content of three agronomic crops. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 36, 64-67.
- JARA, P. 1981. Le continuum Rhizobium japonicum-Rhizobium cowpea. Thèse de doctorat de spécialité. Université d'Aix-Marseille 132 p.
- KRIKUN, J. and LEVY, Y. 1980. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhiza on Citrus growth and mineral composition. Phytoparasitica, 8, 195-200.
- LABANDERA, C.A. et VINCENT, J.M. 1975. Competition between introduced strain and native urugayan strains of R. trifolii. Plant and Soil, 42, 327-347.
- LAGACHERIE, B., HUGOT, R. et AMARGER, N. 1977. Selection de souches de R. japonicum d'après leur compétitivité pour l'infection. Ann. Agron. 28, 379-389.
- LAMBERT, D.H., BAKER, D.E. et COLE, H. 1979. The role of mycorrhizae in the interactions of phosphorus with zinc, copper and other elements. Soil. Sci. Soc. of Amer. J. 43, 976-980.
- LAMBERT, D.H., COLE, H. and BAKER, D.E. 1980. Variation in the response of Alfalfa clones and cultivars to mycorrhizae and phosphorus. Crops Science. 20, 615-618.

- LARUE, T.A. et PATTERSON, T.G. 1981. How much nitrogen do legumes fix? In. Advances in agronomy vol. 34. p 15. Academic Press inc.
- LEGG, J.O. et SLOGER, C. 1975. A tracer method for determining symbiotic nitrogen fixation in field studies. In: Proceedings of the second international conference on stable isotopes, (Klein, E.R. and Klein P.O. eds). pp. 661-666.
- LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L. and RANDALL, R.J. 1951. Protein measurement with the folin-phenol reagent. J. Biol. Chem. 193, 265-275.
- MARSH, B a'B. 1971. Measurement of lenght in random arrangements of lines. J. Appl. Ecol. 8, 265-267.
- McILVEEN, W.D. and COLE, H. 1978/1979. Influence of zinc on development of the endomycorrhizal fungus Glomus mosseae and its mediation of phosphorus uptake by Glycine max 'Amsoy 71'. Agric. Environ. 4, 245-256.
- MENGE, J.A., JOHNSON, E.L.V. et PLATT, R.G. 1978. Mycorrhizal dependency of several citrus cultivars under three nutrient regimes. New Phytol. 81, 553-559.
- MENGE, J.A., LABANAUSKAS, C.K., JOHNSON, E.L.V. and PLATT, R.G. 1978. Partial substitution of mycorrhizal fungi for phosphorus fertilization in the greenhouse culture of citrus. Soil Sci. Soc. Amer. J., 42, 926-930.
- MENGE, J.A., LARUE, J., LABANAUSKAS, C.K. and JOHNSON, E.L.V. 1980. The effect of two mycorrhizal fungi upon growth and nutrition of avocada seedlings grown with six fertilizer treatments. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 105, 400-404.
- MEISMER, C.A. et GROSS, D. 1980. Some guidelines for the evaluation of the need for and response to inoculation of tropical legumes. Tech. Bull. n°265.
- MILLER, J.C. et ZARRY, K.W. 1981. The genetics of heritability of quantitative differences in dinitrogen fixation in cowpeas Vigna unguiculata (L.) Walp. In. Biological Nitrogen Fixation Technology for Tropical Agriculture. (Ed. by P.H. Graham et S.C. Harris). In press.

- MICHIN, F.R. et SUMMERFIELD, R. 1978. Potential yield improvement in cowpea (Vigna unguiculata) in the role of nitrogen nutrition. Ann. Appl. Biol. 88, 468-473.
- MINCHIN, F.R., SUMMERFIELD, R.J. et EAGLESHAM, A.R.J. 1978. Plant genotype-Rhizobium strain interactions in cowpea (Vigna unguiculata [L.] Walp.). Trop. Agric. (Trinidad) 55, 107-115.
- MINCHIN, F.R., SUMMERFIELD, R.J., EAGLESHAM, A.R.J. et STEWART, K.A. 1978. Effects of short-term waterlogging on growth and yield of cowpea (Vigna unguiculata). J. Agric. Sci., Camb. 90, 335-336.
- MORLEY, C.D. et MOSSE, B. 1976. Abnormal vesicular-arbuscular mycorrhizal infections in white clover by lupin. Trans. Brit. Myc. Soc., 67, 510-513.
- MOSSE, B. 1972. The influence of soil type and Endogone strain on the growth of mycorrhizal plants in phosphate deficient soils. Rev. Ecol. Biol. Sol., 9, 529-537.
- MOSSE, B. 1973a. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. Ann. Rev. Phytopath. 11, 171-196.
- MOSSE, B. 1973b. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IV. In soil given additional phosphate. New Phytol. 72, 127-136.
- MOSSE, B. 1977a. Role of mycorrhiza in legume nutrition on marginal soils. In: Exploiting the legume-Rhizobium symbiosis in tropical agriculture. (J.M. Vincent, A.S. Whitney, J. Bose eds.) University of Hawaii, NIFTAL Projects. 275-292.
- MOSSE, B. 1977b. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. I. Responses of Stylosanthes and maize to inoculation in unsterile soils. New Phytol. 78, 277-288.
- MOSSE, B. et HAYMAN, D.S. 1971. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. II. In unsterilized field soils. New Phytol. 70, 29-34.
- MOSSE, B. and HAYMAN, D.S. 1980. Mycorrhiza in agricultural plants. In : Tropical Mycorrhiza Research. (P; Mikola ed.) Clarendon Press, London. pp. 213-230.

- MOSSE, B., HAYMAN, D.S. et ARNOLD, D.J. 1973. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. V. Phosphate uptake by three plant species from P - deficient soils labelled with  $^{32}\text{P}$ . New Phytol. 72, 809-815.
- MOSSE, B., POWELL, C. LL. et HAYMAN, D.S. 1976. Plant growth response to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IX. Interactions between VA mycorrhiza, rock phosphate and symbiotic nitrogen fixation. New Phytol. 76, 331-342.
- MULONGOY, K., AYANABA, A. et PULVER, E. 1980. Exploiting the diversity in the cowpea-Rhizobia symbiosis for increased cowpea production. Academic Press (London) GIAM VI, Lagos Nigeria. 119-125.
- MUNNS, D.N., FOX, R.L. and KOCH, B.L. 1977. Influence of line on nitrogen fixation by tropical and temperate legumes. Plant and Soil. 46, 591-601.
- OLLIVIER, B. 1981. Endomycorhize et Rhizobium en symbiose avec Vigna unguiculata. Thèse de doctorat de spécialité Université d'Aix-Marseille 100 p.
- OLLIVIER, B., DIEM, H.G., PINTA, M. 1982. Effect of endomycorrhizae on the concentration of P and Zn in Vigna unguiculata shoots. Agrochimica. In press.
- OLSEN, S.R., COLE, L.V., WATANABE, F.S. et DEAN, L.A. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. Circ. U.S. Dep. Agric. 939.
- PAWAR, N.B., SHIRSHAT, A.M. and GHULGULE, J.N. 1977. Effect of seed inoculation with Rhizobium on grain yield and other characters of cowpea (Vigna unguiculata). Tropical Grain Legume Bull. 7, 3-5.
- PEARSON, V. et TINKER, P.B.H., 1975. Measurement of phosphorus fluxes in the external hyphae of endomycorrhiza. In: Endomycorrhizas, (Sanders, F.E.T., Mosse, B. and Tinker, P.B.H. Eds.). Academic Press London, New York, San Francisco pp. 277-287.

- PHILIPS, J.M. et HAYMAN, D.S. 1970. Improved procedures of clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Brit. Mycol. Soc. 55, 158-161.
- PINTA, M. 1968. Méthodes de référence pour la détermination des éléments minéraux dans les végétaux (Comité Inter-Instituts d'Etude des Techniques Analytiques du Diagnostic). In: Deuxième Colloque Europ. Med. Cont. Alim. Plant. Cult. Seville, Espagne, Septembre 1968, 1-120.
- PINTA, M. 1973. Méthode de référence pour la détermination des éléments minéraux dans les végétaux; détermination des éléments Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu, par absorption atomique. Oléagineux: 28, 87-92.
- POWELL, C.Ll. (1975). Potassium uptake by endotrophic mycorrhiza. In: Endomycorrhizas. (F.E. Sanders, B. Mosse and P.B. Tinker Eds.) Academic Press, London, pp. 461-468.
- POWELL, C.Ll., METCALFE, D.M., BUWALDA, J.G. and WALLER J.E. 1980. Phosphate response curves of mycorrhizal and non-mycorrhizal plants. II. Responses to rock phosphates. N.Z. J. Agric. Res. 23, 477-482.
- RACHIE, K.O. et ROBERTS, L.M. 1974. Grain legumes of the lowland tropics. Advances in Agronomy. Academic Press, Inc. San Francisco. 26, 1-132.
- RHODES, L.H. et GERDEMANN, J.W., 1978. Hyphal translocation and uptake of sulfur by vesicular-arbuscular mycorrhizae of onion. Soil Biol. Biochem. 10, 355-360.
- RHODES, L.H. and GERDEMANN, J.W. 1978. Translocation of calcium and phosphate by external hyphae of vesicular arbuscular mycorrhizae. Soil Sci., 126, 125-126.

- ROBERT, F.M. 1981. Persistence of Rhizobium phaseoli in soil and rhizosphere as studied by immunofluorescence. Ph.D Université de Minnesota. 141 p.
  
- ROUGHLEY, R.J. BLOWES, W.M. et HERRIDGE, D.F. 1976. Nodulation of Trifolium subterraneum by introduced rhizobia in competition with naturalized strains. Soil. Biol. Biochem. 8, 403-407.
  
- ROUGHLEY, R.J. BROMFIELD, E.S.P., PULVER, E.L. et DAY, J.M. 1980. Competition between species of Rhizobium for nodulation of Glycine max. Soil. Biol. Biochem. 12, 467-470.
  
- SAIF, S.R. 1981. The influence of soil aeration on the efficiency of vesicular-arbuscular mycorrhizae. I. Effect of soil oxygen on the growth and mineral uptake of Eupatorium odoratum L. inoculated with Glomus macrocarpus. New Phytol., 88, 649-660.
  
- SANDERS, F.E. TINKER, P.B. et PALMERLEY, S.M. 1977. The development of endomycorrhizal root system. I. Spread of infection and growth - promoting effects with four species of vesicular-arbuscular endophyte. New Phytol. 78, 257-268.
  
- SANOGHO, S.T., 1980. Compétition of Rhizobia for nodulation and its effect on  $N_2$  ( $C_2H_2$ ) reducing activity and productivity of soybean (Glycine max [L.] Merrill). Mémoire de stage. IITA. Ibadan. Nigeria.
  
- SANNI, S.O. 1976. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in some Nigerian soils and their effect on the growth of cowpea (Vigna unguiculata), tomato (Lycopersicon esculentum) and maize (Zea mays). New Phytol., 77, 667-671.
  
- SCHMIDT, E.L. 1974. Quantitative and ecological study of microorganisms in soil by immunofluorescence. Soil. Sci. 118, 141-149.

- SCHMIDT, E.L. 1978. Ecology of the legume root bacteria.  
In: Interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants. (Y.R. Dommergues and S.V. Krupa Eds.). Elsevier, Amsterdam, 269-303.
- SCHMIDT, E.L., BANKOLE, R.O. et BOHLOOL, B.B. 1968. Fluorescent antibody approach to the study of rhizobia in soil. J. Bacteriol. 95, 1987-1992.
- SCHWINGHAMER, E.A. 1975. Properties of some bacteriocins produced by Rhizobium trifolii. J. Gen. Microbiol. 91, 403-413.
- SCHWINGHAMER, E.A. et BROCKWELL, J. 1978. Competitive advantage of bacteriocin- and phage producing strains of Rhizobium trifolii in mixed culture. Soil Biol. Biochem. 10, 383-387.
- SENE, D., LAURENT, P. et NDIAYE, S.M. 1971. Les variétés de niébé actuellement conseillées au Sénégal. Les Cahiers d'Agriculture Pratique des Pays chauds 2, 1-18.
- SMITH, S.E. 1980. Mycorrhizas of autotrophic higher plants. Biol. Rev. 55, 475-510.
- SMITH, S.E. et DAFT, M.J. 1977. Interactions between growth, phosphate content and N<sub>2</sub> fixation in mycorrhizal and non-mycorrhizal Medicago sativa. Austr. J. Plant Physiol. 4, 403-413.
- SMITH, S.E., NICHOLAS, D.J.D. et SMITH, FA. 1979. The effect of early mycorrhizal infection nodulation and nitrogen fixation in Trifolium subterraneum L. Austr. J. Plant Physiol. 6, 306-311.
- STAMFORD, N.P. et NEPTUNE, A.M.L. 1978. Host specificity and strain competition in the Rhizobium - Vigna sinensis (L.). Endl symbiosis. In: Limitations and potentials for

- biological nitrogen fixation in the tropics. *Basic Life Sciences*, vol. 10 (Eds. J. Döbereiner, R.H. Burris, A. Hollaender, A.A. Franco, C.A. Neyra and D.B. Scott) 337-338.
- STAVER, C. 1978. Inoculation of cowpea (*Vigna unguiculata*) in acid soils of the western plains of Venezuela. *Tropical Grain Legume Bulletin*. 15, 3-4.
  - STRIBLEY, D.P., TINKER, P.B. and RAYNER, J.H. 1980. Relation of internal phosphorus concentration and plant weight in plants infected by vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytol.* 86, 261-266.
  - SUMMERFIELD, R.J., DART, P.J., HUXLEY, P.A., EAGLESHAM, A.R.J., MINCHIN, F.R. and DAY, J.M. 1977. Nitrogen nutrition of cowpea (*Vigna unguiculata*). I. Effects of applied nitrogen fixation on growth and seed yield. *Expl. Agric.* 13, 129-142.
  - SWAMINATHAN, K. and VERMA, B.C. Responses of three crop species to vesicular-arbuscular mycorrhizal infection on zinc-deficient Indian soils. *New Phytol.*, 82, 481-487.
  - TENNANT, D. 1975. A test of modified line intersect method of estimating root length. *J. Ecol.* 63, 995-1000.
  - TINKER, P.B. 1978. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and plant growth. *Physiol. Veg.* 16, 743-751.
  - TOURY, J., GIORGI, R., FAVIER, J.C. et SAVINA, J.F. 1967. Aliments de l'ouest africain: tables de composition. *Annales de la nutrition et de l'alimentation*. 21, 73-127.
  - TRINICK, M.J. 1969. Identification of legume nodule bacteria by the fluorescent antibody reaction. *J. Appl. Bact.* 32, 181-186.
  - TRINICK, M.J. 1977. Vesicular-arbuscular infection and soil phosphorus utilisation in *Lupinus* spp. *New Phytol.*, 78, 297-304.

- VANDER ZAAG, P., FOX, R.L., DE LA PENA, R.S. and YOST, R.S. (1979). P nutrition of cassava, including mycorrhizal effects on P, K, S, Zn and Ca uptake. Field Crops Research, 2, 253-263.
- VINCENT, J.M. 1970. A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. I.B.P. Handbook n°15, Blackwell Scientific Publications (Oxford - Edinburgh), p. 87.
- WARCUP, J.H. 1975. A culturable Endogone associated with eucalypts. In: Endomycorrhizas (Eds. F.E. Sanders, B. Mosse and P.B. Tinker) pp 53-63. Academic Press, London.
- WEBER, C.R. 1966. Nodulating and non-nodulating soybean isolines. In: Agronomic and chemical attributes. Agron. J. 58, 43-46.
- WINARNO, R. et LIE, T.A. 1979. Competition between Rhizobium strains in nodule formation: interaction between nodulating and non-nodulating strains. Plant and Soil. 51, 135-142.
- ZABLOTOWICZ, R.M. et FOCHT, D.D. 1981. Physiological characteristics of cowpea Rhizobia: evaluation of symbiotic efficiency in Vigna unguiculata. Appl. Environ. Microbiol. 41, 679-685.

**ANNEXES**



r ANNEXE I. Concentration et teneur totale en N et P de Vigna unguiculata cultivé sur sol Dek pendant 54 jours stérile, inoculé avec Glomus mosseae et à différentes doses de P

Traitements [P] ppm	N %		N total (mg/plante)		P %		P total (mg/plante)	
	NM <sup>(1)</sup>	M <sup>(2)</sup>	NM	M	NM	M	NM	M
0	1,54 a	1,54 a	38,10 a	48,70 a	0,073 a	0,070 a	1,70 a	2,23 a
20	1,86 ab	1,90 ab	126,30 b	148,80 b	0,089 b	0,082 b	5,97 b	6,50 b
60	2,09 bc	2,10 bc	168,60 c	183,35 c	0,102 c	0,117 c	8,24 c	10,42 c
100	2,48 c	2,53 c	211,90 d	252,50 d	0,141 d	0,182 d	11,06 d	18,70 d
180	3,66 d	3,68 d	300,40 e	420,87 e	0,145 d	0,180 d	11,92 d	21,52 e

(1) NM : Non Mycorhizé

(2) M : Mycorhizé

- Chaque valeur est la moyenne de cinq répétitions

- Pour chaque colonne, les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes

à P = 0,05 d'après le test de DUNCAN (1955).



ANNEXE II

L'analyse factorielle de l'expérience décrite au chapitre V a été conduite suivant la méthode de VAN DEN DRIESSCHE (BECK et al., 1969). Dans cette annexe, nous décrivons le calcul détaillé de cette analyse sur l'exemple du poids sec des parties aériennes en précisant que :

a/ les valeurs des effets de chaque facteur sont calculées à partir du tableau 26 et présentées sous forme de moyennes.

Exemple : Poids sec des parties aériennes

- . facteur A : la valeur de l'effet de Zn à la dose de 0 ppm est calculée en faisant la moyenne des valeurs de tous les effets où le zinc est à la dose 0 ppm

$$\frac{3,4 + 4,3 + 3,8 + 4,9}{4} = 4,1$$

- . facteur B et facteur C : la valeur de l'interaction de P à la dose de 20 ppm et l'absence de Glomus mosseae est calculée en faisant la moyenne des valeurs de tous les effets où le phosphore est à la dose de 20 ppm en absence de Glomus mosseae

$$\frac{3,4 + 4,0 + 3,6}{3} = 3,6666$$

b/ un effet principal ne peut être interprété en tant que tel, que s'il est libre de toute interaction. Ainsi Zn et P, même s'ils sont tous deux significatifs deviennent sans objet quand l'interaction Zn x P est significative;

c/ les degrés de liberté sont de 1 pour chaque effet principal et chaque interaction et de 65 pour l'erreur;

/ le carré moyen de chaque effet est calculé selon les formules suivantes :

- Effet principal à 3 niveaux décomposable

$$\text{- composante 1 : } \frac{2 \times r \times 3^{m-1} \times 2^n \times R_1^2}{3}$$

$$\text{- composante 2 : } \frac{r \times 3^{m-1} \times 2^n \times R_2^2}{2}$$

$$\text{- Effet principal à 2 niveaux non décomposable : } \frac{2 \times 3^m \times 2^{n-1} \times R_2^2}{2}$$

- Interaction à 3 niveaux décomposable :

$$\text{- composante 1 : } \frac{r \times 3^{m-1} \times 2^{n-1} \times R_1^2}{3}$$

$$\text{- composante 2 : } \frac{r \times 3^{m-1} \times 2^{n-1} \times R_2^2}{4}$$

R : désigne la différence en valeur absolue entre les deux sommes des moyennes situées dans les diagonales d'un tableau. Ainsi, pour le tableau

s	t
u	v

$$R = s + v - u + t$$

1. Poids sec des parties aériennes

1.1. Effets principaux de Zn, P et Glomus mosseae

Les valeurs des effets principaux sont indiquées dans les tableaux ci-dessous :

A (Zinc)			B (phosphore)		C (Glomus mosseae)	
Oppm	2ppm	5ppm	20 ppm	80 ppm	NM	M
4,1000	5,0250	4,8875	3,9333	5,4083	4,3833	4,9583

Le tableau de l'effet de zinc qui est de trois niveaux doit être décomposé comme suit :

A 1		A 2	
Oppm	2-5ppm	0-2ppm	5ppm
4,1000	4,9562	5,0250	4,8875

Les valeurs des carrés moyens sont calculés comme suit :

$$A1 = 16 \times (4,1 - 4,9562)^2 = 11,7306$$

$$A2 = 12 \times (5,025 - 4,8875)^2 = 0,2268$$

$$B = 9 \times (3,9333 - 5,4083)^2 = 19,5815$$

$$C = 9 \times (4,3833 - 4,9583)^2 = 2,9759$$

1.2. Interaction Zn x P, P x Glomus mosseae et Glomus mosseae x Zn

1.2.1. Interaction Zn x P

		B (phosphore)	
		20 ppm	80 ppm
A (zinc)	Oppm	3,6000	4,6000
	2ppm	4,1500	5,9000
	5ppm	4,0500	5,7250

Nous pouvons obtenir deux composantes de cette interaction dont les valeurs des carrés moyens seront AB1 et AB2.

1.2.1.1. Interaction AB1

		<u>B (phosphore)</u>	
		<u>20ppm</u>	<u>80ppm</u>
<u>A (zinc)</u>	<u>0ppm</u>	3,6000	4,6000
	<u>2-5ppm</u>	4,1000	5,8125

$$AB1 = 4 [(3,6000+5,8125) - (4,6000+4,1000)]^2 = 2,0306$$

1.2.1.2. Interaction AB2

		<u>B (phosphore)</u>	
		<u>20ppm</u>	<u>80ppm</u>
<u>A (zinc)</u>	<u>2ppm</u>	4,1500	5,9000
	<u>5ppm</u>	4,0500	5,7250

$$AB1 = 3 [(4,1500+5,7250) - (5,9000+4,0500)]^2 = 0,01687$$

1.2.2. Interaction Phosphore x Glomus mosseae

		<u>C (Glomus mosseae)</u>	
		<u>NM</u>	<u>M</u>
<u>B (phosphore)</u>	<u>20ppm</u>	3,6666	4,2000
	<u>80ppm</u>	5,1000	5,7166

$$BC = \frac{9}{2} [(3,6666+5,7166) - (5,1000+4,2000)]^2 = 0,03115$$

1.2.3. Interaction Glomus mosseae x zinc

		<u>A (zinc)</u>		
		<u>0 ppm</u>	<u>2 ppm</u>	<u>5 ppm</u>
<u>C (Glomus mosseae)</u>	NM	3,8500	4,8000	4,5000

1.2.3. Interaction Glomus mosseae x zinc

		<u>A (zinc)</u>		
		<u>0ppm</u>	<u>2ppm</u>	<u>5ppm</u>
C ( <u>Glomus mosseae</u> )	NM	3,8500	4,8000	4,5000
	M	4,3500	5,2500	5,2750

Nous pouvons obtenir deux composantes de cette interaction dont les carrés moyens sont CA1 et CA2.

1.2.3.1. Interaction CA1

		<u>A (zinc)</u>	
		<u>0ppm</u>	<u>2-5ppm</u>
C ( <u>Glomus mosseae</u> )	NM	3,8500	4,6500
	M	4,3500	5,2625

$$CA1 = 4 [(3,8500+5,2625) - 4,6500+4,3500]^2 = 0,0506$$

1.2.3.2. Interaction CA2

		<u>A (zinc)</u>	
		<u>2ppm</u>	<u>5ppm</u>
C ( <u>Glomus mosseae</u> )	NM	4,8000	4,5000
	M	5,2500	5,2750

$$CA2 = 3 [(4,8000+5,2750) - (5,2500+4,5000)]^2 = 0,3168$$

1.3. Carré moyen de l'erreur

$$\begin{aligned}
 &= 271,7625 - (11,7306+0,2268+19,5815+2,9759+2,0306 \\
 &\quad +0,01687+0,03115+0,0506+0,3168+ \frac{3141,6025}{12}) \\
 &= 0,4153
 \end{aligned}$$

1.4. Carré moyen critique

La table de F pour 65 d.d.l. aux risques de 1% et 5% donne respectivement  $F = 7,04$  et  $F = 3,99$ . Le produit de F par le carré moyen de l'erreur donne le carré moyen critique. D'où respectivement 2,9237 (risque de 1%) et 1,6570 (risque de 5%).

1.5. Carrés moyens significatifs

Seuls sont significatifs les carrés moyens supérieurs au carré moyen critique.

. Carrés moyens significatifs à 1%: A1, B et C

. Carrés moyens significatifs à 5%: A1, B, C et AB1

Au seuil de 5%, du fait de la signification de AB1, les effets A1 et B, tout en étant significatifs deviennent sans objet.

ANNEXE III

Tableau 1. Variation du poids sec des parties aériennes (g/plante) en fonction du temps de Vigna unguiculata cv.58-185 et Vita 4 cultivés sur sol Dek stérile et inoculés avec Glomus mosseae

<u>Jours</u>	<u>58-185</u>		<u>Vita 4</u>	
	<u>NM</u> (1)	<u>M</u> (2)	<u>NM</u>	<u>M</u>
10	1,2	1,0	0,6	0,7
20	2,5	2,2	1,3	1,6
30	2,9	2,7	1,6	3,0
40	2,8	3,2	1,6	3,1
50	2,7	3,3	1,8	3,0

Tableau 2. Variation de la concentration en azote (N%) et de la teneur totale en azote (mg/plante) en fonction du temps de Vigna unguiculata cv. 58-185 et Vita 4 cultivés sur sol Dek stérile et inoculés avec Glomus mosseae

<u>Jours</u>	<u>58-185</u>				<u>Vita 4</u>			
	<u>NM</u>		<u>M</u>		<u>NM</u>		<u>M</u>	
	<u>N %</u>	<u>N total</u>	<u>N %</u>	<u>N total</u>	<u>N %</u>	<u>N total</u>	<u>N %</u>	<u>N total</u>
10	1,21	15,4	1,59	19,8	1,57	9,6	1,70	12,4
20	1,54	35,8	1,60	32,5	2,29	27,9	2,24	38,5
30	1,69	48,0	1,70	47,5	2,49	38,9	2,56	78,6
40	1,84	52,5	1,64	55,2	2,20	32,5	2,24	64,9
50	1,92	53,4	1,90	64,6	2,29	42,1	2,83	89,4

(1) - NM : Non Mycorhizé

(2) - M : Mycorhizé

Chaque valeur est la moyenne de quatre répétitions.

Tableau 3 . Variation de la concentration en phosphore (P%) et de la teneur en phosphore (mg/plante) en fonction du temps de Vigna unguiculata cv. 58-185 et Vita 4 cultivés sur sol Dek stérile et inoculés avec Glomus mosseae

Jours	58-185				Vita 4			
	N M (1)		M (2)		N M		M	
	P %	P total	P %	P total	P %	P total	P %	P total
5	0,160		0,160		0,157		0,157	
10	0,130	1,65	0,130	1,25	0,150	0,89	0,120	0,48
15	0,125		0,087		0,150		0,095	
20	0,115	2,78	0,080	1,67	0,142	1,48	0,045	0,70
25	0,110		0,075		0,135		0,145	
30	0,100	2,87	0,140	3,87	0,115	1,51	0,188	5,46
35	0,080		0,120		0,072		0,077	
40	0,075	2,05	0,080	2,65	0,072	1,21	0,097	3,7
45	0,072		0,082		0,079		0,087	
50	0,075	2,07	0,087	3,40	0,080	1,40	0,100	3,0
55	0,078		0,087		0,082		0,100	

(1) - NM: Non Mycorhizé

(2) - M : Mycorhizé

Chaque valeur est la moyenne de quatre répétitions.





CHAPITRE IIIETUDE DE L'EFFECTIVITE ET DE LA COMPETITIVITE DES SOUCHES DE RHIZOBIUM VIS A VIS DE Vigna unguiculata

1. Objectif .....	)	39
2. Expérience sur sol stérile.....	)	
2.1. Etude de l'effectivité des souches de <u>Rhizobium</u> .....	)	
2.1.1. Première expérience: comparaison de l'ef-	)	
fectivité des souches de <u>Rhizobium</u> ORS 403	)	
ORS 406, ORS 407, NIG et CB 756.....	)	39
2.1.2. Deuxième expérience: comparaison de l'ef-	)	
fectivité des souches de <u>Rhizobium</u> ORS 403,	)	
ORS 406, ORS 407, NIG, CB756, 8A11, THA205	)	
et TAL1000.....	)	45
2.1.3. Troisième expérience: comparaison de l'ef-	)	
fectivité des souches de <u>Rhizobium</u> ORS 407,	)	
CB756 et 8A11.....	)	50
2.2. Etude de la compétitivité des souches de	)	
<u>Rhizobium</u> .....	)	58
2.2.1. Compétition entre les souches de <u>Rhizobium</u>	)	
ORS 403, ORS 407, et CB 756.....	)	58
2.2.2. Compétition entre les souches de <u>Rhizobium</u>	)	
ORS 407, CB 756 et 8A11.....	)	62
3. Expérience sur sol non stérile .....	)	63
3.1. Résultats .....	)	65
3.2. Discussion .....	)	67
4. Discussion Générale .....	)	71

CHAPITRE IVINFLUENCE DU GENOTYPE DE LA PLANTE-HOTE SUR LA SYMBIOSE Vigna unguiculata-Glomus mosseae

1. Objectif.....	)	77
2. Dispositif expérimental.....	)	77
3. Résultats.....	)	78
4. Discussion.....	)	87

CHAPITRE VREPONSE DE *Vigna unguiculata* A L'INOCULATION AVEC *Glomus mosseae* EN PRESENCE DE DIFFERENTES DOSES DE PHOSPHORE ET DE ZINC

1. Objectif .....	)	91
2. Première expérience: réponse de <i>Vigna unguiculata</i> à la mycorhization de différentes doses de phosphore..	)	
2.1. Résultats .....	)	92
2.2. Discussion.....	)	96
3. Deuxième expérience: étude de la réponse de <i>Vigna unguiculata</i> à la mycorhization en présence de différentes doses de phosphore et zinc.....	)	97
3.1. Résultats.....	)	
3.2. Discussion.....	)	100

CHAPITRE VIETUDE CINETIQUE DE LA REPONSE DE *Vigna unguiculata* A LA MYCORHIZATION PAR *Glomus mosseae*

1. Objectif .....	)	107
2. Conditions expérimentales.....	)	
3. Résultats.....	)	
4. Discussion.....	)	111
CONCLUSION .....	)	113
BIBLIOGRAPHIE.....	)	117
ANNEXE I .....	)	135
ANNEXE II .....	)	137
ANNEXE III .....	)	143
TABLE DES MATIERES.....	)	147

**NG**  
**NORD-GRAPHIQUE**  
**PARIS**

O.R.S.T.O.M.

*Direction générale :*

24, rue Bayard - 75008 PARIS

*Service des Editions :*

70-74, route d'Aulnay - 93140 BONDY

---

Imp. NORD-GRAPHIQUE  
ORSTOM Editeur

Dépôt légal . 1er trim. 1984  
I S B.N . 2-7099-0709-7