



Projet PARRUR

Appui à l'Enseignement Supérieur et à la Recherche

RAPPORT D'ACTIVITES

**Financement de la coopération française
pour les doctorants malgaches**

Titre du projet

Biodisponibilité du phosphore et développement de la plante dans une association culturale riz-haricot : Implication de la symbiose mycorhizienne à arbuscules et à vésicules, symbiose fixatrice d'azote et ses microorganismes associés

Par

RAZAKATIANA Adamson Tsoushima Ernest

Septembre 2013 - juin 2014

ENCADRANTS : RAHERIMANDIMBY Marson, Professeur titulaire

RAMANANKIERANA Heriniaina, Docteur HDR

SOMMAIRE

REMERCIEMENT	1
INTRODUCTION.....	2
II. ACTIVITE LIEE AU PROJET	3
II.1 Expérimentation en serre et analyse au laboratoire	3
II.1.1 Matériels végétaux.....	3
II.1.2 Sols et inocula d'étude.....	4
II.1.3 Evaluation des paramètres	4
II.2. Micro-essai au champ LAZAINA	5
II.2.1 Matériels végétaux.....	6
II.2.2 Inoculum d'études.	6
II.2.3 Évaluation des paramètres :	7
II.3 Résultats :	7
II.3.1 Relations du développement, des teneurs en éléments nutritifs des plantes et des propriétés microbiologiques des sols de culture avec les 4 types de sol.	7
II.3.2 Effet du système cultural sur le riz et le haricot du sol fumier/TSP20 S4	8
II.3.3 Effet de l'inoculum sur le riz et le haricot du sol fumier/TSP20 T4.....	11
II.3.3.Taux de nodulation	14
II.3.3. Interaction entre inoculation et l'apport de P minéral.	15
II.3.4 Conclusion	16
II.3.4 Reference bibliographique :.....	17

REMERCIEMENT

Le présent travail, dans le cadre de projet PARRUR, a été financé par la coopération française pour les doctorants Malgaches et a été réalisé au sein de l'Unité 2 dans le Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement (LME) du Centre National de Recherches sur l'Environnement (CNRE), dans le Laboratoire des RadioIsotopes (LRI) et également dans le Laboratoire de Biotechnologie – Microbiologie (LABMIC) de l'Université d'Antananarivo. Je tiens donc à remercier chaque institution et les différents responsables ainsi que leur équipe de m'avoir accueilli.

J'adresse ma gratitude à Monsieur RAHERIMANDIMBY Marson, Professeur titulaire, Doyen de la faculté des Sciences d'Antananarivo à l'Université d'Antananarivo, directeur de thèse de ce travail, de m'avoir guidé tout au long de ce travail. Votre enseignement ont été d'une grande aide.

Un grand merci à Monsieur RAMANANKIERANA Heriniaina, Docteur HDR chef du département II (écosystèmes terrestre) du Centre National de Recherches sur l'Environnement (CNRE), co-directeur de thèse pour les précieux conseils et les temps consacrés pour ce travail.

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

Je n'oublierai pas l'équipe du Laboratoire des Radioisotopes et Madame RAZAFIMANANTSOA Marie-Paule pour leur aide et leur accueil.

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

INTRODUCTION

L'un des défis les plus importants auxquels l'humanité doit faire face aujourd'hui est de conserver les ressources naturelles et l'environnement, y compris le sol et ces microorganismes associés, tout en augmentant la production alimentaire. Alors que la population mondiale augmente, les pressions sur les ressources naturelles s'accroissent, ce qui rend difficile le maintien de la sécurité alimentaire. La sécurité alimentaire à long terme exige un équilibre entre l'augmentation de la production agricole, le maintien de la « santé » des sols et la durabilité environnementale. La population malgache n'échappe pas à cette croissance démographique avec un taux annuel de croissance de 2,8% pour atteindre 20,6 million en 2011 (INSTAT, 2012). La production agricole, et surtout rizicole, devrait suivre cette tendance étant donné l'insuffisance alimentaire qui gagne petit à petit le pays aussi bien en zone rurale qu'urbaine. L'augmentation de la production agricole s'avère alors nécessaire voire obligatoire. Les principales solutions pouvant être proposées s'orienteront surtout vers l'intensification des systèmes agricoles, associée en général à des apports d'engrais minéraux, et/ou l'augmentation des surfaces cultivées, en mettant en culture des espaces nouveaux tels que les collines ou « tanety ».

Différentes techniques culturales peuvent être adoptées dans un système de riz pluvial (Domas *et al.*, 2008); et parmi elles compte l'association culturale qui est familière aux paysans malgaches. Les impacts du système d'association culturale riz-haricot et de l'utilisation de divers types d'amendements organiques (fumier, résidus de stylosanthès) sur le fonctionnement et la structure de la communauté microbienne symbiotique des sols cultivés ainsi que les phénomènes microbiologiques impliqués dans la biodisponibilité des éléments nutritifs particulièrement le phosphore a été l'objectif principal du projet. Notre hypothèse révélait que la pratique culturale associative ainsi que l'utilisation de symbiotes fongiques et rhizobiens :

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

Ce projet constitue l'une des grandes parties de mon projet de thèse intitulé: *Biodisponibilité du phosphore et développement de la plante dans une association culturale riz-haricot : Implication de la symbiose mycorhizienne à arbuscules et à vésicules, symbiose fixatrice d'azote et ses microorganismes associés*

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

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

II. ACTIVITE LIEE AU PROJET

La réalisation du présent projet comprend deux phases :

- Expérimentation en serre et analyse au laboratoire
- Micro-essai au champ LAZAINA

II.1 Expérimentation en serre et analyse au laboratoire

II.1.1 Matériels végétaux

. Riz

Pour l'association culturale, deux espèces de plantes différentes ont été utilisées. L'association du riz pluvial, de la famille des Poacées, avec le haricot, de la famille des Fabacées a été choisie. La variété « Ravokatra » ou FOFIFA 154 a été utilisée. Issue d'un croisement variétal et lancée par le Cirad et le Fofifa en 1995, cette variété est utilisée pour la culture de riz pluvial d'altitude (1000 à 1300m). Elle est adoptée par de nombreux paysans des Hauts Plateaux malgaches avec un rendement moyen d'environ 3000 kg/ha (MAEP, 2007).

. Haricot

La variété du haricot dénommée « Ranjonomby » ou lingot blanc a été associée avec la culture du riz pluvial. Cette variété a été créée à partir de la sélection massale des populations locales du haricot blanc par le Fofifa en 1995. Elle constitue une variété

commerciale, très prisée au niveau du marché local et extérieur et dont le rendement à l'hectare est de 1000 à 1200 kg (MAEP, 2007).

II.1.2 Sols et inocula d'étude

Des échantillons de plantes et de sols ont été prélevés sur le site expérimental de Lazaina de l'année 2012. L'expérimentation sur ce site consistait à tester l'efficacité d'un certain nombre de fertilisants et du mode de gestion de sol sur la culture intercalaire de riz (*Oryza sativa*) et de haricot (*Phaseolus vulgaris*).

Au stade de floraison du haricot, les sols rhizosphériques de type fertilisant : témoin absolu (sans apport de phosphore) (S1), minéral : Triple SuperPhosphate à 45% de P_2O_5 , apport 20 kg P.ha⁻¹(TSP20) (S2), organique : fumier à dose de 20 kg P ha⁻¹, composé essentiellement des excréments de bovin (M20) (S3), minéral et organique : Triple SuperPhosphate à 20 kg P TSP ha⁻¹ (TSP20) + fumier à 20 kg P ha⁻¹ (M20) (S4) ainsi que les plantes (haricot et riz) sur ces sols ont été récupérés et ont été utilisés pour notre expérimentation.

Les racines issues des plantes (riz et haricot) de Lazaina ont servi de source de symbiote fongiques et/ou rhizobiens et ont été utilisées directement comme inoculum sur nos culture, elles ont été coupées en morceau et ont été incorporées dans les sols. Trois types d'inoculum ont été préparés : inoculum de racines de haricot (I1), inoculum de racines de riz (I2), inoculum de mélange de racines de riz et de haricot (I3).

II.1.3 Evaluation des paramètres

Au terme 45 jours de culture (stade floraison du haricot), les plantes et les sols ont été récoltés, et les paramètres suivants ont été mesurés :

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

- Le taux de nodulation des plantes (la présence de nodules est rencontrée uniquement sur les racines de plantules de haricot. Ils ont été comptés puis pesés après séchage pendant une semaine à 65°C. Sous une condition strictement aseptique, une partie de ces nodules ont été écrasés pour avoir une collection des souches pure de

rhizobium qui sont ensuite sélectionnés par plusieurs tests (test de nodulation, test indol et test de performance).

- Taux d'endomycorhization (la présence d'infection endomycorhizogène sur les racines est mise en évidence en suivant la technique de Phillips et Hayman (1970))

Teneur en Azote et en Phosphore (les analyses chimiques pour la détermination de la teneur en éléments minéraux des parties aériennes préalablement séchées puis broyées ont été effectuées au Laboratoire des Radio Isotopes (LRI) à Antananarivo)

- Activité microbienne du sol (Dommergues (1972) a donné une signification de l'activité microbienne du sol comme étant l'activité qui correspond à l'intervention des microorganismes vivants agissant par leurs propres enzymes et de l'activité correspondant à l'intervention des enzymes du sol)

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

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

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

- Traitement statistique des données (les analyses statistiques ont été effectuées par le logiciel XLSTAT tel que les analyses de variance ANOVA à deux facteurs au seuil de probabilité de 5% et le test de Newman-Keuls a été utilisé pour les recherches de différence entre les groupes de moyenne statistiquement homogène.)

II.2. Micro-essai au champ LAZAINA

En janvier 2014, un essai à l'échelle paysanne ont été mise en place à Lazaina, une zone périurbaine situé au Nord du centre-ville d'Antananarivo (S18°46'53.56'', E47°32'05.03'', 1290 m).L'objectif principal de cette partie a été de tester l'efficacité et

effet de l'inoculation des souches performantes de rhizobium avec trois niveau d'apport de P (0, 50, 200 kg de P h⁻¹) sur le développement, le rendement de plante, et sur la structure et fonctionnement des microorganismes du sol rhizosphérique.

II.2.1 Matériels végétaux

La même variété du haricot dénommée « Ranjonomby » ou lingot blanc utilisée ultérieurement a été choisie.

II.2.2 Inoculum d'études.

Mélange de 6 souches (M6) obtenues à partir de 155 souches isolé et sélectionné suivant la capacité de ces souches à noduler et fixer l'azote atmosphérique sur haricot et leur capacité à produire l'acide indol acétique (AIA) qui est une hormone de croissance pour la plante.

Préparation de l'inoculum

a.1) Inoculum liquide :

. Préculture

A partir d'une colonie pure fraîchement isolée sur milieu YMA, chaque souche est repiquée dans 8 tubes stériles de 50 ml contenant 20 ml de milieu G5 chacun (**Singleton, 2000**). Les tubes sont incubés sous agitation à une température de 28°C pendant 48 heures.

. Propagation

Les cultures sont menées dans des erlenmeyers de 500 ml avec un volume réactionnel de 200 ml,ensemencées avec des précultures de 48 heures. L'inoculation des cultures est faite à 10% volume/volume.

a.2) Inoculum solide :

L'inoculum liquide est mélangé avec du tourbe fine à raison de 20 ml par 300g de tourbe.

. Inoculation

L'inoculation consiste à incorporer l'inoculum solide dans la semence de haricot. Ensuite, ajouter ½ L de saccharose (sucrose 10%), mélanger soigneusement jusqu'à ce que les semences soient couvertes uniformément.

II.2.3 Évaluation des paramètres :

Pendant le stade floraison du haricot, les plantes et les sols ont été récoltés, et les paramètres cités sur l'essai en serre (la croissance des plantes, le taux de nodulation des plantes, activité microbienne du sol, structure de la communauté microbienne des sols : spores, propagules, bactéries solubilisatrices du phosphate) et le rendement sont mesurés.

II.3 Résultats :

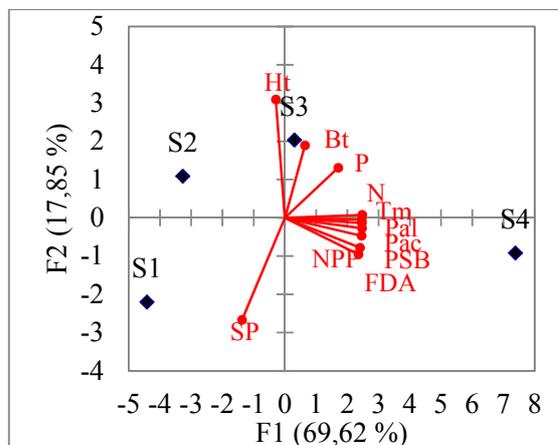
A) Expérimentation en serre

II.3.1 Relations du développement, des teneurs en éléments nutritifs des plantes et des propriétés microbiologiques des sols de culture avec les 4 types de sol.

Les analyses en composantes principales (fig 1A et B) montrent les relations du développement des plantes, teneurs en éléments nutritifs du riz et de haricot ainsi que les propriétés microbiologiques des sols de culture avec les 4 types de sol (S1 témoin, S2 TSP20, S3 M20 et S4 TSP20+M20) : on constate à la fois chez le riz et chez le haricot que les paramètres mesurés sont fortement corrélés avec les types de sol S3 et S4. En effet, des engrais organiques tels que le fumier augmentent le rendement cultural, et combinés à une fertilisation minérale à dose optimale comme le triple superphosphate, le rendement s'accroît encore plus et la fertilité du sol est maintenue par stimulation des propriétés microbiologiques du sol.

Suite à cette première analyse, l'effet du système cultural et de l'inoculation de racines ainsi que l'interaction des deux traitements sur le riz et le haricot a été fait uniquement au niveau du sol S4 TSP20+M20.

Riz



Haricot

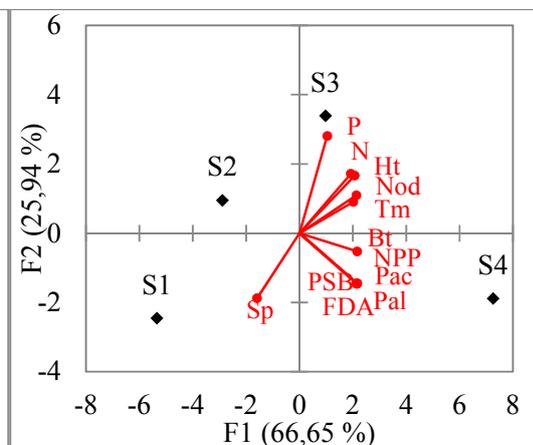


Fig 1A et B : Relations du développement, des teneurs en éléments nutritifs des plantes et des propriétés microbiologiques des sols de culture avec les 4 types de sol.

II.3.2 Effet du système cultural sur le riz et le haricot du sol fumier/TSP20 S4

II.3.2.1. Développement et taux de mycorhization

Les analyses de variance effectuées sur les poids secs de la biomasse totale et le taux de mycorhization des plants de riz et de haricot du sol fumier/TSP20 (S4) (tableau 1) ont montré que le développement de haricot a été influencé par le système cultural. En effet, l'association cultural sur le haricot a augmenté significativement la biomasse totale de ce dernier ($p < 0,05$).

Tableau 1. Influence du système cultural, monoculture ou coculture, sur le développement et le taux de mycorhization du riz et de haricot du sol fumier/TSP20S4

Traitement	Haricot		Riz	
	Biomasse totale(g)	Taux de mycorization (%)	Biomasse totale (g)	Taux de mycorization (%)
Monoculture	1,014 (b)	79,83 (a)	0,294 (a)	76,745 (a)
Coculture	1,341 (a)	83,88 (a)	0,237 (a)	17470.599 (a)

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

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

II.3.2.2. Nodulation : nombre des nodules

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

II.3.2.3. Teneurs en azote et en phosphore

Des comparaisons ont été réalisées entre les teneurs en azote et en phosphore des parties aériennes de riz et de haricot du sol fumier/TSP20 (T4) avec ou sans la coculture (tableau 2.). Dans le cas des deux plantes, les résultats révèlent que le système cultural a conduit à un effet significatif sur la teneur en phosphore.

Tableau 2. Influence du système cultural, monoculture ou coculture, sur les teneurs en azote et en phosphore des parties aériennes de riz et de haricot du sol fumier/TSP20 S4

Traitement	Haricot		Riz	
	Phosphore (mg.kg-1)	Azote (mg.kg-1)	Phosphore (mg.kg-1)	Azote (mg.kg-1)
Monoculture	1248,372 (a)	20560.219 (a)	783.617 (a)	16868.106 (a)
Coculture	1056.632 (a)	19638.93 (a)	1162.236 (a)	80,671 (a)

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

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

II.3.2.4. Propriétés microbiologiques des sols

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

Les résultats des analyses des activités enzymatiques des sols sont résumés dans le tableau 3. Les activités phosphatasiques acides et les activités microbiennes globales des sols prélevés sous haricot ou sous riz ont toutes montré une différence significative selon le type de traitement système cultural. Effectivement, par rapport aux valeurs enregistrées sur le traitement en culture associé (riz-haricot), les quantités de fluorescéine et de p-nitrophénol acide produites par g de sol ont été deux fois plus élevés que lorsque le riz et le haricot ont été cultivés seuls.

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

Tableau 3. Influence du système cultural, monoculture ou coculture, sur les activités enzymatiques des sols de riz et de haricot.

Traitement	Haricot			Riz		
	Fluorescéine (µg/h/g de sol)	P-nitrophénol acide (µg/h/g de sol)	p-nitrophénol alcaline (µg/h/g de sol)	Fluorescéine (µg/h/g de sol)	p-nitrophénol acide (µg/h/g de sol)	p-nitrophénol alcaline (µg/h/g de sol)
Monoculture	278.175 (a)	119.286 (b)	112.811(a)	173.228 (a)	122.937(b)	108.382(a)
Coculture	537.619 (a)	215.397 (a)	130.373 (a)	537.612(a)	215.397 (a)	130.373 (a)

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

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

Le tableau 4 montre les analyses de variances effectuées sur le nombre de spores, de propagules et de bactéries solubilisatrices de phosphate (PSB) sur des échantillons de sol prélevés sous haricot et sous riz sous l'effet du système cultural.

Tableau 4. Influence du système cultural, monoculture ou coculture, sur la structure de la communauté microbienne des sols de riz et de haricot.

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

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

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

II.3.3 Effet de l'inoculum sur le riz et le haricot du sol fumier/TSP20 T4

II.3.3.1 Développement et taux de mycorhization

Les résultats sur le développement et le taux de mycorhization des plants de riz et de haricot du sol fumier/TSP20 ont été résumés dans le tableau 5.

Tableau 5. Influence de l'inoculum sur le développement et le taux de mycorhization du riz et de haricot du sol fumier/TSP20S4.

Traitement	Haricot		Riz	
	Biomasse totale(g)	Taux de mycorization (%)	Biomasse totale (g)	Taux de mycorization (%)
I1	1.370 (a)	86.175 (a)	0,224(a)	84.597 (a)
I2	0.864 (b)	86.597 (a)	0.222 (b)	86.107 (a)
I3	1,298 (a)	72,807 (b)	0,237 (a)	68.420 (a)

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

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

II.3.3.1 Nodulation : nombre de nodules

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

II.3.3.1 Teneurs en azote et en phosphore

L'inoculum a agi considérablement sur les teneurs en azote et en phosphore des parties aériennes du riz ainsi que la teneur en azote du haricot (tableau 6). Ces teneurs ont été particulièrement importantes en présence de l'inoculum de racines sous riz/haricot (I3). Cependant, l'inoculation n'a pas eu d'effet sur la teneur en phosphore du haricot par absence de différence significative entre le traitement inoculum.

Tableau 6. Influence de l'inoculum sur les teneurs en azote et en phosphore des parties aériennes de riz et de haricot du sol fumier/TSP20 S4.

Traitement	Haricot		Riz	
	Phosphore (mg.kg-1)	Azote (mg.kg-1)	Phosphore (mg.kg-1)	Azote (mg.kg-1)
I1	1186.192 (a)	20061.182 (ab)	783.617 (a)	16386.03 (b)
I2	1145.570 (a)	18795.352 (b)	1162.236 (b)	16023.938 (b)
I3	1125.745 (a)	21442.189 (a)	1113.273 (a)	19098.09 (a)

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

II.3.3.1 Propriétés microbiologiques des sols

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

Les résultats sur les activités enzymatiques des sols (phosphatases et activité microbienne globale) sous l'effet de l'inoculum sont consignés dans le tableau 7.

Tableau 7. Influence de l'inoculum sur les activités enzymatiques des sols de riz et de haricot.

Traitement	Haricot			Riz		
	Fluorescéine (µg/h/g de sol)	P-nitrophénol acide (µg/h/g de sol)	p-nitrophénol alcaline (µg/h/g de sol)	Fluorescéine (µg/h/g de sol)	p-nitrophénol acide (µg/h/g de sol)	p-nitrophénol alcaline (µg/h/g de sol)
I1	403.214 (a)	153,135 (b)	112.811(a)	358.095 (a)	124.365(a)	119.535(a)
I2	378.452 (a)	122.857(a)	108.144 (a)	344.484 (a)	172.778 (a)	109.331(a)
I3	442,024 (a)	226.032 (a)	134.368	363.690 (a)	210,357 (a)	129.265 (a)

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

L'inoculum a influencé significativement l'activité des phosphatases acides du sol de haricot.

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

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

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

Les résultats sur la structure de la communauté microbienne des sols sous haricot et sous riz ont été rapportés dans le tableau 8.

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

Tableau 8. Influence de l'inoculum sur la structure de la communauté microbienne des sols de riz et de haricot.

Traitement	Haricot			Riz		
	Spores	NPP	PSB (UFC/g de sol)	Spores	NPP	PSB (UFC/g de sol)
I1	2109(b)	295 (a)	185(a)	2095 (b)	251(a)	121(a)
I2	2480 (a)	202 (a)	135(a)	2564(a)	157 (a)	105 (a)
I3	19.06 (b)	309 (a)	121 (a)	1950 (a)	242 (a)	130 (b)

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

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

B) Micro-essai au champ LAZAINA

II.3.3.Taux de nodulation

Les résultats sur le taux de nodulation de haricot ont été rapportés dans les tableaux 9 et 10.

Tableau 9 : Impact de l'inoculation sur le taux de nodulation du haricot.

Traitement	Taux de nodulation
Non inoculé	9.721(a)
Inoculé	57.822(b)

Tableau 10: Influence de l'engrais minéral P sur le taux de nodulation

Traitement	Taux de nodulation (%)
TSP0	15.2(a)
TSP50	42.331(b)
TSP200	43.783(b)

Les données dans la même colonne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de

Newman-keuls $p < 0,05$

Le résultat à montrer que l'inoculation stimule significativement la production de nodosité de haricot. Le nombre de nodule augmente sur la racine de haricot traité avec du TSP mais aucune différence significative entre TSP50 et TSP200.

II.3.3. Rendement

Les résultats sur le rendement en graine de haricot ont été rapportés dans les tableaux 11 et 12.

Tableau 11 : Impact de l'inoculation sur le taux de nodulation du haricot.

Traitement	Rendement (kg.ha ⁻¹)
Non inoculé	83,250 (a)
Inoculé	104,749 (b)

Tableau 12: Influence de l'engrais minéral P sur le taux de nodulation

Traitement	Rendement (kg.ha ⁻¹)
TSP0	67,150 (a)
TSP50	100,500 (b)
TSP200	114,348 (b)

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

Des résultats similaires ont été enregistré sur la production en graine de haricot c'est-à-dire l'inoculation et la fertilisation minéral présente un effet positive sur le rendement de la culture de haricot.

II.3.3. Interaction entre inoculation et l'apport de P minéral.

Tableau 13: Influence de l'engrais minéral P sur le taux de nodulation

Traitement	Taux de nodulation (%)	Rendement (kg.ha ⁻¹)
TSP0+ Non inoculé	3.9 (a)	59.080 (a)
TSP0+ Inoculé	26.5 (b)	75.220 (ab)
TSP50+Non inoculé	11.613(ab)	85.318 (abc)
TSP50+Inoculé	73.05 c	105.352 (bc)
TSP200+Non inoculé	13.650 (ab)	115.682 (bc)
TSP200+ Inoculé	73.915 (ab)	123.345 (c)

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

Une interaction positive a été remarquée entre l'inoculation et apport de P minéral sous forme de P_2O_5 avec une augmentation significative du taux de nodulation.

L'analyse sont maintenant en cours pour les autres traitements (la croissance des plantes, le taux de nodulation des plantes, les activités microbiennes du sol, structure de la communauté microbienne des sols : spores, propagules, bactéries solubilisatrices du phosphate

II.3.4 Conclusion

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

Concernant l'essai sur l'inoculation, notre étude a bien montrer que l'inoculation associée avec TSP à dose modérer est très favorable pour la production de haricot à Madagascar.

II.3.4 Reference bibliographique :

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

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

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

INSTAT 2012. Disponible en ligne sur: http://www.instat.mg/index.php?option=com_content&view=article&id=33&Itemid=56 . Date de consultation: 11 Mars 2013

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

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

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

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