

COMITÉ PERMANENT INTER-ÉTATS DE LUTTE  
CONTRE LA SÉCHERESSE DANS LE SAHEL



PERMANENT INTERSTATE COMMITTEE  
DROUGHT CONTROL IN THE SAHEL

## CENTRE RÉGIONAL AGRHYMET



### DEPARTEMENT FORMATION ET RECHERCHE

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTERE EN GESTION DURABLE DES TERRES

Promotion : 2016 -2017

Présenté par Mr MOUNKAILA BOUREIMA Mouhamadou

### Effet de l'inoculation mycorhizienne sur la croissance du niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) cultivé au Niger.

Maitre de Stage: Dr Ila Salifou, Institut des Radio-Isotopes.

Soutenu, le 07/01/2017 devant le Jury composé de :

**Président :** Pr Dan Lamso Nomaou, Pédologue, Enseignant Chercheur à l'Université Abdou Moumouni de Niamey.

**Membre :** Dr AGALI Alassane, Physiologiste Végétale, Centre Régional AGRHYMET.

**Membre :** Dr Mbaye NDaye, Directeur de Mémoire ; Phytopathologiste : Centre Régional AGRHYMET.

SECRÉTARIAT EXECUTIF : 03 BP 7049 Ouagadougou 03 BURKINA FASO. Tél. (226) 50 37 41 25/26/27/28/29 Fax : (226) 50 37 41 32 Email : [cilss@fasonet.bf](mailto:cilss@fasonet.bf) Site Web : [www.cilssnet.org](http://www.cilssnet.org)

CENTRE RÉGIONAL AGRHYMET : BP 11011 Niamey, NIGER. Tél (227) 20 31 53 16 / 20 31 54 36 Fax : (227)20 31 54 35 Email : [admin@agrhyet.ne](mailto:admin@agrhyet.ne) Site Web : [www.agrhymet.ne](http://www.agrhymet.ne)

INSTITUT DU SAHEL : BP 1530 Bamako, MALI. Tél : (223) 20 22 21 48 / 20 23 02 37 Fax : (223) 20 22 23 37 / 20 22 59 80 Email : [dginsah@agrosoc.insah.ml](mailto:dginsah@agrosoc.insah.ml) Site Web : [www.insah.or](http://www.insah.or)

## DEDICACES

*Je dédie ce modeste travail:*

- *À la mémoire de mon père, Feu **Mounkaila Boureima** et à la mémoire de ma mère Feu **Bibata Doulla**.*
- *À ma famille et à tous ceux qui me sont chers.*

## REMERCIEMENTS

*Nous adressons nos sincères remerciements à :*

- *À Dr Ali Adale Directeur de l'Institut des Radio-Isotopes.*
- *À Dr Daouada Ousmane Sani, Chef de département de Radio Agronomie, des Biotechnologies et Amélioration des plantes.*
- *À Dr Ila Salifou, Chercheur à l'Institut des Radio-Isotopes (Université Abdou Moumouni de Niamey) qui m'a fait l'honneur d'encadrer ce travail. Qu'il trouve ici l'expression de mon respect et de ma reconnaissance.*
- *À Dr Mbaye N'Daye, Responsable du Laboratoire de Phytopathologie du Centre Régional AGRHYMET; pour la direction du mémoire, sa disponibilité et les orientations techniques.*
- *À Dr Marafa Dahiratou, Responsable du Laboratoire des Sciences de la vie et de la Terre (Université Abdou Moumouni de Niamey), pour ses conseils techniques et sa disponibilité.*
- *À Pr Atta Sanoussi, Chef de Département Formation et Recherche (DFR / CRA).*
- *À Dr Maguette Kaire, Coordonnateur du Master Gestion Durable des Terres.*
- *Aux techniciens; thésards et stagiaires des laboratoires cités ci-dessus, pour leur assistance aux analyses et observations.*
- *À tous nos enseignants.*
- *Au Personnel du Centre Régional AGRHYMET, pour leur disponibilité.*
- *À mes collègues de service pour leur conseils et assistance.*
- *À tous les camarades de ma promotion, pour toute cette ambiance fraternelle.*
- *Mes remerciements vont également à l'UEMOA, pour avoir accepté de financer ma formation.*
- *À tous Ceux qui ont contribué à l'aboutissement de ce travail et qui par inadvertance je n'ai pas pu citer sur cette page.*

## Table des matières

<b>DEDICACES</b> .....	i
<b>REMERCIEMENTS</b> .....	ii
Table des matières .....	iii
Liste des Tableaux .....	vi
Liste des Photos .....	vi
Sigles et abréviations .....	viii
Résumé .....	ix
Abstract.....	ix
Introduction .....	1
<b>Chapitre I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	4
1.1 Généralités sur le Niébé.....	4
1.1.1 Biologie et mode de reproduction .....	6
1.2 Généralités sur les Mycorhizes .....	6
1.2.1 Historique des mycorhizes.....	6
1.2.2 Importance écologique de la mycorhization.....	7
1.2.3 Mycorhizes et Plantes .....	7
1.2.4 Classification des Mycorhizes .....	7
1.2.5 Mycorhizes et Niébé.....	8
1.2.6 Anatomie des champignons Mycorhiziens arbusculaires(CMA).....	8
1.2.6 Production des inocula mycorhiziens arbusculaires .....	10
1.2.6.1 Types de propagules .....	10
1.2.6.2 Production des inocula.....	10
1.2.7 Physiologie des mycorhizes.....	11
1.2.8 Absorption des éléments minéraux.....	11
1.2.9 Autres fonctions des mycorhizes .....	11
1.3 Identification et Comptage des mycorhizes.....	12
1.3.1 Différentes méthodes d'extraction des spores .....	12
1.4 Protocole d'extraction et comptage des spores.....	12
<b>Chapitre II. MATERIEL ET METHODES</b> .....	14
2.1 Présentation de la zone d'étude .....	14
2.2 Matériel.....	15

2.2.1 Matériel végétal .....	15
2.2.2 Matériel technique .....	15
2.3 Méthodes .....	15
2.3.1 Multiplication en masse de l'inoculum des Mycorhizes .....	15
2.3.2 Identification et quantification du substrat .....	16
2.3.2.1 Première Méthode d'extraction des spores .....	16
2.3.2.2 Deuxième Méthode d'extraction des spores .....	17
2.3.3 Préparation du substrat de culture des variétés de niébé .....	19
2.3.4 Préparation de l'Inoculation .....	19
2.3.5 Application de l'inoculum .....	20
2.3.6 Test de germination des semences .....	21
2.3.7 Conduite de l'essai .....	21
2.3.8 Dispositif expérimental .....	21
2.3.9 Paramètres mesurés .....	21
2.4 Analyse des données .....	24
Chapitre III. PRESENTATION DES RESULTATS .....	25
3.1 Pouvoir germinatif des semences .....	25
3.2 Rendement de l'extraction .....	25
3.3 Caractéristiques des Spores .....	26
3.4 Potentiel infectieux du sol par espèce (PIM) .....	27
3.5 Effets de l'inoculation sur le développement du niébé .....	27
3.5.1 Effets de l'inoculation sur la levée .....	28
3.5.2 Effet de l'interaction <i>Variété*inoculum</i> sur la levée .....	29
3.5.3 Effet de l'inoculation sur les Biomasses aérienne (BA) et Racinaire (BR) .....	29
3.5.4. Aptitude des variétés mycorhizées à former des nodules .....	31
3.5.5 Effet de l'inoculation sur le poids des nodules au 50 <sup>ème</sup> jour après semis .....	32
Chapitre IV: DISCUSSION .....	33
4.1 Qualité des semences .....	33
4.2 Rendement de l'extraction .....	33
4.3 Potentiel infectieux des mycorhizes(PIM) en fonction des espèces .....	34
4.4 Caractéristiques des Spores .....	34
4.5 Effets de l'inoculation sur la levée .....	35
4.6 Effets de l'inoculation sur la Biomasse .....	35

4.7 Effets de l'inoculation sur la nodulation.....	36
Conclusion: .....	37
BIBLIOGRAPHIE.....	39
Web graphie:.....	42

**Liste des Figures, Tableaux et photos** *Pages*

**Liste des Figures :**

<b>Figure 1:</b> Schéma de l'Anatomie des mycorhizes.....	10
<b>Figure 2:</b> Carte de la situation géographique du site Expérimental.....	14
<b>Figure 3:</b> Schéma Illustratif de la méthode d'inoculation.....	19
<b>Figure 4:</b> Comparaison des taux de germination des variétés.....	24
<b>Figure 5 :</b> Densité des spores de mycorhize des inocula en fonction de la méthode d'extraction des spores.....	25
<b>Figure 6:</b> Densité de spores de mycorhizes dans le sol de la rhizosphère en fonction des variétés de niébé.....	26
<b>Figure 7:</b> Effet principal des inoculants sur la levée du niébé.....	27
<b>Figure 8:</b> Effet principal Inoculant sur le poids (g) de la biomasse aérienne du niébé.....	29
<b>Figure 9:</b> Effet principal des inocula sur la biomasse racinaire du niébé.....	29
<b>Figure 10:</b> Effet de l'Inoculant sur le poids des nodules au 50 <sup>ème</sup> jour après semis.....	31

**Liste des Tableaux**

<b>Tableau 1:</b> Caractéristiques des principales variétés utilisées au Niger.....	6
<b>Tableau 2:</b> Classification des mycorhizes.....	8
<b>Tableau 3:</b> Récapitulatif des deux méthodes d'extraction des spores.....	17
<b>Tableau 4:</b> classification des spores en fonction de la taille.....	25
<b>Tableau 5:</b> Récapitulatif des effets principaux de l'inoculation sur les paramètres observés..	27
<b>Tableau 6:</b> Effet de l'interaction <i>Variété* Inoculant</i> sur la levée.....	28
<b>Tableau 7:</b> Effet de l'interaction <i>Variété*Inoculant</i> sur le nombre des nodosités au jas 30...	30
<b>Tableau 8:</b> Effet de l'interaction <i>Variété*Inoculant</i> sur le nombre de nodosités au jas50...	30

**Liste des Photos**

<b>Photo 1 :</b> Pesage de l'échantillon sur une balance.....	17
<b>Photo 2 :</b> Tamisage humide sur une colonne de tamis.....	17
<b>Photo 3 :</b> Récupération dur surnageant dans une boîte de Petrie.....	17
<b>Photo 4 :</b> Comptage à la loupe binoculaire.....	17
<b>Photo5:</b> Apport de l'inoculum au pot.....	19
<b>Photo6:</b> Mélange de l'inoculum au substrat.....	19
<b>Photo 7:</b> Illustrative des parties utilisées.....	21
<b>Photo 8:</b> Illustrative de l'échantillon prelevée.....	21

<b>Photo 9:</b> Sol rhizosphérique prélevé.....	22
<b>Photo10:</b> Racines prélevées, lavée et conservées en solution de GEE.....	22
<b>Photo 11:</b> Levée dans un Pot non inoculé au j.as 3.....	28
<b>Photo 12:</b> Levée dans un Pot inoculé au j.as 3.....	28
<b>Photo13:</b> Nécrose sur les feuilles.....	35
<b>Photo14:</b> Fissure des tiges.....	35

## **Sigles et abréviations**

**CMA** : Champignon Mycorhize Arbusculaire.

**FAO** : Food and Agriculture Organisation.

**GEE** : Glycerine-Ethanol-Eau.

**IITA** : Institut international d'agriculture tropicale.

**INERA** : Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles.

**INRAN** : Institut National de Recherche Agronomique du Niger.

**JAS** : Jour Après Semis.

**PIM** : Potentiel Infectieux Mycorhigène.

## Résumé

Dans le souci d'accroître la productivité agricole de façon durable, plusieurs travaux ont porté sur la fertilisation du niébé avec les champignons mycorhiziens. Les effets de ces derniers sur les performances agronomiques du niébé ont été mis en évidence. Le niébé en tant que légumineuse mycotrophe, a exprimé des bonnes performances par inoculation avec des souches exotiques. Dans le cadre du présent travail, le niébé a été inoculé par des espèces indigènes de mycorhize. Pour mieux évaluer ses interactions avec ces champignons, 3 variétés de niébé et 3 sources différentes d'inoculum ont été utilisées en pot et sur substrat stérile. En effet les inoculums ont été produits à partir du voandzou ; de la tomate et du niébé. Au terme de 50 jours de suivi, il ressort qu'il existe une forte interaction entre variété et source d'inoculum, pour la levée ; le nombre et la masse des nodules. En plus, le voandzou est plus favorable à la multiplication en masse des mycorhizes que la tomate et le niébé. Les souches contenues dans les inoculants ont plus d'aptitude à influencer la levée des variétés de niébé TN5-78 et IT97K 499-38 contrairement à la K VX 30-309-6G.

***Mots clés*** : Niébé – champignons Mycorhiziens – espèces indigènes - Niger

## Abstract

In order to increase the agricultural productivity in a sustainable way, several studies have focused on the fertilization of cowpea with mycorrhizal fungi. Cowpea, as a leguminous mycotrophic, has expressed good performance by inoculation with exotic strains. In the present study, it was inoculated with native Mycorrhiza species. To evaluate its interactions with these fungi, 3 varieties and 3 different sources of inoculum were used in pot of culture with the sterile soil. Indeed the inocula were produced from the voandzou; Tomatoes and cowpeas. Indeed the inocula were produced from the voandzou; Tomato and cowpea. After 50 days of monitoring, there is a strong interaction between variety and source of inoculum, for emergence. The number and the mass of the nodules. The strains contained in the inoculants have more ability to influence varieties TN5-78 and IT97K 499-38 in contrast to K VX 30-309-6G.

## Introduction

Le niébé, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. est une des principales légumineuses alimentaires mondiales (Pasquet et Baudoin, 1997). Originaire de l'Afrique du Sud-Est, le niébé s'est diffusé dans le monde entier. Il est cultivé et consommé extensivement en Asie, en Amérique du Sud et du Centre, dans les caraïbes, aux Etats Unis, dans le moyen orient et en Europe australe.

Les projections de l'offre et de la demande en niébé indiquent que l'offre mondiale de niébé atteindra un niveau estimatif de 7 millions de tonnes en 2020 et de 8 millions de tonnes en 2030, par rapport à une demande mondiale projetée de 9 millions de tonnes en 2020 et de 11 millions de tonnes en 2030, rapportent Sanginga et Bergvinson (2015).

L'Afrique subsaharienne représente environ 95 % de la production mondiale, 80 % de la part de l'Afrique étant produite en Afrique de l'Ouest. Avec une part estimée à 50 % de la production mondiale de niébé, le Nigeria est le plus grand producteur (et consommateur) du monde de niébé, suivi par le Niger et le Burkina-Faso (Sanginga et Bergvinson, 2015). Sa culture est marquée par l'instabilité de ses rendements et sa faible production liée à la pauvreté des sols, à la faiblesse de la pluviométrie et aux contraintes parasitaires (Haro *et al.*, 2012). Les sols dans la majeure partie de l'Afrique subsaharienne ont une fertilité fondamentalement faible et les éléments nutritifs exportés ne sont pas remplacés de manière adéquate. (FAO, 2003). En effet, le coût des engrais, a considérablement augmenté et continuera de croître, mais l'utilisation excessive d'engrais a un impact sur la qualité du sol; l'eau et l'environnement (Hisamuddin *et al.*, 2015).

L'Afrique présente le plus faible taux d'utilisation des engrais minéraux avec en moyenne 10kg ha<sup>-1</sup> de fertilisants (Autfray *et al.*, 2012 ; Hamidou, 2014). Ces conditions entraînent des difficultés de maintien de la productivité, d'autant que la plupart des paysans ne disposent pas des moyens nécessaires à l'utilisation d'engrais minéraux (De Rouw, 1998).

La croissance démographique augmente la pression sur les terres cultivables et demeure un défi en zone sahélienne. D'autant plus que les dix pays du Sahel connaissent depuis plusieurs décennies des taux annuels d'accroissement naturel particulièrement élevés. (May *et al.*, 2014).

Pour améliorer cette situation, la croissance agricole doit passer par une augmentation de la productivité des sols, plutôt que par l'extension spatiale de la superficie cultivée et la mise en culture de terres marginales (Dutordoir, 2006). Il est donc nécessaire de créer une technologie à faible coût pouvant améliorer la fertilité du sol et le rendement des cultures (Saidou, 2015).

Au Niger, les principales contraintes sont entre autres, les insectes ravageurs et les maladies (Germaine *et al.*, 2001) ; la faible teneur des sols en éléments nutritifs (phosphore) et le manque de moyens financiers des paysans pour payer les engrais minéraux (Kiariet *et al.*, 2015).

Les légumineuses sont généralement à racines grossières et donc inefficaces dans l'extraction du phosphore du sol. Les champignons CMA ((Vesicular arbuscular mycorrhizal) associés aux légumineuses sont un maillon essentiel pour une nutrition adéquate du phosphore, ce qui entraîne une activité renforcée de la nitrogénase qui, à son tour, favorise la croissance des racines et des mycorhizes (Varma et Kharkwal, 2009).

Ces organismes représentent un groupe fonctionnel clé à l'interface entre la plante et le sol, contribuant à la productivité et à la durabilité des agro-écosystèmes (Nyssens, 2012). Surtout que de nos jours il y'a une forte demande de réduction de la dépendance des engrais chimiques pour une agriculture durable (Fortin *et al.*, 2011). Cette demande de réduction des problèmes environnementaux associés à l'excès d'utilisation des pesticides, a incité la recherche sur la réduction ou l'élimination des pesticides. (Hisamuddin *et al.*, 2015). Malgré ce rôle important que jouent les mycorhizes dans la production, peu d'importance leur est accordé au Niger (Haougui *et al.*, 2013).

La plupart des travaux ont utilisé des souches exotiques. Alors que des études ont montré que les résultats positifs observés, peuvent être expliqués par des interactions positives avec des champignons indigènes (Francis *et al.*, 2015). Selon Diatta *et al.*(2013), les souches de champignons mycorhiziens indigènes sont aussi efficaces que des souches sélectionnées.

C'est dans ce cadre que s'inscrit cette étude qui porte sur la mise au point d'un engrais biologique lié à l'association symbiotique mycorhizienne, pour augmenter les rendements de niébé.

Il a pour objectif général d'évaluer les interactions possibles entre source de l'inoculum et génotype du niébé. Il s'agit spécifiquement de:

- Identifier l'effet des inoculums composites sur les paramètres de croissance et du développement du niébé ;
- Identifier les interactions possibles entre source d'inoculum et génotype du niébé ;
- Et d'Etudier les interactions entre souches indigènes et génotypes d'origines diverses.

Pour atteindre ces objectifs nous posons nos questions de recherche comme suit :

*Question de Recherche 1:* Quels sont les effets des inoculants composites sur la croissance et le développement du niébé?

*Question de Recherche 2:* existe-t-elles des interactions entre génotypes du niébé et source d'inoculant?

*Question de Recherche 3:* Quelles sont les limites des interactions des souches indigènes de mycorhizes sur les génotypes d'origines diverses?

Dans cette étude, nous cherchons à vérifier les hypothèses suivantes:

*Hypothèse 1:* Les inoculants composite ont des effets des mycorhizes sur la croissance et le développement du niébé.

*Hypothèse 2:* Il existe des interactions entre génotypes du niébé et source d'inoculum.

*Hypothèse 3:* Les souches indigènes de mycorhizes ont des effets bénéfiques sur les variétés de niébé utilisées.

Ainsi, le présent document s'articule autour de 4 chapitres:

- Chapitre 1: la revue bibliographique sur l'état de connaissance de la mycorhization du niébé;
- Chapitre 2: la méthodologie utilisée;
- Chapitre 3: Présentation des résultats;
- Chapitre 4: la discussion des Résultats.

## **Chapitre I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

### **1.1 Généralités sur le Niébé**

Le niébé est un aliment de base apprécié en Afrique car ses feuilles, ses gousses vertes et ses graines sèches sont consommées et commercialisées. Certaines variétés à cycle court, mûrissent tôt, ce qui permet de disposer d'un aliment de bonne qualité pendant les périodes de «soudure». La graine sèche est aussi communément moulue et consommée dans plusieurs plats traditionnels Africains, comme la bouillie, le pain, l'aliment de sevrage pour enfants ou encore transformée en beignets (FAO, 2016).

Les variétés de niébé n'ont pas toutes les mêmes modes de croissance (tableau 1). Les variétés dressées ou légèrement inclinées, avec une période de croissance courte (<100jours), sont principalement cultivées pour leurs graines. Les variétés légèrement inclinées et les variétés grimpantes durent plus longtemps (>120jours) et sont principalement cultivées pour le fourrage. À maturité, les feuilles sèchent, mais ne se détachent pas complètement.

**Tableau1:** Caractéristiques des principales variétés de niébé utilisées au Niger.

Nom	Obtenteur	Date	Mainteneur	Cycle semis-maturité	Type de floraison	Port des plantes	Couleur des graines	Rendement potentiel	Rendement Moyen	Caractéristiques
IT 97K499-38	IITA	1997	INRAN, IITA (Nigeria)	60-65 jours	groupé	semi-érigé	blanche	2T/ha	1T/ha	Résistante au striga, résistante à la sécheresse, sensible au puceron, punaise, punaise des gousses et bruches (250-600 mm)
TN5-78	INRAN	1978	INRAN (Niger)	75 jours	étalé	semi-rampant	brune	2,5 T/ha	1,5 T/ha	Résistante au chancre bactérien, à la fonte des semis, à la pourriture des gousses et à la septoriose, tolérante au striga et à la sécheresse, sensible puceron, thrips, punaise ; bonne production de fourrage
KVX 30-309-6G	INERA	-	INRAN, INERA (Burkina Faso)	75 jours	étalé	semi-rampant	blanche	2 T/ha	1 T/ha	Résistante à la tache brune et au chancre bactérien sensible à la cercosporiose, à la septoriose et aux viroses, sensible au puceron, aux thrips et bruches, sensible au striga, tolérante à la sécheresse ; bonne production de fanes ; adaptée à la culture associée (300-800 mm)

Sources: INRAN, 2012.

### **1.1.1 Biologie et mode de reproduction**

Le niébé est une légumineuse herbacée tropicale. Le gel lui est fatal et une température d'au moins 8 à 11°C est nécessaire à tous les stades de son développement; la température optimale se situe autour de 28°C. La germination du niébé est épigée. Les réserves contenues dans les cotylédons, qui vont perdre tout leur poids avant de tomber, assurent une croissance vigoureuse à la plantule. La racine pivotante est en général bien développée, ce qui permet au niébé de suivre la descente des nappes d'eau en culture de décrue. Les racines portent des nodules qui renferment des bactéries fixatrices d'azote. La fixation de l'azote atmosphérique est considérée comme satisfaisante. Les 2 premières feuilles sont opposées, sessiles et entières. Les feuilles sont ensuite alternes, pétiolées et trifoliolées. Outre une feuille, chaque nœud de la tige porte deux stipules prolongées sous l'insertion. Ce qui caractérise *V. unguiculata* et 3 bourgeons axillaires capables de donner une tige latérale ou une inflorescence, même si un seul se développe, en général (Pasquet et Baudoin, 1997).

## **1.2 Généralités sur les Mycorhizes**

### **1.2.1 Historique des mycorhizes**

Il y a de cela environ 400 millions d'années, les premières plantes quittaient les milieux aquatiques pour venir coloniser la terre ferme. Mais les plantes ont eu besoin d'alliés pour réussir ce tour de force et parmi ceux-ci, il y a eu des champignons. C'est grâce à leur association avec certains champignons que les plantes ont réussi à survivre dans des milieux offrant peu d'humidité et de nutriments. Cette association, ou symbiose, se nomme mycorhize (Dechamplain *et al.*, 2002).

Le mot « mycorhize » est d'origine grecque et il traduit la collaboration entre un champignon (myco) et les racines (rhize) d'une plante. Cette collaboration est en fait une symbiose, car elle résulte d'un commun accord entre les deux organismes. Elle repose sur le fait que les deux partenaires tirent des avantages de cette liaison. Le champignon tire des sucres de la plante alors que la plante reçoit des minéraux et de l'eau du champignon. D'ailleurs, sans cette association, le champignon mycorhizien ne peut compléter son cycle vital. (Dechamplain *et al.*, 2002).

### 1.2.2 Importance écologique de la mycorhization

Les mycorhizes sont à l'origine des écosystèmes les plus complexes, et en particulier dans les forêts et notamment les forêts tropicales qui vivent et évoluent souvent sur des sols ingrats. Leurs mycéliums forment des réseaux interconnectés qui influencent le fonctionnement des écosystèmes en permettant ou augmentant des flux importants de carbone organique et de minéraux (azote, phosphore, eau...) via le sol (en moyenne 30 à 40 % des minéraux captés par les marges du réseau mycélien sont rétrocédés à la racine, cette dernière apportant 30 % des glucides photosynthétisés au champignon. Ils constituent un des éléments les plus dynamiques de la symbiose mycorhizienne. Ces transferts sont si efficaces, qu'ils remettent en cause le concept de spéciation par compétition pour les nutriments entre les plantes d'un écosystème, en particulier pour la capture des phosphates par les racines (ils permettent de se passer des fertilisants phosphatés) ou pour la résistance à la sécheresse. Ils sont pourtant encore peu exploités en horticulture, agriculture et foresterie, ou pour la dépollution de certains sols pollués (Anonyme, 2016).

### 1.2.3 Mycorhizes et Plantes

Selon Strulluet *al.*(1991), les mycorhizes modifient la physiologie de la plante et sont impliquées dans le cycle complet de sa croissance et de son développement. Cependant, la présence des microorganismes symbiotiques dans le sol est souvent bénéfique pour la culture. Parmi ceux-ci, les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) sont particulièrement efficaces pour stimuler la croissance des plantes tel que rapporté par Diatta *et al.*(2013). En effet, La création des conditions favorables à la symbiose mycorhizienne, pourrait donc constituer une alternative possible aux travaux de sélection visant à accroître l'efficacité des cultures à travers une meilleure disponibilité en éléments nutritifs (Sieverding, 1991).

### 1.2.4 Classification des Mycorhizes

On distingue 3 classes, 5 ordres, 14 familles et 29 genres de mycorhizes pour environ 230 espèces. Le tableau ci-dessous, place les 29 genres admis en 2011, dans les familles et ordres respectifs (tableau 2).

**Tableau2:** Classification des mycorhizes.

ORDRES	FAMILLES	GENRES
<b>Archaeosporales</b>	<b>Archaeosporaceae</b>	<i>Archaeospora, Intraspora</i>
	<b>Geosiphonaceae</b>	<i>Geosiphon</i>
	<b>Ambisporaceae</b>	<i>Ambispora (= Appendicispora)</i>
<b>Diversisporales</b>	<b>Acaulosporaceae</b>	<i>Acaulospora, Kuklospora</i>
	<b>Diversisporaceae</b>	<i>Diversispora, Tricispora, Otopora, Redeckera</i>
	<b>Sacculosporaceae</b>	<i>Sacculospora</i>
	<b>Pacisporaceae</b>	<i>Pacispora</i>
<b>Gigasporales</b>	<b>Gigasporaceae</b>	<i>Gigaspora</i>
	<b>Dentiscutataceae</b>	<i>Dentiscuta, Quatunica, Fuscitata</i>
	<b>Racocetraceae</b>	<i>Racocetra, Cetraspora</i>
	<b>Scutellosporaceae</b>	<i>Scutellospora, Orbispora</i>
<b>Glomerales</b>	<b>Glomeraceae</b>	<i>Glomus, Septoglomus, Funelliformis, Simiglomus</i>
	<b>Entrophosporaceae (= Claroideoglomeraceae)</b>	<i>Claroideoglomus, Viscospora, Entrophospora, Albahypha</i>
<b>Paraglomerales</b>	<b>Paraglomeraceae</b>	<i>Paraglomus</i>

Source: Gavériaux *et al.* (2012)

### 1.2.5 Mycorhizes et Niébé

Des progrès considérables ont été accomplis dans le domaine de la technologie mycorhizienne. Il a été démontré et prouvé que les mycorhizes ont un grand potentiel d'amélioration de la productivité des céréales, des cultures fruitiers (Hisamuddin *et al.*, 2015). Ces organismes ubiquistes peuvent représenter 5 à 50% de la biomasse microbienne du sol (Fortin *et al.*, 2008).

Le niébé a l'avantage de développer la double symbiose rhizobienne et mycorhizienne. Plusieurs travaux ont mis en évidence leurs effets sur l'augmentation de la hauteur des plantes (Haro *et al.*, 2015); de l'accroissement du rendement en grains de 92,01% (Francis *et al.*, 2015) et de 72% du rendement en gousse et en graine (Aboubacar *et al.*, 2013).

La mycorhization facilite l'accumulation du phosphore nécessaire à la plante. Ils interviennent aussi dans l'absorption et le transfert d'autres éléments minéraux (Kugler, 1986) ; dans leur protection contre des organismes pathogènes et dans leur résistance aux stress environnementaux (Fortin *et al.*, 2008).

### 1.2.6 Anatomie des champignons Mycorhiziens arbusculaires (CMA)

L'anatomie des CMA est adaptée aux 2 milieux totalement différents dans lesquels ils se développent (figure 1): la racine (phase intraracinaire) et le sol (phase extra racinaire).

➤ *Phase intraracinaire :*

Hyphes intra-racinaires : Ils se développent dans les espaces inter ou intracellulaires du cortex racinaire en s'éloignant progressivement du point d'infection. Ils jouent un rôle dans le transport et l'échange de nutriments.

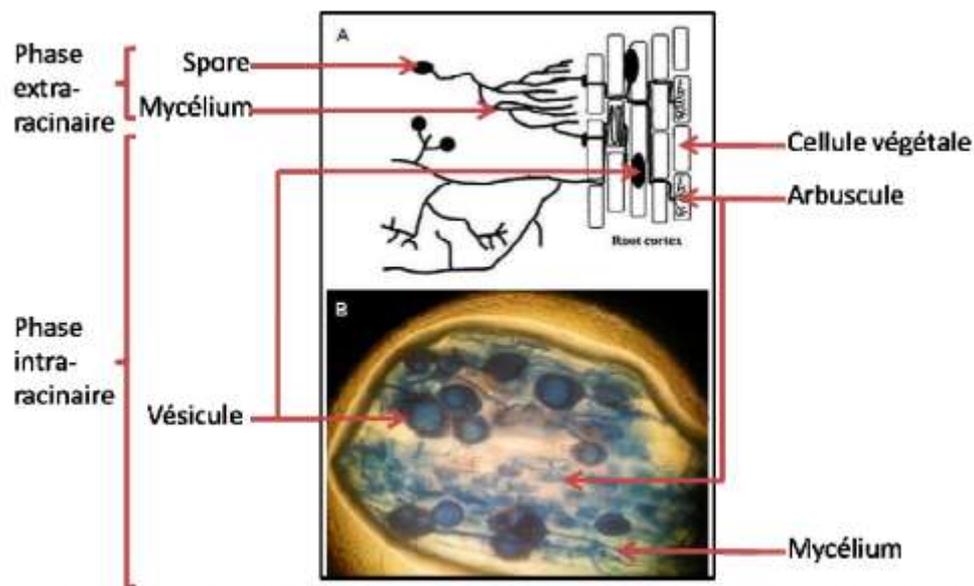
Arbuscules : Structure impliquée dans les échanges bidirectionnels entre le symbiote fongique et la plante-hôte. Ils se développent dans l'espace intracellulaire, mais à l'extérieur de la membrane cellulaire avec laquelle ils forment des invaginations (figure 1).

➤ *Phase -Hyphes extracellulaires :*

Hyphes extracellulaires, en formant un réseau, ils forment un continuum entre le système racinaire et le sol.

Spores: structures de reproduction intra ou extra racinaires, la diversité morphologique leur permet d'être utilisées dans la caractérisation taxonomique.

Appressorium: Epaissement hyphal survenant à la surface de l'épiderme racinaire permettant l'adhésion du mycélium et facilitant ainsi la pénétration dans la racine lors de l'infection.



Source: Nyssens(2012)

**Figure 1:** Schéma de l'Anatomie des mycorhizes.

## **1.2.6 Production des inocula mycorhiziens arbusculaires**

### **1.2.6.1 Types de propagules**

Les champignons mycorhiziens arbusculaires se propagent par les spores, les vésicules et les fragments racinaires colonisés; Les spores se trouvent chez la totalité des espèces de gloméromycètes, rattachées à la phase mycélienne qui se développe dans le substrat, souvent à bonne distance des racines. Chez certaines espèces, les spores se forment en grappes ou encore en sporocarpes (regroupement serré de spores). Chez la plupart des gloméromycètes (à l'exception des gigasporacées), les vésicules différenciées à l'intérieur du cortex de la racine constituent également des propagules de choix. Lorsque la racine meurt, ces vésicules se comportent comme des spores, germent et propagent l'espèce.

Dans le genre *Glomus*, les spores atteignent des dimensions importantes (environ 50 – 300µ), comparées aux dimensions des autres spores fongiques. Chez les genres *Gigaspora* et *scutellospora*, les spores extramatriciales peuvent atteindre jusqu'à 500 -600µm, donc visible à l'œil nu. Les espèces du genre *Glomus*, présentent plusieurs avantages pour la production et l'utilisation des mycorhizes arbusculaires. Généralement prolifiques et relativement faciles à cultiver aseptiquement sur des racines isolées, ces espèces se prêtent bien à une multiplication par bouturage des racines colonisées. Bien que des espèces de *Gigaspora*, *Scutellospora*, *Acaulospora* et *Entrobospora* soient capables de croître et de se multiplier sur cultures des racines, leur bouturage demeure impossible, de sorte qu'il faut repartir à la spore, d'une génération à l'autre. De plus, chez ces derniers genres, le nombre de spores produites en culture reste limité. En conséquence, la production industrielle des inoculants de ces divers genres nécessitent des approches différentes (Fortin *et al.*, 2015).

### **1.2.6.2 Production des inocula**

La production d'inoculum est l'épineux problème qui s'est posé. Depuis longtemps, on ne disposait pas de méthodes de production végétative du champignon pour produire l'inoculum en quantité et en qualité s. Les Endogonacées sont des symbiotes obligatoires qui doivent être toujours associées à une plante hôte. La seule méthode utilisée consistait à cultiver le champignon en présence d'une plante-hôte et à découper finement les racines de la plante. Les fragments des racines obtenus sont ensuite mélangés au support de culture et servent d'inoculum (Salawu, 2009).

La technique de culture en pots est la plus ancienne et la plus simple. Cette technique est d'ailleurs toujours employée lorsqu'il s'agit d'isoler une nouvelle espèce ou une nouvelle souche d'une espèce donnée.

### **1.2.7 Physiologie des mycorhizes**

Indépendamment du type de mycorhizes, on connaît généralement 7 catégories de fonctions qui sont modifiées par la présence des mycorhizes. Ce sont:

- l'absorption des éléments minéraux;
- l'absorption de l'eau;
- les activités hormonales;
- l'agrégation des sols;
- la protection contre les organismes pathogènes;
- la résistance aux stress environnementaux;
- ainsi que des profondes modifications de la composition biochimique.

### **1.2.8 Absorption des éléments minéraux**

Les mycorhizes favorisent l'absorption par les racines des éléments nutritifs (Egli *et al.*, 2002). Notamment l'absorption des éléments peu mobiles du sol, comme le phosphore et le Zinc. Cette efficacité accrue des plantes mycorhizées, à absorber les éléments nutritifs du sol vient d'abord de l'augmentation de la surface de contact entre le mycélium fongique et la solution du sol. Pour les éléments mobiles, tels que le potassium ou l'azote, sont assimilables pour les racines. Mais dans le cas du phosphore et du Zinc, ces éléments se fixent également à d'autres substances, ce qui les prive de leur mobilité; la racine doit alors aller au-devant de ces éléments minéraux en développant un système racinaire de plus en plus importants (Fortin *et al.*, 2015).

### **1.2.9 Autres fonctions des mycorhizes**

Les mycorhizes améliorent la protection de la plante contre des effets toxiques des polluants. Par ailleurs, les plantes mycorhizées tolèrent mieux les facteurs stressants d'ordre abiotique et biotique. Le champignon synthétise des antibiotiques, induit la formation du tanin et favorise la flore microbienne dans le manteau fongique, ce qui augmente le pouvoir défensif des plantes contre les pathogènes contenus dans le sol. Enfin, les substances stimulantes formées par les champignons mycorhiziens (par exemple: auxine, gibbérelline, cytokynine) favorisent la croissance des plantes (Egli *et al.*, 2002).

### **1.3 Identification et Comptage des mycorhizes**

Pour la caractérisation des mycorhizes, il est important de considérer la forme; la couleur; la présence de cystides ou de spinules; le mycélium présent sur la surface et le dessin formé par les parois des cellules extérieures du manteau fongique.

L'identification de l'espèce fongique à travers l'examen des caractéristiques anatomomorphologiques des mycorhizes est possible même si elle présente des difficultés. Aussi dans les limites d'un même genre, il existe des caractéristiques qui permettent la détermination de l'espèce (Meotto, 1996). Diverses méthodes ont été utilisées pour l'extraction et l'énumération des spores. La méthode d'extraction la plus courante pour récupérer des spores a été un système de tamisage humide à travers une colonne de tamis à diamètres de mailles décroissants (Smith et Skipper, 1979).

La procédure la plus simple et efficace est de suspendre le sol et les racines dans l'eau durant 10 à 20 secondes pour la sédimentation des sables grossiers (Sieverding, 1991).

#### **1.3.1 Différentes méthodes d'extraction des spores**

Selon Amutha et Shamini (2014), il existe plusieurs méthodes d'extraction des spores :

Le tamisage Humide et Décantation; la technique de Saccharose et Centrifugation; la méthode de Nouvelle Plaque; la technique d'Adhésion-Flottation et la méthode capillaire (utilisant le tube capillaire).

### **1.4 Protocole d'extraction et comptage des spores**

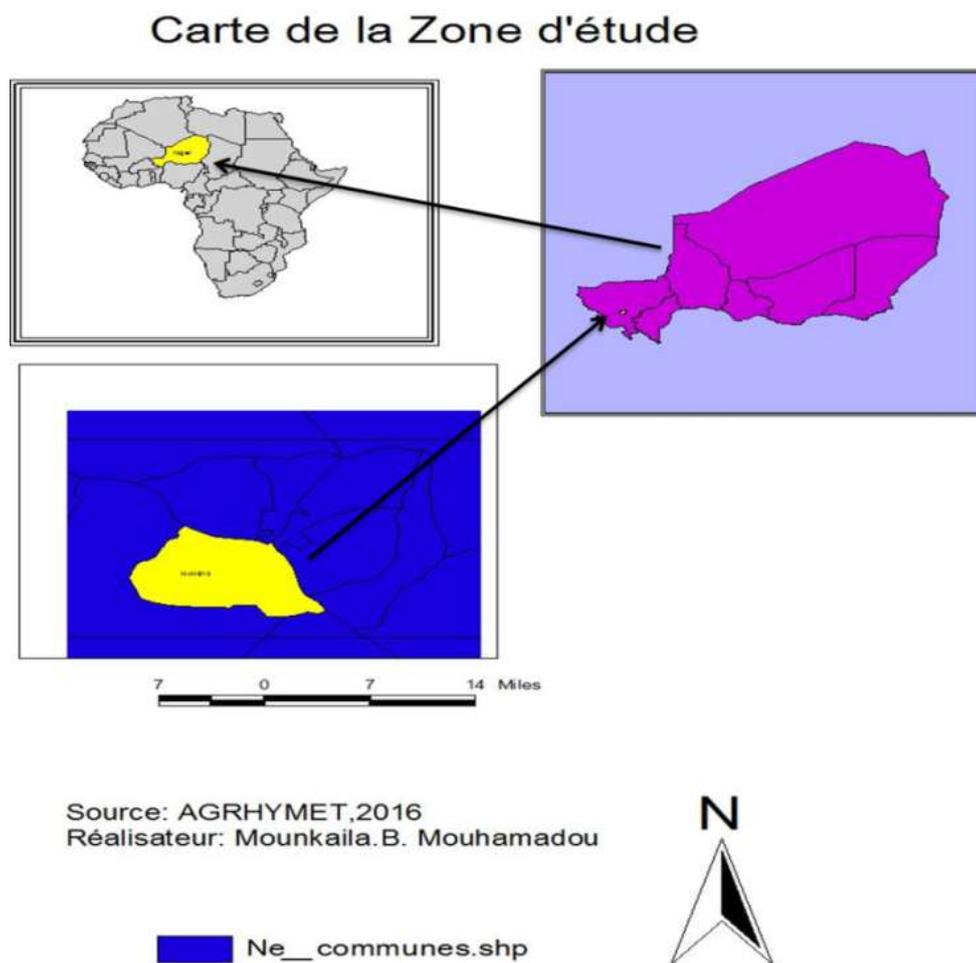
- A partir de chaque échantillon de sol, prélever 10g et les mettre dans un bécher auquel on a ajouté de l'eau;
- Agiter vigoureusement le tout;
- Filtrer la solution ainsi obtenue à travers une série de tamis (250; 75 et 50 $\mu$ m) sous un jet d'eau;
- centrifuger pendant 10 min à 2000 rpm (tours par minute) le contenu des 2 derniers tamis et verser dans des tubes à centrifugation;
- éliminer le surnageant puis remplacer par une solution de saccharose à 70% (w : v);
- réaliser à nouveau la centrifugation (2000 rpm, 10 min);

- filtrer le surnageant à travers un tamis (50 $\mu$ m) afin de récupérer les spores;
- laver ensuite les spores à l'eau, et les mettre dans des boîtes de Pétri avant d'être observées au microscope ( $\times 100$ );
- classer selon leur taille et leur couleur.

## Chapitre II. MATERIEL ET METHODES

### 2.1 Présentation de la zone d'étude

Le présent travail a été réalisé sur le site expérimental du Département de Radio-Agronomie et des Biotechnologies végétales de l'Institut des Radio-Isotopes(IRI): Université Abdou Moumouni de Niamey. Il est situé dans le cinquième arrondissement de Niamey (sur la rive droite du fleuve Niger), précisément sur le campus universitaire à 13°30'17.89'' de latitude Nord et 2°05'04.41'' de longitude Est (figure 2).



**Figure 2:** Carte de la situation géographique du site Expérimental.

## 2.2 Matériel

Le matériel est constitué du matériel végétal et le matériel physique.

### 2.2.1 Matériel végétal

Le matériel végétal est composé des géotypes de niébé et des champignons mycorhiziens.

#### *Le niébé:*

Les 3 variétés de niébé utilisées sont: V1:TN5-78; V2:KVBX30-309-6G et V3: IT97K 499-35; respectivement du Niger; du Burkina Faso et du Nigeria. Les semences ont été collectées localement auprès de l'entreprises semencière « HUSA'A ». Un test de germination *in vitro* a été fait pour les 3 variétés à fin de connaître leur pouvoir germinatif avant l'installation de l'essai.

#### ➤ *Les champignons mycorhiziens:*

Les champignons mycorhiziens sont initialement issus des sols rhizosphériques prélevés dans une parcelle de tomate à la rive droite de Niamey. Ensuite ils ont été multipliés en masse dans des pots de culture, à partir du voandzou ; la tomate et le niébé.

### 2.2.2 Matériel technique

Le matériel physique est constitué des matériels de laboratoire et des matériels de culture en pots. Ce sont entre autres:

- des pots de culture la culture du niébé;
- des petits matériels (pinces; ciseaux; béciers; boîte de Pétri; seringues; tubes; aiguilles...*etc*) pour l'extraction et le comptage des spores;
- des gros matériels (autoclave; centrifugeuse; balance de précision; loupe binoculaire) pour la stérilisation ; la centrifugation ; la pesé et l'observation des spores.

## 2.3 Méthodes

### 2.3.1 Multiplication en masse de l'inoculum des Mycorhizes

Les Mycorhizes ont été produits à partir d'une culture en pot du niébé (*Vigna unguiculata subsp. unguiculata*(L.) Walp); de la tomate (*Solanum lycopersicum* descripteur) et du voandzou (*Vigna subterranea* descripteur).

L'inoculum composé du sol et des racines infestées a été mélangé avec du sol utilisé pour remplir au total 20 pots de 350 CC. Chaque pot contenait 330g de sol et était ensemencé avec une graine des 3 espèces. Après 50 jours de cultures, le sol et les racines ont été séchés et broyés. Ce substrat composé de sol et de racine a été récupéré en vue de l'extraction et la quantification des spores présentes. Pour chaque espèce de plante, 3 échantillons ont été prélevés pour l'évaluation de la densité de l'inoculum.

### **2.3.2 Identification et quantification du substrat**

L'identification des spores requiert leur isolement du sol. Deux méthodes ont été utilisées pour l'extraction des spores.

#### **2.3.2.1 Première Méthode d'extraction des spores**

Le protocole d'extraction suivi s'appuie sur les travaux de Gerdemann et Nicolson(1963) rapporté par Amutha et Shamini(2014). La première étape consiste à peser 10g de du substrat constitué par le sol; les spores et les racines mycorhizées. On ajoute 100 ml de l'eau suivi d'une agitation vigoureuse pendant environ 2 min dans un récipient propre.

Puis on le fait passer sous un jet d'eau à travers une colonne de 3 tamis (180; 100 et 45 $\mu$ m de maille). Le contenu du dernier tamis (45 $\mu$ m) est rincé et est récupéré dans un tube centrifuge d'en raison 25 ml. Une solution de saccharose à 70 % (w : v) est ajouté délicatement au fond du tube à l'aide d'une aiguille et d'une seringue. Deux phases se font observées: la solution aqueuse en haut et la solution de saccharose en bas du tube. La solution est ensuite passée à une centrifugation de 3200 rpm pendant 10 min. Après centrifugation, il se forme un ménisque entre les 2 solutions, qui contiendraient les spores des mycorhizes. Cette ménisque est prélevé à l'aide de l'aiguille d'une seringue et est récupérée dans une boîte de Petri en vue de son observation au microscope.

#### *➤ Comptage des Spores*

Le contenu de la Boîte de Petrie est récupéré sur une cellule de comptage quadrillée qui a été placée sous une loupe binoculaire. Les spores ont été observées au grossissement (x40) et seules celles visiblement viables à contenu cytoplasmique visible sont prises en compte. La densité des spores a été alors déterminée pour chaque échantillon. Elle se définit comme le nombre des spores pour 100g d'inoculum.

### 2.3.2.2 Deuxième Méthode d'extraction des spores

Cette méthode, se distingue de la première par l'absence de la centrifugation. Cent grammes de l'inoculum composé de sable; des spores et des racines sont pesés, puis agité dans 3L d'eau. Ce mélange est tamisé à travers une colonne de 4 tamis des mailles décroissantes 630; 315;160;125et 63 $\mu$ m (photos 1; 2; 3 et 4). Ce qui constitue le premier lavage dont les contenus des tamis sont rincés séparément. Les contenus des tamis (63; 125; 160 et 315 $\mu$ m) ont été rincés rigoureusement en évitant que les grains de sable soient dans les surnageant. Ces derniers sont récupérés dans une même boîte de Pétrie. Et celui de la plus petite maille (63 $\mu$ m) est récupéré dans une deuxième boîte.

Le deuxième lavage de l'inoculum s'est fait de la même façon en tenant compte des mailles des tamis et du niveau de lavage. Pour chaque échantillon, il y'a donc 4 boîtes dont les volumes des surnageant, ne sont pas forcément les mêmes. La différence entre les processus des 2 méthodes se présente comme récapitulé dans le tableau 3.

**Tableau3:** Récapitulatif des deux méthodes d'extraction des spores:

Méthode	Tamisage	Nombre des lavages	Centrifugation	Intervalles de mailles des tamis ( $\mu$ m)	
				Plus Petite maille	Plus grande maille
1	humide	1	oui	45*	180
2	humide	2	non	63	630

*\* seules les spores retenues par ce tamis ont été extraites et comptées*



**Photo 1 :** Pesage de l'échantillon sur une balance



**Photo 2 :** Tamisage humide sur une colonne de tamis



**Photo 3 :** Récupération dur surnageant dans une boîte de Petrie



**Photo 4 :** Comptage à la loupe binoculaire

### ➤ *Dénombrement des Spores*

Le comptage des spores a été fait sur un échantillon représentatif du surnageant. En effet, un millilitre de chaque surnageant a été prélevé à l'aide d'une seringue et déposé dans une cellule de comptage quadrillée. Le dénombrement a été fait sous loupe binoculaire et le nombre des spores contenues dans un millilitre est rapporté au volume total du surnageant.

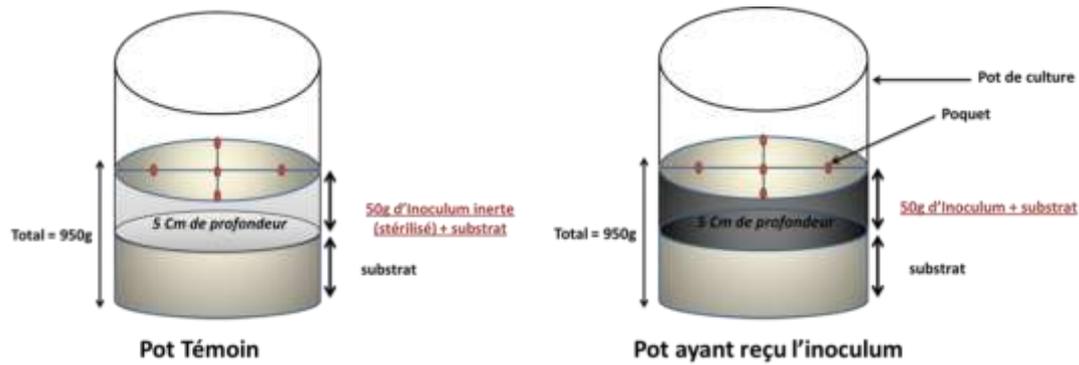
La somme des spores des 2 lots de mailles et des 2 lavages, constitue le nombre des spores pour 100g de l'inoculum.

### **2.3.3 Préparation du substrat de culture des variétés de niébé**

Le Substrat est constitué du sable prélevé sur le site de l'Institut des Radio-Isotopes. Il est tamisé à des mailles de 2 mm de diamètre; pesé et conditionné dans des sachets autoclavables en raison de 900g. La stérilisation est faite de façon groupée à 121°C. Ils sont ensuite transférés dans des pots (1 L de volume). Ces derniers sont préalablement trempés pendant 30 min et lavés dans une solution d'hypochlorite de sodium à une concentration de 3°.

### **2.3.4 Préparation de l'Inoculation**

L'inoculant est composé du sable; des spores et des racines. La quantité d'inoculum est proportionnelle à la quantité du substrat. Le choix de la quantité (50g) d'inoculum est basé sur les travaux de synthèse de Strullu (1991), qui a montré que la proportion de l'inoculum composite va de 5 à 10% du substrat. L'inoculum est pesé en raison de 50g (soit 5,5% du substrat) et est conditionné dans des sachets. Les échantillons prévus pour les témoins (dose 0) sont soumis à la stérilisation à vapeur à 121°C. L'inoculation s'effectue en mélangeant délicatement les 50g avec la partie superficielle du substrat à environ 5 cm de profondeur (figure 3). D'une part les inoculants proprement dits et d'autre part la même quantité d'inoculant sous forme stérilisée (inerte) est ajoutée aux témoins. On distingue alors 2 niveaux de doses d'inoculum: «Inoculum» et le «Témoin» qui est l'inoculum inerte. Ce qui permet d'avoir la même quantité des matières organiques (que pourrait contenir l'inoculum) au niveau des témoins. Dans ces conditions, tout effet constaté pourrait être attribué à l'inoculation.



**Figure 3:** Schéma Illustratif de la méthode d'inoculation.

### 2.3.5 Application de l'inoculum

L'inoculum ainsi pesé (50g), est apporté après refroidissement du substrat stérilisé. L'application s'est faite manuellement et délicatement par pot avec des gants stériles (photos 5 et 6). Il consiste à l'ajouter et à le mélanger de façon homogène dans les 5 premiers centimètres du substrat (photos 1 et 2). Toutes les précautions sont prises pour éviter toute éventuelle contamination. C'est ainsi que l'ordre de l'inoculation a concerné d'abord les témoins puis les traitements. Les 3 différents types d'inoculum, sont apportés successivement l'un après l'autre. Et entre 2 applications, qu'il s'agisse du passage des témoins aux traitements et du passage d'un type d'inoculum à un autre; les mains sont lavées à l'eau de Javel 3° et rincer à l'eau, pour minimiser le risque de contamination inter pots.



**Photo5:** Apport de l'inoculum au pot



**Photo6:** Mélange de l'inoculum au substrat

### **2.3.6 Test de germination des semences**

Le test de germination a été fait en boîte de Petrie (diamètre: 90mm) stérile, sur papier Wathman imbibé d'eau distillée. En raison de 25 graines par boîte, répétée 3 fois. Ces graines sont désinfectées à l'hypochlorite de Sodium 2° pendant 2 min et rincées 3 fois successives à l'eau distillée pendant 5 min chacune. La germination a eu lieu dans un incubateur réfrigéré à 25°C.

### **2.3.7 Conduite de l'essai**

#### ➤ *Le Semis*

Le semis a intervenu au lendemain de l'inoculation. Il est effectué à une profondeur de 2cm en raison de 2 graines. Pour chaque pot 5 trous de semis sont ouverts en raison de 2 graines par trou.

#### ➤ *L'entretien des cultures*

La conduite a été effectuée sans apport des fertilisants minéraux et organiques; ni des traitements phytosanitaires. Un arrosage régulier est effectué, toutes les 48 heures en raison de 150 millilitres d'eau par pot. Un ré-semis a été fait 7 jours après semis.

### **2.3.8 Dispositif expérimental**

Le dispositif expérimental mis en place est un split-plot à 2 facteurs contrôlés: le facteur «*variété*» avec trois niveaux TN5-78 (V1); K VX30-309-6G(V2) et IT97K 499-35 (V3) et le facteur «*type d'inoculum*» avec 4 niveaux: Mycorhize 0 (sans inoculum) Mycorhize 1 (voandzou); Mycorhize 2 (tomate); Mycorhize 3 (niébé); distribués sur 6 répétitions.

### **2.3.9 Paramètres mesurés**

Les mesures et observations ont été réalisées à la levée et en phase de végétation.

#### ➤ *La levée:*

La levée est le stade qui suit la germination. Une plante est levée lorsque son coléoptile est visible à la surface du sol. L'observation de ce paramètre a été effectuée durant la première semaine qui a suivi le semis au 3 JAS et 7 JAS.

➤ *Rendement d'extraction*

Deux méthodes ont été utilisées pour extraire les spores du sol. Les rendements à l'issue de ces méthodes ont été comparées à fin de retenir la meilleure pour la suite de l'essai.

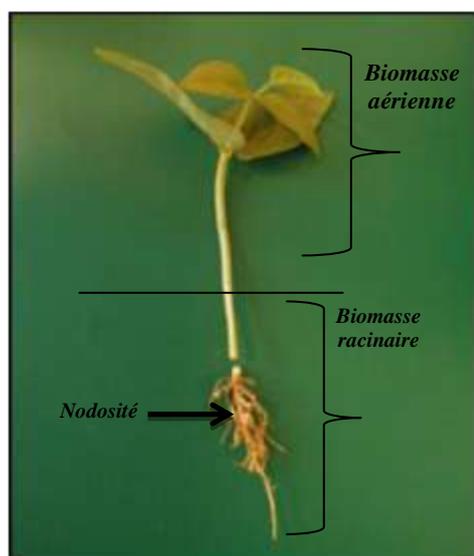
➤ *La biomasse*

Pendant la phase de croissance végétative des plantes, on procédera au prélèvement des plantes sur les pots afin de comparer l'effet de l'inoculation sur la croissance des parties aériennes et souterraines (photo 7);

➤ *La nodulation*

Le nombre et le poids des nodules des plants de niébé ont été observés. La technique consiste à enlever la carotte autour des pieds de niébé à l'aide d'une cuillère qu'on enfonce dans le substrat sur une profondeur de 10 cm (photo 8). Les prélèvements ont commencé à partir du quinzième jour après semis et ont été effectués chaque semaine.

Après le prélèvement, la plantule a été séparée de la motte de terre qui l'entoure. Les racines sont lavées à l'eau distillée. Les biomasses aérienne et souterraine ont été pesées. Ensuite s'en ont suivi le comptage et le poids des nodosités.



**Photo 7:** Illustrative des parties utilisées



**Photo 8:** Illustrative de l'échantillon prélevé

Pour chacun des 3 séries de prélèvement, les racines sont isolées, nettoyées à l'eau distillée et conservées dans une solution de GEE (Glycérine; Ethanol 96° et Eau distillée à proportions égales) dans des tubes à essai; en vue de l'observation de la mycorhization au microscope. Le sol aussi est conservé et séché à température ambiante du laboratoire, pour l'extraction et comptage des spores.

➤ *Potentiel infectieux du sol (PIM)*

Le Potentiel Infectieux Mycorhizogène (PIM) d'un sol représente la diversité et l'abondance des propagules fongiques infectieuses présentes dans ce sol sous forme de spores, de mycélium et de fragments de racines portant des structures mycorhiziennes.

Une série de prélèvements a été faite de façon périodique à fin de procéder au comptage des spores dans le sol et dans les racines (photos 9 et 10). La densité est donc le nombre des spores contenues dans un échantillon de sol prélevé dont le poids est connu d'avance. Ce sol concerne uniquement la partie rhizosphérique des plantules.



**Photo 9:** Sol rhizosphérique prélevé



**Photo 10:** Racines prélevées, lavées et conservées en solution de GEE

➤ *Le Nombre et poids des nodules*

C'est le nombre moyen des nodules (NMN) par plantule et par traitement. Les nodules sont prélevés pour chaque plantule et sont comptés et notés.

C'est le poids moyen entre les nodules d'un même poquet. En effet, tous les nodules issus d'un même poquet ont été comptés et pesés ensemble. Le poids moyen des nodules (PMN) est le rapport entre le poids total des nodules (PTN) sur le nombre moyen des nodules (NMN) d'une même plantule.

La formule de calcul se présente comme-ci:

$$PMN = PTN / NMN$$

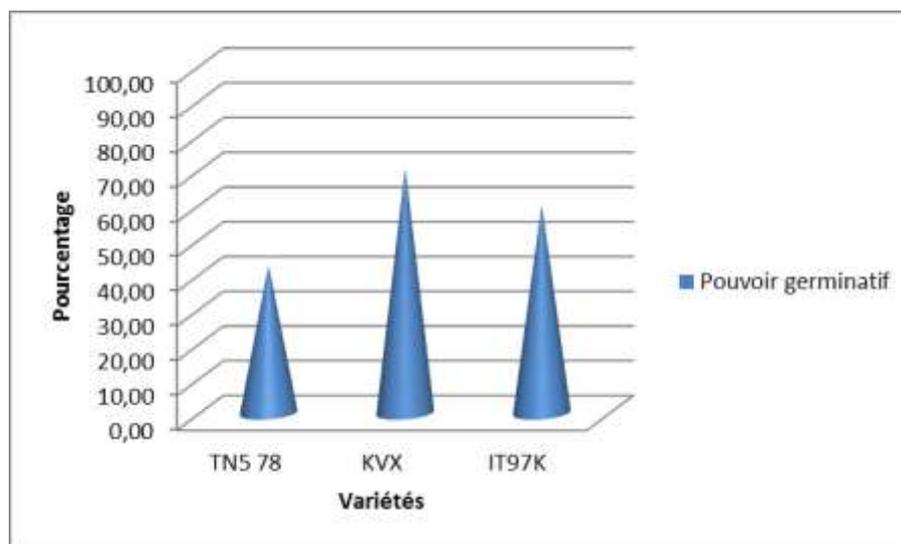
## **2.4 Analyse des données**

Les données ont été analysées par le logiciel GenStat\_12.1.0.3278. On a procédé à l'analyse de la variance. A chaque fois que l'Hypothèse nulle  $H_0$  «d'égalité des moyennes» ait été rejetée, une comparaison des moyennes à l'aide du *test de Newman-Keuls* au seuil de 5% a été réalisée. Dans le cas contraire, l'analyse prend fin et l'on a considéré que les moyennes calculées sont issues d'une même population. Les graphiques ont été réalisés à l'aide du tableur Excel 2010 de Microsoft et la carte de la zone d'étude par le logiciel ArcView3x.

## Chapitre III. PRESENTATION DES RESULTATS

### 3.1 Pouvoir germinatif des semences

Les résultats du test de germination révèlent un taux de germination variant de 42.67 à 70.67%. La V1 a eu le plus faible taux et le plus grand taux a été observé pour V2 (figure 4).



**Figure 4:** Comparaison des taux de germination des variétés au 3 jas.

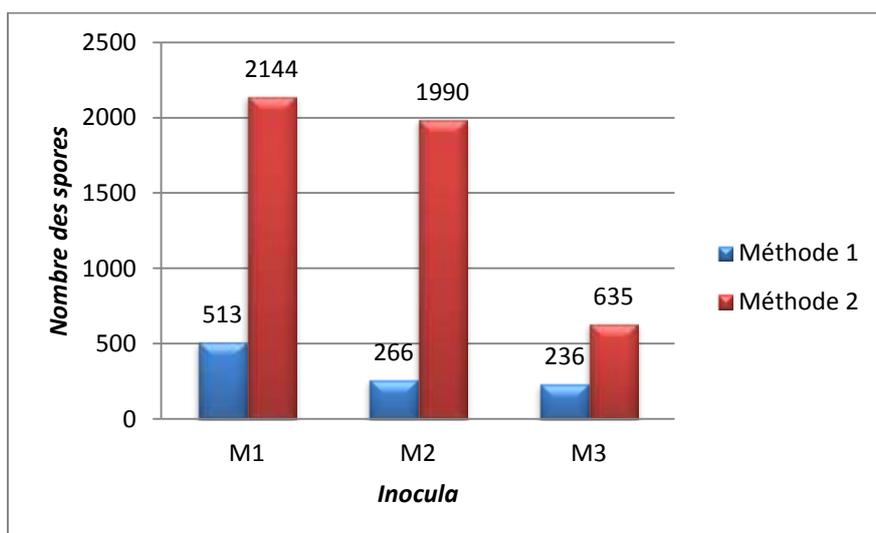
### 3.2 Rendement de l'extraction

Le rendement en nombre des spores diffère en fonction de la méthode utilisée. En effet, la méthode 2, incluant d'une part l'utilisation des tamis de grande maille; la récupération des surnageants de 3 tamis et le double lavage, a permis d'extraire plus de spores. Le rendement de spores a varié de 236 à 513 spores/ 100g de sol pour la méthode 1 et de 635 à 2144 pour la seconde méthode (figure 5).

Il faut noter que pour la première méthode, les inoculants M2 et M3 contiennent relativement la même densité et ont 2 fois moins des spores que le M1.

Dans la deuxième méthode, les densités aux 100g de sol, pour M1 et M2 se sont rapprochés et ont 2 fois plus des spores que le M3.

Pour toutes les méthodes, M1 contient plus de spores, suivi de M2 puis M3.



**Figure 5:** Densité des spores de mycorhize des inocula en fonction de la méthode d'extraction des spores.

### 3.3 Caractéristiques des Spores

Tous les types des spores identifiées ont une forme sphérique et sont au nombre de 4 en fonction de leurs couleurs. Cette diversité a une prédominance des spores noires; suivi des jaunes; puis des marrons; des blanches. Il y'a eu des spores vertes exclusivement chez M2.

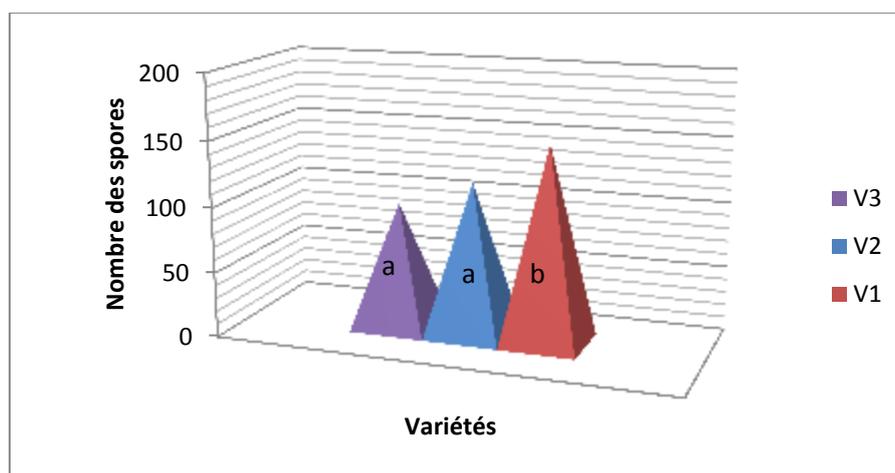
De façon générale, la grande majorité des spores ont des tailles inférieures à 125  $\mu\text{m}$  (Tableau 4). Un taux qui a varié de 84.33 à 88.73% (petite taille) contre 11.27 à 15.67% pour les plus grandes, comprises entre 125 et 630 $\mu\text{m}$ .

**Tableau 4:** classification des spores en fonction de la taille.

Type d'inoculum	Dimensions des mailles de tamis	
	63 à 125 $\mu\text{m}$	125 à 630 $\mu\text{m}$
<i>Inoculum M1(Voandzou)</i>	1807	336
<i>Inoculum M2(Tomate)</i>	1706	284
<i>Inoculum M3 (Niébé)</i>	563	71

### 3.4 Potentiel infectieux du sol par espèce (PIM)

Au 30<sup>ième</sup> jour après semis, la tendance générale de la densité moyenne des spores, a varié selon le génotype de niébé présent dans le pot. La TN5-78, a le plus grand nombre des spores et la IT97K détient la plus petite quantité (figure 6).



**Figure 6:** Densité de spores de mycorhizes dans le sol de la rhizosphère en fonction des variétés de niébé. Les moyennes suivies par la même lettre indiquent que les traitements ne sont pas différents au seuil  $\alpha = 5\%$

### 3.5 Effets de l'inoculation sur le développement du niébé

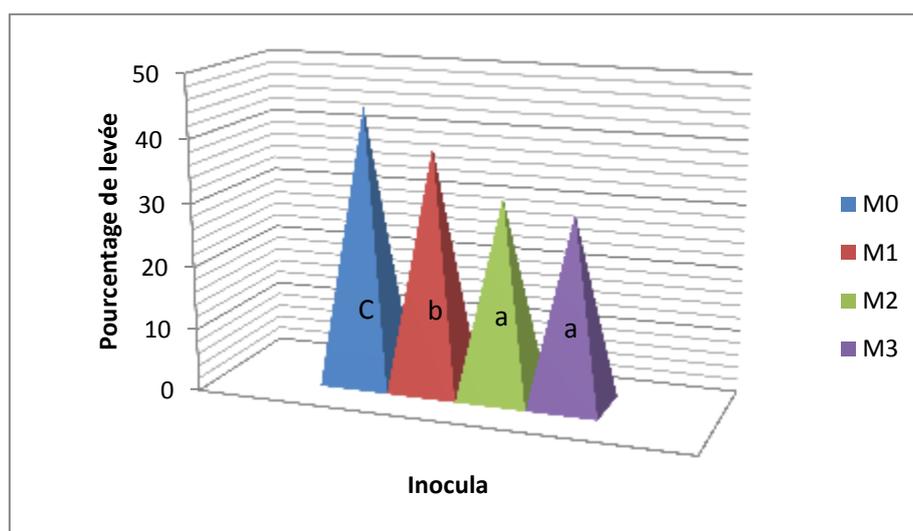
Les résultats de l'analyse de variance des variables étudiées donnent un aperçu général des effets de l'inoculation sur les paramètres observés. C'est ainsi que les paramètres, levée; nombre des feuilles; nombre et poids des nodosités, montrent une différence entre les traitements. Alors que les traitements ont relativement les mêmes résultats pour la biomasse (tableau 5).

**Tableau 5:** Récapitulatif des effets principaux de l'inoculation sur les paramètres observés

Paramètres	JAS	Témoin (dose 0)	Inoculé (dose 1)	Probabilité (au seuil de 5%)
Taux de Levée (%)	3	<b>40.56</b>	<b>28.89</b>	<.001
Nombre des Feuilles	15	<b>3.78</b>	<b>4.38</b>	0.001
Biomasse Aérienne (g)	15	0.837	0.819	0.694
Biomasse Racinaire (g)	15	0.14	0.14	0.879
Nombre des Nodules	15	<b>0</b>	<b>1.63</b>	<.001
Poids des Nodosités (mg)	21	<b>0</b>	<b>47.4</b>	<.001

### 3.5.1 Effets de l'inoculation sur la levée

Les résultats de l'inoculation sur la levée ont montré une variabilité, en fonction des facteurs en présence. L'effet principal est la réduction du taux de levée par l'inoculation (figure 7). Toutefois, les inocula M1 et M2 ont entraîné un taux de levée nettement plus important que l'inoculant M1.



**Figure 7:** Effet principal des inocula sur la levée du niébé. Les moyennes suivies par la même lettre indiquent que les traitements ne sont pas différents au seuil  $\alpha = 5\%$

### 3.5.2 Effet de l'interaction *Variété\*inoculum* sur la levée

L'effet de l'interaction *Variété\*Inoculum* a été hautement significatif ( $P=0,001$ ). La variété V2, en combinaison avec l'inoculant M1 a enregistré le plus haut taux de levée, par contre l'inoculant M2 a inhibé la levée de la V3 dont le taux a été de 15 % Les résultats de la V2, sont relativement égaux pour tous les traitements. Par contre pour la V1 et la V3, les taux des traitements sont inférieurs à ceux des témoins (tableau 6).

**Tableau 6:** Effet de l'interaction *Variété\*Inoculum* sur la levée.

<i>Facteurs</i>	<i>Inocula (%)</i>				
	<i>Variété</i>	<i>M0</i>	<i>M1</i>	<i>M2</i>	<i>M3</i>
V1	45,28f	33,33cde	35,83cde	29,17bc	
V2	42,22ef	46,67f	44,17ef	39,17cdef	
V3	45,00f	35,83cde	15,00a	21,67ab	

Les moyennes suivies par la même lettre indiquent que les traitements ne sont pas différents au seuil  $\alpha = 5\%$



**Photo 11:** Levée normal dans un Pot non inoculé au 3iem JAS 3

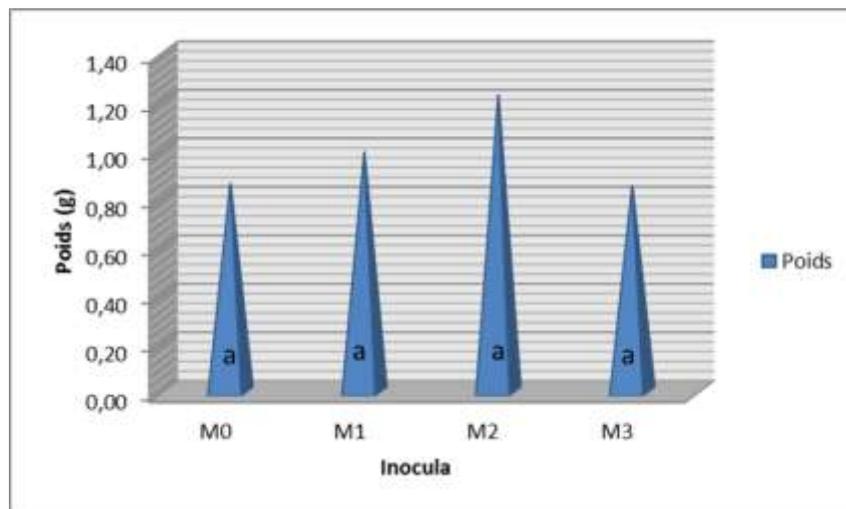


**Photo 12:** Levée retardée dans un Pot inoculé au 3iem JAS 3

### 3.5.3 Effet de l'inoculation sur les Biomasses aérienne (BA) et Racinaire (BR)

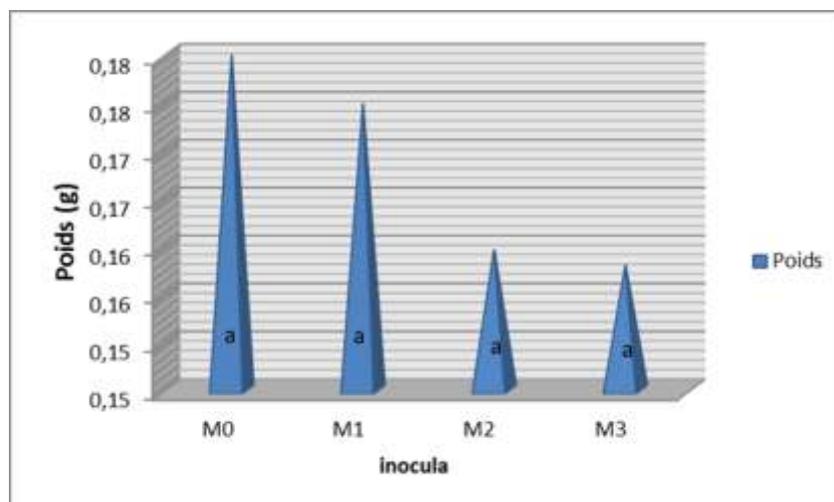
Les résultats de l'analyse de variance sur la biomasse, qu'elle soit totale; aérienne ou racinaire, n'ont pas révélé une interaction entre les facteurs Variétés et Inoculum. L'effet principal Inoculum n'a pas été également significatif ni pour la biomasse aérienne ( $p=0.694$ ) ni racinaire ( $p=0.879$ ) à la fin de la période de suivi : 50<sup>ième</sup> JAS (figure 8 et 9).

L'inoculation n'a pas aussi influencé le nombre des feuilles.



**Figure 8:** Effet principal Inoculum sur le poids (g) de la biomasse aérienne du niébé.

*Les moyennes suivies par la même lettre indiquent que les traitements ne sont pas différents au seuil  $\alpha = 5\%$*



**Figure 9:** Effet principal des inocula sur la biomasse racinaire du niébé. *Les moyennes suivies par la même lettre indiquent que les traitements ne sont pas différents significativement au seuil  $\alpha = 5\%$*

### 3.5.4. Aptitude des variétés mycorhizées à former des nodules

Tous les traitements inoculés ont donné des nodosités contrairement au témoin. Le nombre de nodules par système racinaire a varié de 0 à 4 selon les niveaux des facteurs étudiés (tableau 7). Il a été significativement plus important au 30<sup>ième</sup> JAS avec variété TN5-78 est inoculée par l'inoculant provenant du niébé.

**Tableau 7:** Effet de l'interaction *Variété\*Inoculum* sur le nombre des nodosités au 30<sup>ième</sup>

<i>variétés</i>	<i>Inoculum</i>			
	<i>M0</i>	<i>M1</i>	<i>M2</i>	<i>M3</i>
<b>TN5-78</b>	0,00a	4,00c	2,50b	1,42ab
<b>KVX30-309-6G</b>	0,00a	1,33ab	1,58ab	2,92b
<b>IT97K 499-35</b>	0,00a	0,67ab	0,58ab	0,17a

Les moyennes suivies par la même lettre indiquent que les traitements ne sont pas différents significativement au seuil  $\alpha = 5\%$

Par contre au 50<sup>ième</sup> JAS, la variété KVX30-309-6G inoculée par l'inoculum M2 et la TN5-78 inoculée par l'inoculum M3 ont formé plus de nodules. Les autres combinaisons de traitements ont produit un nombre de nodules égal d'après le test de Newman-Keuls (Tableau 8).

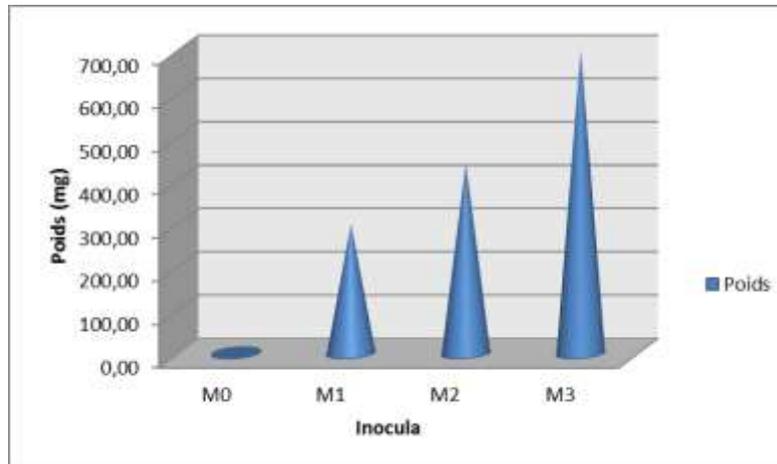
**Tableau 8:** Effet de l'interaction *Variété\*Inoculum* sur le nombre de nodosités au 50<sup>ième</sup> JAS

<i>Variétés</i>	<i>Inoculum</i>			
	<i>M0</i>	<i>M1</i>	<i>M2</i>	<i>M3</i>
<b>TN5-78</b>	0,00a	4,33a	3,33ab	8,00b
<b>KVX30-309-6G</b>	0,00a	4,00a	10,33c	4,00a
<b>IT97K 499-35</b>	0,00a	5,67bc	3,33a	7,33bc

Les moyennes suivies par la même lettre indiquent que les traitements ne sont pas différents significativement au seuil  $\alpha = 5\%$

### 3.5.5 Effet de l'inoculation sur le poids des nodules au 50<sup>ème</sup> jour après semis

Pour le poids des nodules, l'effet inoculation est significatif. L'inoculum M3 a induit la masse la plus élevée de nodule (700 mg/système racinaire). Le poids de nodules induit par l'inoculum M2 est intermédiaire entre M1 et M3 (Fig. 10).



**Figure10:** Effet de l'Inoculum sur le poids des nodules au 50<sup>ème</sup> jour après semis.

## **Chapitre IV: DISCUSSION**

La mycorhization consiste à inoculer une espèce végétale en vue d'améliorer sa nutrition minérale de la plante, renforcer sa capacité à résister à la sécheresse et aux microorganismes pathogènes. Les champignons mycorhizes rentrent en symbiose avec plus de 80% des plantes. Mais cette symbiose est conditionnée par les interactions entre variété végétale et les espèces mycorhiziennes.

### **4.1 Qualité des semences**

Les semences utilisées sont d'une qualité relativement moyenne avec un taux de germination maximal de 71 %. Selon Rao *et al.*(2006), un bon pourcentage de germination ne doit pas être inférieur à 85% pour les espèces cultivées. Cela suppose qu'il faudra tenir compte du taux de germination pour obtenir une bonne densité de plants à la levée. C'est pourquoi, dans la présente étude, 2 graines ont été utilisées par trou lors du semis.

### **4.2 Rendement de l'extraction**

La différence de rendement en spores entre les deux méthodes d'extraction serait due à l'utilisation d'une large gamme de tamis de mailles différentes d'une part et le double lavage d'autre part dans la méthode 2. La densité de spores obtenue par la méthode 2, (de 635 à 2144 spores pour 100g de substrats), a été largement supérieure à celle de la première méthode. Sanon (2005), utilisant la méthode 2 a également dénombré 875 à 2400 spores pour 100 g de substrat composé des racines et du sol de la rhizosphère de légumineuses. La méthode 2 présente ainsi l'avantage de récolter un plus grand nombre de spores de dimension très différente et est donc plus fiable pour estimer l'inoculum du substrat d'étude. Dans notre étude et celle de Sanon (2005), la dimension entre les spores du substrat était très variable, ce qui serait liée probablement à une diversité mycorhizienne plus importante. En effet, selon Zeze *et al.* (2007), les tailles des mycorhizes peuvent aller de 45 à 500  $\mu\text{m}$  en fonction des espèces et des souches et constituent un indice de diversité d'une population de mycorhize. Toutefois, Amina (2006) a dénombré 238 spores pour 100g d'inoculum provenant d'une culture de niébé par la méthode 1. Elle avait conclu que chez cette espèce, le potentiel de reproduction des mycorhizes serait lié à la variété, à la souche de mycorhize et à l'environnement.

### 4.3 Potentiel infectieux des mycorhizes(PIM) en fonction des espèces

La production en masse des mycorhizes à partir de trois espèces végétales différentes a permis de mettre en évidence le fort potentiel multiplicatif des mycorhizes chez le voandzou, le niébé et la tomate. Contrairement au voandzou et la tomate, le PIM du niébé a été le plus faible des trois espèces. Il a varié de 236 à 635 spores /100 g de substrat. Un résultat qui est différent à celui obtenu par Zeze *et al.*(2007), qui a dénombré 172 à 342 spores à partir d'une variété de niébé, en l'occurrence la TN 8863. Le PIM (750 spores/100 g d'inoculum) obtenu pour la tomate est intermédiaire entre le niébé et le voandzou et est différent de celui d'une autre solanacée *Lycium europaeum* rapporté par Touati *et al.*(2013).

Notre étude a comparé le potentiel infectieux de 3 variétés de niébé par rapport à leur aptitude à multiplier des mycorhizes. Il ressort que toutes les variétés étaient colonisées, toutefois le potentiel infectieux final des mycorhizes était affecté par le type d'association *variété\*mycorhize*. La variété TN5-78 a été plus favorable à la mycorhization. Ces résultats sont en accord avec ceux de Sanon (2005) et Strullu (1991) qui ont rapporté que certaines légumineuses sont des espèces à forte mycotrophie et améliorent le potentiel infectieux mycorhizogène des sols, par rapport à d'autres.

### 4.4 Caractéristiques des Spores

Dans le cadre de cette étude, l'identification des champignons mycorhizes est basée uniquement sur la dimension des spores, ce qui lui confère un caractère sommaire. L'inoculum utilisé dans cette étude est en majorité formé par les espèces du genre *Glomus* qui représente plus de 80% des spores totales. Selon Fortin *et al.* (2015), le genre *Glomus sp* est facile à multiplier contrairement au *Gigaspora sp* où le nombre de spores produites en culture reste toujours limité. Par ailleurs, toutes les études antérieures effectuées au Niger sur les endomycorhizes ont mis en évidence la présence la large distribution de *Glomus sp* dans la quasi-totalité des sols (Haougui *et al.*, 2013).

En plus, Zeze *et al.*(2007) et Fortin *et al.*(2015), ont rapporté que les spores de grandes tailles seraient caractéristique des *Gigaspora sp*, alors que les petites proviendraient de *Glomus sp*. Ce qui confirme l'hypothèse émise sur la prédominance dans les inocula d'étude des espèces de *Glomus*.

#### **4.5 Effets de l'inoculation sur la levée**

Notre étude a montré que la vitesse de levée du niébé a varié selon la variété et le type de mycorhize. La levée de TN5-78 et de IT97K 499-35 a été ralentie par la présence des mycorhizes, par contre celle de K VX30-309-6G n'a pas été visiblement affectée. Ce ralentissement serait le début de la phase d'installation de la mycorhization qui intervient dès le stade germination, précisément lors de l'émission de la radicelle (Strullu, 1991). En effet, la germination se caractérise par l'émission de la radicelle, qui pousse la graine vers la surface du sol. A ce stade, les molécules de signalisation présentes dans les exsudats racinaires (Besserer, 2008) et les celles produites par les champignons (Fiore-Donno, 2001), entraînent une cascade de réponses, conduisant au contact, à l'adhésion et éventuellement à la symbiose. Strullu (1991) a confirmé que le retard de croissance au cours de cette phase est attribuable à un déficit de substances carbonées détournées par le champignon pendant cette période où la photosynthèse est limitée chez une jeune plantule. Cependant, les mycorhizes semblent agir comme un puits de carbone, plutôt que comme une source de celui-ci (Fiore-Donno, 2001).

#### **4.6 Effets de l'inoculation sur la Biomasse**

Contrairement à la levée, la mycorhization n'a pas affectée la biomasse aérienne et racinaire jusqu'à 50 jours après semis. Selon Tong-Jian *et al.* (2010), l'indifférence de la biomasse à l'inoculation mycorhizienne Chez le riz, s'expliquait par le fait que les réseaux de AMF (arbuscular mycorhize fungi) consommaient beaucoup de produits photosynthétiques tels que les glucides. Ce paramètre a été observé au 21<sup>ème</sup> JAS, dont l'indifférence de la biomasse à ce stade pourrait être dû à l'âge, en effet, selon Harikumar (2013) la différence en biomasse sous l'effet des mycorhizes n'est significative qu'en fonction de l'âge des plantes de sésame. Les résultats de notre étude tendent vers ceux de Diatta *et al.* (2013) qui ont démontré que la compétition exercée par les champignons mycorhiziens et la présence d'autres microorganismes ne permettent pas toujours de percevoir l'effet des mycorhizes sur la biomasse chez le sésame. En effet, dans notre essai, au 18<sup>ème</sup> JAS, des symptômes de maladie (photo 13 et 14) qui se caractérisent par des tâches nécrotiques, un jaunissement et la chute des feuilles ont été observés sur tous les traitements.



*Photo13: Nécrose sur les feuilles*    *Photo14: Fissure des tiges*

Contrairement aux résultats de notre étude, ceux de Plenchette *et al.* (2000) sur le sésame, ont mis en évidence la stimulation de la croissance du mil par les mycorhizes, mais celle-ci fluctuait en fonction du génotype végétal et de la souche de mycorhize.

#### **4.7 Effets de l'inoculation sur la nodulation**

Tous les plants inoculés par les mycorhizes ont produit des nodules, indiquant que le substrat contenait des souches locales de *Rhizobium*. Aussi avons-nous cherché à évaluer l'effet du type de mycorhize sur la nodulation du niébé. Dans la première série de mesures au jas. 30, la nodulation chez le niébé a été affectée par le type mycorhize. L'inoculant produit à partir des légumineuses (M1) était plus favorable à la nodulation. Toutefois, cet effet positif ne saurait être attribué avec certitude à M1, puisque la densité initiale des bactéries fixatrices d'azote dans les inoculants, peut également influencer la nodulation n'était pas connue.

## Conclusion:

L'Agriculture est la principale source de revenu des paysans au sahel. Cependant, elle est confrontée à plusieurs défis dont la pression démographique, la pauvreté, la faible fertilité des sols, les aléas climatiques et la faible productivité agricole qui menacent de façon récurrente, la sécurité alimentaire dans ces régions. Pour faire face à toutes ces contraintes, l'agronomie doit assurer une augmentation du niveau de la production, qualitativement et quantitativement. Au Niger, la majorité des producteurs ruraux ne disposent pas des moyens pour se procurer des engrais chimiques d'une part et d'autre part, il y'a de nos jours une forte demande de réduction de la dépendance à ces engrais, afin de préserver la fertilité des sols et la stabilité des écosystèmes de façon durable. C'est pourquoi, l'utilisation des mycorhizes serait un moyen prometteur pour améliorer la nutrition minérale de nos principales cultures.

Le niébé qui est une légumineuse essentielle dans l'agriculture nigérienne, présente l'avantage de développer la symbiose avec les champignons mycorhizes. D'ailleurs plusieurs travaux de recherche ont déjà mis en évidence des intérêts agronomiques sur cette culture, en utilisant des mycorhizes. Il devient donc nécessaire d'évaluer l'effet des souches indigènes dans la perspective d'une proposition aux producteurs agricoles des zones rurales des méthodes efficaces et efficientes pour l'amélioration durable de la production.

Dans la présente étude, le voandzou permet mieux de multiplier en masse les mycorhizes, que la tomate et le niébé et donc d'enrichir plus rapidement les sols en mycorhize. Les inocula utilisés seraient composés en majorité des espèces du genre *Glomus*. Les souches contenues dans les inoculants ont plus d'aptitude à influencer les variétés TN5-78 et IT97K 499-38 contrairement à la K VX 30-309-6G. Cependant les inocula n'ont pas influencé la biomasse du niébé au cours de la phase de croissance. Ce travail a permis donc de confirmer les hypothèses d'effet des mycorhizes indigènes sur le niébé et l'existence des interactions entre inocula et variétés. L'aptitude des souches indigènes de mycorhize à infecter de manière sélective les variétés de niébé devrait contribuer à une prise en compte de ces souches dans la quête de l'amélioration de la productivité agricole. Mais Les inocula composites ne permettent pas de mettre en évidence l'effet individuel des espèces de mycorhizes, mais l'effet cumulé avec d'autres microorganismes du sol, telle que les bactéries fixatrices d'azote.

Toutefois, une confirmation de la mycorhization au niveau des racines permettrait de mieux apprécier l'effectivité de la mycorhization.

Pour l'optimisation de cette technique, nous recommandons de :

- d'abord, de la mettre en évidence sur le cycle complet du niébé ;
- identifier en perspective, avec précision les espèces contenues dans l'inoculum
- procéder à leur caractérisation pour une exploitation efficace des souches favorables ;
- Associer un calcul économique à la technologie ;
- évaluer les arrières effets de l'inoculation sur le sol ;
- tester la technique en milieu paysans.

## BIBLIOGRAPHIE

- Aboubacar.K<sup>1</sup>, Zakari.M. O<sup>1</sup>, Harouna.I.A<sup>2</sup>, Seydou.I<sup>1</sup>, Alzouma.M.Z<sup>2</sup>.(2013).** Effet de la co-inoculation du rhizobium et de mycorhizes sur les performances agronomiques du niébé, Niger. *Journal of Applied Biosciences* 72:5846–5854.
- Aher .R.(2015).** Arbuscular Mycorrhizal Association and Its Influence on *Arachis Hypogea* L. International Conference on Plant, Marine and Environmental Sciences (PMES-2015) Jan. 1-2, Kuala Lumpur (Malaysia).
- Amina.A.G.(2006).** Production d'inoculum des champignons à mycorhizes arbusculaires en conditions paysannes Nigériennes. Mémoire d'Ingénieur des Techniques Agricoles. 38 pages.
- Besserer. A.(2008).** Etude des mécanismes d'action des strigolactones sur les champignons endomycorhiziens à arbuscules. Thèse de doctorat de l'université de Toulouse, Toulouse, 266 pages.
- Ch. Planchette<sup>1</sup>, C J-F. Bois<sup>1</sup>, R. Duponnois<sup>3</sup> et P. Cadet<sup>3</sup>.(2000).** La mycorhization (*Glomus aggregatum*) du mil (*Pennisetum glaucum*). *Étude et Gestion des Sols*, 7,4, 2000 - numéro spécial - pages 379 à 384.
- De Lima A.S.T., Terezinha. F.X. Cláudia. E. P.L, José. P.O, Adália.C.E.S. M, Márcia. V.B. F.(2011).** Triple inoculation with *Bradyrhizobium Glomus* and *Paenibacillus* on cowpea (*vigna Unguiculata* [L.] Walp.) Development. *Brazilian Journal of Microbiology* 42: 919-926.
- DE Rouw A. (1998).** Gestion de la fertilité du sol sur un terroir sahélien. *Agriculture et Développement* 18: 63-70.
- Diatta. M.B<sup>1</sup>, Ousmane. L. M<sup>2</sup>, Paul Roger. M.D<sup>3,4</sup>, Tahir.D. (2013).** Effets de l'inoculation mycorhizienne sur le sésame (*Sesamum indicum* L.) en conditions naturelles. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 7: 2050-2057.
- Dutordoir C. D.(2006).** Impact de pratiques de gestion de la fertilité sur les rendements en mil dans le Fakara (Niger). Mémoire de Bio-Ingénieur. Louvain. 48 pages.
- Egli .S. et Brunner .I.(2002).** Les mycorhizes : Une fascinante biocénose en forêt. *Not. prat.* 35:1- 8.

**Fiore-Donno.A.M. (2001).** Etude de biodiversité microbiologique forestière: variations annuelles et spatiales de la structuration génétique d'espèces choisies de champignons ectomycorhiziens. Thèse de Doctorat de l'Université Henri Poincaré. Nancy 135pages.

**Fortin. J. A.Christian.P, Yves P.(2008).** Les Mycorhizes. MultiMondes, Québec.

**Fortin. J. A.Christian.P, Yves P. 2015.** Les mycorhizes: L'essor de la nouvelle révolution Verte. France. Quae. 184 pages.

**Francis. A.D<sup>1</sup>,Ibou .D<sup>2</sup>,Oumar .S<sup>3</sup>, Marie. C.D<sup>4</sup>,Codjo.E. A<sup>6</sup>, Omar.T<sup>4</sup>, Aboubacry. K<sup>2</sup>,Marc.N<sup>5</sup>,Ibrahima.N<sup>2</sup>, Tatiana.K.W<sup>1</sup>.(2015).**Response of Cowpea to Symbiotic Microorganisms Inoculation (Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Rhizobium) in Cultivated Soils in Senegal. Universal Journal of Plant Science 3: 32-42.

**Gavériaux.J.P. (2012).** LES GLOMEROMYCOTA- Mycorhizes VAM et Geosiphon pyriformis (Kützing) Wettstein. 17pages.

**Germaine. I. et Moussa B.(2001).** Transfert de nouvelles technologies dans les systemes de production des paysans au Niger. INRAN, Niger. 17 pages.

**Hamidou. Z<sup>1</sup>. , Sabiou .M<sup>1</sup>. , Nacro H.B<sup>2</sup>. , Boubié V.B<sup>3</sup>. , François.L<sup>4</sup>, André B, (2014).** Effet de la combinaison des fumures organo-minérales et de la rotation niébé-mil sur la nutrition azotée et les rendements du mil au sahel. Int. J. Biol. Chem. Sci. 8 1620-1632.

**Haougui. A<sup>1</sup>,Pabamé .S. S<sup>2</sup>, Ali.D<sup>3</sup>, Toudou.A<sup>3</sup>.(2013).** Evolution des populations des champignons endomycorhiziens sur les adventices de quatre sites maraîchers de la région de Maradi au Niger. Int. J. Biol. Chem. Sci. 7: 554-565.

**Harikumar. V.S.(2013).** Symbiotic response of sesame (*Sesamum indicum* L.) to different indigenous arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from rice fallows of Kerala, India. Journal of Agricultural Technology. Vol. 9:1631-1640.

**Haro. H<sup>1</sup>, Kadidia B. S<sup>1</sup>, Tatiana.K.W<sup>2</sup>, Aboubacry .K<sup>2</sup>, Ibrahima.N<sup>2</sup>, Alfred S.T<sup>3</sup>.(2012).** Réponse à la double inoculation mycorhizienne et rhizobienne du niébé (variété, K VX396-4-5-2D) cultivé au Burkina Faso. Int. J. Biol. Chem. Sci. 9: 1485-1493.

**Hisamuddin. A, Ambreen.A, Rushda.S.(2015).** Vesicular Arbuscular Mycorrhizal (VAM) Fungi: A Tool for Sustainable Agriculture. American Journal of Plant Nutrition and Fertilization Technology, 5: 40-49.

**INRAN.(2012).** Catalogue National des Espèces et Variétés Végétales (CNEV). Pages 146-178.

**Kiari .S. A<sup>1</sup>,Maman .N.K<sup>1</sup>, Fatouma.S<sup>1</sup>, Baoua.I<sup>2</sup>.(2015).** Système de culture en bandes alternées du niébé. INRAN-Niger.

**Kugler. M. (1986).** Les mycorhizes: Des engrais qui poussent comme des champignons. CRDI explore.2 pages.

**Meotto. F.(1996).** Caractérisation des mycorhizes sur le terrain. La mycorhization des plantes forestières en milieu aride et semi-aride et la lutte contre la désertification dans le bassin méditerranéen. Cahiers Options Méditerranéennes. (1996) 20:33-41

**Nyssens. T.(2012).** Détermination des densités de populations de CMA dans les systèmes bananiers de Martinique. Pages 3-5. 96 pages.

**Sanon A. A. (2005).** Rôle des champignons mycorhiziens à arbuscules dans les mécanismes régissant la co-existence entre espèces végétales.Mémoire de D.E.A. National de Science du Sol. Nancy. 28pages.

**Varma. A. et Kharkwal. A.(2009).** Symbiotic Fungi. Amity Institute of Microbial Technology, Amity University Uttar Pradesh, Noida, UP, India 444pp.

**Salawu.A. (2009).** Influence des modes de gestion de la fertilité des sols sur l'activité microbienne dans un système de cultures de longue durée au Burkina Faso. Thèse: 31-33p. 191pages.

**Zeze.A1, B. Ouattara<sup>2</sup>, C. Y. Brou<sup>1</sup>, D. Van Tuinen<sup>3</sup>, H. diallo-attah<sup>2</sup>,A. Sangare<sup>4</sup>. (2007).**Distribution et abondance de spores de champignons endomycorhizogènes à arbuscules dans différents types de forêts de la tene en Côte d'Ivoire. Agronomie Africaine 19 : 103-111

**Pasquet. R.S, Baudoin J.P. (1997).** Cowpea. In: Tropical Plant Breeding. CIRAD, Paris. pp 177-198.

**Rao. N. Ket al., (2006).** Manuel de manipulation des semences dans les banques de gènes. BioversityInternational. ILRI/FAO/CTA. Rome. 181pages.

**Sieverding.E. (1991).** Vesicular-arbuscular Mycorrhiza Management in Tropical Agrosystems. GTZ, Eschborn, Germany. 371 pages.

**Smith.G.W, Skipper.H. D.(1979).** Comparison of methods to extract spores of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Sci. Soc. Am. J. 43:722-725.

**Sanginga. N, Bergvinson .D.(2015).** Oléagineux et Niébé. Document de référence IITA et ICRISAT. 27pages.

**Shamini .S. et Kuppusamy., A.(2014).** Techniques For Extraction Of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Spores. International journal of frontiers in science and technology. IJFST. Volume 2 Issue2.Pages 1-6.

**Strullu, D.G. (1991).** Les mycorhizes des arbres et plantes cultivées. Collection Tec. &Doc., Lavoisier, Paris.248 pages.

**Tong-jian. X, YANG. Q, RAN. W., XU.G, SHEN.Q.(2010).** Effect of Inoculation with Arbuscular Mycorrhizal Fungus on Nitrogen and Phosphorus Utilization in Upland Rice-Mungbean Intercropping System. Agricultural Sciences in China. 9: 528-535.

**Touati. J,TOUATI, Mohamed.C, Amina.O.T., Rachid .B, Allal.D.(2013).** Mycorrhizal status of *Lycium europaeum* in the coastal dunes of Mehdia (Northwest of Morocco). Journal of Applied Biosciences 71:5728– 5741.

### **Web graphie:**

**Anonyme.(2016).**[http://www.doc-developpement-durable.org/file/Agriculture-Lutte-Biologique/articles-Wikipedia/Mycorhize\\_Wikipedia-Fr.pdf](http://www.doc-developpement-durable.org/file/Agriculture-Lutte-Biologique/articles-Wikipedia/Mycorhize_Wikipedia-Fr.pdf). Consulté le 06/12/16.

**Dechamplain. N. et Gosselin. L.(2002).** Les champignons mycorhiziens. 12 pages. Web : <http://www.truffiere.org/mycorhizes.pdf> du 28/102016 à 12h05mn.

**FAO. (2003).** Gestion de la fertilité des sols pour la sécurité alimentaire en Afrique subsaharienne. <http://www.fao.org/docrep/006/X9681F/x9681f00.HTM> du 23/07/16.

**FAO. (2016).** La Culture Traditionnelle du Niébé au Sénégal, Etude de Cas. [http://www.fao.org/ag/AGP/agpc/doc/publicat/cowpea\\_cisse/cowpea\\_cisse\\_f.htm](http://www.fao.org/ag/AGP/agpc/doc/publicat/cowpea_cisse/cowpea_cisse_f.htm). Consulté le 11/12/16

**May.J.F,Guengant.J.P.(2014).** Les défis démographiques des pays Sahéliens.  
<https://www.cairn.info/revue-etudes-2014-6-page-19.htm>. Consulté le 10/12/16 à 19 heures 17 minutes.