

SAMIA SADDIKI

**UTILISATION DU *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* COMME
RHIZOBACTÉRIES FAVORISANT
LA CROISSANCE DES PLANTES CHEZ LE MAÏS**

**Mémoire présenté
à la Faculté des Études Supérieures de
L'Université Laval
pour l'obtention
du grade de maître ès sciences (M. Sc.)**

**Département des Sols et de Génie Agro-Alimentaire
FACULTÉ DES SCIENCES DE L'AGRICULTURE ET DE
L'ALIMENTATION**

UNIVERSITÉ LAVAL

Avril 1999

© Samia Saddiki 1999



National Library
of Canada

Acquisitions and
Bibliographic Services

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Bibliothèque nationale
du Canada

Acquisitions et
services bibliographiques

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file *Votre référence*

Our file *Notre référence*

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

The author retains ownership of the copyright in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-44955-6

Canada

RÉSUMÉ

L'objectif de notre étude est de déterminer le potentiel d'utilisation de souches de *Bradyrhizobium japonicum* sélectionnées pour leur grande efficacité symbiotique avec le soja, comme rhizobactérie favorable à la croissance des plantes chez le maïs (*Zea maïs*). Dans un premier temps, on a testé l'efficacité symbiotique de 52 souches de *B. japonicum* chez le soja (*Glycine max*). Un premier essai d'inoculation des semences de maïs (Pioneer hybride 3394) a été ensuite effectué avec les 21 souches efficaces chez le soja, sur un substrat riche (Promix). Un deuxième essai d'inoculation du maïs avec les 11 meilleures souches choisies suite à l'essai sur Promix, a été fait sur un sol agricole. Des augmentations significatives (9%) du rendement en matière sèche de la partie aérienne du maïs par rapport au témoin non inoculé, ont été observées avec les souches 532c(61A152) et SGR1 sur Promix et sol agricole, respectivement. La souche SOY213 a diminué de façon significative, après trois semaines de croissance dans le Promix, le rendement en poids sec des racines du maïs. Cependant, après sept semaines de croissance, cette souche augmente légèrement le poids sec des racines du maïs en sol agricole. Après sept semaines de croissance en sol agricole on a détecté dans la rhizosphère du maïs la présence de $\log 4.74$ et de $\log 4,67$ cellules des souches JPD1a et 532c, respectivement. Ces résultats suggèrent que le *B. japonicum* est capable de se multiplier et de bien coloniser la rhizosphère du maïs. L'analyse minérale de la partie aérienne et des racines du maïs cultivé en sol agricole, indique que l'inoculation avec certaines souches de *B. japonicum* augmente de façon significative le contenu des plantes en Mg, Fe, Cu, Zn et P.

Hani Antoun, directeur

Sámiá Saddiki, étudiante

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ.....	II
TABLE DES MATIÈRES.....	III
LISTE DES TABLEAUX.....	V
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 1: REVUE DE LITTÉRATURE.....	2
1.0 INTRODUCTION.....	2
1.1 RHIZOBACTÉRIES FAVORISANT LA CROISSANCE DES PLANTES (RFCP).....	2
1.2 POTENTIEL DE L'UTILISATION DES <i>RHIZOBIUM</i> ET <i>BRADYRHIZOBIUM</i> COMME RFCP.....	4
1.2.1 Association spécifique avec les légumineuses.....	4
1.2.2 Association avec les non-légumineuses.....	4
1.2.3 Colonisation et survie dans la rhizosphère des non-légumineuses.....	5
1.2.4 Mécanismes liés à l'activité RFCP des <i>Rhizobium</i> et <i>Bradyrhizobium</i>	6
1.2.4.1 Production des sidérophores.....	6
1.2.4.2 Solubilisation du phosphore.....	8
1.2.4.3 Production de régulateurs de croissance.....	9
1.2.4.4 Production d'HCN.....	10
1.2.4.5 Lutte biologique.....	11
CHAPITRE 2: MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	12
2.0 LES SOUCHES DE <i>BRADYRHIZOBIUM</i> UTILISÉES.....	12
2.1 EFFICACITÉ SYMBIOTIQUE DES SOUCHES DE <i>BRADYRHIZOBIUM</i>	12
2.2 ESSAI SUR LE MAÏS.....	13
2.2.1 Préparation de l'inoculum et inoculation des graines.....	14
2.2.1.1 Essai en cabinet de croissance sur sol riche (Promix).....	14
2.2.1.2 Essai en cabinet de croissance sur sol agricole.....	14
2.2.2 Survie des souches <i>B. japonicum</i> dans la rhizosphère du maïs.....	15
2.2.2.1 Détermination du nombre de <i>B. japonicum</i> par graine au semis.....	15
2.2.2.2 Présence du <i>B. japonicum</i> dans la rhizosphère du maïs à la récolte.....	16
2.3 ANALYSE STATISTIQUE.....	16
2.4 PROPRIÉTÉS ASSOCIÉES À L'ACTION DES RFCP PRÉSENTES CHEZ <i>B. JAPONICUM</i>	16
2.4.1 Production de sidérophores.....	17
2.4.2 Production d'HCN.....	17
2.4.3 Dissolution du phosphore inorganique.....	17
2.4.4 Production de phytohormones.....	18
2.4.5 Interaction entre <i>B. japonicum</i> et certains champignons phytopathogènes.....	18
2.5 ANALYSE MINÉRALOGIQUE DES PLANTES DE MAÏS.....	19
2.5.1 Calcination.....	19
2.5.2 Minéralisation des tissus végétaux pour le dosage du N, P, K, Ca et Mg.....	19
2.5.2.1 Dosage du phosphore.....	19
2.5.2.2 Dosage de l'azote.....	20
CHAPITRE 3: RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	21
3.0 EFFICACITÉ SYMBIOTIQUE.....	21
3.1 ESSAIS D'INOCULATION DU MAÏS AVEC LES SOUCHES EFFICACES DE <i>B. JAPONICUM</i>	22
3.1.1 Inoculation dans un substrat riche (Promix).....	22
3.1.2 Inoculation en sol agricole.....	24

3.2 EFFET DE L'INOCULATION AVEC <i>B. JAPONICUM</i> SUR LA COMPOSITION CHIMIQUE DU MAÏS.....	27
3.3 SURVIE DES SOUCHES DE <i>B. JAPONICUM</i> DANS LA RHIZOSPHERE DU MAÏS.....	31
3.4 PROPRIÉTÉS RELIÉES À L'ACTIVITÉ RFCP CHEZ LES SOUCHES DE <i>B. JAPONICUM</i>	32
3.4.1 Production des sidérophores.....	32
3.4.2 Production d'HCN, d'ALA et solubilisation du phosphore	32
3.4.3 Activité antifongique des souches de <i>Bradyrhizobium</i>	33
BIBLIOLIOGRAPHIE	36
ANNEXES.....	45

Liste des tableaux

Tableau 1. Efficacité symbiotique des 52 souches de <i>Bradyrhizobium japonicum</i> utilisées	21
Tableau 2. Analyse de la variance des poids de la matière sèche de la partie aérienne du maïs cultivé sur promix.....	22
Tableau 3. Moyennes des rendements de la partie aérienne du maïs inoculé avec les souches du <i>B. japonicum</i> et cultivé durant trois semaines sur promix	23
Tableau 4. Analyse de la variance des poids de la matière sèche des racines du maïs cultivé sur promix.....	23
Tableau 5. Moyennes des rendements en matière sèche des racines du maïs inoculé avec les souches du <i>B. japonicum</i> et cultivé durant trois semaines sur promix	24
Tableau 6. Analyse de la variance du rendement en matière sèche de la partie aérienne du maïs inoculé avec les souches de <i>B. japonicum</i>, après sept semaines de croissance en sol agricole.....	25
Tableau 7. Rendement moyen en matière sèche de la partie aérienne du maïs inoculé avec les souches de <i>B. japonicum</i>, après sept semaines de croissance en sol agricole.....	25
Tableau 8. Analyse de la variance du rendement en matière sèche des racines de maïs inoculé avec les souches de <i>B. japonicum</i>, après sept semaines de croissance en sol agricole.	26
Tableau 9. Rendement moyen en matière sèche des racines de maïs inoculé avec les souches de <i>B. japonicum</i>, après sept semaines de croissance en sol agricole.	26
Tableau 10 analyse de variance des effets des souches <i>B. japonicum</i> sur la composition minéralogique des tiges de maïs cultivées sur sol agricole.....	28

Tableau 11 analyse de variance des effets des souches <i>B. japonicum</i> sur la composition minéralogique des racines de maïs cultivées sur sol agricole...	28
Tableau 12. Effet de l'inoculation avec des souches de <i>B. japonicum</i> sur la composition minérale de la partie aérienne du maïs	29
Tableau 13. Effet de l'inoculation avec des souches de <i>B. japonicum</i> sur la composition minérale des racines du maïs	30
Tableau 14. Survie de <i>B. japonicum</i> dans la rhizosphère du maïs après 7 semaines de croissance sur sol agricole.....	31
Tableau 15. Activité antifongique chez les souches de <i>Bradyrhizobium</i> utilisées dans le test d'inoculation du maïs sur sol agricole.....	34

INTRODUCTION

On regroupe sous le terme de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes ou RFCP, toutes les rhizobactéries ayant un effet bénéfique sur les plantes, soit en augmentant leurs rendements ou en les protégeant contre les pathogènes. Les RFCP représentent environ 5% des rhizobactéries et appartiennent à différents groupes taxonomiques (Beauchamp, 1993).

L'effet bénéfique de l'inoculation des légumineuses avec les *Rhizobium* et les *Bradyrhizobium* est bien connue. Cependant, ces bactéries fixatrices d'azote atmosphérique, peuvent aussi survivre en l'absence de leurs plantes hôtes (Gaur et al., 1980; Wiehe et Höflich, 1995), et coloniser la rhizosphère des non légumineuses (Terouchi et Syono, 1990). Les *Rhizobium* partagent d'autres caractéristiques avec les RFCP, comme par exemple la solubilisation du phosphore inorganique, la production de phytohormones, d'HCN et de sidérophores et la lutte biologique contre certains pathogènes.

Cette étude vise à évaluer le potentiel d'utilisation du *Bradyrhizobium japonicum* comme rhizobactérie favorisant la croissance des plantes chez le maïs (*Zea mays*). Dans un premier temps, on a sélectionné les souches de *B. japonicum* les plus efficaces avec le soja. Par la suite, on a évalué l'effet de l'inoculation des graines avec ces souches, sur le rendement et la composition minérale des tiges et des racines du maïs cultivé dans un sol agricole ou dans un substrat riche (Promix). On a aussi vérifié la survie de ces souches dans la rhizosphère. Finalement, nous avons testé chez ces souches certaines propriétés RFCP tel que la production de l'acide indole-3-acétique, d'HCN et de sidérophores, la solubilisation du phosphore ainsi que la capacité de ces souches à inhiber certains champignons phytopathogènes *in vitro*.

CHAPITRE 1: REVUE DE LITTÉRATURE

1.0 Introduction

Les micro-organismes peuvent former des associations intimes avec les racines soit à l'intérieur du tissu racinaire, à la surface des racines (rhizoplan), ou bien dans le sol collé immédiatement sur les racines (rhizosphère). Les habitants de ces sites tirent leur énergie en utilisant les substances organiques libérées par les racines et leur croissance est très liée à l'activité métabolique des plantes impliquées.

La rhizosphère est généralement définie comme étant le sol qui est sous l'influence direct des racines. La richesse de ce sol en nutriments peut varier selon l'âge de la plante et du tissu racinaire, l'espèce, l'état physiologique, ainsi que les propriétés chimiques et physiques du sol. La rhizosphère est le siège d'échanges intenses ayant lieu entre les racines et le sol. Ces échanges sont d'ordre physique, chimique et biologique.

1.1 Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (RFCP)

Les rhizobactéries sont des bactéries qui ont le pouvoir de coloniser de façon agressive la rhizosphère. L'impact des rhizobactéries sur la croissance des plantes peut être bénéfique, neutre ou délétère. Durant les dernières années, l'étude de la biologie de la rhizosphère a mis en évidence un groupe spécial de micro-organismes bénéfiques qui colonisent les racines des plantes, stimulent leur croissance et les protègent contre certains pathogènes. On désigne ces bactéries par le terme rhizobactéries favorisant la croissance des plantes ou RFCP (Kloepper et al., 1989). Elles représentent environ 5% des bactéries vivant dans la rhizosphère (Beauchamp,

1993). Les RFCP sont généralement des bactéries Gram négatives. Elles appartiennent à plusieurs groupes taxonomiques: les *Bacillus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Rhizobium*, *Serratia* spp. (Beauchamp, 1993; Okon et Itzigsohn, 1995; Okon et Labandera-González, 1994) et les *Pseudomonas* (Kloepper, 1993) qui représentent le groupe majoritaire.

Les mécanismes responsables de la stimulation de la croissance des plantes par les RFCP ne sont pas bien établis. L'action des RFCP peut être directe ou indirecte. L'amélioration de la nutrition minérale des plantes par la fixation d'azote atmosphérique ou bien par la solubilisation d'éléments nutritifs tel que le phosphore est un exemple d'action directe des RFCP. La croissance des plantes peut aussi être directement stimulée par la production de régulateurs de croissance comme les auxines, cytokinines, gibbérellines et les substances de type kinétines (Alagawadi et Gaur, 1988; Bakker et al., 1993; Kloepper et al., 1980 a et b; Weller et Thomashow, 1993). Le mode d'action indirect est attribué à la compétition, à la production d'antibiotiques ou de sidérophores et à la désintoxication du milieu. Les RFCP peuvent produire des métabolites secondaires qui sont toxiques aux pathogènes du sol tels que les antibiotiques et les cyanides (De-Ming et Alexander, 1988; Flaishman et al., 1992; Kapulnik, 1996; Thomashow et al., 1990; Thomashow et Weller, 1988; Weller et Thomashow, 1993;). Certaines RFCP peuvent agir comme des hyperparasites des pathogènes, elles produisent donc des exoenzymes dégradant la chitine, la cellulose et les β -glucanes lysant leur paroi (Beauchamp, 1993). Certaines RFCP agissent comme des agents de lutte biologique et diminuent les dommages causés par les pathogènes des plantes (Liu et al., 1992 et 1995 a et b; Van peer et al., 1991; Weller et Thomashow, 1993).

Il n'y a aucun doute que l'inoculation avec les RFCP peut augmenter la production végétale de façon significative. En effet, plusieurs micro-organismes exercent un effet bénéfique sur le développement des plantes quand ils sont appliqués sur les graines ou incorporés au sol (Kloepper et al., 1989; Suslow et Schroth, 1982). L'effet des bactéries sur la croissance des plantes résulte largement de plusieurs interactions, comme celles pouvant exister entre la bactérie introduite et la microflore indigène ou la plante. L'importance de ces interactions dépend de plusieurs facteurs environnementaux comme par exemple le sol, sa fertilité, sa température et sa teneur en eau.

1.2 Potentiel de l'utilisation des *Rhizobium* et *Bradyrhizobium* comme RFCP

1.2.1 Association spécifique avec les légumineuses

Les *Rhizobium* et *Bradyrhizobium* sont bien connus pour leur capacité à former des nodosités fixatrices d'azote atmosphérique chez les légumineuses. Les effets bénéfiques de l'inoculation des légumineuses avec les *Rhizobium* et les *Bradyrhizobium* sont bien connus. En effet, des légumineuses inoculées avec des souches compatibles de *Rhizobium* montrent une croissance et production améliorées par rapport aux plantes non inoculées (Alagawadi et Gaur, 1988; Gaur et al., 1980; Long et Staskawicz, 1993; Nap et Bisseling, 1990.) ont observé que dans les rotations de culture céréale-légumineuses, l'inoculation du maïs avec le *Rhizobium* augmente de façon significative le poids sec des tiges et la production finale en grain des légumineuses (*Vigna radiata* L. et *Arachis hypogaea* L.) qui suivent dans la rotation. Cette observation suggère que certaines souches de *Rhizobium* peuvent survivre et se multiplier dans la rhizosphère du maïs.

La co-inoculation du *Rhizobium* avec des RFCP a montré des effets bénéfiques sur les légumineuses. Cet effet est lié à l'influence favorable des RFCP sur le nombre de nodules, leur poids, leur volume et par conséquent sur le taux de fixation de l'azote atmosphérique. Des augmentations du rendement en grains, du poids sec des nodules et de l'activité de la nitrogénase ont été obtenues chez le pois chiche inoculé avec un mélange d'*Azospirillum brasilense* et de *Rhizobium* (Rai, 1983) ou de *Rhizobium* et de *Pseudomonas striata* ou *Bacillus polymyxa* (Alagawadi et Gaur, 1988). Chez le soja, l'inoculation mixte avec des RFCP et du *B. japonicum* a significativement augmenté le rendement en graines, la matière sèche des tiges et des racines ainsi que la fixation de l'azote (Lie et Alexander, 1988; Yahaloum et al., 1987). Des résultats similaires ont été obtenus par Dashti et al. (1997).

1.2.2 Association avec les non-légumineuses

Le potentiel des *Rhizobium* et des *Bradyrhizobium* à fonctionner comme RFCP a fait l'objet de plusieurs recherches. Ces rhizobactéries, généralement considérées comme des

symbiontes bénéfiques et spécifiques aux légumineuses, ont montré des capacités à coloniser les racines des non-légumineuses. En effet, des tests fait au champ montrent que des souches de *R. leguminosarum* bv. *trifolii* stimulent la croissance des non-légumineuses tels que les graminées et les crucifères (Höflich et al., 1995). Des souches de *B. japonicum* augmentent le rendement en poids de la matière sèche du radis de 15 à 60% par rapport au témoin non inoculé en cabinet de croissance (Goussard, 1996). Des souches de *Rhizobium leguminosarum* bv *phaseoli* sélectionnées pour leur capacité à dissoudre le phosphore inorganique, agissent comme des RFCP avec la laitue et le maïs (Chabot et al., 1996).

1.2.3 Colonisation et survie dans la rhizosphère des non-légumineuses.

Pour agir comme RFCP avec les non-légumineuses, les *Rhizobium* et les *Bradyrhizobium* doivent coloniser et survivre à long-terme dans la rhizosphère de ces plantes. Les *Rhizobium* et les *Bradyrhizobium* peuvent se multiplier dans la rhizosphère des plantes non hôtes. Cela peut expliquer le nombre relativement élevé de cellules de *Rhizobium* présentes dans un champ de céréale (Wiehe et Höflich, 1995). Gaur et al. (1980) suggèrent que le *Rhizobium* peut être stimulé dans la rhizosphère du maïs après inoculation de la légumineuse qui précède la culture du maïs. Des recherches récentes montrent que *R. leguminosarum* bv. *trifolii* colonise des sites sur les racines du riz et stimule sa croissance (Terouchi et Syono, 1990). Des souches de *R. leguminosarum* bv *trifolii*, *B. japonicum* et *Bradyrhizobium* sp. s'attachent aux racines des monocotylédones (riz, asperge, avoine, et blé) de la même manière qu'avec les dicotylédones (Noel et al., 1995; Shimshick et Hebert, 1978). Les champsensemencés de légumineuses traitées avec des inoculants rhizobiens ont maintenu des populations rhizobiennes élevées durant plusieurs années après la récolte des légumineuses (Kucey et Hynes, 1989). Des souches de *Pseudomonas* et de *Rhizobium*, sélectionnées pour leur effet stimulateur de croissance, colonisent la rhizosphère de différentes espèces de non légumineuses, graminées, crucifères et *Chenopodiaceae* (Höflich et al., 1995). *R. leguminosarum* bv *trifolii* R39 colonise la rhizosphère du pois et du lupin blanc en plus de celle des non-légumineuses: maïs, blé et colza (Wiehe et Höflich, 1995).

1.2.4 Mécanismes liés à l'activité RFCP des *Rhizobium* et *Bradyrhizobium*

Les *Rhizobium* et les *Bradyrhizobium* partagent certaines caractéristiques avec les RFCP tels que la dissolution du phosphore, la production des phytohormones, des sidérophores et d'HCN et l'antagonisme avec certains pathogènes. Dans une étude faite par Goussard (1996), des 226 souches de *Rhizobium* testées sur le radis, 3% sont cyanogènes, 83% produisent des sidérophores, 58% produisent de l'acide indole-3-acétique (AIA) et 54% solubilisent le phosphore.

1.2.4.1 Production des sidérophores

Les RFCP exercent leur effet de stimulation de croissance en privant, par compétition, la microflore native de certains éléments nutritifs. Les RFCP produisent des sidérophores extracellulaires qui rendent le fer moins disponible pour certains micro-organismes telluriques (Kloepper et al., 1980a). Malgré que le fer soit un élément mineur pour la croissance des plantes et qu'il soit souvent sous une forme inutilisable par les plantes, ce qui cause des déficiences occasionnelles en cet élément, il est un élément facilement transformable par l'activité de la microflore (Alexander, 1977). Le problème avec le fer n'est pas son abondance, puisqu'il est classé le 4^{ième} élément parmi les plus abondants dans la croûte terrestre. Mais c'est plutôt sa disponibilité dans un environnement aérobie où le pH oscille de neutre à alcalin. Sous de telles conditions, le fer tend à se précipiter en formant des polymères d'oxyhydroxydes (FeOOH) (Neilands et Leong, 1986). Certains éléments oxydés tels que l'hématite (Fe₂O₃), magnétite (Fe₃O₄) et limonite (FeO(OH)) sont parmi les plus abondants dans le sol et contiennent du fer oxydé (Schwertmann et Taylor, 1989).

Le fer est un élément essentiel requis par les légumineuses et les bactéries symbiotiques (*Rhizobium sp* et *Bradyrhizobium sp*) durant le développement de la symbiose. Le besoin en fer des légumineuses est élevé comparativement aux non-légumineuses. En effet, la réponse au stress ferrique est plus prononcée chez les plantes nodulées que chez les plantes non-nodulées d'arachide et de soja (Sorensen et al., 1988; Terry et al., 1988). C'est un élément essentiel pour la croissance de certain *Rhizobium* (Rioux et al., 1986).

Les sidérophores (Sider=fer, Phore=porteur) sont des composés de faible poids moléculaire (500-1000 daltons) produits dans des conditions de stress en fer, ils sont solubles et chélatent les ions ferriques (Fe^{3+}) (Leong, 1986; Neilands, 1981). Ces composés fixent le fer de façon spécifique et peuvent même participer à son transport dans la cellule via des récepteurs membranaires spécifiques (Mayer et al., 1979; Neiland, 1973; Patel et al., 1994). Les sidérophores se partagent en deux groupes, les catécholes et les hydroxamates (Neilands, 1981). La majorité des micro-organismes du sol produisent des sidérophores contenant des hydroxamates (Plessner et al., 1993). La rhizobactine est le sidérophore le plus caractérisé, elle est isolée à partir du *Sinorhizobium meliloti* souche DM4 (Smith et Neilands, 1984). *R. leguminosarum* GF160 produit l'acide anthranilique pour surmonter la déficience ferrique (Rioux et al., 1986). La souche IARI 102 de *R. leguminosarum* produit des sidérophores de type phénolates (Patel et al., 1994). Plusieurs études ont actuellement examiné l'habilité du *B. japonicum* à produire des sidérophores. Une souche efficace de *B. japonicum* (61A 152) produit de l'acide citrique comme sidérophore (Guerinot et al., 1990).

En plus de leur rôle de chélateur du fer, les sidérophores jouent un rôle de régulateur dans la symbiose. Des protéines contenant le fer figurent abondamment dans la symbiose *Rhizobium* et *Bradyrhizobium* avec les légumineuses. La nitrogénase constitue 10 à 20% des protéines totales dans la cellule bactérienne. La léghémoglobine représente 25 à 30% des protéines totales solubles dans les cellules infectées (Verma et Long, 1983). Les plantes ayant subi un stress ferrique ont peu de bactéroïdes dans leurs nodosités et présentent une diminution de la quantité de léghémoglobine et d'activité de nitrogénase sans que l'initiation des nodosités et la survie du *Bradyrhizobium* ne soient affectées dans la rhizosphère (O'Hara et al., 1988 a et b). Aussi, les sidérophores peuvent jouer un rôle dans l'antagonisme contre certains champignons pathogènes. Les pseudobactines et les pyoverdines produites par les *Pseudomonas sp.* inhibent la croissance du *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini.* et du *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (Kloepper et al., 1980b). ainsi que la bactérie *Erwinia carotovora* (Kloepper, 1980 a).

La capacité d'utiliser les sidérophores produits par d'autres micro-organismes est manifestement un avantage très sélectif en présence de micro-organismes compétitifs et dans les conditions de manque de fer. Des souches *B. japonicum* USDA 110 et 61A152 peuvent utiliser des sidérophores de type hydroxamate, ferrichrome, rhodotorulate et pseudobactine St3 en plus du citrate ferrique pour surmonter la manque de fer (Plessner et al., 1993).

Bienfait (1989) a identifié 3 stratégies d'assimilation du fer chez les plantes: une première qui implique l'acidification de la rhizosphère, c'est le cas des dicotylédones. Une deuxième observé chez les monocotylédones et qui implique la sécrétion d'agents chélateurs de fer qui sont des phytosidérophores. La troisième stratégie implique les sidérophores microbiens. Les plantes utilisent les sidérophores produits par les rhizobiums (Crowley et al., 1991). Jurkevitch et al. (1988) rapportent que les sidérophores produits par les bactéries constituent une source bénéfique de fer pour l'arachide poussant sur sol calcaire. Plusieurs bactéries et champignons produisent des produits acides tels que les acides carboniques, nitriques, sulfuriques et organiques. L'augmentation d'acidité libère le fer en solution. La libération par les micro-organismes de certains acides organiques et d'autres produits carbonés participent souvent à la formation de fer organique soluble.

1.2.4.2 Solubilisation du phosphore

L'inoculation avec des micro-organismes bénéfiques peut améliorer la nutrition de la plante en augmentant la disponibilité de certains éléments nutritifs. Le phosphore est un élément qu'on trouve dans le sol, les plantes et les micro-organismes. Dans le sol il est présent sous deux formes: organique et inorganique. La forme organique inclut les mono, di, et tetra phosphate de K^+ , Na^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , Al^{+++} , et Fe^{+++} . La forme organique comprend la phytine, les phospholipides, les acides nucléiques, les sucres phosphatés et les coenzymes. La matière organique du sol est aussi riche en phosphate organique qui dérive des végétaux et des protoplastes des micro-organismes en décomposition. Le phosphore est un élément clé, non seulement dans le métabolisme des plantes, mais aussi dans les processus microbiologiques du sol. Il a un rôle physiologique majeur dans certaines étapes d'accumulation et de libération d'énergie durant le métabolisme cellulaire (Alexander, 1977). Le phénomène de fixation et de précipitation du phosphore dans le sol, qui est très dépendant du pH, est responsable de la faible efficacité des superphosphates. Ces superphosphates contiennent la quantité suffisante de calcium qui cause la précipitation de la moitié de son contenu en phosphate (Halder et Chakrabarty, 1993; Halder et al., 1990). Dans les sols calcaires la disponibilité du Ca accentue cette précipitation.

Moins de 5% du phosphate total du sol est disponible pour les plantes. Des efforts faits dans le but d'améliorer la disponibilité du phosphore pour les plantes au moyen des micro-organismes ont abouti à l'isolement de champignons et de bactéries solubilisant le phosphore (MSP). Ces micro-organismes augmentent la disponibilité du phosphore pour les plantes soit par minéralisation des phosphates organiques par l'action des phosphatases (Abd-Alla, 1994; Halder et Chakrabarty, 1993), ou bien par la dissolution des phosphates inorganiques par l'action des acides organiques (Abd-Allah 1994; Halder et Chakrabarty, 1993; Richardson, 1994). Plusieurs études ont montré que la solubilisation du phosphore est une caractéristique importante des RFCP (Höflich et al., 1995). Les *Rhizobium* sont parmi les micro-organismes qui ont ce potentiel de solubilisation du phosphore (Halder et Chakrabarty, 1993; Surange et Kumar, 1993). Des expériences faites en serres et aux champs par Chabot et al. (1993) démontrent que certains MSP isolées des sols du Québec stimulent la croissance du maïs et de la laitue.

L'effet de solubilisation est généralement dû à la production d'acides organiques tels que: l'acide citrique, succinique, oxalique, et α -ketobutyrique. L'action de ces acides est attribuée à leur propriété chélatante qui permet la formation de complexes stables avec les ions Ca^{++} , Mg^{++} , Al^{+++} , et Fe^{+++} (Abd-Allah, 1994; Alexander, 1977).

1.2.4.3 Production de régulateurs de croissance

Les régulateurs de croissance comme l'AIA, les cytokinines, les gibérellines et les inhibiteurs de synthèse de l'éthylène ont une action directe sur la croissance des plantes. On soupçonne que l'AIA produite par les *Rhizobium* joue un rôle dans la stimulation de la croissance des plantes non légumineuses. En effet, des mutants auxotrophes au tryptophane et à l'adénosine ne stimulent pas la croissance des plantes comme le fait la souche non auxotrophes (Noel et al., 1995). Badenoch-Jones et al. (1982) ont détecté la présence de l'AIA parmi d'autres composés indoliques dans les surnageants de souches de *Rhizobium*. En effet, certaines souches convertissent le tryptophane produit par les racines en AIA (Kefford et al., 1960). L'auxine est probablement impliquée dans la symbiose. En effet, une étude faite par Badenoch-Jones et al. (1983) a montré que le niveau d'AIA est plus élevé dans les nodosités en comparaison aux autres tissus. L'AIA est probablement impliqué dans l'induction de la dédifférenciation du cortex

racinaire et dans la formation du méristème nodulaire. Les *Rhizobium* ont une influence sur le taux de gibérelline présent dans les nodosités et cette influence peut être à l'origine de l'élongation des tiges observée suite à l'inoculation (Dobert et al., 1992). Certains RFCP tels que les *Pseudomonas putida* agissent par la production de l'enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylase (ACC) deaminase qui inhibe la production de l'éthylène dans la rhizosphère (Glick et al., 1994 a et b).

1.2.4.4 Production d'HCN.

Les cyanides sont des métabolites secondaires de plusieurs micro-organismes. Ils peuvent être produits directement à partir de la glycine ou à partir des glycosides cyanogènes (Bakker et Schippers, 1987). Deux rôles possibles peuvent être attribués aux cyanides, un rôle bénéfique et un rôle délétère. L'action bénéfique est liée à la lutte biologique, soit par induction des mécanismes de défense des plantes ou par antagonisme. La production d'HCN par la souche CHAO de *P. fluorescens* diminue l'effet du *Thielaviopsis basicola* qui cause la pourriture noire des racines du tabac (Haas et al., 1991; Voisard et al., 1989). L'HCN produit par la souche BK8661 de *Pseudomonas putida* supprime la croissance des conidies et du mycelium de *Septoria tritici* et des urediospores de *Puccinia recondita* (Flaishman et al., 1992).

Les cyanides sont des métabolites secondaires produits dans la rhizosphère et qui inhibent la production d'ATP dans les racines. Puisque le mécanisme d'absorption des éléments nutritifs par la plante est un processus énergétique, la production des cyanides par les micro-organismes réduit alors l'assimilation de ces éléments par la plante. Bakker et Schippers (1987) rapportent que l'HCN peut être responsable de la réduction du rendement de la pomme de terre. L'un des mécanismes qui aident à améliorer la production végétale par les RFCP est de limiter ou d'empêcher la production des cyanides dans la rhizosphère et vu que la production d'HCN est dépendante du fer, les bactéries produisant les sidérophores stimulent ainsi la croissance des plantes en compétition pour le fer avec les micro-organismes produisant les cyanides (Bakker et Schippers, 1987).

1.2.4.5 Lutte biologique.

La littérature abonde de rapports décrivant l'habileté des RFCP à coloniser les racines des plantes et à induire leur résistance systémique contre les pathogènes. Les mécanismes d'induction de la résistance systémique des plantes incluent en général la compétition et l'accumulation de substances tels que les phytoalexines et/ou la formation de lignine, de callose, et des glycoprotéines riches en hydroxyproline (Thomashow et al., 1990; Van-Peer et al., 1991). Plusieurs RFCP ont induit la résistance des plantes suite à l'inoculation. En effet, des souches de *Pseudomonas sp.* induisent la résistance systémique contre le *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (Van Peer et al., 1991), et certaines souches de *P. fluorescens* induisent la résistance du pois contre *P. syringae* pv. *phaseolicola* (Alström, 1991). La souche WCS417r de *Pseudomonas sp* produit des signaux qui induisent la synthèse et l'accumulation des phytoalexines aux sites d'infections par le *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (Van peer et al., 1991). Des RFCP induisent la résistance systémique du concombre contre le *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, le *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* (Liu et al., 1995 et la mosaïque virale (Liu et al., 1992).

Les métabolites secondaires, comme les antibiotiques l'HCN et les sidérophores produits par certaines souches, semblent jouer un rôle clé dans la protection de la plante contre certains pathogènes. Dans des conditions de stress ferrique, la production de sidérophores par certaines bactéries bénéfiques leur confère un avantage sélectif en présence de microflore pathogène produisant moins de sidérophores. La production d'antibiotiques joue un rôle majeur dans la suppression des pathogènes. Par exemple, la souche 2-79 de *P. fluorescens* produit l'acide phénazine-1-carboxylique *in vitro* et dans la rhizosphère du blé (Thomashow et al., 1990). Haas et al. (1991) ont testé l'effet des métabolites secondaires produits par la souche CHAO de *P. fluorescens* sur certains champignons pathogènes. Leur recherche a montré que certains de ces métabolites inhibent le *Thielaviopsis basicola*, le *Pythium ultimum* et le *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. Ces métabolites sont l'HCN, la pyolutéorine et le 2,4-diacetylphloroglucinol.

CHAPITRE 2: MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.0 Les souches de *Bradyrhizobium* utilisées

Dans cette étude, nous avons utilisé 52 souches de *Bradyrhizobium japonicum* dont 46 proviennent de la collection du Centre de Recherches et de Développement sur les Sols et les Grandes Cultures d'Agriculture et Agro-alimentaire Canada à Sainte-Foy, Québec. Elles proviennent toutes des sols du Québec cultivés en maïs en rotation avec le soja (annexe 1). Ces souches ont été conservées à 4°C dans des tubes contenant une gélose à base d'extrait de levure et de mannitol (YMA, Vincent 1970) décrite à l'annexe 2. Les six autres sont des souches de référence. Trois d'entre elles proviennent de la collection du laboratoire du Dr Hani Antoun, Pavillon Charles-Eugène Marchand, Université Laval, Sainte-Foy, Québec et les trois autres proviennent du Dr. Peter Van Berkum, USDA, Beltsville, Maryland. Ces souches sont conservées à -80°C dans un bouillon du milieu YMA sans gélose (YMB) plus 20% de glycérol. L'origine des souches est détaillée en annexe 1.

2.1 Efficacité symbiotique des souches de *Bradyrhizobium*

Des graines de soja (*Glycine max* variété Vision) ont été stérilisées en surface, en les trempant 1 min dans de l'éthanol à 95%, 5 min dans du peroxyde à 3%, suivi de 4 à 5 rinçages à l'eau stérile pour éliminer les traces du peroxyde. Les graines sont par la suite mises à germer durant trois jours sur du papier Whatman (#1) stérile imbibé d'eau, à l'obscurité et à la température de la pièce. Les pots utilisés sont des petits pots Riviera de fabrication française. Avant le semis, ils ont été désinfectés avec de l'eau de Javel et leurs réservoirs ont été rempli d'une solution nutritive de Hoagland sans azote (Bordeleau et al., 1977). Cinq graines de soya bien germées, ont été semées dans chaque pot contenant un mélange, (1:1), stérile de vermiculite et de silice no. 16 (1,2 mm). Les pots ont été par la suite couverts de sacs de plastiques, pour maintenir un haut taux d'humidité et éviter les contaminations, et placés dans une aire de propagation selon un dispositif expérimental en blocs complets aléatoires. Deux semaines après

le semis, les sacs de plastique ont été enlevés et les pots ont été éclaircis en gardant quatre plants d'apparence uniforme par pot (des pots supplémentaires ont été préparés à cet égard).

Pour la préparation de l'inoculum, les bactéries ont été cultivées dans des fioles Erlenmeyer de 50 ml contenant 20 ml d'un bouillon à base de mannitol et d'extrait de levure (YMB). Les fioles ont été incubées à 28°C sur un agitateur rotatif (180 rpm) durant 15 jours. L'inoculum a été préparé en diluant quatre fois les cultures bactériennes (1:4 v/v) dans une solution saline (0,85 %, NaCl) stérile. Deux semaines après le semis, chaque pot a reçu 8 ml d'inoculum.

Après l'inoculation, la surface des pots a été couverte d'une couche de silice (1,2 mm) pour minimiser les risques de contamination. À chaque semaine, les pots ont été arrosés à l'eau distillée. La croissance des plantes a été effectuée sous 16 heures de lumière à une température de 20°C et une intensité lumineuse de 1,6 Klx et 8 heures d'obscurité à une température de 15°C. L'humidité relative était maintenue à 70%. La coupe des plantes a été faite au début de la floraison. Les parties aériennes ainsi que les racines ont été séchées à 80°C durant 72h. Le dispositif expérimental en blocs complets aléatoires comprenait 53 traitements et 3 répétitions.

2.2 Essai sur le maïs

On a testé l'effet des souches *B. Japonicum* sur la croissance du maïs (*Zea maïs* variété Pioneer hybride 3394). Ce test a été fait sur un substrat de culture très riche (Promix) et sur un sol agricole provenant de la ferme expérimentale d'Agriculture et Agro-alimentaire Canada Chapais à Saint -David. L'analyse partielle de ce sol est décrite en annexe 3.

2.2.1 Préparation de l'inoculum et inoculation des graines

Après dix jours de croissance sur YMA, les bactéries étaient suspendues dans 5 ml de solution saline (NaCl à 0,85%). La densité optique minimale de l'inoculum a été ajusté à 1,2 à 600 nm. Dans des petits sacs stériles, 70 graines de maïs désinfectées ont été trempées dans un mélange contenant 1ml d'inoculum et 14 ml d'une solution de 1% de carboxyméthyl cellulose. Pour le témoin, l'inoculum été remplacé par 1 ml de solution saline (0,85 % NaCl). Les graines inoculées ont été par la suite gardées une nuit à 4°C avant le semis

2.2.1.1 Essai en cabinet de croissance sur sol riche (Pomix)

Dans cet essai nous avons utilisé les 21 souches les plus efficaces avec le soja tel qu'indiqué par les rendements en matière sèche les plus élevés obtenus. Cinq graines de maïs préinoculées ont été semées par pot (12,7 cm de diamètre). Huit jours après le semis, on a effectué un éclaircissage pour garder 3 plantes d'apparence uniforme par pot. Le dispositif expérimental utilisé était en blocs complets aléatoires avec 22 traitements et 10 répétitions. Au besoin, les pots ont été arrosés très légèrement à l'eau déminéralisée. La croissance des plantes a été effectuée en aire de propagation sous 16 heures de lumière à 20°C et une intensité lumineuse de 1.6Klx et 8 heures d'obscurité à 15°C. L'humidité relative a été maintenue à 70%. La coupe des plantes a été faite 3 semaines après le semis. Après 72 heures de séchage à 80°C, les tiges ainsi que les racines ont été pesées séparément et moulues pour l'analyse minéralogique.

2.2.1.2 Essai en cabinet de croissance sur sol agricole

Cet essai a été fait avec les 11 souches ayant donné le meilleur rendement en matière sèche avec le maïs cultivé sur substrat riche (Promix). Les graines de maïs ont été désinfectées en surface par un lavage de 2 min à l'éthanol 70% suivi d'un trempage de 10 min dans l'hypochlorite de sodium à 5,15 % et de plusieurs rinçages à l'eau stérile. La préparation de

l'inoculum et l'inoculation des graines ont été faites de la même manière que dans l'essai sur Promix. Quatre graines préinoculées ont été semées par pot de 5 pouces. Les pots ont été couverts de sacs de plastique afin de garder le sol humide. Le pH du sol a été corrigé de 5,17 à 6,4 par l'ajout de l'équivalent de 6.4 t ha⁻¹ de CaCO₃ / pot (3,2 g/pot). Deux semaines après le semis, les plantes ont été réinoculées. Chaque plante a reçu 10 ml d'inoculum, préparé tel que décrit en 2.2.1. Cinq jours après la deuxième inoculation, les pots ont été découverts et éclaircis en gardant 2 plantes d'apparence uniforme par pot. Une fois par semaine, les pots ont été arrosés avec la solution nutritive de Hoagland sans azote (Bordeleau et al., 1977) et selon les besoins, un arrosage à l'eau déminéralisée a été effectué. Après 53 jours de croissance, les plantes ont été récoltées. Les tiges et les racines ont été séchées à 80°C durant 72 heures.

2.2.2 Survie des souches *B. japonicum* dans la rhizosphère du maïs

La technique du nombre le plus probable (NPP) (Weaver et Frederick, 1972; Brockwell, 1973) a été utilisée pour déterminer le nombre de *B. japonicum* introduit au semis et la survie dans la rhizosphère du maïs. Des graines de soya (*Glycine max* var. Vision) stérilisées en surface ont été pré-germées dans de la vermiculite stérile pendant 72 heures à la noirceur. Une fois les germes bien développés, les graines ont été placées dans des sachets stériles (16,20 cm) contenant 30 ml de solution nutritive de Hoagland sans azote stérile (Bordeleau et al., 1977).

2.2.2.1 Détermination du nombre de *B. japonicum* par graine au semis

Pour déterminer le nombre de bactéries introduites par graine, trois souches (61A152, JPD1a et SGR1) ont été sélectionnées au hasard. On a placé 20 gaines de maïs préinoculées dans 20 ml de tampon peptone-phosphate stérile (annexe 2). Après agitation pendant 1 min sur vortex une série de dilutions successives de 1:10 jusqu'à la 10⁻⁵ a été effectuée. De cette dernière, une deuxième série de dilution de 1:5 jusqu'à la 1:15 625 a été effectuée. Pour chaque traitement, on a utilisé 31 sachets: 25 pour le test et 6 pour les témoins non inoculés. Les sachets inoculés (1ml d'inoculum par sachet) ont été placés dans un cabinet de croissance ajusté à 16 heures de lumière

à 20°C et 8 heures d'obscurité à 15°C. Le taux d'humidité a été maintenu à 70%. Lorsque nécessaire, les sachets ont été arrosés avec de l'eau distillée stérile.

2.2.2.2 Présence du *B. japonicum* dans la rhizosphère du maïs à la récolte

Après trois semaines de croissance, les racines des plantes de maïs inoculées avec les souches 532c et Jpd1a de *B. japonicum* ont été déterrées et secouées vigoureusement. Pour chaque souche les racines provenant de quatre répétitions (pots) choisies au hasard, ont été utilisées. Le sol rhizosphérique a été récupéré dans 100 ml de tampon peptone-phosphate stérile (annexe 2). Les dilutions de 1:5 jusqu'à la 1:15 625 ont été effectuées directement à partir de la dilution initiale. Chaque sachet d'inoculation, contenant cinq graines de soja pré-germées, a été inoculé avec 1ml d'inoculum. Les conditions de croissance sont décrites dans le paragraphe précédent.

2.3 Analyse statistique

L'analyse de la variance a été faite par la procédure GLM (General linear models) du logiciel SAS (Statistical Analysis System institute, inc. 1985). Les moyennes ont été comparées à l'aide du test de la plus petite différence significative (LSD).

2.4 Propriétés associées à l'action des RFCP présentes chez *B. japonicum*

La détermination de certaines propriétés RFCP a été faite chez les 21 souches ayant donné le meilleur rendement avec le soja.

2.4.1 Production de sidérophores.

On a utilisé la méthode universelle pour la détermination des sidérophores qui est basée sur leur grande affinité au fer et qui est indépendante de leur structure. Le milieu utilisé est le CAS (Chrome Azurol S) modifié par Alexander et Zuberer (1991; annexe 2). Les bactéries ont été cultivées dans le milieu MM9 (Schwyn et Neilands, 1987) pendant 15 jours à 28°C sur un agitateur rotatif (180 rpm). Les cellules ont été séparées du surnageant par centrifugation de 1 ml de chaque culture durant 3 min à 13 000 g. Par la suite, 500µl de surnageant ont été ajoutés à 500µl de la solution CAS. Pour le témoin négatif, on a utilisé le milieu MM9. La lecture des résultats a été faite dans un intervalle de 6h, pour éviter la précipitation de la teinte bleu. Un changement de couleur du bleu à l'orange est un indice de la production des sidérophores.

2.4.2 Production d'HCN.

Le milieu de Bakker et Schippers (1987) a été utilisé (annexe 2). À l'aide d'une anse stérile on a inoculé sous forme de stries une bactérie par boîte, sur le couvercle de chaque boîte on a déposé un papier filtre imprégné d'une solution de couleur jaune, composée de 0.5% d'acide picrique et de 20% de carbonate de sodium. Les boîtes ont été scellées et gardées en position inverse dans un incubateur à 28°C pendant 15 jours. Un changement de couleur du papier filtre du jaune au brun indique la production d'HCN.

2.4.3 Dissolution du phosphore inorganique.

Le milieu DCP de Goldstein (1986) (annexe 2) a été utilisé. On a inoculé 3 bactéries par boîte de Pétri, les observations ont été faites à partir du 3^{ème} jour. La présence d'un halo de clarification autour des colonies indique la production de substances dissolvant le phosphore.

2.4.4 Production de phytohormones

Le milieu solide LBT de Luria Bertani enrichi du tryptophane (Bric et al., 1991) (annexe 2) a été utilisé pour détecter la production d'AIA. Une membrane de nitrocellulose (Amersham) stérilisée aux rayons UV a été déposée directement sur le milieu de culture et l'inoculation a été faite directement sur la membrane (3 bactéries par boîte). Les boîtes ont été gardées à 28°C en position inverse. La membrane de nitrocellulose contenant les colonies montrant une bonne croissance (diamètre de 2 mm) a été déposée sur un papier filtre Whatman no. 2 imprégné de 2.5 ml du réactif de Salkowski composé de 2% FeCl₃ (0.5M) et d'une solution à 35% d'acide perchlorique. Les bactéries qui synthétisent l'AIA forment un halo orange autour des colonies.

2.4.5 Interaction entre *B. japonicum* et certains champignons phytopathogènes

Pour ce test nous avons choisi des champignons phytopathogènes chez le maïs et le soja. L'origine des champignons utilisés est décrite en annexe 4. L'interaction entre les souches de *B. japonicum* et les champignons a été étudiée sur le milieu TSA10% (Tryptic Soy agar, Difco). Dans chaque boîte de Pétri contenant du milieu TSA10%, quatre bactéries ont été inoculées à l'aide d'une anse de manière équidistante du bord (1 cm du bord) et une rondelle de champignon (4 mm de diamètre) provenant de la périphérie d'une culture active a été déposée au centre du Pétri. Pour les témoins, les Pétris ne contiennent que le champignon. Selon la vitesse de croissance du champignons, la confrontation avait lieu 2, 4 ou 6 jours après l'inoculation des bactéries. Chaque essai a été répété trois fois. Les boîtes ont été placées dans un incubateur à 28°C. Les observations se faisaient tous les jours et les résultats ont été notés lorsque dans la boîte témoin, le champignon dépassait le niveau d'inoculation des bactéries.

2.5 Analyse minéralogique des plantes de maïs

2.5.1 Calcination

La calcination des échantillons (Isaac et Kerber, 1971) est essentielle pour la détermination du Cu, Fe, Mn et Zn dans les tissus des plantes. Des aliquotes de deux g ($\pm 0,05$) de tissus séchés à 80°C et moulus finement ont été placées dans des capsules de porcelaine et calcinées au four à 475-500 °C. Après 2 à 4 heures de calcination les capsules ont été refroidies à la température de la pièce. Les cendres ont été dissoutes dans 10 ml d'HCl (2N). Les solutions obtenues ont été filtrées et les capsules et les papiers filtres ont été lavés à l'eau distillée chaude et le volume du filtrat a été ajusté à 25 ml. Des standards ont été préparés pour chaque élément et le dosage des oligo-éléments a été fait par mesure de l'absorption atomique.

2.5.2 Minéralisation des tissus végétaux pour le dosage du N, P, K, Ca et Mg

Un échantillon de 0,100 g finement moulu a été mis dans un tube de minéralisation de 100 ml. On a ajouté, 1,5 ml de la solution de minéralisation dont la composition est décrite en annexe 5 et 2,0 ml de peroxyde d'hydrogène (Isaac et Johnson, 1960). Une fois que l'effervescence cesse, les tubes ont été placés sur les blocs à minéralisation à 380-400 °C durant 30 à 40 min. Après 15 min de refroidissement à la température de la pièce, environ 20 ml d'eau distillée ont été ajoutés et après agitation on a complété le volume à 100 ml avec de l'eau distillée. La solution finale constitue la solution de minéralisation.

2.5.2.1 Dosage du phosphore.

On a utilisé la méthode du Vanado-molybdate (Chapman et Pratt, 1961). Cette méthode est recommandée pour la détermination du phosphore dans les plantes. Le Vanadate, molybdate et l'orthophosphate forment un complexe coloré en solution acide. Le

taux de phosphore présent dans la solution doit être compris entre 0,10 et 1,00 mg pour qu'il soit détectable par cette méthode. Pour la détermination du phosphore, 2 ml de la solution de méta vanadate (voir annexe 5) a été additionnée à 5ml de la solution de minéralisation. La solution a été laissée reposer 10 minutes et la lecture de la concentration a été faite à 400 nm.

2.5.2.2 Dosage de l'azote.

À 0,50 ml de la solution de minéralisation, on a ajouté 2,00 ml de la solution 1, 0,50 ml de solution 2 et 0,25 ml de la solution 3 (Nkonge et Ballance, 1982). Après agitation et chauffage au bain-marie à 40°C durant 30 min, on a ajouté 12 ml d'eau avec agitation. Après 30 min, le dosage de l'azote a été fait à 645 nm. La garniture des solutions 1, 2 et 3 est décrite en annexe 5.

CHAPITRE 3: RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.0 Efficacité symbiotique

Afin de pouvoir utiliser les souches de *Bradyrhizobium japonicum* dans un système de rotation soja-maïs, ces souches doivent être bénéfiques aux deux plantes. Nous avons donc d'abord déterminé l'efficacité symbiotique de ces souches avec le soja. Pour ce premier teste, aucune analyse statistique n'a été fait à cause du faible nombre de répétitions. Toutefois, il a permis de sélectionner les souches les plus efficace avec le soja. L'annexe 6 indique les valeurs brutes et les moyennes des rendement en matière sèche du soja inoculé avec les 52 souches de *B. japonicum*, ainsi que leur efficacité symbiotique. Certaines souches telles que la TOPP7b, la USDA191, la TOPP5a et la 3Sb2 forment des nodosités inefficaces chez le soja. Ces souches se comportent comme des parasites puisqu'elles diminuent le rendement en comparaison au témoin azoté non inoculé.

Le classement des souches selon l'efficacité symbiotique est résumé au tableau 1. En utilisant les critères de Bordeleau et al. (1977), une souche est classée très efficace si le rendement moyen d'un traitement est supérieur à la moyenne des rendements plus l'écart type de la moyenne. Une souche est classée efficace si le rendement moyen est compris entre la moyenne des rendements plus ou moins l'écart type de la moyenne. Une souche est classée non efficace si le rendement moyen est inférieur à la moyenne des rendements moins l'écart type de la moyenne. Des 52 souches étudiées, 8 souches sont classées très efficaces, 37 sont efficaces et 7 sont non efficaces.

Tableau 1. Efficacité symbiotique des 52 souches de *Bradyrhizobium japonicum* utilisées

Efficacité	Rendement (g/pot)	Nombre de souches
TE	> 6,74	8
E	3,97-6,74	37
NE	<3,97	7

NE= Non-efficace, E= Efficace, TE= Très-efficace.

Moyenne des rendements= 5,354g, Écart type de la moyenne= 1,384g

3.1 Essais d'inoculation du maïs avec les souches efficaces de *B. japonicum*

3.1.1 Inoculation sur substrat riche (Promix)

Pour cet essai, vingt et une souches de *B. japonicum* ayant donné le meilleur rendement en poids de la matière sèche avec le soja ont été sélectionnées. Les tableaux en annexe 7 présentent les résultats de l'effet de l'inoculation des semences de maïs avec des souches de *B. japonicum* sur les rendements en matière sèche de la partie aérienne et des racines. Les tableaux 2 et 4 résument les analyses de la variance des rendements obtenus.

Tableau 2. Analyse de la variance des poids de la matière sèche de la partie aérienne du maïs cultivé sur Promix

Source	d.l	Somme des carrés	Moyenne des carrés	Valeur de F	P>F
Bloc	9	6,4344	0,7149	3,77	0,0002
Souches	21	7,5679	0,3604	1,90 *	0,0130
Erreur	189	35,8536	0,1897		
Total	219	49,8559			

R²=0.2809 C.V=9.3558 * valeur significative à P ≤ 0,05

La stimulation la plus élevée est obtenue avec la souche 532C (61A152). Celle-ci a augmenté de façon significative le rendement en poids sec de la partie aérienne de 8,7% par rapport au témoin non inoculé (tableau 3 et annexe 7).

Les souches USDA136 et 532C augmentent le rendement en poids sec des racines de 8,5% et 6,7%, respectivement. Cette augmentation n'est pas significative à un niveau de probabilité de 5%. La SOY213 a diminué de façon significative (P ≤ 0,05) le rendement en matière sèche des racines comparativement au témoin non inoculé. Cette diminution est de 13% (annexe 7), mais elle cause une légère augmentation de la matière sèche de la partie aérienne (tableau 3).

Tableau 3. Moyennes des rendements de la partie aérienne du maïs inoculé avec les souches du *B. japonicum* et cultivé durant trois semaines sur Promix

Souche	matière sèche (g/pot)
532C	5,059 a
2Sc1	4,940 ab
SGR1	4,902 ab
6Ma1	4,895 ab
USDA136	4,835 abc
TOPP2b	4,812 abc
SOY 213	4,731 abcd
3Ma2	4,709 abcd
JPD1a	4,676 abcd
Témoin	4,656 bcd
SPE2	4,654 bcd
6SC1	4,645 bcd
61A124a	4,584 bcd
5Mb1	4,575 bcd
7Ma1	4,566 bcd
ATCC10324	4,556 bcd
7Sa2	4,502 cd
5Sb1	4,486 cd
SGR5	4,453 cd
SGR3	4,421 d
4Mb1	4,386 d
5Ma1	4,375 d

La plus petite différence significative est de 0,3842 ($P \leq 0,05$). Deux moyennes suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes. Les moyennes suivies de lettres semblables ne sont pas significativement différentes.

Tableau 4. Analyse de la variance des poids de la matière sèche des racines du maïs cultivé sur promix

Source	d.l.	Somme des carrés	Moyenne des carrés	Valeur de F	P>F
Bloc	9	1,5547	0,1727	6,36	0,0001
Souche	21	0,8481	0,0404	1,49 NS	0,0860
Erreur	189	5.1358	0.0272		
Total	219	7.5386			

$R^2=0.319$ C.V.=14.663 NS = valeur non significative à un niveau de probabilité de 5%.

Tableau 5. Moyennes des rendements en matière sèche des racines du maïs inoculé avec les souches du *B. japonicum* et cultivé durant trois semaines sur Promix

Souche	Matière sèche (g/pot)
USDA136	1.244 a
532C	1.224 ab
3Ma2	1.194 abc
TOPP2b	1.188 abc
6SC1	1.184 abc
2Sc1	1.178 abc
SGR1	1.169 abcd
TEMOIN	1.147 abcd
JPD1a	1.146 abcd
6Ma1	1.146 abcd
SPE2	1.118 abcde
ATCC10324	1.107 abcde
7Ma1	1.106 abcde
61A124a	1.100 abcde
5Ma1	1.094 bcde
7Sa2	1.091 bcde
4Mb1	1.073 cde
5Mb1	1.072 cde
5Sb1	1.069 cde
SGR3	1.058 cde
SGR5	1.030 de
SOY213	0.995 e

La plus petite différence significative est de 0.1454.

Le seuil de signification est de 5%.

Les moyennes suivies de lettres semblables ne sont pas significativement différentes

3.1.2 Inoculation sur sol agricole

Les souches utilisées pour cet essai sont celles qui ont donné le meilleur rendement avec le maïs cultivé dans le substrat riche. Les résultats de l'inoculation des semences du maïs sur sol agricole sont présentés en annexe 8. En sol agricole, l'inoculation du maïs avec les souches de *B. japonicum* n'a montré aucun effet significatif sur les rendements en matière sèche des racines (tableaux 8).

Tableau 6. Analyse de la variance du rendement en matière sèche de la partie aérienne du maïs inoculé avec les souches de *B. japonicum*, après sept semaines de croissance en sol agricole.

Source	d.l	Somme des carrés	Moyenne des carrés	Valeur de F	P>F
Bloc	11	14.9469	1.3588	2.62	0.0050
Souche	11	5.0171	0.4561	0.88 NS	0.5638
Erreur	121	62.8614	0.5195		
Total	143	82.8254			

R²=0.2410 C.V.=9.7219 NS = valeur non significative à 5%

Tableau 7. Rendement moyen en matière sèche de la partie aérienne du maïs inoculé avec les souches de *B. japonicum*, après sept semaines de croissance en sol agricole.

Souches	Poids sec en (g)/pot
SGR1	7.8175 a
USDA136	7.7383 ab
USDA194	7.5117 ab
SOY213	7.4775 ab
SPE2	7.3833 ab
6Ma1	7.3617 ab
JPD1a	7.3500 ab
TOPP2b	7.3383 ab
2Sc1	7.3192 ab
532C	7.2808 ab
Témoin	7.1950 b
3Ma2	7.1942 b

La plus petite différence significative est de 0.5826 à un seuil de signification de 5%.
Les moyennes suivies de lettres semblables ne sont pas significativement différentes

La souche SGR1 a augmenté de façon significative le rendement en matière sèche des tiges, comparativement au témoin non inoculé (tableau 7). Cette augmentation est de 8,7%. La souche USDA136 a induit une augmentation de rendement de 7,6% cette augmentation n'est pas significative à un niveau de probabilité de 5%. Pour ce qui est de l'effet de l'inoculation sur les racines, des augmentations de 6,7 et 6,1% sont observées avec les souches 2SC1 et USDA136 respectivement. Cependant ces augmentations ne sont pas significatives à un seuil de probabilité de 5% (tableau 9). La souche 532C a diminué le rendement des racines de 7,4% par rapport au témoin non inoculé. Cette diminution reste non significative à un seuil de probabilité de 5%. La

souche SOY213 qui a diminué le rendement des racines dans l'essai précédent a augmenté de façon non significative (3,7%) leur rendement, par rapport au témoin non inoculé.

Tableau 8. Analyse de la variance du rendement en matière sèche des racines de maïs inoculé avec les souches de *B. japonicum*, après sept semaines de croissance en sol agricole.

Source	d.l.	Somme des carrés	Moyenne des carrés	Valeur de F	P>F
Bloc	11	17.3708	1.5792	5.57	0.0001
Souches	11	2.7171	0.2470	0.87 NS	0.5701
Erreur	121	34.2977	0.2835		
Total	143	54.3856			

$R^2=0.3694$ C.V=13.8981 NS = valeur non significative à 5%.

Tableau 9. Rendement moyen en matière sèche des racines de maïs inoculé avec les souches de *B. japonicum*, après sept semaines de croissance en sol agricole.

Souche	Poids sec en (g)/pot
2Sc1	3.9950 a
USDA136	3.9700 a
SPE2	3.9517 a
6Ma1	3.9100 a
USDA194	3.9067 a
SOY213	3.8825 ab
SGR1	3.8175 ab
3Ma2	3.8050 ab
TOPP2b	3.7717 ab
JPD1a	3.7483 ab
Témoin	3.7433 ab
532C	3.4675 b

La plus petite différence significative est de 0.430 à un seuil de probabilité de 5%.
Les moyennes suivies de lettres semblables ne sont pas significativement différentes

Nos résultats montrent une variabilité des effets des souches sur le rendement du maïs. Cette variabilité est l'un des problèmes majeurs liés aux essais d'inoculation avec les RFCP (Antoun et al., 1998). La souche 532C qui a augmenté le rendement en poids sec des tiges sur substrat riche n'a aucun effet en sol agricole. La souche SOY 213 qui a diminué le rendement des racines sur substrat riche a augmenté de façon non significative le rendement des racines sur sol

agricole. La nature du substrat, la durée de l'inoculation et la complexité des interactions qui ont lieu dans la rhizosphère après l'introduction des inoculants peuvent être à l'origine de cette variabilité.

En plus de leur effet bénéfique sur les légumineuses, les *Rhizobium* et les *Bradyrhizobium* ont montré des affinités avec les non-légumineuses. Des tests fait au champs ont montré que des souches de *R. leguminosarum* bv. *trifolii* améliorent la croissance de certaines graminées et crucifères (Höflich et al., 1995). Des augmentations du poids de la matière sèche du radis variant de 15 à 60% ont été obtenu par l'inoculation avec des souches de *B. japonicum* (Goussard, 1996).

3.2 Effet de l'inoculation avec *B. japonicum* sur la composition chimique du maïs.

Les effets de l'inoculation des graines avec les souches de *B. japonicum* sur la composition minérale du maïs sont rapportés dans les tableaux 12 et 13. Les analyses de variance des effets des souches *B. japonicum* sur la composition minéralogique des tiges et des racines de maïs cultivé sur sol agricole sont représentées dans les tableaux 10 et 11. Les souches 532C, 2Sc1, TOPP2b, 6Ma1 et SOY213 n'ont montré aucun effet sur la composition chimique des tiges et des racines du maïs comparativement au témoin non inoculé. Les souches SGR1, USDA136, 3Ma2 et la USDA194 ont augmenté de façon significative la teneur en Mg de la partie aérienne du maïs comparativement au témoin non inoculé. Les souches SGR1 et USDA194 ont augmenté de façon significative la teneur de la partie aérienne en Fe et P respectivement, comparativement au témoin non inoculé. La souche JPD1a a augmenté de façon significative la teneur en Cu et en Zn comparativement au témoin non inoculé. L'inoculation avec le *Bradyrhizobium* n'a pas affectée le contenu des tiges en Mn, Ca, K et N. Aucun effet des souches sur la teneur des racines en Ca, Mg, K, N et P n'est observé. La JPD1a a diminué de façon significative la teneur des racines en Cu, Zn et Mn. La SGR1 et la USDA194 ont diminué de façon significative la teneur des racines en Fe comparativement au témoin non inoculé. Les autres souches n'ont montré aucun effet sur la composition minéralogique des racines.

Les souches SGR1 et USDA194 ont augmenté de façon significative la teneur des tiges en Fe alors que celles des racines a été diminué de façon significative. Aussi, la souche JPD1a a augmenté de façon significative la teneur des tiges en Cu et Zn alors que celle des racines a été

diminué de façon significative. Les souches SGR1, USDA136 et USDA194 ont donné le meilleur rendement en poids sec des tiges et ont augmenté leurs teneur en Mg et en Fe. Les souches 3Ma2 et JPD1a n'ont pas d'effet visible sur le poids sec des tiges mais ont augmenté la teneur de celle-ci en Mg, Cu et Zn. On pourrait déduire qu'il n'y a aucune corrélation entre l'effet des souches étudiées sur le rendement en poids sec et la composition minéralogique des plants de maïs.

Tableau 10. Analyse de variance des effets des souches *B. japonicum* sur la composition minéralogique des tiges de maïs cultivé sur sol agricole.

Composition minérale en mg/pot									
	Mn	Mg	Fe	Cu	zn	Ca	K	N	P
F	0,64	5,10**	2,28**	1,20	2,75**	1,77	1,03	0,56	1,67
P>F		0,0001	0,0146	0,2925	0,0033	0,0659	0,4284	0,8582	0,0871

Composition minérale en Mg/Kg									
	Mn	Mg	Fe	Cu	Zn	Ca	K	N	P
F	0,46	5,22**	2,44**	1,17	2,43**	0,79	0,86	0,86	1,36
P>F	0,9233	0,0001	0,0088	0,3136	0,0091	0,6491	0,5842	0,5846	0,2015

Tableau 11. Analyse de variance des effets des souches *B. japonicum* sur la composition minéralogique des racines de maïs cultivé sur sol agricole.

Composition minérale en mg/pot									
	Mn	Mg	Fe	Cu	Zn	Ca	K	N	P
F	0,52	1,87*	0,85	0,91	2,35**	0,77	1,31	0,76	1,23
P>F	0,8856	0,0499	0,5879	0,5357	0,0114	0,6699	0,2282	0,6759	0,2774

Composition minérale mg/Kg									
	Mn	Mg	Fe	Cu	Zn	Ca	K	N	P
F	0,87	1,65	1,62	1,09	1,71	0,65	0,95	0,68	0,93
P>F	0,5735	0,0934	0,1007	0,3775	0,0786	0,7790	0,4980	0,7596	0,5147

Niveau de signification de F est de 5%

* significative à $p < 0,05$.

** très significative à $p < 0,05$.

Tableau 12. Effet de l'inoculation avec des souches de *B. japonicum* sur la composition minérale de la partie aérienne du maïs cultivé en sol agricole

Souches	Composition minérale en mg/Kg								
	Mn	Mg	Fe	Cu	Zn	Ca	K	N	P
532C	21,75 a	1459,74 def	10,63 b	2,58 abc	29,14 b	4334,56 ab	14178,69 ab	5496,53 a	997,92 b
SGR1	21,34 a	1577,87 bc	44,72 a	3,75 ab	15,69 b	4369,44 ab	13895,36 b	5430,33 a	1026,17 b
2Sc1	20,69 a	1520,16 bcdef	20,69 b	2,15 abc	18,18 b	4414,15 ab	14408,92 ab	6533,79 a	1009,50 b
USDA136	20,84 a	1570,12 bcd	21,21 b	2,07 c	10,79 b	4329,60 ab	13746,44 b	5430,33 a	1023,42 b
TOPP2b	21,34 a	1474,22 cdef	12,75 b	2,39 abc	26,89 b	4390,32 ab	14341,19 ab	6114,47 a	998,75 b
6Ma1	21,22 a	1542,16 bcde	25,67 b	2,23 abc	11,79 b	4341,10 ab	14309,57 ab	5639,98 a	1044,67 ab
SOY213	21,42 a	1421,92 f	11,41 b	2,25 abc	24,64 b	4344,29 ab	14127,60 b	5915,85 a	999,50 b
3Ma2	21,76 a	1590,91 b	19,59 b	2,04 c	16,90 b	4328,08 ab	14534,45 ab	6070,34 a	1031,83 ab
JPD1a	21,21 a	1499,12 bcdef	12,16 b	3,78 a	49,50 a	4434,67 ab	14259,37 ab	5485,50 a	995,17 b
SPE2	21,12 a	1491,45 bcdef	17,84 b	2,06 c	15,95 b	4135,66 b	14188,46 ab	6401,37 a	986,00 b
USDA194	21,53 a	1767,20 a	19,31 b	2,01 c	13,41 b	4543,78 a	15443,08 a	6246,89 a	1124,33 a
Témoin	21,42 a	1456,71 ef	11,43 b	2,12 bc	26,38 b	4309,42 ab	14500,64 ab	6710,34 a	970,75 b
LSD (5%)	1,3198	111,84	16,977	1,6406	19,36	299,05	1268	1386,6	95,183

Souches	Prélèvement total en mg/pot								
	Mn	Mg	Fe	Cu	Zn	Ca	K	N	P
532C	0,16 ab	10,65 cd	0,08 b	0,02 ab	0,21 b	31,50 abc	103,00 b	40,06 a	7,30 bc
SGR1	0,17 a	12,28 ab	0,35 a	0,03 a	0,12 bc	34,07 a	108,15 b	42,02 a	8,04 ab
2Sc1	0,15 b	11,09 cd	0,15 b	0,02 b	0,13 bc	32,05 abc	104,48 b	47,46 a	7,38 bc
USDA136	0,16 ab	12,07 b	0,16 b	0,02 b	0,08 c	33,34 ab	105,74 ab	41,83 a	7,86 ab
TOPP2b	0,16 ab	10,81 cd	0,09 b	0,02 ab	0,20 bc	32,12 abc	104,98 b	45,03 a	7,31 bc
6Ma1	0,16 ab	11,31 bcd	0,19 b	0,02 b	0,09 bc	31,86 abc	104,82 b	41,10 a	7,66 abc
SOY213	0,16 ab	10,64 cd	0,09 b	0,02 b	0,18 bc	32,46 abc	105,36 b	44,05 a	7,51 abc
3Ma2	0,16 ab	11,42 bc	0,14 b	0,01 b	0,12 bc	31,08 bc	104,24 b	43,97 a	7,41 bc
JPD1a	0,16 ab	10,98 cd	0,09 b	0,03 ab	0,34 a	32,50 abc	104,11 b	40,24 a	7,31 bc
SPE2	0,16 ab	11,00 cd	0,13 b	0,02 b	0,12 bc	30,41 c	104,12 b	47,71 a	7,25 bc
USDA194	0,16 ab	13,11 a	0,14 b	0,02 b	0,10 bc	33,73 ab	113,84 a	45,98 a	8,29 a
Témoin	0,15 ab	10,42 d	0,08 b	0,02 b	0,19 bc	30,68 c	102,67 b	47,86 a	6,95 c
LSD (5%)	0,0133	0,9872	0,1428	0,0128	0,1247	2,6745	8,2569	10,845	0,8196

Tableau 13. Effet de l'inoculation avec des souches de *B. japonicum* sur la composition minérale des racines de maïs cultivé sur sol agricole

Souches	Composition minérale en mg/Kg								
	Cu	Zn	Fe	Mn	Ca	Mg	K	N	P
532C	8,67 ab	23,71 bc	463,01 a	52,76 ab	6163,68 a	998,99 cd	8357,55 ab	4852 ab	991 ab
SGR1	7,51 ab	24,70 abc	378,93 b	49,36 ab	6416,46 a	1126,67 ab	7667,35 b	5015 ab	940 b
2Sc1	8,06 ab	25,04 abc	479,17 a	52,40 ab	6123,61 a	1071,49 abcd	8602,08 a	5200 ab	992 ab
USDA136	8,54 ab	26,14 abc	430,27 ab	48,21 ab	6584,98 a	1090,11 abcd	8033,65 ab	4623 b	984 ab
TOPP2b	7,84 ab	24,60 abc	485,61 a	53,58 a	5940,31 a	1127,91 ab	8398,79 ab	4921 ab	966 ab
6Ma1	7,54 ab	27,64 a	462,96 a	53,50 ab	7105,43 a	1187,11 a	8345,05 ab	5018 ab	965 ab
SOY213	9,15 a	26,67 ab	453,01 ab	52,59 ab	6271,08 a	1108,19 abc	8101,23 ab	4972 ab	962 ab
3Ma2	7,59 ab	23,77 bc	417,17 ab	48,90 ab	6783,22 a	1034,09 bcd	7714,19 b	5041 ab	959 ab
JPD1a	6,88 b	23,05 c	420,93 ab	45,98 b	6396,99 a	977,43 d	7924,07 ab	5318 a	971 ab
SPE2	9,36 a	27,49 a	455,47 ab	50,72 ab	6245,57 a	1072,77 abcd	8296,44 ab	4926 ab	1004 a
USDA194	8,67 ab	26,44 ab	379,70 b	50,93 ab	6605,56 a	1108,78 abc	7891,43 ab	4990 ab	989 ab
Témoin	9,01 a	26,88 ab	482,86 a	53,96 a	7110,48 a	1067,77 abcd	8124,70 ab	5031 ab	948 ab
LSD (5%)	2,0836	3,3542	82,462	7,5471	1276,7	126,66	830,22	581,58	56,411

Souches	Prélèvement total en mg/pot								
	Cu	Zn	Fe	Mn	Ca	Mg	K	N	P
532C	0,03 ab	0,08 e	1,66 ab	0,19 a	20,98 b	3,45 c	29,16 b	16,93 b	3,42 b
SGR1	0,03 ab	0,09 abcde	1,46 b	0,19 a	24,32 ab	4,29 ab	28,97 b	19,04 ab	3,58 ab
2Sc1	0,03 ab	0,10 abc	1,91 a	0,21 a	24,27 ab	4,33 ab	34,04 a	20,62 a	3,96 a
USDA136	0,03 ab	0,10 abc	1,71 ab	0,19 a	25,76 ab	4,35 ab	31,76 ab	18,62 ab	3,89 a
TOPP2b	0,03 ab	0,09 bcde	1,85 ab	0,20 a	22,12 ab	4,23 ab	31,51 ab	18,51 ab	3,64 ab
6Ma1	0,03 ab	0,11 ab	1,82 ab	0,21 a	26,98 a	4,64 a	32,54 ab	19,58 ab	3,77 ab
SOY213	0,04 ab	0,10 abc	1,75 ab	0,20 a	23,75 ab	4,30 ab	31,20 ab	19,17 ab	3,74 ab
3Ma2	0,03 ab	0,09 cde	1,56 ab	0,19 a	25,41 ab	3,87 bc	29,23 b	19,08 ab	3,62 ab
JPD1a	0,03 b	0,09 de	1,59 ab	0,18 a	24,10 ab	3,69 bc	29,88 b	20,13 a	3,60 ab
SPE2	0,04 a	0,11 a	1,81 ab	0,20 a	24,13 ab	4,23 ab	32,25 ab	19,32 ab	3,97 a
USDA194	0,03 ab	0,10 abcd	1,55 ab	0,20 a	25,48 ab	4,27 ab	30,65 ab	19,37 ab	3,86 ab
Témoin	0,03 ab	0,10 abcd	1,79 ab	0,20 a	25,84 ab	3,97 abc	30,74 ab	18,63 ab	3,53 ab
LSD (5%)	0,009		0,4306	0,0433	5,317	0,6769	3,7753	2,9354	0,45

3.3 Survie des souches de *B. japonicum* dans la rhizosphère du maïs.

Deux souches la JPD1a et la 532c sont choisies au hasard pour dénombrer le *Bradyrhizobium* présent dans la rhizosphère du maïs. Après 7 semaines de croissance, Le nombre de *B. japonicum* présent dans la sol rhizosphérique est de 4 à 5×10^4 bactéries (voir tableau 14). Ces résultats montrent clairement que le *B. japonicum* survie dans la rhizosphère du maïs.

Tableau 14. Survie de *B. japonicum* dans la rhizosphère du maïs après 7 semaines de croissance sur sol agricole.

Souches	Nombre de <i>B. japonicum</i>	
	Introduit par graine	Par (g) de sol rhizosphérique à la récolte
JPD1a	$6,5 \times 10^5$	$5,5 \times 10^4$
532C	$24,2 \times 10^5$	$4,7 \times 10^4$

Plusieurs études antérieures confirment nos résultats. En effet, Crozat et al., 1982 ont suivie la survie du *Rhizobium japonicum* en absence du soja durant 5 ans et ils ont dénombré environs 10^4 bactéries par gramme de sol sec. Le *R. leguminosarum* bv. trifolii, *B. japonicum* et *Bradyrhizobium. sp* s'attachent aux racines d'avoine, du riz et d'asperge (Terouchi et Syono, 1990). Les champs de légumineuses traités avec des inoculants rhizobiens ont maintenu une population rhizobienne élevées durant plusieurs années après la récolte des légumineuses (Kucey et Hynes, 1989). Kamisker et Brill (1987) ont isolé des *B. japonicum* à partir des sols où le soja n'a pas été cultivé pour plus de 30 ans. Chabot et al., 1996 ont montré que le *R. leguminosarum* bv phaseoli colonise et survie dans la rhizosphère du maïs et de la laitue dans un sol non stérile. Selon certains auteurs, la persistance du *Bradyrhizobium* en absence de la plante hôte peut être attribuée à son aptitude saprophytique. la capacité du *Bradyrhizobium* à s'intégrer, survivre et coloniser les racines des non légumineuses et un critère de sélection pour son utilisation dans les inoculants commerciaux.

3.4 Propriétés reliées à l'activité RFCP chez les souches de *B. japonicum*

3.4.1 Production des sidérophores

Pour détecter la production de sidérophores, on a utilisé l'essai sur chrome Azurol S décrit par Schwyn et Neilands (1987). Cet essai est indépendant de la structure des sidérophores et est basé sur le changement de couleur du bleu à l'orange. Toutes les souches testées sont CAS positif, ce qui indique que ces souches produisent des chélateurs de fer. Nos résultats corroborent de nombreuses études qui rapportent que les *Rhizobium* et les *Bradyrhizobium* produisent des sidérophores sous des conditions de stress ferrique (Goussard, 1996; Guerinot, 1991; Carson et al., 1992; Plessner et al., 1993).

3.4.2 Production d'HCN, d'AIA et solubilisation du phosphore

Aucune croissance des bactéries n'a été observée sur les milieux LBT, DCP et sur le milieu de Bakker et Schippers (1987) ce qui a rendu impossible la détection de la production d'AIA et de HCN ainsi que la solubilisation du phosphore. L'absence de croissance des souches sur ces milieux de culture ne nous permet pas de juger la capacité des souche à produire de l'AIA, du HCN ou à solubiliser le phosphore.

La littérature rapporte en général que la production d'HCN par les *Rhizobium* est très faible. Aucune des 18 souches *B. japonicum* étudiée par Goussard (1996) n'a produit du HCN. Bakker et Schippers (1987) ont noté qu'une faible proportion de micro-organismes produisent de l'HCN dans la rhizosphère de la pomme de terre. La capacité des souches de *B. japonicum* à solubiliser le phosphore inorganique est aussi très faible (6%) comparativement à celle des *Rhizobium* (Goussard,1996).

3.4.3 Activité antifongique des souches de *Bradyrhizobium*

L'inhibition des champignons par les bactéries peut être due à la compétition, l'antibiose ou l'hyperparasitisme. Le *Rhizobium* peut exercer une lutte biologique par inanition ou antibiose inhibant ainsi certains agents phytopathogènes (Bordeleau, 1989). Les champignons utilisés proviennent du laboratoire de phytopathologie du Dr Luc Couture, Agriculture et Agro-alimentaire, Canada, Sainte-Foy (Québec). Ces champignons sont des pathogènes du maïs ou du Soja (voir annexe 4). L'activité antifongique des souches de *B. japonicum* utilisées est résumée au tableau 15. Certaines souches ont retardé la croissance des champignons sans que la densité du mycelium soit visiblement différente du témoin, c'est un effet fongistatique. D'autres, par contre, ont diminué la densité mycélienne comparativement au témoin. Cette diminution de la densité mycélienne peut être causée par l'épuisement des éléments nutritifs du milieu (Gagné, 1984). Un effet fongicide est observé avec la souche USDA136 qui a inhibé la croissance du *Sclerotinia sclerotiorum*. L'inhibition fongique peut être le résultat d'une compétition nutritive (Antoun et al., 1978) ou de l'excrétion d'acides organiques.

Tableau 15. Activité antiongulaire chez les souches de *Bradyrhizobium* utilisées dans le test d'inoculation du maïs sur sol agricole.

Souches	Champignons phytopathogènes											
	<i>Ascochyta</i>	<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Fusarium subglutinans</i>	<i>Fusarium graminearum</i>	<i>Fusarium Acuminatum</i>	<i>Fusarium avenaceum</i>	<i>Fusarium sporotrichoides</i>	<i>Fusarium moniliforme</i>	<i>Fusarium solani</i>	<i>Colletotrichum truncatum</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	<i>Pythium ultimum</i>
532c	ND	-*	-*	-*	.	.
SGR1	ND	-*	-*	-*	.	.
2SC1	ND	-*	-*	-*	.	.
USDA136	ND	-*	-*	-*	+++	.
TOPP2b	ND	-*	-*	-*	+	.
6Ma1	ND	-*	-*	-*	++	.
SOY213	ND	-*	-*	-*	+	.
3Ma2	ND	-*	-*	-*	++	.
JPD1a	ND	-*	-*	-*	+	.
SPE2	ND	-*	-*	-*	+	.
USDA194	ND	-*	-*	-*	-*	+	.

*: Diminution de la densité du mycelium; -: Aucun effet sur la croissance du champignon comparativement au témoin; +: Croissance du champignon retardé par rapport au témoin; ++: Retard de croissance plus prononcé +++: Inhibition du champignon; ND: Non déterminé à cause de la croissance non radiale du champignon.

CONCLUSION

La présente étude montre que certaines souches de *B. japonicum* peuvent agir comme RFCP avec le maïs. En effet, des augmentations des rendements en poids sec allant jusqu'à 9% et une amélioration de l'absorption minérale ont été obtenues suite à l'inoculation du maïs avec des souches de *B. japonicum*. Cette étude indique aussi que le *B. japonicum* survit bien dans la rhizosphère du maïs. Ces résultats corroborent les autres observations faites avec le *Rhizobium* et le *Bradyrhizobium* (Chabot et al., 1996; Höflich et al., 1995; Goussard, 1996; Gaur et al., 1980 et Terouchi et Syono, 1990).

Nos résultats reflètent l'effet des souches de *B. japonicum* sur le maïs sous conditions contrôlées. Il est nécessaire de vérifier l'effet de ces souches au champ afin de déterminer si elles peuvent être utilisées dans des inoculants commerciaux. L'utilisation de gènes marqueurs ou de gènes de bioluminescence semble être la méthode la plus prometteuse pour le suivi et la mesure de la colonisation des racines par les micro-organismes dans un milieu naturel.

Un des grands problèmes liés à l'utilisation des RFCP est la grande variabilité des résultats obtenus. Il est donc très important de déterminer les facteurs telluriques (physiques, chimiques et biologiques) qui influencent la capacité des souches introduites à s'établir dans la rhizosphère et à exercer l'effet bénéfique désiré sur une culture visée. Enfin, les études à venir devraient se concentrer sur les souches bénéfiques au soja et à la céréale qui suit dans un système de rotation.

BIBLIOLIOGRAPHIE

- Abd-Alla M. H. 1994.** Use of organic phosphorus by *Rhizobium leguminosarum* biovar viceae phosphatases. *Biot. Fertil. Soils* 8:216-218.
- Alagawadi A. R. and Gaur A. C. 1988.** Associative effect of *Rhizobium* and phosphate-solubilizing bacteria on the yield and nutrient uptake of chickpea. *Plant Soil* 105:241-246.
- Alexander M. 1977.** Introduction to soil microbiology. Second edition. John Wiley & Sons. N. Y. 467 p.
- Alexander D. B. and Zuberer D. A. 1991.** Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Bio. Fertil. Soils* 12:39-45.
- Alström S. 1991.** Induction of disease resistance in common beans susceptible to halo blight bacterial pathogen after seed bacterization with rhizosphere pseudomonads. *J. Gen. Microbiol.* 37:495-501.
- Antoun H., Bordeleau L. M., Gagnon C. et Lachance R. A. 1978.** Effet du dextrose et de l'extrait de levure sur l'interaction entre deux espèces de *Rhizobium* et quelques champignons. *Phytoprotection.* 59:85-91.
- Antoun H., Beauchamp C. J., Goussard N., Chabot R. and Lalande R. 1998.** Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: Effet on radishes (*Raphanus sativus* L.). *Plant and soil.* 204:57-67.
- Badenoch-Jones J., Summons R. E., Entsch B., Rolfe B. G., Parker C. W. and Letham D. S. 1982.** Mass spectrometric identification of indole compounds produced by *Rhizobium* strains. *Biomedical Mass spectrometry.* 9:429-437.
- Badenoch-Jones J., Rolfe B. G. and Letham D. S. 1983.** Phytohormones, *Rhizobium* mutants and nodulation in legumes. 3. Auxine metabolism in effective and ineffective pea root nodules. *Plant Physiol.* 73:347-352.

- Bakker A. W. and Schippers B. 1987.** Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas spp.*-mediated plant growth-stimulation. *Soil Biol. biochem.* 19:451-457.
- Bakker P. A. H., Raaijmakers J. M. and Shippers B. 1993.** Role of iron in the suppression of bacterial plant pathogens by fluorescent pseudomonas. *In* Iron Chelation in plants and soil microorganisms. Barton L. and Hemming B. C. (ed). Academic press, San Diego. p. 269-281.
- Beauchamp C. J. 1993.** Mode d'action des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et potentiel de leur utilisation comme agent de lutte biologique. *Phytoprotection.* 74:19-24
- Bienfait H. F. 1989.** Prevention of stress in iron metabolism of plants. *Acta Bot. Neerl.* 38:105-129.
- Bordeleau L. M. 1989.** Potentiel du *Rhizobium* comme agent de lutte biologique. *Phytoprotection.* 70:31-41.
- Bordeleau L. M., Antoun H. et Lachance R.A. 1977.** Effets des souches de *Rhizobium meliloti* et des coupes successives de la luzerne (*Medicago sativa*) sur la fixation symbiotique d'azote. *Can. J. Plant Sci.* 57: 433-439.
- Bric J. M., Bostock R. M. and Silverstone S. E. 1991.** Rapid *in situ* assay for indolacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. *Appl. Environ. Microbiol.* 54:2636-2642.
- Brockwell J. 1973.** Accuracy of a plant-infection technique for counting population of *Rhizobium trifolii*. *Appl. Microbiol.* 11:377-383.
- Carson K. C., Holliday S., Glenn A R. and Dilworth M J. 1992.** Siderophore and organic acid production in root nodule bacteria. *Arch. Microbiol.* 157:264-271.
- Chabot R., Antoun H. et Cescas M. P. 1993.** Stimulation de la croissance du maïs et de la laitue romaine par des microorganismes dissolvant le phosphore inorganique. *Can. J. Microbiol.* 39:941-947.
- Chabot R., Antoun H. and Cescas M. P. 1996.** Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar. *phaseoli*. *Plant soil* 184:311-321.

- Chapman H. D. and Pratt P. F. 1961.** Methods of analysis for soils, plants and waters. Division of agriculture sciences. University of California. P.161-169.
- Crowley D. E., Wang Y. C., Reid C. P. P. and Szaniszló P. J. 1991.** Mechanisms of iron acquisition from siderophores by microorganisms and plants. *Plant Soil*. 130:179-198.
- Crozat Y., Cleyet-Marel J. C., Giraud J. J. and Obaton M. 1982.** Survival rates of *Rhizobium japonicum* populations introduced into different soils. *Soil Biol. Biochem.* 14:401-405.
- Dashti N., Zhang F., Hynes R. and Smith D. L. 1997.** Application of plant growth-promoting rhizobacteria to soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) increases protein and dry matter yield under short-season conditions. *Plant Soil* 188:33-41.
- De-Ming L. I. and Alexander M. 1988.** Co-inoculation with antibiotic producing bacteria to increase colonization and nodulation by rhizobia. *Plant Soil* 108:211-219.
- Dobert C. R., Rood S. B., Zanewich K. and Blevins D. G. 1992.** Gibberellins and the legume-*Rhizobium* symbiosis. III. quantification of gibberellins from stems and nodules of lima bean and cowpea. *Plant Physiol.* 100:1994-2001.
- Flaishman M., Eyal Z., Zilberstein A., Voisard C. and Haas D. 1992.** Role of HCN suppressing *Septoria trititici* blotch and leaf rust of wheat by *Pseudomonas putida* strain BK8661. *Phytopathology* 82:1109.
- Gagné S. 1984.** Bactéries telluriques et rhizosphériques inhibitrices de certains champignons phytopathogènes: Perspective de lutte biologique chez la luzerne. Thèse de Maîtrise, Université Laval.
- Gaur Y. D., Sen A. N., and Subba Rao N. S. 1980.** Improved legume-*Rhizobium* symbiosis by inoculating preceding cereal crop with *Rhizobium*. *Plant Soil* 54:313-316.
- Glick B. R., Jacobson C. B., Schwarze M. M. K. and Pasternak J. J. 1994a.** Does the enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase play a role in plant growth promotion by *Pseudomonas putida* GR 12-2? In: Improving plant productivity with rhizosphere bacteria. Edited by Ryder M. H., Stephens P. M., and Browen G. D. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, Adelaide, Australia. p.150-152.

- Glick B. R., Jacobson C. B., Schwarze M. M. K., and Pasternak J. J. 1994b.** 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate acid deaminase mutants of the plant growth -promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 do not stimulate canola root elongation. *Can. J. Microbiol.* 40:911-915.
- Goldstein A. H. 1986.** Bacterial solubilization of mineral phosphates: historical perspective and future prospects. *Am. J. Altern. Agric.* 1:51-57.
- Goussard N. 1996.** Utilisation du *Rhizobium* et du *Bradyrhizobium* comme rhizobactéries favorisant la croissance chez les non-légumineuses. Mémoire de maîtrise, Université Laval.
- Guerinot M. L., Meidl E. J. and Plessner O. 1990.** Citrate as a siderophore in *Bradyrhizobium japonicum*. *J. Bacteriol.* 172:3298-3303.
- Guerinot M. L. 1991.** Iron uptake and metabolism in the rhizobia/legume symbioses. *Plant and Soil.* 130:199-209.
- Haas D., Keel C., Laville J., Maurhofer M., Oberhänsli T., Schnider U., Voisard C., Wüthrich B. et Defago G. 1991.** Secondary metabolites of *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 involved in the suppression of root diseases. In advances in molecular genetics of plant-microbe interactions, H. Hennecke and D. P. S. Verma (ed.). Vol. 1, 450-456.
- Halder A. K. and Chakrabartty P. K. 1993.** Solubilisation of inorganic phosphate by *Rhizobium*. *Folia Microbiol.* 38:325-330.
- Halder A. K., Mishra A. K., Bhattacharyya P. and Chakrabartty P. K. 1990.** Solubilisation of rock phosphate by *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 36:81-92.
- Höflich G., Wiehe W. and Hetch-Buchholz C. 1995.** Rhizosphere colonization of different crops with growth promoting *Pseudomonas* and *Rhizobium* bacteria. *Microbiol. Res.* 150:139-147.
- Isaac R. A. et Johnson N W. C. 1960.** Determination of total nitrogen of plant tissue using BD-40 digestion. *Journal of the A.O.A.C.*, 59:98-100.
- Isaac R. A., Kerber J. D. 1971.** Instrumental methods for analysis of soils and plant tissue, Edited by Walsh L M. p.17-28. (543-08 w225 1971).

- Jurkevitch E., Hadar Y. and Chen Y. 1988.** Involvement of bacterial siderophores in the remedy of lime-induced chlorosis in peanut. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 52:1032-1037.
- Kamicker B. J., and Brill W. J. 1987.** Methods to alter the recovery and nodule location of *Bradyrhizobium japonicum* inoculant strains on field grown soybeans. *Appl. Environ. Microbiol.* 53:1737-1742.
- kapulnik Y. 1996.** Plant growth promotion by rhizosphere bacteria. *In* Plant roots the hidden half. Second edition, revised and expanded. Weisel Y., Eshel A. and Kafkafi U. (ed). p:769-781.
- Kefford N. P., Brockwell J. et Zwar J. A. 1960.** The symbiotic synthesis of auxin by legumes and nodules bacteria and its role in nodule developpement. *Aust. J. Biol. Sci.* 13: 457-467.
- Kloepper J. W. 1993.** Plant growth- promoting rhizobacteria as biological control agents. *In* soil microbial ecology. Metting F B. Jr (ed).. p.255-274. Marcel Dekker, Inc., N.Y.
- Kloepper J. W., Leong J., Teintze M., and Schroth M. N. 1980a.** Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature.* 286:885-886.
- Kloepper J. W., Leong J., Teintze M. and Schroth M. N. 1980b.** *Pseudomonas* siderophores: A mechanism explaining disease-suppressive soils. *Curr. Microbiol.* 4:317-320.
- Kloepper J. W., Lifshitz R., and Zablotowicz R. M. 1989.** Free living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnology.* 7:39-43.
- Kucey R. M. N. and Hynes M. F. 1989.** Populations of *Rhizobium leguminosarum* biovars *phaseoli* and *viceae* in fields after bean or pea in rotation with non legumes. *Can. J. Microbiol.* 35:661-667.
- Leong J. 1986.** Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. *Ann. Rev. Phytopathol.* 24:187-209.
- Lie D. M. and Alexander A. 1988.** Co-inoculation with antibiotic producing bacteria to increase colonization and nodulation by rhizobia. *Plant Soil* 108:211-219.

- Liu L., Kloepper J. W. and Tuzun S. 1992.** Induction of systemic resistance against cucumber mosaic virus by seed inoculation with select rhizobacterial strains. *Phytopathology* 82:1108.
- Liu L., Kloepper J. W. and Tuzun S. 1995a.** Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant growth-promotion rhizobacteria. *Phytopathology* 85:695-698.
- Liu L., Kloepper J. W. and Tuzun S. 1995b.** Induction of systemic resistance in cucumber against bacterial angular leaf spot by plant growth-promotion rhizobacteria. *Phytopathology* 85:843-847.
- Long S. R. and Staskawicz B. J. 1993.** Prokaryotic plant parasites. *Cell*. 73:921-935
- Mayer J. M., Mock M. and Abdallah M. A. 1979.** Effect of iron on the protein composition of the outer membrane of fluorescent *Pseudomonads*. *FEMS Microbiol. Lett.* 5:395-398.
- Nap J. and Bisseling T. 1990.** Developmental biology of a plant-prokaryote symbiosis: the legume root nodule. *Science (Washington, D C)*. 250:948-954
- Neilands J. B. 1973.** Microbial iron transport compounds (siderochromes) In: Eichhorn GI (ed) *Inorganic biochemistry, VOL1*. Amsterdam: Elsevier. p.167-202.
- Neilands J. B. 1981.** Iron absorption and transport in microorganisms. *Ann. Rev. Nutr.* 1:27-46.
- Neilands J. B. and Leong S. A. 1986.** Siderophores in relation to plant growth and disease. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 37:187-208
- Nkonge C. and Ballance G. M. 1982.** A sensitive colorimetric procedure for nitrogen determination in micro Kjeldahl digests. *J. Agric. Food Chem.* 30:416-420.
- Noel T. C., Sheng C., Yost C. K., Pharis R. P. and Hynes M. F. 1995.** *Rhizobium leguminosarum* as a plant growth-promoting rhizobacterium: direct growth promotion of canola and lettuce. *Can. J. Microbiol.* 42:279-283.
- O'Hara G. W., Dilworth M. J., Boonkerd N. and Parkpian P. 1988a.** Iron-deficiency specifically limits nodule development in peanut inoculated with *Bradyrhizobium* sp. *New Phytol.* 108:51-57.

- O'Hara G. W., Hartzook A., Bell R. W. and Loneragan J. F. 1988b. Response to *Bradyrhizobium* strain of peanut cultivars grown under iron stress. *J. Plant Nutr.* 11:843-852.
- Okon Y. and Labandera-González C. A. 1994. Agronomic applications of *Azospirillum*. In improving plant productivity with rhizosphere bacteria. M H Ryder, P M Stephens, and G D Bowen (ed). Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, Adelaide, Australia. p.274-278.
- Okon Y. and Itzigsohn R. 1995. The development of *Azospirillum* as a commercial inoculant for improving crop yields. *Biotechnology Advances* 13:415-424.
- Patel H. N., Chakraborty R. N. and Desai S. B. 1994. Effect of iron on siderophore production and on outer membrane proteins of *Rhizobium leguminosarum* IARI 102. 28:119-121.
- Plessner O., Klapatch T. and Guerinot M. 1993. Siderophore utilisation by *Bradyrhizobium japonicum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:1688-1690
- Rai R. 1983. Efficacy of associative N₂-fixation by Streptomycin-resistant mutants of *Azospirillum brasilense* with genotypes of chick pea *Rhizobium* strains. *J. Agric. Sci.* 100:75-80.
- Richardson A. E. 1994. Soil microorganisms and phosphorus availability. In Soil biota, management in sustainable farming systems. C E Pankhurst, B M Doube, V V S R Gupts and P R Grace (ed). CSIRO Australia, Melbourne. p. 50-62.
- Rioux C. R., Jordan D. C. and Rattray J. B. M. 1986. Anthranilate-promoted iron uptake in *Rhizobium leguminosarum*. *J. Biochem Biophys.* 218:183-189.
- Schwertmann U. and Taylor R. M. 1989. Iron oxides. In minerals in soil environment. Dixon J B and Weed S B (eds). Soil science Society of america, Madison, WI. p. 379-438.
- Schwyn B. and Neilands J. B. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry.* 160:47-56.
- Shimshick E. J. and Hebert R. R. 1978. Adsorption of *Rhizobia* to cereal roots. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 84:736-742.
- Smith M. T. and Neilands J. B. 1984. Rhizobactin a siderophore from *Rhizobium meliloti*. *J. Plant Nutr.* 7:449-458.

- Sorensen K. U., Terry R. E., Jolley V. D., Brown J. C. and Vargas M. E. 1988.** The interaction of iron-stress response and root nodules in iron efficient and inefficient soybeans. *J. Plant Nutr.* 11:853-862.
- Surange S. and Kumar N. 1993.** Phosphate solubilisation under varying pH by *Rhizobium* from tree legumes. *Indian J. Exp. Biol.* 31:855-857.
- Suslow T. V. and Schroth M. N. 1982.** Rhizobacteria of sugar beets: effect of seed application and root colonization on yield. *Phytopathology* 72:199-206.
- Terouchi N. and Syono K. 1990.** *Rhizobium* attachment and curling in asparagus, rice and oat plants. *Plant Cell. Physiol.* 31:119-127.
- Terry R. E., Hartzook A., Jolley V. D. and Brown J. C. 1988.** Interaction of iron nutrition and symbiotic nitrogen fixation in peanuts. *J. Plant Nutr.* 11:811-820.
- Thomashow L. S. and Weller D. M. 1988.** Role of phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *J. Bacteriol.* 170:3499-3508.
- Thomashow L. S., Weller D. M., Bonsall R. F. and Pierson III L. S. 1990.** production of the antibiotic phenazine-1-carboxylic acid by fluorescent *Pseudomonas* species in the rhizosphere of wheat. *Appl. Environ. Microbiol.* 56:908-912.
- Van Peer R., Niemann G. J. and Schippers B. 1991.** Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. *Phytopathology* 81:728-734.
- Verma D. P. S. and Long S. 1983.** The molecular biology of *Rhizobium* legume symbiosis. *Int. Rev. Cytol. Suppl.* 14:211-245
- Vincent J. M. 1970.** A manual for the practical study of root nodule bacteria. IBP Handb. NO 15. Blackwell Scientific Publications. Oxford and Edinburg. pp 164.
- Voisard C., Keel C., Haas D. and Défago G. 1989.** Cyanid production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *EMBO J.* 8:351-358.
- Weaver R. W. and Frederick L. R. 1972.** A new technique for most probable number counts of rhizobia. *Plant Soil.* 36:219-222.

Weller D. M. and Thomashow L. S. 1993. Use of rhizobacteria for biocontrol. *Current Opinion in Biotechnology* 4:306-311.

Wiehe W. and Höflich G. 1995. Survival of plant growth promoting rhizosphere bacteria in the rhizosphere of different crops and migration to non-inoculated plants under field conditions in north-east Germany. *Microbiol. Res.* 150:201-206.

Yahaloum E., Okon Y. and Dovrat A. 1987. *Azospirillum* effects on susceptibility to *Rhizobium* nodulation and on nitrogen fixation of several forage legumes. *Can. J. Microbiol.* 33:510-514.

ANNEXES

ANNEXE 1

Origine des souches de *Bradyrhizobium japonicum* utilisées

Souches indigènes	Origine	Provenance
1Ma2	Producteur F. Guilbert, St-Pie, Qué. Sol maïs (Soya/maïs)	AAC, Ste-Foy
1Sb2	Producteur F. Guilbert, St-Pie, Qué. Sol Soya (maïs/Soya)	AAC, Ste-Foy
2Sc1	Producteur L. Bousquet, La présentation, Qué. Sol Soya (maïs/Soya)	AAC, Ste-Foy
3Ma2	Producteur J.P.Couture, St-Prosper, Qué. Sol maïs (Soya/maïs)	AAC, Ste-Foy
3Sa2; 3Sb2	Producteur J.P.Couture St- prospère, Qué. Sol Soya (maïs/Soya)	AAC, Ste-Foy
4Mb1	Producteur Y.Lisée, Ste anne de la pérade, Qué. Sol maïs (Soya/maïs)	AAC, Ste-Foy
5Ma1; 5Mb1; 5Mc2	Ferme Longval Grand st-Esprit, Qué. Sol maïs (Soya/maïs)	AAC, Ste-Foy
5Sb1; 5Sa1	Ferme Longval Grand ST-Esprit, Qué. Sol Soya (maïs/Soya)	AAC, Ste-Foy
6Ma2	Ferme Jéronico Nicolet Sud Qué. Sol maïs (Soya/maïs)	AAC, Ste-Foy
6Sa1; 6Sb1; 6Sc1	Ferme Jérinico Nicolet Sud Qué. Sol Soya (maïs/Soya)	AAC, Ste-Foy
7Ma1	Parcelle expérimentale, Régis Simard Sol maïs (Soya/maïs)	AAC, Ste-Foy
7Sa2	Parcelle expérimentale, Régis Simard Sol Soya (maïs/Soya)	AAC, Ste-Foy
JPD1a et JPD1b	Jardin J.P. Dubuc, Ste Anne de la Pérade, Qué. Sol non-inoculé	AAC, Ste-Foy
SGR1,SGR3,SGR5,SGR7	Jardin J.P. Dubuc, Ste Anne de la Pérade, Qué. Gros nodules	AAC, Ste-Foy
SPE2,SPE4,SPE6,SPE8	Jardin J.P. Dubuc, Ste Anne de la Pérade, Qué. Petits nodules	AAC, Ste-Foy
TOPP1a, TOPP2b, TOPP4a, TOPP5a, TOPP7a, TOPP7b, TOPP9a, TOPP9b, TOPP11a	Parcelle expérimentale, Ed Topp, London, Ont. Sol Soya	AAC, Ste-Foy

ANNEXE 1 (suite)

Souches de références et expérimentales	Origine	Provenance
ATCC10324 (USDA 6)	<i>B. japonicum</i> souche type, Japon	USDA, MD
532C(61A-152)	Souche commerciale	Liphatech, WI
61A-101C	Souche Nitragin	Liphatech, WI
61A124a	Souche Nitragin	Liphatech, WI
61A-148	souches Nitragin(India)	Liphatech, WI
USDA76	<i>B. elkanii</i> , souche type, California	USDA, MD
USDA136	Maryland	USDA, MD
USDA191	<i>R. fredii</i> , souche type, China	USDA, MD
USDA194	China	USDA, MD
USDA205	China	USDA, MD
Soy 213		
SOy217		
Ciat 3545		
TAL1399		
TAL151		

ANNEXE 2

Composition des milieux de culture utilisés

CAS (Chrome Azurol S):

Solution 1:

a) 2.7 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ + 10 ml HCl 10mM

b) 65.5mg CAS + 50 ml H_2O bidistillée

a+b: mélange de couleur bleu foncée

c) 72.8mg HDTMA + 40 ml H_2O bidistillée

La solution c est ajoutée lentement au mélange (a+b) pour obtenir une solution finale de couleur bleu foncée

Solution 2:

solution tampon

750 ml d' H_2O bidistillée

0.3g KH_2PO_4

0.5g NaCl

1.0 g NH_4Cl

On fait dissoudre 30.24g de PIPES avec du KOH 50% tout en ajustant le pH à 6.8

15 g d'agar

Solution 3:

70ml H_2O

2g glucose

2g mannitol

493mg $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

1ml d'une solution stock contenant par 100ml d'eau bidistillée: 11mg CaCl_2 , 1.17mg MnSO_4 ,

1.4mg H_2BO_3 , 0.04mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 1.2 mg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.0 mg $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Solution 4:

3g de casamino-acids (Difco)

30ml d'eau bidistillée.

Cette solution est stérilisée par filtration.

La solution finale est obtenue en mélangeant les 4 solutions dans l'ordre suivant: La solution 3 , 2, 4 et enfin la solution indicatrice. On s'attend à ce que le mélange soit de couleur bleue. Mais même si au début la couleur est, verdâtre elle deviendra bleu dans les jours qui suivent.

Production d'HCN (Bakker et Schippers, 1987)

1 litre d'eau bidistillée.

3 g Tryptic soy broth.

20g de gélose.

Le milieu est stérilisé à l'autoclave à 121°C pendant 20 min.

Milieu DCP de Goldstein (1986) :

Solution 1:

1 litre d' eau bidistillée

10 g de glucose

5g de NH_4Cl

1g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

1g de NaCl

20g de gélose

Le pH finale est ajusté à 7.2.

Solution 2:

5g de K_2HPO_4

50 ml d'eau bidistillée.

Solution 3:

10g de CaCl_2

100 ml d'eau bidistillée.

Solution 4: Cette solution est stérilisée par filtration.

10 mg d'acide pantothénique

10 mg de biotine

10mg de thiamine

10 ml d'eau bidistillée

Les solutions sont stérilisées séparément à 121°C pendant 20 min à l'autoclave.

La solution finale est obtenue en mélangeant, avec agitation constante, les 3 solutions dans l'ordre 2, 1 et 3. On ajoute ensuite 1ml du mélange de vitamines. Le milieu final est blanc opaque.

Milieu LBT de Luria bertani enrichi du tryptophane (Bric et al., 1991).

1 litre d'eau bidistillée

10 g de tryptone

5 g d' extrait de levure

5g NaCl

1.02 g du L-tryptophane

20 g de gélose

Le pH final est ajusté à 7.5.

YMA (Vincent 1970)

K_2HPO_4 : 0.5g

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0.2g

NaCl : 0.1g

Mannitol: 10g

Yeast extrat: 1g

Gélose: 15g

le pH est ajusté à 7.

Tampon peptone phosphate

Eau bidistillée: 1,0l

Peptone: 1,0g

K_2HPO_4 : 1,21g

KH_2PO_4 : 0,34g

Ajuster le pH à 7,0

MM9 (Schwyn et Neilands, 1987).

950 ml d'H₂O déminéralisée

Na₂HPO₄: 6,0g

KH₂PO₄: 0,3g

NaCl: 0,5g

NH₄Cl: 1,0g

Le pH est ajusté à 7,4 et on ajoute:

1M CaCl₂: 0,1ml

1M MgSO₄: 2,0 ml

glucose (20%) 10 ml

ANNEXE 3

Quelques caractéristiques chimiques du sol agricole utilisé pour l'étude d'inoculation du maïs

pH (H ₂ O, 1:1)	5.17 (Corrigé à 6,4 par l'ajout de 3,2g/pot de CaCo ₃ qui est l'équivalent de 6,4t/ha)
N (%)	0,48
C (%)	6,42
P (Kg/ha)	142,24
K (Kg/ha)	195,70

ANNEXE 4

Origine des champignons phytopathogènes utilisés.

Nom du champignon	Hôte	Provenance	Milieu de conservation
<i>Fusarium subglutinans</i>	Zea mays	Agriculture Agroalimentaire Canada, Ottawa, Ontario	SNA
<i>Colletotricum truncatum</i>	Soja	Région Trois-Rivières	PDA
<i>Fusarium acuminatum</i>	Graines de maïs	Pérou	PDA, SNA
<i>Fusarium avenaceum</i>	Soja	La présentation, région Saint-Hyacinthe	PDA
<i>Fusarium solani</i>	Soja	Saint-Hyacinthe (SRA)	PDA
<i>Fusarium graminearum</i>	Tige de maïs	Guelph	PDA
<i>Fusarium moliniforme</i>	Rhizosphère du maïs	Belgique	PDA
<i>Fusarium culmorum</i>	Rhizosphère du maïs	Belgique	PDA
<i>Pythium ultimum</i>	Rhizosphère du maïs	Belgique	PDA
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	Zea mays	Luc Couture	PDA
<i>Ascochyta</i>	Soja	Luc Couture	PDA
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Tige de soja	ND	Sclérotés

ND: Non disponible

ANNEXE 5

Solution de mineralisation (Isaac et Jonhson, 1960)

Dissoudre 97 g d'acide sélénieux dans 100ml d'eau distillée. Ajouter cette solution à 1,84Kg d'acide sulfurique concentré.

Solution de métavanadate (Chapman et Pratt, 1961)

Solution A:

Dissoudre 20 g de molybdate d'ammonium dans 200 ml d'eau chaude et refroidir.

Solution B:

Dissoudre 20 g de vanadate d'ammonium dans 125 ml d'eau chaude et ajouter 125 ml d'acide perchlorique et refroidir.

Verser la solution A dans B en agitant et diluer à un litre.

Solutions utilisées pour le dosage d'azote (Nkonge et Ballance, 1982).

Solution 1:

Dissoudre 28,392 g de Na_2HPO_4 (Phosphate de sodium dibasique) et 106,6 g de $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Potassium sodium tartrate) et 8,0 g de NaOH dans un litre d'eau distillée. Puis dissoudre 100g de NaOH dans un litre d'eau distillée. Mélanger les deux solutions et compléter à deux litres.

Solution 2:

Dissoudre 50,0 g de $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{COONa}$ (Sodium salicylate) et 0,75 g de nitroprusside par 250 ml d'eau distillée. Conserver cette solution dans une bouteille brune et au réfrigérateur.

Solution 3:

Solution d'hypochlorique de sodium. Diluer 7 ml de concentré par 100ml d'eau distillée.

ANNEXE 6

Effet de l'inoculation des semences avec les souches de *Bradyrhizobium japonicum* sur le rendement en matière sèche du soja

Souches	Matière sèche en g par pot			Efficacité symbiotique
	Répétition A	Répétition B	Moyenne	
1Ma2	5,64	5,25	5,07	E
3Ma2	5,98	5,38	6,70	E
4Mb1	9,7	5,22	7,54	TE
5Ma1	4,91	7,35	6,26	E
5Mb1	5,94	5,03	5,56	E
5Mc2	3,63	4,11	5,16	E
6Ma1	7,24	4,66	6,73	E
7Ma1	5,79	4,29	5,48	E
1Sb2	2,97	4,94	4,65	E
1Sc2	4,39	3,61	3,98	E
2Sc1	5,71	6,99	6,28	E
3Sa2	3,7	5,16	4,77	E
3Sb2	2,71	4,94	3,79	NE
5Sa1	4,41	4,97	4,69	E
5Sb1	7,08	5,88	7,30	TE
6Sa1	6,37	7,71	6,82	TE
6Sb1	6,94	3,78	5,13	E
6Sc1	3,6	7,02	5,82	E
7Sa2	5,63	6,27	6,41	E
ToPP1a	5,11	3,04	5,17	E
TOPP2b	8,92	7,33	7,79	TE
TOPP4a	4,2	4,69	4,10	E
TOPP5a	2,79	3,75	3,33	NE
TOPP7a	3,2	5,95	4,78	E
TOPP7b	2,45	2,98	2,38	NE
TOPP9a	4,43	4,55	5,31	E
TOPP9b	3,05	4,46	4,83	E
TOPP11a	4,61	3,92	5,40	E
JPD1a	7,4	5,64	5,66	E
JPD1b	5,12	3,41	4,74	E
SGR1	3,47	4,68	6,00	E
SGR3	6,47	5,43	6,47	E

Souches	Matière sèche en g par pot			Efficacité symbiotique
	Répétition A	Répétition B	Moyenne	
SGR5	5,75	5,78	6,69	E
SGR7	4,05	3,25	4,75	E
SPE2	5,54	6,22	6,06	E
SPE4	6,09	3,97	5,03	E
SPE6	4,32	6,37	5,33	E
SPE8	4,93	5,32	5,15	E
ATCC10324	6,56	7,19	7,70	TE
532C(61A152)	10,75	6,49	7,37	TE
61A101C	3,94	6,58	5,19	E
61A118B	5,51	4,68	5,44	E
61A124A	4,88	7,17	6,31	E
61A148	3,4	2,68	4,64	E
CIAT3545	3,65	4,39	4,42	E
SOY213	7,89	5,01	6,79	TE
SOY217	1,8	3,35	2,39	NE
USDA6	4,88	4,6	5,41	E
USDA136	6,4	7,91	7,54	TE
USDA 191	3,48	2,65	2,83	NE
USDA 194	2,84	1,84	2,50	NE
USDA 205	3,09	2,73	2,81	NE
NH ₄ NO ₃	4,22	4,27	4,23	

TE= très-efficace, E= efficace, NE=non-efficace.

Moyenne des rendements = 5,354g, écart type de la moyenne =1,384g

ANNEXE 7

Effet de l'inoculation des semences avec les souches de *Bradyrhizobium japonicum* sur le rendement en matière sèche des tiges et des racines du maïs cultivé sur substrat riche (Promix).

Rendement de la partie aérienne du maïs

souches	Matière sèche en g par pot										Moyenne des poids secs en g/pot	% par rapport au témoin
	répétition A	répétition B	répétition C	répétition D	répétition E	répétition F	répétition G	répétition H	répétition I	répétition J		
7Ma1	5,7	4	4,9	4,07	4,22	4,66	4,22	5,04	4,95	3,9	4,57	98,1
5Mb1	4,73	4,68	5	4,76	4,95	4,73	4,86	3,55	3,74	4,75	4,58	98,3
JPD1a	4,72	4,02	4,36	4,73	4,21	5,25	4,87	4,02	5,25	5,33	4,68	100,4
6Sc1	4,57	3,95	4,67	4,36	5,14	4,69	5,05	4,23	5,18	4,61	4,65	99,8
SGR1	4,68	4,44	5,5	4,09	5,21	5,79	4,81	4,91	4,41	5,18	4,90	105,3
SPE2	4,79	3,79	4,83	4,58	4,82	4,67	4,73	4,72	4,86	4,75	4,65	99,9
5Ma1	4,03	4,24	4,59	4,08	4,15	4,55	4,42	4,48	4,65	4,56	4,38	94,0
2Sc1	4,61	4,85	5,45	5,13	5,13	4,74	5,41	3,99	4,79	5,3	4,85	106,1
61A124a	5,27	4,09	4,59	4,94	3,71	4,74	4,75	4,33	4,9	4,52	4,58	98,5
7Sa2	5,09	4,33	4,21	4,06	4,24	4,27	4,75	4,42	4,8	4,85	4,50	96,7
SGR3	4,99	4,64	4,76	3,94	4,72	4,33	3,66	4,43	4,86	3,88	4,42	95,0
SGR5	4,73	4,29	4,48	4,61	4,59	4,35	4,53	3,9	4,62	4,43	4,45	95,6
3Ma2	4,15	4,52	5,47	4,32	4,58	5,36	4,74	4,23	4,37	5,35	4,71	101,1
6Ma1	4,36	4,37	4,94	4,42	5,91	5,43	5,39	4,47	4,72	3,94	4,80	105,1
SOY 213	5,52	4,61	4,55	4,98	4,41	4,28	5,12	3,96	4,82	5,06	4,73	101,6
5Sb1	4,3	4,87	3,47	4,68	5,13	4,27	4,85	3,83	4,58	4,88	4,49	96,3
532C	4,61	4,42	6,01	4,81	5,17	5,4	5,24	4,84	4,51	5,58	5,06	108,7
USDA 136	4,99	4,37	5,42	5,8	4,74	4,28	5,25	4,39	4,4	4,71	4,84	103,8
4Mb1	4,42	4,43	4,78	4,27	4,58	4,16	4,2	4,67	3,84	4,51	4,39	94,2
ATCC10324	4,81	3,82	4,36	5,33	5,25	4,27	5,24	4,3	4,11	4,07	4,56	97,9
TOPP2b	5,19	4,92	4,67	4,57	5,62	4,48	4,74	4,6	4,41	4,92	4,81	103,4
témoin	4,22	4,35	4,97	5,35	4,92	4,92	4,7	4,02	4,17	4,94	4,66	100

Poids de la matière sèche des racines du maïs

souches	Matière sèche en g/pot										Moyenne des poids secs en g/pots	% par rapport au témoin
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J		
7Ma1	1,37	0,82	1,29	1,03	1,11	1,14	0,9	1,19	1,27	0,94	1,11	96,4
5Mb1	1,16	1,09	1,15	1,09	1,31	1,14	1,14	0,83	0,87	0,94	1,07	93,5
JPD1a	1,17	0,92	1,26	1,09	1,11	1,1	1,01	1,12	1,31	1,37	1,15	99,9
6Sc1	1,1	0,8	1,23	1,09	1,27	0,99	1,28	1,88	1,22	0,98	1,18	103,2
SGR1	1,08	0,92	1,43	1,1	1,44	1,33	1,14	1,06	0,95	1,24	1,17	102
SPE2	1,06	0,93	1,5	1,11	1,15	1,04	1,04	1,14	1,14	1,07	1,12	97,5
5Ma1	1,03	1,06	1,13	0,93	1,15	1,13	0,99	1,17	1,07	1,28	1,09	95,4
2Sc1	1,06	0,95	1,25	1,22	1,36	1,28	1,34	0,94	1,06	1,32	1,19	102,7
61A124a	1,21	0,86	1,17	1,27	1,15	1,01	1,16	1,07	1,12	0,98	1,1	95,9
7Sa2	1,4	0,84	0,98	1,05	1,37	0,94	0,99	1,03	1,1	1,21	1,09	95,1
SGR3	1,24	1,09	1,11	1,1	1,1	0,99	0,78	1,12	1,19	0,86	1,06	92,2
SGR5	1,13	0,95	1,12	1,01	1,07	0,98	1,04	0,99	0,85	1,16	1,03	89,8
3Ma2	1,13	1,11	1,59	1,11	1,32	1,37	0,98	1,04	1,02	1,27	1,19	104,1
6Ma1	0,91	0,8	1,16	1,12	1,62	1,24	1,32	1,09	1,26	0,94	1,15	99,9
SOY 213	0,39	0,95	1,05	1,21	1,12	0,97	1,12	0,88	1,09	1,17	1,10	86,7
5Sb1	1	1,04	0,96	1,1	1,35	1,1	1,22	0,9	0,97	1,05	1,07	93,2
532C	1	0,96	1,5	1,23	1,39	1,3	1,47	0,96	1,1	1,33	1,22	106,7
USDA136	1,14	1,07	1,4	1,52	1,29	1,15	1,36	1,07	0,97	1,47	1,24	108,5
4Mb1	1,15	1,02	1,25	1,01	1,23	0,83	0,94	1,31	0,92	1,07	1,07	93,5
ATCC10324	0,95	0,92	1,21	1,41	1,42	1	1,19	1,06	0,86	1,05	1,11	96,5
TOPP2b	1,16	1,27	1,16	1,11	1,97	1,04	1,06	1,11	0,9	1,1	1,19	103,6
Témoin	1,17	1,09	1,21	1,26	1,1	1,26	1,09	0,96	0,89	1,44	1,15	100

ANNEXE 8

Effet de l'inoculation des semences avec les souches de *Bradyrhizobium japonicum* sur le rendement en matière sèche des tiges et des racines du maïs cultivé sur sol agricole.

Rendement de la partie aérienne du maïs cultivé sur sol agricole

Souches	Poids sec de la partie aérienne en g/pot													Moyenne des poids sec en g/pot	%/témoin
	répétition A	répétition B	répétition C	répétition D	répétition E	répétition F	répétition G	répétition H	répétition I	répétition J	répétition K	répétition L			
532C	7.14	6.39	8.41	7.18	6.79	6.43	7.13	7.77	8.39	7.2	7.29	7.25	7.28	101,2	
SGR1	8.73	7.22	6.79	8.18	8.4	8.98	8.35	6.56	7.83	6.87	7.89	8.01	7.82	108,7	
2Sc1	7.57	6.33	5.62	7.59	7.54	6.3	8.26	6.95	7.08	8.65	7.64	8.3	7.32	101,7	
USDA136	9.16	5.95	8.64	8.5	7.8	7.8	8.14	8.23	6.49	7.8	6.88	7.47	7.74	107,6	
TOPP2b	6.71	6.77	8.15	8	7.28	6.67	7.36	8.12	7.47	6.54	7.25	7.74	7.34	101,9	
6Ma1	7.9	6.36	7.01	7.85	6.41	7.13	8.78	7.1	6.99	8.28	7.26	7.27	7.36	102,3	
SOY213	7.83	6.29	7.4	6.78	7.09	7.96	7.17	8.18	8.63	7.64	7.32	7.44	7.48	103,9	
3Ma2	7.05	6.72	6.52	7.17	7.48	8.33	7.86	7.07	6.6	7.26	6.93	7.34	7.19	99,9	
JPD1a	8.19	6.83	7.14	8.29	6.82	6.44	6.96	6.25	8.25	7.67	7.19	7.9	7.33	102,2	
SPE2	8.52	6.51	6.68	8.07	7.88	6.85	6.66	8.2	7.52	7.27	6.69	7.75	7.38	102,6	
USDA194	7.37	7.67	7.05	7.18	7.75	7.58	6.06	8.34	6.31	8.91	8.25	7.67	7.51	104,4	
Témoin	6.36	5.77	6.4	7.79	6.61	5.77	7.47	8.93	6.64	8.64	8.59	7.37	7.20	100	

ANNEXE 8 (SUITE).

Poids de la matière sèche des racines de maïs cultivé sur sol agricole

Souches	répétition A	répétition B	répétition C	répétition D	répétition E	répétition F	répétition G	répétition H	répétition I	répétition J	répétition K	répétition L	Moyenne des poids sec en g/pot	%/au témoin
532C	2.87	2.92	3.51	2.95	3.02	3.67	3.33	4.45	2.9	3.56	3.81	4.62	3.47	92,6
SGR1	3.38	3.46	3.34	4.15	4.63	4.3	3.29	3.86	4.38	2.9	3.51	4.61	3.82	102
2Sc1	4.01	3.06	3.03	4.21	4.39	3.72	3.75	4.12	5.47	3.85	3.78	4.55	4.00	106,7
USDA136	4.48	3.12	3.15	3.99	3.99	4.2	3.98	4.6	3.84	4.61	3.2	4.48	3.97	106,1
TOPP2b	3.4	3.77	3.67	4.91	3.85	3.78	3.86	4.51	3.29	3.57	3	3.65	3.77	100,8
6Ma1	3.62	3.53	3.83	5.05	3.17	3.83	4.01	4.16	3.77	3.43	3.4	5.12	3.91	104,5
SOY213	3.21	2.68	3.76	3.82	3.91	4.53	3.55	4.33	4.69	4.63	3.58	3.9	3.88	103,7
3Ma2	3.37	3.02	2.99	4.48	4.54	4.18	4.21	4.63	3.5	3.51	2.75	4.48	3.81	101,7
JPD1a	4.12	2.97	3.5	5.05	3.41	3.94	3.47	3.54	2.96	4.36	4.12	3.54	3.75	100,1
SPE2	4.27	3.4	3.09	4.99	4.03	3.4	2.65	4.87	4.66	3.94	3.58	4.54	3.95	105,6
USDA194	5.19	4.45	3.04	4.36	3.1	3.63	2.9	4.24	3.45	4.32	4.35	3.85	3.91	104,4
Témoin	3.45	2.62	3.22	4.68	4.58	3.51	3.69	4.03	2.9	4.05	3.97	4.22	3.74	100