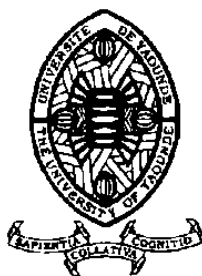


UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES



UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET DE PHYSIOLOGIE VEGETALES
DEPARTMENT OF PLANT BIOLOGY

Influence de l'apport des rhizobiums dans la résistance aux maladies sur trois variétés de soja en champ

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master académique en Biologie des
Organismes Végétaux

Option : Biotechnologies Végétales

Par :

GWET DIBENA Prisca Trésor

Matricule : 16I2210

Licencié-ès sciences

Sous la Direction de :

NDONGO BEKOLO
Maître de Conférences

AMBANG Zachée
Professeur

Année académique : 2021/2022



DEDICACE

Je dédie ce mémoire à mes parents Mr et Mme GWET pour tous les efforts consentis à mon égard. Afin que vous trouviez le couronnement de toute l'attention que vous n'avez cessé de m'apporter.

REMERCIEMENTS

La réalisation de ce travail n'aurait jamais été possible sans le concours d'un certain nombre de personnes de bonnes volontés, qu'elles trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude. Il s'agit de :

- Pr. AMBANG Zachée, Chef de Département de Biologie et Physiologie Végétales (DBPV), mon directeur de mémoire, pour sa rigueur et son objectivité dans l'organisation pédagogique et la recherche ;

- Pr. NDONGO BEKOLO, mon directeur de mémoire pour ses encouragements et conseils ;

- Mme LOMBEKO Victorine, Chargée de Recherche à l'IRAD de NKOLBISSON, Pour avoir accepté de coordonner ce travail en dépit de ses multiples occupations, sa disponibilité, et ses conseils m'ont beaucoup encouragé ;

- Mme MANET Linda, Chargée de Recherche à l'IMPM pour sa disponibilité et son accompagnement dans le domaine de la recherche ;

- Dr KONE Nsangou, pour ses encouragements, conseils et soutiens ;

- Dr BASANANEN Richard, pour ces encouragements, soutiens et conseils multiformes ;

- tous les enseignants du Département de Biologie et Physiologie Végétales pour la formation qu'ils m'ont apportée en Master et leur dévouement à faire de nous des vrais chercheurs ;

- mes parents, M. et Mme GWET, mes frères et sœurs : GWET Armel Didier, GWET Lafortune, MAKANDA Gwet Ulrich pour leurs soutiens multiformes et leurs encouragements ;

- L'équipe de recherche du laboratoire de phytopathologie : Dr GBAPORO GPABORO Fabrice, Dr DIDA LONTSI, Dr NGATI Silvère, NGATA, Dr ATINDO et NGATA Laurence pour leurs soutiens, leurs conseils et leurs aides multiformes ;

- mes camarades de promotion : NDJAMOUO Betina, TONGO Cynthia, AKO'O Freddy, DEFO Joséphine, TCHATCHOUA Julio pour l'ambiance favorable à la recherche qu'ils ont entretenu ;

- mes amis : TEFANG Lucesse, FOKAM Arthur, MELI Brice Lorenzo, MANDENG Kevin pour leurs soutiens.

- tous ceux qui de près ou de loin ont apporté leur soutien et leur collaboration à la réalisation de ce travail et dont les noms ne sont pas cités, qu'ils trouvent à travers ce mémoire, le témoignage de ma gratitude ;

- le président et les membres du jury, pour leur disponibilité à examiner et à combler les insuffisances repérées dans ce document.

SOMMAIRE

DEDICACE.....	i
REMERCIEMENTS	ii
SOMMAIRE	iii
LISTE DE TABLEAUX	vi
LISTE DE FIGURES	vii
LISTE DES ABREVIATIONS	viii
RESUME.....	ix
ABSTRACT	x
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE.....	3
I.1. Généralités sur le soja (<i>Glycine max</i>).....	3
I.1.1. Origine et distribution.....	3
I.1.2. Systématique et description botanique.....	3
I.1.3. Phase végétative.....	4
I.1.4. Ecologie du soja	5
I.1.5. Stades phénologiques du soja	5
I.2. IMPORTANCE ET UTILISATION DU SOJA :	7
I.2.1. Sur le plan écologique :.....	7
I.2.2. Sur le plan nutritionnel.....	7
I.2.3. Sur le plan économique.....	7
I.2.4. Sur le plan sanitaire.....	8
I.2.5. Produits dérivés du soja	8
I.2.5.1. Produits non fermentés.....	8
I.2.5.2. Produits fermentés.....	9
I.2.5.3. Produits de la trituration du soja	9
I.3. ENNEMIS ET RAVAGEURS DU SOJA	10
I.3.1. Ravageurs.....	10
I.3.2. Nématodes.....	11
I.3.3. Maladies du soja.....	11
I.3.3.1. Brûlure bactérienne	11
I.3.3.2. Pusture bactériennes.....	12
I.4. Maladies fongiques	12
I.4.1. Cercosporiose.....	12
I.4.2. Rouille.....	12
I.4.3. Maladies virales	13

I.4.4. Autres maladies du soja	13
I.4.5. Méthodes de lutte contre les ravageurs et les maladies du soja	14
I.4.5.1. Lutte culturale	14
I.4.5.2. Lutte Génétique.....	14
I.4.5.3. Lutte Chimique	14
I.4.5.4. Lutte biologique.....	15
I.5. GENERALITES SUR LES RHIZOBIUMS	15
I.5.1. Caractères généraux des rhizobia.....	16
I.5.2. Symbiose rhizobia-légumineuse fixatrice d'azote.....	17
I.5.2.1. Nodulation.....	17
I.5.2.2. Taxonomie des rhizobia	19
CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES.....	20
II-1. Matériels.....	20
II.1.1. Présentation du site expérimental	20
II.1.2. Matériel végétal	21
II.1.3. Matériel microbiologique	21
II.1.4. Matériel en champ	22
II.1.5. Matériel chimique.....	22
II.2. Méthodes	23
II.2.1. Identification des maladies présentes dans le site.....	23
II.2.1.2. Dispositif expérimental.....	23
II.2.1.3. Test de germination	24
II.2.1.4 Semis et entretien.....	25
Fig. 15. Entretien.....	25
II.2.1.5. Identification des maladies	25
II.2.1.5.2.1 Préparation du milieu PDA.....	25
II.2.1.5.2.2 Aseptisation et ensemencement du matériel végétal	26
II.2.2. Effet des rhizobiums sur les paramètres des maladies.....	27
II.2.2.1. Isolement des souches de Rhizobium	27
II.2.2.1.1. Préparation du matériel de travail et stérilisation	27
II.2.2.1.2 Préparation du milieu de culture (Vincent, 1970).....	27
II.2.2.1.3. Technique de préparation et de conservation des rhizobiums	28
II.2.2.1.4. Préparation de la solution stock.....	28
II.2.2.1.5. Stérilisation des nodules	29
II.2.2.1.6. Technique d'isolement.....	29
II.2.2.1.6.1. Broyage des nodosités et ensemencement du broyat.....	29
III.2.2.1.6.4. Caractérisation morphologique des souches de rhizobiums.....	30

II.2.2.1.6.6. Stérilisation des nodules	30
II.2.2.1.6.7. Technique d'isolement.....	30
II.2.2.1.6.7.1. Broyage des nodosités et ensemencement du broyat.....	30
II.2.2.1.6.7.4. Caractérisation morphologique des souches de rhizobiums	31
II.2.2.3. Incidence.....	31
II.2.2.4. Sévérité	32
II.2.3. Evaluation de l'impact du rhizobium sur la nodulation.....	32
CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION	34
III.1. RESULTATS	34
III.1.1. Identification des Maladies du soja présentes dans la zone d'étude.....	34
III.1.1.1. Maladies identifiées.....	34
III.1.1.2. Rouille asiatique	34
III.1.1.2.2. <i>Cercosporiose</i>	34
III.1.2. Effet des souches de rhizobiums sur les paramètres de la maladie	37
III.1.2.1. Effet des souches de rhizobiums sur l'incidence de la rouille.....	37
III.1.2.2. Effet des souches de rhizobiums sur l'incidence de la <i>Cercosporiose</i>	38
III.1.2.3. Effet des souches de rhizobiums sur la sévérité de la rouille	39
III.1.2.4. Effet des souches de rhizobiums sur la sévérité de la <i>Cercosporiose</i>	40
III.1.3. Evaluation de l'impact du rhizobium sur la nodulation.....	41
III.1.4. Corrélation entre la nodulation et les paramètres de la maladie.....	42
III.2. DISCUSSION	42
CHAPITRE IV- CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	45
IV-1 CONCLUSION.....	45
IV-2 PERSPECTIVES.....	45
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	46
ANNEXES	52

LISTE DE TABLEAUX

Tableau I. Stade phénologique du soja (Mouhouche, 2007).....	6
Tableau 2. Autres maladies du soja.....	13
Tableau 3. Différences principales entre les nodules de type déterminé et indéterminé (Sutton, 1983 ; Hirsch, 1992).....	18
Tableau 4. Caractéristiques et origine des différentes variétés de soja.....	21
Tableau 5. Corrélation entre la nodulation et les paramètres de la maladie.....	42

LISTE DE FIGURES

Fig. 1. Schéma annoté d'un plant de soja (Anonyme, 1998).....	4
Fig. 2. Différentes étapes de développement de la plante de soja (Mouhouche, 2007)	6
Fig. 3. Produits non fermentés du soja fabriqués au Cameroun : A) bouillie de soja ; B) brochette de soja (Anonyme, 2016).	9
Fig. 4. Produits fermentés par quelques industries au Cameroun (A= lait de soja et B= yaourt de soja) 9	
Fig. 5. Produits de la trituration du soja camerounais (A= huile et B= tourteau).....	10
Fig. 6. Différents symptômes de la rouille. (Reid, 2002).	13
Fig. 7. Différentes étapes de l'établissement de la symbiose rhizobia-légumineuse. (Hirsch, 1992) ...	18
Fig. 8. Coupe transversale d'un nodule de soja : (A) la zone infectée (ZI) entourée du cortex nodulaire, (B) d'une zone corticale proche d'une trace vasculaire (TV), (CE) cortex externe (CM) cortex moyen, (CI) cortex interne, (CIN) cellules infectées, (CNI) et cellules non infectées (Drevon et al., 1995). ...	18
Fig. 9. Site expérimental (Kameni, 2022)	20
Fig. 10. Différentes variétés de soja utilisées (A=TGX 1910 14F ; B=MAKSOY 4N ; TGX 1835 10E).	21
Fig. 11. Différents symptômes de la rouille (A = petites taches sphériques de couleur jaune ; B = pustules sur la partie inférieure des feuilles malades ; C= Urédospores observé au microscope)	34
Fig. 12. Symptômes et caractéristiques macroscopiques et microscopiques de l'agent pathogène de la cercosporiose (A=symptome, B= isolat, C= fructification)	35
Fig. 13. Symptômes et caractéristiques macroscopiques et microscopiques de l'agent pathogène de Corynesporose (A= symtomes ; B= isolat ; C= fructification).....	35
Fig. 14. Symptomes et caractéristiques macroscopiques et microscopiques de l'agent pathogène de Fusarium (A= symptomes ; B= isolat ; C= fructification)	36
Fig. 15. Symptômes et caractéristiques macroscopiques et microscopiques de l'agent pathogène de Rhizoctoniose (A= symptômes ; B= isolat ; C= fructifications)	37
Fig. 16. Symptômes et caractéristiques macroscopiques et microscopiques de l'agent pathogène de l'Antracnose (A= symtomes ; B= isolat ; C= fructification)	37
Fig. 17. Variation de l'incidence de la rouille	38
Fig. 18. Variation de l'incidence de la cercosporiose.....	39
Fig. 19. Effet des souches de rhizobiums sur la sévérité de la rouille.....	40
Fig. 20. Effet des souches de rhizobiums sur la sévérité de la cercosporiose	41
Fig. 21. Variation du nombre de nodules	41

LISTE DES ABREVIATIONS

HDL	:	High Density Lipoprotein
NKS	:	Nématode à kyste du Soja
PGPR	:	Pants Growth Promoting Rhizobacteria
FAO		Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
YEM		Yeast Extrac Manitol
MINADER		Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural
IRAD		Institut de Recherche Agricole pour le Développement
IMPM		Institut de la Recherche Médicales et d'étude des Plantes Médicinales
SAS		Semaine Après Semis
IITA		International Institute of Tropical Agriculture
K₂HPO₄		Hydrogenophosphate de potasium
NaCl		Chlorure de sodium
MgSO₄		Sulfate de Magnésium
CaCL₂		Chlorure de Calcium
FeCL₃		Chlorure de Fer
pH		Potentiel Hydrogène

RESUME

La présente étude réalisée à Mbalmayo pendant la période d'Avril à Juillet 2022 avait pour objectif d'évaluer l'effet des rhizobiums dans l'induction de la résistance aux maladies de trois variétés de soja en champ dont TGX-1910-14F, MAKSOY-4N, TGX-1835-10E. Trois souches de rhizobiums ont été utilisées. Le dispositif expérimental utilisé était un bloc complètement randomisé comportant trois blocs et chaque bloc comprenait 12 unités expérimentales. Les graines ont été enrobées avec le rhizobium avant d'être semées. Ensuite, les rhizobiums ont été appliqués deux semaines après semis (SAS) sur les jeunes plantes. La prise des paramètres s'est effectuée toutes les deux semaines à partir de la deuxième SAS. Plusieurs symptômes de maladies ont été observés et les plus prononcés ont été quantifiés. La maladie a été quantifiée à partir de cinq SAS. Les résultats montrent que l'incidence de la rouille variait de 1,6 à 19 % de la cinquième à la onzième SAS pour les variétés inoculées avec les souches 1 et 2, de 1,7 à 40 % pour les variétés inoculées avec la souche 3 et de 6,1 à 75 % pour les variétés non inoculées (S0) durant les mêmes périodes. Pour ce qui est de la *cercosporiose*, elle variait de 1,1 à 14 % la cinquième semaine à la onzième SAS pour les variétés inoculées avec les souches 1, 2 et de 6,1 à 17 % pour les variétés inoculées avec la souche 3. Les souches non inoculées S0 enregistraient des valeurs plus élevées. Elles variaient de 8,1 à 59 % au cours des mêmes périodes d'observation. La sévérité de la rouille et de la *cercosporiose* variaient en fonction du temps sur toutes les variétés de soja. En effet, l'analyse des variances des résultats enregistrés montre que la sévérité de la rouille variait de 0,4 à 14,9 % pour les variétés inoculées avec la souche 1 et 2, de 0,4 à 35,5 % pour les variétés inoculées avec la souche 3 et de 3 à 80 % pour les variétés non inoculées S0. Quant à la *cercosporiose*, la sévérité variait de 0,4 à 13 % pour les variétés inoculées avec la souche 1 et 2, de 0,4 à 17 % pour les variétés inoculées avec la souche 3 et de 3 à 67 % pour les variétés non inoculées S0 de la cinquième à la onzième SAS. En ce qui concerne la nodulation, une différence significative a été observée entre les variétés inoculées et les variétés non inoculées. De même, la grande valeur a été observée sur la souche 2 avec 44 nodules par plant de soja contre 8 nodules pour les variétés non inoculées. Cette étude montre que, l'apport des rhizobiums induit significativement une résistance aux maladies du soja (la rouille et la *cercosporiose*).

Mots clés : *Glycine max* incidence, sévérité, variété, rhizobiums, nodules.

ABSTRACT

The present study carried out in Mbalmayo during the period from April to July 2022 aimed to evaluate the effect of rhizobia in the induction of disease resistance in three varieties of soybeans in the field. : TGX-1910-14F, MAKSOY-4N, TGX-1835-10E. Three strains of rhizobia were used. The experimental device used was a completely randomized block comprising three blocks and each block comprised 12 experimental units. The seeds were coated with the rhizobium before being sown. Then, the rhizobia were applied two weeks after sowing (SAS) on the young plants. Parameters were taken every two weeks from the second SAS. Several disease symptoms were observed and the most pronounced were quantified. Disease was quantified from five SAS. The results show that. Indeed, the analysis of variances of the recorded results shows that the severity of the rust varied from 0.4 to 14.9 % for the varieties inoculated with strain 1 and 2, from 0.4 to 35.5 % for the varieties inoculated with strain 3 and from 3 to 80 % for non-inoculated S0 varieties. As for Sigatoka, the severity varied from 0.4 to 13 % for varieties inoculated with strain 1 and 2, from 0.4 to 17 % for varieties inoculated with strain 3 and from 3 to 67 % for varieties non-inoculated S0 from the fifth to the eleventh SAS. 9 % for varieties inoculated with strain 1 and 2, from 0.4 to 35.5 % for varieties inoculated with strain 3 and from 3 to 80 % for varieties not inoculated S0. As for Sigatoka, the severity varied from 0.4 to 13 % for varieties inoculated with strain 1 and 2, from 0.4 to 17% for varieties inoculated with strain 3 and from 3 to 67 % for varieties non-inoculated S0 from the fifth to the eleventh SAS. 9 % for varieties inoculated with strain 1 and 2, from 0.4 to 35.5 % for varieties inoculated with strain 3 and from 3 to 80 % for varieties not inoculated S0. As for Sigatoka, the severity varied from 0.4 to 13 % for varieties inoculated with strain 1 and 2, from 0.4 to 17 % for varieties inoculated with strain 3 and from 3 to 67 % for varieties non-inoculated S0 from the fifth to the eleventh SAS. Regarding nodulation, a significant difference was observed between the inoculated varieties and the non-inoculated varieties. Similarly, the high value was observed on strain 2 with 44 nodules per soybean plant against 8 nodules for the non-inoculated varieties. This study shows that the contribution of rhizobia significantly induces resistance to soybean diseases (rust and Sigatoka).

Key words: Glycine max incidence, severity, variety, rhizobia, nodules.

INTRODUCTION

L'agriculture reste la principale activité au Cameroun car, elle occupe plus de 62 % de la population active (Anonyme, 2012). Pilier important des pays en développement, elle constitue la principale source de nourriture, de revenus et d'emploi pour leurs populations. Malgré cela, la production agricole reste insuffisante du fait qu'elle ne satisfait pas aux besoins de consommation de la population. Dans ce secteur, les légumineuses sont parmi les familles végétales les plus utiles à l'homme et occupent une place importante que ce soit dans le domaine alimentaire, industriel, écologique ou agronomique. Dans le secteur de l'industriel, elles représentent une source très importante de la matière première dans la production des dérivés alimentaires tels que l'huile, les farines et les conserves (Lee *et al.*, 2007). La culture des légumineuses joue un rôle primordial dans la plupart des programmes de nutrition, de lutte contre la pauvreté et contribue significativement aux revenus des familles. Parmi ces légumineuses, le soja (*Glycine max*) est une espèce de plante annuelle originaire du nord et du centre de la Chine (Hymowitz, 2004) dont la production mondiale est de l'ordre de 336 milliard de tonnes par an (Anonyme, 2017). Cette production est largement dominée par trois pays : les Etats-Unis (159 Mt), qui sont les premiers producteurs devant le Brésil (33 Mt) et l'Argentine (21 Mt) (Marie-Hélène *et al.*, 2007).

En Afrique, la plus grande production est assurée par le Nigeria avec une production annuelle de 300 000 mille tonnes (Mohamed, 2016). Au Cameroun la production moyenne est de 30425 tonnes par an (Anonyme, 2020). Les conditions climatiques sont favorables à la culture du soja dans toutes les régions. Le soja fait l'objet d'un système de production intensive dans l'agriculture rurale et urbaine. *Glycine max*, « graine d'or, viande des pauvres ou cendrillon des légumineuses » est cultivé pour ses graines riches en protéine et en huile. Le soja constitue la première source de protéine et d'huile dans le monde (Brit *et al.*, 2004). Ses graines peuvent contenir 30 à 50 % de protéines de qualité du fait qu'elles apportent les 8 acides aminés indispensables (Simon, 2005 ; Collard & Tap, 2005) et la qualité de ses protéines est bonne presque comparable à celle des protéines animales. Elles sont aussi plus au moins riches en vitamine A, B, C, et D, en acide gras insaturés en sels minéraux notamment le calcium et le potassium (De Staercke, 1990) et constitue une ressource économique importante.

Bien que le soja soit très apprécié dans la quasi-totalité du territoire national, sa production est limitée par de multiples facteurs tels que le non-respect des pratiques agricoles, la faible fertilité des sols, ainsi que les contraintes abiotiques (température, climat etc.) et biotiques (maladies et ravageurs) (Anonyme, 2013). Cependant les maladies constituent les

facteurs majeurs qui nuisent à la culture du soja, causant d'importants dégâts et des pertes non-négligeables, allant de 30 à 100 % en l'absence de moyens de lutttes appropriées (Buruchara *et al.*, 2010). Pour faire face à ces problèmes, et garantir une production importante du soja, beaucoup de pays ont opté pour l'utilisation importante des pesticides de synthèses. La forte utilisation de ces pesticides est considérée comme un préalable à la réussite d'une stratégie de développement agricole rapide. Ces produits phytosanitaires sont le moyen le plus efficace pour lutter contre les maladies et ravageurs du soja (Gnago *et al.*, 2010). Vu leurs propriétés toxicologiques, ils constituent un véritable danger, et sont actuellement parmi les principaux polluants environnementaux à l'origine des résidus toxiques responsables de nombreuses maladies humaines (Agboyi, 2006).

La recherche des méthodes alternatives plus efficaces, moins coûteuses, non polluantes avec l'utilisation d'extraits de plantes et des rhizobiums comme bio-pesticides présente un intérêt dans la lutte contre les maladies des cultures tout en assurant une production durable. Les propriétés biopesticides de certains rhizobiums sont démontrées par plusieurs travaux. Différents travaux ont démontré les effets bénéfiques de *Rhizobium leguminosarum* sur la laitue et la canne à sucre (Singh *et al.*, 2013). (Ahmed *et al.*, 2007) ; Kumar *et al.*, (2011) ; (Desalegn *et al.*, 2016) ont démontré que les rhizobiums diminuent l'incidence et la sévérité des maladies fongiques en champ. Les questions de recherches sont les suivantes : quel est l'effet des rhizobiums sur les paramètres de la maladie ? Quel est l'effet des rhizobiums sur la nodulation ? D'où l'objectif général de ce travail d'évaluer l'effet des rhizobiums dans l'induction de la résistance des maladies du soja en champ. Plus spécifiquement, il s'agissait de :

- identifier les maladies du soja présentes dans le site d'étude ;
- déterminer l'effet des rhizobiums sur les paramètres des maladies du soja en champ ;
- évaluer l'impact des rhizobiums dans la nodulation.

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE

I.1. Généralités sur le soja (*Glycine max*).

I.1.1. Origine et distribution.

L'histoire du soja commence en Orient, au moins 3000 ans avant l'ère chrétienne. Comme aliment de base, le soja est consommé en Asie depuis au moins 5000 ans. En Chine, il fait même partie des cinq grains sacrés (avec le blé, orge, riz et millet). De la Chine, le soja s'est répandu vers le sud, en Chine centrale, méridionale et en Corée. Au 15^{ème} siècle, le soja était cultivé au Japon, en Indochine, en Thaïlande, dans la péninsule de Malaisie, en Birmanie, au Népal et dans le nord de l'Inde. Aux Etats-Unis, la production de soja a connu une progression sensible durant la seconde guerre mondiale afin de répondre à une demande accrue en huiles végétales. Depuis les années 1970, la production s'est étendue dans les régions tropicale, y compris en Afrique tropicale (Javaheri & Baudoin, 2001).

Toutefois, la distribution actuelle du soja sauvage concerne certaines régions de la Chine et de l'Est de l'ex-union Soviétique, Taïwan, le Japon et la Corée. Le soja a été introduit en Europe dans les années 1790, au début du 19^{ème} siècle dans le Monde et en Afrique. Sur le continent africain, il a d'abord été cultivé en Algérie avant de se répandre vers le début du 20^{ème} siècle au Nigeria, en Ouganda, au Congo Kinshasa et au Zimbabwe.

I.1.2. Systématique et description botanique.

Le soja de son nom scientifique *Glycine max*, appartient à la famille des Fabacées, à l'ordre des Fabales, à la sous famille des Papiollionaceae, à la tribu des Phaseoleae et au genre *Glycine* (Demol *et al.*, 2002 ; Hymowitz, 2004). Ce genre est composé de près de 280 espèces représentées par des plantes arbustives ligneuses, herbacées vivaces et annuelles. C'est une plante à reproduction autogame, tétraploïde ($2n=40$) (Acia, 2012). Le soja est une plante pubescente et érigée qui peut atteindre 1m et 1m 60 de hauteur à la maturité. Il existe de nombreuses variétés de soja pouvant se différencier par le port dressé, grimpant ou rampant (Demol *et al.*, 2002). C'est une légumineuse proche du haricot et est très souvent cultivée pour ses graines oléagineuses qui fournissent la deuxième huile alimentaire la plus consommée au monde après l'huile de palme.

Les fruits sont des gousses très velues de 3 à 8 cm de forme droite ou arquée qui se développent aussitôt et terminent leur maturité après la chute des feuilles (Lersten & Carlson, 2004). Ces graines sont de forme sphérique ou elliptique et de diamètre d'environ 5 à 6 mm.

Les feuilles sont trifoliées, alternes et qui mesurent 6 à 15 cm de long et 2 à 7 cm de large (Simon, 2005). Les variétés commerciales forment le plus souvent des gousses qui ne

contiennent que 2 à 3 graines de couleur jaunes (Lersten & Carlson, 2004). C'est une plante olé-protéagineux qui contient en moyenne 22 % d'huile et 40 % de protéines (Giller, 2009).

Les fleurs de couleur blanche ou mauve selon les variétés, sont de petites tailles presque inaperçues à l'aisselle des feuilles. Elles sont hermaphrodites et autogames. Cependant, la pollinisation croisée est parfaitement possible (Simon, 2005).

Son système racinaire est de type pivotant et est constitué d'une racine principale et d'un grand nombre de racines secondaires (Fig.1). Comme la majeure partie des légumineuses, le soja est capable de vivre en symbiose avec les bactéries de la famille des *rhizobiaceae*. L'association se traduit par la formation du nodule, organe caractéristique de la symbiose. Les nodules se forment 15 à 20 jours après le semis et sont de forme sphérique (Mouhouche, 2007).

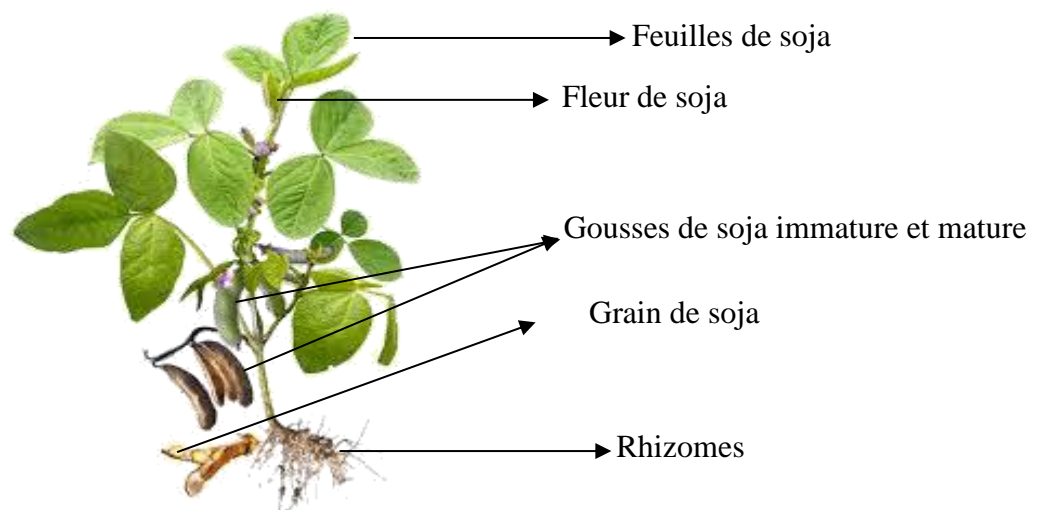


Fig. 1.Schéma annoté d'un plant de soja (Anonyme, 1998).

I.1.3. Phase végétative

Le cycle végétatif du soja varie selon la variété qu'elle soit précoce ou tardive, de 90 à 150 jours (Simon, 2005). Ses stades de développement sont les suivants :

- stade de germination-levée, sa durée varie entre 5 et 8 jours. Ce stade correspond à la germination et à la levée des plantules. Il est fortement influencé par la température et l'humidité des sols. La température du sol pour ce stade, ne doit pas être inférieur à 8-10 °C (Meier, 2001 ; Mouhouche, 2007) ;
- stade végétatif, d'une durée de 25 à 35 jours, ce stade est marqué par le développement végétatif le plus important comparé aux stades restants. Ce développement fournit une bonne assise pour une fructification (Meier, 2001 ; Mouhouche, 2007) ;

- stade de floraison-fructification, ce stade débute 30 à 35 jours après le semis et dure 35 à 45 jours suivant les variétés. L'inflorescence débute des nœuds de la base et progresse vers le sommet de la plante (Meier, 2001 ; Mouhouche, 2007) ;
- stade de maturité, ce stade dure 2 à 3 semaines. Le soja est dit mûr lorsque l'humidité de la graine atteint 12 à 14 %. Des taux d'humidité supérieures à 16 % peuvent causer des problèmes lors des stockages du soja (Meier, 2001 ; Mouhouche, 2007).

I.1.4. Ecologie du soja

Le soja est une plante qui résiste relativement à la sécheresse. C'est une plante fragile, qui n'est pas très adaptée à l'excès d'humidité et qui est moyennement sensible à la salinité. Le soja présente ses plus grands besoins en eau en début de floraison et en début de fructification. Il est classé parmi les plantes de jours courts, parce qu'il fleurit plus vite lorsque les jours sont courts ou décroissants (Mouhouche, 2007). La germination du soja exige une température minimale de 10 °C et selon la région considérée. Il peut présenter des besoins en eau de l'ordre de 250 à 450 mm sur son cycle et peut s'adapter à différents types de sols à l'exception de sa sensibilité vis-à-vis du calcaire. De même, son adaptation sur les sols acides est faible et préfère les sols neutres. Il est donc préférable qu'un sol soit profond et meuble ayant une réserve en eau relativement élevée pour permettre à la culture de bien se développer (Cetiom, 2009).

I.1.5. Stades phénologiques du soja

Après avoir été semées, les graines commenceront à germer lorsque le sol aura maintenu au minimum 10 °C durant cinq à sept jours (Acia, 2012). Le premier stade phénologique (stade 0 de l'échelle BBCH) est séparé en étapes distinctes qui mèneront à une germination complète. Ces étapes sont : l'imbibition de la graine, la sortie et élongation de la radicule, l'apparition des poils absorbants, le fractionnement des téguments par l'hypocotyle et les cotylédons, le développement de l'hypocotyle, la levée caractérisée par l'émergence de l'hypocotyle et des cotylédons (Burton, 1997). La durée des stades dépend surtout de la température, de l'humidité du sol et la croissance optimale se situe entre 15 et 22 °C (Thuzar *et al.*, 2010).

Ensuite, les étapes du développement végétatif s'entameront lorsque les cotylédons et la première paire de feuilles unifoliées sur le premier nœud seront complètement étalés (environ du stade 1 à 4 selon l'échelle BBCH). À partir de la floraison, les températures optimales pour la pollinisation et pour le remplissage des gousses varieront entre 20 et 25 °C. Lorsque 95 % des gousses auront une couleur typique (noire, brune ou fauve) et que les grains seront secs et durs, la phase reproductive prendra fin. Contrairement au développement végétatif, fortement influencé par les conditions d'humidité, les températures, la compaction, les apports nutritifs et

la nodulation, le développement reproductif dépendra surtout de la photopériode (Burton, 1997). Finalement, la sénescence (stade 9 de l'échelle BBCH) est atteinte lorsque 10 % des feuilles sont sèches ou décolorées (Munger et *al.*, 1997).

Lors de son passage par les différents stades de développement, la plante de soja subit des changements phénologiques (Fig. 2). Ces changements constituent des stades bien déterminés telle que décrit par l'échelle BBCH (Biologische Bundesanstalt Bundessortenamt Chimiche Industrie) (tableau 1).

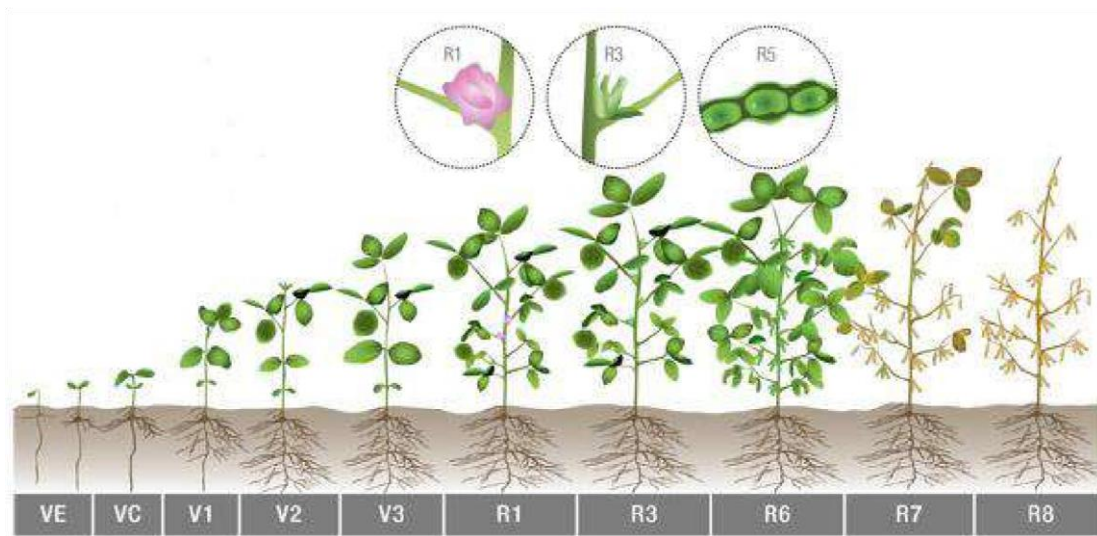


Fig. 2. Différentes étapes de développement de la plante de soja (Mouhouche, 2007)

Tableau I. Stade phénologique du soja (Mouhouche, 2007)

Stades	Description
VE	Emergence, les cotylédons sont au-dessus de la surface du sol ;
VC	Les premières feuilles unifoliées apparaissent au niveau des cotylédons au bord de leur limbe ne se touchant plus ;
V1	Premier nœud : étalement complet des feuilles unifoliées ;
V2	Deuxième nœud : la première feuille trifoliée est développée ;
Vn	Nième nœud ;
R1	Début de floraison : une fleur est épanouie à n'importe quel nœud de la tige principale ;
R2	Floraison entière ;
R3	Première gousse : une gousse de 5 mm de long sur l'un des 4 nœuds les plus élevés de la tige principale ;
R4	Gousses entières ;

- R5 Première graine : une graine mesure 3 mm dans une gousse ;
R6 Graine entière ;
R7 Début de maturité ;
R8 Maturité.
-

I.2. IMPORTANCE ET UTILISATION DU SOJA :

L'importance du soja est due à sa nature de plante légumineuse et oléagineuse. Ainsi qu'à la qualité nutritionnelle de ses graines et la diversité de leurs produits dérivés

I.2.1. Sur le plan écologique :

La culture du soja contribue à la baisse des quantités d'engrais de synthèse apportée dans la rotation. Et ceci est dû à sa grande capacité à fixer l'azote. Il offre la possibilité de réduire le nombre de passages pour la préparation de la culture qui suit en raison de son effet bénéfique sur la structure du sol. La durée du cycle de soja permet de limiter les maladies et les parasites qui se conservent ou qui se développent dans le sol. Elle permet aussi de rompre le cycle de certaines mauvaises herbes et de contrôler celles qui sont difficiles à détruire dans d'autres cultures. Enfin, le soja est une culture qui nécessite très peu de traitements antiparasitaires contre les maladies ou les ravageurs (Cetiom, 2009).

I.2.2. Sur le plan nutritionnel

L'utilisation du soja dans l'alimentation humaine et animale n'est plus à démontrer. Elle va de l'utilisation directe de la graine (tofu, viande de soja, lait de soja) aux dérivés (lécithine) en passant par l'huile et les compléments alimentaires (Chatenet, 2007). L'huile de soja est aujourd'hui la deuxième huile la plus consommée après l'huile de palme. Le soja ou « la viande des pauvres » est considéré par les chinois comme la première source de protéines et d'huile dans le monde (Birt *et al.*, 2004). Ses graines peuvent contenir 30 à 50 % de protéines de qualité car elles apportent les 8 acides aminés indispensables. C'est l'une des raisons pour laquelle il est utilisé dans l'alimentation des enfants en état de sevrage pour compenser le déficit protéique (Gustave, 2011). Par ailleurs, il faut noter que la plus grande partie du soja cultivé est destinée à la trituration et par ricochet, à l'utilisation des tourteaux dans l'alimentation des animaux d'élevage (bovins, porcins, volaille,...).

I.2.3. Sur le plan économique

Quelques études ont montré qu'en dehors de l'utilisation du soja dans l'alimentation humaine et animale, le soja pouvait être également utilisé dans la production de biocarburant.

Le soja posséderait un atout considérable pour la production de biodiésel comparé aux autres espèces tel que le palmier à huile (Sachs, 2006) .Au Nigéria, les chercheurs ont montré que la rotation soja-mais sur deux ans pourrait favoriser une augmentation du rendement de 50 % à 70 % par rapport à la monoculture du maïs (Carsky, Doiuthwaite, Manyong, Sanginga, Schulz, 2003). La culture du soja possède deux atouts environnementaux : une faible émission de gaz à effet de serre et une utilisation modérée des produits phytosanitaires (Jouffret *et al.*, 2015).

I.2.4. Sur le plan sanitaire

Le soja lutte contre les maladies cardiovasculaires et de l'ostéoporose (Wilson, 2004 ; Collard & Tap, 2005). Le soja est un aliment fonctionnel présentant un profil intéressant de composés bénéfiques pour la santé humaine. Il améliore l'état du bien-être et diminue le risque de maladie (Robertfroid, 2000). Les germes de soja (aliment fermenté) permettent de maintenir l'équilibre du profil hormonal de la femme post ménopausée (Pétri Nahas *et al.*, 2004) et de réduire le nombre de bouffées de chaleur qui survient au moment de la ménopause (Szkutnik-Fiedler *et al.*, 2010). Cet ingrédient permet d'augmenter les lipoprotéines de haute densité (HDL) correspondant au bon cholestérol et de diminuer la pression sanguine (Bruckert & Rosenbaum, 2011). L'administration des germes de soja a été associée à des propriétés préventives du développement des tumeurs au niveau des cellules mammaires chez le rat (Zaizen *et al.*, 2000).

I.2.5. Produits dérivés du soja

Les produits dérivés du soja peuvent être classés en deux groupes parmi lesquels : les produits fermentés et les produits non fermentés.

I.2.5.1. Produits non fermentés

De nombreux produits traditionnels dérivant du soja sont fabriqués au Cameroun (Fig 3). On peut citer entre autres : les ''steaks'' de soja (galettes), le gâteau de soja, la bouillie de soja, la viande de soja et la macédoine de soja. Le tonyu (ou lait de soja) et le tofu sont les aliments issus de la transformation directe de la graine après lui avoir enlevé les composés antinutritionnels. Et la plupart du temps par simple chauffage (Chatenet, 2007).

A

B



Fig. 3. Produits non fermentés du soja fabriqués au Cameroun : A) bouillie de soja ; B) brochette de soja (Anonyme, 2016).

I.2.5.2. Produits fermentés

Le processus de fermentation peut se réaliser à partir de la graine ou bien à partir du tonyu ou du tofu. La fermentation du soja utilise des ferments spécifiques composés de microorganismes (levures, bactéries lactiques...) qui varient selon l'ingrédient de base ayant servi à leur culture. Shoyu, sauce soja, est issu de la fermentation du koji, mélange de sel marin (17 %), de soja et de blé en proportion variable avec des levures (Kataoka, 2005 ;Chatenet, 2007). Au Cameroun, le lait de soja ainsi que le yaourt de soja sont fabriqués de différentes manières par les paysans ainsi que par les industries (Fig. 4).



Fig. 4. Produits fermentés par quelques industries au Cameroun (A= lait de soja et B= yaourt de soja)

I.2.5.3. Produits de la trituration du soja

La trituration des graines de soja est l'opération qui consiste à extraire l'huile des graines de soja (Fig.5.) et permet la production de tourteaux (Solonet *et al.*, 2011). Cette technique consiste à trier, décortiquer, nettoyer, broyer, cuire les graines de soja et dilapider les fragments d'amande à l'aide de l'hexane comme solvant. Ce solvant volatil sera séparé de

l'huile brute qui elle, sera récupérée (Colot & Louis, 2012). L'huile de soja entre surtout dans la composition de nombreux produits issus de l'industrie agroalimentaire comme les margarines, vinaigrettes, mayonnaises et pâtes à tartiner (Roussel, 2005). Malgré son utilisation agroalimentaire, l'huile de soja est devenue la principale matière première pour la production de biodiesel particulièrement utilisé au Brésil (80 % du biocarburant brésilien) (Solanet *et al*, 2011). Elle entre aussi dans la composition de bioproduits comme les solvants non toxiques et les encres d'imprimantes. Une fois raffinée, elle peut aussi être utilisée dans l'alimentation parentérale car, elle est calorique et contient des acides gras essentiels (Chatenet, 2007).



Fig. 5. Produits de la trituration du soja camerounais (A= huile et B= tourteau)

I.3. ENNEMIS ET RAVAGEURS DU SOJA

Il existe de nombreux organismes nuisibles qui ont le potentiel d'affecter le rendement des cultures de soja et de causer d'importantes pertes économiques. Ceux-ci s'attaquent à la plante à différents stades de croissance. Parmi ces ennemis, on retrouve les ravageurs, les nématodes et les maladies. Le développement de ces maladies dépend de l'interaction entre les trois facteurs (plantes, le pathogène et son environnement). Par ailleurs, la culture du soja dépend des facteurs abiotiques liés au sol et au climat.

I.3.1. Ravageurs

Les principaux ennemis majeurs du soja sont les insectes (une quarantaine environ). Car ils ont le potentiel de compromettre les récoltes sur le plan économique. Parmi ces ravageurs, les plus importants sont les herbivores défoliateurs (lépidoptères, coléoptères et orthoptères), les piqueurs-suceurs (hémiptères) et ceux s'attaquant aux graines (coléoptère et diptères) (O'Neal & Jonhson,

2010). Les espèces causant le plus de dommages sont la mouche des légumineuses (*Delia platura*), le puceron du soja (*Aphis glycines*) et la Chrysomèle du haricot (*Cerotoma trifurcata*) (Strilchuk, 2006).

I.3.2. Nématodes

Les nématodes sont comptés parmi des organismes ayant causés les dommages importants à la culture du soja en 2006 (Wrather *et al.*, 2010). Son organisme causal est *Heterodera Glycines*. Ces nématodes (nématodes à kyste du soja) présentent des symptômes suivants : les symptômes foliaires des plantules vont du léger rabougrissement à la chlorose aigue et à la mort. Les plantes mûres peuvent être rabougris, chlorotiques ou les deux à la fois. Pour un bon diagnostic, il est important de ne pas tenir uniquement compte des symptômes, car les carence en diazote (N₂) et potassium (K) peuvent causer des symptômes similaires sur les plantes (Akem, 1992). Ces NKS occasionnent des pertes variant de 5 à 100 %. L'une des raisons expliquant ces pertes repose sur l'habileté des nématodes à survivre à des conditions adverses autant à l'extérieur qu'à l'intérieur de l'hôte et ce, à chaque stade de son cycle de vie (Anne-F, 2013). Malheureusement, quand les symptômes de la présence du NKS se manifestent sur les plants, les agriculteurs ont déjà subi de lourdes pertes de rendement. Ces organismes microscopiques en forme d'anguillules endommagent le système racinaire, ce qui empêche le plant d'absorber l'eau et les éléments nutritifs.

I.3.3. Maladies du soja

De nombreuses maladies attaquent la culture du soja. Les plus persistantes sont les maladies bactériennes, les maladies fongiques et les maladies virales.

I.3.3.1. Brûlure bactérienne

L'agent causal de cette maladie est *pseudomonas syringae pv. Glycine*. C'est la principale maladie bactérienne rencontrée chez le soja. Elle cause très souvent des pertes de rendement et nuit à la qualité des semences lorsque le temps est frais et pluvieux. Les symptômes sont les suivants : les lésions sont visibles sur les feuilles. Mais elles affectent aussi les tiges, les pétioles et les gousses. Des petites taches angulaires, translucides et détrempées, de couleur jaune à marron claire apparaissent sur les feuilles. Le centre de ces taches se dessèche et noircit (brun rougeâtre à noir). En général, celui des vieilles lésions tombent ou se déchirent, laissant les feuilles dans un état délabré, surtout après des pluies et des vents forts. Les feuilles inférieures peuvent tomber prématurément. Les graines s'infectent et finissent parfois par se couvrir d'une couche visqueuse (Akem, 1992).

I.3.3.2. Pusture bactériennes.

Elle a pour agent causal *Xanthomonas campestris* pv *Glycines*. Les premiers symptômes sont des minuscules taches vertes et pâles avec des centres saillants sur une face ou sur les deux faces foliaires. Par la suite, une petite pusture claire et saillante se forme au centre et provoque généralement des lésions sur la face inférieure de la feuille. Les feuilles paraissent déchiquetées lorsque les parties mortes sont arrachées par le vent. Quand elle est sévère, l'infection entraîne souvent la défoliation. Les taches foliaires se forment parfois sans produire de pustures. Les symptômes des pustures bactériennes ressemblent parfois à ceux de la bactériose. Les lésions pustuleuses ne sont toutefois pas gorgées d'eau au premier stade ; ce sont généralement de minuscules pustules saillantes au centre (Akem, 1992).

I.4. Maladies fongiques

I.4.1. Cercosporiose

Elle est également appelée tache foliaire à *cercospora* et a pour agent causale *cercospora sojina*. La *cercosporiose* est essentiellement une maladie du feuillage, mais les tiges, les gousses et les graines peuvent également être infectées. Des taches minuscules (circulaires à anguleuses) de couleur brun rougeâtre apparaissent d'abord sur la face supérieure des feuilles. Au fur et à mesure que les lésions s'élargissent et vieillissent, la partie centrale devient gris cendre et est encerclée par une mince ligne brun rougeâtre foncé. Plusieurs taches peuvent se joindre pour former des taches plus grandes et irrégulières. Lorsque les lésions sont nombreuses, les feuilles fleurissent et tombent prématurément (Akem, 1992).

I.4.2. Rouille

La Rouille du soja est une maladie fongique causée par deux champignons : *Phakopsora pachyrhizi* et *meibomia*. Le *P. pachyrhizi* est reconnu comme un champignon particulièrement virulent causant des dommages plus importants au soja comparativement à *P. meibomia* dont la virulence est qualifiée de faible.

Les symptômes les plus courants sont de petites lésions de couleur chamois à brun foncé ou de couleur brun-roux, de 2 à 3 mm de diamètre. Ces lésions apparaissent le plus souvent sur le dessous des feuilles. Mais elles se manifestent également sur les pétioles, les gousses et les tiges (Fig. 6). Elles forment des pustules où sont produites les spores. Les lésions de couleur chamois produisent davantage de spores que les lésions de couleur brun-roux. Les feuilles infectées ont une apparence tachetée. L'infection se déclare souvent sur les feuilles inférieures et monte le long du plant. Les feuilles finissent par jaunir et tomber (Anonyme, 2009). La perte de tissus photosynthétisants, la défoliation prématurée et la mort peuvent grandement diminuer les rendements. Au niveau des

gousses, la rouille empêche la maturation des graines. La rouille asiatique du soja peut être facilement confondue avec les taches brunes, le mildiou ou la brûlure bactérienne.

Les températures optimales pour le développement de la rouille du soja se situent entre 15 °C et 28 °C. Au-dessus de 29 °C et sous des conditions sèches, la progression de la maladie est ralentie. Une humidité élevée, la pluie et la rosée favorisent une progression rapide de la rouille.



Fig. 6. Différents symptômes de la rouille. (Reid, 2002).

I.4.3. Maladies virales

La mosaïque du soja est la principale maladie virale affectant la culture du soja et est causée par le virus de la mosaïque du soja. Ce virus est capable de survivre d'une saison à l'autre dans les graines infectées et est transmis d'un plant à l'autre par les pucerons. Les feuilles des plants infectés sont déformées, ridées et cloquées. Les plants infectés peuvent être rabougris.

I.4.4. Autres maladies du soja

Plusieurs autres maladies causent des pertes dans la production du soja. Le Tableau II est une illustration des autres maladies du soja.

Tableau 2. Autres maladies du soja

Maladies	Agents pathogènes	Symptômes
Mildiou du pied/pourridié phytophthoréen	<i>Phytophthora megasperma</i> Var. sojae	flétrissement et décoloration des feuilles qui deviennent gris mat, puis noires, et qui restent attachées à la plante
Mildium	<i>Peronospora manshurica</i>	Petites taches jaune à la surface de des feuilles, lésions brunes
Pourridié/ Sclérotiniose	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Flétrissement des plantes
Pourridié fusarien du soja	<i>Fusarium spp</i>	Pourriture racinaires et de la base des tiges
Graines pourpres/ Cercosporose	<i>Cercospora kikuchii</i>	Taches foliaires, attaque des gousses

Syndrome de la mort subite	<i>Fusarium solani</i> <i>f.sp.Glycines</i>	Fonte des semis et flétrissement de la plante
Pourriture brune des tiges	<i>Phialophora gregata</i>	Zones jaunâtres et nécrotiques entre les nervures
Brûlure phomopsienne	<i>Diaporthe phaseolorum</i>	points noirs formés en rangée longitudinale sur les tiges et les gousses en fin de saison
Rhizoctone commun	<i>Rhizoctonia solani</i>	Pourriture des semences, brûlure des plantules, rougeâtre sur les tiges
Chancre des tiges	<i>Diaporthe phaseolorum</i> <i>Var.caulivora et Var. menaronus</i>	Fonte des semi et flétrissement soudain des feuilles

I.4.5. Méthodes de lutte contre les ravageurs et les maladies du soja

Pour lutter efficacement contre ces maladies et ravageurs du soja, plusieurs méthodes de lutte ont été mises sur pied. On peut citer entre autres : la lutte culturale ; la lutte mécanique ou physique ; la lutte génétique ; la lutte chimique et la lutte biologique.

I.4.5.1. Lutte culturale

Elle permet de créer des conditions défavorables au développement de l'agent pathogène ou de diminuer la pression de l'inoculum. Le plus souvent, cette méthode vise à d'une part à débarrasser la plantation en début de campagne des restes de la précédente campagne et d'autre part à aérer suffisamment la plantation. La rotation des cultures avec du maïs et des céréales à paille peut aider à minimiser l'effet des maladies.

I.4.5.2. Lutte Génétique

Cette méthode repose sur la sélection des génotypes présentant un niveau élevé de résistance et/ou de tolérance aux maladies et ravageurs.

I.4.5.3. Lutte Chimique

Actuellement préconisée dans la plupart des pays producteurs, la lutte chimique est la plus efficace. Elle consiste en l'application alternée des pesticides chimiques de contact et systémiques homologués. C'est ainsi, que les insecticides organophosphatés, le diméthoate, sont homologués pour combattre les pucerons ; les fongicides contenant : le captane, thirame, carbathiine, métalaxyl et le fludioxonil sont utilisés pour combattre le pourridié phytophthoréen (Anonyme, 2006). Son impact positif ne pourrait en aucun cas masquer les dégâts causés tant

pour son utilisateur que pour l'environnement en général, sans oublier son coût extrêmement élevé.

La lutte intégrée intervient comme la voie la plus prometteuse pour de nombreuses raisons. Elle est définie comme un système qui, compte tenu du milieu particulier et de la dynamique de la population des espèces considérées, utilise toutes les techniques et les méthodes appropriées de façon aussi compatible que possible et de façon respectueuse de l'environnement, en vue de maintenir la population des ravageurs à des niveaux où ils ne posent pas de dommages économiques (Mariau, 1996).

I.4.5.4. Lutte biologique

C'est une méthode de lutte au moyen d'organismes vivants antagoniste, appelés agents de lutte biologique. Elle consiste en l'exploitation de relation hétérospécifique existante entre êtres vivants animaux et végétaux telles que la prédation, le parasitisme, la compétition, l'antibiose, sans faire appel à des pesticides chimiques. Elle a pour but de maintenir les populations d'organismes bio agresseurs en dessous d'un seuil de nuisibilité (Silatsa, 2006). C'est en cela que l'introduction de coccinelles convergentes (*Hippodamia convergens* guérin-méneville) permet de lutter contre le puceron du soja (*Aphis glycines* matsumura) (Dieynaba *et al.*, 2011). De nombreux travaux réalisés en champ ont montré un potentiel antifongique de différentes souches de rhizobiums dans le biocontrôle de quelques maladies du soja. D'autres sont également utilisés sous forme de préparations à base de broyats ou d'extraits qui sont incorporés aux sols cultivés et servent d'amendements organiques nématicides. (Cayrol *et al.*, 2006).

I.5. GENERALITES SUR LES RHIZOBIUMS

Le terme rhizobia est donné pour toutes les bactéries du sol capables de fixer l'azote atmosphérique et former des nodules sur les racines des plantes légumineuses, l'azote atmosphérique est fixé ou réduit en ammoniac pour être assimilable par les plantes (Asadirahmani *et al.*, 2009). Les rhizobia sont capables également d'interagir avec le système racinaire des plantes non légumineuses et d'améliorer la productivité agricole. Elles sont regroupées sous le terme de « Bactéries promotrices de la croissance végétale » (Plant growth promoting rhizobacteria ou PGPR). Ces bactéries en interaction mutualiste avec les plantes n'induisent pas la formation d'un organe spécifique. Mais les deux organismes impliqués tirent profit de cette relation non obligatoire. Différents travaux ont démontré les effets bénéfiques de *Rhizobium* sur la laitue et la canne à sucre (Singh *et al.*, 2013). Les effets bénéfiques de ces

PGPR se traduisent par une synthèse de phytohormones, de sidérophores (Ahemad & Khan, 2011).

I.5.1. Caractères généraux des rhizobia

Les rhizobia constituent 0,1 à 8 % de la flore bactérienne totale du sol (Sadorwsy et Graham, 1998). Ils se présentent sous forme de coccobacilles ou en bâtonnets réguliers de 0,6 à 0,8 µm de large sur 1 à 4 µm de long (Dommergues et Mangenot, 1970 ; Vincent, 1974), aérobies strictes (Pelmont, 1993), Gram négatives et asporulés (Jordan, 1984 ; Bekki, 1983), généralement très mobiles quand elles sont jeunes grâce à la présence d'un seul flagelle polaire ou 2 à 6 flagelles péritriches (Bergey's, 1984).

Ces bactéries se trouvent soit à l'état libre ou à l'état symbiotique sous forme de bactéroïdes avec une taille dix fois plus grande. Ces derniers ont une forme en X, Y et T (Dommergues et Mangenot, 1970). Sur milieu YEM gélosé (Vincent, 1970), ces bactéries forment des colonies de 2 à 4 mm de diamètre après 3 à 5 jours d'incubation, de couleur blanchâtres ou beiges, circulaires, convexes, semi translucides ou opaques, élevées et mucilagineuses. Les rhizobia sont des bactéries mésophiles, leur température optimale de croissance se situe entre 25 et 30 °C (Elkan, 1992). Certaines espèces peuvent se développer à des températures allant de 40,5 °C à 42 °C, c'est le cas de *Rhizobium meliloti* qui peut se développer à 42 °C (Affianha et Alexander, 1992). D'autres souches isolées des légumineuses ligneuses au Kenya, en Inde et au Pakistan peuvent croître à des températures variant entre 44 °C et 50 °C (Zahran, 1999). Cependant, la température de croissance des rhizobiums varie en fonction de l'espèce et de la région d'isolement (Cacciari *et al.*, 2003).

Si la plupart des *rhizobia* préfèrent la neutralité (Jordan, 1984), d'autres, au contraire, tolèrent des pH très bas (Vincent, 1977), c'est le cas de *Bradyrhizobium japonicum* qui supporte des pH de l'ordre de 3,5 à 4 (Dommergues et Mangenot, 1970). D'autre part, il a été montré que des souches de *Rhizobium* peuvent croître à des pH alcalins allant jusqu'à 12 (Kulkarni *et al.*, 2000).

En raison du temps de génération, les rhizobia sont classées en deux grands groupes :

- les rhizobia à croissance rapide ; avec un temps de génération de 2 à 4 heures, elles développent une turbidité remarquable dans un milieu de culture liquide après 2 à 3 jours. Elles sont capables d'utiliser une grande gamme d'hydrates de carbone (mais habituellement croissent mieux sur glucose, mannitol et saccharose) entraînant souvent une production d'acide.

- les rhizobia à croissance lente ; avec un temps de génération de 6 à 7 heures, elles exigent 3 à 5 jours pour la production d'une turbidité modérée dans un milieu liquide. Ce groupe de

rhizobia se développe sur une gamme moins large de sources de carbones et entraîne une production d'alcalis (Bala *et al.*, 2004).

I.5.2. Symbiose rhizobia-légumineuse fixatrice d'azote

I.5.2.1. Nodulation

Dans l'interaction entre la plante hôte et le rhizobia, les composés phénoliques (Flavonoïdes, chémoattracteurs) exsudées par la plante hôte entraînent chez la bactérie la production de lipo-oligosaccharides spécifiques dénommés les facteurs nod (Mulder *et al.*, 2005 ; Rodriguez-Navarro *et al.*, 2007). Ce sont des signaux moléculaires qui déclenchent la division des cellules corticales de la racine conduisant à la formation d'un nouvel organe différencié chez la plante, le nodule ou nodosité. Il existe deux types de nodules : des nodules déterminés et des nodules indéterminés. Les nodules déterminés sont issus de l'auxèse des cellules du méristème apical qui cessent son activité à maturation de la nodosité (Tableau IV). Les nodules indéterminés sont issus de mères du méristème apical persistant qui leur confère une croissance longitudinale. Le nodule du soja est de type déterminé. Une coupe transversale (Fig. 7) montre un cortex qui entoure la zone infectée. Ce cortex nodulaire est divisé en cortex externe (CE), moyen (CM) et interne (CI), les traces vasculaires sont localisées entre le CI et le CM (Lanetta *et al.*, 1993 ; Drevon *et al.*, 1995). Une assise, dite zone de distribution (ZD), séparerait le CI de la zone infectée (ZI) centrale, siège de la fixation de l'azote atmosphérique (Parsons & Day, 1990).

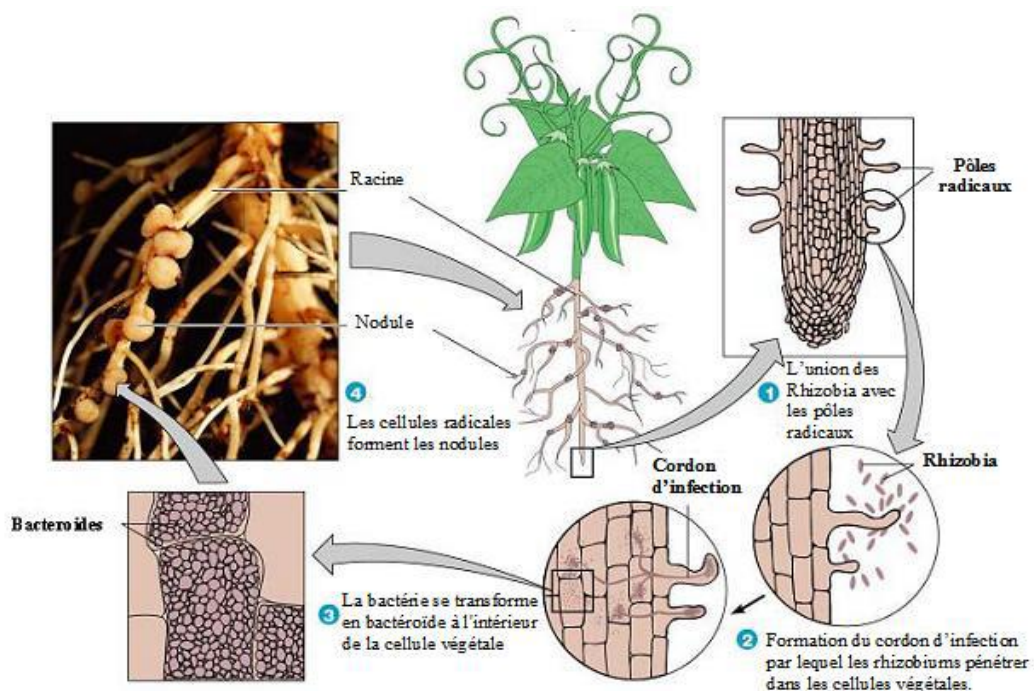


Fig. 7. Différentes étapes de l'établissement de la symbiose rhizobia-légumineuse. (Hirsch, 1992)

Tableau 3. Différences principales entre les nodules de type déterminé et indéterminé (Sutton, 1983 ; Hirsch, 1992)

Type de Nodosités	Déterminé	Indéterminé
Exemples	<i>Glycine, Phaseolus, Vigna,</i>	<i>Acacia, Medicago, Trifolium,</i>
Cordon d'infection	<i>Lotus</i>	<i>Pisum</i>
Site d'initiation du primordium nodulaire	Etroit	large
Méristème nodulaire	activité limitée	apical et persistant
Croissance nodulaire	division cellulaire	expansion cellulaire
Morphologie	circulaire	allongée,
Cellules infectées matures	non vacuolisées	ramifiée petites vacuoles
Forme d'exportation de l'azote fixé	uréides (allantoïne ...)	acides aminés (asparagine, glutamine)

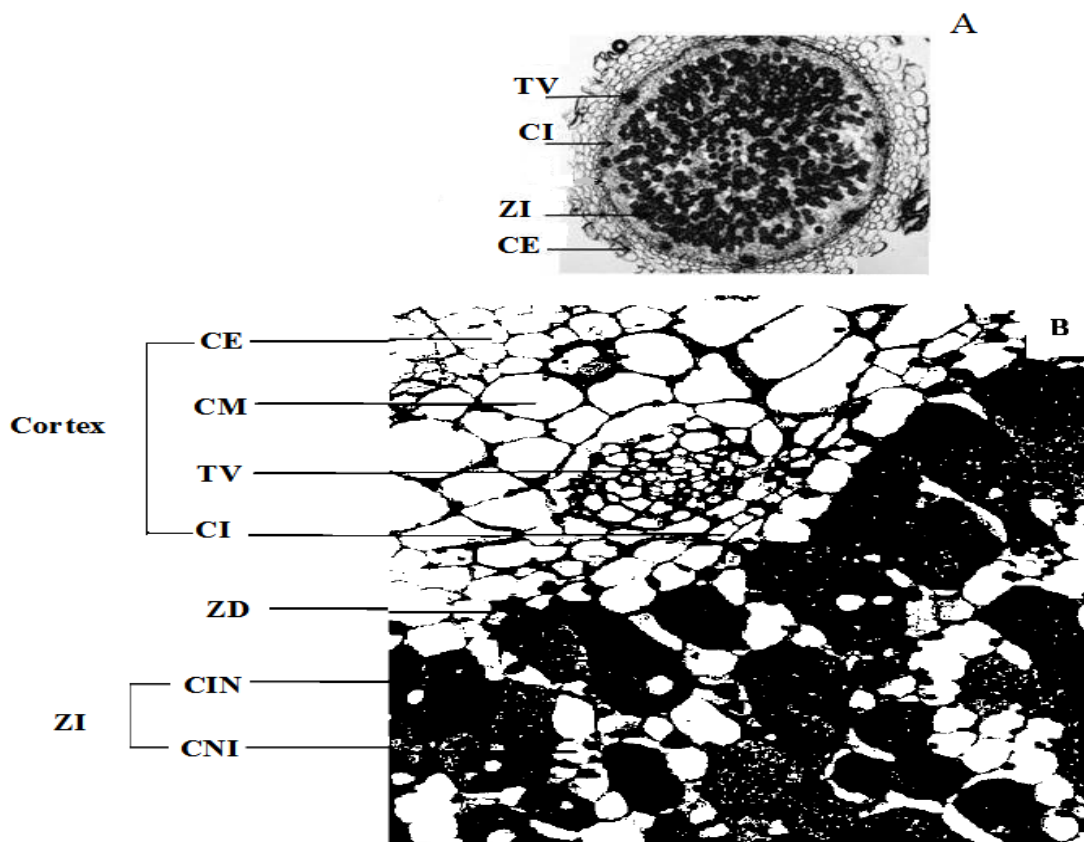


Fig. 8. Coupe transversale d'un nodule de soja : (A) la zone infectée (ZI) entourée du cortex nodulaire, (B) d'une zone corticale proche d'une trace vasculaire (TV), (CE) cortex externe

(CM) cortex moyen, (CI) cortex interne, (CIN) cellules infectées, (CNI) et cellules non infectées (Drevon *et al.*, 1995).

I.5.2.2. Taxonomie des rhizobia

La première classification des rhizobia a été basée sur les tests de l'inoculation croisée entre les rhizobia et leurs plantes hôte et sur d'autres critères morphologiques et culturales (Willems, 2006 ; Berrada & Fikri-Benbrahim, 2014). L'isolement des rhizobia associés aux légumineuses non prises en compte auparavant, a souvent conduit au bouleversement de leur taxonomie. Cette taxonomie a conduit à la recherche des critères à prendre en compte pour la description de nouveaux taxons (Willems, 2006 ; Berrada et Fikri-Benbrahim, 2014). C'est ainsi que, les bactériologistes ont commencé l'utilisation de la taxonomie polyphasique qui permet de prendre en compte une large gamme d'informations phénotypiques (caractères morphologiques, physiologiques) et génotypiques (analyse des plasmides, hybridation ADN/ADN, analyse du pourcentage en GC) (Willems, 2006 ; Berrada & Fikri-Benbrahim, 2014 ; Peix *et al.*, 2015). Le changement le plus important dans la taxonomie des rhizobia est en relation avec l'introduction des techniques génétiques qui permettent l'analyse des gènes (séquençage des gènes de l'ARNr 16S, analyse des Housekeeping genes tels que le *recA*, *atpD*, *glnII*).

D'après l'analyse des séquences ADNr 16S, tous les *rhizobia* appartiennent à trois sous-classes phylogénétiques distinctes α , β et γ -Proteobacteria connu sous le nom de alpha, beta ou gamma-rhizobia) (Willems 2006 ; Masson-Boivin *et al.*, 2009 ; Berrada et Fikri-Benbrahim 2014 ; Peix *et al.*, 2015).

Les 11 genres de la sous-classe α -Proteobacteria sont *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Ensifer* (anciennement *Sinorhizobium*), *Mesorhizobium*, *Methylobacterium*, *Devosia*, *Microvirga*, *Ochrobactrum*, *Phyllobacterium*, et *Shinella*. Les deux genres de la sous-classe β - Proteobacteria : *Burkholderia* et *Cupriavidus* (anciennement *Ralstonia*). Le genre de la sous-classe γ - Proteobacteria est *Pseudomonas* sp. (Berrada & Fikri-Benbraham, 2014 ; Peix *et al.*, 2015 ; Velazquez *et al.*, 2017). Cette classification est loin d'être définitive, elle est dynamique et en perpétuel changement. Et c'est ce qui la rend complexe. Cette complexité est non seulement liée à la diversité des isolats bactériens et des plantes légumineuses mais aussi due au phénomène naturel qui est le brassage génétique entre les bactéries du sol qui est souvent soldé par un transfert latéral des gènes entre les souches du même genre ou de différents genres (Berrada & Fikri-Benbraham, 2014).

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

II-1. Matériels

II.1.1. Présentation du site expérimental

L'expérimentation s'est effectuée du 04 Avril au 30 Juillet 2022 au Centre de recherche Agricole de Mbalmayo situé dans la zone agroécologique 4 à une cinquantaine de kilomètres de la ville de Yaoundé, capitale politique du Cameroun, dans le département du Nyong et So'o, région du Centre. Le site d'étude se situe entre 3,24° de latitude Nord, et 11,30 ° de longitude Est. Cette zone d'étude est caractérisée par un climat guinéen bimodal avec une pluviosité moyenne annuelle de 1600 mm répartie en deux saisons de pluies. La température moyenne annuelle est de 23°C et le degré hygrométrique moyen est de 78 % (Fig.9).

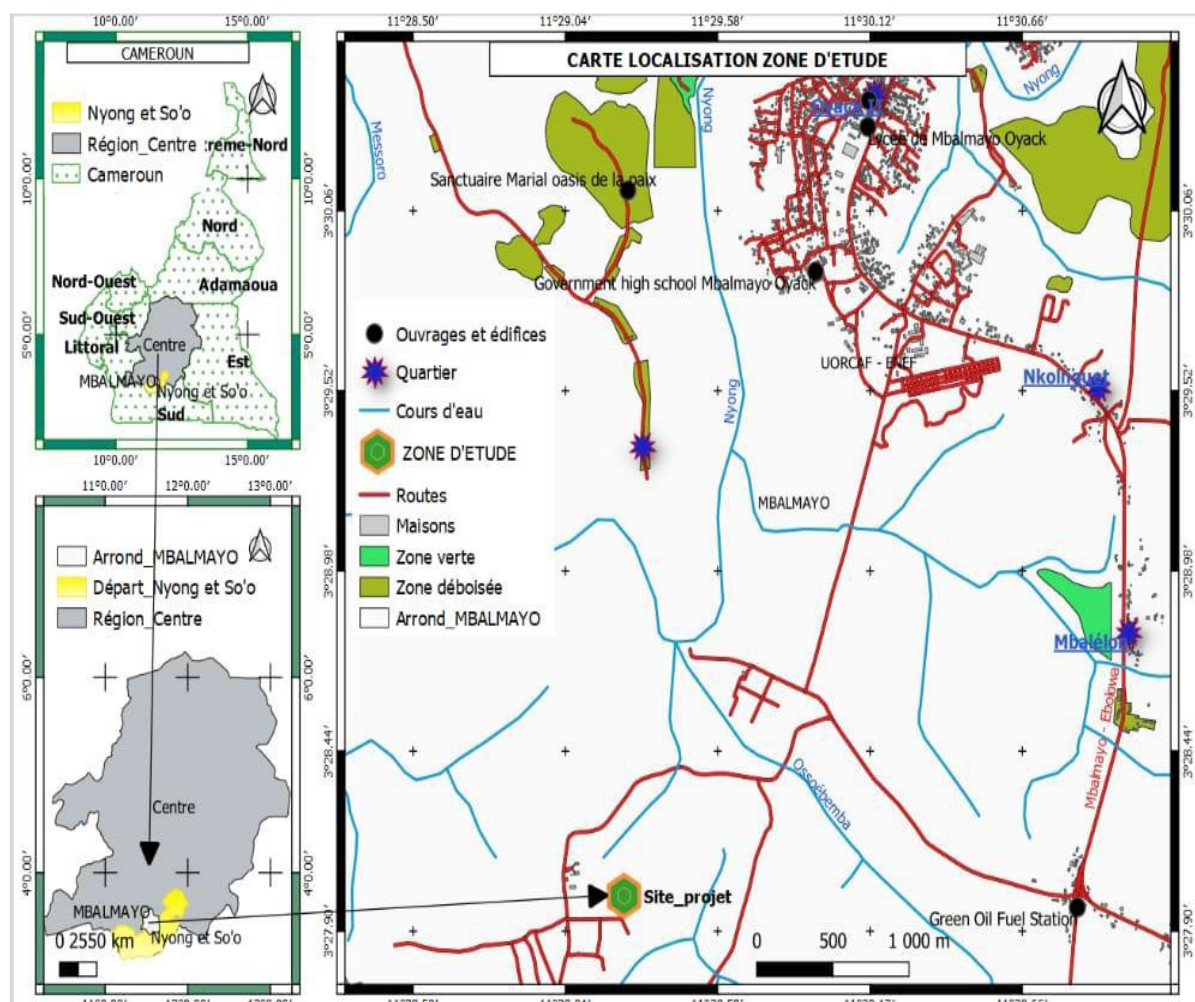


Fig. 9. Site expérimental (Kameni, 2022)

II.1.2. Matériel végétal

Comme matériel végétal, trois variétés de soja ont été utilisées. Le dit matériel a été mis à disposition par l'IRAD de Garoua et de Foubot avec des caractéristiques et des origines différentes Tableau III et (Fig.10).

Tableau 4. Caractéristiques et origine des différentes variétés de soja

Variétés	Caractéristiques	Origine
Variété 1 : TGX 1910-14F (Variété locale : De Garoua)	Cycle de vie : 90-110 jrs ; Rendement : 2-3 t/ha ; Taux de germination : 98 %	IRAD-Garoua
Variété 2 : MAKSOY 4N	Cycle de vie : 105 jrs ; Rendement : 3 -3,5t /ha ; Taux de germination : 98 % Tolérant à la rouille.	Zimbabwe
Variété 3 : TGX 1835 10E	Cycle de vie : 90-105 jrs ; Rendement : 1,5-2t /ha ; Taux de germination : 95% Très résistant à la rouille, pustule bactérienne.	IITA-Ibadan



Fig. 10. Différentes variétés de soja utilisées (A=TGX 1910 14F ; B=MAKSOY 4N ; TGX 1835 10E).

II.1.3. Matériel microbiologique

Le matériel microbiologique était constitué de :

- deux souches de rhizobium (S1 et S2) qui ont été prélevées des nodules de deux variétés de soja de la campagne agricole précédente des parcelles expérimentales de l'IRAD de Nkolbisson. Elles ont été isolées et préparées à l'IMPM. Ces souches ont été sélectionnées après criblage parmi les 54 variétés ensemencées en choisissant celles présentant les meilleures performances agronomiques (nombre de nodules élevé, rendement élevé...).

- le NoduMax (S3) est un inoculant commercial garantissant la présence des bactéries rhizobium symbiotiques du soja, il augmente son rendement de 30 à 40 %. C'est un engrais biologique avec du rhizobium comme ingrédients actif. Il contient 50 % de culture (rhizobium) et 50 % de matériel porteur de tourbe (Fig.11).



Fig. 11. Souches de rhizobium : (A = S1et S2 produit préparé en laboratoire ; B : inoculum commercial NoduMax).

II.1.4. Matériel en champ

Le matériel utilisé pour la conduite de notre essai était constitué entre autres de la machette pour le défrichage, des ficelles pour délimiter le terrain, des houes pour le sarclage, des arrosoirs pour irriguer la parcelle, une fiche de données, un crayon, le mètre ruban, des étiquettes, un pulvérisateur à dos de 16 litres, un double décamètre, les ficelles, les arrosoirs, les piquets, un téléphone android.

Au laboratoire, plusieurs autres matériels ont été utilisés en occurrence : l'anse de platine, les boîtes de Pétri, les brochettes de soya, l'essuie-tout, le papier filtre, la passoire de thé, l'étuve, une balance de précision, les tubes Eppendorf de 1,5 ml, la fiole jaugée, erlenmeyer, bécher de 1L, tube Falcon de 15ml, pissette.

II.1.5. Matériel chimique

Le matériel chimique utilisé est l'herbicide synthétique GLYCOT. Le GLYCOT est un herbicide à actions de contact et systémique avec pour matière active le GLYPHOSATE IPA (480 Gr/L). Il fait partie des herbicides homologués par le MINADER en 2021 pour la lutte contre les mauvaises herbes des plantes annuelles (Fig. 12).



Fig. 12. Herbicide de synthèse utilisé

II.2. Méthodes

II.2.1. Identification des maladies présentes dans le site

II.2.1.1. Préparation du site expérimental

La préparation du terrain a consisté au défrichage manuel et au ramassage des herbes à l'aide d'une machette et d'un râteau respectivement. Après le défrichage (Fig. 13), le terrain a été divisé en trois blocs à l'aide à un décimètre, des ficelles et des piquets suivant le dispositif expérimental préconçu. Les blocs contenant 12 unités expérimentales de 3 m² chacun ont été confectionnés et chaque unité expérimentale a été labourée à une profondeur d'environ 15 cm.



Fig. 13. Préparation du site expérimental : A= mesure de la parcelle total et B= délimitation des blocs

II.2.1.2. Dispositif expérimental

Pour la réalisation de ce travail, un dispositif expérimental en bloc complètement randomisé comprenant quatre traitements chacun a été utilisé. Chaque traitement était constitué de cent quatre-vingt plants de soja par bloc. Cependant, les différents paramètres ont été prélevés sur dix plants par traitement. Chaque pied de soja portait une étiquette renseignant sur le numéro de bloc et le traitement reçu. L'application des traitements s'est effectué deux fois

mais de manière différente. D'abord par enrobage des graines en suite par pulvérisation. Les traitements étaient les suivants (Fig. 14)

- S0 : Témoin négatif constitué des parcelles n'ayant reçues aucun traitement ;
- S1 : Souche de rhizobium 1
- S2 : Souche de rhizobium 2
- S3 : Nodumax

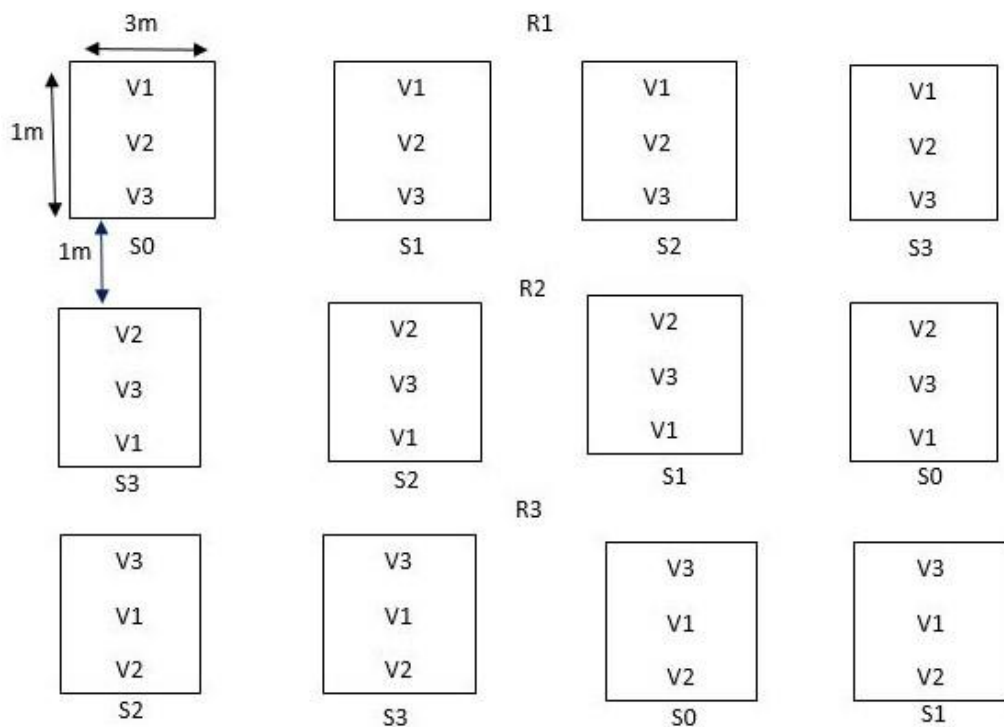


Fig.14. Dispositif expérimental. R1 : Répétition 1 ; R2 : Répétition 2 ; R3 : Répétition 3 ; V1 : Variete1 ; V2 : Variété 2 ; V3 : Variété 3 ; S1 : Souche 1 ; S2 : Souche 2 ; S3 : Souche 3.

II.2.1.3. Test de germination

Après le criblage, le test de germination a été effectué afin de s'assurer que les graines présentent encore de bonnes facultés de germination. De ce fait, deux boîtes de pétrie ont été utilisées à l'intérieur desquelles ont été enfilé du papier buvard qui a été par la suite, imbibé d'eau et disposé 10 graines de soja ont été disposés dans chacune des boîtes puis, celles-ci ont été classées dans un endroit à température ambiante. Au bout de cinq et huit jours, toutes les graines ayant germées ont été notées.

II.2.1.4 Semis et entretien

La préparation du sol s'est faite une semaine avant le semis. Le sol était labouré à plat en formant des sous parcelles. Le semis direct et en ligne était effectué en respectant les écartements suivants : 80 cm entre les lignes et 50 cm sur les lignes. Les poquets distants de 5 cm et de 3 à 5 cm de profondeur contenant 2 graines par poquet. La levée a lieu 5 à 6 jours après semis. L'entretien des parcelles a consisté à démarier les plants, à sarcler quand cela était nécessaire et butter. Le démarriage a consisté aussi à enlever les plants pour ne conserver que deux (les plus vigoureux) par poquet. Cette opération a eu lieu quand les plants avaient environ 5 à 10 cm de hauteur (Fig. 15).



Fig. 15. Entretien

II.2.1.5. Identification des maladies

II.2.1.5.1 Identification visuelle

L'identification des maladies s'est faite par une observation précise des anomalies phénotypiques. Par rapport au phénotype normal, et selon leur évolution dans le temps et dans l'espace (Renard & Foucart, 2008). Elle a été complétée avec des informations sur les circonstances entourant l'apparition des symptômes de la maladie. La date d'apparition des symptômes, le stade de développement de la plante, la répartition des plants malades dans le champ. Des échantillons d'organes des plantes malades (feuilles) ont été prélevés pour être analysés au laboratoire.

II.2.1.5.2 Identification au laboratoire

II.2.1.5.2.1 Préparation du milieu PDA

L'usage du milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar) a permis une bonne appréciation des critères macroscopiques. La préparation d'un litre de PDA a nécessité 200 g de pommes de terre, 15 g de dextrose, 15 g d'agar en poudre et de l'eau distillée. Les pommes

de terre ont été épluchées et découpées en petits cubes. Elles ont été macérées pendant environ une demi-heure dans de l'eau, puis ont été cuites pendant 30 minutes. La bouillie obtenue a été filtrée avec du papier filtre. L'agar et le dextrose ont été ajoutés au jus recueilli dans un bécher de 1000 ml. Et l'ensemble a été agité et homogénéisé grâce à un agitateur magnétique. Le volume est ensuite complété avec de l'eau distillée jusqu'à 1000 ml, et le pH est ajusté à 6,0. Le mélange obtenu a été stérilisé à l'autoclave à 120 °C pendant 20 minutes et conservé au réfrigérateur (Girard & Rougieux, 1967). Une fois l'éprouvette sortie de l'autoclave, le coulage s'est fait en versant le liquide préparé dans la boîte de Pétri. Le milieu de culture une fois refroidi et solidifié, a été prêt à recevoir les cultures des microorganismes.

II.2.1.5.2.2 Aseptisation et ensemencement du matériel végétal

L'isolement du champignon consiste à identifier et récolter des feuilles infectées présentant les symptômes de maladie. Les feuilles infectées sont ensuite ramenées au laboratoire, lavées plusieurs fois à l'eau de robinet, désinfectées à l'aide d'un coton imbibé d'alcool à 95 % puis stérilisées à la flamme. A l'aide d'un scalpel, les parties infectées de la feuille (portant les nécroses) sont enlevées puis incubées dans la boîte de pétri contenant le milieu de culture (milieu gélosé). La boîte est refermée, scellée avec du film alimentaire et mise à incubation dans une chambre de culture à 22-24 °C sous une photopériode de 12 h. Les mycéliums se développent à partir de l'explant et atteignent après cinq jours une croissance suffisante pour procéder à sa purification. La purification se fait par un repiquage successif d'un fragment de gélose prélevé sur le front de croissance de mycélium sur milieu PDA. Cette opération est répétée autant de fois que nécessaire jusqu'à l'obtention de cultures pures qui seront conservées en piluliers, dans de l'eau distillée stérile (Ondo, 2006). L'identification a été faite à l'aide des observations microscopiques et comparée à la clé d'identification des maladies (Fig. 16).



Fig.16. Ensemencement du matériel végétal

II.2.1.5.2.3 Identification de la rouille

Quelques plantes qui présentaient les symptômes de la maladie ont été récoltées en champ ensuite, elles ont été ramenées au laboratoire à l'aide d'une aiguille stérilisée à la flamme. Les parties présentant les symptômes ont été grattés et déposées sur lame et recouvert par une lamelle. Ensuite, quelques gouttes d'eau distillées stériles ont été ajoutées. Et l'observation microscopique a été effectuée à l'objectif 40 x.

II.2.2. Effet des rhizobiums sur les paramètres des maladies.

II.2.2.1. Isolement des souches de Rhizobium

II.2.2.1.1. Préparation du matériel de travail et stérilisation

Elle consistait à s'assurer de la disponibilité du matériel nécessaire pour le bon déroulement de cette activité. La verrerie a été stérilisée à 121 °C dans une étuve universelle pendant 20 minutes. Il est à noter que, toutes les manipulations microbiologiques ont été effectuées dans des conditions stériles c'est-à-dire autour de la flamme du bec Bunsen et sous hotte à flux laminaire.

II.2.2.1.2 Préparation du milieu de culture (Vincent, 1970)

Le milieu d'isolement utilisé était le milieu Yeast-Extract Mannitol (YEM) préparé selon la méthode de (Vincent, 1970). Car c'est le milieu par excellence de culture des rhizobiums. Ce milieu était composé du Mannitol : 10 g/L ; Glutamate de Na : 0,5 g/L K_2HPO_4 : 0,5g/L ; Extrait de levure : 1 g/L ; NaCl : 0,5ml d'une solution NaCl 2M ; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ à 10 g/L dans 10 ml ; $SCaCl_2$: 14 g/L dans 1 ml ; $FeCl_3$: 4 g/L dans 1ml ; pH = 6,8 ajuste avec le HCL ; Agar : 20 g/L (Fig. 17).



Fig.17. Réactifs du milieu YEM

II.2.2.1.3. Technique de préparation et de conservation des rhizobiums

La récolte des nodules s'est effectuée selon les techniques préconisées par Vincent (1970) et Somasegaran et Hoben (1985). Il s'agit de creuser environ 15 cm autour de la plante et 20 cm dans le sol pour extraire la plante et son appareil racinaire. Manuellement, on se débarrasse de la terre au niveau des racines sans toutefois endommager les nodules. Les racines et leurs nodules sont lavés délicatement des restes de terre à l'eau de robinet. Les nodules peuvent être conservés pendant plus d'un an au réfrigérateur à +4 °C. Les nodosités d'une même plante doivent être mises dans un même tube.

II.2.2.1.4. Préparation de la solution stock

La préparation de la solution stock a été faite suivants les étapes ci-dessous (Fig. 18) : introduire dans le bécher de 1 L tous les réactifs avec leurs quantités respectives ; Après avoir pesé la totalité des réactifs en fonction des quantités prescrites par le protocole, le mélange a été effectué dans un bécher de 2 L contenant de l'eau distillée environ 1 L ; puis, la solution a été remuée à l'aide d'une batteuse manuelle afin d'homogénéiser la solution ; ajuster le pH au fur et à mesure qu'on remue la solution, on ajoute quelques gouttes de HCL pour ajuster la solution au pH = 6,8 tel que prescrit par le protocole ; verser la solution stock dans des bocaux de 500 ml environ ; on divise la solution dans des bocaux pour pouvoir les stocker facilement après autoclave ; mettre les bocaux dans l'autoclave à 121 °C pendant 20 min ; ceci pour détruire tous les pathogènes externes et éviter toute contamination du milieu, puis laisser refroidir environ 10 min ; couler la solution dans les boîtes de pétrie ; après froissement de la solution, on coule environ 5 ml de cette solution dans les boîtes de pétri ; refermer les boîtes ; on referme les boîtes à l'aide du papier film étirable ; conserver les boîtes dans l'étuve à 28 °C (Fig. 18).

A



B



C



Fig. 18. Différentes étapes de la préparation de la solution stock : A- début de la préparation ; B- Boîtes contenant le milieu de culture et C- conservation à l'étuve 28°C

II.2.2.1.5. Stérilisation des nodules

Les nodules roses (la pigmentation rose révèle la présence de la légghémoglobine), récupérés sur les racines du soja sont stérilisés superficiellement par immersion dans l'éthanol à 95 °C durant 30 secondes. Puis dans une solution de chlorure mercurique $HgCl_2$ à 0,1 % ou l'eau de javel pendant deux minutes pour éliminer le plus de bactéries possibles de la rhizosphère. Ensuite, sont rincés 5 à 6 fois à l'eau distillée stérile. Il est à noter que, toutes les manipulations microbiologiques sont effectuées dans des conditions stériles c'est-à-dire à 15 cm de la flamme du bec Bunsen et sous hotte à flux laminaire.

II.2.2.1.6. Technique d'isolement

II.2.2.1.6.1. Broyage des nodosités et ensemencement du broyat

Un nodule est broyé dans 1 ml d'eau distillée stérile. Il faut bien broyer les nodules afin d'obtenir une suspension laiteuse. Une dilution de 10^{-1} du broyat obtenu est réalisée en mettant dans un tube 0,1 ml de broyat et 0,9 ml d'eau physiologique stérile. On dépose 0,5 ml de la dilution précédente sur des boîtes de Pétri contenant le milieu Y.E.M. puis on étale la goutte déposée suivant un strie en forme de Z, juste après cela, on scelle les boîtes de pétrie à l'aide du film étirable et on conserve les boîtes dans l'étuve à 28 °C.

II.2.2.1.6.2. Repiquage

Trois jours après ensemencement, des colonies de bactéries commencent à apparaître. On procède au repiquage de ces mêmes colonies de bactéries dans de nouvelles boîtes contenant le reste de milieu de culture précédemment conservé au congélateur et décongeler au micro-onde. Cette étape permet de purifier les souches. Puis les nouvelles boîtes sont conservées dans l'étuve à 28 °C. Trois jours après, un second repiquage a été effectué

II.2.2.1.6.3. Conservation des souches

La technique de conservation utilisée est celle décrite par Vincent (1970). Pour cela des Tubes Falcon de 5 ml ont été utilisés. Dans les tubes ouverts en condition stérile, 1,2 ml de la culture de rhizobium obtenue y est introduit. Le milieu est composé de 0,6 ml de glycérol à 60 % stérile. Les tubes sont ensuite fermés, et stockés à - 80 °C.

III.2.2.1.6.4. Caractérisation morphologique des souches de rhizobiums

Les caractéristiques morphologiques des deux souches de rhizobium étaient essentiellement basées sur la forme, la couleur et l'aspect.

II.2.2.1.6.5. Observation du nombre de cellules en suspension dans la cellule de Malassez

La suspension dans la cellule de Malassez a été effectuée après obtention des souches pures, une observation microscopique a été faite dans le but de faire un dénombrement des cellules bactériennes présentes dans la solution selon le mode opératoire décrit par (Rémi, 2013) qui a utilisé l'hématimètre de Malassez pour une numération directe. Un hématimètre est une lame spéciale, quadrillée, qui permet de dénombrer dans un volume précis et connu, tous les éléments visibles à l'objectif 40 du microscope. Selon la formule suivante :

$$N = \frac{n}{a.v} \times Fd$$

Avec N = nombre de cellules par unité de volume ; n= nombre de cellules comptées ; a = nombre d'unités de comptage dénombrées ; v= volume d'une d'unité de comptage ; Fd= facteur de dilution.

II.2.2.1.6.6. Stérilisation des nodules

Les nodules roses (la pigmentation rose révèle la présence de la légghémoglobine), récupérés sur les racines du soja sont stérilisés superficiellement par immersion dans l'éthanol à 95 °C durant 30 secondes. Puis dans une solution de chlorure mercurique HgCl₂ à 0,1 % ou l'eau de javel pendant deux minutes pour éliminer le plus de bactéries possibles de la rhizosphère. Ensuite, sont rincés 5 à 6 fois à l'eau distillée stérile. Il est à noter que, toutes les manipulations microbiologiques sont effectuées dans des conditions stériles c'est-à-dire à 15 cm de la flamme du bec Bunsen et sous hotte à flux laminaire.

II.2.2.1.6.7. Technique d'isolement

II.2.2.1.6.7.1. Broyage des nodosités et ensemencement du broyat

Un nodule est broyé dans 1 ml d'eau distillée stérile. Il faut bien broyer les nodules afin d'obtenir une suspension laiteuse. Une dilution de 10⁻¹ du broyat obtenu est réalisée en mettant dans un tube 0,1 ml de broyat et 0,9 ml d'eau physiologique stérile. On dépose 0,5 ml de la dilution précédente sur des boîtes de Pétri contenant le milieu Y.E.M. puis on étale la goutte déposée suivant une strie en forme de Z, juste après cela, on scelle les boîtes de pétrie à l'aide du film étirable et on conserve les boîtes dans l'étuve à 28 °C.

II.2.2.1.6.7.2. Repiquage

Trois jours après ensemencement, des colonies de bactéries commencent à apparaître. On procède au repiquage de ces mêmes colonies de bactéries dans de nouvelles boîtes contenant le reste de milieu de culture précédemment conservé au congélateur et décongeler au micro-onde. Cette étape permet de purifier les souches. Puis les nouvelles boîtes sont conservées dans l'étuve à 28 °C. Trois jours après, un second repiquage a été effectué

II.2.2.1.6.7.3. Conservation des souches

La technique de conservation utilisée est celle décrite par Vincent (1970). Pour cela des Tubes Falcon de 5 ml ont été utilisés. Dans les tubes ouverts en condition stérile, 1,2 ml de la culture de rhizobium obtenue y est introduit. Le milieu est composé de 0,6 ml de glycérol à 60 % stérile. Les tubes sont ensuite fermés, et stockés à – 80 °C.

II.2.2.1.6.7.4. Caractérisation morphologique des souches de rhizobiums

Les caractéristiques morphologiques des deux souches de rhizobium étaient essentiellement basées sur la forme, la couleur et l'aspect.

II.2.2.1.6.7.5. Observation du nombre de cellules en suspension dans la cellule de Malassez

La suspension dans la cellule de Malassez a été effectuée après obtention des souches pures, une observation microscopique a été faite dans le but de faire un dénombrement des cellules bactériennes présentes dans la solution selon le mode opératoire décrit par (Rémi, 2013) qui a utilisé l'hématimètre de Malassez pour une numération directe. Un hématimètre est une lame spéciale, quadrillée, qui permet de dénombrer dans un volume précis et connu, tous les éléments visibles à l'objectif 40 du microscope. Selon la formule suivante :

$$N = \frac{n}{a.v} \times Fd$$

Avec N = nombre de cellules par unité de volume ; n= nombre de cellules comptées ; a = nombre d'unités de comptage dénombrées ; v= volume d'une d'unité de comptage ; Fd= facteur de dilution.

II.2.2.3. Incidence

L'incidence de la maladie est la fréquence d'attaque des plantes par une maladie au sein d'une unité expérimentale donnée. En d'autres termes, c'est la proportion de plantes malades au sein d'une unité expérimentale donnée, indépendamment de la gravité de l'attaque individuelle de chaque plante et calculée selon la formule de Tchoumakov & Zaharova, (1990). Le nombre de plantes par parcelle a été compté et noté. Les plantes identifiées comme malades

ont été dénombrées suivant les groupes de symptômes. La prise des paramètres de la maladie a lieu toutes les deux semaines.

$$I (\%) = N_{pm} / N_{pt} \times 100$$

Où : I (%) = incidence de la maladie dans la parcelle exprimée en pourcentage ; N_{pm} = nombre de plantes malades ; N_{pt} = nombre total des plantes.

II.2.2.4. Sévérité

La sévérité est le degré d'attaque d'un organe ou d'une plante entière par une maladie ou un ravageur. Elle mesure la quantité de la maladie sur un organe de la plante. Elle est déterminée suivant la formule de (Tchoumakov & Zaharova, 1990). Les plantes malades étiquetées par parcelle ont été comptées par degré d'infection et la quantification de la maladie s'est faite par parcelle unitaire et en fonction du temps. La prise des données a été effectuée par intervalle de 14 jours.

$$S (\%) = \frac{\sum (ab)}{N}$$

Où : S (%) = sévérité de la maladie exprimée en pourcentage ; $\sum (ab)$ = somme du nombre de plantes malades (a) ayant le degré d'infection correspondant (b) et N = nombre total de plantes malades.

La sévérité (S) des maladies a été évaluée à l'aide d'une échelle de notation visuelle. L'échelle utilisée pour le degré d'infection (b) est celle proposée par (Wangungu *et al.* 2011) où 1 : 0 % d'infection de la plante ; 2 : infection recouvrant entre 1 - 15 % de la plante ; 3 : infection recouvrant entre 16 - 40 % de la plante ; 4 : infection recouvrant entre 41 - 75 % ; 5 : infection recouvrant 76 % - 100 % de la plante.

II.2.3. Evaluation de l'impact du rhizobium sur la nodulation.

II.2.3.1. Nombre de nodule par plan de soja

A 45 jours après le semis, quelques plantes (trois) par traitement et par variété ont délicatement été déterrés et les nodules ont été récoltés et dénombrés. Ensuite, les nodules ont été divisés en deux parties afin d'observer leur coloration qui a marqué ou non l'effectivité de la symbiose.

II.2.3.2. Corrélation entre la nodulation et les paramètres de la maladie.

Après les nodules dénombrés, une comparaison avec les paramètres de la maladie a été effectuée afin de voir si le nombre de nodules a été fonction du degré d'attaque de la maladie.

II.2.4. Analyse statistique

Les données collectées sur le terrain ont été saisies sur le tableur Excel et soumises à une analyse de variance (ANOVA) avec le logiciel SAS (JMP software). Le test de Student a été utilisé pour séparer les moyennes au seuil de 5 %. Ce tableur a été utilisé pour tracer les différents tableaux et les courbes.

CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. RESULTATS

III.1.1. Identification des Maladies du soja présentes dans la zone d'étude

III.1.1.1. Maladies identifiées

III.1.1.2. Rouille asiatique

Cinq semaines après le semis, les premières anomalies phénotypiques ont été observées au niveau des feuilles sur toutes les trois variétés. Chez certaines plantes, on observait de petites taches sphériques de couleur jaune sur toute la face supérieure des feuilles (Fig. 19A). Sur les parties inférieures des feuilles infectées, se formaient des pustules (observables à la loupe) qui sont des fructifications que l'on pourrait attribuer à la rouille asiatique du soja (Fig. 19B). L'observation microscopique des différents organes de plantes prélevés en champ a permis de mettre en évidence la présence de nombreuses urédospores de forme ovoïde produites à l'intérieur des structures spécialisées (urédies). Ces urédospores possédaient une fine membrane (Fig. 19C). Ceci serait la description typique des urédospores et hyphes de *Phakopsora pachirhizi* agent causal de la rouille asiatique du soja.

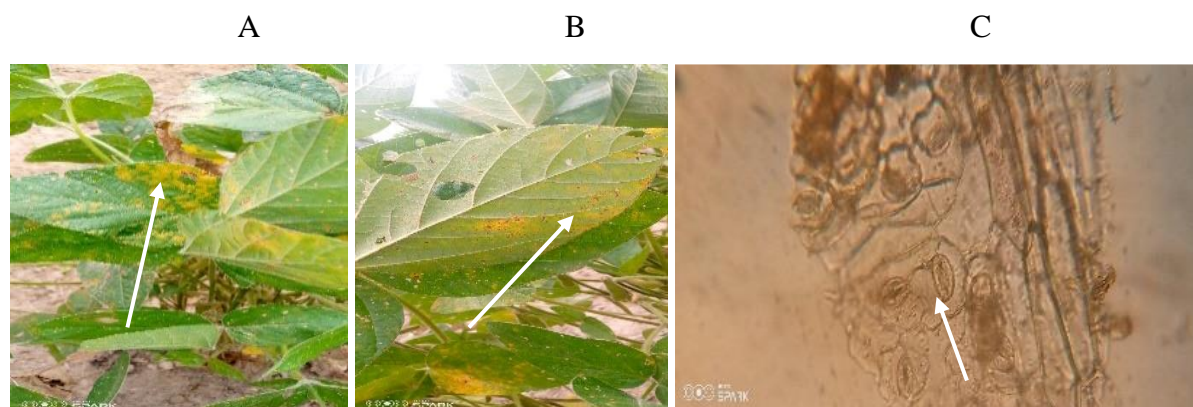


Fig. 11. Différents symptômes de la rouille (A = petites taches sphériques de couleur jaune ; B = pustules sur la partie inférieure des feuilles malades ; C= Urédospores observé au microscope)

III.1.1.2.2. Cercosporiose

Des symptômes ont été observés sur la face supérieure des feuilles qui présentaient des taches minuscules de couleur brun rougeâtre (Fig.20A). Après ensemencement sur l'agar de dextrose de pomme de terre, l'isolat obtenu était tapissé de couleur noir à l'observation macroscopique (Fig.20B). L'observation microscopique du mycélium a montré des

fructifications en forme de bâtonnet cloisonné qui pourraient être attribué aux caractéristiques de *Cercospora soja* agent causal de la *cercosporiose* active du soja (Fig.20C).

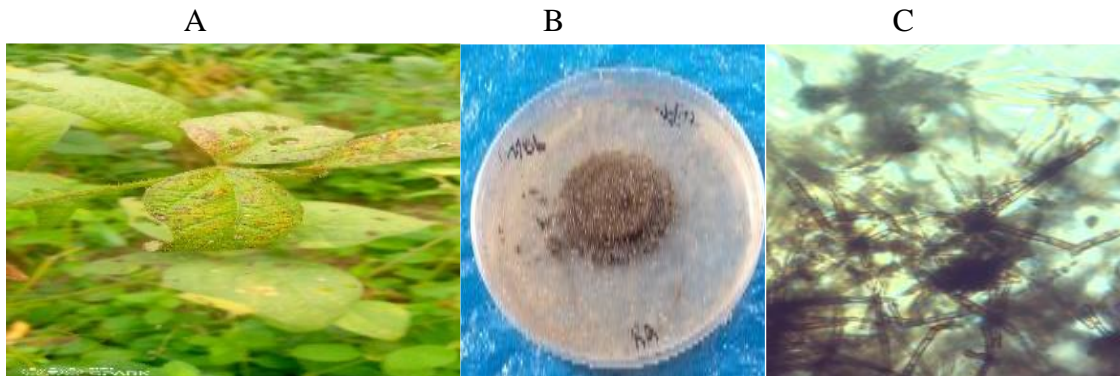


Fig. 12. Symptômes et caractéristiques macroscopiques et microscopiques de l'agent pathogène de la cercosporiose (A=symptôme, B= isolat, C= fructification)

III.1.1.2.3. *Corynesporose*

Un autre groupe de plante présentait des lésions foliaires de couleurs vert terre ou jaunâtre (Fig.21A). Après ensemencement sur l'agar de dextrose de pomme de terre, l'isolat obtenu était tapissé de couleur brun sombre pâteux à l'observation macroscopique (Fig.21B). L'observation microscopique du mycélium a montré des fructifications en forme de fin filament enroulés sur eux même qui pourraient être attribués aux caractéristiques de *Corynespora cassicola* agent causale de la *corynesporose* (Fig.21C).

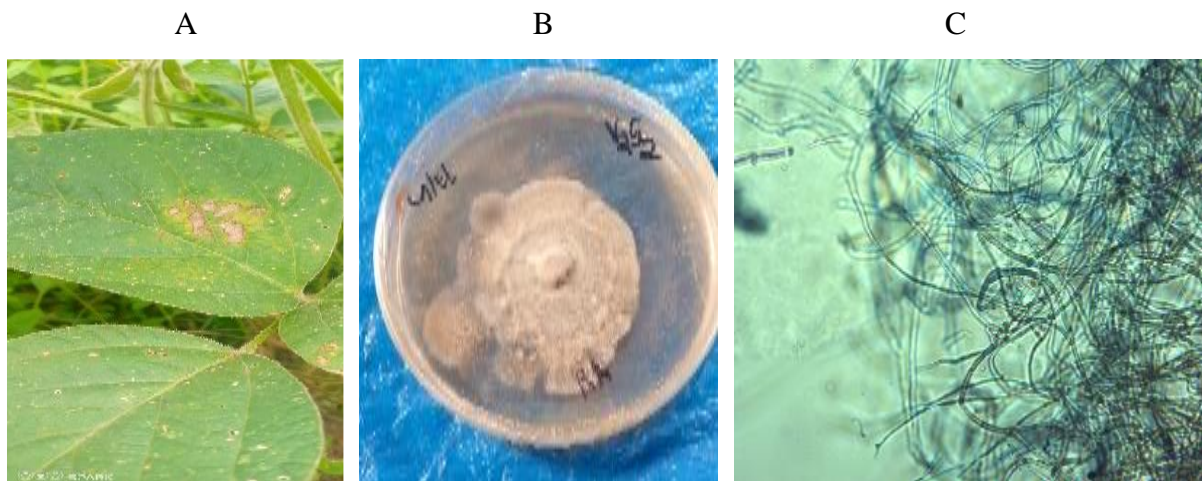


Fig. 13. Symptômes et caractéristiques macroscopiques et microscopiques de l'agent pathogène de Corynesporose (A= symptomes ; B= isolat ; C= fructification)

III.1.1.2.4. *Fusariose*

Certaines plantes présentaient des symptômes de jaunissement sur les feuilles (Fig.22A). Après ensemencement sur l'agar de dextrose de pomme de terre, l'isolat obtenu était tapissé de couleur blanche teinté de rose violassé à l'observation macroscopique (Fig.22B). L'observation microscopique du mycélium a montré des fructifications de petites formes ovales qui pourraient être attribués aux caractéristiques de *Fusarium oxyspoum* agent causale de la *Fusariose* du soja (Fig.22C).

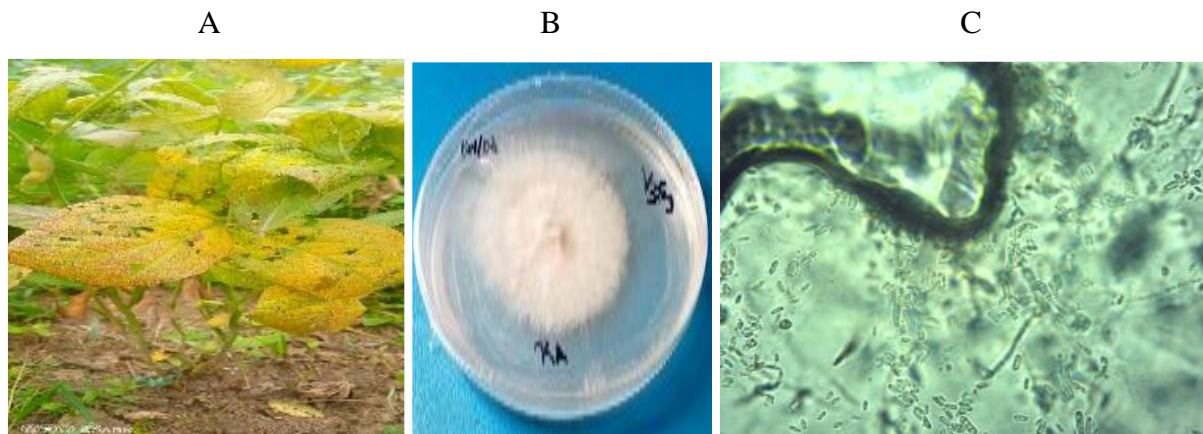


Fig. 14. Symptômes et caractéristiques macroscopiques et microscopiques de l'agent pathogène de Fusarium (A= symptômes ; B= isolat ; C= fructification)

III.1.1.2.5. *Rhizoctoniose*

Des symptômes ont été observés sur la face supérieure des feuilles avec une coloration brun verdâtre à rougeâtre et plus tard brune ou noire (Fig.23A). Après ensemencement sur l'agar de dextrose de pomme de terre, l'isolat obtenu était tapissé de couleur brun foncé à l'observation macroscopique (Fig.23B). L'observation microscopique du mycélium a montré des fructifications en forme cyclique rattaché à une corde qui pourrait être attribué aux caractéristiques de *Rhizoctinia solani* agent causale de la *Rhizoctoniose* (Fig.23C).

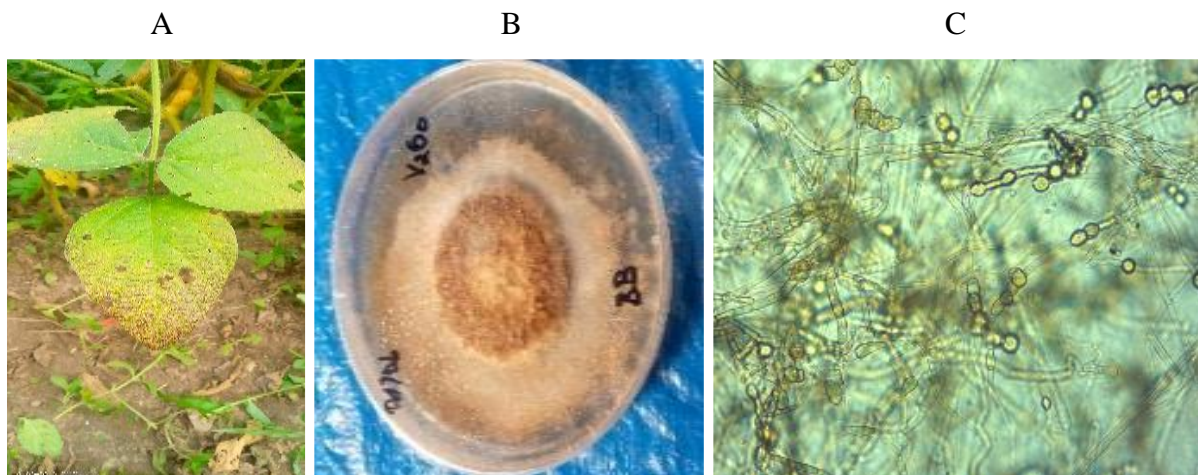


Fig. 15. Symptômes et caractéristiques macroscopiques et microscopiques de l'agent pathogène de *Rhizoctoniose* (A= symptômes ; B= isolat ; C= fructifications)

III.1.1.2.6. Antracnose

D'autres symptômes ont été observés des feuilles avec une coloration jaune sur certaine zone (Fig.24A). Après ensemencement sur l'agar de dextrose de pomme de terre, l'isolat obtenu était tapissé de couleur brune foncé à l'observation macroscopique (Fig.24B). L'observation microscopique du mycélium a montré des fructifications de forme cylindrique qui pourraient être attribué aux caractéristiques de *Colletotricum truncatum* agent causale de l'*Antracnose* du soja (Fig.24C).

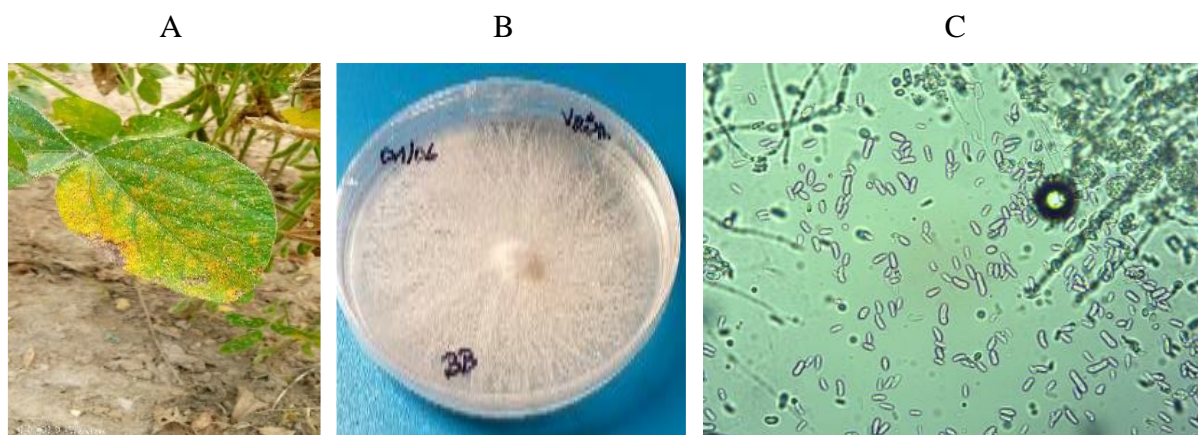


Fig. 16. Symptômes et caractéristiques macroscopiques et microscopiques de l'agent pathogène de l'*Antracnose* (A= symptomes ; B= isolat ; C= fructification)

III.1.2. Effet des souches de rhizobiums sur les paramètres de la maladie

III.1.2.1. Effet des souches de rhizobiums sur l'incidence de la rouille

L'incidence variait entre 1,6 à 19 % de la cinquième à la onzième SAS pour les variétés inoculées avec les souches 1 et 2, de 1,7 à 40 % pour les variétés inoculées avec la souche 3 et de 6,1 à 75 % pour les variétés non inoculées S0. Les valeurs les plus élevées ont été

enregistrées sur les variétés non inoculées S0. Les souches 1 et 2 ne sont pas significativement différentes de la cinquième à la onzième semaine. Ces souches (1 et 2) présentent une différence significative entre la souche S3 et la souche S0 de la même période. (Fig. 25).

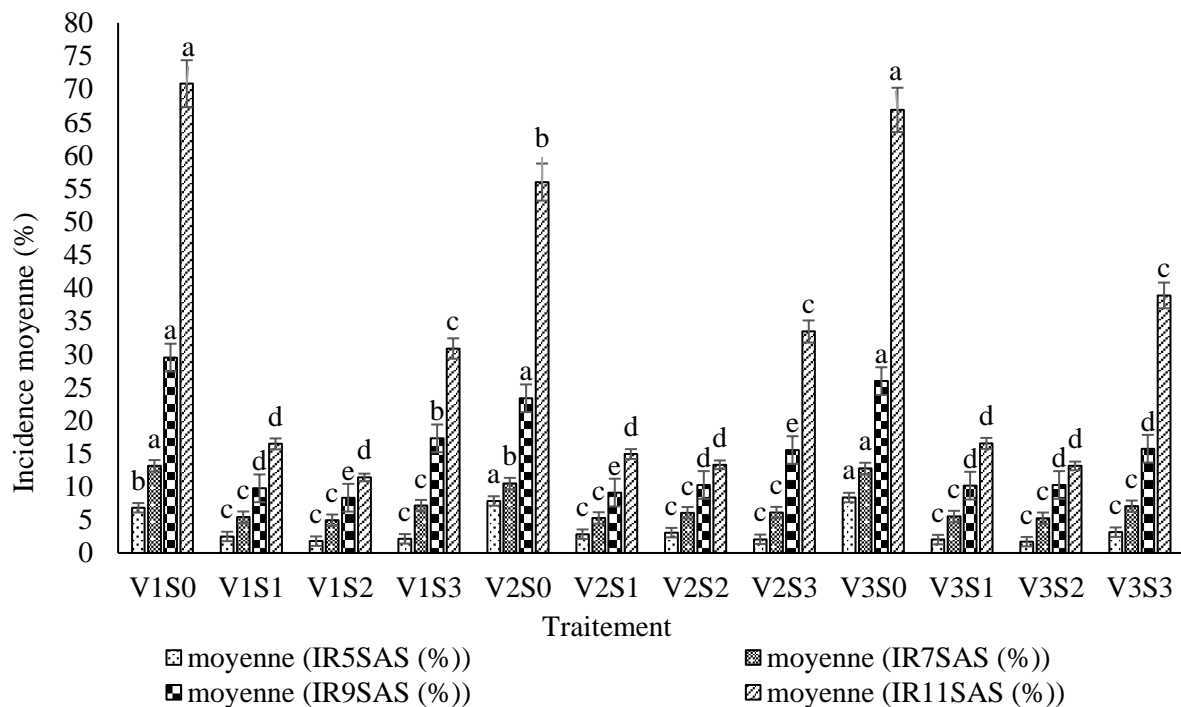


Fig. 17. Variation de l'incidence de la rouille

III.1.2.2. Effet des souches de rhizobiums sur l'incidence de la Cercosporiose

L'histogramme ci-dessous montre la variation de l'incidence de la cercosporiose en fonction du temps sur les variétés de soja. En effet, l'analyse des variances des résultats enregistrés montre que l'incidence variait de 1,1 à 14 % la cinquième à la onzième SAS les variétés inoculées avec les souches 1 et 2, de 6,1 à 17 % pour les variétés inoculées avec la souche 3 et de 8,1 à 59 % pour les variétés non inoculées S0. Les valeurs les plus élevées ont été obtenues sur les variétés non inoculées S0. L'analyse statistique montre qu'il n'existe pas de différence significative entre la souche 1 et 2 de la cinquième à la onzième semaine. Elle présente une différence significative entre la souche 3 et la souche S0 de la même période. (Fig. 26).

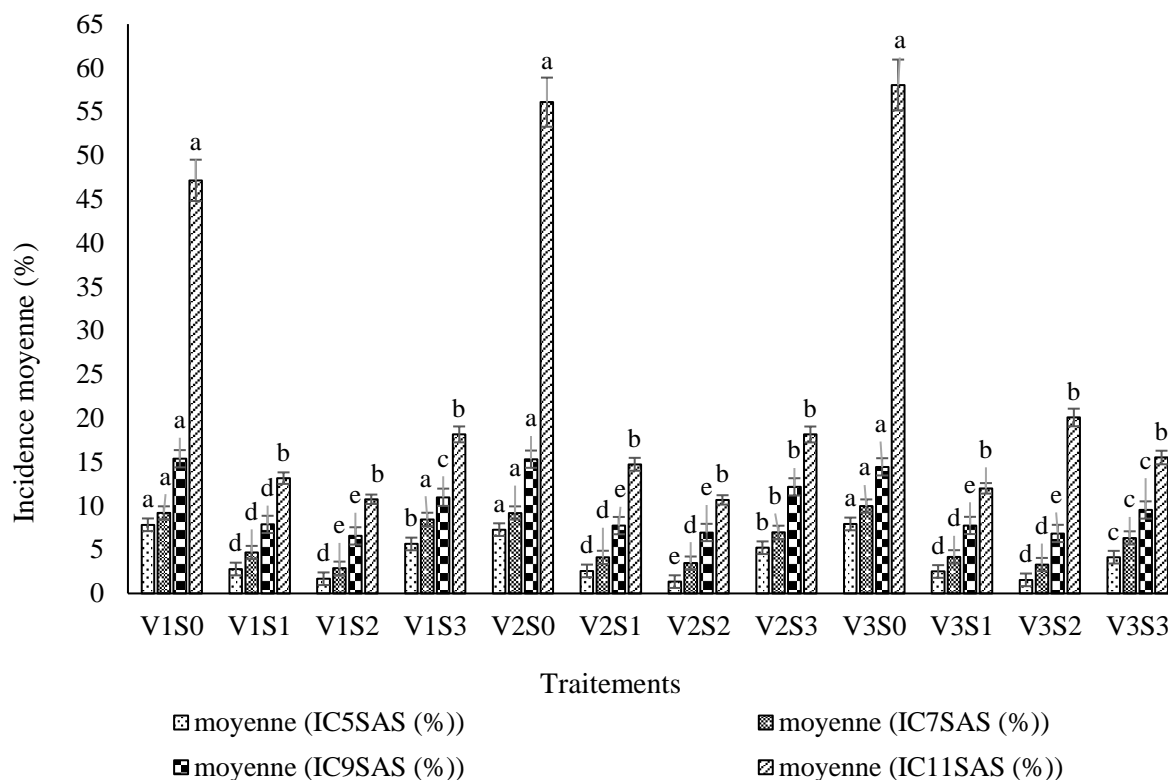


Fig. 18. Variation de l'incidence de la cercosporiose

III.1.2.3. Effet des souches de rhizobiums sur la sévérité de la rouille

La sévérité de la rouille variait en fonction du temps sur toutes les variétés de soja. En effet, l'analyse des variances des résultats enregistrés montre que la sévérité de la rouille variait de 0,4 à 14,9 % pour les variétés inoculées avec la souche 1 et 2, de 0,4 à 35,5 % pour les variétés inoculées avec la souche 3 et de 3 à 80 % pour les variétés non inoculées S0 de la cinquième à la onzième SAS. L'analyse statistique montre qu'il existe une différence significative entre les variétés de souche 3 et les variétés de souche S0 ; mais ne présente pas de différence significative dans cette même période chez les variétés inoculées de souche 1 et 2. Cependant il est à noter que les valeurs les plus élevées étaient enregistrées sur les variétés non inoculées S0 (Fig. 27).

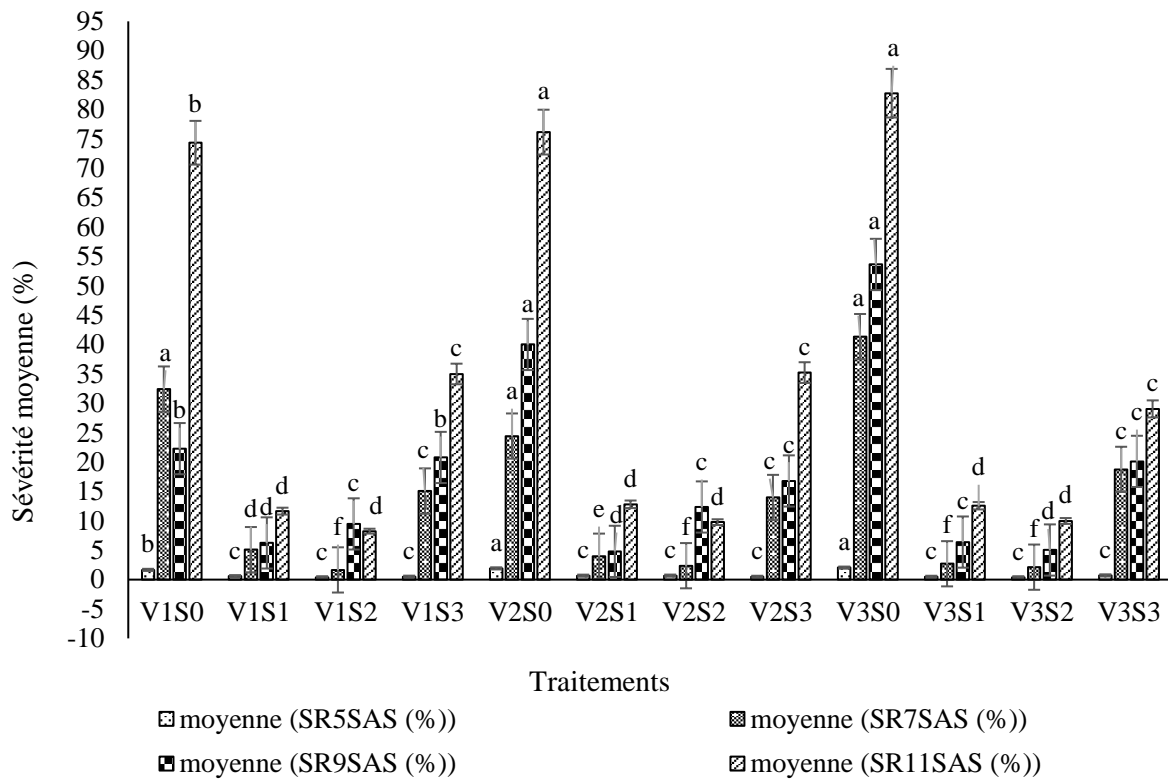


Fig. 19. Effet des souches de rhizobiums sur la sévérité de la rouille

III.1.2.4. Effet des souches de rhizobiums sur la sévérité de la *Cercosporiose*

La sévérité de la cercosporiose variait en fonction du temps sur toutes les variétés de soja. En effet, l'analyse des variances des résultats enregistrés montre que la sévérité de *cercosporiose* variait de 0,4 à 13 % pour les variétés inoculées avec la souche 1 et 2, de 0,4 à 17 % pour les variétés inoculées avec la souche 3 et de 3 à 67 % pour les variétés non inoculées S0 de la cinquième à la onzième SAS. L'analyse statistique montre qu'il existe une différence significative entre les variétés de souche 3 et les variétés de souche S0 ; mais ne présente pas de différence significative dans cette même période chez les variétés inoculées de souche 1 et 2. Cependant, il est à noter que les valeurs les plus élevées étaient enregistrées sur les variétés non inoculées S0 (fig. 28).

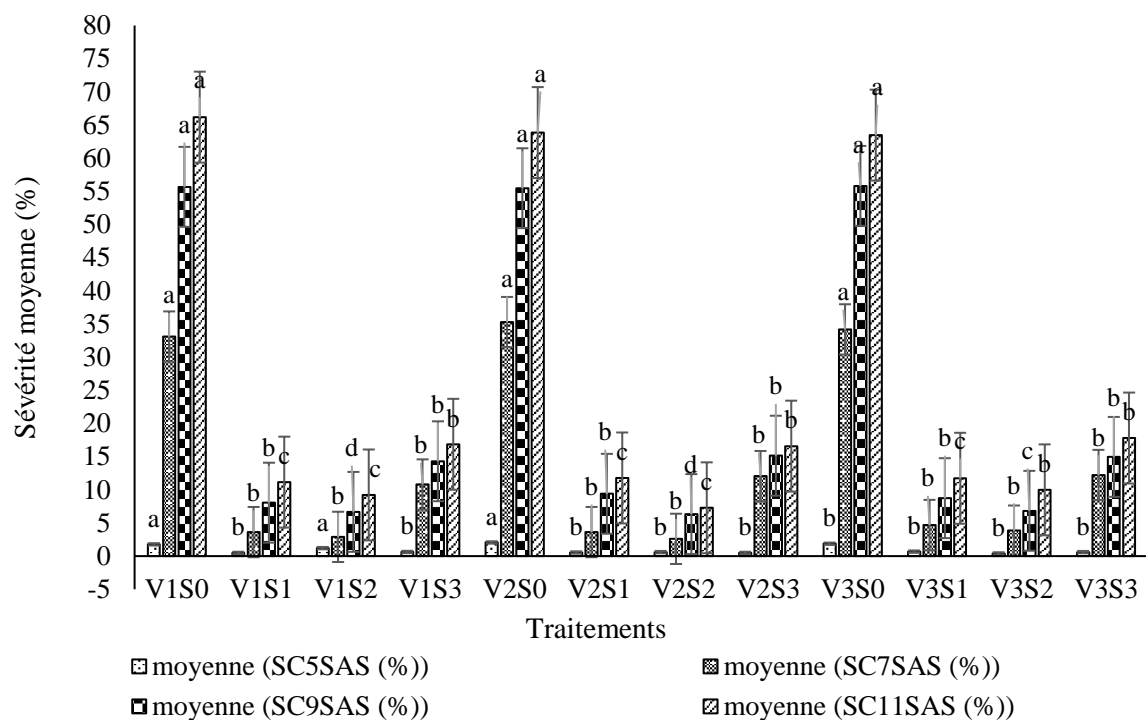


Fig. 20. Effet des souches de rhizobiums sur la sévérité de la cercosporiose

III.1.3. Evaluation de impact du rhizobium sur la nodulation

Une différence significative entre les variétés inoculées et les variétés non inoculées a été observé. Les variétés inoculées avec la souche 2 présentaient une valeur maximale de 44 nodules par plant. Par contre les variétés non inoculées présentaient une faible quantité de nodules notamment 6 à 8 nodules par plant (Fig. 29).

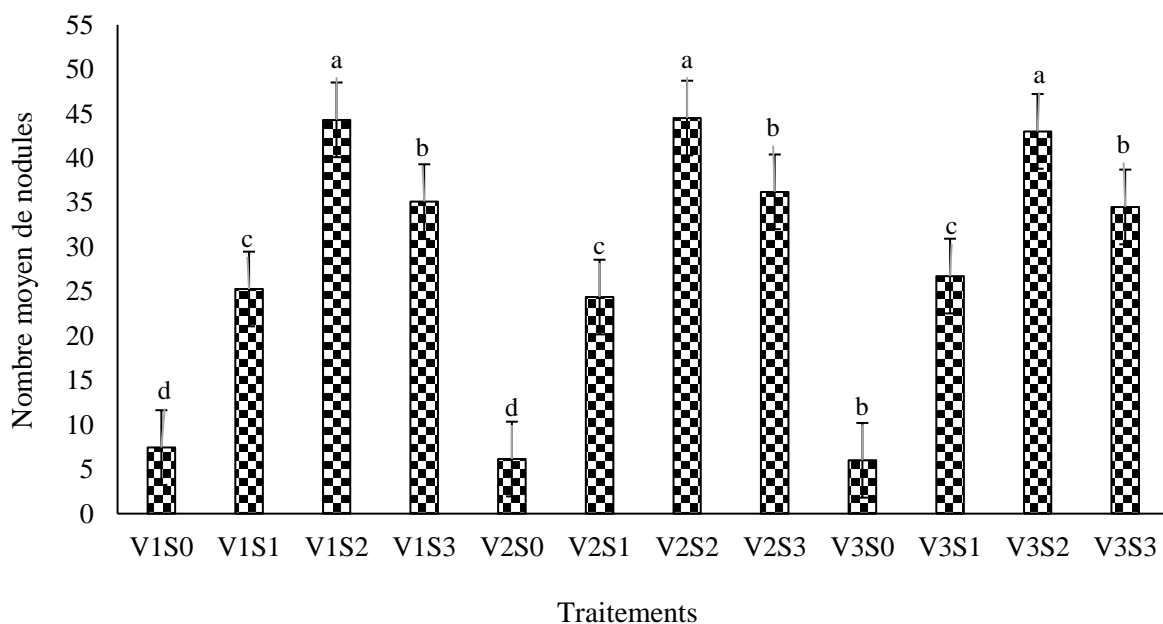


Fig. 21. Variation du nombre de nodules

III.1.4. Corrélation entre la nodulation et les paramètres de la maladie

Le nombre de nodules était fonction du degré d'attaque de la maladie. Dans les parcelles où les maladies étaient sévères, le nombre de nodule était considérablement faible contrairement aux parcelles où, le degré d'attaque des maladies était faible avec le nombre de nodules élevé (Tableau IV).

Tableau 5. Corrélation entre la nodulation et les paramètres de la maladie

Variable	by Variable	Correlation	Signif Prob
NN6SAS	RI11SAS	-0,7899	<0,001*
NN6SAS	RS11SAS	-0,8012	<0,001*
NN6SAS	CI11SAS	-0,6772	<0,001*
NN6SAS	CS11SAS	-0,8576	<0,001*

III.2. DISCUSSION

Les premières anomalies phénotypiques ont été observées au niveau des feuilles sur toutes les trois variétés. Chez certaines plantes, on observait sur les parties inférieures des feuilles infectées. L'observation microscopique des différents organes de plantes prélevés en champ, a permis de mettre en évidence, la présence de nombreuses urédospores de forme ovoïque produites à l'intérieur des structures spécialisées (urédies) ceci pourrait être ceux de *Phakopsora pachirhizi* agent causal de la rouille asiatique du soja. En effet, Gbaporo *et al* (2022) travaillant sur l'indentification des formes des urédospores avaient obtenu des formes qui variaient de ovoïque à ellipsoïdale.

D'autres groupes de symptômes ont été observés sur la face supérieure des feuilles qui présentaient des taches minuscules de couleur brun rougeâtre. Après ensemencement sur l'agar de dextrose de pomme de terre, l'isolat obtenu était tapissé de couleur brun sombre à l'observation macroscopique. L'observation microscopique du mycélium a montré des fructifications en forme de bâtonnet cloisonné qui pourrait être attribué aux caractéristiques de *Cercospora soja* agent causal de la *cercosporiose* active du soja comparé à la clé d'identification proposé par (farrang *et al*, 2017).

Les autres symptômes des maladies observés ont aussi été identifiés et comparés à la clé d'indentification proposé par (farrang *et al*, 2017).

Pour ce qui est des paramètres de la maladie, les résultats de ces travaux ont montré un effet significativement positif au seuil de 5 % des rhizobiums dans la réduction de la rouille asiatique du soja et de la *cercosporiose* en champ. L'incidence était plus prononcée chez les plantes non inoculées et faible chez les plantes inoculées. Ceci serait dû aux nombres de cellules dénombrées dans la suspension cellulaire du carré de malassez des souches de rhizobiums fabriquées au laboratoire. De même, pour qu'une souche de rhizobiums soit efficace il faudrait que son nombre de cellules doit être égale à 10^9 cellules/MI. Or les souches de rhizobiums fabriquées au laboratoire avaient pour nombres de cellules respectives $5,66 \times 10^9$ cellules/mL et $3,42 \times 10^9$ cellules/mL. Ce qui répond largement aux caractéristiques de (Remi, 2013). De ce fait, (Ahmed *et al.*, 2007) travaillant sur les bactéries promotrices de la croissance végétales avaient montré que l'amélioration de la colonisation par les rhizobiums diminue l'incidence des plantes attaquées par les maladies fongiques. Les paramètres de maladies ont été significativement réduits sur les parcelles inoculées.

La sévérité de la rouille était de 14,9 % et pour la *cercosporiose* était de 18,2 % Chez les parcelles inoculées, alors que chez les parcelles non inoculées, la maladie était très prononcée soit 82,1 % pour la rouille et 67,3 % pour la *cercosporiose*. Ce résultat s'explique par le fait que, l'apport des rhizobiums induit la résistance aux maladies grâce à la formation des nodules qui vont non seulement accumuler tous les éléments nutritifs dans le sol, et absorber plus d'azote. Ce qui va permettre à la plante de synthétiser les métabolites secondaires parmi lesquels les stéroïdes et les phénols qui vont booster la défense de la plante. A cet effet, (Sharma & EL-Bramawy 2011) travaillant sur la gestion des maladies des légumineuses ont montré que le traitement par les rhizobiums réduisait significativement différents agents pathogènes fongiques tels que : *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani* et *Sclerotium rolfsii*. *cercosporiose* et a suggéré le rhizobium comme bio contrôle biologique pour la gestion des maladies des légumineuses

En ce qui concerne le nombre de nodules, les résultats ont montré que l'inoculation a favorisé la production des nodules chez la variété 1,2 et 3 de la souche 2. 44 nodules par plant ont été enregistrés chez les variétés inoculées avec la souche 2 et environ 8 nodules chez les variétés non inoculées. Ceci pourrait s'expliquer par la compatibilité des variétés et ces souches de rhizobium. Des résultats similaires ont été observés par (Konaté *et al.*, 2013) qui a montré l'effet stimulateur des rhizobiums sur la production des nodules chez le niébé en Côte d'Ivoire. Le nodule est le facteur essentiel pour la réalisation d'une relation symbiotique efficiente. C'est dans le même sens que (Aboubacar *et al.* 2013) montrent que

l'absence ou l'insuffisance de nodule annule le processus de fixation biologique de l'Azote. La faible présence des nodules chez les variétés non inoculées est synonyme de l'existence des souches autochtones de *bradirhizobium japonicum* dans le sol. De même (N'Gbesso *et al.* 2013) explique que les quantités peu élevées voire nulles de nodules spontanés obtenues chez ces variétés seraient liées aux faibles densités de population de ces souches dans le sol de ce site.

Les résultats d'analyses des corrélations ont révélé qu'il existe des corrélations fortement négatives entre le nombre de nodules et les paramètres de la maladie. Cela pourrait s'expliquer par la présence de nodules élevé qui contribue à la baisse des paramètres de la maladie tels que l'incidence et la sévérité. Ces résultats sont en accord avec ceux de Zahoor *et al.* (2019) qui ont rapporté que l'inoculation par les rhizobiums améliorerait considérablement le rendement et les caractères associés. La corrélation négative observée entre le nombre de nodules et les maladies se traduit par le fait que plus le nombre de nodules augmente, plus les maladies diminuent d'où l'augmentation du rendement des plants inoculés.

CHAPITRE IV- CONCLUSION ET PERPESTIVES

IV-1 CONCLUSION

Au terme de ce travail de recherche dont l'objectif général était d'évaluer l'effet des rhizobiums dans la résistance aux maladies sur trois variétés de soja en champ ; il en ressort de ce travail que les rhizobiums ont induit positivement la croissance en hauteur de la plante, la résistance aux maladies et le nombre de nodules des plants de soja chez les variétés inoculées. L'incidence et la sévérité de la rouille et de la cercosporiose ont été significativement réduites au seuil de 5 % pour toutes les variétés inoculées avec les rhizobiums comparé aux variétés non inoculées. Ainsi, le rhizobium de souches 2 est statistiquement autant plus efficace que le produit de référence (Nodumax). Les paramètres de maladie ont varié en fonction des variétés inoculées ou non. Ils ont été plus élevés chez les variétés non inoculées et moins sensible chez les variétés inoculées. Le nombre de nodules était fonction du degré d'attaque de la maladie. Dans les parcelles où les maladies étaient sévères, le nombre de nodule était considérablement faible contrairement aux parcelles où le degré d'attaque des maladies était faible, le nombre de nodule était élevé.

IV-2 PERPESTIVES

Cette étude est une base pour les travaux futurs dont les axes pourront être de :

- Faire une caractérisation des rhizobiums formulés.
- Évaluer la composition biochimique des graines de soja après la récolte.
- Voir l'effet des rhizobiums en post récolte (en stockage).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Affianha T., Alexander D. 1992. Difference among cowpea, Rhizobia intolerance to high temperature and dissiccation in soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, 43 : 435- 439 pp.
- Ahemad M, Khan MS. 2011. Functional aspects of plant growth promoting rhizobacteria: Recent advancements. *Insight Microbiol.* 1: 39-54
- Ahmed, R., Solaiman, A., Halder, N., Siddiky, M., and Islam, M. (2007). Effect of inoculation methods of Rhizobium on yield attributes, yield and protein content in seed of pea. *J. Soil Nat.* 1, 30–35.
- Anonyme ,2020. Agrostatistique du MINADER, 2020
- Anonyme, 2006. Profil de la culture du soja au Canada. Programme de réduction des risques liés aux pesticides .52 p
- Anonyme, 2010. Fiche technique AFRICARICE, Cameroun.
- Anonyme, 2016. Perspectives de récoltes et situation alimentaire. N° 4. FAO. 1-8 p
- Anonyme, 2017. Production mondiale du soja. Planetoscope statistique. 2 p.
- Asadi Rahmani H, Saleh-Rastim N, Khavazi K, Asghazadeh A, Fewer D, Kiani S, Lindström K. 2009. Selection of thermotolerant bradyrhizobial strains for nodulation of soybean (*Glycine max* L.) in semiarid regions of Iran. *World J. Microbiol Biotechnol*, 25: 591-600.
- Bala A, Murphy P J, Giller K. E. 2005. Classification of Tropical Tree Rhizobia Based on phenotypic characters forms Nested Clusters of phylogenetic Groups. *West African J Appl Ecol*, 6: 9-19.
- Bonnemort, F.C., Ferre, S. et Strorup, B (2001) Soja biologique : organisation de la production agricole et des filières de transaction. *Ageonomie* . 47 : 15-17.
- Burton, J. W. (1997). Soyabean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Field Crop Res.* 53, 171-186.
- Cacciari I., Dimattia E., Quatrini P. 2003. Réponses adaptatives des isolats de Rhizobium aux stress. In, Grouzis M ; le Floc'h. Un arbre au désert, *Acacia raddiana*. IRD. Paris.183-200 pp.
- Carsky, Doiuthwaite, Manyong, Sanginga, Schulz, V. (2003). Amélioration de la gestion des sols par l'introduction de légumineuses dans les systèmes céréaliers des savanes africaines.
- Cayrol J.C., Djian-Caporalino C. & Panchaud-Mattei E., 2006. La lutte biologique contre les Nématodes phytoparasites. *Courrier de la Cellule Environnement de l'INRA* 17 .14 p.

- Demol, J., Baudoin, J.-P., Louant, B.-P., J., et Marechard, R. et Mergeai, G. (2002). Amélioration des plantes appliquée aux principales espèces cultivées en régions tropicales. Les presses agronomiques de Gembloux. Louvain-la-Neuve par communication. (ed)
- Desalegn, G., Turetschek, R., Kaul, H. P., and Wienkoop, S. (2016). Microbial symbionts affect *Pisum sativum* proteome and metabolome under *Didymella pinodes* infection. *J. Proteomics* 143: 173–187. doi: 10.1016/j.jprot.2016.03.018
- Deshwal, V., and Chaubey, A. (2014). Isolation and characterization of *Rhizobium leguminosarum* from root nodule of *Pisum sativum* L. *J. Acad. Ind. Res.* 2,:
- Dieynaba D., Eric L., Labrie G., 2011. Introduction de coccinelles convergentes (*hippodamia convergens* guérin-méneville) pour lutter contre le puceron du soja (*aphis glycines matsumura*) en régie biologique. No : 08-BIO-45. 2 p.
- Dommergues Y., Mangenot B. 1970. Ecologie microbienne du sol : (Ed). *Masson et Cie Paris*, 796 p.
- Drevon JJ, Deransart C, Fleurat-Lessard P, Jaillard B, Ndjiondjop MN, Payre H, Ribet J, Roy G, Serraj R, 1995. Is the symbiotic fixation osmoregulated by reversible contraction of cells in the legume-nodule innercortex? In: Tikhonovitch, I.A, Provorov, N.A, Romanov, V.I, Newton, W.E. (Eds.), *Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications*. Kluwer Academic, Dordrecht, p.598.
- Dupriez et Leener, 1983 Gopalakrishnan S, Sathya A, Vijayabharathi R, Kumar R, Varshney CL, Gowda L, Krishnamurthy L. Plant growth promoting rhizobia: challenges and opportunities *Biotech.* 2015 ; 5: 355-377.
- Fabrice C. G. Gbaporo, Angèle P. Ndogho, Sylvère L. L. Dida, Patrice Z. Ngatsi, Cédrik B. W. Chedjou, Zachée Ambang* Phenotypic characterization of some isolates of *phakospora pachyrhizi* in Cameroun *Pak. J. Phytopathol.*, Vol. 34 (01) 2022. 105-115
- Graham P.H., Vance C.P., 2000. Nitrogen fixation in perspective an overview of research and extension needs. *Field Crops Res* 65: 93-106.
- Gustave, K. (2011). Etude de la valeur nutritive de farines infantiles à base de manioc et de soja pour enfant en âge de sevrage. *Bulletin de La Société Royale Des Sciences de Liège*, 80, 748–758.
- Haro H, Sanon KB, Krasova-Wade T, Kane A, N'Doye I, Traoré AS. 2015. Réponse à la double inoculation mycorhizienne et rhizobienne du niébé (variété, K VX3964-5-2D) cultivé au Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3): 1485-1493.

- Hartman, G. L., West, E. D. et Herman, T. K. (2011). Crops that feed the world 2. Soybean – worldwide production, use, and constraints caused by pathogens and pests. *Food Sec.* 3, 5-17.
- Hirsch AM, 1992. Tansley Review no 40: Developmental biology of legume nodulation. *New Phytologist* 122:211-237.
- Hymowitz, T. (2004). Specialisation and cytogenetics . in : Boerma HR, Specht JE (eds) soybeans :Improvement ,Production, and Uses. Agronomy morpholophs, 3rd ed no . 16 ,
- Hymowitz, T. et Harlan,,J.R. (1983). Introduction of soybeans to north america by samuel boew in 1765.
- Ianetta PM, de Lorenzo C, James EK, Fernandez-Pascual M, Sprent JI, Lucas M, WittYF J, de Felipe MR, Minchin FR, 1993. Oxygen diffusion in lupin nodules. I. Visualisation of diffusion barrier operation. *J. Exp. Bot.* 44:1461-1467.
- Jamal & al., 2000. *Hommes et plantes au Maghreb.* (eds) Le Fennec casablanca, pp. 352-35
- Jouffret, P., Labalette, F., & Parachini, E. (2015). Analyse multicritère de la production de soja dans des exploitations agricoles contrastées du Sud-Ouest de la France. *OCL - Oilseeds and Fats*, 22(5), 1–12.
- Khan MS, Zaidi M, Ahemad M, Oven M, Wani P.A., 2010. Plant growth promotion by phosphate solubilizing-fungi current perspective. *Arch. Agron. Soil Sci* 56: 73-98.
- Kulkarni S., Surange S., Nautiyal C. S. 2000. Crossing the limits of Rhizobium existence in extreme conditions. *Curr. Microbiol.* 41: 402-409 pp.
- Kumar, H., Dubey, R., and Maheshwari, D. (2011). Effect of plant growth promoting rhizobia on seed germination, growth promotion and suppression of Fusarium wilt of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Crop Prot.* 30, 1396–1403. doi: 10.1016/j.cropro.2011.05.001464–467. Al-Ani, R., Adhab, M., Mahdi, M., and Abood, H. (2012). Rhizobium japonicum as a biocontrol agent of soybean root rot disease caused by Fusarium solani and Macrophomina phaseolina. *Plant Prot.* 48, 149–155.
- Lee ;G.-J ;Wu,x. ;Shanon,J . G. ; Sleper, D.A. and Ngueyen,H.T. (2007) . chapitre 1 : sobean .Genome Mapping and Molecular Breeding in plants Oilseeds, 2 :1-53.C Kole (Ed .)
- Mariau, 1996. *Lutte intégrée contre les ravageurs des cultures pérennes tropicales.* CIRAD.196 p.

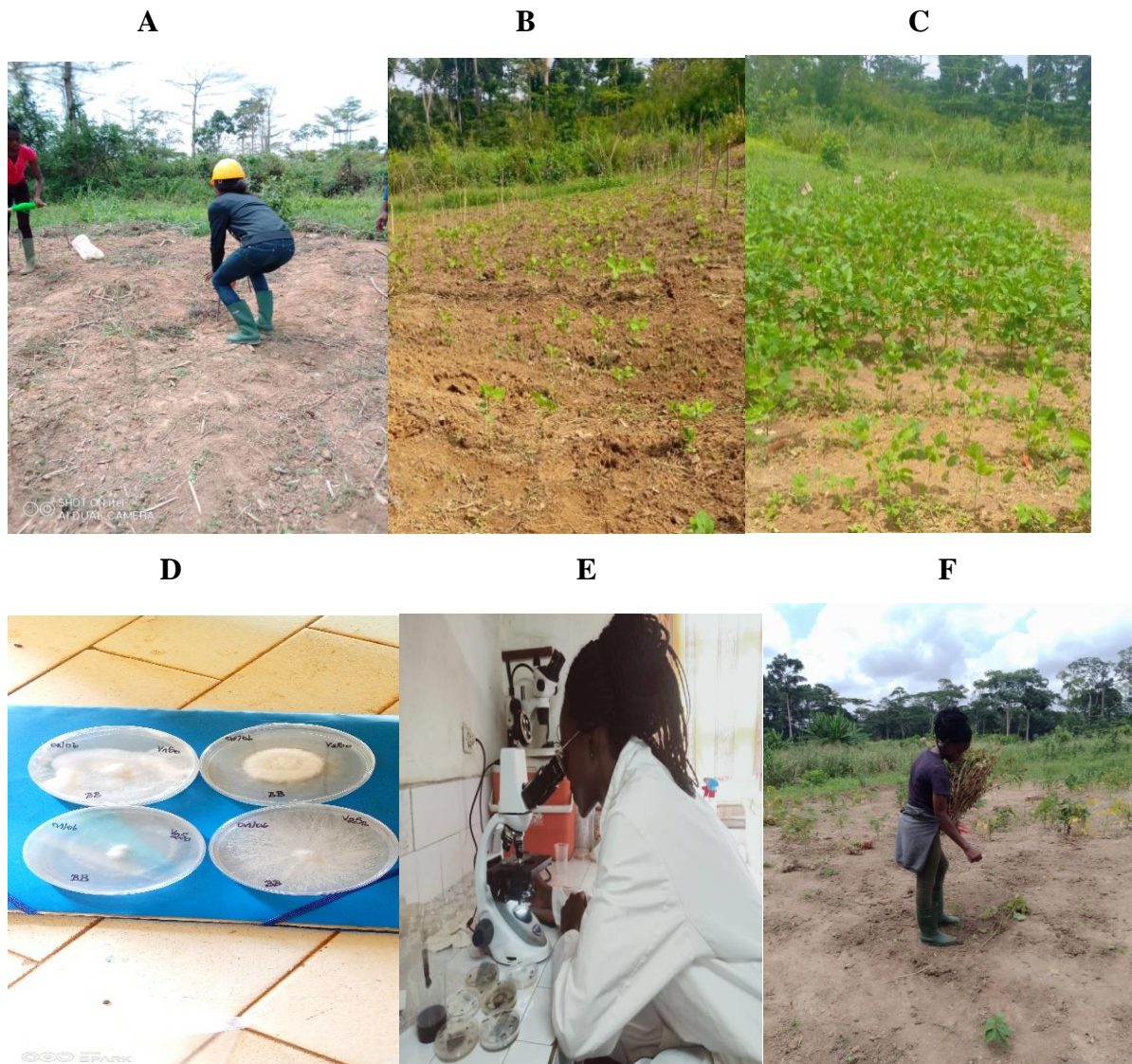
- Minor & Pascal., 2003. Le soja dans les tropiques *In* A.J, éd. Acta IV Conf. Mundialde Investigation en soja, Buenos Aires, Argentine, pp.781-788.
- Mohamed hedi , 2016 Le potentiel de la production de soja en afriques
- Mouhouche, B. (2007). Manuelle sur la conduite de la culture du soja *G. max* L.Merr réalisée pour la société AGRO INDUSTRIE ALGERIE
- Mulder L, Hogg B, Bersoult A, Cullimore JV, 2005. Integration of signalling pathways in the establishment of the legume-rhizobia symbiosis. *Physiol. Plant.* 123:207-218.
- Munger, P., Bleiholder, H., Hack, H., Hess, M., Stauss, R., Van Den Boom, T. et Weber, E. (1997). Phenological growth stages of the soybean plant (*Glycine max* (L.) Merr.) – Codification and description according to the général BBCH scale – with figures. *J. Agron. Crop Sci.*179, 209 - 217.
- Nyasse S., Struture d'une population de phytophthora spp. Des cacaoyères camerounaises atteintes de pourriture brunes. Mémoire de diplôme de recherche universitaire ENSAT, Toulouse,43p .
- O'Neal M. E. & Jonhson K. D., 2010. Insect pest of soybean and their management. *In*: Singh G. (Ed.). *The soybean: botany, production and uses*. CABI : 300-324.
- Ondo A.S., 2005. Caractérisation de quelques isolats de p. megakaria agent causal de la pouriture brunes des cabosses de cacaoyer(*Theobroma cacao* L).Memoire de DEA Université de Yaoundé I, p 58
- Ozgonen H, Gulcu M. Determiation of mycoflora of pea (*Pisum sativum*) seeds and the effects of *Rhizobium leguminosorum* on fungal pathogens of peas. *Afr J Biotechnol.* 2011; 10: 6235- 6240.
- Parsons R, Day DA, 1990. Mechanism of soybean nodule adaptation ta different oxygen pressures. *Plant, Cell et Environment*, 13: 501-512Burton, J. W. (1997). Soyabean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Field Crop Res.* 53, 171-186.
- Qureshi M.A.F., Mujeeb M.A., Anjum M.A., Ali and Khan A., 2017. Influence of growth stimulants with rhizobium inoculation on the yield of mung bean (*Vigna radiata* L.). *Pak. J. Agri. Sci.* 54(3): 523-529. <https://doi.org/10.21162/PAKJAS/17.1610>.
- Reid D F., Snyder C.L., Peterson G.L. & Bonde M.R., 2002. Polymerase chain Reaction assays for the detection and discrimination of the soybean rust pathogens *Phakopsora pachyrhizi* and *P. meibomia*e. *Papthol*, 92 : 217-227.

- Rémi M., 2013 : Technique de dénombrement l'hématimètre de Malassez, numérotation direct. Fiche technique, 1p.
- Rioux, S. (2003). 222. Glycine max L Merr. *In* Noms des maladies des plantes au Canada. 4e édition. (Société de protection des plantes du Québec, SPPQ : Québec), pp.102-103.
- Rodriguez-Navarro DN, Dardanelli MS et Ruiz-Sainz JE, 2007. Attachment of bacteria to the roots of higher plants. *FEMS Microbiol Lett.* 272:127-136.
- Sachs, I. (2006). Bioénergies, sécurité alimentaire et services environnementaux. Vers un nouveau cycle de développement rural ? Liaison Énergie/ Les Cahiers de Chance, 83–86.
- Sakrouhi I., 2017. Caractérisation physiologique et taxonomique des rhizobiums nodulant acacia isolés des dunes de merzouga et étude transcriptomique d'une souche modèle de la collection. Thèse doctorat. Univ Mohamed V. Rabat. Maroc. 131p.
- Sharma P. Evaluation of disease control and plant growth promotion potential of biocontrol agents on *Pisum sativum* and comparison of their activity with popular chemical control agent - carbendazim. *J Toxi Environ Health Sci.* 2011; 3(5) :127-138.
- Silatsa D.M., 2006. *Etude épidémiologique de la pourriture brune des cabosses de cacaoyer sous l'influence des agents de lutte biologiques.* Mémoire D.E.A. université de Yaoundé I, 49 p.
- Singh RK, Malik N, Singh S. 2013. Impact of rhizobial inoculation and nitrogen utilization in plant growth promotion of maize (*Zea mays* L.). *Bioscience* 5: 8-14.
- Strilchuk D., 2006. Profil de la culture du soja au Canada. *In* : Programme de réduction des risques liés aux pesticides.52 p.
- Sutton WD, 1983. Nodule developpe, et and senescence. In: Broughton ZJ, ed. Nitrogen fixation, Volume 1 (Legumes). Oxford: Clarendon Press. 144-212
- Tchoumakov A. et zaharova, 1990. Statistic of disease development. Disease damages caused in crop production. Agroprom Izdat,Moscou, p. 53
- Thuzar, M., Puteh, A. B., Abdullah, N. A. P., Lassim, M. B. M. et Jusoff, K. (2010). The effects of temperature stress on the quality and yield of soya Bean [(*Glycine* max L.) Merrill.]. *J. Agr. Sci.* 2, 172-179.

- Vincent J. M. 1977. Root-nodule symbiosis with Rhizobium. *In the biology of nitrogen fixation quispel*. A. eds. North-holland. Amsterdam, 256-341 pp.
- Vincent J.M. 1970. A manual for the practical study of root nodule bacteria. International Biological Programme Handbook n°15. *Blackwell Scientific Publication, Oxford*
- Wrather J.A., Shannon G., Balardin R., Carregal L., Escobar R., Gupta G.k., Ma Z., Morel W., Ploper D., Tenuta A., 2010 Effet of disease on soyabean yield in the top eight producing counties in 2006. *plant Health progress*, 7 p.
- Wrather, J. A., Shannon, G., Balardin, R., Carregal, L., Escobar, R. Rioux, S. (2003). 222. Glycine max L Merr. *In Noms des maladies des plantes au Canada*. 4e édition. (Société de protection des plantes du Québec, SPPQ : Québec), pp.102-103., Gupta, G. K., Ma, Z., Morel, W., Ploper, D. et Tenuta, A. (2010). Effect of diseases on soybean yield in the top eight producing countries in 2006. *Plant Health Progress*. [En ligne] <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/research/2010/loss/> (Page consultée le 13 mars 2013).
- Wrather, J. A., Stenstra, W. C. et Koenning, S. R. (2001b). Soybean disease loss estimates for the United States from 1996 to 1998. *Can. J. Plant Pathol.* 23, 122-131. Rioux, S. (2003). 222. Glycine max L Merr. *In Noms des maladies des plantes au Canada*. 4e édition. (Société de protection des plantes du Québec, SPPQ : Québec), pp.102-103.
- Zahoor A., Wiqar A., 2019. Efficacy of different Rhizobium Strains on Nodulation and Seed Yield in Mung bean (*Vigna radiata* L.) Cultivar Inqalab Mung. *Sarhad Journal of Agriculture*. DOI: 10.17582/journal.sja/2019/35.4.1099.1106.
- Zahran H.H. 1999. Rhizobium-Legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. *Microbiol and Molecular Biology Reviews*. 63(4): 968-989.

ANNEXES

Annexe 1:



A : préparation du site, B : semis et entretien ; C : prise des paramètres en champ ; D : isolation du pathogène, E : observation microscopique du pathogène F : récolte

Annexe 2 : analyse de la variance de l'incidence de la rouille

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Traitements	11	60223.812	5474.89	32.6571	<.0001*
Error	24	4023.542	167.65		
C. Total	35	64247.355			

Annexe 3 : analyse de la variance de la sévérité de la rouille

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Traitements	11	97023.766	8820.34	111.8608	<.0001*
Error	24	1892.425	78.85		
C. Total	35	98916.191			

Annexe 4 : analyse de la variance de l'incidence de la cercosporiose

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
traitements	11	36845.109	3349.56	8.1894	<.0001*
Error	24	9816.260	409.01		
C. Total	35	46661.369			

Annexe 5 : analyse de la variance de la sévérité de la cercosporiose

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
traitements	11	67863.903	6169.45	223.4408	<.0001*
Error	24	662.666	27.61		
C. Total	35	68526.569			

"Hommages au patriarche Fotsa Martin"

En bas tu mets " merci pour votre assistan

Annexe 6 : Analyse de la variance du nombre de nodules

Source	DF	Sum Squares	of Mean Square	F Ratio	Prob > F
Traitement	11	24491.879	2226.53	261.5251	<.0001*
Error	24	204.328	8.51		
C. Total	35	24696.207			

Annexe 7 : Analyse de la variance du rendement

Source	DF	Sum Squares	of Mean Square	F Ratio	Prob > F
Traitement	11	1135384.9	103217	.	.
Error	24	0.0	0		
C. Total	35	1135384.9			

Annexe 8 : Rendement

Traitement	V1S	V3S	V2S	V2S	V1S	V3S	V3S	V2S	V1S	V2S	V1S	V3S
ts	1	1	1	0	0	0	2	2	2	3	3	3
Rendement parcellaire (g)	29,2 0	47,7 7	83,0 6	69,9 2	22,3 4	24,8 5	99,7 4	110, 81	65,0 3	93,6 2	49,8 0	69,3 2

Annexe 9 : Caractéristiques du sol

Caractéristiques	pH H2O	N	P	Base échangeable	T°	Quantité de sel	Conductivité électrique	Taux humidité
Résultats	5,9	4 Kg	6 Kg	K+ 15 Kg	25 °C	180 mg /L	300 micro Siemes /cm	45,5 % HR