

RÉPUBLIQUE DU CAMEROUN  
Paix-Travail-Patrie

\*\*\*\*\*

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I

\*\*\*\*\*

ÉCOLE NORMALE SUPÉRIEURE

\*\*\*\*\*

DÉPARTEMENT DES SCIENCES  
BIOLOGIQUES

\*\*\*\*\*

REPUBLIC OF CAMEROON  
Peace-Work-Fatherland

\*\*\*\*\*

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

\*\*\*\*\*

HIGHER TEACHERS'  
TRAINING COLLEGE

\*\*\*\*\*

DEPARTMENT OF BIOLOGICAL  
SCIENCES

\*\*\*\*\*



**INFLUENCE DES MICROORGANISMES  
SOLUBILISANT LE PHOSPHATE SUR LA  
CROISSANCE DU SOJA (*Glycine max L.*)**

Mémoire présenté et soutenu en vue de l'obtention du **Diplôme de Professeur de l'Enseignement Secondaire 2<sup>ème</sup> Grade (Di.P.E.S II)**

Par :

**André KLAPAÏ**

*Maître ès sciences*

Option : Biotechnologie végétale

06Y109

Devant le jury composé de:

Président :  
**Pr SONKE Bonaventure**  
*Professeur ENS Ydé I*

Examineur :  
**Dr LONGO Frida**  
*Chargé de cours ENS Ydé I*

Rapporteurs :  
**Pr NIEMENAK Nicolas**  
*Maître de conférences ENS.Ydé I*  
**Dr FANKEM Henri**  
*Chargé de cours Univ. Dla*

**Année académique 2015-2016**

Á mes parents : MASSAYE Pierre et YANGA Esther KOUVOU

## REMERCIEMENTS

Ce travail ne s'est pas effectué en solitaire. C'est pourquoi je tiens à remercier particulièrement tous ceux qui, d'une façon ou d'une autre, par leurs informations, leurs conseils, leurs encouragements ou leur soutien, ont contribué à l'aboutissement de ce travail de recherche.

Mes sincères remerciements vont :

- au Dr Fankem Henri, Directeur de ce mémoire pour sa disponibilité et son assistance, son aide précieuse et ses conseils judicieux, pour avoir su me transmettre dans une ambiance décontractée, le goût de l'exigence scientifique. Qu'il trouve en ce travail l'expression de ma profonde gratitude et mes sincères remerciements ;
- au Pr Niemenack Nicolas, Superviseur de ce mémoire ;
- au Pr Sonke Bonaventure, Chef de Département des Sciences Biologiques de l'École Normale Supérieure de Yaoundé ;
- au Dr Laurette Ngo Nkot, Chef de Département de Biologie et Physiologie des Organismes Végétaux de l'Université de Douala, pour m'avoir accepté dans le laboratoire du département qu'elle dirige ;
- aux enseignants du Département de Sciences Biologiques de l'École Normale Supérieure de Yaoundé notamment pour leur dur labeur et dévouement dont ils ont fait preuve tout au long de ma formation ;
- à tous mes frères et sœurs : Djanvou Alfred, Mamma Cornelia, Ngatanvou Martin, Ngadvou Elias, Meday Pascal, Mertha Catherine, Tadvou Ernest et Raphaël Vounwel. Vous avez cru en moi et m'avez encouragé à faire cette formation. Merci pour votre amour, votre affection et votre soutien ;
- à mes enfants Agarza Klapaï Yasmine Béryl Grâce et M'well Klapaï Aimé Duhamel Yann qui, malgré mon absence, ont su garder ma fierté. Merci pour vos bons comportements et attitudes envers les personnes qui avaient votre charge pendant toute la durée de la formation ;
- à Mafokoua Héléne Laure qui a suivi avec attention toutes les manipulations liées à ce travail. Je lui dis grandement merci pour sa disponibilité et tous les efforts consentis pour faire de ce travail une réussite ;
- à tous mes amis et camarades de promotion : Kakké Justin, Hamadou Bello, Wangnamou Marcel, Nguimé Makollo Richard, Ndong Désiré, Mekue Quisselle, Kegne Makoudjou

Yolande et Pegba sabine pour les multiples discussions constructives et la bonne ambiance vécue le long de cette année ;

- à ma fiancée Aïssatou Naïmou pour son soutien moral et affectif ;
- à mes amis Kaélé Jules Dollar, Zouyane Valentin, Yaya Thomas et sa femme Salaye Rosalie, Mfoumou Eliane Marcelle pour leur soutien moral;
- à tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail, je vous dis grandement merci.

# TABLE DE MATIÈRE

DÉDICACE.....	i
REMERCIEMENTS.....	ii
TABLE DE MATIÈRES.....	vi
LISTE DES ABBRÉVIATIONS .....	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	viii
LISTE DES FIGURES.....	ix
ABSTRACT.....	x
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	5
I.1 GÉNÉRALITÉ SUR LE SOJA ( <i>Glycine max</i> L.).....	6
I.1.1 Origine et répartition du soja.....	6
I. 1. 2 Description du soja.....	6
I.1.3 Systématique du soja.....	7
I.1.4 utilisation du soja.....	7
I.1.5 Production du soja dans le monde.....	8
I.1.6 Production du soja au Cameroun.....	11
I.2 GÉNÉRALITÉ SUR LE PHOSPHORE.....	12
I.2.1 Importance du phosphore .....	12
I.2.2 Origine du phosphore .....	12
I.2.3 Formes du phosphore dans le sol et leur devenir .....	13
I.2.3.1 Forme organique.....	13
I.2.3.2 Forme minérale.....	14
I.3 CYCLE DU PHOSPHORE.....	14
I.4 MÉCANISMES DE MISE EN DISPONIBILITÉ DU PHOSPHORE.....	16
I.4.1 Mécanisme physique.....	16
I.4.1.1 Facteurs liés à la source de phosphore.....	16
I.4.1.2 Texture et Structure.....	16
I.4.2 Facteurs chimiques.....	17
I.4.3 Facteurs liés aux pratiques de gestion du sol et des fertilisants.....	18
I.4.4 Effets des espèces de plantes.....	18

I.4.5 Mécanismes biologiques.....	19
I.5 SITUATION DU PHOSPHORE DANS LE MONDE.....	20
CHAPITRE II: MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	22
II.1 REVITALISATION ET PURIFICATION DES SOUCHES MICROBIENNES.....	23
II.2 ÉVALUATION DE L'APTITUDE DES SOUCHES A SOLUBILISER LES PHOSPHATES ROCHEUX DE DIFFERENTES ORIGINES EN MILIEU SOLIDE ET MILIEU LIQUIDE.....	24
II.2.1 Phosphates rocheux.....	24
II.2.2 Préparation et détermination de la concentration de l'inoculum.....	25
II.2.3 Évaluation de l'aptitude solubilisatrices des souches en milieu solide.....	25
II.2.4 Évaluation de l'aptitude solubilisatrice des souches en milieu liquide.....	26
II.3 ÉVALUATION DE L'EFFET DE L'INOCULATION SUR LA CROISSANCE DU SOJA.....	28
II.3.1 Stérilisation et Prégermination .....	28
II.3.2 Conduite de l'expérimentation.....	29
II.4 COLLECTE DES DONNÉES.....	30
III.5 ANALYSES STATISTIQUES.....	30
CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	31
III.1. ÉVALUATION DE L'APTITUDE SOLUBILISATRICE DES SOUCHES MICROBIENNES EN MILIEU SOLIDE ET EN MILIEU LIQUIDE.....	32
III.1.1. Évaluation de l'aptitude solubilisatrice des souches testées en milieu solide des différents types de phosphates rocheux .....	34
III.1. 2. Évaluation de l'aptitude solubilisatrice des meilleures souches microbiennes en milieu solide et en milieu liquide.....	34
III.1. 2.1 Évaluation de l'aptitude solubilisatrice des meilleures souches microbiennes en milieu solide .....	34
III.1.2.1.1 Capacité de solubilisation des meilleures souches en fonction de l'origine des phosphates rocheux en milieu solide .....	34
III.1.2.1.2 Aptitude des meilleures souches à solubiliser des phosphates rocheux en milieu solide.....	36
III.1.2.1.3 Solubilisation des phosphates rocheux selon leur origine.....	37

III.1.2.2 Évaluation de l'aptitude solubilisatrice des meilleures souches en milieu liquide des différents types de phosphates rocheux .....	38
III.1.2.2.1 Capacité de solubilisation des meilleures souches en fonction de l'origine des phosphates rocheux en milieu liquide.....	38
III.1.2.2.2 Aptitude des meilleures souches à solubiliser des phosphates rocheux en milieu liquide.....	39
III.1.2.2.3 Capacité de Solubilisation des phosphates rocheux selon leur origine.....	40
III.2 TEST D'ANTAGONISME.....	41
III.3 INFLUENCE DE L'INOCULATION DES SOUCHES SOLUBILISATRICES SUR LA CROISSANCE DU SOJA .....	42
III.3.1 Influence de l'inoculation des souches solubilisatrices sur la croissance du soja trois semaines après semis.....	42
III.3.2 Influence de l'inoculation des souches solubilisatrices sur la croissance du soja six semaines après semis.....	43
DISCUSSION .....	47
CHAPITRE IV : IMPLICATION SUR LE SYSTEME EDUCATIF DU SUJET .....	51
CONCLUSION ET PERSPECTIVE.....	58
RÉFÉRÉNCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	59

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

- ADN : Acide Désoxynucléique  
ANOVA: Analyse Ordonnée des Variances.  
ARN : Acide Ribonucléique  
ATP : Adénosine Triphosphate  
C.E.C : Capacité d'Echange Cationique  
C/N: Carbone/ azote  
CFU: Colony Forming Unit  
DAP: Di-Ammoniac Phosphate (phosphate di- ammonique)  
FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations  
J.C: Jesus Christ  
Meq ; Milliéquivalent  
MINADER: Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural  
MRF : Matières résiduelles Fertilisantes  
MSP: Microorganismes Solubilisateurs de Phosphore  
NBRIP: National Botanic Research Institute's Phosphate  
Pi : Phosphate inorganique  
PN: Phosphate Naturel  
PNAD: Phosphate Naturel pour Application Directe  
Po : Phosphate organique  
PR : Phosphate Rocheux  
SSP : Superphosphate Simple  
SODECOTON : Société de Développement du Coton  
rpm : rotation par minute  
TSP : Triple Superphosphate  
T+ : Témoin positif  
T- : Témoin négatif  
USDA: United State Department of Agriculture  
WWF: World Wide Fund For nature



## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Superficie cultivée production du soja ( <i>Glycine max</i> ) par region en 2009 et 2010 au Cameroun.....	12
Tableau 2. Valeurs estimatives de la production mondiale de phosphates naturel e ; 1999 (Mew, 2000).....	21
Tableau 3.Composition minéralogique des différents phosphates rocheux utilisés.....	24
Tableau 4. Composition chimique la solution de coloration du phosphore soluble en milieu liquide .....	27
Tableau 5. Structure physique et Composition chimique du sol utilisé pour le test en pots.....	29
Tableau 6. Vitesse de solubilisation des différents phosphates rocheux par les souches en fonction du temps .....	33
Tableau 7. Longueur de la tige, diamètre au collet et nombre de feuilles du soja trois semaines après semis.....	42
Tableau 8. Longueur de la tige, diamètre au collet, nombre de feuilles et nombres de gousses du soja six semaines après semis.....	44
Tableau 9. Masse sèche aérienne, masse sèche racinaire et masse sèche totale du soja six semaines après les semis.....	45

## LISTE DES FIGURES

Figure 1. Graines de soja .....	6
Figure 2. Plante adulte de soja (Guy Roulier, 2012).....	7
Figure 3. Répartition de la production mondiale de soja .....	9
Figures 4. Principaux pays exportateurs de soja dans le monde USDA.....	10
Figure 5. Principaux pays importateurs de soja .....	11
Figure 6. Cycle du phosphore (adapté par Pierzynski, 2002)....	15
Figure 7. Disponibilité du phosphore en fonction du pH .....	17
Figure 8. Banque des souches microbiennes .....	23
Figure 9. Tubes à essai et Ependorfs et Erlenmeyer contenant le milieu de culture .....	25
Figure 10. Courbe de calibration pour l'évaluation de la quantité de phosphore solubilisée .....	27
Figure 11. Pré-germination des graines de soja.....	28
Figure 12. Dispositif expérimental complètement en blocs randomisés .....	30
Figure 13. Formation d'Halo zone (jaune) autour d'une colonie (blanc).....	32
Figure 14. Solubilisation de chaque type de phosphate rocheux par les différentes souches en milieu solide.....	35
Figure 15. Aptitude des meilleures souches à solubiliser des cinq phosphates rocheux en milieu solide .....	36
Figure 16. Aptitude des phosphates rocheux à être solubilisé par toutes les souches .....	37
Figure 17. Solubilisation de chaque type de phosphate rocheux par les différentes souches en milieu liquide.....	38
Figure 18. Aptitude des souches à solubiliser des cinq phosphates rocheux en milieu liquide.....	39
Figure 19. Aptitude des phosphates rocheux à être solubilisé par toutes les souches en milieu liquide .....	41
Figure 20. Test d'antagonisme entre les microorganismes sélectionnés.....	41

## ABSTRACT

Face to the problem of soil infertility that concern Cameroonian agriculture, the use of phosphate solubilizing microorganisms is an agronomic alternative, economic and environmentally friendly. Microorganisms were tested in plates and in shaking cultures to assess their ability to solubilize rock phosphates from different origins. They were subsequently tested in greenhouse to evaluate their ability to promote the soybeans growth. The results on plates showed that six strains variously solubilized rock phosphates from Algeria, Cameroon, Mali, Morocco and Mexico with index of solubilization (IS) of 2.46 for *Galactomyces* sp.; 2.34 for *Plantibacter* sp., 1.99 for *Sphingobacterium* sp., 1.35 for *Enterobacter* sp.2, 1.21 for *Enterobacter* sp.144 and 0.54 for *Bacillus* sp.. In shaking cultures, they were also able to mobilize variable amounts of phosphorus from rocks, with concentration of 405.47 mg/L, 392.19 mg/L, 329 mg/L, 323.46 mg/L, 260.19 mg/L and 216.56 mg/L respectively for *Enterobacter* sp.2, *Sphingobacterium* sp., *Enterobacter* sp.144, *Galactomyces* sp.31F, *Plantibacter* sp., and *Bacillus* sp..Among the inoculated treatments, the AB (*Enterobacter* sp.2-*Enterobacter* sp.144) consortium shows the highest total dry mass (3.28g) compared to the negative control. The results of the different tests suggest that those strains can be an important tool to improve the agricultural production of soybean.

**Keys words:** Microorganisms, Rock phosphate, Solubilization index, solubilization, Consortium



# **INTRODUCTION**

L'agriculture est pratiquée sur le tiers des terres émergées et emploie près de 43% de la population mondiale (FAO stat. 2012). L'agriculture est une source de revenu pour de nombreuses populations dans le monde et particulièrement celles de l'Afrique subsaharienne (Losh, 2012). Le secteur agricole occupe près de 60% de la population active et est indispensable à la réduction de la pauvreté et à la sécurité alimentaire (FAO 2009). La faible productivité agricole en Afrique subsaharienne est due en grande partie à la perte de la fertilité du sol (Sanchez 2002) et dont les conséquences aux plans nutritionnel et économique sont nombreuses. Entre 1993 et 1995, le taux annuel d'appauvrissement des sols en nutriments avait été estimé à plus de 60 kg/ha dans plusieurs pays y compris le Cameroun (Bumb et Gregory 2006), ce qui correspond à une perte annuelle d'environ 4 milliards de dollar d'engrais (Inter Academy Council 2004).

Le phosphore est un élément énergétique, il intervient dans le métabolisme des glucides, des lipides et des protéides. Il est prélevé par les racines sous forme d'ions dissous dans la solution du sol ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  ou  $\text{HPO}_4^{2-}$ ). Dans la plante, il peut rester sous forme inorganique, être estérifié sur un groupement hydroxyle d'une chaîne carbonée ou être lié à un autre atome de P par une liaison riche en énergie (par exemple dans l'ATP). Il entre dans la structure et la composition des acides nucléiques (ADN, ARN) et des phospholipides. Il joue un rôle clé dans de nombreuses réactions enzymatiques et dans le maintien de l'intégrité de la membrane (Alain 1999). Le phosphore joue également plusieurs rôles dans la vie des plantes, il est considéré comme un constituant essentiel des chromosomes, il intervient partout où il y a multiplication cellulaire d'où l'importance du phosphore dans les phénomènes de croissance et de reproduction. Il joue un rôle déterminant dans le transfert d'énergie, il est indispensable à la photosynthèse et aux autres processus chimio-physiologiques de la plante. Il intervient dans la rigidité des tissus tout en les rendant plus résistants à l'averse et aux maladies cryptogamiques (Gervy 1970).

La déficience des sols en phosphore disponible est l'une des causes principales de la perte de la fertilité des sols et un facteur limitant majeur pour la production végétale (Fankem 2007). Le phosphore soluble évolue rapidement vers des formes peu solubles comme les apatites. Une partie considérable du phosphore est adsorbée aux particules et à la matière en suspension du sol. De ce fait, le sol joue un rôle de réservoir de phosphore.

Pour résoudre le problème de perte de fertilité des sols, les agriculteurs utilisent les engrais phosphatés solubles. En réalité, la majeure partie du phosphore ajouté ou non sous forme

soluble est soit fixé par le calcium ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) dans les sols alcalins ou neutres, soit précipité par les formes libres de fer ( $\text{FePO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) ou d'aluminium ( $\text{AlPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) dans les sols acides (Giroux 2002). Ainsi, il se produit facilement une accumulation de phosphate dans les sols fertilisés puisque seulement environ 10-20% d'engrais phosphatés apportés par amendement sont utilisés par les plantes (Richardson *et al.* 2009). Par ailleurs, l'approvisionnement en engrais chimiques phosphatés dans les pays en voie de développement est limité par leur coût élevé pour la plupart de petits agriculteurs (Fankem *et al.* 2008).

Au regard des impacts négatifs des engrais chimiques sur l'environnement, leur coût élevé et de leur efficacité éphémère due à la fixation du phosphore par certains minéraux du sol, l'utilisation des microorganismes solubilisant le phosphore (MSP) comme alternative est plus qu'avantageuse et donc envisageable pour le développement d'une agriculture durable (Gyaneshwar *et al.* 2002).

Le maintien des sols à leur niveau de fertilité acceptable et favorable à l'agriculture est une préoccupation sérieuse des agriculteurs du monde. Les sols camerounais généralement acides et peu fertiles, montrent des déficiences en azote et en phosphore (Nwaga *et al.* 2000). Ils nécessitent pour la plupart un apport en fertilisants chimiques, ce qui pose un problème de coût pour les petits agriculteurs. Cependant, l'utilisation efficiente des éléments apportés exige qu'ils soient sous des formes absorbables directement par les plantes. L'utilisation des MSP est une alternative pour résoudre ce problème (Nwaga *et al.* 2000).

L'objectif général de cette étude est de déterminer l'impact des microorganismes solubilisant les phosphates sur la croissance du soja.

Pour atteindre cet objectif, nous nous proposons de :

- évaluer l'aptitude des souches à solubiliser les phosphates rocheux de différentes origines en milieu solide et en milieu liquide;
- déterminer l'effet de l'inoculation de quelques souches solubilisatrices de phosphate en consortium ou isolement sur la croissance du soja.

Dans ce travail, il est question pour nous de préciser d'abord le contexte dans lequel notre étude est menée, de ressortir la problématique, de déterminer ensuite l'objectif général et les objectifs spécifiques. Au premier chapitre, nous présenterons le soja sur la base de la description botanique, sa position systématique, son utilisation et sa production à travers le monde et au Cameroun en particulier. Sur le phosphore, nous relèverons son origine, son cycle, ses différentes formes, et sa situation à travers le monde, tout en identifiant les différents facteurs qui influencent la solubilisation du phosphore et l'intervention des microorganismes dans la solubilisation du phosphore du sol. Le deuxième chapitre, nous permettra d'indiquer le

matériel et méthodes utilisés et le troisième chapitre sera consacré à la restitution des résultats, à la discussion et à la conclusion. Le quatrième chapitre sera consacré à l'implication sur le système éducatif du sujet (fiche pédagogique, intérêt didactique).

**CHAPITRE I :**  
**REVUE DE LA LITTÉRATURE**



## I.1 GÉNÉRALITÉS SUR LE SOJA (*Glycine max* L.)

### I.1.1 Origine et répartition du soja

Le soja est d'origine asiatique et plus précisément des régions Nord et Centre de la Chine (Lof *et al.* 1990, Roumet 2001, CIRAD-GRET 2002). Sa domestication a eu lieu dans le Nord-Est de la Chine aux alentours du XI<sup>e</sup> siècle avant J.C. (Javaheri et Baudouin 2001, Giller et Dashiell 2007). La date de son introduction en Afrique reste obscure. Il semble qu'il a été introduit au cours du 19<sup>e</sup> siècle par les marchands chinois forts actifs le long de la côte orientale. De nos jours, le soja est largement cultivé dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées du monde entier.

### I.1.2 Description botanique

Le soja est une légumineuse oléagineuse donc une plante herbacée annuelle, connue seulement à l'état cultivé. Les tiges dressées ont une longueur de 30 à 100 cm. Les feuilles sont trifoliées, tombent avant que les gousses ne soient arrivées à maturité. Les fleurs, en forme de papillon, blanches ou pourpres, de petites tailles, apparaissent à l'aisselle des feuilles. Elles sont hermaphrodites et autogames puisque la fécondation se produit avant leur épanouissement, ce qui empêche les échanges de pollen entre plantes. Cependant, la pollinisation croisée est parfaitement possible (Javaheri et Baudouin 2001). Les fruits sont des gousses velues, de forme droite ou arquée contenant deux à quatre graines de 3 à 8 cm. Ces graines peuvent être petites ou grosses, longues, rondes ou ovales. Leur couleur peut également varier. Le plus souvent, elles sont jaunes mais elles peuvent aussi être vertes, brunes, violettes, voire même noires ou tachetées. Le poids de 1000 graines varie de 120 à 200g (Javaheri et Baudouin 2001, Giller et Dashiell 2007).



**Figure 1.** Graines du soja



**Figure 2.** Plante adulte du soja (source : GUY Roulier, 2012)

### **I.1.3 Systématique du soja**

Le soja appartient au genre *Glycine*, est classé dans la sous-tribu des *Glycinae* de la tribu des *Phaseoleae*, de la famille des *Papilionaceae* (*Fabaceae*) et de l'ordre des *Leguminosales* (ou *Fabales*). Le genre *Glycine* comprend environ vingt espèces réparties dans les régions tropicales et subtropicales. Il est subdivisé en deux sous-genres : *Glycine* (espèces vivaces) et *Soja* (espèces annuelles) (Demol *et al.* 2002). Le sous-genre *Soja* comprend les espèces *G. soja* Sieb et Zucc (types sauvages retrouvés en Asie Orientale) et *Glycine max* (L.) Merrill (formes cultivées) (Javaheri et Baudoin 2001, Giller et Dashiell 2007). En Afrique tropicale, les cultivars ont un cycle long (120 jours) et une aptitude « généraliste » à noduler avec des rhizobiums indigènes des sols africains. On peut opposer ces cultivars à ceux obtenus des programmes de sélection et qui sont plutôt petits et à cycle courts (70 à 90 jours) (Giller et Dashiell 2007).

### **I.1.4 Utilisation du soja**

Le soja est utilisé en premier lieu pour l'alimentation humaine et l'élevage industriel, sous différentes formes telles que de "tourteaux" ou de farine, lait. On oublie parfois que cette plante possède des vertus thérapeutiques et médicinales (Roussel et Pichon 2014). Les parties utilisées sont les fèves et les germes en alimentation et les graines en phytothérapie (Gayet 2013).

Les constituants intéressants du soja sont très nombreux. On retient, les acides gras essentiels (comme l'acide linoléique, un oméga 6) qui présentent un intérêt médical (Baudoux 2001), les phospholipides en teneur importante dans la lécithine, de nombreuses protéines et,

surtout, les isoflavones, dont les trois principales sont : la génistéine, la daidzéine et la glycitéine. Ce sont des phyto-oestrogènes c'est-à-dire des substances présentant des similarités avec l'oestrogène ; ils entraînent ainsi des effets dits oestrogéniques jouant un rôle dans le soulagement des troubles de la ménopause (Gayet 2013). La lécithine de soja (E322) extraite de la graine renferme de nombreux acides gras polyinsaturés essentiels. Le soja diminue le cholestérol total (hypocholestérolémiant) et le mauvais cholestérol (LDL) et permet de réduire les triglycérides (hypolipidémiant) de l'organisme (Baudoux 2001). Il est ainsi recommandé en cas de diabète, en prévention des risques de maladies cardio-vasculaires chez les femmes ménopausées, mais aussi en cas de l'hépatite chronique. Il est aussi utilisé sous forme de crèmes hydratantes permettant de lutter contre les sécheresses de la peau (Gayet 2013). Enfin, depuis quelques années, une partie limitée de la production d'huile de soja (moins de 10 %) est utilisée comme agro carburant ou biodiesel (WWF 2014).

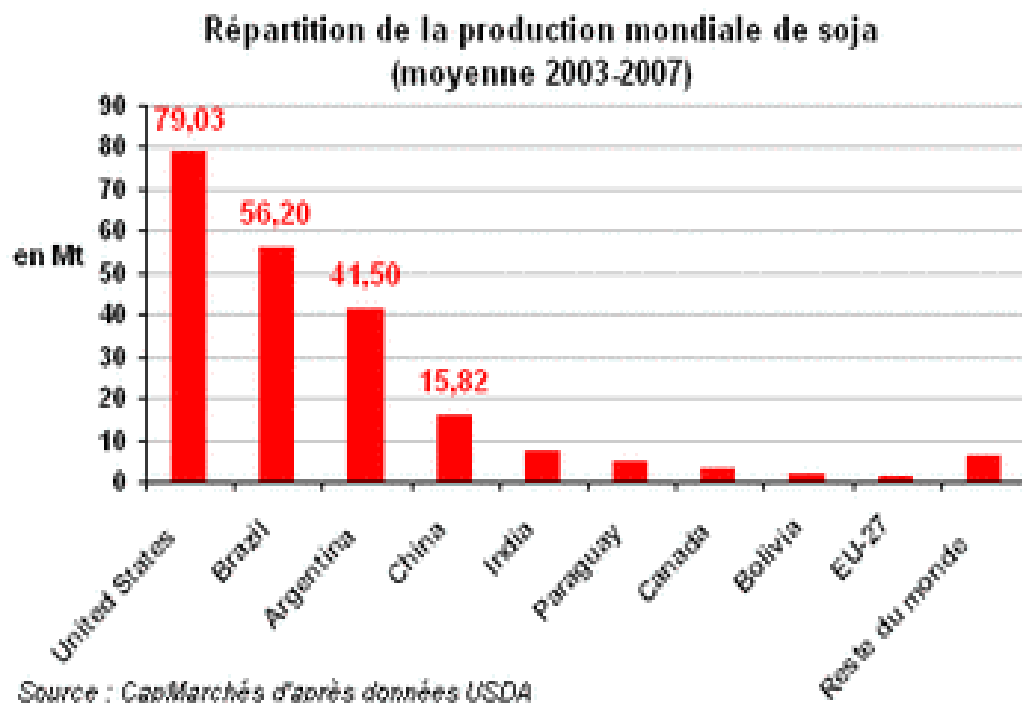
Le soja est un allergène pour certaines personnes et peut entraîner des troubles plus ou moins importants, selon la sensibilité des personnes. Un excès de consommation de soja frais peut entraîner de constipations et de nausées (Baudoux 2001).

Le soja est une culture moyennement exigeante en potasse et peu exigeante en acide phosphorique (Agnoro 2008). Les exportations sont de 42 unités de phosphore ( $P_2O_5$ ) et 50 unités de potasse ( $K_2O$ ) pour 30 quintaux de grains. Si le sol est bien pourvu en ces éléments, on pourra faire l'impasse au niveau des fertilisants. Dans le cas contraire, on utilisera pour couvrir les besoins en phosphore ( $P_2O_5$ ) du Phosphate (34%  $P_2O_5$ ) en sol alcalin, des phosphates naturels (15-20%  $P_2O_5$ ) ou des scories de déphosphoration (8-10%  $P_2O_5$ ) de préférence en sol neutre à acide (Agnoro 2008).

### **I.1.5 Production de soja dans le monde**

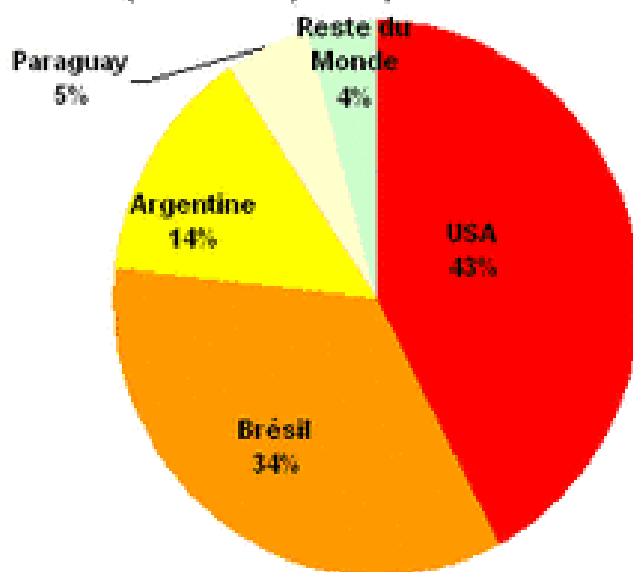
La production mondiale de soja a connu un développement très rapide. Marginale au milieu des années 1960 avec 30 millions de tonnes cultivées, la production mondiale de soja a bondi en 40 ans et s'approche du seuil des 300 millions de tonnes par an (USDA, FAO 2013). Sur cette même période le taux de croissance moyen annuel de la production de soja a été d'environ 5.7% et nettement plus élevé que pour les céréales (2%/an pour le blé et 3%/an pour le maïs). Les Etats-Unis sont le premier producteur et exportateur mondial de soja mais les deux (2) géants agricoles sud-américains, le Brésil et l'Argentine, les ont rejoints en tête du marché du soja. A eux seuls ils ont assurés 82% des tonnages produits à travers le monde. Loin derrière

ce trio de tête, on trouve la Chine qui produit environ 7% de la production mondiale mais se distingue surtout comme étant la première zone importante de consommation et d'importation de soja (FAO 2013).



**Figure 3.** Répartition de la production mondiale de soja (USDA)

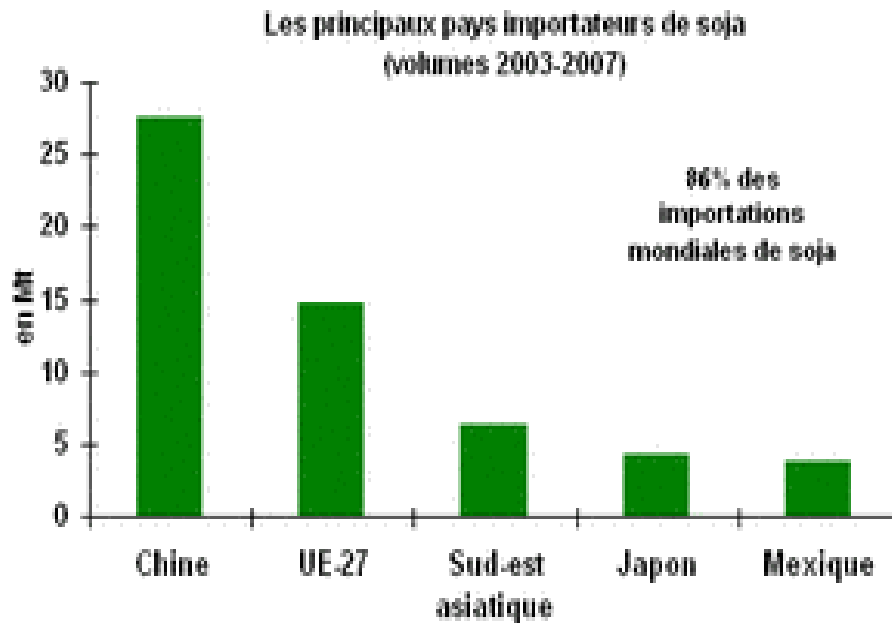
**Les principaux pays exportateurs de soja dans le monde**  
(volumes moyens exportés sur 2003-2007)



**Figure 4.** Principaux pays exportateurs de soja dans le monde (USDA)

Les surfaces cultivées en soja sont passées de 72 millions d'hectares en 1999 à 108 millions d'hectares en 2012, soit une progression de 50%. La culture du soja occuperait plus d'un million de kilomètres carrés dans le monde (WWF 2010). La production mondiale de soja s'est accrue sous l'effet d'une augmentation conjointe des surfaces, multipliées par 3.6, et des rendements qui ont doublé (WWF 2014).

La forte concentration de la production de soja sur les continents nord et sud-américains, loin des bassins de consommation des pays industrialisés comme l'Union européenne ou des pays en fort développement comme la Chine explique l'importation massive des graines pour approvisionner leurs industries de trituration.



**Figure 5.** Principaux pays importateurs de soja (USDA)

### I.1.6 Production du soja au Cameroun

Au Cameroun, l'utilisation du soja est très diversifiée. Le soja entre directement dans l'alimentation humaine sous forme de lait de soja, de desserts à base de soja, de lécithine de soja (produit émulsifiant utilisé comme additif alimentaire dans des produits alimentaires) et d'huile. Il est utilisé sous forme de graines et de tourteaux en élevage. Le Cameroun est un grand consommateur de soja. Les chiffres du Ministère de l'Economie révèlent que le Cameroun importe en moyenne 20 000 tonnes de soja par an, pour une valeur de près de 10 milliards de francs CFA. Ces chiffres sont confirmés par le MINADER. En 2010, le gouvernement camerounais a dépensé 7.876.783.375 FCFA pour acheter les produits de cette légumineuse ; 8.100.308.955 FCFA en 2011 ; 10.772.214.603 FCFA en 2012. En 2013, nous sommes passés à 11.032.836.887 FCFA (AGRISTAT 2013). Le soja est cultivé principalement dans la partie septentrionale du Cameroun mais aussi dans la région de l'Ouest. Sa production annuelle est estimée à 16000 tonnes, la plus grande production jusqu'en 2012. Ainsi, nous pouvons dire que le Cameroun consomme plus qu'il ne produit. La Société de développement du coton (SODECOTON) depuis quelques années de diversifier ses activités pour se prémunir de la conjoncture internationale peu favorable du coton, devrait produire plus 16 000 tonnes de soja en 2015 (AGRISTAT 2012). L'augmentation vertigineuse de la production du soja s'explique par l'existence d'un marché de plus en plus demandeur de ce produit par les agro-industries

locales. Ce qui serait d'ailleurs à l'origine de la construction à Douala, d'une unité de transformation du soja, d'une capacité de broyage de 18 000 tonnes par an.

**Tableau 1.** Superficies cultivées et production de *Glycine max* par Région en 2009 et 2010 au Cameroun

Région	Superficies (hectares) en 2009	Production (tonnes) en 2009	Superficies (hectares) en 2010	Production (tonnes) en 2010
Adamaoua	78	105	85	116
Centre	1798	2671	1901	2810
Est	-	-	-	-
Extrême-nord	469	481	560	520
Littoral	1554	2514	1637	2647
Nord	427	353	467	401
Nord-ouest	1787	1784	2034	2156
Ouest	2443	3463	2877	3654
Sud	84	60	89	72
Sud-ouest	136	164	138	168
Total	8774	11595	9788	12544

Source : MINADER 2010

(-) : pas des données

## I.2 GÉNÉRALITÉ SUR LE PHOSPHORE

### I.2.1 Importance du phosphore

Le phosphore est un élément indispensable et irremplaçable pour les besoins vitaux des plantes. Il est un élément essentiel à la croissance et au développement des végétaux. Sa carence est un facteur limitant à la production agricole (George *et al.* 2006). Le phosphore intervient dans le transfert d'énergie (ATP), dans la transmission des caractères héréditaires (Acides nucléiques), la photosynthèse et dégradation des glucides. Il est aussi essentiel pour la floraison, la nouaison, le grossissement, la précocité et la maturation (Gervy 1970). De plus, le phosphore favorise l'enracinement précoce, la santé des végétaux et l'abondance des récoltes. La carence en phosphore se manifeste chez les végétaux par une diminution du développement des racines, une coloration plus foncée des feuilles et la nécrose des limbes (Christian *et al.* 2005). Dans les sols, son contenu varie de 200 à 5000 ppm soit 0,02 à 0,5% pour une moyenne de 600 ppm (Lindsay 1979).

### I.2.2 Origine du phosphore

Les sources de P dans le sol sont la roche mère, les résidus végétaux, les engrais apportés (Tiessen *et al.* 1984, Lamontagne 2009) et de matières résiduelles fertilisantes (MRF).

L'application des fertilisants organiques (composts) en surface du sol contribue à l'augmentation des charges solubles biodégradables de P (Larney *et al.* 2000) grâce à une solubilité plus élevée du phosphore contenu dans les déjections animales.

Les apports de fertilisants phosphatés solubles sont sous formes de triple superphosphate(TSP), de superphosphate simple (SSP), et de phosphate di-ammonique (DAP) (Supanjani *et al.* 2011). Le phosphate rocheux naturel est une alternative moins coûteuse et plus écologique. Cette source de phosphore est d'origine volcanique ou bien des restes des squelettes d'animaux.

### **I.2.3 Formes du phosphore dans le sol et leur devenir**

Le phosphore existe sous deux formes principales : la forme organique (Po) et la forme inorganique ou minérale (Pi).Le phosphore organique résulte de la dégradation des végétaux par la faune et la flore du sol et peut représenter jusqu'à 80% du phosphore total dans les sols des milieux naturels et seulement 25% dans ceux des milieux cultivés (Antoni 2009). Dans la solution du sol, le phosphore minéral est sous deux formes d'ions phosphatés : le  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  (dihydrogénophosphate en conditions acides) et le  $\text{HPO}_4^{2-}$  (hydrogénophosphate en conditions alcalines) (Busman *et al.* 2002). Le P est un élément peu mobile dans le sol (Barber, 1995; Holford1997), certaines formes sont insolubles ou ont une solubilité modérée.

#### **I.2.3.1 Forme organique**

Le Po dérive principalement des résidus végétaux, des cellules microbiennes et fongiques et des métabolites cellulaires (Louche 2009). Le Po peut représenter jusqu'à 80% du P total présent dans un sol (Condron & Tiessen 2005).On distingue des monoesters-P (les inositols phosphates ou phytates, les sucres phosphates), des diesters-P (l'ADN, l'ARN, les phospholipides (l'acide techoïque), et en plus faible proportion des phosphonates et des poly et pyrophosphates (Frossard *et al.* 2004, Plante 2007). Les différentes formes organiques de P ne sont pas disponibles pour les racines. Ces formes doivent d'abord être hydrolysées par les phosphatases, produites par les racines, les bactéries et les champignons pour libérer du phosphore inorganique (Pi) qui est prélevé (Richardson *et al.* 2001a ; Zimmermann 2003b). En effet, ces composés peuvent être fortement adsorbés par les minéraux argileux et peuvent former avec la matière organique des composés difficilement dégradables ou précipiter avec les oxydes de Fer (Fe) ou d'Aluminium (Al) dans les sols acides ou de Calcium (Ca) et Magnésium (Mg) dans les sols neutres ou alcalins. L'extraction séquentielle est utilisée comme méthode de routine pour étudier les composés de Po dans les sols (Ivanoff *et al.* 1998)



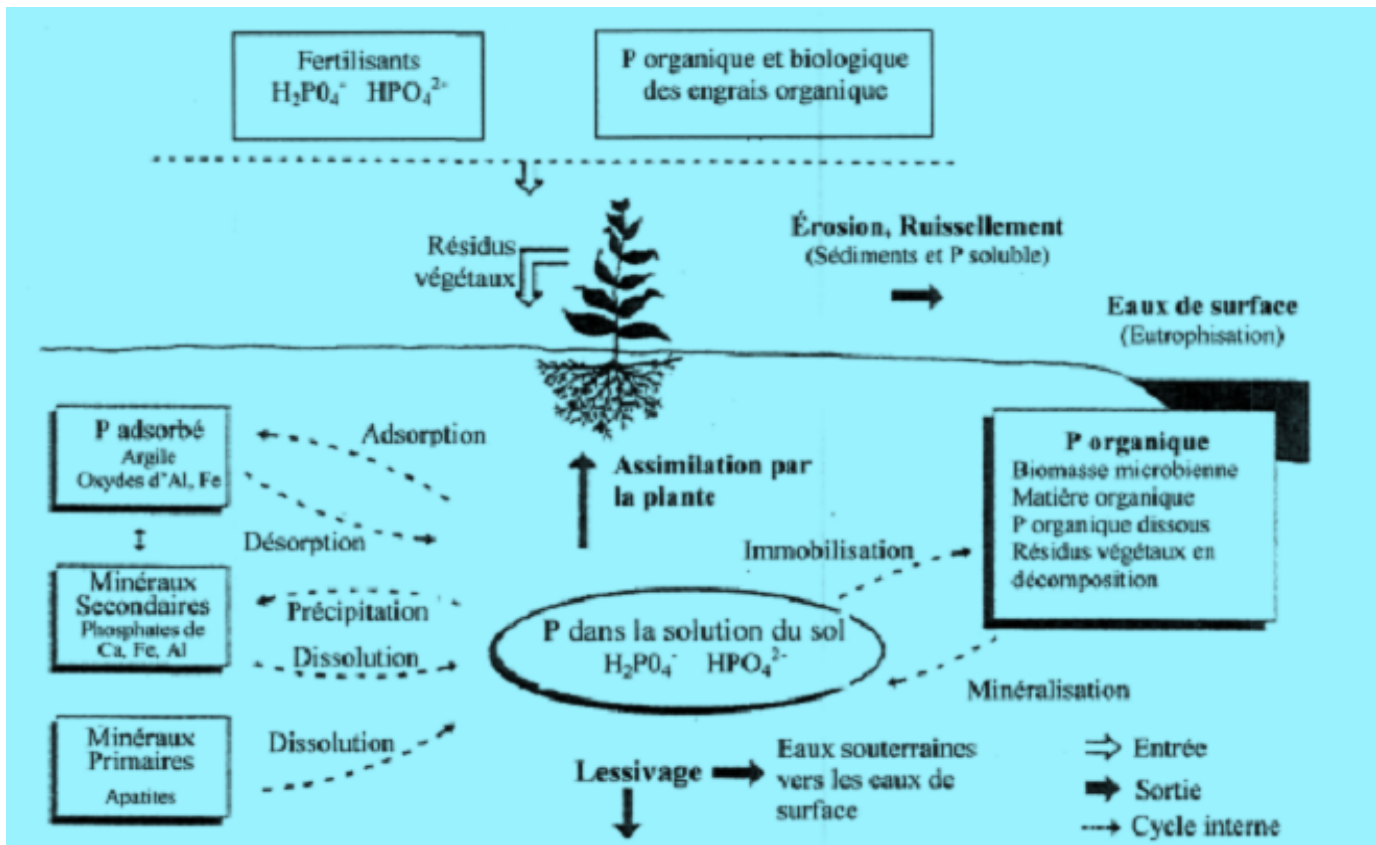
### I.2.3.2 Forme minérale

Les ions orthophosphates ou Pi constituent la seule forme de P directement assimilable par les plantes. La faible mobilité du Pi dans la solution du sol, estimée de  $10^{-12}$  à  $10^{-15}$  m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup> (Louche 2009), résulte de sa forte réactivité avec les constituants du sol. La concentration du Pi en solution se maintient pour la majorité des sols entre 0,1 et 10 µM (Hinsinger, 2001). Les formes ioniques du Pi en solution proviennent de la dissociation de l'acide orthophosphorique (Lindsay 1979). En fonction du pH de la solution des sols (pH4-8), HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> et H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> sont les deux principales formes de Pi présentes en solution. La forme H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> domine dans les sols acides tandis que la forme trivalente PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> ne se forme que pour des valeurs de pH très alcalines supérieures à 10.

Du fait de leur charge négative, les ions phosphates sont capables de se combiner avec de nombreux éléments du sol pour former des minéraux phosphatés avec des cations libres dans le sol comme le calcium, l'aluminium et le fer. Le calcium peut être remplacé par le magnésium, le manganèse, le césium ou d'autres cations. Selon Tisdale *et al.* (1985), les phosphates précipités par le fer et l'aluminium sont transformés en minéraux très stables: strengite et variscite, tandis qu'avec le calcium dans sa forme carbonate(Ca<sub>2</sub>(CO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), les phosphates vont évoluer, au cours du temps, vers des formes de plus en plus stables pour donner les phosphates octocalciques puis les phosphates di ou tricalciques et en fin les apatites définies par une formule chimique de base M<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>X<sub>2</sub> où le minéral (M) est du Ca<sup>2+</sup> et l'anion(X) peut être F<sup>-</sup> (fluoroapatite), Cl<sup>-</sup> (chloroapatite), OH<sup>-</sup> (hydroxyapatite) ou CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>. Les ions phosphates peuvent être aussi complexés à la surface de solides tels que la silice, l'argile, l'hydroxyde métallique, les carbonates (Behra *et al.* 1999).Ce phénomène appelé rétroversion des phosphates est à l'origine de dépôts importants de phosphates naturels de plus en plus exploités et utilisés comme fertilisant.

## I.3 CYCLE DU PHOSPHORE

Dans la nature, le P existe sous forme de phosphate plutôt que sous sa forme élémentaire. Issu majoritairement de l'altération des roches, le phosphore minéral (inorganique) est fortement lié aux carbonates de calcium dans les sols calcaires ou aux composés d'aluminium ou de fer dans les sols acides.



**Figure 6.** Cycle du phosphore (adapté par Pierzynski, 2002)

L’approvisionnement du P en solution est sous l’influence de deux sous-cycles (Fig.6) : un cycle biologique dans lequel le P est de forme organique dont les transferts sont régis par des réactions biologiques, et un cycle géochimique dans lequel le P est constitué des composés chimiques et minéralogiques dont les transferts sont régis par des mécanismes abiotiques (Louche 2009).

A l’opposé des autres grands cycles biogéochimiques, le cycle du phosphore ne compte pas de phase gazeuse et n’affecte logiquement pas l’atmosphère. L’équilibre naturel du cycle du phosphore est considérablement modifié par les actions anthropogéniques au cours des dernières centaines d’années (Aubert 2007, Beaudin I 2006). Plusieurs régions du monde présentent de fortes densités animales et des applications répétées d’effluents d’élevage basées sur les besoins des cultures en azote. Le P n’a pas d’effets toxiques directs sur les humains ou les animaux (Pierzynski *et al.* 2000), mais il peut causer l’eutrophisation des eaux de surface. L’eutrophisation se définit par une croissance accélérée des plantes aquatiques. Les effets négatifs associés à ce phénomène sont importants d’un point de vue écologique, économique et sanitaire. On peut citer la dégradation de l’habitat (réduction de la teneur en oxygène dissous),

réduction de la biodiversité, diminution de la valeur économique des usages récréatifs (Pierzynski *et al.* 2000).

## **I.4 MÉCANISMES DE MISE EN DISPONIBILITE DU PHOSPHORE**

Pour que le phosphate naturel puisse servir de source de phosphore et optimiser la croissance des plantes, il faut que ses conditions d'utilisation en application directe, ou sous forme acidulée, favorisent sa dissolution (Bationo *et al.* 1998, Toro *et al.* 1998). Elles relèvent à la fois du sol et des facteurs extérieurs au sol qui sont de trois ordres: physiques, chimiques et biologique (Morel 1996).

### **I.4.1 Mécanismes physiques**

#### **I.4.1.1 Facteurs liés à la source de phosphore**

La solubilité de la roche phosphatée est la propriété donnant le plus d'information sur son efficacité agronomique. Elle dépend en grande partie de la composition chimique et minéralogique de la roche considérée. Chien (1977) a démontré que, la solubilité des roches phosphatées croît avec l'augmentation des structures de substitution du carbonate pour le phosphore dans la structure de la roche phosphatée.

#### **I.4.1.2 Texture et structure du sol**

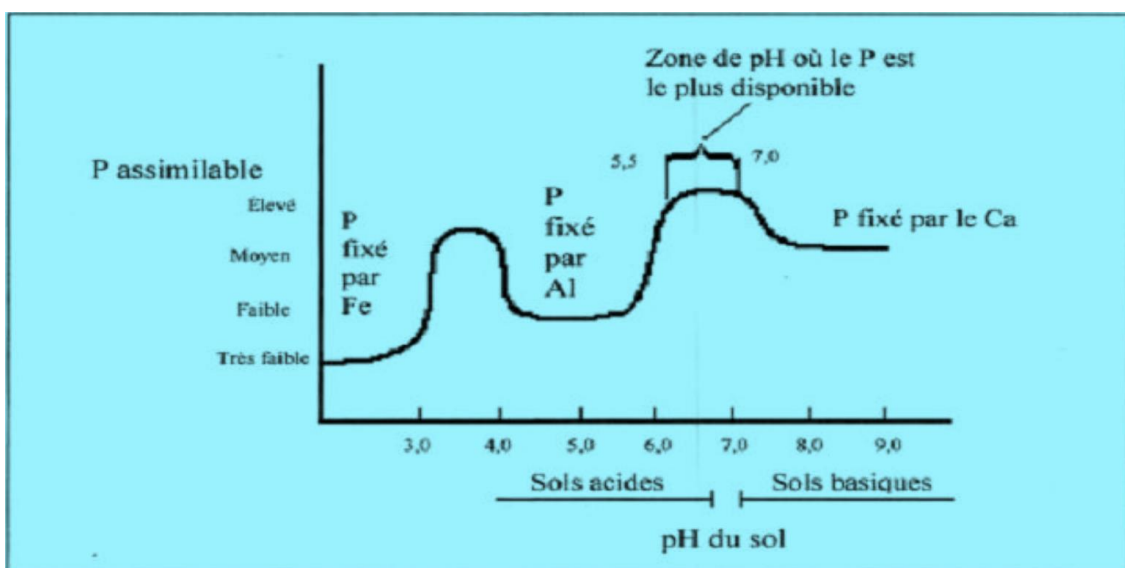
La texture et la structure du sol agissent sur l'activité microbienne soit directement ou indirectement. Ainsi, dans un sol sableux suffisamment humide, nous avons une propagation rapide de l'activité microbienne. Tandis que dans un sol argileux, l'argile forme avec les substances organiques des complexes organo-minéraux dans lesquels ces substances deviennent moins accessibles aux microorganismes entraînant un ralentissement de l'activité microbienne (Morel 1996). De même, la qualité structurale du sol oriente la nature et l'intensité de la vie microbienne (Morel 1996). L'activité croît avec la teneur en eau, avec un maximum se situant au voisinage de 60%, les bactéries étant plus sensibles aux variations de l'humidité du sol que les champignons (Morel 1996, Bationo et Mokwunye 1991, Ssali et Gupta 1990).

La texture et structure définissent aussi l'état d'aération du sol qui est reconnue comme un facteur important de la dissolution des phosphates inorganiques. Ainsi, selon Morel (1996), un sol bien aéré favorise l'activité des microorganismes aérobies qui tirent leur énergie de l'oxydation des substances organiques mortes.

## I.4.2 Facteurs Chimiques

Un pH du sol et principalement de la rhizosphère relativement faible favorise l'activité des microorganismes dissolvant les phosphates inorganiques (Hedley 1990). Le contenu en calcium du sol joue un rôle important dans la dissolution des phosphates inorganiques. Dombia *et al.* (1993) ainsi que Toro *et al.* (1998) ont montré que la stimulation de l'activité des microorganismes du sol entraîne une diminution du calcium échangeable du sol et favorise la dissolution des phosphates naturels. De même Kanabo et Gilkes (1988), ont indiqué que dans les sols sablonneux à CEC faible, ne fournissant pas de réservoir d'accumulation du calcium, la solubilisation des phosphates naturels ralentie avec pour conséquence baisse de la production agricole.

Les échanges ioniques permettent la mise en solution de  $P_i$  (Louche 2009) mais aussi la variation de pH de la solution du sol (Hinsinger 2001). A pH acide, les minéraux de fer et d'aluminium précipitent pour de très faibles concentrations en  $P_i$ . Inversement, l'augmentation du pH de la solution du sol augmente leur solubilité. La précipitation des minéraux calciques requiert des valeurs de concentration en  $P_i$  et de pH plus élevées que les phosphates de fer et d'aluminium. Les réactions réduisant la disponibilité du P se produisent à toutes les valeurs de pH mais sont plus prononcées dans les sols alcalins ayant un  $pH > 7,3$  et les sols acides ayant un  $pH < 5,5$  (Busman 2002). Cependant, la plus grande solubilité du P dans les sols se situe entre les pH de 6,2 et de 7,0 (Lindsay 1979). La figure 7 illustre l'importance du pH dans la fixation du P.



**Figure 7.** Disponibilité du phosphore en fonction du pH (adaptée de Busman *et al.* 2002)

Cline *et al.* (1982) ont montré que l'acide citrique chélate préférentiellement le fer à pH 6,0 alors qu'à un pH au-dessus de 6,0, apparaît une compétition entre le calcium et le fer. Ainsi, l'acidification artificielle du milieu de culture par ajout d'acide minéral industriel, provoque une dissolution inférieure à celle obtenue en utilisant les microorganismes, ce qui suggère que les acides organiques sont plus efficaces dans la dissolution des phosphates inorganiques que les acides minéraux.

#### **I.4.3 Facteurs liés aux pratiques de gestion du sol et des fertilisants**

Le mode de placement, le temps d'application des phosphates naturels, ainsi que le chaulage des sols, agissent sur la dissolution des phosphates naturels (N'Djaye *et al.* 1991 ; Zawartha *et al.* 1999). Le chaulage est une pratique très souvent utilisée pour augmenter le pH des sols et baisser la toxicité de l'aluminium. Il permet par son action, de rehausser le niveau de production des cultures. Cependant, Hammond *et al.* (1986), ont montré que les sols contenant une grande quantité de calcium peuvent diminuer la vitesse de dissolution de ces phosphates. Ceci indique que le niveau de chaulage doit être choisi avec prudence afin d'éviter son effet négatif sur la dissolution de la roche phosphatée dans les sols acides.

#### **I.4.4 Effets des espèces de plantes**

L'utilisation des phosphates naturels dépend des espèces et plus particulièrement des cultivars utilisés. Chien et Menon, étudiant l'effet de différentes plantes sur la solubilisation des phosphates inorganiques, ont découvert que certaines plantes favorisent la solubilisation des phosphates naturels par une forte absorption du calcium. Kpombrekou et Tabatabaï (1994), ont montré que les acides organiques à faibles poids moléculaire peuvent accroître la concentration du phosphore dans le sol par des mécanismes de complexion et d'échange. Selon Bationo *et al.* (1998), les plantes peuvent stimuler la dissolution des phosphates à travers une acidification de la rhizosphère. Chien *et al.* (1990) quant à eux, ont montré que l'efficacité agronomique des phosphates naturels est plus élevée chez les plantes pérennes que chez les plantes à cycle végétatif relativement court comparativement au phosphate super triple. Certaines plantes libèrent dans la rhizosphère des acides organiques capables de mobiliser le P des sources pauvres (Richardson 2001).

La source de carbone et d'azote et le rapport Carbone/Azote (C/N) peuvent, dans certaines conditions, altérer la dissolution des phosphates naturels (Asea *et al.* 1988 ;

Cunningham et Kuiack, 1992). Selon Boiffin et Sebillotte (1977), l'incorporation dans le sol de résidus à rapport C/N très élevé peut entraîner des carences phosphatées chez les plantes en agissant sur la croissance des microorganismes du sol. Ainsi, le rôle de plus en plus important joué par les microorganismes dans l'agriculture, a entraîné leurs isolement dans plusieurs régions du globe (Johri *et al.* 1999, Nautiyal 1999).

#### **I.4.5 Mécanismes biologiques**

Les réactions et les transformations biologiques des phosphates naturels dans les sols sont très complexes. Dans les sols agricoles, la dissolution des phosphates inorganiques est étroitement liée à l'activité des microorganismes du sol (Tardieux-Roche 1966a et 1966b, Richardson 2001). En effet, on retrouve dans les sols un nombre important de microorganismes du sol, notamment les bactéries, les champignons, les algues et les plantes (Berthelin *et al.* 1991, Goldstein 1986, Kim *et al.* 1997, Oehl *et al.* 2001, Sundara 2002) capables de libérer du Pi à partir des formes organiques et notamment des minéraux phosphatés du sol (Louche 2009). La solubilisation de P minéral s'effectue par la sécrétion de ligands ou acides organiques qui vont se complexer avec le calcium, le fer ou l'aluminium, libérant ainsi du Pi dans la solution du sol (Hinsinger 1998, Jones 1998, Fankem *et al.* 2008).

Les exsudats racinaires de la rhizosphère tels que les acides organiques, constituent d'excellentes sources d'éléments nutritifs pouvant supporter la croissance des microorganismes, ce qui explique leur densité plus forte au niveau du sol rhizosphérique que dans le sol non rhizosphérique (Hinsinger 2001, Singh et Amberger 1998). Le nombre de bactéries et de champignons dissolvant les phosphates varie de 0,1%-0,5% (Kucey 1989) à 26%-39% (Sperber 1958) de la microflore totale. Les champignons solubilisent plus efficacement les phosphates que les bactéries, en plus, une grande partie des champignons conservent cette propriété tandis que la majorité des bactéries la perdent après plusieurs repiquages successifs (Kucey 1989).

Le Pi libéré dans la solution du sol par minéralisation ou solubilisation peut être absorbé par les plantes et les champignons, immobilisé par la population bactérienne, adsorbé sur les surfaces minérales ou perdu par lessivage et ruissellement (Pierzynski *et al.* 2000). La minéralisation des composés de P organique s'effectue grâce à la sécrétion d'enzymes notamment les phosphatases qui ont la propriété de catalyser l'hydrolyse des liaisons esters phosphoriques et d'anhydrides d'acides en libérant du Pi (Narsian et Patel 2000). De plus, une

autre méthode de dissolution par acidification faisant suite à une extrusion d'ions H<sup>+</sup> lors de l'assimilation de l'ammonium a été décrite (Bolan *et al.* 1997).

Les travaux de Illmer et Schinner (1992) ont montré que la dissolution des phosphates naturels n'est pas seulement liée à une baisse de pH. En effet, certains microorganismes libèrent dans leurs milieux des acides organiques capables d'extraire le phosphore dit 'assimilable' en séquestrant les cations métalliques intervenant dans l'adsorption du phosphore (Milagres *et al.* 1999, Sayer *et al.* 1995, Vasquez *et al.* 2000) et en libérant le phosphore lié aux argiles et aux oxydes de fer et d'aluminium (Violante *et al.* 1996). Goldstein (1986), a montré que l'acidification de l'espace péri plasmique par oxydation directe du glucose en acide gluconique, est le processus majeur utilisé par les bactéries Gram négatives pendant la dissolution des phosphates minéraux.

## **I.5. SITUATION DU PHOSPHORE DANS LE MONDE**

Les engrais phosphatés sont utilisés de façon routinière dans les systèmes agricoles pour apporter une solution à court-terme au réel problème de déficience en phosphore biodisponible des sols cultivés (Richardson *et al.* 2009). Environ 17.5 millions de tonnes de phosphates sont prélevés annuellement des réserves mondiales de phosphates rocheux dans lesquelles approximativement 85% sont utilisés pour la production d'engrais (Cordell *et al.* 2009a). Par ailleurs, les réserves mondiales de phosphates rocheux sont limitées avec une estimation de la dégradation de la qualité des sources susceptible d'être très prononcée dans les 50 à 80 prochaines années (Isherwood 2000). Ces précieuses réserves mondiales sont concentrées dans un nombre restreint de pays (Tableau 2). Il semble que le monde peut faire face à un pic de la demande de phosphore un peu avant 2033 (Cordell *et al.* 2009a). Actuellement, il y a des augmentations rapides et significatives des prix de base des phosphates rocheux et leurs incidences sur le prix des engrais phosphatés (Rapport CAADP 2011).

Au regard des prix élevés des engrais utilisés dans les pays en développement, des problèmes de maintien des systèmes agricoles et de la viabilité économique de l'agriculture se posent inexorablement, il serait alors judicieux de considérer les alternatives possibles et les options futures (Cordell 2009).



**Tableau 2.** Valeurs estimatives de la production mondiale de phosphate naturel en 1999. (Mew 2000).

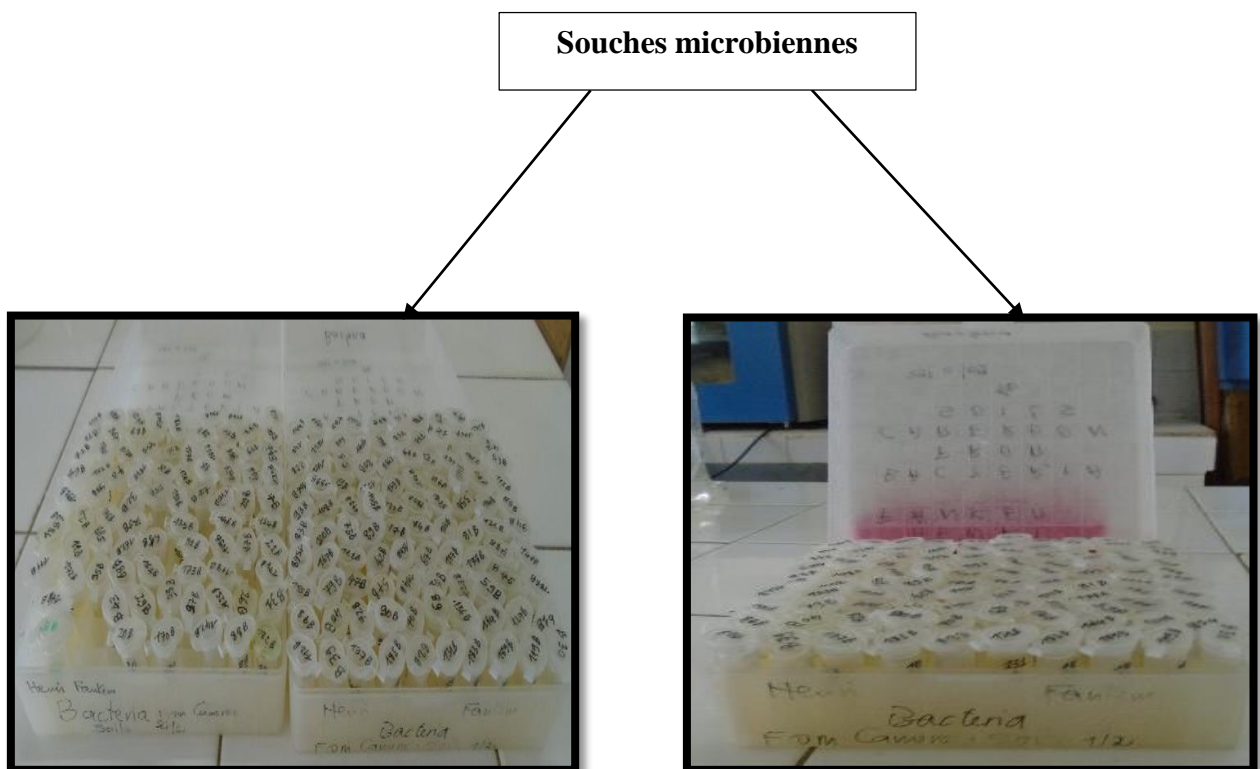
Pays Producteurs	Production	Total mondial
	(1000 tonnes)	%
Chine	30 754	21,1
Etats-Unis	40 867	28,1
Fédération de Russie	11 219	7,7
Maroc et Sahara occidental	21 986	15,1
<b>Sous-total des 4 principaux</b>	<b>104 826</b>	<b>72</b>
Afrique du Sud	2 941	2
Brésil	4 301	2,9
Israël	4 128	2,8
Jordanie	6 014	4,1
République Arabe Syrienne	2 084	1,4
Sénégal	1 879	1,3
Togo	1 715	1,2
Tunisie	8 006	5,5
<b>Sous-total des 12 principaux</b>	<b>135 894</b>	<b>93,4</b>
Algérie	1 093	0,8
Australie	145	0,1
Canada	350	0,3
Christmas Island	683	0,5
Colombie	4	< 0,1
Egypte	1 018	0,7
Finlande	734	0,5
Inde	1 623	1,1
Irak	415	0,3
Kazakhstan	900	0,6
Mexique	955	0,7
Nauru	604	0,4
Ouzbékistan	139	< 0,1
Pérou	15	< 0,1
République populaire démocratique de Corée	70	< 0,1
Sri Lanka	30	< 0,1
Venezuela	366	0,3
Vietnam	710	0,5
Zimbabwe	124	< 0,1
<b>Total mondial</b>	<b>145 472</b>	<b>100</b>



## **CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES**

## II.1 REVITALISATION ET PURIFICATION DES SOUCHES MICROBIENNES

Les microorganismes utilisés proviennent de la banque de souches du Laboratoire de Biologie et Physiologie Végétales de l'Université de Douala. Dans cette banque de souches microbiennes, nous avons choisi 26 bactéries et 8 champignons isolés principalement dans les sols de la zone agro-écologique I (Extrême- nord) notamment dans les villages Gacklé ; Gazawa ; Meskine à l'entrée Sud de Maroua) et 2 souches provenant de la zone agro-écologique III(Ouest).



**Figure 8.** Banque des souches microbiennes

Pour revitaliser ces microorganismes, nous les avons repiqués sur un milieu nutritif contenant par litre d'eau distillée 13,5g d'Agar, 3g de NaCl, 2 g extrait de levure, 5 g peptone, pH 7. Vingt (20) mL de ce milieu sont introduits dans les boîtes de pétri stériles. Ce processus de repiquage a été répété trois (3) fois pour obtenir une bonne croissance et surtout des souches pures présentant des colonies bien individualisées.

## II.2 ÉVALUATION DE L'APTITUDE DES SOUCHES À SOLUBILISER LES PHOSPHATES ROCHEUX DE DIFFÉRENTES ORIGINES EN MILIEU SOLIDE ET EN MILIEU LIQUIDE

### II.2.1 Phosphates rocheux

Cinq phosphates rocheux de différentes origines ont été utilisés : le phosphate rocheux de Tilemsi au Mali, le phosphate rocheux de Gafsa au Mexique, le phosphate rocheux du Maroc, le phosphate rocheux de l'Algérie et le phosphate rocheux du Cameroun. Les caractéristiques de différents phosphates rocheux sont regroupées dans le tableau 3 ci-dessous.

**Tableau 3.** Composition minéralogique des différents phosphates rocheux utilisés.

Origine	Éléments minéraux (%)								mg/kg		
	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> total	P Disponible	K	Ca	Mg	Na	Fe	Al	Mn	Zn	Cu
<b>Mali</b>	30	12.98	0.056	28.19	0.131	0.232	3.844	0.80	8360	87	51
<b>Mexique</b>	28	8.87	0.219	25.94	0.222	0.358	0.442	0.58	788	103	18
<b>Maroc</b>	13	9.33	0.093	28.83	1.93	0.552	0.267	0.42	96	219	38
<b>Algérie</b>	29	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>Cameroun</b>		Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd

Source : Fankem *et al.* 2014

Nd : Non déterminé

Afin de les débarrasser de leurs fractions solubles, les différents phosphates rocheux ont été lavés 4 fois à l'eau tiède selon le cycle : 1 heure - 24 heures - 1 heures - 24 heures. Ils ont été ensuite séchés à l'étuve à 60 °C jusqu'à évaporation complète de l'eau puis homogénéisés avant leur utilisation.

## II.2.2. Préparation et détermination de la concentration de l'inoculum

Pour préparer l'inoculum, une colonie bactérienne a été suspendue dans 25 mL de milieu nutritif liquide contenant par litre d'eau distillée : peptone, 5g ; extrait de levure, 3g ; chlorure de sodium, 3g, pH 7. Les milieux ainsi inoculés ont été incubés pendant trois (3) jours à température ambiante sous agitation (150 rpm) pour optimiser le taux de croissance des différentes souches.

Pour déterminer la concentration de l'inoculum, un (1) mL de suspension bactérienne a été utilisé pour réaliser des dilutions décimales jusqu'à la dilution  $10^{-7}$ . Un (1) mL des dilutions  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  et  $10^{-7}$  a été introduit dans des boîtes de Pétri stériles qui ont par la suite reçu environ 20 mL d'Agar nutritif. Une boîte de pétri a été préparée pour chaque dilution. Les boîtes de pétri ont ensuite été scellées et incubées à 28 °C pendant deux (2) jours. Le comptage des colonies individualisées nous a permis de déterminer la concentration des différents inoculums de  $1-1,7 \times 10^9$  CFU/mL.



**Figure 9.** Tubes à essai et Ependorfs (a) et Erlenmeyer contenant le milieu de culture (b).

## II.2.3 Évaluation de l'aptitude solubilisatrice des souches en milieu solide

L'évaluation de l'aptitude des différents souches à solubiliser le phosphate en boîte de Pétri a été faite sur le milieu de culture de base (NBRIP) de Nautiyal (Nautiyal, 1999), contenant par litre d'eau distillée: glucose, 20g ;  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ , 5 g ;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.25 g ; KCl, 0,2 g ;

(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.1 g; Agar 15 g, plus un type de phosphate rocheux, soit le phosphate rocheux de l'Algérie, du Cameroun, du Mali, du Maroc ou du Mexique à 5 g.l-1 et 5 mL de vert de bromocrésol, pH 7,0. Les boîtes de Pétri compartimentées (en quatre) ont reçu au centre de chaque compartiment 2 µL d'inoculum de concentration obtenu comme précédemment décrit. Les boîtes ont été ensuite scellées et incubées à 28 °C pendant 2 jours. Les microorganismes (bactéries/champignons) présentant un halo autour de leurs colonies ont été retenus comme potentiellement solubilisateurs de phosphates rocheux. Ces derniers ont été soumis à deux tests identiques de vérification et l'index de solubilisation (IS) a été calculé selon la formule.

$$IS = \frac{\text{Diamètre du Halo zone}}{\text{Diamètre de la colonie}}$$

Il a été calculé à chaque fois pour évaluer l'efficacité de chaque souche en milieu solide (Babana *et al.* 2013).

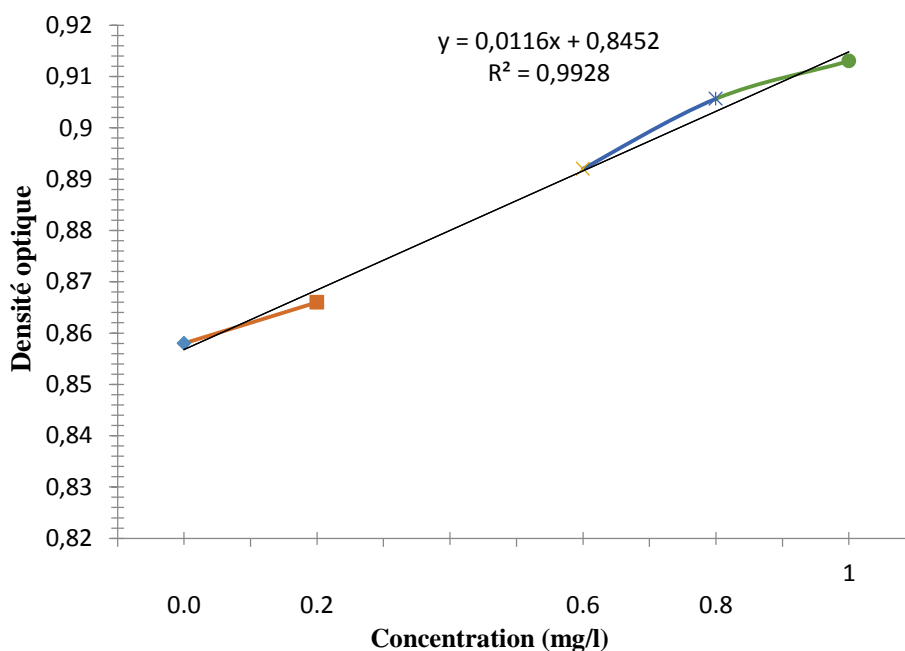
#### II.2.4 Évaluation de l'aptitude solubilisatrice des souches en milieu liquide

L'évaluation de l'aptitude des différentes souches à solubiliser les différents phosphates rocheux en milieu liquide a été faite dans le milieu NBRIP de Nautiyal (1999) sans Agar contenant par litre d'eau distillée : glucose, 20g ; MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 5 g; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.25 g; KCl, 0.2 g; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.1 g plus un type de phosphate rocheux comme unique source de phosphore à 5g.L<sup>-1</sup>, pH 7,0. 50 mL de milieu de NBRIP ont été distribués dans des Erlenmeyers contenant chacun un type de phosphate. Les différents traitements ont été inoculés avec 200 µL de suspension bactérienne de concentration 1- 1,7x10<sup>9</sup> CFU/mL alors que les témoins ont reçu 200 µL de milieu nutritif stérile. Les Erlenmeyers ont été incubés à température ambiante sous agitation (150 rpm) pendant sept jours. A la fin de l'incubation, le milieu de culture a été centrifugé à 10000 rpm, une partie du surnageant a été utilisée pour la mesure du pH alors que l'autre a servi pour le dosage de la quantité de phosphore solubilisé d'après la méthode de Murphy et Riley (1972), citée par Fankem (2007) à travers la courbe de calibration préparée avec des concentrations différentes de phosphore soluble (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>). La solution de coloration fraîchement préparée le même jour, est composée de produits dont les proportions sont indiquées dans le tableau 4 ci-dessous.

**Tableau 4.** Composition chimique la solution de coloration du phosphore soluble en milieu liquide

Produits	Volume final (500 mL)
Acide sulfurique (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ), 5 meq / l	250
Molybdate d'ammonium (4 %)	75
Acide ascorbique 1,76%	150
Potassium antimony tartrate (0.274 %)	25

Après une heure de repos à l'obscurité, la densité optique de la solution a été lue à l'aide d'un spectrophotomètre à 880 nm de longueur d'onde. La détermination de la quantité de phosphore solubilisé dans le milieu liquide à partir de la courbe de calibration est indiquée sur la figure 9.



**Figure 10.** Courbe de calibration pour l'évaluation de la quantité de phosphore solubilisé.

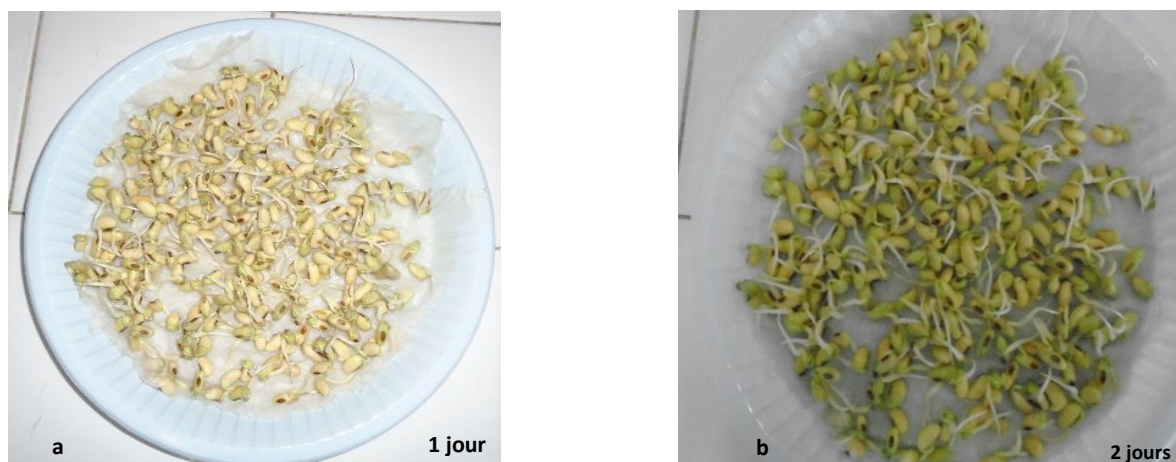
La concentration finale en phosphore soluble de l'échantillon est calculée selon la formule  $\text{mg/LP} = (\text{mg/L à partir de la courbe de calibration} \times \text{volume de solution}) / \text{volume échantillon}$ .

## II.3 ÉVALUATION DE L'EFFET DE L'INOCULATION SUR LA CROISSANCE DU SOJA

Les tests en pot ont été menés dans le but d'évaluer l'effet des souches sélectionnées pris séparément ou en consortiums. Six souches ont été choisies dans la banque de souche constituée par l'équipe du Laboratoire des Biotechnologies de l'Université de Douala parmi lesquelles *Enterobacter* sp.2 (2B), *Enterobacter* sp.144 (144B), *Bacillus* sp. et *Galactomyces* sp.(31F) isolées des sols de Maroua, de Meskine, de Gacklé et Gazawa de la zone agro écologique I, *Plantibacter* sp.(120B) et *Sphingobacterium* sp.(171B) sont isolées des sols provenant la zone agro- écologique de l'ouest. Les tests ont été faits sur les plantules de soja (*Glycine max*).

### II.3.1. Stérilisation et Pré germination des graines

Les graines utilisées pour ces tests sont des graines de soja non sélectionnées de la variété locale et achetée sur le marché de vivres NKouloulou-Douala. Avant leur mise en pot, les graines ont été lavées à l'eau distillée afin de les débarrasser des différents produits de conservation. Elles ont ensuite été lavées avec de l'alcool à 70% pendant une minute puis rincées deux fois à l'eau distillée. Enfin, elles ont été introduites dans l'hypochlorite de sodium à 5% pendant cinq (5) minutes puis rincées trois fois à l'eau distillée. Les graines ont par la suite été mises à pré-germer dans un plat en plastique contenant du papier filtre imbibé d'eau distillée. Les boîtes ont été conservées à l'obscurité à température ambiante pendant trois jours, pendant lesquels l'humidité des boites était maintenue par ajout d'eau distillée.



**Figure 11.** Pré-germination des graines de soja (Photo Klapai)



### II.3.2 Conduite de l'expérimentation

L'expérience a été menée dans des pots de 3 litres contenant de la terre non stérile homogénéisée, dont la texture et la composition chimique sont indiquées dans les tableaux 4 ci-dessous.

**Tableau 5.** Structure physique et composition chimique du sol utilisé pour le test en pots.

Eléments	Proportion dans le sol	Eléments	Proportion dans le sol
<b>Argile</b>	16,39%	<b>Humidité</b>	2,99%
<b>Limon fin</b>	1,94%	<b>Matière organique</b>	31,74%
<b>Limon grossier</b>	1,67%	<b>Carbone organique</b>	18,41g/kg
<b>Sable fin</b>	31,24%	<b>Phosphore assimilable</b>	9,89 mg/kg
<b>Sable grossier</b>	47,76%	<b>N total</b>	2,37g/kg
<b>pH H<sub>2</sub>O</b>	4,93	<b>Ca<sup>2+</sup></b>	3,57cmol/kg
<b>pH KCl</b>	4,34	<b>Na<sup>+</sup></b>	0,08cmol/kg
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	0,21cmol/kg	<b>Fe</b>	714,81mg/kg
<b>K<sup>+</sup></b>	0,05cmol/kg	<b>CEC</b>	4,34cmol/kg
<b>Zn</b>	2,37 mg/kg	<b>Cu</b>	853,07mg/kg
<b>Mn</b>	155,53mg/kg	<b>Pb</b>	9,48mg/kg
<b>Cr</b>	39,00mg/kg	<b>Ni</b>	8,07mg/kg
<b>Cd</b>	0,03mg/kg		

Le sol utilisé étant très pauvre en phosphore assimilable (9,89 mg/kg), tous les traitements, à l'exception du témoin positif ont reçu du phosphate rocheux d'origine camerounaise à la dose de 80 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> par hectare, c'est-à-dire 0,3625g pour 0,8836 dm<sup>3</sup>, donc 1,2 g /pot. Le témoin positif a reçu 2,3 g du phosphate soluble (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>). Le témoin négatif ayant reçu du phosphate rocheux n'était pas cependant inoculé.

Le dispositif expérimental est un système de blocs complètement randomisés avec 20 traitements dont 18 traitements microbiens : *Enterobacter* sp2. (A), *Enterobacter* sp.144 (B),



*Bacillus* sp. (C), *Galactomyces* sp. (D), *Plantibacter* sp.(E), *Sphingobacterium* sp. (F), AB, BC, BD, AC, AD, CD, EF, ABC, ACD, ABD, BCD, ABCD et deux témoins dont un témoin positif (T+) et un témoin négatif (T-) et 4 répétitions. Chaque bloc constituant une répétition, ce qui nous a donné un dispositif de 80 unités expérimentales. Les pots inoculés ont reçu chacun un (1) mL d'inoculum de concentration  $1- 1.7 \times 10^9$  CFU/mL, alors que les pots non inoculés ont reçu un (1) mL de milieu nutritif liquide ayant servi pour la préparation de l'inoculum à vide.



**Figure 12.** Dispositif expérimental en blocs complètement randomisés (Photo Klapai)

#### **II.4 COLLECTE DES DONNÉES**

Afin d'évaluer l'effet des inoculations sur les plantes, la croissance a été suivie pendant 6 semaines et les paramètres agronomiques (nombre de feuilles, hauteur de la tige, diamètre au collet et nombre de gousses) ont été pris toutes les trois semaines à l'aide de mètre ruban et un pied à coulisse. A la fin de la culture, la masse sèche de la partie aérienne, la masse de la partie souterraine, et la masse sèche totale ont été déterminées.

#### **II.5. ANALYSES STATISTIQUES**

Les analyses statistiques ont été réalisées à partir du logiciel Sigma Plot 12.0. L'analyse ordonnée de la variance (ANOVA) a été effectuée pour déterminer les différences entre les facteurs et le test de Turkey (HSD) pour comparer les différents traitements. Celle des données des paramètres de croissance des plantes s'est faite à partir du logiciel Statistica.

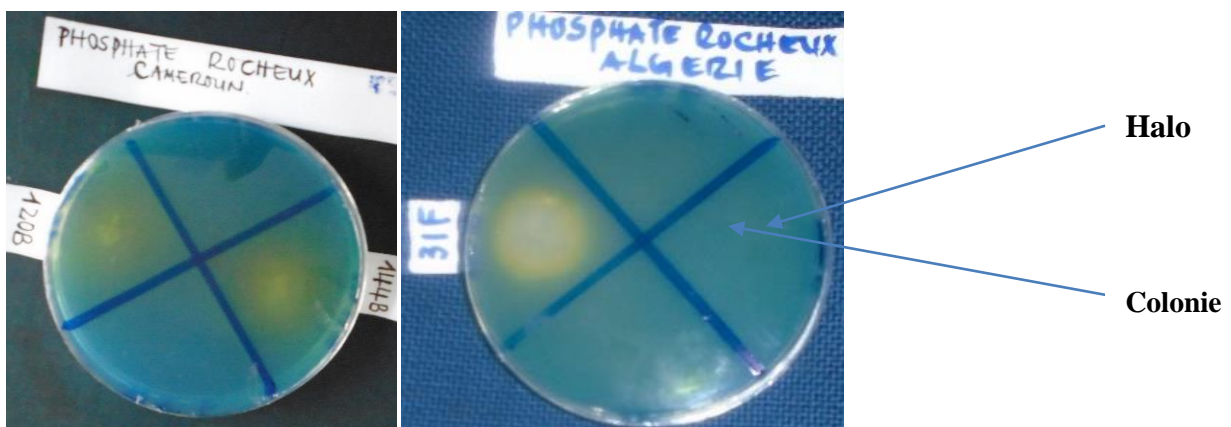
**CHAPITRE III :  
RÉSULTATS ET DISCUSSION**

## RÉSULTATS

### III.1. ÉVALUATION DE L'APTITUDE SOLUBILISATRICE DES SOUCHES MICROBIENNES EN MILIEU SOLIDE ET EN MILIEU LIQUIDE

L'aptitude solubilisatrice des souches a été évaluée en milieu solide par l'index de solubilisation (IS) et en milieu liquide par la quantité de phosphore solubilisé.

#### III.1.1 Évaluation de l'aptitude solubilisatrice des souches microbiennes testées en milieu solide



**Figure 13.** Formation d'Halo zone (jaune) autour d'une colonie (blanc)

Les microorganismes ont montré une grande diversité de solubilisation. En effet, 34 souches ont été sélectionnées pour les tests en milieu solide dont 27 bactéries et 7 champignons. Ainsi, 16 souches ont solubilisé au moins un type de phosphate rocheux et 17 n'ont solubilisé aucun phosphate rocheux (tableau 6). 11(onze) souches ont solubilisé le phosphate rocheux d'Algérie, 08 ont solubilisé celui du Cameroun, 09 ont solubilisé celui du Mali, 04 ont solubilisé celui Maroc et aucune n'a solubilisé celui de Mexique. Une souche solubilise un phosphate rocheux, lorsqu'elle présente en milieu solide, un halo autour de la zone de dépôt (colonie) de la souche bactérienne (Fig.13).

**Tableau 6.** Vitesse de solubilisation des différents phosphates rocheux par les souches en fonction du temps

- : Pas de solubilisation

+ : Solubilisation

Identification	Algérie		Mali		Cameroun		Maroc		Mexique	
	Solubilisation	Jours	Solubilisation	Jours	Solubilisation	Jours	Solubilisation	Jours	Solubilisation	Jours
2B	+	2	+	2	+	3	-		-	
4B	-		-		-		-		-	
8B	-		-		-		-		-	
11B	-		-		-		-		-	
12B	-		-		-		-		-	
16B	+	2	+	1	-		-		-	
54B	-		+	1	-		-		-	
56B	-		-		-		-		-	
57B	-		-		+	1	-		-	
60B	-		-		-		-		-	
64B	-		-		+	2	-		-	
69B	-		-		-		-		-	
87B	-		-		-		-		-	
94B	-		-		-		-		-	
107B	-		-		-		-		-	
110B	-		-		-		+	3	-	
112B	-		-		-		-		-	
120B	+	2	+	2	+	1	+	4	-	
139B	-		+	2	-		-		-	
140B	-		-		-		-		-	
144B	+	5	+	3	+	2	-		-	
147B	-		+	2	+	3	-		-	
149B	+	1	-		-		-		-	
150B	-		-		-		-		-	
166B	-		-		-		-		-	
170B	-		-		-		-		-	
171B	+	3	+	1	+	1	-		-	
1F	-		-		-		+	4	-	
31F	+	3	+	3	+	2	-		-	
32F	+	3	-		-		-		-	
33F	-		-		-		-		-	
35F	-		-		-		-		-	
36F	+	5	-		-		-		-	
87F	-		-		-		-		-	

Les résultats obtenus montrent que la souche *Plantibacter* sp. a solubilisé quatre types phosphates (Algérie, Cameroun, Mali, Maroc), quatre souches, *Enterobacter* sp.2, *Enterobacter* sp.144, *Sphingobacterium* sp., *Galactomyces* sp. ont solubilisé trois types de phosphates (Algérie, Cameroun, Mali), deux souches ont solubilisé 2 types de phosphates rocheux (soit 16B pour Mali et l'Algérie) et (*Bacillus* sp. pour Mali et le Cameroun), 3 souches 149B, 32F et 36F ont solubilisé le phosphate rocheux d'Algérie, 2 souches 54B et 139B ont solubilisé le phosphate rocheux du Mali, 57B et 64B ont solubilisé le phosphate rocheux du Cameroun, 110B et 1F ont solubilisé le phosphate rocheux du Maroc. Les six meilleures souches *Enterobacter* sp.2, *Plantibacter* sp., *Enterobacter* sp.144, *Bacillus* sp., *Sphingobacterium* sp. et *Galactomyces* sp. ont été utilisées pour le test en milieu liquide et le test en serre.

### **III.1.2 Évaluation de l'aptitude solubilisatrice des meilleures souches microbiennes en milieu solide et en milieu liquide**

Après revitalisation et purification, l'aptitude solubilisatrice des six meilleures souches *Enterobacter* sp.2, *Plantibacter* sp., *Enterobacter* sp.144, *Bacillus* sp., *Sphingobacterium* sp. et *Galactomyces* sp. a été évaluée par l'index de solubilisation (IS) en milieu solide et par la quantité de phosphore solubilisé en milieu liquide.

#### **III.1.2.1 Évaluation de l'aptitude solubilisatrice des meilleures souches microbiennes en milieu solide**

##### **III.1.2.1.1 Capacité de solubilisation des meilleures souches en fonction de l'origine des phosphates rocheux en milieu solide**

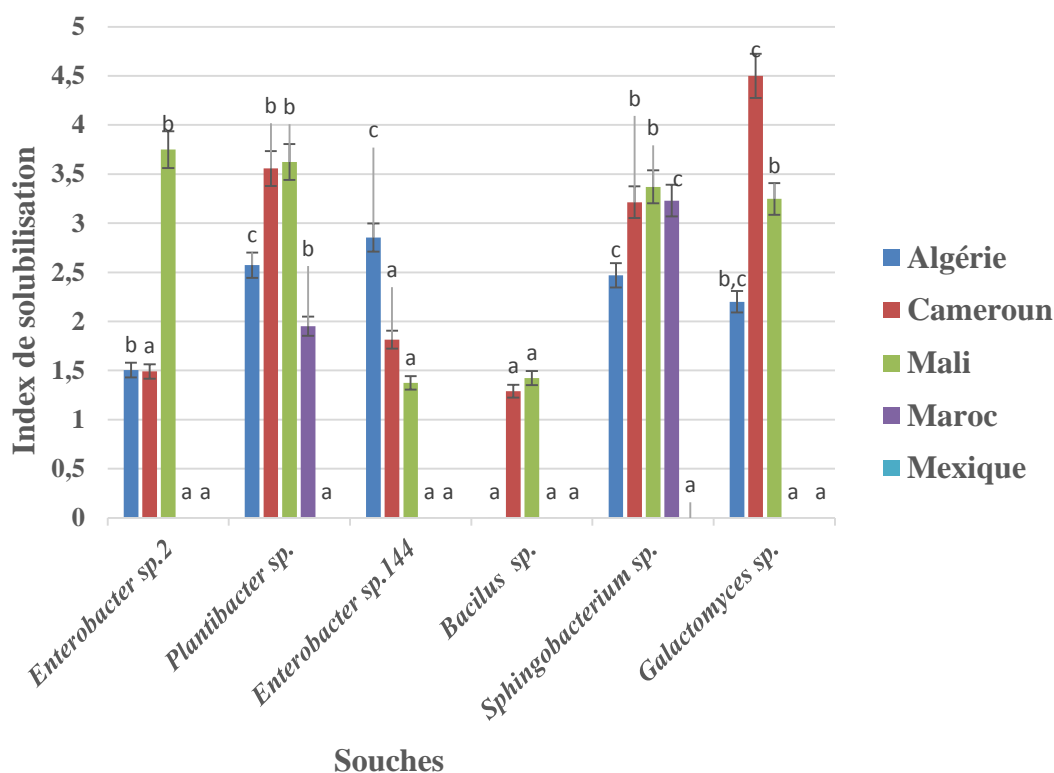
Les résultats obtenus démontrent que toutes les souches présentent une capacité à solubiliser au moins un type de phosphates rocheux (Fig. 14). C'est ainsi que, les six souches ont solubilisé les phosphates rocheux du Cameroun et Mali. Quatre souches (*Enterobacter* sp.2, *Plantibacter* sp., *Enterobacter* sp.144, *Sphingobacterium* sp. et *Galactomyces* sp. ont solubilisé celui de l'Algérie et deux souches (*Plantibacter* sp., *Sphingobacterium* sp.) ont solubilisé celui du Maroc. Enfin, aucune souche n'a réussi à solubiliser le phosphate rocheux du Mexique.

En fonction du nombre de phosphate rocheux solubilisé, on observe qu'il n'y a aucune souche qui solubilise tous les cinq phosphates rocheux. Les souches *Plantibacter* sp. et *Sphingobacterium* sp. solubilisent quatre et mêmes phosphates rocheux (Algérie, Cameroun, Mali et Maroc). Les souches *Enterobacter* sp.2, *Galactomyces* sp., et *Enterobacter* sp.

solubilisent trois et mêmes types de phosphates rocheux (Algérie, Cameroun et Mali). La souche *Bacillus* sp. a solubilisé deux types phosphates rocheux (Cameroun et Mali).

En fonction de chaque type de phosphate rocheux considéré individuellement, on observe des différences significatives dans l'aptitude à solubiliser des différentes souches. Ainsi, pour l'Algérie, on a 3 groupes des différences significatives les uns des autres. Le premier représenté par la souche *Enterobacter* sp.2 avec 1,503 comme index de solubilisation signifiant une solubilisation. Le deuxième est représenté par *Plantibacter* sp., *Enterobacter* sp.144 et *Sphingobacterium* sp. ayant respectivement 2,573 ; 2,853 et 2,47 comme index. Le troisième est intermédiaire et représenté par *Galactomyces* sp. ayant 2,2 d'index.

Pour le Cameroun, trois groupes sont observés. Le premier est représenté par *Enterobacter* sp.2, *Enterobacter* sp.144, et *Bacillus* sp. avec respectivement 1,49 ; 1,813 et 1,29 comme index. Le deuxième est représenté par *Plantibacter* sp., *Enterobacter* sp. et *Sphingobacterium* sp. avec 3,557 et 3,213 respectivement comme index de solubilisation. Le troisième est représenté par le *Galactomyces* sp. ayant 4,5 d'index.



**Figure 14.** Solubilisation de chaque type de phosphate rocheux par les différentes souches

Les différentes lettres dans le même type de phosphate rocheux représentent les différences significatives à  $P < 0,05$ .

Les lettres **a**, **b**, et **c** représentent les groupes de différence d'aptitude solubilisatrice des souches allant du plus faible au plus fort.

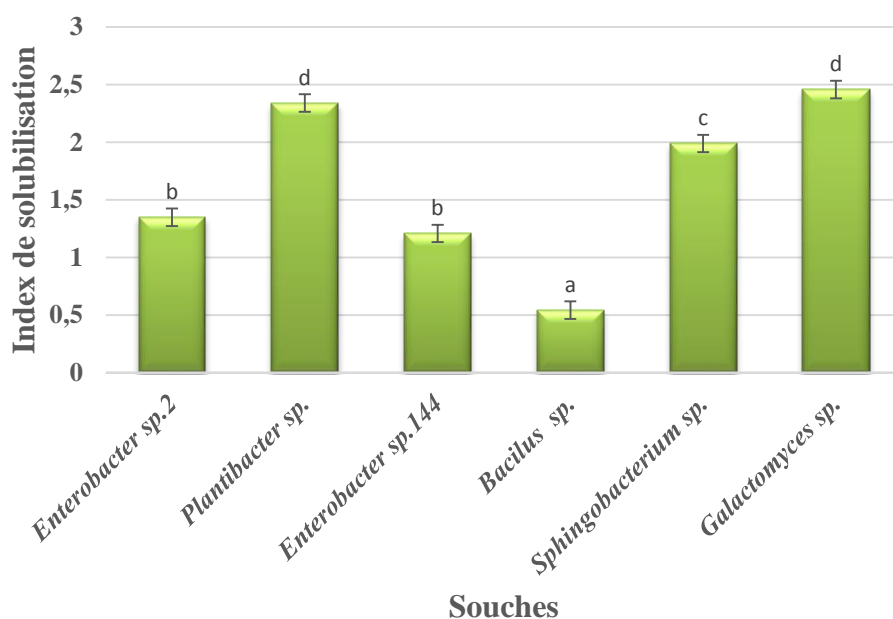
Pour le Mali, on observe deux groupes. Le premier est représenté par *Enterobacter sp.*, *Plantibacter sp.*2, et *Sphingobacterium sp.* et *Galactomyces sp.* qui possèdent respectivement 3,75 ; 3,623 ; 3,37 et 3,247 comme index de solubilisation. Le deuxième représenté par *Enterobacter sp.144* et *Bacillus sp.* d'index 1,373 et 1,423 respectivement.

Pour le Maroc, on observe trois groupes. Le premier est représenté par *Enterobacter sp.2*, *Enterobacter sp.144* et *Galactomyces sp.* d'index nul signifiant une non solubilisation. Le deuxième est représenté par *Plantibacter sp.* d'index 1,95. Le troisième est représenté par *Sphingobacterium sp.* d'index de 3,23.

le Mexique n'a qu'un seul groupe de différences significatives représenté par les six souches à index 0 de solubilisation indiquant ainsi qu'il n'y a pas eu de solubilisation.

### III.1.2.1 .2 Aptitude des meilleures souches à solubiliser les phosphates rocheux en milieu solide

Ces résultats permettent de faire une étude comparative entre les souches ainsi testées. Cette étude tient compte de l'index de solubilisation et du nombre de phosphates rocheux solubilisés.



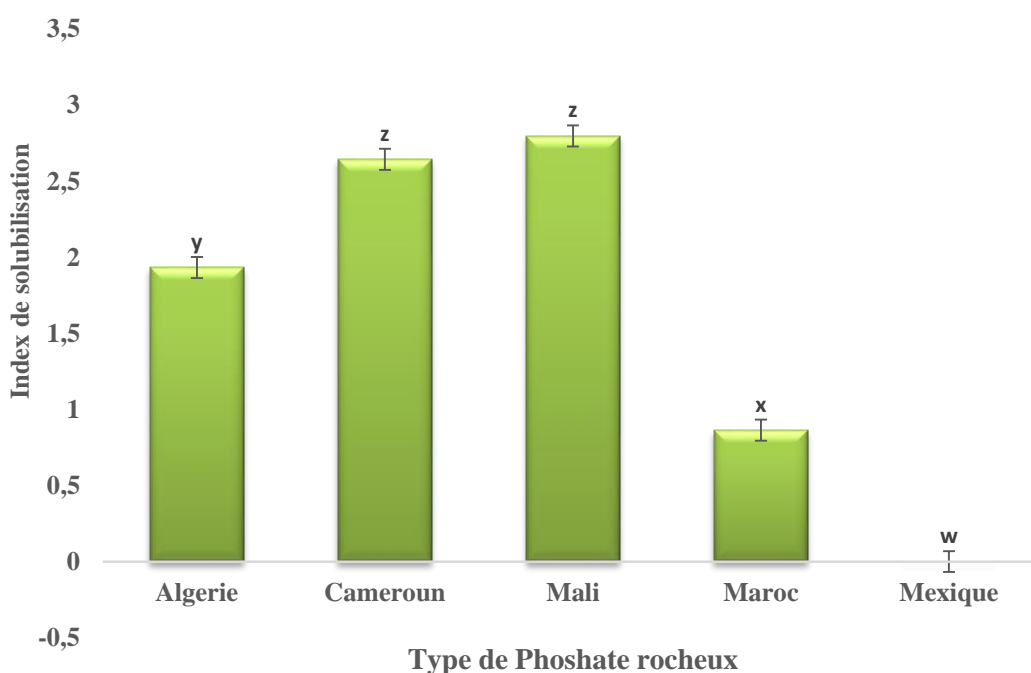


**Figure 15.** Aptitude des meilleures souches à solubiliser des cinq phosphates rocheux

Les différentes lettres indiquent les différences significatives dans l'aptitude solubilisatrice des souches sélectionnées à  $P < 0,05$ .

On constate ainsi qu'en fonction de l'index de solubilisation, quatre groupes **a**, **b**, **c** et **d** sont déterminés. Du moins efficace au plus efficace, on va distinguer : le premier (a) représenté par *Bacillus* sp. ayant 0,543 d'index ; le deuxième (b) est représenté par *Enterobacter* sp.2, et *Enterobacter* sp.144 ayant respectivement 1,349 et 1,208 d'index ; *Sphingobacterium* sp. représente le troisième (c) avec 1,989 d'index et le quatrième (d) représenté par *Plantibacter* sp. et *Galactomyces* sp. dont les index de solubilisation sont de 2,341 et 2,457 respectivement.

### III.1.2.1.3 Solubilisation des phosphates rocheux selon leur origine



**Figure 16.** Aptitude des phosphates rocheux à être solubilisés par toutes les souches

Les lettres **w**, **x**, **y** et **z** représentent les groupes de différence d'aptitude à être solubilisés des phosphates rocheux allant du plus faible au plus fort.



Les résultats obtenus révèlent des différences significatives à  $P < 0,05$ . Ils permettent en effet de déterminer quel phosphate rocheux est le plus récalcitrant mais aussi lequel est le plus solubilisé (Fig.16). La solubilisation étant variable d'un type de phosphate rocheux à l'autre, on peut les classer du moins solubilisé au plus solubilisé. On a alors le phosphate rocheux mexicain (0), marocain (0,863), algérien (1,933), camerounais (2,644) et malien (2,798).

### **III.1.2.2 Évaluation de l'aptitude des meilleures souches à solubiliser les différents types de phosphates rocheux en milieu liquide**

#### **III.1.2.2.1. Aptitude des meilleures souches à solubiliser chaque type de phosphate rocheux en milieu liquide**

Les résultats obtenus démontrent que toutes les souches présentent une capacité à solubiliser au moins un type de phosphates rocheux.

Les phosphates de l'Algérie et du Mexique ont été les mieux solubilisés. Le phosphate rocheux du Cameroun est moyennement solubilisé, celui du Mali faiblement solubilisé et celui du Maroc n'a pas été solubilisé (Fig. 17). On peut observer que par rapport au témoin, les souches présentent une meilleure solubilisation (plus efficaces) ou une solubilisation égale (moins efficaces). Il ressort alors des différences significatives dans le processus de solubilisation de ces souches.

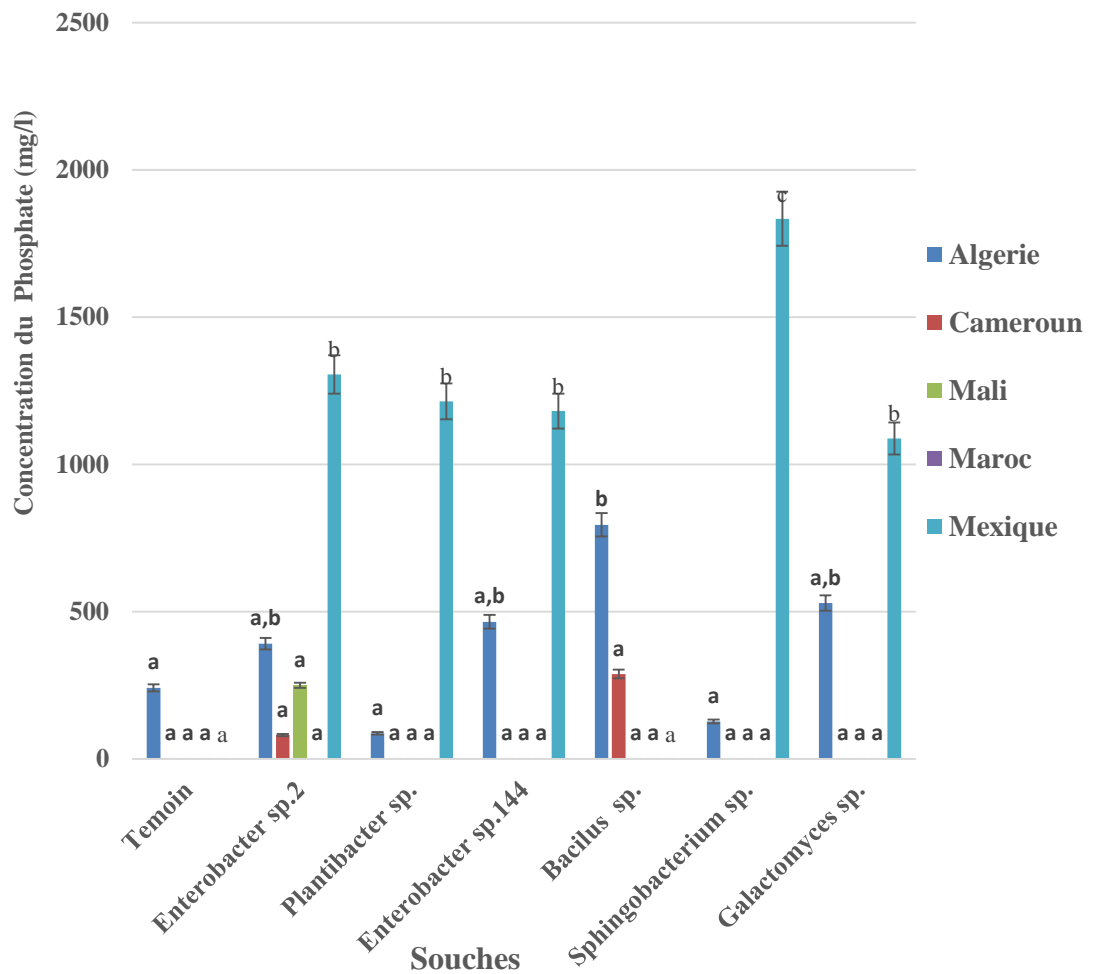
Solubilisé par les six souches avec une différence significative, le phosphate rocheux de l'Algérie est bien représenté dans le témoin. On peut les classer des moins efficaces aux plus efficaces: *Plantibactersp.2* (87,297mg/L) < *Sphingobacterium sp.*(127,297mg/L) < témoin(240,934mg/l) < *Enterobacter sp.2*(390,934mg/L) < *Enterobacter sp.144*(465,479mg/l) < *Galactomyces sp.*(529,115) < *Bacillus sp.147B*(794,57mg/L) (Fig.17). Pour le phosphate rocheux du Cameroun, deux souches l'ont solubilisé *Bacillus sp.* et *Enterobacter sp.144* avec respectivement 288,206 mg/L et 80,934 mg/L de concentration en phosphate solubilisé.

Pour le phosphate rocheux du Mali, une seule souche *Enterobacter sp.2* (250,025 mg/L) l'a solubilisé.

Pour le Maroc, aucune souche testée ne l'a solubilisé.

Pour le phosphate rocheux du Mexique, les souches présentent des aptitudes solubilisatrices avec une différence significative. En classant de la moins efficace à la plus efficace, on a : présent en traces dans le témoin et la souche *Bacillus sp.* qui n'a pas solubilisé, *Galactomyces sp.* avec 1088,206 mg/L de concentration en phosphate solubilisé, *Enterobacter*

sp.144 avec 1180,934 mg/L, *Plantibacter* sp. avec 1213,661 mg/L, *Enterobacter* sp.2 avec 1305 mg/L et *Sphingobacterium* sp. avec 1833,661 mg/L (Fig. 16).



**Figure 17.** Solubilisation de chaque type de phosphate rocheux par les différentes souches en milieu liquide

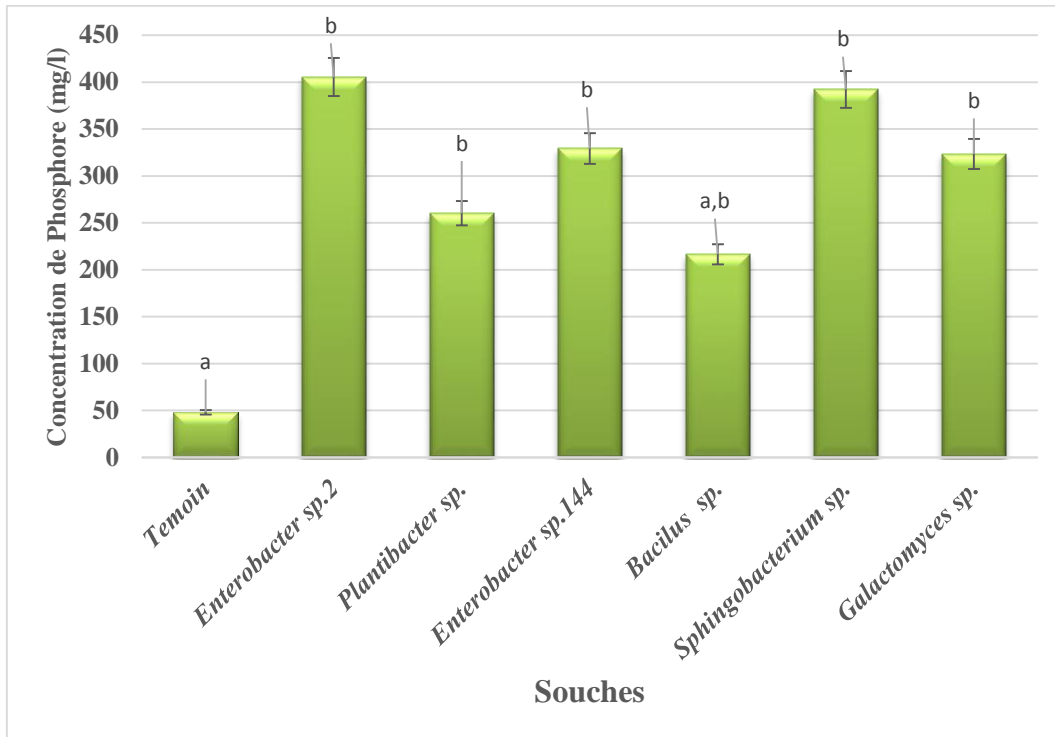
Les différentes lettres se trouvant sur les mêmes phosphates rocheux indiquent les différences significatives dans l'aptitude solubilisatrice des souches pour chaque phosphate rocheux à  $P < 0,05$ .

Les lettres *a*, *b*, et *c* représentent les groupes de différence d'aptitude solubilisatrice des souches allant du plus faible au plus fort.

### III.1.2. 2.2 Aptitude des meilleures souches à solubiliser tous les types phosphates rocheux en milieu liquide

Ces résultats permettent de faire une étude comparative entre les souches ainsi testées. Cette étude tient compte de la quantité de phosphate solubilisé et du nombre de phosphates rocheux solubilisés (Fig.18). Ainsi, on a : *Enterobacter* sp.2 qui a plus solubilisé avec 405,474

mg/L comme concentration de phosphate solubilisé. Il est suivi de *Sphingobacterium* avec 392,192 mg/L, *Enterobacter* sp.144 avec 329,283 mg/L, de *Galactomyces* sp. avec 323,464 mg/L, de *Plantibacter* sp. avec 260,192 mg/L et de *Bacillus* sp. avec 216,555 mg/L.



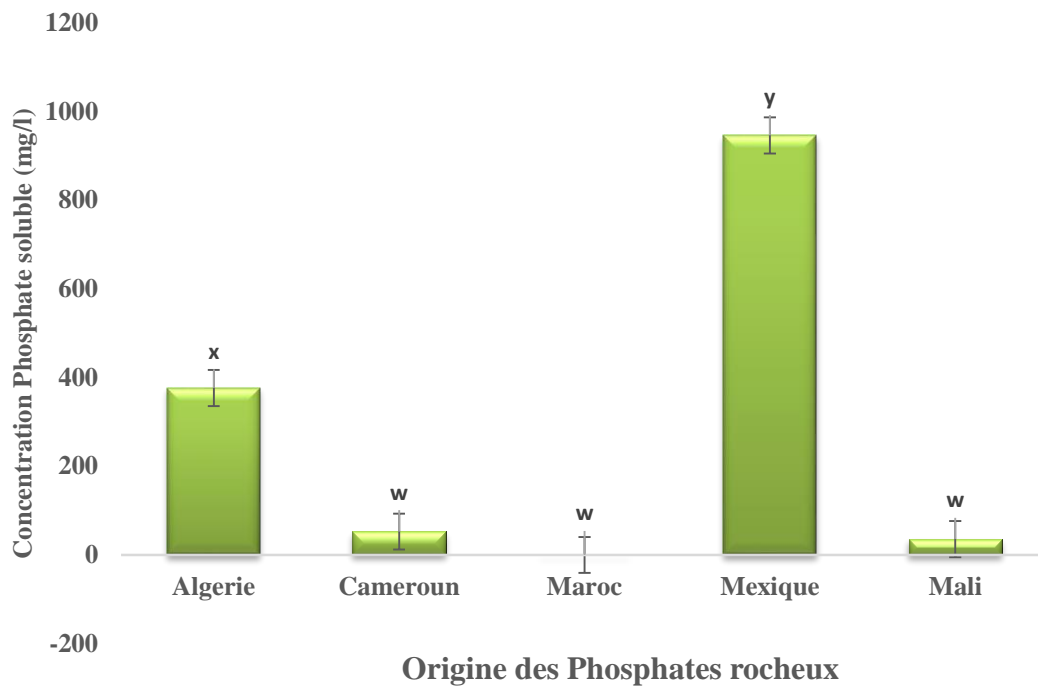
**Figure 18.** Aptitude des souches à solubiliser des cinq phosphates rocheux

Les différentes lettres indiquent les différences significatives à  $P < 0,05$  dans l'aptitude à solubiliser globalement les cinq phosphates rocheux par ces meilleures souches.

Les lettres *a*, et *b* représentent les groupes de différence d'aptitude solubilisatrice des souches allant du plus faible au plus fort.

### III.1.2. 2.3 Capacité de solubilisation des phosphates rocheux par rapport à leur origine

Ces résultats nous révèlent l'aptitude de chaque type de phosphate rocheux à être solubilisé. Ils permettent de dire quel phosphate rocheux est récalcitrant et quel est le plus solubilisé. Le phosphate rocheux du Maroc n'est pas solubilisé. Le phosphate rocheux du Mali est le moins solubilisé avec 35,718 mg/L de phosphate solubilisé suivi de celui du Cameroun avec 52,734 mg/L de phosphate solubilisé, vient celui de l'Algérie avec 376,518 mg/L. Le phosphate rocheux du Mexique est bien solubilisé avec 945,992 mg/L de phosphate solubilisé (Fig.19).



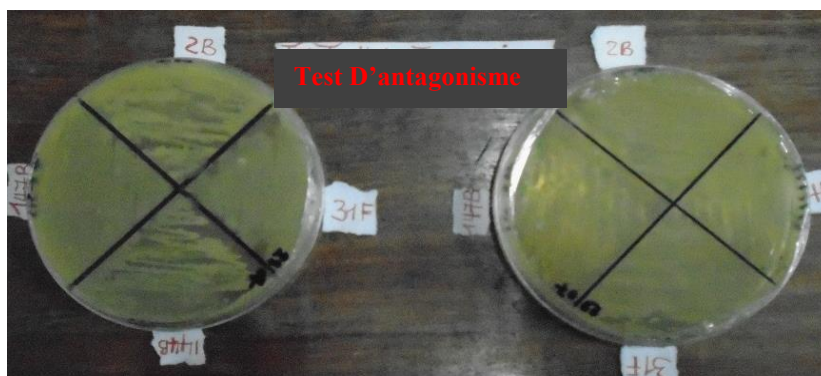
**Figure 19.** Aptitude des phosphates rocheux à être solubilisé par toutes les souches

La Solubilisation des phosphates en milieu liquide a révélé des différences significatives à  $P < 0,05$  entre les différentes origines des phosphates rocheux (Fig.19) à être solubilisés.

*Les lettres w, x, et y représentent les groupes de différence d'aptitude à être solubilisés des phosphates rocheux allant du plus faible au plus fort.*

### III.2 TEST D'ANTAGONISME

Les interactions entre les différentes souches combinées au hasard ont été déterminées par un test d'antagonisme en boîte de Pétri. Les souches présentant un effet protagoniste ont été utilisées en consortium.



**Figure 20.** Test d'antagonisme entre les microorganismes sélectionnés

### III.3. INFLUENCE DE L'INOCULATION DES SOUCHES SOLUBILISATRICES SUR LA CROISSANCE DU SOJA (*Glycine max* L.)

#### III.3.1 Influence de l'inoculation sur la croissance du soja trois semaines après les semis

**Tableau 7.** Longueur de la tige, diamètre au collet et nombre de feuilles des plantules de soja trois semaines après semis

Traitement	longueur de la tige (a)		Diamètre au collet (b)		Nombre des feuilles (c)	
	Moyenne	Déviati standard	Moyenne	Déviati standard	Moyenne	Déviati standard
T-	38,60bc	1,6	0,2	0	4,33ab	0,6
T+	34,73bc	2,6	0,2	0	5,00b	0,0
A	34,00bc	3,0	0,2	0	4,67ab	0,6
B	26,53abc	2,5	0,2	0	4,00ab	1,0
C	36,30bc	0,7	0,2	0	4,67ab	0,6
D	34,13bc	3,2	0,2	0	4,67ab	0,6
E	37,40bc	1,5	0,2	0	4,67ab	0,6
F	20,53a	2,1	0,2	0	2,67ab	1,5
AB	37,80bc	2,0	0,2	0	5b	0,0
AC	40,80cd	3,6	0,2	0	5,00b	0,0
AD	32,60ab	0,4	0,2	0	5,67b	1,2
BC	25,67abc	3,4	0,2	0	5,00b	0,0
BD	8,00d	0,9	0,2	0	4,67ab	0,6
CD	34,63bc	1,9	0,2	0	5,00b	0,0
EF	22,10ab	2,1	0,2	0	4,67ab	0,6
ABC	39,73bc	4,1	0,2	0	4,33ab	0,6
ABD	25,20abc	0,7	0,2	0	4,33ab	0,6
ACD	25,93abc	3,0	0,2	0	4,33ab	0,6
BCD	20,27a	3,0	0,2	0	4,00ab	1,0
ABCD	29,10ab	2,1	0,2	0	4,00ab	1,0
<b>(a) Source de Variation</b>	<b>DF</b>	<b>SS</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>	
Entre groupes	19	3207,599	168,821	28,772	<0,001	
Résiduel	40	234,7	5,867			
Total	59	3442,299				
<b>(b) Source de Variation</b>	<b>DF</b>	<b>SS</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>	
Entre groupes	19	0	0	1	1	
Résiduel	40	0	0			
Total	59	0				
<b>(c) Source de Variation</b>	<b>DF</b>	<b>SS</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>	
Entre groupes	19	20,933	1,102	2,204	0,018	
Résiduel	40	20	0,5			
Total	59	40,933				

Le tableau 7 indique une différence significative  $P < 0,05$  entre les différents traitements en ce qui concerne le nombre de feuille et la longueur de la tige à la troisième semaine mais pas en ce qui concerne le diamètre au collet. Les différentes lettres correspondent aux différents groupes de différences significatives pour les différents paramètres agronomiques.

La longueur de la tige varie en fonction des différents traitements. Chez les témoins, la plus grande longueur est observée au traitement T- avec 48 cm et la plus petite au traitement T+ avec 20,267 cm en moyenne de long. Le traitement ABC est le consortium qui présente la plus grande hauteur (13,97cm) et le traitement C (12,27 cm) présente la plus grande parmi les traitements inoculés isolément. Le diamètre (0,2 mm) au collet à trois semaines ne varie pas d'un traitement à l'autre alors que le nombre de feuille varie entre 3 (F) et 6 (AD). Les autres traitements inoculés possèdent le nombre de feuilles variant entre 4 et 5 (Tableau 7).

### **III.3.2 Influence de l'inoculum sur la croissance du soja six semaines après les semis**

Le tableau 8 indique des différences significatives  $P < 0,05$  entre les différents traitements concernant le nombre des feuilles et la longueur de la tige, le diamètre au collet et le nombre des gousses à la sixième semaine.

On observe que le traitement T+ a une longueur de la tige plus grande que T-. Parmi les isolément, le traitement D présente la plus grande longueur de la tige avec 159,85cm et F a la plus petite longueur de la tige avec 52,25 cm (Tableau 8). Le consortium CD présente la plus grande longueur de la tige avec 134,15cm et le BD présente la plus petite avec 51 cm.

Sagissant du diamètre au collet, il varie de 0,2 à 0,317cm dans l'ensemble des traitements effectués. Ainsi, T- a un diamètre au collet (0,217 cm) que T+ (0,3cm). L'isolément ayant le grand diamètre est D avec 0,3mm et C a le petit diamètre qui est de 0,2 mm. Le consortium ayant le plus fort diamètre au collet est ACD (0,317mm) celui ayant un faible diamètre (0,2mm) est BD (Tableau 8).

En six semaines, le témoin T- (13) possède plus des feuilles que le témoin T+ (11). L'isolément D a le plus grand nombre de feuilles (11) et C présente le petit nombre de feuilles (7). Parmi les consortiums, BCD présente le plus grand nombre de feuilles (16) alors que BD a le plus faible nombre (6) de feuilles (Tableau 8).

En ce qui concerne le nombre de gousses, T+ (8) présente plus de gousses que T- (7). Les isolément C et F ont un nombre de gousses faible (2 et 3) alors que D a un grand nombre de gousses (7). Le consortium CD présente le plus grand nombre de gousses (11) alors que BD a un faible nombre (0) des gousses.

**Tableau 8.** Longueur de la tige, diamètre au collet, nombre de feuilles et nombres de gousses du soja six semaines après semis

Traitement	Longueur de la tige (a)		Diamètre au collet (b)		Nombre de feuilles(c)		Nombre de gousses(d)	
	Moyenne en cm	Déviati on standard	Moyenne en mm	Déviati on standard	Moyenne	Déviati on standard	Moyenne	Déviati on standard
T-	112,50def	2	0,22a	0,1	13,00abc	2,0	6,67abc	2,6
T+	127,44fg	3,6	0,30 a	0,1	11,00abc	3,0	7,67abc	0,6
A	131,70fg	11,4	0,23 a	0,1	9,67abc	2,5	3,67ab	2,6
B	67,15ab	1,4	0,23 a	0,1	8,00abc	3,0	4,67abc	1,6
C	58,80ab	8,4	0,20 a	0,0	6,67ab	1,6	2,00ab	1,0
D	159,85h	7,7	0,30a	0,0	10,67abc	1,6	6,67abc	0,6
E	105,80cde	2,8	0,25a	0,0	9,67abc	1,6	5,67abc	0,6
F	52,25a	2,3	0,30a	0,1	9,34abc	1,6	2,67ab	2,6
AB	57,20ab	6,0	0,23a	0,1	8,67abc	1,6	6,00abc	0,0
AC	116,20efg	6,2	0,28a	0,1	9,34abc	3,1	3,67ab	3,3
AD	93,80bcd	5,8	0,30a	0,1	11,34abc	6,9	5,00abc	4,4
BC	90,60bc	6,4	0,25a	0,1	13,00abc	2,0	6abc	2,7
BD	51,00a	1,8	0,20a	0,0	6,00a	1,0	0,00a	0,0
CD	134,15fg	8,0	0,25a	0,1	7,00ab	2,0	10,67 c	3,1
EF	95,20bcd	2,2	0,28a	0,1	13,67abc	3,6	8,00abc	0,0
ABC	98,85bcd	9,7	0,28a	0,1	11,00abc	0,0	3,00ab	3,0
ABD	127,10fg	17,1	0,26a	0,1	10,00abc	4,0	8,67bc	2,6
ACD	57,90ab	2,4	0,32a	0,1	14,67bc	2,6	5,00abc	1,8
BCD	77,65bc	2,7	0,27a	0,1	15,34c	0,6	6,00abc	2,0
ABCD	89,65bc	2,85	0,25a	0,1	11,00abc	1,0	6,00abc	2,0
<b>Source de Variation</b>	<b>DF</b>	<b>SS</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>			
(a)Entre Groupes	19	57176,504	3009,29	65,624	<0,001			
Résiduel	40	1834,262	45,857					
Total	59	59010,765						
(b)Entre groupes	19	0,0689	0,00363	1,913	0,042			
Résiduel	40	0,0758	0,0019					
Total	59	0,145						
(c)Entre groupes	19	377,517	19,869	2,825	0,003			
Résiduel	40	281,333	7,033					
Total	59	658,85						
(d)Entre groupes	19	347,517	18,29	3,837	<0,001			
Résiduel	40	190,667	4,767					
Total	59	538,183						

**Tableau 9.** Masse sèche aérienne, masse sèche racinaire et masse sèche totale du soja six semaines après les semis

Traitement	Masse sèche aérienne (a)		Masse sèche racinaire(b)		Masse sèche totale(c)	
	Moyenne	Déviations standard	Moyenne	Déviations standard	Moyenne	Déviations standard
T-	2,16 fgh	0,1	0,345ab	0,085	2,505 cdefg	0,045
T+	2,55h	0,1	0,515 abc	0,065	3,065 fg	0,045
A	1,47 abcd	0,1	0,21 a	0,1	1,71 ab	0,1
B	1,66bcde	0,1	0,79c	0,1	2,17 abcdef	0,5
C	0,98a	0,6	0,31 ab	0,1	1,60 a	0,2
D	2,15dfgh	0,1	0,38 ab	0,1	2,50bcdefg	0,2
E	1,37abc	0,2	0,20 a	0,0721	1,57 a	0,2
F	1,25ab	0,1	0,31 ab	0,1	1,56 a	0,1
AB	2,49gh	0,1	0,79 c	0,0	3,28 g	0,1
AC	1,50abcd	0,2	0,19a	0,1	1,66 ab	0,3
AD	2,48fgh	0,1	0,44 abc	0,1	2,92 defg	0,055
BC	1,79bcde	0,5	0,32 ab	0,2	2,11abcdef	0,625
BD	1,42abc	0,2	0,21 a	0,1	1,62 a	0,2
CD	2,22fgh	1,0	0,48 abc	0,1	2,69 ab	0,1
EF	1,81abcdef	0,1	0,39 ab	0,2	2,21abcdef	0,2
ABC	1,86abcdfg	0,1	0,38 ab	0,1	2,24abcdef	0,2
ABD	2,33fgh	0,2	0,66bc	0,3	2,99 efg	0,2
ACD	1,70bcde	0,2	0,33 ab	0,1	2,10 abc	0,2
BCD	1,99bcdfgh	0,3	0,45 abc	0,2	2,33 abcdef	0,5
ABCD	1,83abcefg	0,3	0,42 ab	0,2	2,24 abcdef	0,5
<b>Source de Variation</b>	<b>DF</b>	<b>MS</b>	<b>SS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>	
(a)Entre groupes	19	11,173	0,588	12,24	<0,001	<0,001
Résiduel	40	1,922	0,048			
Total	59	13,095				
(b)Entre groupes	19	1,749	0,0921	6,908	<0,001	
Résiduel	40	0,533	0,0133			
Total	59	2,282				
(c)Entre groupes	19	16,547	0,871	11,184	<0,001	
Résiduel	40	3,115	0,0779			
Total	59	19,662				



Le tableau 9 présente les variations de la masse sèche aérienne, masse sèche racinaire et masse sèche totale du soja six semaines après semis. Elles présentent des différences significatives.

On observe que T+ présente une masse sèche aérienne de 2,55 g plus grande que celle de T-(2,16 g). Parmi les traitements inoculés isolément D présente une masse sèche aérienne plus élevée (2,105g) et C possède la plus faible (0,98g). Les consortia AB et AD présentent des masses sèches aériennes plus élevées (2,49g ; 2,48g) alors que BD possède la plus faible (1,415g).

Concernant la masse sèche racinaire, observe que T+ présente une masse de 0,515g plus grande que celle de T-(0,345g). Parmi les traitements inoculés isolément B présente une masse sèche racinaire plus élevée (0,785g) et A et F possèdent la plus faible (0,21g ; 0,2g). Le consortium AB présente une masse sèche racinaire plus élevée (0,79g) alors que le consortium AC possède la plus faible (0,185g) (Tableau 9).

Le tableau 9 montre que T+ présente une masse sèche totale de 3,065g plus grande que celle de T-(2,505g). Parmi les traitements inoculés isolément D présente une masse sèche racinaire plus élevée (2,485 g) et E possède la plus faible (1,567g). Le consortium AB présente une masse sèche totale plus élevée (3,28g) alors que BD possède la plus faible (1,62g).

## DISCUSSION

La solubilisation des types de phosphate rocheux est marquée par l'apparition d'une zone d'halo autour de la colonie, ceci s'expliquerait par la libération des acides organiques par les microorganismes à savoir les acides formique, acétique, butyrique, lactique, aliphatiques et aromatiques, entraînant ainsi une baisse du pH du milieu (Gaur 1990, Rodriguez et Fraga 1999). La faible solubilisation observée chez certaines souches pourrait être attribuée à la faible diffusion dans le milieu solide, des acides produits par ces bactéries au cours de leur croissance (Nautiyal 1999).

Pour évaluer la capacité des souches à solubiliser en milieu solide, les indices de solubilisation (IS) calculés varient entre 1,22 et 4,71. Ces valeurs se rapprochent de celles trouvées par Babana *et al.* (2013), Fankem *et al.* (2014a) qui, en travaillant sur la solubilisation des phosphates rocheux par quelques souches microbiennes du genre *Penicillium* ont respectivement obtenu des valeurs d'IS compris entre 1,00 et 3,60 d'une part et d'autre part 1,44 et 4,74. Cependant, ces valeurs sont différentes de celles obtenues par Qureshi *et al.* (2012) qui ont caractérisé les souches de *Bacillus* en boîte de Pétri contenant le milieu de Pikovskaya (Pikovskaya 1948) qui indique des index variant entre 3,6 - 3,8. Cette différence serait due aux types de microorganismes, ainsi qu'aux types de phosphates que contient le milieu.

La capacité de solubilisation des types de phosphate en milieu solide a montré que le phosphate rocheux du Mali (IS = 2,80) est le plus solubilisé, suivi de celui du Cameroun (IS = 2,64), de l'Algérie (IS = 1,93), du Maroc (IS = 0,86) et enfin du Mexique qui n'est pas solubilisé (IS = 0). Ces résultats se rapprochent de ceux trouvés par Fankem *et al.* (2014b) au cours d'une étude portant sur l'effet des bactéries (*Pantthoea* sp., *Klebsiella* sp. et *Bacillus* sp.) solubilisatrices des phosphates sur la croissance et le rendement du soja indiquant que le PR du Mali est le plus facile à solubiliser par rapport aux PR de l'Algérie, Mexique et du Maroc.

Sur les 32 souches utilisées pour la caractérisation en milieu solide, six ont pu solubiliser les cinq types de phosphate avec un indice variant de 1,22 à 4,71. *Galactomyces* sp est la meilleure souche en milieu solide avec un indice de 2,46. Elle est suivie de *Plantibacter* sp. avec pour IS 2,34 ensuite de *Sphingobacterium* sp. et *Enterobacter* sp. 144 avec pour IS 1,99 et 1,35 respectivement et enfin la souche la moins efficace est *Bacillus* sp. avec un IS de 0,54. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Fankem *et al.* (2014a) indiquant que les PR du Maroc et du Mexique sont les plus récalcitrants. Ce caractère récalcitrant du phosphore rocheux du Maroc notamment en milieu solide a été déjà mis en évidence par Fankem *et al.* (2014a) au

cours d'une étude sur la solubilisation des phosphates rocheux de l'Algérie, Mali et Maroc par différentes souches de genre *Penicillium*, isolées de trois zones agro écologique du Cameroun.

L'efficacité des souches en milieu liquide a été évaluée par la quantité du phosphate solubilisé avec des concentrations variant de 122,75 à 3103,66 mg/l. Les souches ont solubilisé au moins deux des quatre types de PR (Algérie, Cameroun, Mali et Maroc). Le phosphate rocheux du Mexique qui n'a pas été en milieu solide est le plus solubilisé en milieu liquide (945,99 mg/L), suivi de celui de l'Algérie (376,52 mg/L), du Cameroun (52,73 mg/L), du Mali (IS =0,86) et enfin le Maroc n'est pas solubilisé. *Enterobacter* sp.2 est la meilleure souche solubilisatrice en milieu liquide (405,547 mg/L), suivie de *Sphingobacterium* sp. (392,19 mg/L), *Enterobacter* sp.144 (329,28 mg/L), *Galactomyces* sp. (323,46 mg/L), *Plantibacter* sp. (260,19 mg/L), enfin de *Bacillus* sp. (216 mg/L). Ces résultats se rapprochent de ceux de whitelaw (2000) et Panwhar *et al.* (2011) qui avaient découvert que les souches bactériennes des genres *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter* et *Rhizobium* sont des puissants solubilisateurs de phosphate. Ceci confirme les résultats de (Gupta *et al.* 1994 ; Jorhi 1999 ; Fankem *et al.* 2006) qui ont montré que plusieurs microorganismes incapables de produire des zone d'halo autour de leurs colonies en milieu solide peuvent solubiliser les phosphates inorganiques en milieu liquide. Cette absence de zone d'halo serait due à une faible diffusion des acides organiques produits par ces bactéries au cours de leur croissance, ce qui confirme le mécanisme de solubilisation par les acides organiques dans les sols acides du Cameroun défendu par Fankem *et al.* (2008). Ceci indique que l'halo zone comme seul critère de sélection des MSP est insuffisant, mais reste important dans la mesure où il permet une détection rapide et peu coûteuse des MSP (Fankem 2007).

Les résultats obtenus en milieux solide et liquide pour le phosphate rocheux du Mali montrent une réversion d'aptitude solubilisatrice entre les souches testées. Par ailleurs, on note une nette conservation des performances de *Sphingobacterium* sp. par exemple dans ces milieux. Cette observation a été faite par Atekan *et al.* (2014) dans une étude portant sur le potentiel solubilisateur de phosphate des bactéries isolées des déchets de canne à sucre. La quantité assez importante de phosphore soluble dans le milieu témoin contenant le phosphate rocheux de l'Algérie peut s'expliquer par une facilité qu'a le phosphore d'être extrait de cette roche par agitation.

La solubilisation des phosphates dans les milieux solides et liquides s'accompagne généralement de la baisse du pH du milieu bien qu'aucune corrélation positive n'ait pas été

observée. Leandro *et al.* (2011) ont montré au cours d'une étude sur la solubilisation des phosphates inorganiques par les souches isolées des légumineuses qu'il existe une corrélation positive entre la quantité de phosphate solubilisée et la baisse du pH du milieu de culture. En effet, la baisse du pH dans un milieu ferait parti du principe de base de solubilisation des phosphates et serait liée à la production des acides organiques et à la libération des protons dans le milieu de culture (Sperber 1958 ; Lin *et al.* 2006 ; Leandro *et al.* 2011).

L'inoculation des microorganismes solubilisant le phosphate dans la culture du soja a significativement affecté sa croissance durant les six semaines qu'ont duré l'essai. En effet, de nombreux chercheurs ont montré que l'utilisation des MSP augmentait considérablement la production végétale (Chabot *et al.* 1996, Fankem 2007, Yanzdani *et al.* 2009, Hussain *et al.* 2013). Ce qui appuie les conclusions d'Asea *et al.* (1988), stipulant que les racines des plantes stimulent les MSP. Bien que tous les traitements microbiens ne donnent pas des résultats supérieurs aux témoins positif et négatif, les meilleurs résultats sont obtenus aux traitements microbiens. Ceci montre que la solubilisation du phosphate par les MSP a contribué à la croissance des plantules du soja. Par ailleurs, si certains traitements microbiens fournissent des résultats supérieurs au témoin positif notamment qui a reçu le phosphate soluble, cela signifie que les MSP ont été très efficaces (Hussain *et al.* 2013).

Au cours de notre étude, nous avons observé une différence significative en ce qui concerne les données des paramètres de croissance du soja. Cette différence provient essentiellement des différents traitements effectués au cours de l'expérimentation en serre. Comparés aux inoculations à la souche unique, les traitements en consortium favorisent une meilleure biodisponibilité du phosphore assimilable à la plante. Les résultats obtenus six semaines après semis attestent que la majorité des consortiums ont un effet positif sur le nombre de feuille, la hauteur de la tige, le diamètre de collet, le nombre de gousses et la matière végétale sèche. Pour la longueur de la tige, le consortium CD a permis une longueur de 134,50 cm bien supérieure à T+ (127,43cm) et T-(112,50 cm). Pour le diamètre au collet, le consortium ACD est meilleur avec un diamètre de 0,317 cm. S'agissant le nombre de feuilles, le consortium BCD est le meilleur traitement avec environ 16 feuilles suivi de ACD avec environ 15 feuilles comparés à T- (13) et T+ (11) ou au meilleur traitement en inoculum isolé qui est D (environ 11 feuilles). Pour la masse sèche totale, le consortium AB est le meilleur traitement avec 3,28mg comparé avec T+ (3,07 mg) et le meilleur inoculum isolé qui est D (2,49 mg). Pour le nombre de gousses, T+ (8) présente plus de gousses que T- (7). Les isolements C et F ont un nombre de gousses faible (2 et 3) alors que D a un grand nombre de gousses (7). Le consortium

CD présente le plus grand nombre de gousses (11) pour l'ensemble des traitements. Ceci peut tout simplement s'expliquer par le fait qu'en combinant les traitements microbiens, les microorganismes ont une synergie d'action au niveau de la rhizosphère qui favorise la mobilisation du phosphore contenu dans les pools organiques pour une assimilation facile par la plante et par conséquent une augmentation de la croissance végétale (Pal 1998).

Ces résultats montrent que les souches ont solubilisé le phosphate rocheux insoluble et ont mis à la disposition des plantes le phosphore nécessaire à leur croissance étant donné que le sol utilisé pour l'expérience est pauvre en phosphore disponible (9,89 mg/kg). Ces souches sont donc efficaces dans l'amélioration de la solubilisation des phosphates rocheux (Gyaneshwar *et al.* 2002) et montrent que les MSP sont efficaces dans l'amélioration de la croissance et le rendement des cultures (Hussain *et al.* 2013). Mehta et Nautiyal (2001) ont relevé également que l'utilisation simultanée des MSP augmente la capacité d'absorption du phosphore par les plantes.

**CHAPITRE IV :  
IMPLICATION SUR LE  
SYSTÈME ÉDUCATIF DU SUJET**

La didactique et la pédagogie sont deux disciplines essentielles et constitutives de l'éducation.

La didactique est une science de l'éducation qui a pour but l'étude des processus de l'enseignement et de l'apprentissage et de celle de l'élaboration rationnelle des programmes scolaires des enseignements à dispenser.

La didactique d'une discipline étudie les différents processus de transmission des savoirs relatifs à la discipline considérée et leur acquisition par les élèves.

La pédagogie est une théorie de l'enseignement, qui s'est imposée à partir du XIX siècle comme de science de l'éducation, ou didactique expérimentale, et s'interroge aujourd'hui sur les conditions d'acquisition du savoir, d'apprentissage sur le contenu et l'évaluation de celui-ci, sur le rôle de l'éducateur et de l'élève dans le processus éducatif et plus globalement sur les finalités de cet apprentissage, indissociable d'une norme sociale et culturelle.

Dans le cadre des Sciences de la Vie et de la Terre (SVT), les contenus des programmes par le Ministère des Enseignements Secondaires ont longtemps été élaborés selon l'Approche par Objectifs (APO) ou la Pédagogie par Objectifs (PPO) dont les insuffisances ne sont plus à démontrer. Cette PPO est encore appliquée dans notre système éducatif au niveau du second cycle de l'enseignement secondaire. De nos jours, elle évolue progressivement vers une structure intégrée favorable à une orientation explicative, expérimentale des enseignements et surtout vers une Approche Par Compétence (APC).

Ces enseignements de SVT considérés comme activités d'éveil, d'éducation et de formation, trouvent en ce mémoire un support didactique dans la mesure où ce travail porte sur des activités d'observations (contexte), d'hypothèse (problématique), expérience, de collectes des données (résultats), d'analyses, d'interprétation et de conclusion. Ce travail est en accord avec la démarche expérimentale Observation- Hypothèse- Expérience –Résultat- Interprétation - Conclusion (OHERIC) telle que souhaitée par l'APO et exigée par l'APC.

Nous pouvons grâce aux travaux réalisés dans ce mémoire, dispenser la leçon 2 du Chapitre IV des classes de secondes « Rôle du sol dans la production primaire : Influence des microorganismes solubilisant les phosphates sur la production végétale ». Nous devons pour y parvenir, réaliser une fiche pédagogique de la leçon à dispenser, un outil primordial de l'enseignant en salle de classe.

## FICHE PÉDAGOGIQUE DE PRÉPARATION D'UNE LEÇON SELON L'APO

<b>ÉTABLISSEMENT :</b>	<b>LYCÉES ET COLLÈGES DU CAMEROUN</b>	<b>Nom et Prénom :</b> André KLAPAI	
<b>THEME :</b>	<b>SOL ET PRODUCTION PRIMAIRE</b>	<b>Mle :</b> 06Y109 <b>Niveau :</b> 5	<b>Tel :</b> 653488961/ 694569670
<b>CHAPITRE :</b>	<b>RÔLE DU SOL DANS LA PRODUCTION PRIMAIRE</b>	<b>Date</b>	Fonction du planning annuel
<b>TITRE DE LA LEÇON:</b>	Influence des microorganismes solubilisant les phosphates sur la production végétale : cas du soja	<b>Classe</b>	2 <sup>nde</sup> A ou C
		<b>Effectif :</b>	G :      F :
		<b>Durée</b>	2h
		<b>Période</b>	8h20-9h10
<b>Objectif Pédagogique Opérationnel :</b>	A la fin de cette leçon l'apprenant doit être capable de déterminer l'influence des microorganismes solubilisant les phosphates sur la croissance des végétaux.		



ÉTAPES	Objectifs pédagogiques intermédiaires	Contenus spécifiques aux OPI	Matériels	Activités		Evaluation	DURÉE
				Enseignant	Apprenants		
INTRODUCTION	1-Etablir le contrat enseignant-apprenants	A la fin de cette leçon l'apprenant doit être capable de déterminer l'influence des microorganismes du sol solubilisant les phosphates sur la croissance d'un végétal (soja).	Programme officiel	-Ecrire le titre de la leçon -Ecrire l'objectif Faire expliquer l'objectif	Recopient le titre de la leçon et l'objectif Expliquent l'objectif		10mn
	2-Vérifier les prérequis	- Citer les facteurs influençant la production végétale  -Citer les paramètres agronomiques à mesurer pour l'analyse de la croissance	Vécu quotidien  Cours précédent	Pose des questions diagnostiques  Remédie si nécessaire	Répondent aux questions	<b>Evaluation diagnostique</b> - citer les facteurs influençant la production végétale	
	3-Interêt de la séance	Déterminer le rôle des microorganismes du sol solubilisant les phosphates afin de dégager les moyens pour augmenter la production du soja	Vécu quotidien Cours précédent	Donner l'intérêt de la séance	Réfléchissent Déterminent l'intérêt		
	4- Formuler le problème scientifique	Comment les microorganismes interviennent-ils à rendre disponible le Phosphore afin d'améliorer la production d'un végétal ?  La production végétale est corrélée par l'activité microbienne du sol. Comment les microorganismes interviennent-ils à rendre disponible le Phosphore afin d'améliorer la production d'un végétal ?	Elève A cultive dans un sol riche en micro-organismes et élève B dans un sol pauvre	Présente la situation Donner le problème que va rencontrer l'élève B	Réfléchissent  Formulent le problème scientifique		
			<b>Matériels</b>	<b>Activités</b>		<b>Evaluation</b>	<b>DURÉE</b>

ÉTAPES	Objectifs Pédagogiques Intermédiaires	Contenus spécifiques aux OPI		Enseignant	Apprenants		
<b>DÉVELOPPEMENT</b>	<p>L'élève doit être capable de :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-donner le rôle du phosphore pour un végétal</li> <li>-citer les conséquences de sa carence</li> </ul>	<p><b>1- Rôle du phosphore pour un végétal</b>  Le phosphore est un élément indispensable et irremplaçable pour les besoins vitaux des plantes. Il est un élément essentiel à la croissance et au développement des végétaux. Sa carence est un facteur limitant à la production agricole. Le phosphore intervient dans le transfert d'énergie (ATP), dans la transmission des caractères héréditaires (Acides nucléiques), la photosynthèse et dégradation des glucides. Il est aussi essentiel pour la floraison, la nouaison, le grossissement, la précocité et la maturation. De plus, le phosphore favorise l'enracinement précoce, la santé des végétaux et l'abondance des récoltes. La carence en phosphore se manifeste chez les végétaux par une diminution du développement des racines, une coloration plus foncée des feuilles et la nécroses des limbes</p>		<p>Pose des questions :</p> <p>Donner l'importance du phosphore</p> <p>Comparer les productions des élèves A et B</p>	<p><b>R<sub>1</sub></b> : croissance et développement</p> <p><b>R<sub>2</sub></b> : Transfert d'énergie et hérédité</p> <p><b>R<sub>3</sub></b> : Photosynthèse, floraison, maturation, santé du végétal</p>	<p><i>Evaluation formative</i></p> <p>donner l'importance du phosphore pour un végétal</p> <p>Citer les conséquences de sa carence</p>	<b>30mn</b>

<b>DÉVELOPPEMENT</b>	<p>L'élève doit être capable de :</p> <p>identifier les différentes origines du phosphore</p>	<p><b>2-Origine du phosphore</b></p> <p>Les sources de P dans le sol sont la roche mère, les résidus végétaux, les engrais apportés et de matières résiduelles fertilisantes (MRF). Les apports de fertilisants phosphatés solubles sont sous formes de triple superphosphate (TSP), de superphosphate simple (SSP), et de phosphate di-ammonique (DAP), NPK</p> <p>Le phosphate rocheux naturel est une alternative moins coûteuse et plus écologique. Cette source de phosphore est d'origine volcanique ou bien les restes des squelettes d'animaux.</p>	<p>Engrais chimique</p> <p>Vécu quotidien</p>	<p>Pose des questions :</p> <p>Définir NPK</p>	<p><b>R1</b> -la roche mère, les résidus des végétaux, des engrais apportés et des MRF, phosphate naturel</p>	<p><b>Evaluation Formative</b></p> <p>Citer les origines</p>	<b>30mn</b>
	<p>Identifier les formes du phosphore</p> <p>Nommer la forme utilisable par la plante</p>	<p><b>3- Formes du phosphore dans le sol et leur devenir</b></p> <p>Le phosphore existe sous deux formes principales :</p> <p>1) la forme organique (Po) et 2) la forme inorganique ou minérale (Pi). Le phosphore organique résulte de la dégradation des végétaux par la faune et la flore du sol.</p> <p>Dans la solution du sol, le phosphore minéral est sous deux formes d'ions phosphatés : le <math>H_2PO_4^-</math> (dihydrogénophosphate en conditions acides) et le <math>HPO_4^{2-}</math> (hydrogénophosphate en conditions alcalines).</p> <p>Le P est un élément peu mobile dans le sol</p>	<p>Cours précédent</p> <p>Figure 5 p14</p>	<p>Citer les formes minérales</p>	<p><b>R3 :</b> Phosphore organique et minéral</p> <p><b>R4 :</b> Phosphore minéral</p>	<p>Citer les formes du phosphore</p> <p>Nommer celle qui est utilisable</p>	

<p style="text-align: center;"><b>DÉVELOPPEMENT</b></p>	<p>Donner l'importance des microorganismes solubilisant le phosphore</p>	<p><b>4-Importance des microorganismes solubilisateurs du phosphate</b></p> <p>Dans les sols agricoles, la dissolution des phosphates inorganiques est étroitement liée à l'activité des microorganismes du sol. En effet, on retrouve dans les sols un nombre important de microorganismes du sol, notamment les bactéries, les champignons, les algues et les plantes capable de libérer du Pi à partir des formes organiques et notamment des minéraux phosphatés du sol. La solubilisation de P minéral s'effectue par la sécrétion de ligands ou acides organiques qui vont se complexer avec le calcium, le fer ou l'aluminium, libérant ainsi du Pi dans la solution du sol.</p>		<p>Citer les différents MSP</p> <p>Donner l'importance des substances sécréter par les MSP</p>	<p>(<math>H_2PO_4^-</math> et <math>HPO_4^{2-}</math>)</p> <p><b>R5 :</b> Libérer du Pi dans la solution du sol à partir des formes organiques en sécrétant des acides organiques</p>	<p>Donner l'importance des microorganismes du sol</p>	
<p style="text-align: center;"><b>CONCLUSION</b></p>	<p>Face au problème d'infertilité des sols pauvres en phosphore disponible que rencontre l'agriculture camerounaise, l'utilisation des microorganismes solubilisant les phosphates est une alternative agronomique, économique et écologiquement envisageable. L'apport des MSP tels que <i>Sphingobacterium</i> sp., <i>Enterobacter</i> sp.2, <i>Plantibacter</i> sp. et <i>Galactomyces</i> sp. dans le sol augmente considérablement la production de la biomasse végétale. Comment peut-on évaluer cette augmentation de la production de la biomasse chez le soja ?</p>					<p><b>Evaluation Sommative</b></p> <p>Nommer les formes des phosphates</p> <p>Donner l'importance MSP</p>	<p style="text-align: center;"><b>10mn</b></p>

## CONCLUSION ET PERSPECTIVE

Le but de cette étude était d'évaluer l'aptitude de certaines souches à solubiliser les phosphates rocheux de différentes origines en milieux solide et liquide et de déterminer l'effet de l'inoculation sur la croissance du Soja, Les tests de solubilisation en milieu solide ont permis de sélectionner six souches présentant de meilleures aptitudes solubilisatrices sur la base du calcul des IS. Par ailleurs, le test de l'aptitude solubilisatrice en milieu liquide était nécessaire pour permettre de confirmer les performances observées en boîte de pétri. L'inoculation des meilleures souches en pots a permis de déterminer l'influence sur la croissance du soja, notamment l'augmentation de la biomasse du soja. En effet, il s'est avéré que les traitements microbiens isolément ou en consortium ont présenté de bonnes performances comparées au témoin négatif. Ces traitements en général (*Enterobacter sp.2*, *Galactomyces sp. plantibacter sp.* et *Sphingobacterium sp.*) et surtout en consortium (CD, ACD, BCD et AB) améliorent la croissance par rapport au témoin positif qui a reçu le phosphore soluble et au témoin négatif qui a reçu le phosphate rocheux du Cameroun mais sans traitements microbiens. Toutefois, il est nécessaire de poursuivre cette étude en effectuant des tests en champ pour confirmer les résultats obtenus en serre.

## REFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Agnoro M. (2008) Effet de l'inoculation avec "*bradyrhizobium japonicum*" et de l'apport de phosphore sur la productivité du soja (*glycine max*) en champs paysans au Bénin .Diplôme d'Ingénieur agronome. Faculté des sciences agronomiques d'Abomey-Calavi au Bénin.
- AGRISTAT Cameroun N° 16, (2010) Annuaire des statistiques du secteur agricole campagnes 2007 et 2008. Direction des enquêtes et des statistiques agricoles, Ministère de l'agriculture et du développement rural, république du Cameroun.
- AGRISTAT Cameroun N° 17, (2012) Annuaire des statistiques du secteur agricole campagnes 2009 et 2010. Direction des enquêtes et des statistiques agricoles, Ministère de l'agriculture et du développement rural, république du Cameroun.
- AGRISTAT Cameroun N° 18, (2013) Annuaire des statistiques du secteur agricole campagnes 2010 et 2011. Direction des enquêtes et des statistiques agricoles, Ministère de l'agriculture et du développement rural, république du Cameroun.
- Alain M., (1999) Croissance racinaire du maïs (*zea mays l.*) sous déficience en phosphore. Etude expérimentale et modélisation. Thèse grade de Docteur en Sciences de l'université Paris XI Orsay.p:194.
- Antoni V. (2009) Le phosphore dans les sols nécessité agronomique, préoccupation environnementale. Commissariat général au développement durable n°14 Juin 2009.4p.
- Asea, PE, Kucey A, Stewart RM. (1988) Inorganic phosphate solubilization by two *Penicillium* species in solution culture and soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 20: 459-464
- Atekan Y., Nuraini E., Handayanto S. (2014). The potential of phosphate solubilizing bacteria isolated from sugarcane wastes for solubilizing phosphate. *Journal of Degraded and Mining Lands Management*. 1: 175-182.

- Aubert C. (2007) Le phosphore : élément essentiel à la vie mais avec un impact sur l'environnement lié aux activités humaines. ITAVI - Zoopôle Beaucemaine 41. rue Beaucemaine - 22440 Ploufragan. pp 9-12.
- Babana A. H., Dicko A. H., Maïga K. et Diakaridia T., (2013) Characterization of rock phosphate-solubilizing microorganisms isolated from wheat (*Triticum aestivum* L.) rhizosphere in Mali. *Journal of Microbiology and Microbial Research*, 1: 1-6.
- Barber S. A. (1995) Soil nutrient bioavailability: a Mechanistic Approach. Wiley, New York 384 p.
- Bationo A., Ayuk E., Ballo D., Koné M. (1997) Agronomic and economic evaluation of Tilemsi phosphate rock in different agro ecological zones of Mali. *Nutrient Cycling Agrosysteme*. 48:179-189.
- Baudoux Dominique, L'aromathérapie - Se soigner par les huiles essentielles, Atlantica, 2001.
- Beaudin I. (2006) Revue de littérature : la mobilité du phosphore version finale. Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec. 143 p.
- Behra P., Douch J., Binde F. (1999) Sorption mechanisms at the solid-water interface. In Effect of mineral-organic-microorganism interactions on soil and freshwater environments. Edited by Berthelin J, Huang PM, Bollag JM, Andreux F. Academic/Plenum publishers, New York, 1-13p.
- Berthelin, J., Leyval, C. Laheurte, F., and De Guidici, P. (1991) Some considerations on the relations between phosphate solubilizing rhizobacteria and their effect on seedings and plant growth related to phosphorus solubilization. In Plant growth-promotind rhizobacteria progress and prospects. (Eds) Keel, C., Koller, B., Défago, G. IOBC-WPRS. *Bulletin XIV* (8): 359-3538
- Boiffin, J., Sebillotte, M. (1977) Le phosphore et son emploi dans l'exploitation agricole. Institut National d'Agronomie Ed. Paris.
- Bolan N. S., (1991) A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant Soil* 134: 189-207.

- Bumb, Balu Lal., Gregory, Douglas Ian. (2006) Factors affecting supply for fertilizer in Sub-Saharan Africa. *Agriculture and Rural Development Discussion Paper*; no. 24. Washington, DC: World Bank.
- Busman L., Lamb J., Randall G., Rehm G., Schmitt M.( 2002) "The nature of phosphorus in soils." *Retrieved*. 01-27.
- Chabot R., Antoun H., Cescas MP. (1993) Stimulation de la croissance du maïs et de la laitue romaine par des microorganismes dissolvant le phosphore inorganique. *Can. Journal of Microbiology*. 39: 941-947
- Chien, S., Menon, R.G. (1995) Factors affecting the agronomic effectiveness of phosphate rock for direct application. *Fertily Ressources*. 41: 227-234
- Chien, S.H., Sale, P.W.G., Hammond, L.L. (1990) Comparison of the effectiveness of phosphate Fertilizer Products. Phosphorus Requirements for sustainable Agriculture in Asia and Oceania. Rapport de Symposium, pp 143-156, IRRI, Philippines
- Christian S., J. C. Muller., J. Decroux (2005)- Guide de la fertilisation raisonnée, tiré du <http://fr.wikipedia.org/wiki/fertilisation>le 14/05/2016
- CIRAD-GRET.( 2002) Mémento d'agronomie, centre de coopération international en recherche et échange technologique (GRET), imprimé en France Jouve, 11Bd de Sébastopol, dépôt légal, 191p.
- Cline, G. R., Powell, P. E., Szanizlo, P. J., Reid, C. P. P. (1982) Comparison of the abilities of hydroxyamic, synthetic, and other natural organic acids to chelate iron and other ions in nutrient solution. *Soil Science Soc. American Journal*. 46: 1158-1164.
- Condron L. M., Tiessen H. (2005) Interactions of organic phosphorus in terrestrial environments. In: Turner B.L., Frossard E. and Baldwin D.S. Eds, *Organic Phosphorus in the Environment*. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK. P: 295-307.
- Cordell, D., J.-O. Drangert ., S. White.( 2009a) The story of phosphorus: Global food security and food for thought. *Global Environmental Change* 19: 292-305.



- Cordell, D., T. Schmid-Neset., S. White., J.-O. Drangert. (2009b) Preferred future phosphorus scenarios: A framework for meeting long-term phosphorus needs for global food demand. Edited by Don Mavinic, Ken Ashley and Fred Koch. ISBN: 9781843392323. Published by IWA Publishing, London, UK, International Conference on Nutrient Recovery from Wastewater Streams Vancouver, 2009.
- Cordell, D., Drangert, J.-O., White, S. (2009) The Story of Phosphorus: Global food security and food for thought. *Global Environmental Change*, 19:292-305
- Cunningham, J. E., Kuick, C. (1992) Production of citric and oxalic acid and solubilization of calcium phosphate by *Penicilium Bilaii*. *Applied Environmental Microbiology*. 58: 1451-1458.
- Demol J., Baudoin J.-P. Louant B. P., Maréchal Robert, Mergeai G. (2002) Amélioration des plantes : *Application aux principales espèces cultivées en Afrique Tropicales*. 591 :208-209
- Doumbia, M. D., Hoosner, L.R., Onken, A.B. (1993) Variable sorghum growth in acid soils of subhumid West Africa. *Arid soil research and rehabilitation*. 7 (4): 335-346.
- Fankem H., Nwaga D., Deubel A., Dieng L., Merbach W. and Etoa F- X. (2006) Occurrence and functioning of phosphate solubilizing microorganisms from oil palm tree (*Elaeis guineensis*) rhizosphere in Cameroon. *African Journal of Biotechnology*. 5: 2450-2460.
- Fankem H. (2007) Occurrence and potentials of phosphate solubilizing microorganisms associated with oil palm (*Elaeis guineensis* jacq.) Rhizosphere in Cameroon. Thèse de Doctorat PhD, Université de Yaoundé I, Cameroun. 135 p.
- Fankem H., Ngo Nkot L., Deubel A., Quinn J., Merbach W., Etoa FX., Nwaga D.( 2008) Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by strains of *Pseudomonas fluorescens* isolated from acidic soils of Cameroon. *African Journal of Microbiology Research* 2: 171-178.

- Fankem H., Abba M., Ngo Nkot L., Deubel A., Merbach W., Etoa F-X., Nwaga D. (2011) Selecting indigenous P solubilizing bacteria for cowpea and millet improvement in nutrient deficient acidic soils of southern Cameroon. In (Eds. A. Bationo, B. Waswa, J. Okeyo, F. Maina). Innovations for a green revolution in Africa: Exploring the Scientific Facts. *Springer Science+Business Media B.V.* 2011 (DOI 10.1007/978-90-481-2543-2\_40), pp 391-398.
- Fankem.H., L. Ngo Nkot., G. Nguesseu Njanjouo., G.V. Tchuisseu Tchakounte., V. Tchiazé Ifoué, D. Nwaga,(2014a) Rock Phosphate Solubilisation by Strains of *Penicillium* spp. Isolated from Farm and Forest Soils of three AgroEcological Zones of Cameroon, vol. 2(2). *American Journal of Agriculture and Forestry*, 2014, pp. 25-32.
- Fankem H., Nguesseu N.G., Ngo Nkot L., Tchuisseu T.G.V., Nwaga D., Etoa F.X.( 2014b) Rock-phosphate solubilising bacteria and their effect on soybean (*Glycine max*) growth under pot grown conditions. *American Journal of Agriculture and Forestry*.2(4): 100-109.
- FAO. (2000) Guidelines on integrated Soil and Nutrition Management and Conservation for Farmer Fields Schools, vol AGL/MIS/27/2000, Land and Plant Nutrition Management service and Land and water Development Division, Rome, 164 p
- FAO. (2009) Le défi spécifique à l’Afrique subsaharienne comment nourrir le monde en 2050. Forum d’expert de haut niveau 12-13 octobre 2009, 4p.
- FAO. (2010) Living plant: Biodiversity, biocapacity and development. Rapport 2010.56p.
- FAO. (2013) Situation mondiale de l’alimentation et de l’agriculture. Résumé, 5p.
- Frossard E., Julien P., Neyroud JA., Sinaj. (2004) Le phosphore dans les sols. Etat de la situation en Suisse. Cahier de l’environnement no 368. Office fédéral de l’environnement, des forêts et du paysage, Berne. 180p.
- Gaur A C., Medan M., Ostwall K P. (1973) Solubilization of phosphate ores by native microflora of rock phosphates. *Indian Journal For Experimental. Biology*. 11, 427–429.

- Giller et Dashiell, (2007) *Glycine max* (L) Merrill. Fiche de Protabase. Van der Vossen, H.A.M. & Mkamilo, G.S. (Editeurs). *PROTA (Plant resources of Tropical Africa/Ressources Végétales de l'Afrique Tropicale)*, Wageningen, Pays Bas.
- Gayet Caroline, (2013) Guide de poche de phytothérapie, éditions Leduc, 2013
- George T. S., Turner B. L., Gregory P. J., Cade-Menun B. J. et Richardson A. E. (2006) Depletion of organic phosphorus from Oxisols in relation to phosphatase activities in the rhizosphere, *European Journal of Soil Science*. 57: 47-57.
- Gervy R , (1970) Les phosphores et l'agriculture .Edition .Dunod, paris. 298p.
- Giroux, M., T.S. Tran. (1996) Critères agronomiques et environnementaux liés à la disponibilité, la solubilité et la saturation en phosphore des sols agricoles du Québec. *Agrosol* 9 (2): 51-57.
- Giroux, M., Cantin, J., Rivest, M., Tremblay, G. (2002) L'évolution des teneurs en phosphore dans les sols selon leur fertilité, leur richesse en phosphore et les types de sol. Colloque sur le phosphore : une gestion éclairée. Drummonville, 6 Novembre 2002.
- Goldstein A. H. (1986) Bacterial solubilization of mineral phosphates: historical perspectives and future prospects. *American Journal of Alternative Agriculture*. 1: 51-57.
- Gupta R., Singal R., Shankar A., Kuhad RC., Saxena RK. (1994) A modified plate assay for screening phosphate solubilizing microorganisms. *Journal General Applied Microbiology*. 40: 255 - 260.
- Gyaneshwar P., Kumar G. N., Parekh L. J. et Poole P. S. (2002) Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant Soil*. 245: 83-93.
- Hammond, L.L., Chien, S.H., Mkwunye, A.U. (1986) Agronomic value of unacidulated and partially acidulated phosphate rocks indigenous to the tropics. *Advancd. Agronomic*. 48: 89-140
- Hedley, M.J., Stewart, J.W.B. (1982). A method to measure microbial phosphate in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 14: 377-385.

- Hinsinger P. (2001) Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root induced chemical changes: a review. *Plant and soil* 237: 173-195.
- Hinsinger P. (1998) How do plant roots acquire mineral nutrients? Chemical processes involved in the rhizosphere. *Advanced Agronomic* 64: 225-265.
- Holford I. C. R.. (1997) Soil phosphorus: its measurements and its uptake by plants. *Australian Journal of Soil Research*. 35: 227–239.
- Hussain MI., Asghar NH., Akhtar MJ., Arshad M. (2013) Impact of phosphate solubilizing bacteria on growth and yield of maize. *Soil Environnement*. 32: 71-78.
- IAC (InterAcademy Council). (2004) Realizing the Promise and Potential of African Agriculture: Science and Technology Strategies for Improving Agricultural Productivity and Food Security in Africa. Amsterdam, the Netherlands.
- Illmer P., Schinner F. (1992) Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soil. *Soil Biology and Biochemistry* 1992;24:389–95.
- Isherwood K. F., Ahmed N., Hamid A.,(1998) Fertilizer use and environment. *Plant Nutrition Management for Sustainable Agricultural Growth*. 57-76.
- Ivanoff, D.B., Reddy, K.R., Robinson, S.(1998) Chemical fractionation of organic phosphorus in selected histosols. Technical article. *Soil Science*, 163: 36-45.
- Javaheri, F., Baudouin, J. P. (2001) Soja (*Glycine max* (L.) Merrill.). *Agriculture en Afrique Tropicale* (1634). 660-883.
- Johri J K., Surange S., Nautiyal CS. (1999) Occurrence of salt, pH, and temperature-tolerant, phosphate solubilizing bacteria in alkaline soils. *Current Microbiology*. 39: 89 - 93.
- Jones DL. (1998) Organic acids in the rhizosphere: a critical review. *Plant Soil* 205: 25-44.
- Kanabo, I. A. K., Gilkes,R. J. (1988) The effect of soil texture on the dissolution of North Carolina phosphate rock. *Journal of Soil Science*. 39: 191 - 198.
- Kpomblekou, K., Tabatabaï, M.A. (1994) Effect of Organic Acids on Release of phosphorons from Phosphate Rocks. *Soil Science*, 158(6): 442-453, ISSN 0038-075X

- Kim, K. Y.; Jordan, D., McDonald, D. (1997) Solubilization of Hydroxyapatite by *Enterobacter Agglomerans* and Cloned *Escherichia* in Culture Medium. *Biology and Fertility of Soils*, 24(4): 347-352. ISSN 1432-0789.
- Kucey RN., Jansen HH., Leggett ME. (1989) Microbially mediated increases in plant- available phosphorus. *Advanced Agronomic*. 42: 199-223.
- Lamontagne Marie H. (2009) Relation entre les fractions biogéochimiques et la saturation du phosphore dans les sols. Thèse Doctorat université de Laval.
- Larney F. J., Oison A. F., Carcamo A. A. et Chang C. (2000). Physical changes during active and passive composting of beef feedlot manure in winter and summer. *Bioresource Technology*.75: 139-148.
- Leandro M. M., Maria de Oliveira S., Sousa Soares C. R., et Moreira F. (2011) Solubilisation of inorganic phosphates by inoculant strains from tropical legumes. *Science Agriculture*.68: 603-609.
- Lin T. F., Huang H., Shen F. T. et Young C. C. (2006) The protons of gluconic acid are the major factor responsible for the dissolution of tricalcium phosphate by *Burkholderia cepacia* CC-A174. *Bioresource Technology* 97: 957-960.
- Lindsay W. L. (1979) Chemical Equilibria in Soils. John Wiley and Sons, NY.449p.
- Lof G., Tops A., Netjes J. (1990) Le soja. Agrodok-series N°10 ; 1<sup>ère</sup> édition française traduite par Evelyne Codazzi Page 1- 7
- Losh, B. (2012) Prévention des crises en Afrique subsaharienne. Relever le défi de l'emploi : l'agriculture au centre. *Bulletins de synthèse Souveraineté alimentaire* .p8
- Louche J. (2009) Régulation de la sécrétion des phosphatases acides des champignons ectomycorhiziens et mobilisation de phosphore organique dans la rhizosphère des arbres forestiers : approches biochimiques et moléculaires. Centre International d'études supérieures en sciences agronomiques (Montpellier SupAgro). Thèse doctorat, 186p.
- Mehta S., Nautiyal SC. (2001) An efficient method for qualitative screening of phosphate-solubilizing bacteria. *Current Microbiology*. 43:51-56.

- Michel Roussel., Joël Pichon.(2014) Les vertus du soja: Manger un peu de soja tous les jours éloigne les maladies pour toujours, Alpen, février 2014.
- Milagres, A.M.F., Machuer, A., Naopleao, D. (1999) Donation of siderophore production from several fungi and bacteria by a modification of chrome azurol S (CAS) agar plate assay. *Journal of Microbiological Methods* 37: 1-6
- Morel, R. (1989) Les sols cultivés. Technique et documentation - Lavoisier, Paris. 373 p.
- NarsianV., Patel H. (2000) *Aspergillus aculeatus* as a rock phosphate solubilizer. *Soil Biology and Biochemistry.* 32: 559-565
- Nautiyal C. S. (1999) An efficient microbiological growth medium for screening phosphates solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letter.* 170: 265-270.
- N'Diaye, M. K., Traoré, A., Doumbia, Y., Traoré, A. (1991) Increasing the efficiency of soluble phosphorus fertilizers in irrigated rice in Mali. Institut Mondial du Phosphate (IMPHOS): Casablanca, Morocco, pp.10.
- Nwaga, D., Ngonkeu, E.L.M.; Oyong, M.M.; Ngakou, A.; Abelong, M.P. and Foko, J. (2000) Soil beneficial microorganisms and sustainable agricultural production in Cameroon: current research and perspectives. In *The Biology and Fertility of Tropical Soils*. TSBF report 1997-1998, pp 62-65.
- Oehl, F., Oberson, A., Fliessbach, M.P.A., Frossard, H.R.E. (2001) Kinetics of microbial phosphorus uptake in cultivated soils. *Biology for Fertility of Soils.* 34: 31-41
- Panhwar QA., Radziah O., Zaharah AR., Sariah M., Mohd Razi I. (2011) Role of phosphate phosphate by microbes isolated from chromite, iron and manganese mines. *Acta Bot. Croat.* 66, 197–204.
- Pierzynski G. M., Sims J. T. et Vance G. F. (2000) Soils and environmental quality. *CRC Press*.
- Pikovskaya RI. (1948) Mobilization of phosphates in soil in connection with the vital activities of some microbial species. 17: 362 - 370.
- Plante AF. (2007) Soil biogeochemical cycling of inorganic nutrients and metals. In: Paul E. Press, Boca Raton, FL. 459p.

- Qureshi M. A., Ahmad Z. A., Akhtar N., Iqbal A., Mujeeb F., Shakir M. A. (2012) Role of phosphate solubilizing bacteria (PSB) in enhancing P availability and promoting cotton growth. *The journal of animal and plant sciences*. 22: 204-210.
- Rapport CAADP, (2011) La Déclaration d'Abuja sur les engrais pour une révolution verte en Afrique. État d'avancement aux niveaux régional et national. Direction de l'Harmonisation des Politiques et de Développement des Programmes. Agence du NEPAD.
- Richardson A. E. (1994) Soil microorganisms and phosphorus availability. *soil biota Management in sustainable farming system*. 50-62.
- Richardson A. E., (2001) Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Australian Journal of Plant Physiology*. 28: 897–906.
- Richardson A. E., Hocking P. J., Simpson R. J., George T. S. (2009) Plant mechanisms to optimise access to soil phosphorus. *Crop & Pasture Science*. 60: 124-143.
- Rodriguez H., Fraga R., Gonzalez T., Bashan Y. (2006) Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Environmental Microbiology Group, Center for Biological Research of the Northwest*. 15- 21.
- Roumet P. (2001) Le soja trésor de vie : Diversité, Origine et évaluation. INRA, Station de Génétique et d'Amélioration des plantes, Montpellier. Résumé de la conférence donnée à Agropolis Museum.
- Sayer, J.A., Raggelt, S.L., Daad, G.M. (1995) Solubilization of insoluble metal compounds by soil fungi: development in mutagenesis. *Journal Chemistry for Technology and Biotechnology*. 32: 354-364
- Singh, C. P., Amberger, A. (1998) Organic acids and phosphorus solubilization in straw composted with rock phosphate. *Bioresource Technology*. 68: 13-16.
- Sperber J. I. (1958) Solution of apatite by soil microorganisms producing organic acids. *Australian Journal of Agricultural Research*. 9: 782-787.
- Sanchez, J.E., E.A.Paul., T.C. Wilson., J.Smeenk., R.R. Harwood.(2002) Corn root effect on the nitrogen suppling capacity of a conditioned soil. *Agronomic Journal*.94:391-396



- Ssali, H., Gupta, S. C. (1990) Effects of nitrogen and phosphate fertilizers on sorghum grain yield. Proceeding of the Sixth regional workshop on sorghum and millets for southern Africa: Bulawayo, Zimbabwe, 18-22 September, pp. 255-258.
- Sundara B., Natarajan V., Hari K. (2002) Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. *Field Crops Research*. 77: 43-49.
- Supanjani, HAN H. S., JUNG J. S., LEE K. D. (2006) Rock phosphate-potassium and rock-solubilising bacteria as alternative, sustainable fertilizers. *Agron. Sustain*. 26: 233-240.
- Tardieux-Roche A. (1966a) Contribution à l'étude des interactions entre phosphates naturels et microflore du sol. *Anne. Agronomic*. 17: 403-471.
- Tardieux-Roche, A. (1966b) Contribution à l'étude des interactions entre phosphates naturels et microflore du sol. *Anne. Agronomic*. 17 (5): 479-528.
- Tiessen H., Stewart JWB., Cole CV. (1984) Pathways of phosphorus transformations in soils of differing pedogenesis. *Soil Science. Soc. American Journal*. 48: 853-858.
- Tisdale, S.L., Nelson, W.L. and Beaton, J.D. (1985) Soil and Fertilizer phosphorus. *In Soil fertility and fertilizers*, 4<sup>e</sup> ed chapitre 8: 189-248.
- Toro, M., Azcon, R., Barea, J. M. (1998) The use of isotopique dilution techniques to evaluate the interactive effects of Rhizobium genotype, mycorrhizal fungi, phosphate solubilising rhizobacteria and rock phosphate on nitrogen and phosphorus acquisition by *medicago sativa*. *Biology and Fertility of Soils*. 138: (2): 265-273.
- Vazquez P., Holguin G., Puente ME., Lopez-Cortes A., Bashan Y. (2000) Phosphate solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. *Biology and Fertility of Soils*. 30: 460-468.
- Violante, A., Rao, M.A., De Chiara, A., Gianfreda, L. (1996) Sorption of phosphate and oxalate by sunttetic aluminium hydroxsulphate complex. *European Journal of Soil Science*. 47: 241-247.



- Whitelaw M. A. (2000) Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. *Agronomy Academic press*. 69: 99-151.
- WWF. (2014). The growth of soy : Impacts and solutions. WWF International, Gland, Suisse. 73p
- Yazdani M., Bahmanyar MA., Pirdashti H., Mohammad A. (2009). Effect of Phosphate Solubilization Microorganisms (PSM) and Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Yield and Yield Components of Corn (*Zea mays* L.). *International Journal of Biological and Life Sciences* 5: 80- 82.
- Zawartha, L., Huszca-Ciolkowska, G., Szumska, E. (1999) Effects of poly- and orthophosphates of some macro-and micro-nutrient elements in soil material of varied pH. II. Phosphorus. *Commun. Soil Science for Plant Analysis*. 30 (5-6): 645-653.
- Zimmermann P. (2003b). Root-secreted phosphomonoesterases mobilizing phosphorus from the rhizosphere. A molecular physiological study in *Solanum tuberosum*. PhD Dissertation. Swiss Federal Institute of Technology, Zurich, Diss ETH Nr. 1502