LISTE DES ABREVIATIONS

ACP : Analyse en Composante Principale

ANOVA : ANalysis Of VAriance

DEA : Diplôme d'Etudes Approfondies

GPS : Global Positionning System

nm : nanomètre

Kg et Km : Kilogramme et Kilomètre

Ha : Hectare

MA : Mycorhiziens Arbusculaires

mm, cm & m : Millimètre, centimètre & mètre.

SSU rRNA : ribosomal subunit RNA

CEC : Capacité d'Echange Cationique

EDTA: Acide Ethylène-Diamine-Tétra ?acétique

PVLG : Polyvinyl-Lacto-Glycerol

INVAM : International Culture Collection of Arbuscular & Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi

FSA : Faculté des Sciences Agronomiques

LCM : Laboratoire Commun de Microbiologie

UAC : Université d'Abomey-calavi

UCAD : Université Cheikh Anta Diop de Dakar

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Section simplifiée de racine mycorrhizée avec du mycélium externe de champignon mycorhizien arbusculaire. (Sjöberg, J. 2005).. 11

Figure 2: Classification des champignons mycorhiziens arbusculaires (Morton & Benny, 1990) 12

Figure 3: Phylogénie des Gloméromycètes (Schüβler et al., 2001) 13

Figure 4: Carte du Bénin montrant les isohyètes et les principales cultures par zone agro-écologique 18

Figure 5: Carte du Bénin montrant les sites de prélèvement et les divers types de sols du Bénin. 21

Figure 6: Notation de l'infection mycorhizienne (classe 0 à classe 5) 24

Figure 7: Représentation de la projection des champs sur le plan factoriel (a) et le cercle de corrélation (b) issus de l'analyse en composante principale entre les zones agro-écologiques (individus) et les caractéristiques chimiques du sol (variables). 31

Figure 8: Densité des spores suivant la taille dans les différentes zones agro-écologiques à la floraison (a) et à la fructification (b).. 33

Figure 9: Densité des spores suivant la couleur dans les différentes zones agro-écologiques à la floraison (a) et à la fructification (b).. 34

Figure 10: Densité totale des spores (vivantes+mortes) (a) et densité des spores vivantes seules (b) suivant le stade végétatif de la culture de niébé et suivant les différentes zones agro-écologiques..... 35

Figure 11: Taux de viabilité (%) des spores suivant le stade végétatif de la culture de niébé et les zones agroécologiques.. 36

Figure 12: Abondance relative des spores des espèces (b) de Glomales suivant le stade végétatif de la culture de niébé et les zones agro-écologiques (a).. 39

Figure 13: Représentation de la projection des relevés (champs) sur le plan factoriel F1XF2 de l'analyse en composante principale entre les zones agro-écologiques (individus) et les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques du sol (variables). La liste des codes des relevés est en annexe 1..... 42

Figure 14: Représentation dans le cercle de corrélation de la projection sur le plan factoriel F1XF2 de l'analyse en composante principale entre les zones agro-écologiques (individus) et les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques du sol (variables). 43

Figure 15: Variations de la fréquence (F%) de mycorhization sous niébé dans des champs des différentes zones agro-pédo-écologiques du Bénin.....

Figure 16: Variations de l'intensité (I%) de mycorhization sous niébé dans des champs des différentes zones agro-pédo-écologiques du Bénin..... 45

Figure 17: Régression linéaire entre l'intensité (I%) et la fréquence (F%) de mycorhization sous niébé dans des champs des différentes zones agro-pédo-écologiques du Bénin. 47

Figure 18: Régression linéaire entre la fréquence (F%) de mycorhization et le phosphore assimilable sous niébé dans des champs des différentes zones agro-pédo-écologiques du Bénin. 48

Figure 19: régression linéaire entre l'intensité (I%) de mycorhization et le phosphore assimilable sous niébé dans des champs des différentes zones agro-pédo-écologiques du Bénin. 48

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Distribution et caractéristiques physiques[a] des sols des sites d'étude des différentes zones agro-écologiques au Bénin. 28

Tableau 2: Caractéristiques chimiques des sols de culture de Vigna à la floraison et à la fructification dans les différentes zones agro-écologiques du Bénin. 29

Tableau 3: Matrice montrant les coefficients de corrélation de Pearson entre la densité en spores, le phosphore total puis le phosphore assimilable. 37

Tableau 4: Nombre de spores par espèce fongique et par zones agro-écologiques 38

Tableau 5: Mesure de la diversité par divers indices pour les différentes zones agro-écologiques d'étude 40

Tableau 6: Matrice montrant les coefficients de corrélation de Pearson entre les différentes espèces de CMA. 44

Tableau 7: Matrice montrant les coefficients de corrélation de Pearson entre la Fréquence, .. 46

SOMMAIRE

INTRODUCTION 4

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE 7

1. Le niébé *Vigna unguiculata* (L.) Walp. 7
   1.1. Origine et distribution 7
   1.2. Systématique 7
   1.3. Description botanique 8
2. La Symbiose mycorhizienne 10
   2.1. Caractéristiques physiologiques et morphologiques 10
      2.1.1. Caractères physiologiques 10
      2.1.2. Caractères morphologiques 10
   2.2. Systématique 11
   2.3. Ecologie des champignons MA 14
   2.4. Mycorhize en agriculture 15

MATERIEL ET METHODES 17

1. Zone d'étude 17
   1.1- Zone soudano-guinéenne sur terre de barre ou zone guinéenne (zone N°3) 17
   1.2- Zone soudano-guinéenne de transition (zone N°4) 18
   1.3. Zone soudanienne (Zone n°5) 19
      1.3.1 Zone soudanienne du centre-est et du nord-ouest (zone N°5) 19
      1.3.2 Zone soudanienne nord et nord-est (zone N°5) 19
2. Types de sols et localisation des sites d'étude 20
3. Matériel végétal 21
4. Méthodes 22
   4.1. Prélèvement des échantillons de sols et de racines 22
   4.2. Caractérisation physico-chimique des sols des sites 22
      4.2.1. Méthodes des analyses physiques du sol 22
      4.2.2. Méthodes des analyses chimiques du sol. 22
   4.3. Evaluation des paramètres de mycorhization 23
      4.3.1. Coloration des racines 23
      4.3.2. Observations et mesures des paramètres de mycorhization 24

4.4. Extraction des spores 25
4.5. Dénombrement des spores 25
4.6. Identification des spores 26
4.7. Indices de diversité 26
4.8. Analyses statistiques 26

RESULTATS 28

1. Caractéristiques des sols 28
1.1 Caractéristiques physiques 28
1.2 Caractéristiques chimiques des sols sous culture de *Vigna unguiculata* dans les différentes zones agro-écologiques au Benin 28
2. Richesse et diversité spécifique des CMA associées au *V. unguiculata* 32
2.1. Densité en spores 32
2.1.1. Densité des spores de Glomales sous niébé à différents stades de la culture et en fonction des conditions agro-écologiques. 32
2.1.2. Effet de la culture et des zones agroécologiques sur la densité des spores de Glomales sous niébé suivant la couleur 34
2.1.3. Effet de la culture et des conditions agroécologiques sur la densité totale des spores de Glomales sous niébé suivant le stade végétatif 35
2.1.4. Taux de viabilité des spores de Glomales sous niébé suivant les zones agro-écologiques et suivant le stade végétatif 36
2.1.5. Corrélation entre densité en spores, phosphore assimilable et phosphore total sous *Vigna* dans les différentes zones agro-écologiques 37
2.2. Richesse spécifique 37
2.3. Abondance relative 38
2.4. Indices de diversité 39
3. Typologie des relations cma-environnement dans les champs de *Vigna* au Bénin 40
4. Paramètres de mycorhization 44
4.1. Fréquence de mycorhization naturelle de vigna au champs (en fonction du type de sol et des zones…) 44
4.2. Intensite de mycorhization naturelle de Vigna unguiculata au champs (en fonction du type de sol et des zones …) 45
4.3. Corrélation et modélisation entre intensité et fréquence de mycorhization naturelle et phosphore sous Vigna au champs 46

4.3.1. Corrélation entre la Fréquence, l'Intensité, le Phosphore total et le phosphore assimilable 46
4.3.2. Modélisation entre les variables intensité et la fréquence de mycorhization naturelle 46
4.3.3. Modélisation entre le phosphore assimilable et la fréquence de mycorhization naturelle 47
4.3.3. Modélisation entre le phosphore assimilable et de l'intensité de mycorhization naturelle……45

DISCUSSION 49

1. Densité en spores 49
2. Infection racinaire 50
3. Richesse spécifique, diversité et distribution des Glomales 51

CONCLUSION ET PERSPECTIVES 52

REFERENCES 53

ANNEXES 57

INTRODUCTION

Les Légumineuses alimentaires du genre *Vigna* se retrouvent dans de nombreuses régions tropicales. Singh et al. (1979) ont estimé à 12,5 millions d'hectares la superficie mondiale couverte par le niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), avec une production de 3 millions de tonnes en Afrique tropicale. Dans cette partie de l'Afrique, la production du niébé est d'un grand intérêt économique et alimentaire. En effet, le niébé constitue une source d'alimentation aussi bien pour les hommes que pour le bétail (Quin, 1997) et une source de revenus pour les paysans. Grâce à sa précocité, ses feuilles et ses gousses vertes peuvent être consommées et/ou commercialisées avant les autres spéculations, surtout pour passer la période de soudure. Mais le niébé est surtout cultivé pour ses graines sèches et son fourrage. La teneur élevée de ses graines en protéines et accessoirement en vitamines et éléments minéraux lui confère un rôle important dans l'équilibre nutritionnel des populations rurales. Ses fanes utilisées comme fourrage, constituent un aliment de valeur pour le bétail en raison de leur haute teneur en protéines (Cissé *et al*., 1996). Par ailleurs, le niébé entretient une relation symbiotique avec les bactéries du genre *Rhizobium* présentes dans les nodules des racines (Miller *et al*., 1986). Il peut fixer l'azote atmosphérique et ainsi ne nécessite pas d'apport extérieur d'azote. Il constitue de ce fait un bon précédent cultural pour les céréales et s'adapte relativement bien au stress hydrique et est utilisé dans la lutte contre les mauvaises herbes et l'érosion (Pandey, 1987).

La plupart des surfaces cultivées se situe en Afrique occidentale (Sarr *et al*., 2001). Au Bénin, le niébé constitue la principale légumineuse alimentaire produite (Goulole, 1990). Il constitue avec le mil, l'igname, l'huile rouge de palme et le sel de cuisine le groupe de denrées alimentaires que les traditions associent symboliquement aux cérémonies marquant les principaux événements de la vie sociale (Aho, 1988). La production du Bénin en niébé est en moyenne de 75.000 tonnes sur 102.200 hectares de surfaces cultivées. Les statistiques sur la croissance annuelle moyenne sont de 2,8 pour les superficies et 4,0% pour les rendements (Inrab, 1995) ; mais ce niveau de production n'arrive pas à couvrir la demande nationale (Kossou *et al.,* 2001). Les rendements restent faibles et instables, malgré cette importance indéniable du niébé, comme en témoigne les rendements moyens de l'ordre de 400 à 500 kg/ha (Yavoedji, 2000).

En Afrique au sud du Sahara en général, et au Bénin en particulier, cette culture est marquée par l'instabilité de ses rendements et sa faible production, due à la pauvreté des sols, en particulier en azote et en phosphore assimilable, et aux contraintes parasitaires de tous ordres

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

(*Striga hermontica*) et autres dégâts des insectes foreurs et défoliateurs. Les techniques pour la restauration et l'amélioration des niveaux de rendements requis sont les fertilisations minérales et organiques des sols et la sélection variétale pour mettre au point des variétés de niébé qui confèrent une meilleure résistance aux ravageurs, aux maladies et aux contraintes abiotiques. Or le faible pouvoir d'achat des paysans de l'Afrique sub-saharienne ne leur donne guère les moyens de se procurer les engrais minéraux dont ils ont besoin pour soutenir leur production agricole.

Des progrès ont été effectués ces dernières années dans le domaine de la sélection de nouvelles variétés de niébé pour la résistance contre les insectes nuisibles et pour la qualité de la graine (Singh et N'tare, 1985). Mais beaucoup reste encore à faire dans l'amélioration des rendements du niébé afin de répondre aux besoins des producteurs et des consommateurs et de permettre à la culture de jouer le rôle qui lui revient dans les systèmes culturaux sous les tropiques.

Le niébé comme de nombreuses plantes est capable de s'associer avec des champignons mycorhiziens arbusculaires (MA) du sol pour former des mycorhizes. Les champignons mycorhizogènes représentent la majeure partie de la flore microbienne du sol dans plusieurs écosystèmes (Brundrett *et al*., 1996). De plus, ils jouent un grand rôle dans la rhizosphère des essences forestières (Kadidia *et al*., 1997 ; Onguene, 2000). La symbiose mycorhizienne est une association à bénéfice réciproque, le champignon permet l'amélioration de la nutrition hydrominérale et la réduction sensible de la pression parasitaire et, en échange, reçoit de la plante-hôte des produits de la photosynthèse. Le fonctionnement de la symbiose n'est pas toujours optimal et dépend des caractéristiques du sol, de l'espèce de champignon MA, de la dépendance mycorhizienne de la plante hôte et des conditions environnementales. Il est possible d'améliorer son efficacité par la pratique de l'inoculation (apport en masse de champignons mycorhiziens sélectionnés), qui permet d'augmenter les rendements sur des sols pauvres et de limiter les apports d'intrants, constituant ainsi une alternative rentable dans les petites exploitations agricoles où les producteurs ne disposent souvent pas des ressources financières pour se procurer les engrais minéraux. De plus, Il est connu que les associations mycorhiziennes sont plus fréquentes dans les sols où la disponibilité en éléments minéraux est faible (Cuenca *et al*, 1998).

La technique d'inoculation n'est pratiquement pas utilisée au Bénin. Cela est dû en grande partie à la faible maîtrise technique et scientifique et à l'absence de ces technologies auprès des utilisateurs.

La présente étude vient en appui à la valorisation des champignons MA au Bénin et s'est proposée d'étudier la biodiversité des champignons MA associés au niébé dans différentes zones agroécologiques du Bénin. Les climats et les sols du Bénin, de l'océan atlantique à la zone sahélienne (extrême nord du pays) présentent de forts contrastes pédologiques, géo-environnementaux et de mycorhization.

L'objectif global est de caractériser la diversité et l'abondance des champignons mycorhiziens à arbuscules associés au *Vigna unguiculata* dans différentes zones agro-écologiques du Bénin. Pour réaliser cet objectif, il a été procédé : (i) à l'échantillonnage et à la caractérisation physico-chimique des sols sous *Vigna unguiculata* dans les différentes zones agro-écologiques du Bénin ; (ii) à la comparaison de la mycorhization naturelle des plants de *Vigna unguiculata* cultivés dans différentes zones agro-écologiques au Bénin ; (iii) à la caractérisation morphologique des communautés de champignons mycorhiziens à arbuscules associés à la culture de *Vigna unguiculata* dans différentes zones agro-écologiques au Bénin.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Le niébé *Vigna unguiculata* (L.) Walp.

1.1. Origine et distribution

L'origine géographique du niébé *Vigna unguiculata* (L) Walp reste encore controversée. Cependant, certains auteurs tels que Vanderborght et Baudoin (2001) pensent que le niébé est originaire d'Afrique où il a été domestiqué au Néolithique. Pour eux, l'Afrique méridionale et orientale constituent le centre primaire de diversification pour les formes sauvages. Selon les études publiées à ce jour, l'espèce a été domestiquée soit dans ces régions, soit en Afrique de l'ouest.

La distribution du niébé vers l'Asie, parallèlement à celle de céréales date de 2300 ans avant J-C. Le niébé est introduit en Europe vers 300 ans avant J-C. Les espagnols et les portuguais l'on exporté au 17ème siècle vers le nouveau monde (Vanderborght et Baudoin, 2001).

1.2. Systématique

Il existe une différence d'opinion en ce qui concerne le vrai nom du niébé. Verdcourt (1970) pense qu'il s'agit d'une seule espèce *Vigna unguiculata* avec de nombreuses variétés à travers le monde.

Le niébé est mentionné dès l'antiquité par Dioscoride et décrit par Linné, à partir d'une forme cultivée provenant des Antilles, sous le nom de *Dolichos unguiculatus* qui deviendra *Vigna unguiculata*. Cette dernière inclut les formes cultivées du niébé, les formes spontanées annuelles et les formes pérennes réparties entre dix sous-espèces (Pasquet, 1993). Les chromosomes du niébé sont de petites tailles, au nombre de 2n = 22 (Rachie et Sylvestre, 1977). Le niébé est classé en trois principales variétés:

- *Vigna unguiculata var. sinensis* : il s'agit du niébé commun, avec des gousses pendantes et de longueur moyenne et des graines réniformes ou arrondies et de taille moyenne.

- *Vigna unguiculata var. sesquipedalis* : cette variété a de longues gousses pendantes qui sont gonflées quand elles sont vertes et ratatinées quand elles mûrissent.

- *Vigna unguiculata var. cylindrica ou catjang* : cette variété possède des gousses courtes et érigées et de petites graines oblongues ou cylindriques.

Le genre *Vigna* appartient à l'ordre des Fabales, à la famille des *Fabaceae*, à la sous-famille des *Faboideae*, à la tribu des *Phaseoleae* et la sous-tribu des *Phaseolinae* (Verdcourt, 1970). Au sein des *Phaseoleae*, le genre *Vigna* inclut nombre d'espèces cultivées *: V. unguiculata et*

V. subterranea en Afrique, *V. mungo, V. radiata, V. aconitifolia, V. angularis et V. umbellata* en Asie. Verdcourt (1970) a reconnu cinq sous-espèces dans le genre *Vigna unguiculata* parmi lesquelles, *sinensis, cylindrica* et *sesquipedalis* sont cultivées et *dekindtiana* et *mensensis* sont spontanées.

Les récentes données biosystématiques (Vaillancourt et al., 1993) sont en contradiction avec la taxonomie actuelle du genre *Vigna*. Celles-ci stipulent que les espèces américaines devraient être exclues du genre *Vigna* et distinguent :

Un groupe d'espèces à fleurs bleues ou jaunes, le sous-genre *Vigna*.

Un groupe d'espèces à fleurs roses, le sous-genre *Plectotropis*.

Un sous-genre asiatique, *Ceratotropis* et

Un sous-genre primitif, *Haydonia.*

1.3. Description botanique

La levée des plantules du niébé, *Vigna unguiculata,* est épigée. Les réserves dans les cotylédons des graines sont utilisées pour assurer une vigoureuse croissance à la plantule. La racine pivotante est en général bien développée (IITA, 1982). et les racines portent des nodules lisses et sphériques de 5 mm de diamètre environ, renfermant des bactéries fixatrices d'azote (Glitho, 1990). Ces bactéries appartiennent au groupe des *Cowpea rhizobia*.

Le rameau et les feuilles sont glabres et verruqueux (Accrombessy, 1997). Les deux premières feuilles sont opposées, sessiles et entières. Les feuilles sont ensuite alternes, pétiolées, trifoliées et imparipennées. Le pétiole est rainuré. Sa longueur est de 5 à 15 cm. Les folioles, de forme ovale à lancéolée, entières ou lobées, mesurent 5 à 18 cm de long et 3 à 16 cm de large. Leur base est tronquée, leur sommet est aigu à acuminé, mucroné. La foliole terminale centrale est flanquée de deux stipelles. Les deux folioles latérales sont asymétriques et possèdent chacune une stipelle. Le limbe glabre présente un bord entier (Vanderborght et Baudoin, 2001). Outre une feuille, chaque nœud de la tige porte deux stipules prolongées sous l'insertion et trois bourgeons axillaires susceptibles de donner une tige latérale ou une inflorescence, même si un seul se développe en général. La tige est cylindrique volubile et généralement glabre avec de minuscules épines dispersées. Elle montre de légères cannelures et porte de nombreuses ramifications formées d'une suite d'entre-nœuds de 10 à 20 cm de longueur avec des pigmentations violacées au niveau des nœuds (Vanderborght et Baudoin, 2001).

L'architecture dépend fortement du génotype et des conditions de température et de photopériode. L'inflorescence est toujours ascillaire et formée d'un pédoncule mesurant 10 à

30 cm au bout duquel se trouve le rachis dont chaque nœud porte une paire de fleurs et un bourrelet de nectaires extra floraux. En condition de photopériode de jours courts, la floraison se déroule au bout de 33 à 90 jours après semis. Ainsi, la période de remplissage des gousses est relativement courte, comprise entre 17 et 24 jours après la fécondation (Rachie et Rawal, 1976).

Le niébé est une plante annuelle autogame (Fery, 1985). Chez les formes cultivées, les fleurs s'ouvrent à la fin de la nuit et se ferment en fin de matinée. Mais la déhiscence des anthères se produit plusieurs heures avant que la fleur ne s'ouvre alors que le stigmate est réceptif depuis deux jours. La fleur est zygomorphe de type cinq ; 5 sépales soudées en un tube, 5 pétales caractéristiques des *Fabaceae*, de couleur variable (blanche, jaunâtre, bleu pâle, rose, violet). L'étendard recouvre les deux pétales latéraux. Les deux pétales inférieurs soudés en carène abritent l'androcée et le gynécée. Les androcées sont biloculaires, introrses et à déhiscence longitudinale. Le gynécée est formé par un ovaire supère unicarpellé contenant une rangée d'ovules campylotropes à placentation marginale dorsale (Vandrborght et Baudoin, 2001).

Les fruits sont des gousses cylindriques, renflées à l'emplacement des graines de taille et de pigmentation variables, pendantes ou verticalement attachées à l'axe du racème. Leur longueur varie de 11 cm à plus de 100 cm. Elles contiennent entre 6 et 21 graines plus ou moins carrées à oblongues, aplaties latéralement de couleur également variable. La distribution de la coloration est uniforme ou jaspée, avec ou sans anneau brun ou noir entourant le hile (Vanderborght et Baudoin, 2001).

Photo : Le niébé (*Vigna unguiculata*) au champ (photo de A. Kane)

2. La Symbiose mycorhizienne

Les mycorhizes (du grec : « mukes » = champignon et « rhiza » = racine), dont le terme fut proposé pour la première fois en 1885 par Franck, sont des associations symbiotiques formées par des racines et des champignons symbiotiques du sol. Les structures générées par l'association mycorhizienne peuvent être classées sur la base de critères morphologiques, physiologiques et écologiques. On distingue trois principaux types de mycorhizes : les endomycorhizes à arbuscules, les ectomycorhizes et les ectendomycorhizes.
Les symbioses endomycorhiziennes sont anciennes (depuis le Dévonien) et sont observées chez environ 80% des espèces végétales. Elles sont les plus fréquentes symbioses connues et se développent dans tous les types de sol et avec des plantes aussi diverses que les Composés, les Graminées, les Fabacées, les Apiacées (Dommergues et Mangenot, 1970).

2.1. Caractéristiques physiologiques et morphologiques

2.1.1. Caractères physiologiques

Sur le plan physiologique, Strullu *et al*., (1991) montre que l'extension des surfaces absorbantes, la formation d'un apoplaste mixte polysaccharidique riche en Ca^{2+} et la présence de polyphosphates sont les trois caractères qui sont communs à l'ensemble des types d'associations mycorhiziennes. Il en déduit que seuls les caractères anatomiques font apparaître de réelles différences ; ce qui explique que les classifications de ces types soient anatomiques plutôt que physiologiques.

2.1.2. Caractères morphologiques

Plusieurs types d'associations mycorhiziennes sont identifiés sur la base de caractères morphologiques et mettent en jeu différentes espèces de champignons et de plantes hôtes (Harley et Smith, 1983).
Les plus communes de ces associations sont :

- Les mycorhizes arbusculaires (MA) : le champignon inférieur appartenant à la classe des zygomycètes (classification de Morton et Benny, 1990) produit des arbuscules, des hyphes et dans certains cas, des vésicules dans les cellules corticales de la racine (voir Figure 1). Les structures fongiques ne colonisent jamais le cylindre central de la racine ;

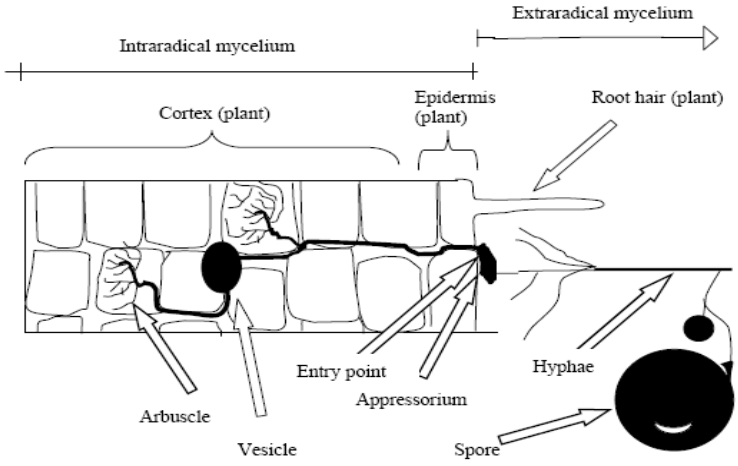

Figure 1: Section simplifiée de racine mycorrhizée avec du mycélium externe de champignon mycorhizien arbusculaire, (Sjöberg, J. 2005). Les flèches précisent les structures fongiques**.**

- Les ectomycorhizes : le partenaire fongique appartient soit à la classe des Basidiomycètes ou à celle des Ascomycètes, il forme un manteau autour des racines et un réseau de Hartig entre les cellules racinaires ;
- Les mycorhizes orchidoides : le champignon produit des rouleaux d'hyphes autour des racines ou des tiges des orchidées ;
- Les mycorhizes éricoides : le champignon forme des rouleaux d'hyphes à l'extérieur des poils absorbants des plantes éricoïdes ;
- Les associations ectendomycorhiziennes, arbustives, et monotropoïdes : qui sont identiques aux associations ectomycorhiziennes, mais qui ont des caractéristiques anatomiques particulières.

Actuellement, la proposition de Peyronel *et al*., (1969) fait l'unanimité. De façon classique, les mycorhizes se séparent en trois principaux groupes : les ectomycorhizes, les endomycorhizes et les ectendomycorhizes.

2.2. Systématique

- ✓ Les endomycorhizes

Les champignons mycorhiziens à ar buscules sont les plus répandus des champignons mycorhiziens. Ils appartiennent à la classe des Zygomycètes et à l'ordre des Glomales (Morton et Benny, 1990). Ce sont des organismes asexués et symbiotiques obligatoires des racines (Schüβler *et al.,* 2001). Les associations mycorhiziennes prédominantes dans les écosystèmes naturels et agricoles sont les mycorhizes à arbuscules et à vésicules (VAM) qui appartiennent à l'ordre des Glomales (Brundrett *et al*., 1996, Onguene, 2000).

Les champignons mycorhiziens arbusculaires regroupent approximativement 160 espèces classées actuellement en 3 familles et 6 genres distribués un peu partout dans le monde. Les espèces connues appartenant à la famille des *Glomaceae* (Morton et Benny, 1990) se répartissent dans les genres *Glomus et Sclerocystis* (Voir Figure 2).
Cependant, la classification des Glomales a évolué depuis lors avec les travaux de Schuβler *et al*., (2001). C'est ainsi que l'auteur distingue le phylum des *Glomeromycota* à partir de l'étude phylogénique des séquences SSU et rRNA (Voir Figure 3). Cette classification distingue un seul ordre, deux sous-ordres, trois familles et six genres.

- Ordre : Glomales
-
- Sous-ordre : *Glomineae* Morton & Benny
-
- Famille : *Glomaceae* Pirozynski & Dalpé
- Genre : *Glomus* Tulasne & Tulsane
- Genre : *Sclerocystis* (Berkeley & Broome) Almeida & Schenck
- Famille : *Acaulosporaceae* Morton & Benny
- Genre : *Acaulospora* (Gerdemann & Trappe) Berch
- Genre : *Entrophospora* Ames & Schneider
-
- Sous-ordre : *Gigasporineae* Morton & Benny
-
- Famille : *Gigasporaceae* Morton & Benny
- Genre : *Gigaspora* (Gerdemann & Trappe) Walker & Sanders
- Genre : *Scutellospora* Walker & Sanders

Figure 2: Classification des champignons mycorhiziens arbusculaires (Morton et Benny, 1990)

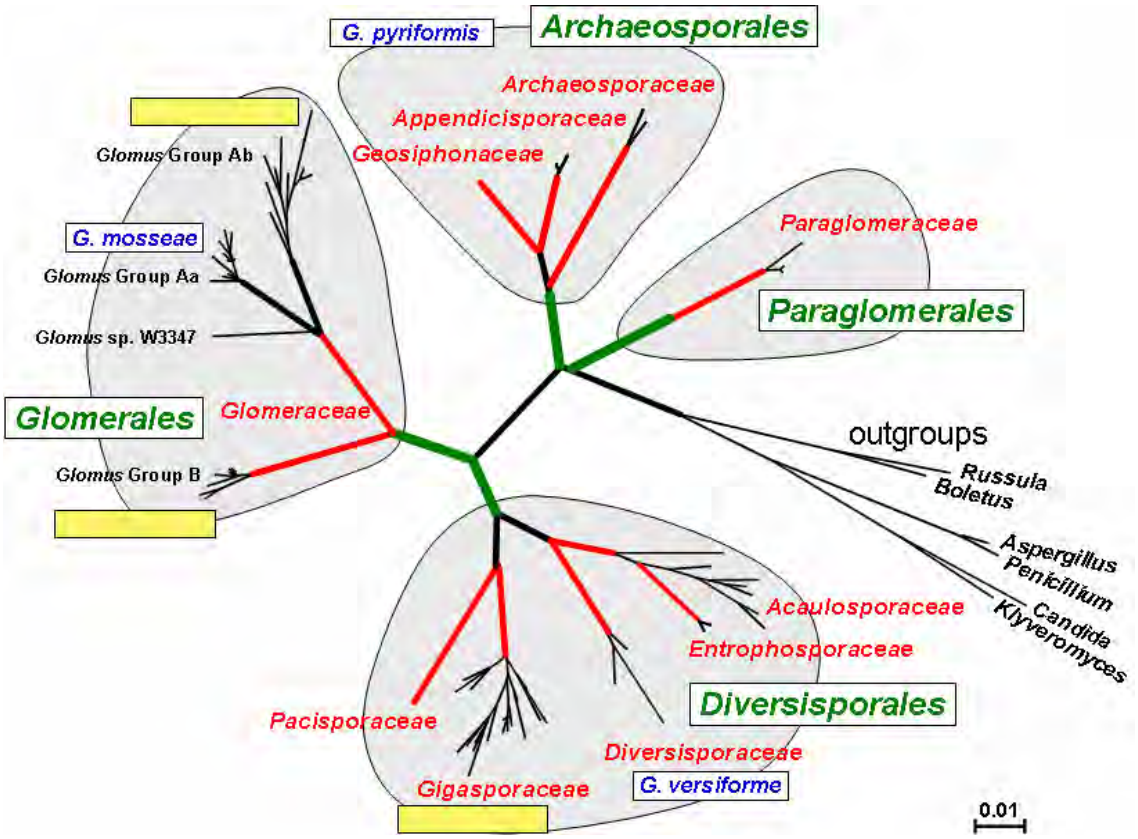

Figure 3: Phylogénie des Gloméromycètes (Schüβler *et al.*, 2001)

✓ Les ectomycorhizes

Une ectomycorhize est le résultat de la symbiose entre le mycélium d'un champignon supérieur et la racine d'une plante. La majorité des essences forestières des régions tempérées et boréales vivent en symbiose avec des champignons ectomycorhiziens (Smith et Read, 1997). En revanche, dans les régions tropicales, les inventaires disponibles indiquent que la symbiose mycorhizienne à arbuscule domine chez la plupart des essences forestières (Newberry *et al*., 1998). Cependant en Afrique tropicale, la découverte récente de nouvelles familles (*Asteropieaceae, Sarcolaelaceae et Sphaerosepalaceae*) et de nouveaux genres (*Cryptosepalum et Pelligrimiodendron*) d'arbres à ectomycorhizes doit nous amener à reconsidérer une opinion largement répandue selon laquelle les ectomycorhiziens seraient rares et très spécifiques (Ducousso, 1991 ; Bâ *et al*., 2000).

La diversité en espèces de champignons mycorhiziens à arbuscules est beaucoup plus faible que celle des champignons ectomycorhiziens. Par exemple au Sénégal, il a été identifié 45 espèces de champignons ectomycorhiziens (Thoen et Bâ, 1989) et seulement 10 espèces de champignons mycorhiziens à arbuscules (Dalpé *et al*., 2000). Cependant, en Afrique de l'ouest la symbiose ectomycorhizienne est rare et confirmée dans des familles et sous-familles

d'arbres indigènes d'un grand intérêt économique. Elle concerne en général les espèces introduites.

- ✓ Les ectendomycorhizes

C'est un type d'association intermédiaire entre les ectomycorhizes et les endomycorhizes. Les ectomycorhizes possèdent à la fois des caractères d'ectomycorhizes (présence du manteau et du réseau de Hartig) et des caractères d'endomycorhizes à savoir la colonisation par le champignon de cellules racinaires bien organisées (Strullu *et al.*,1991).

Les champignons concernés par ce type d'association sont des Basidiomycètes appartenant aux genres Amanita, Boletus, Scleroderma etc. Ils ne sont pas spécifiques et peuvent former aussi des ectomycorhizes avec des arbres (Strullu *et al.*, 1991).

2.3. Ecologie des champignons MA

Les conditions telluriques et climatiques jouent un rôle déterminant dans la répartition des mycorhizes au sein des groupements végétaux.

- ✓ Types de sols et mycorhizes

Les mycorhizes peuvent se rencontrer dans une vaste gamme de substratum, la formation des mycorhizes semble être influencée d'une manière quantitative et non qualitative par le sol (Boullard, 1968). Les sols calcaires sont en général peu favorables à la mycorhization.

- ✓ Stratification des sols et mycorhization

Etudiant les mycorhizes ectotrophes au Congo chez diverses *Cæsalpiniaceae*, Fassi, (1982) a décelé une indiscutable superposition des complexes mycorhiziens parallèlement au profil pédologique. Cependant, certains mycorhizes atteignent d'importantes profondeurs.

- ✓ Eau du sol et mycorhizes

Si un minimum de fraîcheur est souhaitable, les sols gorgés d'eau sont asphyxiques et rebelles à un correct développement des mycorhizes dont la formation est intense lorsque le pH est entre 4,0 et 5,0 (Boullard, 1968).

- ✓ Lumière

La quasi totalité des hôtes des champignons mycorhizogènes sont chlorophylliens, c'est à dire leurs réserves glucidiques sont sous la dépendance directe de la lumière. Des travaux en conditions naturelles et au laboratoire traduisent un net parallélisme entre les valeurs successives de l'insolation et l'importance de la mycorhization (Boullard, 1968).

- ✓ Variations saisonnières

La phénologie des champignons mycorhiziens a fait l'objet d'importants travaux. Il en ressort qu'en zone tempérée, les mycorhizes sont plus abondantes au printemps, les mycorhizes

ectotrophes sont annuelles, les endotrophes s'observent tout au long de l'année mais sous des aspects variés. En zones tropicales, les mycorhizes sont plus abondantes pendant la période de juillet à Octobre, c'est à dire en pleine saison de pluie (Yorou et al, 2001).

Enfin, l'écologie des champignons mycorhiziens est en fait l'écologie des deux partenaires de la symbiose. Il faut que leurs aires coïncident. Les longues périodes de culture avec les plantes de prairie favorisent la multiplication des champignons mycorhiziens arbusculaires. Dans les zones semi-arides, le maintien d'une couverture végétale y compris la jachère herbacée, peut aussi contribuer à maintenir les densités des propagules infectieuses des champignons MA à un taux de 200 propagules par 100 g de sol sec alors qu'en l'absence de plantes de couvertures, cette densité est seulement de 30 propagules pour la même quantité de sol (Boullard, 1968).

2.4. Mycorhize en agriculture

Les champignons mycorhiziens semblent exister dans les sols depuis la conquête du milieu terrestre par les végétaux (400 millions d'années). Leur présence est donc une partie intégrale de la biodiversité des sols des agro-écosystèmes, contribuant au développement d'un grand nombre de végétaux. Les mycorhizes accroissent les rendements agricoles en améliorant la santé des plantes. Le rôle des mycorhizes dans l'absorption du phosphore et son transfert dans les différentes parties de la plante a été démontré pour la première fois en 1950 grâce à l'utilisation du phosphore marqué en condition axénique chez les pins. Les champignons mycorhiziens absorbent les ions NH^{4+} et certains peuvent utiliser les nitrates car il a été découvert la présence du nitrate réductase chez ces champignons. Mais cette capacité peut être gravement compromise par le labour, une des pratiques agricoles conventionnelles.

Les champignons mycorhiziens se développant très lentement, la perturbation ou le bris des racines par le labour retarde leur contribution au développement des plantes puisque le labour ayant brisé les racines, le contact des champignons aux racines par les mycéliums doit être reformé à chaque printemps. Des travaux de conservation du sol valorisent la présence et la contribution des mycorhizes en production agricole. Aussi utilisés comme fertilisants biologiques dans les cultures horticoles et le jardinage, les inoculums mycorhiziens appliqués aux grandes cultures font actuellement l'objet d'expériences. On tente également de déterminer comment ils pourraient augmenter la compétitivité des plantes face aux ennemis des cultures (maladies et insectes nuisibles) et comment leur contribution aux cultures céréalières pourrait bénéficier des pratiques culturales. Les limites de la mycorhization sont listées ci-dessous :

- Le labour endommage les racines, détruisant le contact que les champignons avaient établis avec elles et les obligeant ainsi à reformer leurs mycéliums;
- Une concentration excessive en phosphore, résultant d'applications excessive d'engrais phosphatés, empêche les plantes de développer des racines étendues afin d'accéder au phosphore du sol. La présence des mycorhizes variant selon l'étendue des racines, leur contribution au développement de la plante est alors limitée;
- Les herbicides nuisent indirectement aux mycorhizes en détruisant certaines de leurs plantes hôtes dont le chiendent;
- Les fongicides appliqués au sol peuvent limiter partiellement l'action des mycorhizes en modifiant la population de champignons du sol. Les mycorhizes sont par contre essentiellement protégés dans le sol;
- La fumigation, bien que rarement utilisée, détruit complètement les champignons du sol.

MATERIEL ET METHODES

1. Zone d'étude

La répartition spatiale des cultures et plus particulièrement celle du niébé au Bénin est fonction des différentes zones agro-écologiques (figure 4). On distingue plus précisément, la zone soudano-guinéenne sur terre de barre (ou zone guinéenne), la zone soudano - guinéenne de transition, la zone soudanienne (soudanienne Nord et Nord-Est et soudanienne du Centre-Est et du Nord-Ouest). Les caractéristiques majeures des zones dans lesquelles se localisent nos sites d'étude sont listées ci-dessous. Le territoire du Bénin recoupe 4 grandes zones agro-écologiques. La zone du littoral, la soudano-guinéenne au centre, la soudanienne au nord puis enfin la soudano-sahélienne à l'extrême nord du pays. Ces 4 grandes zones sont subdivisées en 7 sous zones comme indiquée sur la figure 4.

1.1- Zone soudano-guinéenne sur terre de barre ou zone guinéenne (zone N°3**)**

Les 7 plateaux du sud-Bénin (Bopa, Allada, Aplahoué, Zagnanado, Abomey, Sakété et Kétou) sont situés dans cette zone. Elle a une superficie de 10500 km^2. Le climat est du type subéquatorial à 4 saisons. La pluviométrie annuelle varie de 1000 à 1400 mm. Les pluies sont abondantes en début de saison. Les périodes de culture totalisent 240 jours/an. Le relief est un ensemble de plateaux formés sur des sédiments argilo-sableux du crétacé supérieur profondément entaillés sur leurs bordures par des vallées. La forêt dense semi - décidue a laissé place à une végétation anthropique de palmiers et de graminées. Les principales espèces cultivées sont le palmier à huile, le maïs, le manioc et l'arachide. Les sols ferralitiques, appelés « terre de barre » représentent 7 % de la superficie totale du pays, mais concentrent le tiers de la population totale avec une densité de 185 habitants / km^2 indiquant ainsi une très forte pression démographique sur les terres, une des raisons principales de leur dégradation.

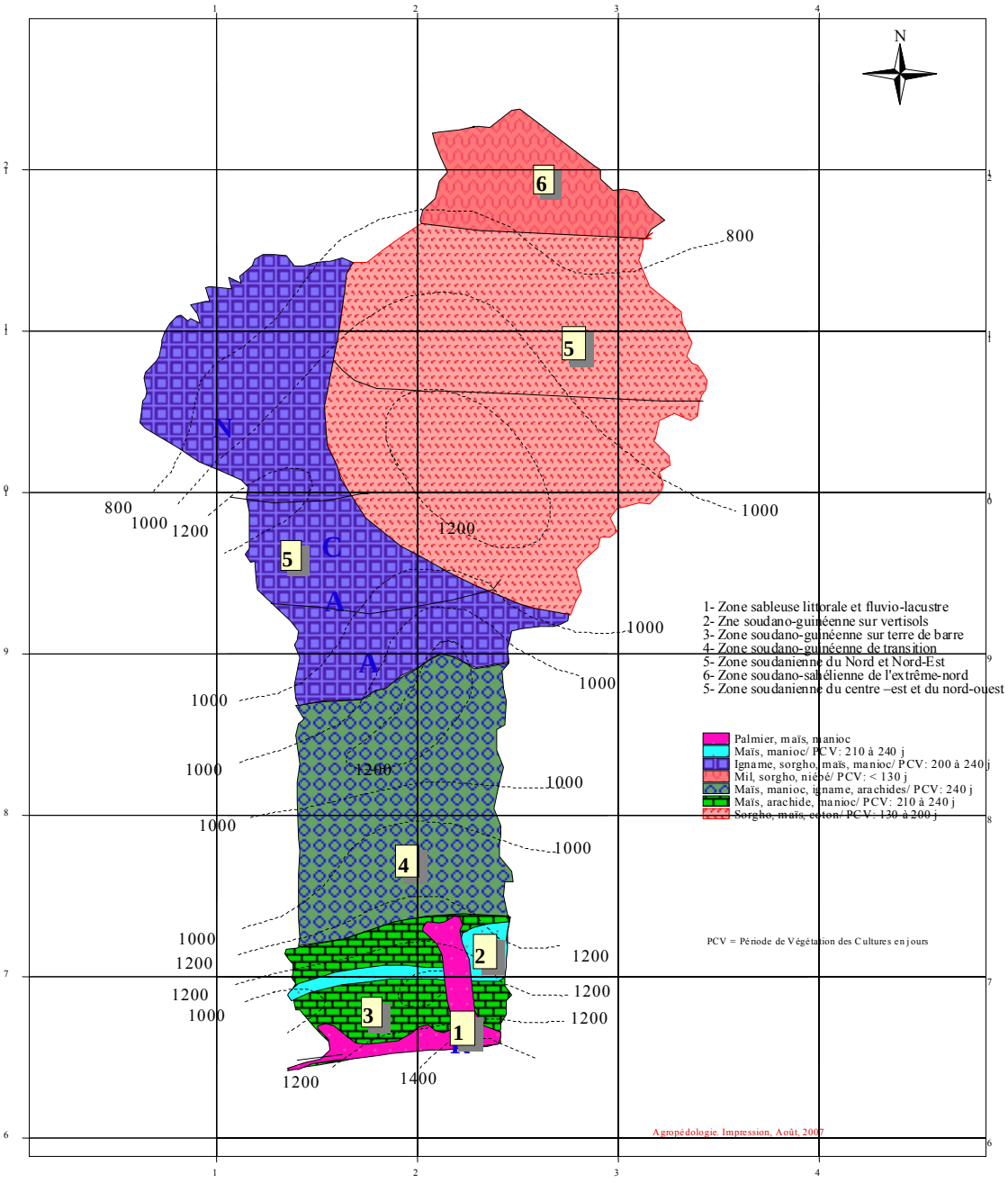

Figure 4: Carte du Bénin montrant les isohyètes et les principales cultures dans les différentes zones agro-écologiques

1.2- Zone soudano-guinéenne de transition (zone N°4)

Elle couvre environ 16900 km^2. Elle s'étend après les plateaux d'Abomey et Kétou jusqu'au 9ème parallèle Nord. La densité de la population est de 37 habitants / km^2. Le climat est intermédiaire entre le climat subéquatorial à 2 saisons humides et le climat soudanien à une saison humide. La pluviométrie annuelle oscille entre 1000 et 1200 mm. La période de culture s'étend sur 240 jours / an. Toute la zone est occupée par des granito-gneiss

appartenant au précambrien ancien. Le relief est une très ancienne pénéplaine plus ou moins vallonnée, interrompue par des alignements quartzitiques, des inselbergs granitiques et parfois des collines d'éboulis. Ce relief assez accidenté avec des pentes variables peut être un facteur favorisant l'érosion. Les sols ferrugineux tropicaux lessivés ou appauvris sont les plus répandus dans la zone. Comme formations végétales, on rencontre la forêt claire, la savane arbustive et la savane arborée. Les principales cultures sont : le maïs, le manioc, l'igname, l'arachide, le niébé et le coton.

1.3. Zone soudanienne (Zone n°5)

1.3.1 Zone soudanienne du centre-est et du nord-ouest (zone N°5)

Elle couvre 31.200 km^2 soit 28 % de la superficie totale du Bénin. La densité de la population est estimée à 20 habitants/km^2. Le climat est du type soudano- guinéen avec deux sous-types :

- L'un marqué par l'influence de la chaîne de l'Atacora
- L'autre est plus typique sans influence

La répartition et l'intensité des pluies rendent l'érosion de plus en plus active vers le nord de la zone. La pluviométrie annuelle varie de 1000 à 1300 mm avec une période de culture de 200 à 240 jours / an. Les sols minéraux bruts et les sols ferrugineux tropicaux constituent l'essentiel de la couverture pédologique de la zone. Au sud de cette zone on rencontre une végétation relativement préservée de savane arborée assez dense et de forêts galeries alors que dans les autres régions on observe une savane arbustive très dégradée ou une savane herbacée. Les principales cultures sont : le maïs, le sorgho, l'igname, le mil, l'arachide, le niébé et le coton.

1.3.2 *Zone soudanienne nord et nord-est* (zone N°5)

Sa superficie est de 45000 km^2. Elle représente 40% de la superficie du territoire national. La densité moyenne de la population est de 14 habitants / km^2. Le climat est tropical chaud de type soudanien avec l'alternance d'une saison sèche et d'une saison pluvieuse. La pluviométrie y varie de 1200-1300 mm au sud (région de Parakou) à 900-1000 mm au nord (région de Kandi). L'agressivité des pluies est plus forte en début de saison à cause de leur caractère orageux et surtout en l'absence de couvert végétal. La période de culture est de 130 à 200 jours / an. Le relief est une vaste pénéplaine peu accentuée et à peine ondulée (pente

entre 1% à 4%) dans laquelle on observe des buttes à forme tabulaire qui deviennent de plus en plus élevées et nombreuses à mesure qu'on s'approche du fleuve Niger. Les sols ferrugineux sont les plus répandus. On rencontre aussi des sols ferralitiques et des sols hydromorphes. La végétation est fortement modifiée et dégradée par l'homme. Les savanes arborées et arbustives occupent la plus grande étendue dans la zone. Dans les régions où l'emprise agricole est élevée, cette savane est très exposée à l'érosion. On rencontre aussi la forêt claire et la savane boisée. Les principales cultures sont : le maïs et le coton.

2. Types de sols et localisation des sites d'étude

Les sites de l'étude sont localisés dans les zones agro-écologiques 3, 4 et 5 (Tableau 1). Leur localisation est matérialisée sur la Figure 5. Tous les différents types de sol du Bénin sont ici représentés du sud au nord du pays. Les sites sont répartis dans 03 zones agro-écologiques avec 04 champs de *Vigna unguiculata* par zone. Les essais ont été menés sur deux principaux types de sol et les douze champs de l'étude sont équitablement répartis sur ces deux types de sol. Nous avons échantillonné en effet sur cinq sites constitués en tout de 12 champs répartis sur deux principaux types de sols : le sol ferralitique (06) et le sol ferrugineux (06). Le choix des sites a été réalisé en tenant compte du niveau de production de la zone agricole à laquelle il appartient. Les zones agricoles choisies sont les trois zones à plus faible production de niébé parmi les quatre principales zones agro-écologiques du Bénin (Voir Figure 5).

Les trois variétés locales de *Vigna unguiculata* étudiées ont été identifiées après enquête auprès des paysans comme étant les plus cultivées dans les zones agro-écologiques de l'étude. Les 12 champs de niébé de l'étude se répartissent équitablement dans les trois zones agro-écologiques de l'étude. Dans les terroirs, les champs sont retenus au hasard avec l'aide d'un Agent Polyvalent de Vulgarisation communal (apv) suivant un transect Sud - Nord. Les coordonnées GPS des champs sont à chaque fois relevées. L'espacement minimum entre deux champs est fonction de l'étendue de la zone, il est faible au sud et élevé au nord.

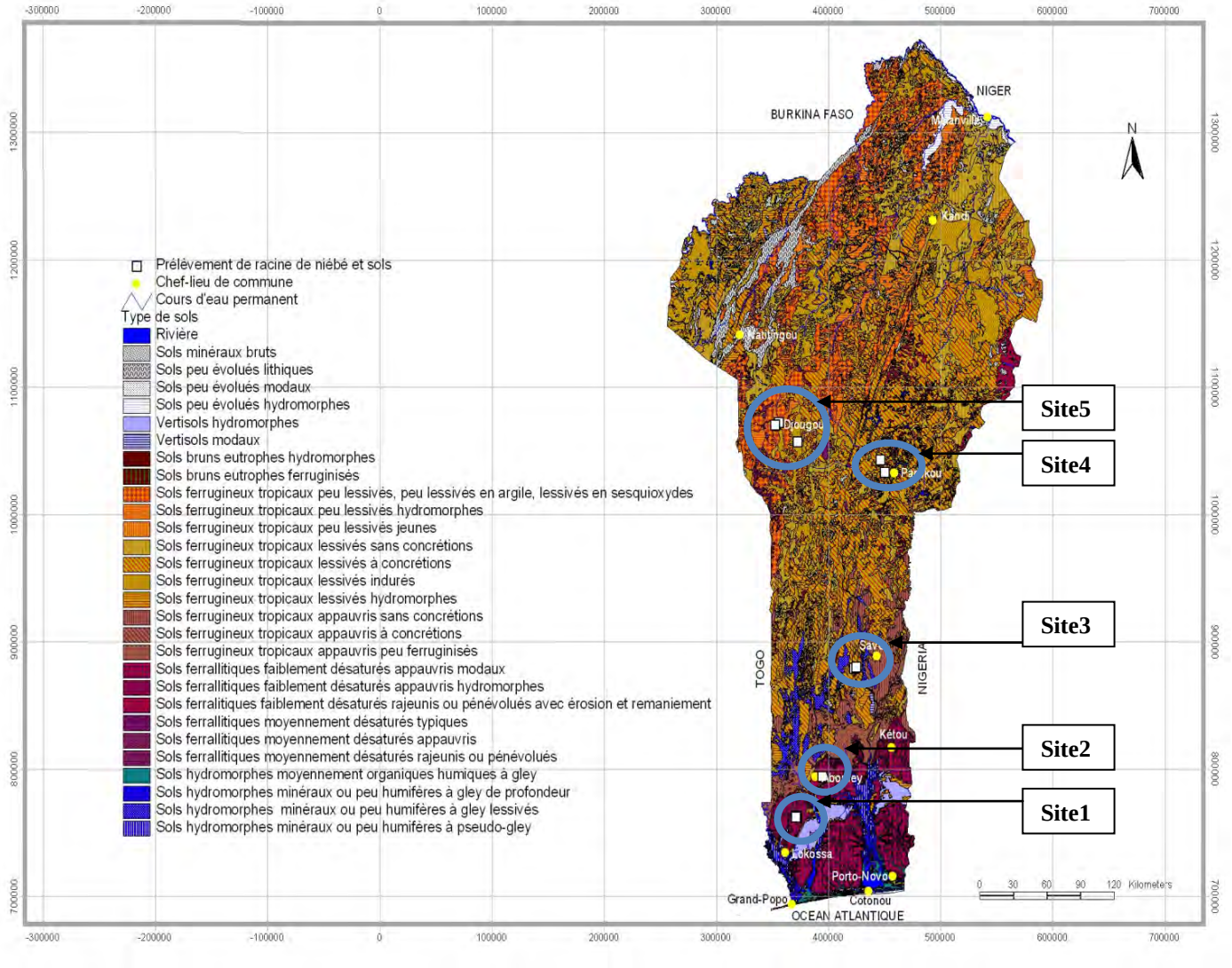

Figure 5: Carte du Bénin montrant les sites de prélèvement et les divers types de sols du Bénin. Source : Réalisé par YEMADJE, 2007

3. Matériel végétal

Trois différentes variétés de *Vigna unguiculata*, les plus emblavées par les producteurs, ont été échantillonnées dans les 12 champs du sud au nord du Bénin, respectivement dans les zones agro-écologiques guinéenne, soudano-guinéenne et soudanienne.

4. Méthodes

4.1. Prélèvement des échantillons de sols et de racines

Dans chaque parcelle de l'étude, trois prélèvements de sol ont été réalisés dans l'horizon 0-20 cm, dans la rhizosphère du plant, à l'aide de la tarière puis un échantillon composite est réalisé par parcelle. Une quantité suffisante de sol est prélevée par parcelle pour les diverses analyses. Dans chaque parcelle de l'étude, dix plants de niébé sont déterrés et les racines fines prélevées et conservées dans des tubes contenant une solution de GEE (Glycerol 10% + Ethanol 90°C + Eau) dans un rapport 1/1/1 à raison de 10ml de chaque solution. Les échantillonnages de sol et de racines sont effectués à la floraison, et à la fructification du niébé dans chacune des zones agro-écologiques.

4.2. Caractérisation physico-chimique des sols des sites

Les caractéristiques physiques et chimiques des sols échantillonnés dans les différentes parcelles expérimentales ont été déterminées au Laboratoire des Sciences du Sol de la Faculté des Sciences Agronomiques de l'Université d'Abomey-Calavi.

4.2.1. Méthodes des analyses physiques du sol

La texture des sols a été caractérisée par une détermination des taux d'argile, de sable, de limon fin et de limon grossier. Les méthodes utilisées sont basées sur la loi de Stokes. La méthode utilisée ici est celle de la pipette de Robinson. Un premier traitement assure la destruction de la matière organique par l'eau oxygénée, ensuite en l'absence de ciments particuliers, une longue agitation dans l'eau suffit en présence d'un dispersant, l'hexamétaphosphate de sodium, pour disperser les particules.

*4.2.2. **Méthodes des analyses chimiques du sol.***

Le dosage de différents éléments a été effectué :

- Le carbone organique a été dosé par la méthode de Walkley & Black qui consiste à : oxyder la matière organique du sol avec le dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$ 1 N) en milieu acide dans le rapport sol/$K_2Cr_2O_7$ de 0,25/10. La teneur en carbone est déterminée par colorimétrie à la longueur d'onde de 660 nm
- Les pH eau et pH KCl sont mesurés à l'aide d'un pH-mètre par la méthode potentiométrique.
- L'azote total est dosé par la méthode de Kjedahl consistant en une digestion acide suivie d'une distillation. Le sol est traité par l'acide sulfurique (H_2SO_4) dans un

rapport sol/solution 1/20 en présence d'un comprimé de catalyseur de sélénium. La distillation est faite par entraînement de la vapeur en présence de 40 ml de NaOH 1 N (hydroxyde de sodium). Le distillat est recueilli dans un Erlenmeyer qui contient 20 ml d'acide borique et 4 gouttes d'indicateur à base de rouge de méthyle. Le titrage est fait avec l'acide sulfurique (H_2SO_4) 10/N.

- Le taux de phosphore assimilable est dosé par la méthode de Bray. Le filtrat est coloré par le molybdate d'ammonium en présence de l'acide ascorbique et l'intensité de la coloration est déterminée par colorimétrie à la longueur d'onde de 660 nm.
- Le dosage de phosphore total est effectué par la méthode de Duval. La prise d'essai est chauffée avec de l'acide nitrique HNO_3 concentré jusqu'à évaporation complète et recueilli dans une solution d'acide sulfurique H_2SO_4 1N. Le filtrat est coloré par le molybdate d'ammonium en présence de l'acide ascorbique et l'intensité de la coloration est lue au colorimètre à la longueur d'onde de 660 nm.
- Dosage des bases échangeables (Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^{+}). Les bases échangeables sont dosées par la méthode d'extraction à l'acétate d'ammonium 1N à pH=7. elle consiste à déplacer ces ions par les ions NH^{4+} et à les doser ensuite par une solution EDTA (0,2N) en présence de l'ériochrome noir.
- Dosage de la Capacité d'Echange Cationique par la méthode qui consiste à saturer le complexe d'échange à l'acétate d'ammonium (1N) à pH=7 puis à déplacer les ions NH^{4+} par une solution de KCl (1N) et à doser ensuite l'azote après distillation.

4.3. Evaluation des paramètres de mycorhization

L'évaluation des paramètres de la mycorhization a été réalisée après coloration des racines prélevées dans les différentes parcelles expérimentales.

4.3.1. Coloration des racines

Les racines préalablement prélevées et conservées dans de l'alcool ont été étudiées au laboratoire. Elles ont été colorées selon la méthode de Phillips et Hayman (1970) modifiée.
Les racines ont d'abord été rincées soigneusement à l'eau de robinet, mises dans des tubes à essai contenant une solution de KOH à 10 % et l'ensemble porté à ébullition dans un bain Marie à 90°C pendant 1 heure. Cette opération permet de vider les cellules de leur contenu cytoplasmique. Dans le cas du *Vigna unguiculata*, il s'est avéré nécessaire de répéter cette opération en plaçant les racines dans du KOH (10 %) à nouveau au bain marie à 90°C pendant

30 minutes. Ces racines ont ensuite été rincées et trempées dans de l'eau de javel diluée au 1/10 (10 ml d'eau de javel complétée à 100 ml avec de l'eau déminéralisée) pendant 3 minutes dans le but de les éclaircir davantage. Après un rinçage à l'eau courante, les racines ont été trempées dans une solution de Bleu Trypan (0,05 %) et les tubes placés à nouveau au bain Marie à 90° C pendant 30 minutes. Au terme de cette opération, le colorant est égoutté et les racines trempées dans de l'eau de robinet. La coloration au bleu Trypan permet d'observer la colonisation du système racinaire des plants par les champignons MA.

4.3.2. Observations et mesures des paramètres de mycorhization

Vingt (20) fragments de racines fines d'environ un 1 c m de long sont prélevés à différents niveaux de chaque échantillon coloré puis montés entre lame et lamelle dans du glycérol.

Le taux d'endomycorhization du système racinaire ou fréquence d'infection (F %) ainsi que l'intensité d'endomycorhization des racines (I %) sont évalués au microscope optique par la méthode de Trouvelot *et al.*, (1986) (Figure 6). Le degré de colonisation endomycorhizienne de chaque fragment est estimé selon un barème constitué de six classes notées de zéro (0) à cinq (5).

La fréquence et l'intensité de mycorhization sont calculées selon les formules suivantes:

- F% = (nombre de fragments mycorhizés / nombre total de fragments observés) x 100
- I% = (95n5+70n4+30n3+5n2+n1) / nombre total de fragments observés

Où n5 = nombre de fragments notés 5
n4 = nombre de fragments notés 4
n3 = nombre de fragments notés 3
n2 = nombre de fragments notés 2
n1 = nombre de fragments notés 1

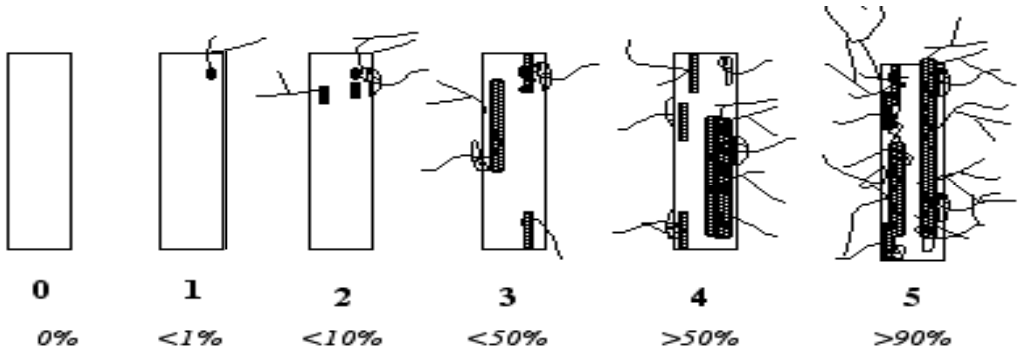

Figure 6: Notation de l'infection mycorhizienne (classe 0 à classe 5) Trouvelot *et al*. (1986)

4.4. Extraction des spores

L'extraction des spores a été effectuée selon la méthode de tamisage humide décrite par Gerdemann et Nicholson, (1963). Un échantillon de 100g de sol sec, provenant des échantillons de substrat de culture est mis en suspension dans 500 ml d'eau de robinet. La solution obtenue est laissée décanter pendant 30 secondes puis la suspension est versée sur une série de cinq tamis superposés à mailles décroissantes (400-200-100-40 µm). Les spores retenues par le tamis de 40 µm sont recueillies pour constituer la classe de diamètre de spores la plus petite ; celles retenues au niveau du tamis de 100 µm recueillies pour constituer la classe de diamètre de spores moyenne; puis enfin celles retenues par la maille de 200 µm recueillie pour constituer la classe de diamètre de spores la plus grande. Le tamis à maille 400 µm retient les débris végétaux. Les spores sont placées dans des tubes pour passer à la séparation sur gradient de saccharose (Oehl et al, 2003) afin de réduire les impuretés. Au fond de chaque tube contenant une suspension sporale, un gradient de viscosité est créé en y injectant soigneusement à l'aide d'une pipette Pasteur, d'abord 20 ml d'une solution de saccharose à 20% puis 20 ml d'une solution à 60%. Les tubes sont alors centrifugés à 4000 $tr.min^{-1}$ pendant 3 min. L'extraction des spores de champignons mycorhizogènes par centrifugation sur gradient de saccharose à 20% et 60% (Sieverding, 1991) permet de concentrer les spores et de réduire la présence de particules de sol et de racines. Les spores se concentrent en une bande distincte à l'interface des deux solutions de saccharose. Elles sont récoltées à l'aide d'une pipette Pasteur, rincées à l'eau dans un tamis de 40 µm et déposées dans une fiole maintenue à la température de la glace fondante. L'extraction des spores a permis d'une part de faire le dénombrement et d'autres part de procéder à l'identification des genres et espèces fongiques selon des critères phénotypiques (taille et couleur des spores et le mode d'attachement de l'hyphe, etc…).

4.5. Dénombrement des spores

L'abondance des spores est évaluée en utilisant une boîte de Pétri (5 cm de diamètre) quadrillée. Les cases numérotées facilitent ainsi le comptage des spores. Ces dernières sont comptées et classées en fonction de leurs tailles, de leurs couleurs puis du mode d'attachement de l'hyphe suspenseur.

4.6. Identification des spores

Les spores, préalablement isolées et placées dans des tubes Eppendorf dans une solution de GEE pour une meilleure conservation sont observées sous loupe binoculaire et au microscope.

Elles sont triées manuellement en fonction des caractères morphologiques suivants : couleur, forme et diamètre. Une vingtaine de spores regroupées suivant ces caractères communs sont montées entre lame et lamelle dans du PVLG (Koske et Testier, 1983) ou du PVLG additionné de réactif de Melzer v/v (Morton, 1988) pour mettre en évidence la structure de la paroi. Les spores fortement pigmentées sont d'abord éclaircies dans de l'eau de javel HClONa. Elles sont observées au microscope pour identifier les structures subcellulaires. Les diamètres des spores, les épaisseurs des parois, les boucliers de germination et les cellules sporogènes sont des caractères utilisés pour une identification au minima des genres. Pour chaque paramètre, vingt mesures ont été effectuées. Les valeurs moyenne et minimale, sont calculées et la valeur maximale notée. Les taxa identifiés sont ensuite comparés aux spécimens de la collection INVAM pour une détermination plus précise des espèces.

4.7. Indices de diversité

La diversité des espèces de champignons MA a été appréciée par l'indice de diversité de Shannon-Weiver, de Simpson et de Piélou (Oehl et al., 2003). Les indices de diversité de Shannon-Wiener ont été calculés selon l'équation suivante: $H= - \sum [(Ni/N)\ln(Ni/N)]$. H étant le nombre d'indice de Shannon-Wiener, Ni/N est le rapport du nombre de spores appartenant au taxon i par le nombre total de taxons comptés. L'indice statistique non paramétrique de diversité de Simpson (Staddon *et al*, 2003) pour les populations infinies (D). $D = 1/\Sigma (pi)^2$; pi est la proportion d'individus de la $i^{ème}$ espèce. L'indice d'équitabilité de Piélou a été calculé selon l'équation suivante : $E = H/\ln(S)$, H étant l'indice de Shannon-Wiever.

4.8. Analyses statistiques

Pour exploiter et analyser les données collectées, plusieurs méthodes statistiques ont été utilisées dans cette étude. Les données ont été analysées avec le logiciel Xlstat-Pro 6.1.9. Les représentations graphiques ont été mises à contribution pour mieux visualiser les données. L'effectif des spores et les taux d'infection ont été synthétisés sous forme de tableaux.

L'analyse de variance (ANOVA) a été mise à contribution pour faire ressortir l'existence ou non, au seuil de probabilité de 5 %, de différences significatives entre les variables. La comparaison des moyennes pour mettre en évidence les secteurs dans lesquels ces données sont significativement différentes au seuil de probabilité de 5 % a été faite en utilisant la plus petite différence significative de Fisher au seuil de 5% de probabilité.

Afin d'apprécier la biodiversité des champignons mycorhiziens arbusculaires, les indices de diversité ont été calculés :

- ✓ l'indice de richesse :
  - o Indice de Simpson
  - o Indice de Shannon
- ✓ Indice de régularité
  - o Indice de Piélou
- ✓ Les mesures de la diversité:
  - o Caractérisation spécifique des secteurs : du nombre d'espèces par secteur ;
  - o l'abondance totale.
- ✓ Les Méthodes d'analyse multivariée (acp)

L'analyse en composante principale (acp), a été utilisée. Elle permet une ordination dans un espace réduit de nuage constitué par les p sites de prélèvements (champs) et celui des n espèces de spores (variables) et les caractéristiques physico-chimiques des sols des champs. Elle permet d'apprécier l'impact de différentes caractéristiques physico-chimiques environnementales sur la diversité des champignons mycorhiziens.

RESULTATS

1. Caractéristiques des sols

1.1 Caractéristiques physiques

Les caractéristiques physiques des divers échantillons sont détaillées dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1: Distribution et caractéristiques physiques[a] des sols des sites d'étude des différentes zones agro-écologiques au Bénin.

Zones agro-ecologiques	Principaux types de sol	Sites[b] d'étude	Nombre de Champs prospectés	*% sable*	*% argile*	*% limon grossier*	*% limon fin*
Zone soudanienne (zone 5)	Ferrugineux	Site 4 + site 5	4	82,25	6,31	5	6,44
Zone soudano-guinéenne de transition (zone 4)	Ferrugineux	Site 3	2	86,75	7,62	3,5	2,12
	Ferralitique	Site 2	2	87,50	8,13	1,13	3,25
Zone guinéenne (zone 3)	Ferralitique	Site 1	4	82,75	13,75	2,06	1,44

a : Pour tous les éléments (% Sable, Limon, Sable), les valeurs sont des moyennes de zone, 2 répétitions par champs, et 8 répétitions en tout ; b : Report à la figure 5 pour la localisation des sites sur la carte du Bénin.

Ces données révèlent dans l'horizon de surface (0-20 cm), un taux d'argile allant de 6,31% à 13,75% associé à un taux de sable allant de 82,25% à 87,50%, un taux de limon fin allant de 1,44% à 6,44% et un taux de limon grossier de 1,13% à 5%. Des valeurs élevées (> 80 %) sont donc obtenues pour les teneurs en sable, Ceci confère aux sols de culture une texture sableuse par référence au diagramme détaillé des textures de Jamagne (Baize, 2000). Dans certains cas, la charge caillouteuse excessive (gravillons ferrugineux ou gravillons de quartzite) limite fortement le volume de terre utile.

1.2 Caractéristiques chimiques des sols sous culture de *Vigna unguiculata* dans les différentes zones agro-écologiques au Benin

Les caractéristiques chimiques du sol (0-20 cm) des champs, représentatives des sols de culture du niébé au Bénin, sont détaillées dans le tableau 2 ci-dessous.

Tableau 2: Caractéristiques chimiques des sols de culture de *Vigna unguiculata* à la floraison et à la fructification dans les différentes zones agro-écologiques du Bénin.

	ZONES[A] AGRO	TYPES DE SOL	pH eau	pH KCl	N	P Bray I	P	C	M.O
FLORAISON	soudanienne	Ferrugineux	6,778(c)	6,54(cd)	0,064(cd)	37,920(b)	219,761(c)	0,56(c)	0,976(c)
	soudano-guinéenne de transition	Ferrugineux	6,28(bc)	6,12(b)	0,035(a)	20,346(a)	208,017(ab)	0,56(ab)	0,975(ab)
		Ferralitique	6,85(c)	6,70(d)	0,042(ab)	21,054(a)	210,162(ab)	0,56(ab)	0,975(ab)
	guinéenne	Ferralitique	6,44(bc)	5,40(a)	0,054(abcd)	26,462(a)	224,927(c)	0,56(a)	0,975(a)
FRUCTIFICATION	soudanienne	Ferrugineux	6,22(b)	5,94(b)	0,068(d)	20,932(a)	207,949(a)	0,56(c)	0,976(c)
	soudano-guinéenne de transition	Ferrugineux	6,36(bc)	6,23(bc)	0,044(abc)	20,643(a)	210,570(ab)	0,56(b)	0,976(b)
		Ferralitique	6,44(bc)	5,87(b)	0,051(abcd)	20,325(a)	208,800(ab)	0,56(ab)	0,975(ab)
	guinéenne	Ferralitique	5,64(a)	5,24(a)	0,063(bcd)	28,616(a)	214,093(b)	0,56(b)	0,976(b)
INTERACTION (FLOR X FRUC)			**	***	*	***	***	***	***

*: significatif (P < 0.05), ** significatif (P < 0.01), *** significatif (P < 0.001) NS: non significatif (P < 0.05).
Légende : A: Les valeurs sont des moyennes de 12 répétitions pour la période de floraison et de 12 répétitions pour la période de fructification. B: Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Fisher (ppds) à 5% de seuil de signification.

i : Le pH

Les sols sous niébé présentent des pH eau allant de 5,65 à 6 ,86. Selon les normes d'interprétation de richesse chimiques d'un sol de Riquier, les sols sont plutôt acides à neutres. L'optimum de Ph est de 6,5 à 7,5. Le pH eau est un paramètre utilisé pour évaluer l'acidité actuelle du sol et n'est pas très stable dans le temps; Ainsi on lui associe le pH KCl (plus stable) qui rend compte de l'acidité potentielle constituée par les ions H^+ fixé sur le complexe absorbant. Les valeurs des divers pH KCl montrent que les sols des différents champs présentent une tendance à l'acidité avec une gamme variée de pH KCl allant de 5,24 à 6,7.

ii : La teneur en azote total, en carbone organique et le ratio C/N

Les teneurs en azote varient de 0,035% à 0,068% et sont gl obalement faibles. Le sol est pauvre d'après Gargantini (Boyer, 1982) si le taux en N total est inférieur à 0,075, moyennement riche si ce taux est compris entre 0,075 et 0,125, enfin riche s'il est supérieur à 0,125. Les champs sous niébé étudiés dans le cadre de cette étude sont donc à sols pauvres en azote. Au niveau de l'horizon de surface des différents champs étudiés les teneurs en carbone sont peu différentes et autours de 0,566%. Ces valeurs témoignent de la teneur faible en matière organique minéralisée des sols sous niébé au Bénin.

Quant au ratio C/N, il reste moyen pour tous les sols. Le rapport varie de 9,46 à 16,83. Les sols provenant de la zone soudanienne présentent un rapport C/N voisin de 10 (8 à 12) et

correspondant à une matière organique bien décomposée, mais néanmoins à faible réserve de matière organique. Par contre le C/N des sols provenant de la zone guinéenne est compris entre 15 et 25 (élevée) donc correspondant à une matière organique mal décomposée. Ainsi la minéralisation n'excède plus l'immobilisation de l'azote et les autres éléments sont libérés progressivement dans le temps. La libération d'ammonium et de nitrate l'emporte et l'alimentation azotée des plantes devient possible surtout sur les champs.

iii : La teneur en matière organique

Elle oscille entre 0,975 et 0,976. Le taux de matière organique dans un sol est la résultante de l'apport de matériel organique d'origine végétale (litière) et de la perte de la matière organique par minéralisation. De ce fait, la variation en teneur organique dans le sol dépend en grande partie de la teneur en argile, en limon et en sable.

iv : Phosphore total et phosphore assimilable

Les teneurs en phosphores total et assimilable des différents substrats ont varié entre la floraison et la fructification. Le phosphore total a varié de 207,95 ppm à 224,93 ppm pendant que le phosphore assimilable a varié de 20,32 ppm à 37,92 ppm. La fertilité est très faible pour tous nos substrats de culture car inférieure à 40 ppm (Boyer, 1982).

Les résultats de l'analyse en composante principale (acp) (Figure 7) sous Xlstat-Pro 6.1.9 nous permettent de décrire graphiquement l'information contenue dans le tableau III. La matrice (11 caractéristiques chimiques x 24 prélèvements) a été soumise à l 'analyse factorielle de correspondances pour définir la diversité des champs. Les valeurs provenant des statistiques de cette matrice ont permis d'interpréter les résultats sortis de l'analyse.

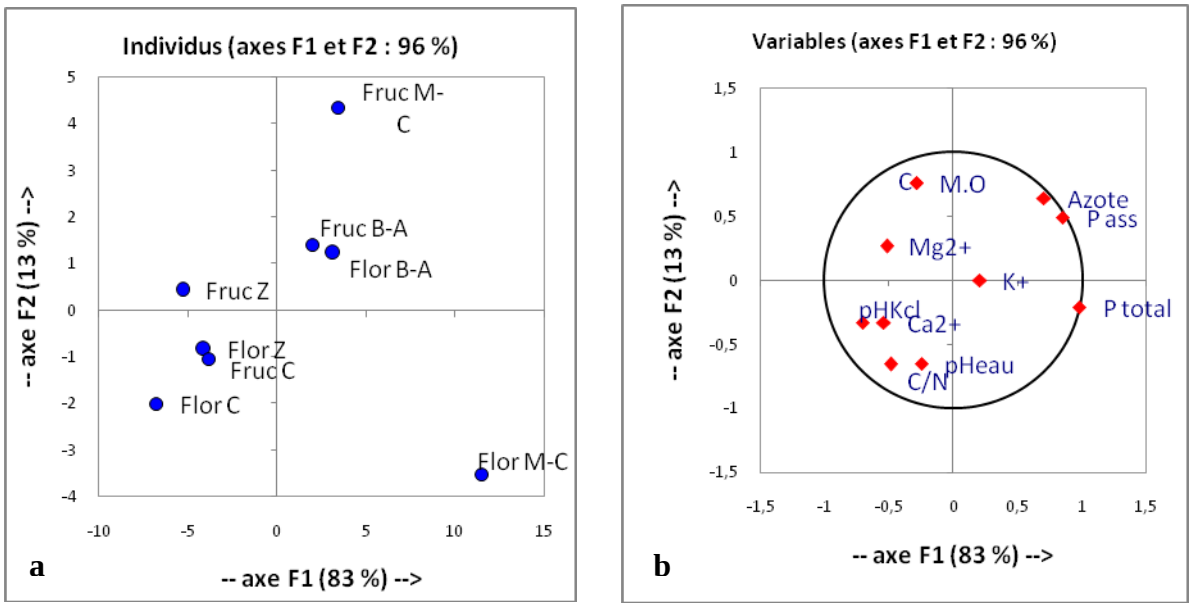

Figure 7: Représentation de la projection des champs sur le plan factoriel (a) et le cercle de corrélation (b) issus de l'analyse en composante principale entre les zones agro-écologiques (individus) et les caractéristiques chimiques du sol (variables).

L'axe1 explique 83% des variations, tandis que l'axe2 explique 13 % des variations.

a) Dans la définition de l'axe F1 :

- Les points colonnes ou paramètres chimiques (azote, phosphore assimilable et total et Potassium) sont dans les abscisses positives de l'axe tandis que les autres sont dans les abscisses négatives.
- Les points lignes ou prélèvements Flor M-C, Fruc M-C, Flor B-A et Fruc B-A sont dans les abscisses positives ; Flor Z, Fruc Z, Flor C et Fruc C sont dans les abscisses négatives.
- En effet, cet axe F1 oppose les prélèvements dans lesquels N, P, K sont abondants aux prélèvements plus pauvres en N, P, K. Il peut être interprété comme représentant le gradient de fertilité des champs de niébé exploités. L'axe F1 a distingué ainsi deux groupes de zones : la zone soudano-guinéenne au centre à la soudanienne au nord et guinéenne au sud.

b) Dans la définition de l'axe F2 :

- les points lignes Fruc M-C, Fruc Z, Fruc B-A, Flor B-A sont dans les ordonnées positives ; Flor M-C, Flor Z, Flor C, Fruc C dans les ordonnées négatives ;

- les points colonnes N, P ass, Mg^{2+}, M.O, C dans les ordonnées positives et le reste ; P total, ph, Ca^{2+}, C/N dans les ordonnées négatives.
- L'axe F2 a fait apparaître une subdivision dans le groupe des prélèvements montrant ainsi une certaine hétérogénéité entre la floraison et la fructification. Cet axe représente donc le stade végétatif de la culture de niébé sur les champs prospectés.

L'examen du cercle de corrélation permet de détecter les éventuels groupes de variables qui se ressemblent ou au contraire qui s'opposent donnant ainsi davantage de sens aux axes principaux. On peut constater donc que l'azote, le potassium, le phosphore assimilable évoluent dans le même domaine positif de l'axe 1 et sont d'ailleurs corrélés significativement au regard de leur rapprochement du cercle de corrélation formant ainsi un groupe se ressemblant. Les autres caractéristiques (Carbone, M.O, C/N, Mg^{2+}, Ca^{2+} et Ph) se ressemblent et évoluent quant à elles dans le domaine négatif.

Une analyse simultanée des deux graphes, en les superposant, nous permet de constater que les sols provenant de la zone soudano-guinéenne de transition sont donc riches en éléments (Carbone, M.O, C/N, Mg^{2+}, Ca^{2+} et Ph), mais plutôt pauvres en éléments (azote, phosphores assimilable et total, potassium). L'inverse est observé pour les autres provenances (guinéenne et soudanienne) de sols qui seront plutôt relativement plus riches en éléments (azote, phosphores assimilable et total, potassium) et moins acides que les sols provenant de la zone soudano-guinéenne.

2. Richesse et diversité spécifique des Champignons MA associées au *V. unguiculata*

Les observations microscopiques des spores extraites des sols étudiés dans les différentes zones agro-écologiques, ont permis de noter une richesse et une diversité de spores du sol fonctions du stade de la culture et de la zone agro-écologique.

2.1. Densité en spores

2.1.1. Densité des spores de Glomales sous niébé à différents stades de la culture et en fonction des conditions agro-écologiques.

La Figure 8 traduit l'évolution des densités de spores de Glomales dans les différentes zones agro-écologiques de l'étude. L'analyse des graphes nous révèle la présence de spores de

Glomales de tailles diverses qui peuvent être petites (40 à 100 µm), moyennes (100 à 200 µm) et grandes (200 à 400 µm).

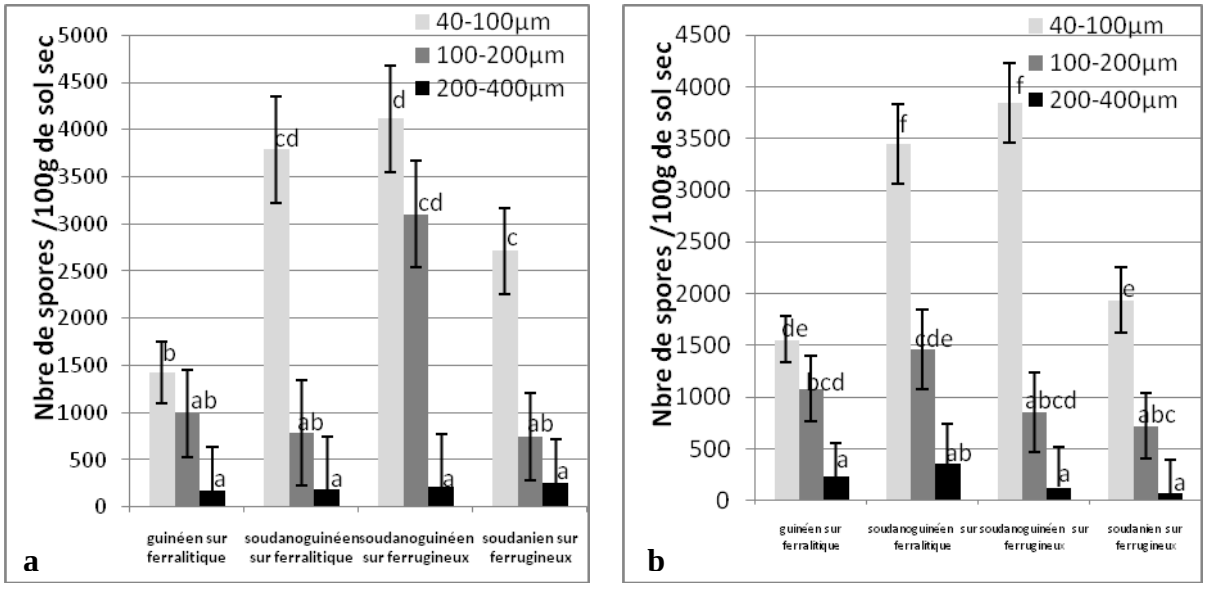

Figure 8: Densité des spores suivant la taille dans les différentes zones agro-écologiques à la floraison (a) et à la fructification (b). Légende : Les barres sont des moyennes de 04 champs pour l'effet floraison et de 04 c hamps pour l'effet fructification. Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Fisher (ppds) à 5% de seuil de signification.

A la floraison comme à la fructification, toutes tailles confondues, les spores sont plus nombreuses sous niébé dans les champs de la zone soudano-guinéenne suivis de ceux de la zone soudanienne puis enfin du gui néen. Les spores de petites tailles sont plus nombreuses dans l'ensemble des zones étudiées quel que soit le stade végétatif du niébé, suivies des spores de taille moyenne puis des grosses spores.

A la floraison, et pour les spores de petites taille, les sols du s oudano-guinéen avec respectivement 4117 spores / 100g de sol sec sur sol ferralitique et 3785 spores /100g de sol sec sur sol ferrugineux ont des densités plus fortes que celles des zones guinéenne avec 2711,33 spores / 100g de sol sec et soudanienne avec 1429,16 spores /100g de sol sec. En ce qui concerne les spores de taille moyenne, leurs densités sont significativement identiques sauf en zone soudano-guinéenne sur sol ferrugineux alors que pour les grosses spores, leurs densités sont significativement identiques dans toutes les zones au seuil de 5%.

A la fructification, les sols de la zone soudano-guinéenne avec respectivement 3448 spores sur ferralitique et 3847,5 spores /100g de sol sec sur ferrugineux se démarque des autres zones (1554,16 et 1939,44 spores /100g de sol sec) pour les spores de petites tailles, tandis que la différence n'est pas significative pour les spores de taille moyennes et grosses au seuil de 5%.

2.1.2. Effet de la culture sur la densité des spores de Glomales sous niébé suivant la couleur dans les différentes zones agro-écologiques

Les spores observées peuvent également être classées selon des critères phénotypiques comme la couleur (Figure 9 ci-dessous).

Les spores de couleur noire sont plus nombreuses sur l'ensemble des zones agro-écologiques sauf sur soudano-guinéen sur ferralitique. Le nombre de spores de couleur noire est supérieur respectivement à celui des spores de couleur brune, jaune et hyaline. Cette tendance est identique à la floraison comme à la fructification.

A la floraison comme à la fructification, toutes couleurs confondues, les spores sont plus nombreuses sous niébé dans les champs du s oudano-guinéen comparativement aux autres zones. A la floraison, les densités de spores de couleur noire ne sont pas significativement différentes, en fonction des zones de l'étude sauf dans la soudano-guinéenne sur ferrugineux. Pour les spores de couleur brune, le guinéen et le soudanien sont significativement identiques et pour les spores jaune, aucune différence significative n'est observée. Enfin, les spores de couleur hyaline ne sont pas significativement différentes en nombre d'une zone à l'autre et ont été enregistrées en nombre infime au seuil de 5%.

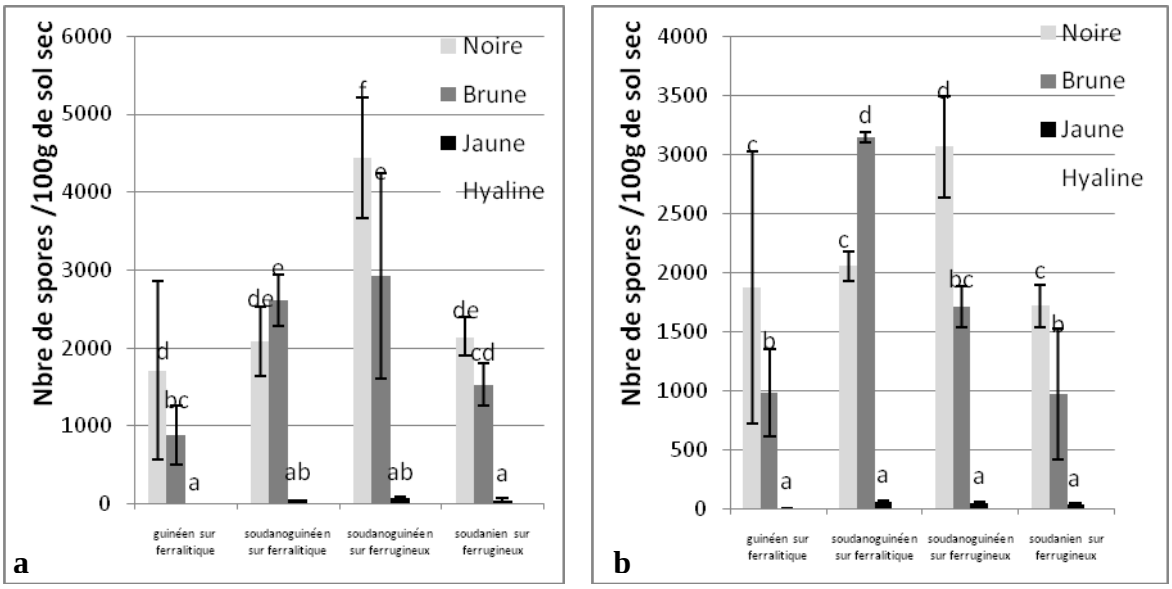

Figure 9: Densité des spores suivant la couleur dans les différentes zones agro-écologiques à la floraison (a) et à la fructification (b). Légende : Les barres sont des moyennes de 04 c hamps pour l'effet floraison et de 04 c hamps pour l'effet fructification. Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Fisher (ppds) à 5% de seuil de signification.

2.1.3. Effet de la culture sur la densité totale des spores de Glomales sous niébé suivant le stade végétatif dans les différentes conditions agro-écologiques

Les densités totales des spores de champignons mycorhiziens arbusculaires sous niébé (spores vivantes et spores mortes), dans les différentes zones agro-écologiques du Bénin ont été dénombrées (Figure 10).

A la floraison, la densité en spores sous niébé la plus faible (2988,55 spores/100g de sol sec) est notée dans la zone guinéenne sur ferralitique au sud du Bénin, tandis que la plus élevée (5077 spores/100g de sol sec) est enregistrée dans la zone soudano-guinéenne sur sol ferrugineuse au centre du Bénin.

A la fructification, la densité en spores sous niébé la plus faible (1700,91 spores/100g de sol sec) a été observé dans les sols de la zone guinéenne sur ferralitique au sud du Bénin, tandis que la plus élevée (3296,33 spores/100g de sol sec) est enregistrée dans la zone soudano-guinéenne sur sol ferralitique au centre du Bénin.

Pour l'ensemble des spores (vivantes+mortes), à la floraison comme à la fructification, la différence est significative (p≥5%) entre la zone soudano-guinéenne et les autres qui sont identiques statistiquement.

Quand on compare la densité en spores observée à la floraison à celle observée à la fructification on observe une augmentation significative pour la zone soudano-guinéenne sur ferralitique et pas de différence entre les stades végétatif pour les autres zones.

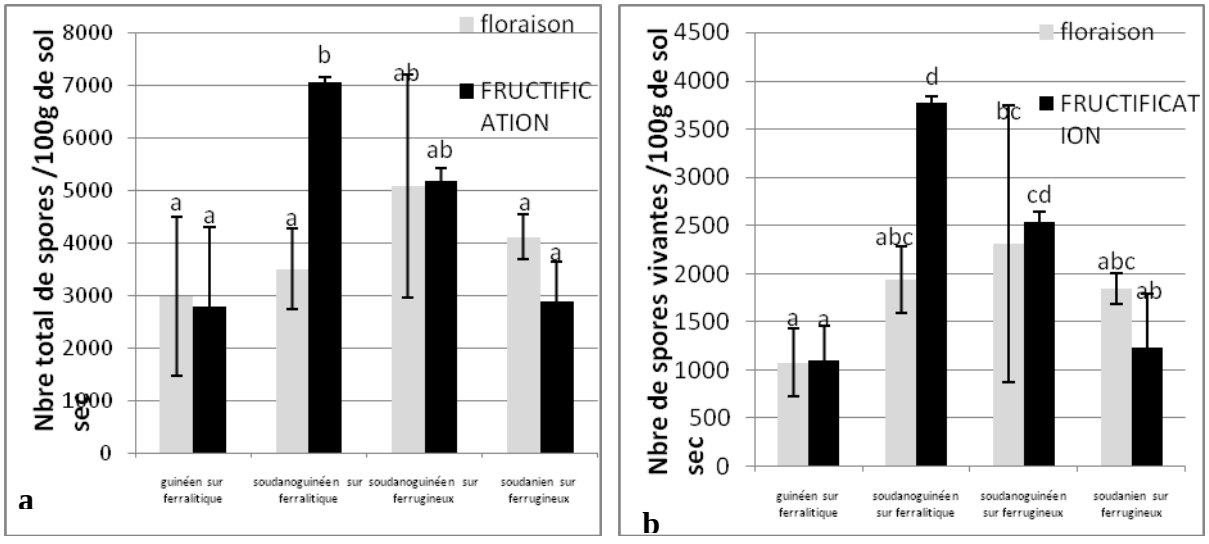

Figure 10: Densité totale des spores (vivantes+mortes) (a) et densité des spores vivantes seules (b) suivant le stade végétatif de la culture de niébé et suivant les différentes zones agro-écologiques. Légende : Les barres sont des moyennes de 04 champs pour l'effet floraison et de 04 champs pour l'effet fructification. Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Fisher (ppds) à 5% de seuil de signification.

Pour l'ensemble des spores vivantes, à la floraison comme à la fructification, la densité des spores la plus faible est notée sous niébé provenant de la zone guinéenne sur ferralitique au sud du Bénin avec respectivement 1080,11 spores/100g de sol sec à la floraison et 1101,19 spores à la fructification, tandis que la plus élevée est enregistrée sous niébé provenant respectivement de la zone soudano-guinéenne sur sol ferrugineux (2312,16 spores/100g de sol sec) et sur sol ferralitique (3765,16 spores/100g de sol sec) au centre du Bénin.

Pour l'ensemble des spores vivantes, à la floraison comme à la fructification, la différence est significative (p≥5%) entre la zone soudano-guinéenne et les autres qui sont identiques statistiquement.

La comparaison entre les densités des spores observées à la floraison à celles observées à la fructification, permet de constater une augmentation significative pour la zone soudano-guinéenne sur ferralitique et pas de différence entre les stades végétatif pour les autres zones.

2.1.4. Taux de viabilité des spores de Glomales sous niébé suivant les zones agro-écologiques et suivant le stade végétatif

Les dénombrements des spores dans les sols des sites d'investigation ont révélé des proportions variables de spores viables et mortes comme le montre la Figure 11. Les taux de viabilité des spores dans les différents secteurs varient entre 40,94 et 58,12% à la floraison et 36,85 et 63,57% à la fructification. Il faut remarquer que la zone soudano-guinéenne sur ferralitique renferme les taux de viabilité les plus élevés, de plus on enregistre une amélioration du taux de viabilité à la fructification du niébé.

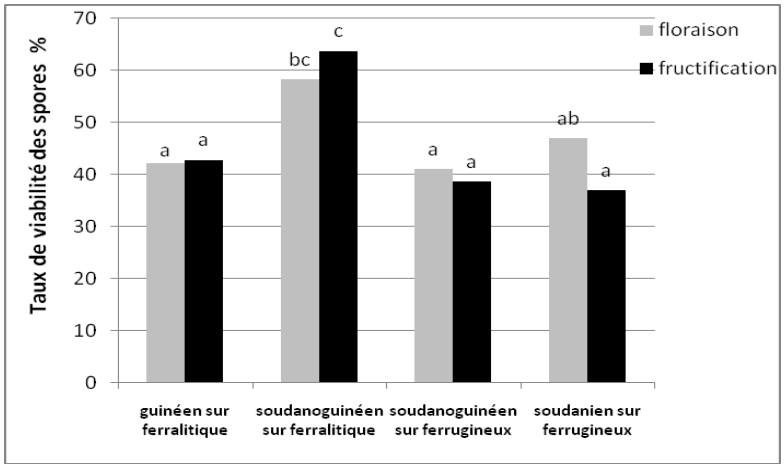

Figure 11: Taux de viabilité (%) des spores suivant le stade végétatif de la culture de niébé et les zones agroécologiques. Légende : Les barres sont des moyennes de 04 champs. g sur f= zone guinéenne sur ferralitique, sg sur f= zone soudanoguinéenne sur ferralitique, sg sur ferru= zone soudanoguinéenne sur ferrugineux, s sur ferru= zone soudanienne sur ferrugineux.

2.1.5. Corrélation entre densité en spores, phosphore assimilable et phosphore total sous *Vigna unguiculata* dans les différentes zones agro-écologiques

Le Tableau 3 présente la matrice de corrélation de Pearson entre la densité totale des spores, la densité des spores vivantes, le phosphore total puis le phosphore assimilable. Globalement, la corrélation n'est pas significative entre les paramètres chimiques du s ol (phosphore assimilable et total) et paramètres microbiologiques (la densité des spores vivantes) au seuil de 5%. Par contre les paramètres chimiques sont fortement corrélés entre eux. De même que les paramètres microbiologiques du sol, qui présentent une forte corrélation entre eux.

Tableau 3: Matrice montrant les coefficients de corrélation de Pearson entre la densité en spores, le phosphore total puis le phosphore assimilable**.**

	Phosphore total	Phosphore assimilable	spores total	spores vivantes
Phosphore total	-	**0,767**	-0,216	-0,285
Phosphore assimilable	**0,767**	-	-0,045	-0,131
spores total	-0,216	-0,045	-	**0,888**
spores vivantes	-0,285	-0,131	**0,888**	-
En gras, valeurs significatives (hors diagonale) au seuil alpha=0,050 (test bilatéral)				

2.2. Richesse spécifique

L'ensemble des spores rencontrées sous le niébé dans les différentes zones agro-écologiques appartiennent à l'ordre des Glomales (Tableau 4) selon la classification de Morton & Benny, 1990. L es taxons identifiés appartiennent à d eux familles différentes, *Glomaceae* et *Gigasporaceae*. Les espèces de la famille des *Glomaceae* identifiées dans cette étude appartiennent toutes au genre *Glomus* et celles de la famille des *Gigasporaceae* au genre *Scutellospora*. Six espèces au total ont été identifiées : *Glomus aggregatum, Glomus sp1, Glomus sp2, Scutellospora gregaria, Scutellospora verrucosum, Scutellospora sp*.

A la floraison comme à l a fructification, la richesse spécifique est minimale en zone guinéenne. A la floraison, toutes les autres zones enregistrent une richesse spécifique égale (05 espèces). A la fructification, on note l'apparition de *Scutellospora sp* (spores hyaline de grosse taille) qui fait de la zone soudano-guinéenne sur ferrugineux la zone la plus riche en espèces.

Dans l'ensemble des sites prospectés, les autres espèces de la famille des Gigasporaceae, *Scutellospora gregaria et Scutellospora sp* ne présentent pas de variabilité en fonction du stade végétatif et sont numériquement uniformes à la floraison comme à la fructification.

A la floraison comme à la fructification, *Scutellospora verrucosum, et Glomus sp1 et G.sp2* sont distribués de façon croissante dans les sites prospectés suivant le gradient suivant : Soudano-guinéen >Soudanien >Guinéen.

Seule la densité en spores de *Glomus aggregatum* suit le gradient Soudano-guinéen > Guinéen > Soudanien.

Tableau 4: Nombre de spores par espèce fongique et par zones agro-écologiques

			GIGASPORACEAE			**GLOMACEAE**			
	ZONES[A] AGRO	TYPES DE SOL	***S.gregaria***	***S.verrucosum***	***Scut. sp***	***G. aggregatum***	***G. sp1***	***G. sp2***	**Nbre max d'sp**
FLORAISON	soudanienne	Ferrugineux	117,92a	34,58ab	0,42a	290,42a	0a	804,86ab	5
	soudano-guinéenne de transition	Ferrugineux	68,33a	41,67ab	0a	570,83a	10,83ab	1781,67c	5
		Ferralitique	118,89a	30,56ab	0a	1429,17b	3,33ab	2084,00c	5
	guinéenne	Ferralitique	105,44a	4,56a	0a	518,17a	0a	435,56a	4
FRUCTIFICATION	soudanienne	Ferrugineux	88,75a	50,83a	0a	296,33a	0,14a	1397,17bc	5
	soudano-guinéenne de transition	Ferrugineux	115,00a	64,17b	0,83a	475,00a	1,67b	1716,33c	6
		Ferralitique	180,83a	64,17b	0a	476,67a	7,00ab	1312,50abc	5
	guinéenne	Ferralitique	135,36a	6,42b	0a	534,56a	0a	441,25a	4
Moyenne			*112,11*	*33,98*	*0,14*	*504,8*	*1,99*	*1090,99*	*4,37*
Mediane			*106*	*35*	*0*	*352,5*	*0*	*950*	*4*
Minimum			*31,67*	*1,67*	*0*	*43,33*	*0*	*271,67*	*4*
Maximum			*298,33*	*91,67*	*1,67*	*1905*	*20*	*2256,67*	*6*
25%			*31,67*	*1,67*	*0*	*43,33*	*0*	*271,667*	*4*
75%			*31,67*	*1,67*	*0*	*43,33*	*0*	*271,67*	*4*

*: significatif (P < 0.05), ** significatif (P < 0.01), *** significatif (P < 0.001) ns: non significatif (P < 0.05).
Légende : A: Les valeurs sont des moyennes de 04 champs pour l'effet floraison et pour l'effet fructification à raison de 100g de sol sec. Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Fisher (ppds) à 5% de seuil de signification.

2.3. Abondance relative

Dans l'ensemble des sites prospectés, on constate une nette dominance des espèces de la famille des *Glomaceae* (91,61 %) par rapport à celle de la famille des *Gigasporaceae* (08,39 %) (Tableau 4 et Figure 12).

Dans l'ensemble des sites, quel que soit le stade végétatif, le nombre de spores de *Glomus sp2* est le plus abondant (Figure 12) suivi de successivement par celui de *Glomus aggregatum, Scutellospora gregaria, Scutellospora verrucosum,* puis enfin de *Glomus sp1* et de *Scutellospora sp* en infime proportion.

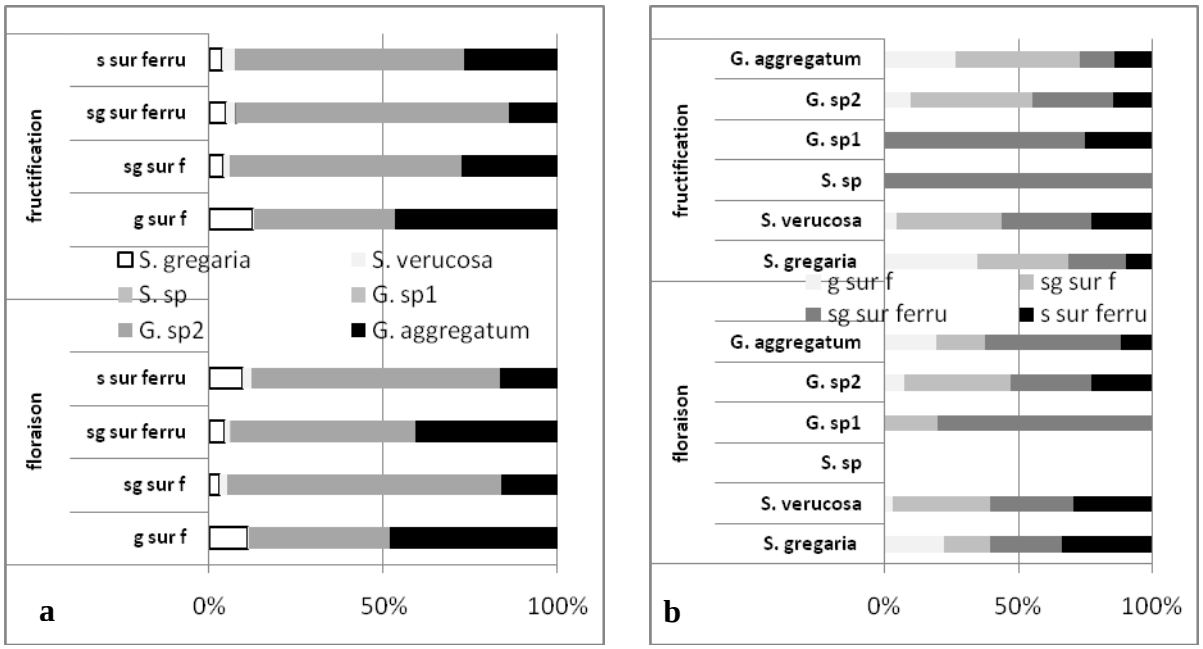

Figure 12: A bondance relative des spores des espèces (b) de Glomales suivant le stade végétatif de la culture de niébé et les zones agro-écologiques (a). Légende : Les barres sont des moyennes de 04 champs. g sur f= zone guinéenne sur ferralitique, sg sur f= zone soudanoguinéenne sur ferralitique, sg sur ferru= zone soudanoguinéenne sur ferrugineux, s sur ferru= zone soudanienne sur ferrugineux.

Une analyse de la distribution des spores de champignons mycorhiziens arbusculaires (Figure 12) nous renseigne sur les sites d'abondance ou de prédilection de ces derniers. Il en ressort que les espèces de la famille des *Glomaceae* ont une prédilection à la zone soudano-guinéenne à la floraison comme à la fructification. La famille des *Gigasporaceae* est plutôt uniformément répartie dans toutes les zones à la floraison comme à la fructification sauf pour *Scutellospora sp* qui n'apparaît qu'à la fructification sur sol ferrugineux en zone soudano-guinéenne. A la floraison comme à la fructification, les densités en spores en zone guinéenne sont faibles. Ceci augure d'un site peu diversifié en comparaison à la zone soudano-guinéenne plus diversifiée.

2.4. Indices de diversité

A la floraison comme à la fructification, la richesse spécifique est minimale en zone guinéenne et est de 04 espèces. A la floraison, toutes les autres zones enregistrent une richesse

spécifique égale à 05 espèces. A la fructification, on enregistre l'apparition de *Scutellospora sp* (spores hyalines de grosse taille) qui fait de la zone soudano-guinéenne sur ferrugineux la zone la plus riche en espèces avec 06 espèces (Tableau 5).

Tableau 5: Mesure de la diversité par divers indices pour les différentes zones agro-écologiques de l'étude

	Floraison				Fructification			
	G sur f	**Sg sur f**	**Sg sur ferru**	**S sur ferru**	**G sur f**	**Sg sur f**	**Sg sur ferru**	**S sur ferru**
Nombre d'espèces	4	5	5	5	4	5	6	5
H' (Shannon)	0,984	0,693	0,930	0,854	1,012	0,833	0,722	0,870
D (Simpson)	2,453	1,572	2,233	1,825	2,526	1,926	1,569	1,960
J' (Piélou)	0,710	0,431	0,578	0,531	0,730	0,517	0,403	0,540

Légende : g sur f= zone guinéenne sur ferralitique, sg sur f= zone soudanoguinéenne sur ferralitique, sg sur ferru= zone soudanoguinéenne sur ferrugineux, s sur ferru= zone soudanienne sur ferrugineux.

L'indice de Shannon H' est limité par 0 et 1. Il renseigne sur la diversité du système étudié. Il est grand quand les espèces sont également réparties dans le milieu. Les valeurs de l'indice de diversité de Shannon ici, varient de 0,693 en zone soudano-guinéenne sur ferralitique à 0,984 en zone guinéenne à la floraison et de 0,722 en zone soudano-guinéenne sur ferrugineux à 1,012 en zone guinéenne à la fructification. La richesse spécifique en zone guinéenne est faible, mais également répartie. Le contraire est noté en zone soudano-guinéenne.

Les valeurs de l'indice de diversité de Simpson varient de 1,572 à 2,453 à la floraison et de 1,569 à 2,526 à la fructification. Cet indice présente une grande différence entre les secteurs et vient appuyer les gradients observés avec l'indice de Shannon.

L'indice de Piélou J' mesure le degré de régularité. Dans la zone guinéenne, et ceci quel que soit le stade végétatif, cet indice est fort. Il montre la grande régularité en termes d'abondance comme prouvé précédemment par les précédents indices.

3. Typologie des relations CMA-environnement dans les champs de *Vigna* au Bénin

La typologie des relations CMA-environnement a pour objectifs d'apprécier le niveau de perception cerné par le taux d'échantillonnage réalisé par rapport à l'étendue de la zone du projet. La typologie CMA-environnement consiste à évaluer les relations entre les communautés de champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) et les différents milieux

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

écologiques sur la base des variables échantillonnés (paramètres microbiologiques et physico-chimiques).

L'analyse en composante principale (acp) est utilisée pour atteindre cet objectif. Le principe de cette méthode est d'analyser la structure des communautés de CMA sous une contrainte exprimée par les conditions écologiques stationnelles de chaque champ (Figure 13 et Figure 14). L'analyse factorielle des correspondances permet d'exprimer la structure de la communauté fongique à travers deux graphiques :

- le premier permet l'identification de groupes de relevés (champs),
- le second permet la description et l'explication de chaque groupe de relevés.

La matrice (11 caractéristiques chimiques x 24 prélèvements) a été soumise à l'analyse factorielle de correspondances pour définir la diversité des champs. Les valeurs provenant des statistiques de cette matrice ont permis d'interpréter les résultats de l'analyse.

L'AFC met en évidence cinq groupes de relevés (champs) comme individualisés sur la Figure 7. Le groupe G1 est composé uniquement de relevés (Fruc Z-C2) correspondant à la fructification de la zone soudano-guinéenne sur ferrugineux, le second G2 comprend des relevés (Flor Z-C1 et Fruc Z-C1) de la zone soudano-guinéenne sur ferralitique, le troisième groupe est formé de (Flor Z-C2) correspondant à la floraison de la zone soudano-guinéenne sur ferrugineux, le quatrième groupe (G4) comprend un mélange de relevés (Flor M-C, Fruc M-C, Flor B-A), de la floraison de la zone guinéenne, de la fructification de la zone guinéenne, puis de la floraison de la zone soudanienne. Le dernier groupe G5 est constitué aussi d'un mélange de relevés (Flor B-A, Fruc B-A, Fruc M-C) correspondant à la zone soudanienne et à la zone guinéenne.

Le graphe 12 correspond à la projection des espèces de CMA et des paramètres chimiques du sol, sur le plan factoriel F1 x F2. La structure de cette configuration permet de caractériser chaque groupe de relevés mis en évidence par l'analyse sur la Figure 7 sur la base de sa composition fongique et des caractères écologiques :

- ✓ Le Groupe G1 est caractérisé par l'espèce suivante : *Scutellospora sp* et de fortes valeurs de fréquence et d'intensité de mycorhization des racines.
- ✓ Le Groupe G2 est caractérisé par les espèces suivantes : *Scutellospora verrucosa* et *Glomus sp2*
- ✓ Le Groupe G3 est caractérisé par les espèces suivantes : *Scutellospora gregaria*, *Glomus sp1, Glomus aggregatum.*
- ✓ Le Groupe G4 est composé par les espèces suivantes : *Scutellospora gregaria*, *Glomus sp1, Glomus aggregatum.*
- ✓ Groupe G5 est composé par les espèces suivantes : *Scutellospora sp, Scutellospora verrucosa* et *Glomus sp2*

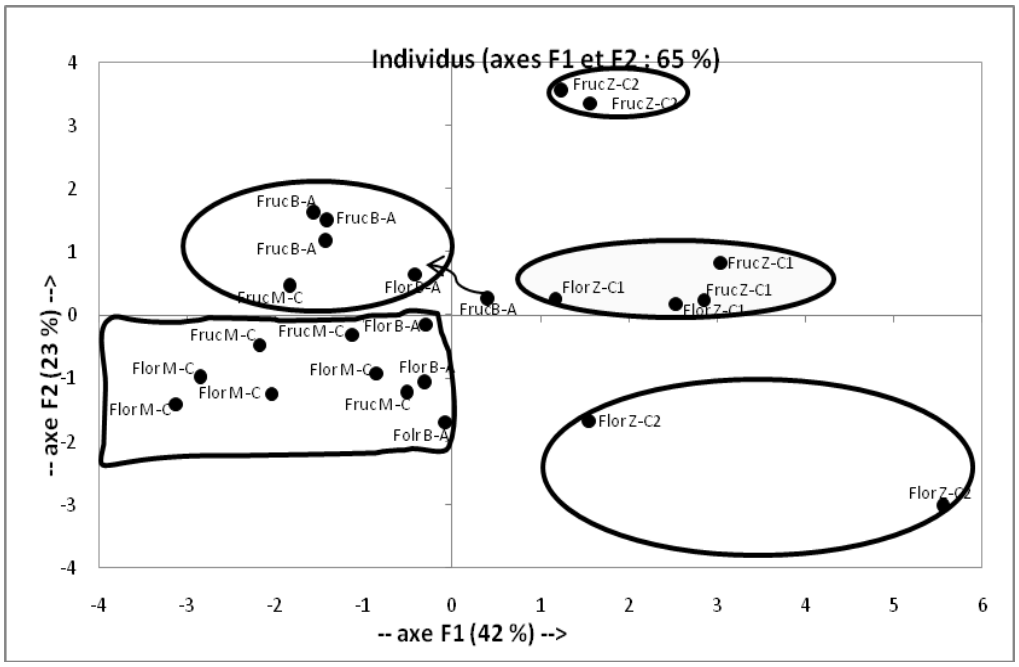

Figure 13: Représentation de la projection des relevés (champs) sur le plan factoriel F1XF2 de l'analyse en composante principale entre les zones agro-écologiques (individus) et les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques du sol (variables). La liste des codes des relevés est en annexe 1.

Pour la caractérisation écologique, le Figure 14, où sont projetées les modalités des différentes variables physicochimiques en données supplémentaires (*italiques*), permet une description écologique de la structure fongique des différents groupes :

- le groupe G1 correspond à un milieu riche en carbone et matières organiques,
- le groupe G2 correspond à un milieu plus ou moins acide à pH KCl élevé,
- le groupe G3 correspond à un milieu, à rapport C/N élevé,
- le groupe G4 est un milieu à phosphore total et assimilable élevé,
- le groupe G5 est caractérisé par un taux d'azote relativement élevé,

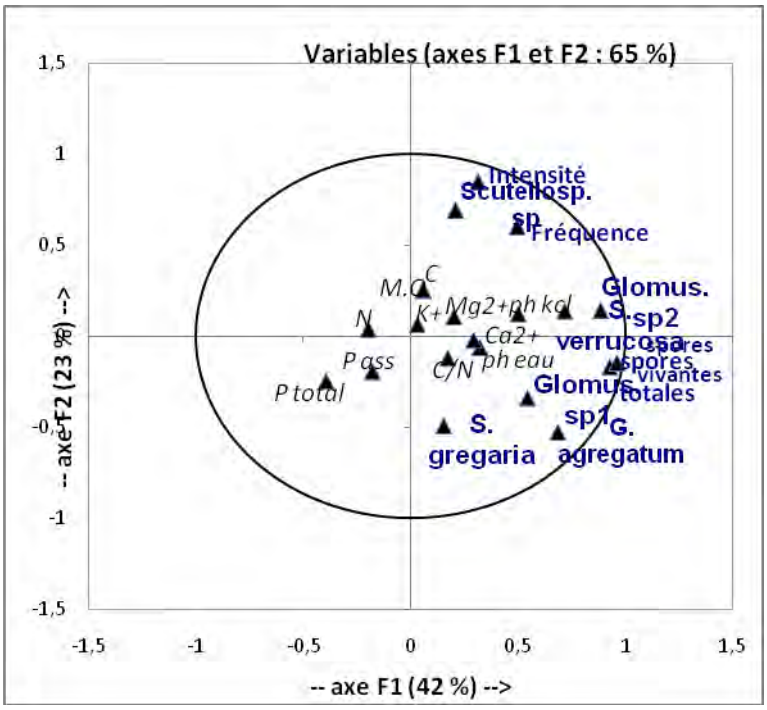

Figure 14: Représentation dans le cercle de corrélation de la projection sur le plan factoriel F1XF2 de l'analyse en composante principale entre les zones agro-écologiques (individus) et les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques du sol (variables). La liste des codes des relevés est en annexe 1

L'analyse n'a mis en relief que la variabilité entre les secteurs écologiques. La structure écologique exprime un gradient de la communauté fongique. L'intensité de l'échantillonnage reste insuffisante pour exprimer et cerner la variabilité à l'intérieur de chaque secteur. Cependant, les résultats préliminaires de densité spécifique et de diversité, permettent de renforcer la stratification apparente des 5 types de milieux (G1, G2, G3, G4, G5).

L'examen du cercle de corrélation (Figure 14) et de la matrice des coefficients de corrélation de Pearson (Tableau 6) permet de détecter les éventuels groupes de variables qui se ressemblent ou a u contraire qui s'opposent donnant ainsi davantage de sens aux axes principaux. On peut constater donc que *Scutellospora verrucosa et Glomus sp2* évoluent dans le même domaine positif de l'axe 1 et sont d'ailleurs corrélés significativement et positivement (r=0,679) au regard de leur rapprochement du cercle de corrélation formant ainsi un groupe compte tenu de leurs exigences écologiques. On remarque également que *Glomus sp1 et Glomus aggregatum* évoluent dans le même domaine positif de l'axe 1 et sont d'ailleurs corrélés significativement et positivement (r=0,472) formant ainsi un groupe ressemblant compte tenu de leurs exigences écologiques.

Enfin, mentionnons que l'ensemble des espèces de CMA enregistrées s'opposent (Figure 14) au phosphore total et assimilable suivant l'axe F1.

Tableau 6: Matrice montrant les coefficients de corrélation de Pearson entre les différentes espèces de CMA.

	Scutellospora gregaria	Scutellospora verrucosa	Scutellospora sp	Glomus aggregatum	Glomus sp1	Glomus sp2
Scutellospora gregaria	-	0,272	-0,115	0,344	0,000	-0,021
Scutellospora verrucosa	0,272	-	0,222	0,257	0,207	**0,679**
Scutellospora sp	-0,115	0,222	-	-0,197	-0,020	0,163
Glomus aggregatum	0,344	0,257	-0,197	-	**0,472**	0,395
Glomus sp1	0,000	0,207	-0,020	**0,472**	-	0,337
Glomus sp2	-0,021	**0,679**	0,163	0,395	0,337	-

En gras, valeurs significatives (hors diagonale) au seuil alpha=0,050 (test bilatéral)

4. Paramètres de mycorhization

4.1. Fréquence de mycorhization naturelle de *Vigna unguiculata* au champs

Les fréquences d'infection mycorhiziennes des racines de niébé dans les parcelles expérimentales des différentes zones agro-écologiques du Bénin sont consignés dans la Figure 15. Les résultats issus du test d'analyse de variance, révèlent que :

A la floraison, la fréquence la plus faible (58,75%) est notée sous niébé dans la zone guinéenne au sud du Bénin, tandis que la plus élevée (92,50%) est enregistrée sous niébé provenant de la zone soudano-guinéenne sur sol ferralitique au centre du Bénin. A la fructification, la fréquence la plus faible (88,75%) est notée sous niébé dans la zone guinéenne au sud du Bénin, tandis que la plus élevée (100,00%) est enregistrée dans la zone soudano-guinéenne au centre du Bénin.

A la floraison, la différence est significative ($p<5\%$) entre les trois zones agro-écologiques. Mais à la fructification, il n'y a plus de différence significative ($p\geq5\%$) entre les trois zones agro-écologiques. De plus, on peut ajouter que dans la zone soudano-guinéenne de transition, quel que soit le type de sol, il n'y a pas de différence significative entre la fréquence de mycorhization observée quand on passe de la floraison à la fructification tandis que la différence est significative en zones guinéenne et soudanienne.

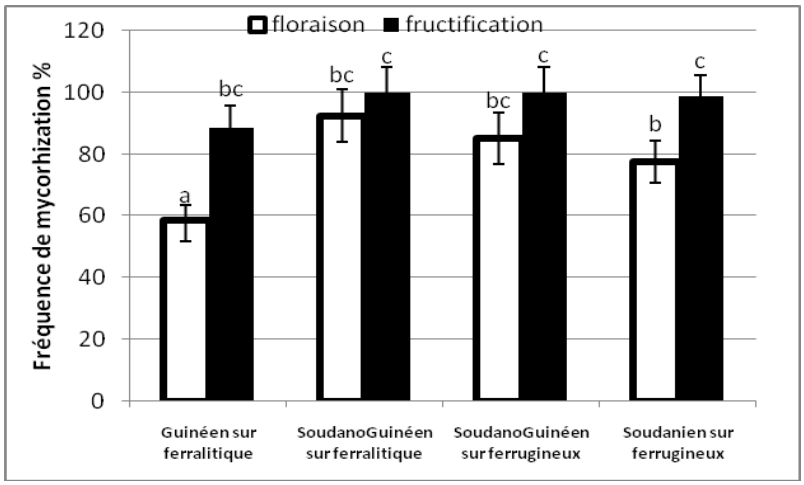

Figure 15: Variations de la fréquence (F%) de mycorhization du niébé dans les champs des différentes zones agro-écologiques du Bénin. Les valeurs de fréquence de mycorhization sont des moyennes de 40 répétitions pour l'effet floraison et de 40 répétitions pour l'effet fructification. Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Fisher (ppds) à 5% de seuil de signification.

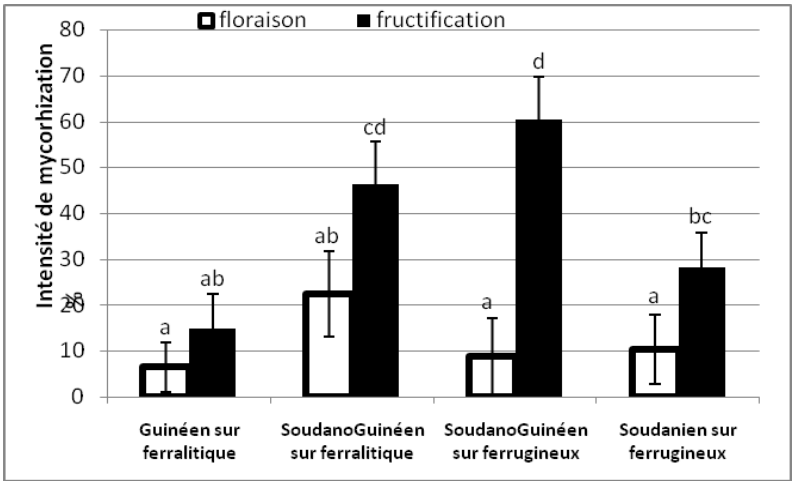

Figure 16: Variations de l'intensité (I%) de mycorhization du niébé dans des champs des différentes zones agro-écologiques du Bénin. Les valeurs de fréquence de mycorhization sont des moyennes de 40 répétitions pour l'effet floraison et de 40 répétitions pour l'effet fructification. Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Fisher (ppds) à 5% de seuil de signification.

4.2. Intensité de mycorhization naturelle de *Vigna unguiculata* au champ (en fonction du type de sol et des zones …)

La Figure 16 fait apparaître les intensités de mycorhization du niébé dans les différentes zones agro-écologiques du Bénin. Les résultats issus du test d'analyse de variance révèlent que :

Des intensités de mycorhization faibles ont été observées dans tous les champs indépendamment des zones agro-écologiques. A la floraison, l'intensité la plus faible (6,47%) est notée dans la zone guinéenne au sud du Bénin, tandis que la plus élevée (22,45%) est

enregistrée sous niébé provenant de la zone soudano-guinéenne sur sol ferralitique au centre du Bénin. A la fructification, l'intensité la plus faible (14,78%) est notée dans la zone guinéenne au sud du B énin, tandis que la plus élevée (60,50%) est enregistrée la zone soudano-guinéenne sur sol ferrugineux au centre du Bénin. A la floraison, la différence n'est pas significative ($p \geq 5\%$) entre les trois zones agro-écologiques. Mais à la fructification, la différence est significative ($p < 5\%$). On peut également mentionner que la différence est significative quand on compare l'intensité de mycorhization observée à la floraison à cel le observée à la fructification pour toutes les zones à l'exception de la zone guinéenne.

4.3. Corrélation et modélisation entre intensité et fréquence de mycorhization naturelle et phosphore sous *Vigna unguiculata* au champs

4.3.1. *Corrélation entre la Fréquence, l'Intensité, le Phosphore total et le phosphore assimilable*

Le Tableau 7 présente la matrice de corrélation de Pearson entre la Fréquence, l'Intensité, le Phosphore total puis le phosphore assimilable. Globalement, les paramètres microbiologiques (fréquence et intensité) sont négativement corrélés aux paramètres chimiques du s ol. La corrélation est significative et négative entre le phosphore total et la fréquence au seuil de 5%. La corrélation est significative et négative entre la fréquence, l'intensité et le phosphore assimilable. Toutefois, le phosphore total et l'intensité ne sont pas corrélés ($p > 5\%$). Les paramètres microbiologiques sont quant à eux corrélés entre eux. Les phosphores total et assimilable sont aussi positivement et fortement corrélés entre eux.

Tableau 7: Matrice montrant les coefficients de corrélation de Pearson entre la Fréquence, l'Intensité, le phosphore total puis le phosphore assimilable

	Phosphore total	Phosphore assimilable	Fréquence %	Intensité %
Phosphore total	-	**0,935**	**-0,715**	ns
Phosphore assimilable	**0,935**	-	**-0,782**	**-0,440**
Fréquence %	**-0,715**	**-0,782**	-	**0,657**
Intensité %	ns	**-0,440**	**0,657**	-

En gras, valeurs significatives (hors diagonale) au seuil alpha=0,050 (test bilatéral)

4.3.2. *Modélisation entre les variables intensité et la fréquence de mycorhization naturelle*

La Figure 17 caractérise la régression linéaire simple entre les variables intensité et la fréquence de mycorhization naturelle de *Vigna unguiculata* au champ dans les différentes zones agro-écologiques au Bénin. L'interprétation des résultats d'analyses statistiques nous permet de mentionner que le modèle est globalement significatif car la statistique F de Fischer est supérieure à la valeur théorique au seuil de 5%. Le coefficient de régression (r^2=45,2%), calculée en soustrayant les valeurs aberrantes du modèle, n'est pas très grand, mais traduit néanmoins une certaine corrélation entre les deux variables. Ceci permet de prévoir la valeur de l'intensité de mycorhization pour une valeur de fréquence. L'équation de la droite de régression est : Intensité = -19,14 + 0,445 x Fréquence.

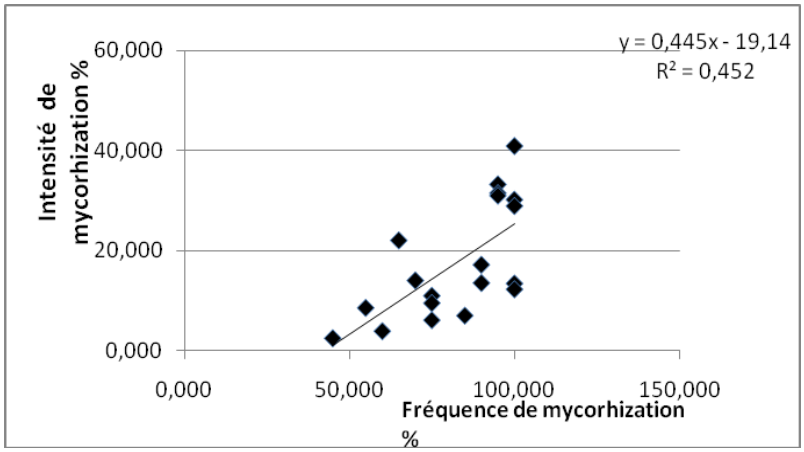

Figure 17: Régression linéaire entre l'intensité (I%) et la fréquence (F%) de mycorhization du niébé dans des champs des différentes zones agro-écologiques du Bénin.

4.3.3. Modélisation entre le phosphore assimilable et la fréquence de mycorhization naturelle

La Figure 18 caractérise la régression linéaire simple entre les variables phosphore assimilable et la fréquence de mycorhization naturelle de *Vigna unguiculata* au champ dans les différentes zones agro-écologiques du Bénin. L'interprétation des résultats d'analyse statistique nous permet de mentionner que le modèle est globalement significatif car la statistique F de Fischer est supérieure à la valeur théorique au seuil de 5%. Le coefficient de régression (r^2=61,1%), calculé en soustrayant les valeurs aberrantes du modèle, traduit une forte corrélation entre les deux variables. Ceci permet de prévoir la valeur de la fréquence de mycorhization pour une valeur de phosphore assimilable et vis versa. L'équation de la droite de régression est : Phosphore assimilable = -0,109 x Fréquence + 31,18.

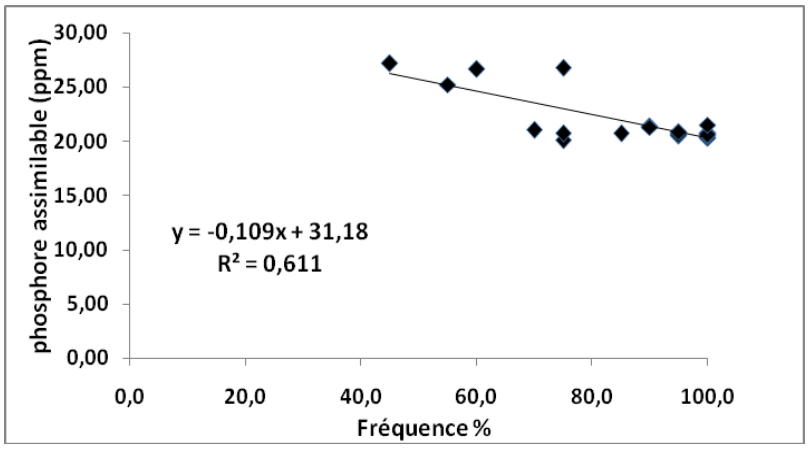

Figure 18: Régression linéaire entre la fréquence (F%) de mycorhization du niébé et le phosphore assimilable sous niébé dans des champs des différentes zones agro-écologiques du Bénin.

4.3.4. Modélisation entre le phosphore assimilable et l'intensité de mycorhization naturelle

La Figure 19 caractérise la régression linéaire simple entre les variables phosphore assimilable et intensité de mycorhization naturelle de *Vigna unguiculata* au champ dans les différentes zones agro-écologiques au Bénin. L'interprétation des résultats d 'analyse statistiques nous permet de mentionner que le modèle est globalement significatif car la statistique F de Fisher est supérieure à la valeur théorique au seuil de 5%. Le coefficient de régression (r^2=19,3%) a été calculé en soustrayant les valeurs aberrantes du modèle. Le coefficient de corrélation est certes faible, mais traduit néanmoins une certaine corrélation entre les deux variables. Ceci permet de prévoir la valeur de l'intensité de mycorhization pour une valeur de phosphore assimilable et vis versa. L'équation de la droite de régression est : Phosphore assimilable = -0,053 x Intensité + 23,07

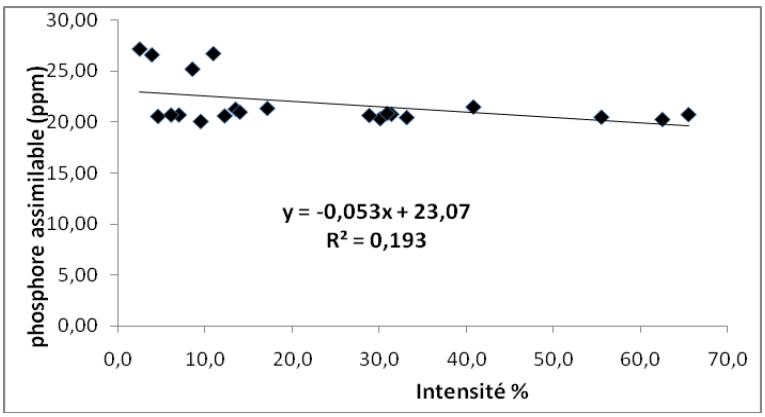

Figure 19: régression linéaire entre l'intensité (I%) de mycorhization du niébé et le phosphore assimilable sous niébé dans des champs des différentes zones agro -écologiques du Bénin.

DISCUSSION

1. Densité en spores de champignons MA

Les résultats de l'étude, confirment le statut mycorhizien du niébé, qui est associé dans les sols de notre étude à des communautés de champignons mycorhiziens arbusculaires dont la densité et la diversité sont variables suivant les différentes zones agro-écologiques.

Au Bénin, nous avons principalement la zone guinéenne (au sud), la zone soudano-guinéenne (au centre) puis la soudanienne (au nord) et enfin la soudano-sahélienne à l'extrême nord. Notre étude qui s'est intéressée aux trois premières révèle une différence importante entre la zone soudano-guinéenne et les autres en ce qui concerne le nombre des spores suivant la taille. On remarque donc comme Dione (2007) que l'effectif des spores de champignons est inversement proportionnel à leur taille dans toutes les zones agro-écologiques de l'étude. Les spores de petites tailles sont en effet beaucoup plus abondantes, suivies des moyennes et enfin des grandes. Cette hiérarchie de la structure de la communauté des Glomales notée, peut avoir son explication liée aux exigences écologiques des groupes taxonomiques auxquels appartiennent ces classes de taille.

Nos résultats sur le dénombrement selon la couleur révèlent des tendances identiques à celles observées sur la taille, confirmant la zone soudano-guinéenne comme étant la plus riches en spores.

Toutes tailles et couleurs de spores confondues, la zone soudano-guinéenne est toujours nettement différenciée par rapport aux autres. Les moyennes de densités de spores de Glomales obtenues à la floraison comme à la fructification à l'issue de cette étude sont peu comparables à celles de Bâ *et al.*, (1996) qui ont estimé le nombre de spores et de propagules d'un sol agricole. Le stade de développement végétatif a peu, voire pas d'effet significatif sur la densité des spores de Glomales dans la rhizosphère du niébé dans trois (03) zones sur les quatre (04) étudiées. Ceci témoigne d'une baisse de la sporulation des Glomales correspondant à une augmentation de la mycorhization des racines de niébé quand on passe de la floraison à la fructification.

En effet, les densités des spores de Glomales enregistrées à la floraison comme à la fructification sont assez élevées. Les champs constituent en effet un environnement de rotation continuelle de cultures. Ce qui favorise à long terme une densité élevée de spores viables et mortes dans le sol comme le confirme Oehl *et al*., (2003) dans une étude sur l'impact de l'utilisation de la terre sur la diversité spécifique des Glomales dans les agro-écosystèmes d'Europe centrale. Cette densité élevée enregistrée peut être justifiée par la

nature sableuse (taux de sable >80%) des sols des champs de niébé prospectés. Dalpé, (1989) et Bâ *et al*., (1997) mentionnaient bien également que la nature du sol influence l'abondance relative des Glomales.

Les effets entre la diversité en spores et les paramètres chimiques du sol varient (Newman *et al*., 1981). Il a été signalé qu'un effectif élevé de spores apparaissait sur une large gamme de pH et de taux de phosphore (Duponnois *et al.,* 2001). Aucune corrélation significative n'a été notée entre le total des spores, le total des spores viables et les phosphores total et assimilable. Ceci peut se justifier par les valeurs proches en taux de phosphore total et assimilable notées dans les sites d'investigation.

2. Infection racinaire

L'inoculation fongique des plants sur des sites dégradés s'est révélée très prometteuse. De nombreux auteurs y ont travaillé (Estaun *et al.,* 1997 ; Duponnois *et al.,* 2001). Mais cette pratique a besoin de la production d'inoculums efficients. On peut utiliser à défaut de l'inoculum indigène constitués de sol contenant des propagules issus des sites à planter. A cette fin, et dans le cadre de cette étude, la première étape a été d'étudier la fréquence et l'intensité de mycorhization du niébé cultivé in situ. Des fréquences variables et élevées ont ainsi été notées à l'issue de cette étude, mettant en exergue la zone soudano-guinéenne qui présente les maxima. Ces fréquences supérieures à 60% dans toutes les zones viennent confirmer le statut mycorhizien du niébé qui est une légumineuse dont les fortes fréquences de mycorhization ont été signalées par Asai, (1944).

Par contre, l'intensité de mycorhization dans tous les sites est faible et inférieure à 60% et renseigne sur la faiblesse de la capacité d'infection et de développement des Glomales indigènes du niébé au Bénin.

Avec les densités élevées de spores observées, l'on devrait s'attendre à des intensités de mycorhization aussi élevées. Cette faiblesse des intensités de mycorhization peut trouver son explication dans les taux de viabilité faibles des spores comptées sous niébé dans les différentes zones agro-écologiques. En effet, dans les sols sous niébé de cette étude, les taux de viabilité varient entre 35 et 65%. De plus, les taux de viabilité et les intensités de mycorhization reflètent les phases de sporulation et de développement intraracinaire des Glomales dans le sol des différentes zones agro-écologiques.

Généralement, ces deux phénomènes ne se déroulent pas simultanément. C'est ainsi que de la floraison à la fructification, les grandes augmentations d'intensité de mycorhization vont avec de faibles voire nulles augmentations de densité en spores. Smith *et al.,* (1979) avaient

rapporté que les infections mycorhiziennes dans le système racinaire des plantes varient selon les génotypes de l'espèce, influencée par les conditions environnementales, l'âge de la plante, la teneur en phosphore du sol.

Les résultats de cette étude confirment ces constats ci-dessus. La forte à moyenne corrélation négative entre la fréquence, l'intensité et le phosphore assimilable vient davantage corroborer ces remarques. Ces résultats sont confirmés par les travaux de Mason *et al.,* (2000) qui signalent que de faibles fréquences et intensités de mycorhization sont liées à une forte teneur de phosphore assimilable.

3. Richesse spécifique, diversité et distribution des Glomales

Quatre (4) à six (6) espèces de Glomales ont été identifiées suivant les différents secteurs de la zone guinéenne (au sud) à la zone soudano-guinéenne (au nord). Nos résultats sont conformes à ceux de Cuenca *et al.,* (1998) et Sjöberg (2005) qui ont travaillé sur la diversité des Glomales d'aires naturelles et perturbées au Venezuela. La diversité des Glomales dans les sites prospectés dans notre étude est très faible lorsqu'on la compare à celle enregistrée par Oehl *et al*., (2003) dans des agro-écosystèmes d'Europe.

Glomus et Scutellospora se sont probablement adaptées aux conditions de culture du niébé et sont devenus les genres les plus représentatifs dans ces types de sol. La méthode d'extraction des spores sur du s ol directement ramené des champs, pourrait être facteur expliquant la faiblesse de la diversité notée. En utilisant une technique comparable pour estimer le nombre de spores d'un sol agricole, An *et al.,* (1990) ont identifié dix espèces tandis que l'utilisation préalable de la technique de piégeage sur plante piège a révélé 17 espèces de Glomales sur le même sol. Le dénombrement des spores de Glomales de nos sites est cependant plus proche de la réalité car le piégeage augmente le nombre de propagules dans le sol. L'extraction directe permet en outre de tenir compte de la compétitivité des Glomales présents dans le sol de station, de la nature du substrat de culture puis du possible état de dormance de certaines espèces dans le sol (Bâ *et al*., 1996) dans les taux de présence des différents taxa.

Plus de 90% des spores récoltées dans les sols des différentes zones agro-écologiques appartiennent au genre *Glomus*. L'espèce la plus représentée est *Glomus sp2* avec. *Glomus* sporule abondamment sur des sols sableux et constitue une composante majeure de la flore endomycorhizogene dans plusieurs niches écologiques (Blaskowski., 1993). Cette large distribution de *Glomus* mentionnée dans cette étude est conforme aux observations de Rehead (1977) au Nigéria, Musoko *et al.,* (1994) au Cameroun puis Bâ *et al*., (1996) au Sénégal.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude a permis de déterminer la diversité des champignons mycorhiziens arbusculaires associés au niébé (*Vigna unguiculata*) en relation avec les caractéristiques physico-chimiques des divers systèmes agro-écologiques afin de leur valorisation dans l'itinéraire technique du niébé au Bénin.

Il apparaît avec les résultats obtenus que la zone soudano-guinéenne est :

- La moins riche physico-chimiquement.
- La plus riche en spores viables et présente les meilleures densités et intensités de mycorhization racinaire.
- La plus riche en espèce de Glomales, mais inégalement réparties dans la zone.

De plus au vu des fortes corrélations positives entre *Glomus* et *Scutellospora* dans cette zone, des cultures monosporales de *Glomus* et *Scutellospora* natifs de cette zone sont envisageables pour produire de l'inoculum à introduire dans l'itinéraire technique du niébé au Bénin pour palier aux besoins en engrais minéral. Les Glomales n'étant pas spécifiques à un seul hôte végétal, cet inoculum pourrait être utilisé sur d'autres cultures pour palier les carences minérales dans les sols de culture du Bénin.

Des études ultérieures en serre devront se pencher sur l'étude de la variabilité des communautés de Glomales suivant les variétés de niébé utilisées dans les différentes zones agro-écologiques du Bénin afin de déterminer si les observations notées dans le cadre de cette étude sont liées à des effets variétés ou à des effets zones. Ainsi, les méthodes moléculaires pour une caractérisation plus précise des espèces confirmeront ou infirmeront les résultats obtenus dans cette étude.

REFERENCES

1. **Accrombessy K.I., 1997.** Contribution à l'étude de l'impact des hyménoptères oophages sur le développement des coléoptères bruchidae, ravageurs des cultures et des stocks de niébé en zone guinéenne. Mémoire de DEA en biologie de développement .université du Benin/ faculté des sciences / département de zoologie, Lomé, Togo. pp 42
2. **Aho N., 1988** Contraintes et atouts du ni ébé. In : les légumineuses à g raines. Fondation internationale pour la science-fis-grev. Turegatan, Stockholm, suède. 19, 3: pp 18-19.
3. **An Z.Q., Hendrix J.W., Hershman D.E., Henson G.T., 1990**. Evaluation of the most probable number (MPN) and wet-sieving methods for determining soil-borne populations of endogonaceous mycorrhizal fungi. Mycologia 82: 576-581.
4. **Asai T., 1944.** Über die mycorrhizenbildung der leguminosen pflanzen. Jpn. J. Bot. 13: 463–485.
5. **Ba M., Dalpé Y., Guissou T., 1996**. Les Glomales d'*Acacia holosericea* et *d'Acacia mangium* bois et forêts des tropiques 250 : pp 6-14
6. **Ba A.M., Buyck B., Descheres P., Eyssartier G., Ifono F.G., Ducousso M., Wey J., Giraud E., Fontana A., Diallo M.A.K. & Drefus B., 2000**. Diversity and use of ectomycorhizzal fungi in guinea tropical rain-forest. An European cost 830 workshop: selection strategies for plant-beneficial microorganisms, Inra Nancy, France.
7. **Bâ A.M., Duponnois R., Guissou T., Sanon K.B., Dianou D., 1997.** Mobilization of rock phosphates by soil microorganisms associated with *Zizyphus mauritiana Lam. and Vigna unguiculata (L.) Walp*. In: Soil Fertility Management in West African Land Use Systems (G. Renard, A. Neef, K. Becker and M. von O ppen, eds), Margraf Verlag, Weikersheim, Germany, pp. 79-84.
8. **Baize D., 2000**. Guide des analyses en pedologie. 2eme edition revue et augmentee. Inra, paris.257p.
9. **Blaskowski J., 1993**. Comparative studies on the occurrence of arbuscular fungi and mycorrhizae (Glomales) in cultivated and uncultivated soils of Poland. Acta mycol. 28:93–140.
10. **Boullard B., 1968**. Les mycorhizes : monographie 2 Masson & cie, paris, France 135p
11. **Boyer J.S. 1982**. Plant productivity and environment. Science 218: 443-448
12. **Brundrett M.C., Bougher N., Dell B., Grove T. and Malajczuk N., 1996**. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Aciar monograph 32, canberra.
13. C**isse N., Thiaw S., Ndiaye M., et Hall A.E., 1996**. Guide de production de niébé. Fiches techniques, isra, 6 (2) : 1-12.
14. **Cuenca G., de Andrade Z., Escalante G., 1998.** Diversity of glomalean spores from natural, disturbed and revegetated communities growing on nut rient-poor tropical soils. Soil biology and biochemistry 30: 711–719.
15. **Dalpé Y., 1989.** Inventaire et répartition de la flore endomycorizienne de dunes et de rivages maritimes du Québec, du Nouveau-Brunswick et de la Nouvelle-Ecosse. Rev. Ecol. Syst. 116:219-236.

16. **Dalpé Y., Diop T.A., Plenchette C. and Gueye M., 2000**. Glomales species associated with surface and deep rhizosphère of *faidherbia albida* in Senegal. Mycorrhiza 10,125-129.
17. **Dione B., 2007.** Valorisation des communautés de champignons mycorhiziens associés aux plantes pionnières dans la domestication des essences forestières en milieu sahélien. Diplôme national de master en sciences et technologie. pp46.
18. **Ducousso M., 1991**. Importance des symbioses racinaires pour l'utilisation des acacias d'Afrique de l'ouest. Nogent-sur-marne. Dakar, Senegal, cirad-forêt/isra, 205 p
19. **Duponnois R., Plenchette C., Thioulouse J., Cadet P., 2001.** The mycorrhizal soil infectivity and arbuscular mycorrhizal fungal spore communities in soils of different aged fallows in senegal. Applied soil ecology 17, 239–251
20. **Estaùn V., Save R., Biel C., 1997.** AM inoculation as a biological tool to improve plant re-vegetation of a disturbed soil with *Rosmarinus officinalis* under semi-arid conditions. App. Soil ecol. 6, 223–229.
21. **Fery, R.L. 1985**. The genetics of cowpeas: a review of the world literature. In: Cowpea Research, Production and Utilization.
22. **Gerdemann J.W., Nicolson T.H., 1963**. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans.br.mycol.soc.46: 235-244.
23. **Glitho I.A., 1990.** Les Bruchidae ravageurs de *Vigna unguiculata* (l.) Walp. En zone guinéenne. Analyse de la diapause reproductrice chez les males de *Bruchidius atrolineatum* (pic). Thèse de doctorat es sciences. Universite de tours. 100p.
24. **Goulole A.E., 1990.** Dynamique des populations des bruches (coleoptera: bruchidae) sur le niébé Vigna unguiculata (l.) Walp. Mémoire d'ingénieur agronome, univ. Nat. Bénin; univ. Ibadan. 108p.
25. **Harley J.L., Smith S.E., 1983**. Mycorrhizal symbiosis academia. Press, New York & London.
26. **IITA 1982.** International Institute of Tropical Agriculture. Automated and semi-automated methods of soil and plant analysis. IITA manual series no pp 7. 33.
27. **Inrab 1995**. Cultures vivrières, céréales, légumineuses à graines et tubercules. Fiche technique. Pp 33-36
28. **Kadidia B.S., Amadou M., Ba., Dexheimer J., 1997**. Mycorrhizal status of some fungi beneath indigenous trees in Burkina Faso. In forest ecology and management 98 61-67.
29. **Koske R.E., and Tessier B., 1983**. A convenient permanent slide mounting medium. Mycol. Soc. Am. Newsl. 34:59.
30. **Kossou D.K., Gbèhounou G., Ahanchédé A., Ahohuendo B., Bouraïma Y., van Huis A., 2001.** Indigenous cowpea production and protection practices in Benin insect sci. Applic. Vol. 21, no. 2, , pp.123-132
31. **Mason P.A., Ingleby K., Munro R.C., Wilson J., Ibrahim K., 2000**. Interactions of nitrogen and phosphorus on mycorrhizal development and shoot growth of *Eucalyptus globulus* (Labill.) seedlings inoculated with two different ectomycorrhizal fungi. Forest Ecology and Manangement 128: 259–268.
32. **Miller J.C., Zary K.W., Fernandez G.C.J., 1986**. Inheritance of n_2 fixation efficiency in cowpea. Euphytica 35: pp551-560.

33. **Morton J.B., 1988.** Taxonomy of VA mycorrhizal fungi: classification, nomenclature and identification, Mycotaxon, 32: 267-324
34. **Morton J.B., Benny G.L., 1990**. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (zygomycetes) : a new order, Glomales, two new suborders, glomineae and gigasporineae, and two new families, acaulosporaceae and gigasporaceae, with an emendation of glomaceae. Mycotaxon 37: 471-491. Academy of arts and sciences 57: 291-341.
35. **Musoko M., Last T., Mason P., 1994.** Populations of spores of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi disturbed soils of secondary semideciduous moist tropical forest in Cameroun. Forest ecology management. pp 359-377.
36. **Newberry D.M., Alexander I.J., Thomas D.W., Gartlan J.S., 1998**. Ectomycorhizal rain-forest legumes and soil phosphorus in korup national park, Cameroun. New phytol. 109, 433-455.
37. **Newman C.M., Schulman L.S., 1981.** Infinite Clusters in Percolation Models. Journal of Statistical Physics 26, 3,
38. **Oehl F., Sieverding E., Ineichen K., Mäder P., Boller T., Wiemken A., 2003**. Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of central Europe. Applied and environmental microbiology 69, 2816-2824.
39. **Onguene N.A., 2000**. Diversity and dynamics of mycorrhizal associations in tropical rain forests with different disturbance regimes in south cameroon, wageningen university, netherlands
40. **Pandey R.K., 1987**. A farmer's primer on growing cowpea on riceland. International rice research institute (irri) and international institute of tropical agriculture (iita). Los banos, Laguna, Philippines. 218p.
41. **Pasquet R.S., 1993**. Classification intra spécifique des formes spontanées de *vigna unguiculata*(l.) Walp. (Fabaceae) à partir des données morphologiques. Bulletin du jardin botanique national de Belgique 62 : pp 127-173.
42. **Phillips J.M., Hayman D.S., 1970.** Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc. 5 : 158-161.
43. **Peyronel B., Fassi B., Fontana A., Trappe J.M., 1969.** Terminology of mycorrhizae. Mycologia 61:410–411
44. **Redhead J.F., 1977.** Endotropic mycorrhizas in Nigeria : species of the endogonaceae and their distribution. Trans. Br. Mycol. Soc. 69 : 275-280.
45. **Sarr B., Diouf O., Diouf M., Roy-macauley H., and Brou C., 2001.** Utilisation de parametres agronomiques comme critères de résistance a la sécheresse chez trois variétés de niébé cultivées au Sénégal et au Niger. *Secheresse*, 12(4) : 259-266.
46. **Schubler A., Schwarzott, Walker C., 2001**. A new fungal phylum, the glomeromycota: phylogeny and evolution mycol. Res. 105 (12): 1413±1421 (December 2001). The British mycological society
47. **Sieverding E., 1991**. Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Gtz press. Germany.
48. **Singh S.R., Allen D.J., 1979.** Les insectes nuisibles et les maladies du niébé manuel no 2. IITA, Ibadan. 113 pp.

49. **Sjöberg J., 2005.** Arbuscular mycorrhizal fungi – occurrence in Sweden and interaction with a plant pathogenic fungus in barley. Doctoral dissertation. Faculty of natural resources and agricultural sciences department of crop production ecology, Uppsala.
50. **Smith S.E., Nicholas D.J.D. , Smith F.A., 1979.** The effect of early mycorrrhizal infection on nodulation of *Medicago trunculata and Trifolium subterraneum*. Soil Biology and Biochemistry, 11, 469-473.
51. **Smith S.E., Read D.J., 1997**. Mycorrhizal symbiosis. 2nde édition. Academic press, San Diego, USA. 605 pp.
52. **Staddon P.L., Thompson K., Jakobsen., Grime P.J., Askew A.P., and Fitter A., 2003.** Mycorrhizal fungal abundance is affected by long-term climatic manipulations in the field. Global change biology 9: 186-194
53. **Strullu D.G., Perrin R., Plenchette., Garbaye J., 1991.** Les mycorhizes des arbres et des plantes cultivées. Lavoisier, Paris, 256 p.
54. **Summerfield R.J., Huxley P.A., Steele W., 1974.** Cowpea (*Vigna unguiculata* (l) walp. Field crop abstracts 27 (7): pp 301-312.
55. **Thoen D., Bâ A.M., 1989**. Ectomycorrhizae and putative ectomycorrhizal fungi of *Afzelia africana* and *Uapaca guineensis* in southern Senegal. The new phytologist 113: 549-559
56. **Trouvelot A., Kough J.L., Gianinazzi-pearson V., 1986.** Mesure du taux de mycorhization va d'un système radiculaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In : physiological and genetical aspects of mycorrhizae, Gianinazzi-pearson V. and Gianinazzi S. (eds.). Inra press, Paris, pp. 217-221.

    Vaillancourt R.E., Weeden N.F., Barnard J., 1993. Isozyme diversity in the cowpea species complex (*Vigna unguiculata*). Crop science 33 (3) : pp 606-613.
57. **Vanderborght T., Baudoin J.P., 2001.** Niebe (*vigna unguiculata* (l.) Walp) in agriculture en Afrique tropicale , édité par raemaekers, R.H., DGCI, Bruxelles, Belgique. Pp 507-569.
58. **Verdcourt B., 1970.** Studies in the leguminosae-papilionoideae for the flora of tropical east Africa . New bulletin 24: pp 507-569
59. **Yavoedji G., 2000**. Contribution a l'étude des mouvements de *Callosobruchus maculatus f.* entre trois sites trophiques. Thèse d'ingenieur agronome. FSA/ UNB. 102p.
60. **Yorou S.N., de Kesel A., Sinsin B., Codjia J.T.C., 2001**. Diversité et productivité des champignons comestibles de la foret classée de Wari-maro (Benin, Afrique de l'ouest). In plants systematics and phytogeography for the understanding of african biodiversity. Proceeding of the xvith AETFAT congress, held in 2000 at the national botanic garden of Belgium.

ANNEXES

ANNEXES 1 : Tableau des codes utilisées pour Figure 13 et Figure 14 de l'ACP.

Code	Flor M-C	Fruc M-C	Flor Z-C1	Flor Z-C2	Fruc Z-C1	Fruc Z-C2	Flor B-A	Fruc B-A	P ass	Ptot	M.O
Inti-tulé	Champs en zone guinéenne au stade de floraison	Champs en zone guinéenne au stade de fructification	Champs en zone soudanoguinéenne sur ferralitique au stade de floraison	Champs en zone soudanoguinéenne sur ferrugineux au stade de floraison	Champs en zone soudanoguinéenne sur ferralitique au stade de floraison	Champs en zone soudanoguinéenne sur ferrugineux au stade de fructification	Champs en zone soudanienne sur ferrugineux au stade de floraison	Champs en zone soudanienne sur ferrugineux au stade de fructification	Phosphore assimilable	Phosphore total	Matière organique