



UNIVERSITE  
JEAN LOROUGNON GUEDE  
**UFR AGROFORESTERIE**

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Union-Discipline-Travail  
-----

Ministère de l'Enseignement Supérieur et  
de la Recherche Scientifique

ANNEE : 2019-2020

N° D'ORDRE : 022

# THESE DE DOCTORAT

**Mention : Agriculture et Foresterie Tropicale**

**Spécialité : Microbiologie des sols**

Isolement et sélection des rhizobia indigènes  
nodulant le soja (*Glycine max* L. Merrill) dans le  
Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire : Evaluation de leurs  
performances symbiotique et agronomique

CANDIDAT

Nom : AMANI

Prénom : Kouadio

Soutenue publiquement  
le : 05 Octobre 2020

## JURY

Président : Mme TIDOU Abiba Sanogo épouse KONE, Professeur  
Titulaire, Université Jean Lorougnon Guédé

Co-Directeurs : M. KONATE Ibrahim, Maître de Conférences, Université  
Jean Lorougnon Guédé

M. FONDIO Lassina, Maître de Recherche, Centre  
National de Recherche Agronomique

Rapporteur : M. PENE Bi Crépin, Directeur de Recherches, SUCAF-CI

Examineurs : M. KOFFI N'Goran Mathurin, Maître de Conférences,  
Université Jean Lorougnon Guédé

M. KOUAME Christophe, Maître de Recherche, Centre  
International pour la Recherche en Agroforesterie

# TABLE DES MATIERES

<b>DEDICACES</b> .....	<b>viii</b>
<b>REMERCIEMENTS</b> .....	<b>ix</b>
<b>LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS</b> .....	<b>xii</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	<b>xiv</b>
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	<b>xvii</b>
<b>LISTE DES ANNEXES</b> .....	<b>xviii</b>
<b>INTRODUCTION GENERALE</b> .....	<b>1</b>
<b>Première partie : GENERALITES</b>	
<b>1. Généralités sur le soja</b> .....	<b>5</b>
<b>1.1. Description botanique</b> .....	<b>5</b>
<b>1.2. Taxonomie</b> .....	<b>6</b>
<b>1.3. Ecologie</b> .....	<b>8</b>
<b>1.4. Origine et expansion de la culture</b> .....	<b>9</b>
<b>1.5. Production</b> .....	<b>10</b>
<b>1.6. Importance</b> .....	<b>11</b>
1.6.1. Importance nutritionnelle.....	11
1.6.2. Importance sanitaire et thérapeutique .....	12
1.6.3. Importance agronomique et écologique.....	13
<b>2. Rhizobium</b> .....	<b>13</b>
<b>2.1. Définition</b> .....	<b>13</b>
<b>2.2. Historique et taxonomie</b> .....	<b>14</b>
<b>2.3. Diversité des rhizobia nodulant le soja</b> .....	<b>15</b>
<b>3. Etablissement de la symbiose</b> .....	<b>16</b>
<b>3.1. Conditions pour l'établissement de la symbiose</b> .....	<b>16</b>

<b>3.2. Différentes étapes de la fixation symbiotique.....</b>	<b>17</b>
3.2.1. Pré-infection.....	18
3.2.2. Infection.....	18
3.2.3. Développement du nodule.....	19
<b>4. Contribution de la symbiose légumineuse-rhizobia dans la disponibilité de l'azote pour la plante.....</b>	<b>19</b>
<b>4.1. Place de l'azote dans la nutrition de la plante.....</b>	<b>19</b>
<b>4.2. Cas particulier de la symbiose légumineuse-rhizobium.....</b>	<b>20</b>
4.2.1. Intérêt de la symbiose légumineuse-rhizobium dans la biodisponibilité de l'azote	20
4.2.2. Spécificité de l'hôte.....	21
<b>5. Facteurs limitant la fixation biologique de l'azote.....</b>	<b>22</b>
<b>5.1. Facteurs environnementaux.....</b>	<b>22</b>
5.1.1. Salinité.....	22
5.1.2. Température.....	23
5.1.3. pH.....	24
<b>5.2. Facteurs anthropiques.....</b>	<b>24</b>
5.2.1. Métaux lourds.....	24
5.2.2. Pesticides.....	25
<b>6. Autres éléments majeurs limitant la croissance des plantes.....</b>	<b>26</b>
<b>6.1. Phosphore.....</b>	<b>26</b>
<b>6.2. Potassium.....</b>	<b>27</b>
<b>Deuxième partie : MATERIEL ET METHODES</b>	
<b>1. Zone d'étude.....</b>	<b>29</b>
<b>1.1. Situation géographique.....</b>	<b>29</b>
1.1.1. Département de Daloa.....	30

1.1.2. Département de Divo .....	30
<b>1.2. Sols, climat et végétation .....</b>	<b>31</b>
1.2.1. Département de Daloa.....	31
1.2.2. Département de Divo .....	31
<b>1.3. Activités agricoles .....</b>	<b>32</b>
1.3.1. Département de Daloa.....	32
1.3.2. Département de Divo .....	32
<b>1.4. Justification du choix de la zone d'étude.....</b>	<b>32</b>
<b>2. Matériel .....</b>	<b>34</b>
<b>2.1. Matériel biologique.....</b>	<b>34</b>
2.1.1. Matériel végétal .....	34
2.1.2. Matériel bactérien .....	34
<b>2.2. Matériel technique.....</b>	<b>34</b>
<b>3. Méthodes .....</b>	<b>36</b>
<b>3.1. Constitution d'une collection de rhizobia indigènes nodulant le soja.....</b>	<b>36</b>
3.1.1. Collecte des échantillons de sols.....	36
3.1.2. Piégeage des bactéries nodulant le soja .....	37
3.1.3. Collecte et conservation des nodules .....	37
3.1.4. Isolement des rhizobia .....	38
3.1.5. Purification, conservation et nomenclature des isolats bactériens.....	38
3.1.6. Caractérisation biochimique et physiologique des isolats .....	39
3.1.6.1. Coloration de Gram.....	39
3.1.6.2. Vitesse de croissance.....	39
3.1.7. Authentification des isolats et évaluation préliminaire de leur efficacité symbiotique .....	40

3.1.7.1. Préparation du substrat .....	40
3.1.7.2. Stérilisation des graines.....	41
3.1.7.3. Préparation des inocula et inoculation des plantules.....	41
<b>3.2. Evaluation du spectre d'hôtes et présélection des isolats.....</b>	<b>41</b>
3.2.1. Evaluation du spectre d'hôtes de chaque isolat bactérien.....	41
3.2.2. Evaluation des activités solubilisatrices du phosphate et du potassium par les isolats .....	42
3.2.2.1. Solubilisation du phosphate .....	42
3.2.2.2. Solubilisation du potassium .....	43
<b>3.3. Evaluation <i>in vitro</i> des facteurs environnementaux et anthropiques sur la croissance des isolats bactériens.....</b>	<b>43</b>
3.3.1. Effet des facteurs environnementaux sur la croissance des isolats bactériens.....	43
3.3.1.1. Tolérance aux variations de pH.....	43
3.3.1.2. Tolérance à la température .....	44
3.3.1.3. Tolérance à la salinité.....	44
3.3.2. Effet des facteurs anthropiques sur la croissance des isolats bactériens.....	44
3.3.2.1. Effet des métaux lourds.....	44
3.3.2.2. Effet des Pesticides.....	45
<b>3.4. Evaluation au champ de l'efficacité symbiotique et agronomique des isolats présélectionnés .....</b>	<b>45</b>
3.4.1. Dispositif expérimental.....	45
3.4.2. Inoculation et semis des graines de soja .....	47
3.4.3. Observations et mesures .....	49
3.4.3.1. Détermination de l'incidence des isolats sur la nodulation et les paramètres végétatifs du soja.....	49

3.4.3.2. Détermination de l'incidence des isolats sur la production et le rendement en gousses et en graines du soja.....	50
<b>3.4.4. Evaluation de l'effet post récolte du soja inoculé sur la qualité du sol.....</b>	<b>50</b>
<b>3.5. Analyses statistiques des données.....</b>	<b>51</b>

## Troisième partie : RESULTATS ET DISCUSSION

<b>1. Résultats.....</b>	<b>52</b>
<b>1.1. Collection de rhizobia indigènes nodulant le soja.....</b>	<b>52</b>
1.1.1. Influence de l'origine du sol et du précédent cultural sur la nodulation.....	52
1.1.2. Caractéristiques morphologiques et biochimiques des isolats bactériens.....	53
1.1.3. Isolats bactériens du soja authentifiés.....	56
1.1.4. Evaluation du spectre d'hôtes de soja des isolats authentifiés.....	59
1.1.4.1. Capacité d'induction de nodosités sur différents cultivars de soja.....	59
1.1.4.2. Efficacité symbiotique des isolats locaux du soja.....	62
1.1.4.3. Corrélation entre le nombre de nodules et la biomasse sèche produite.....	66
1.1.5. Capacité des isolats présélectionnés à solubiliser <i>in vitro</i> le phosphate tricalcique et le potassium.....	68
1.1.6. Impact des facteurs environnementaux et anthropiques sur la viabilité des rhizobia locaux nodulant le soja <i>in vitro</i> .....	70
1.1.6.1. Effet du pH sur la survie des rhizobia locaux.....	70
1.1.6.2. Effet de la température sur la croissance des rhizobia locaux.....	72
1.1.6.3. Effet du sel sur la croissance des rhizobia indigènes.....	73
1.1.6.4. Effet des métaux lourds sur la croissance des rhizobia indigènes.....	74
1.1.6.5. Effet des pesticides sur la croissance des bactéries nodulant le soja.....	77
<b>1.2. Sélection des rhizobia locaux performants, compétitifs et capables de booster la productivité du soja.....</b>	<b>80</b>

1.2.1. Effet des rhizobia locaux sur nodulation de différents cultivars de soja en condition paysanne.....	80
1.2.1.1. Cultivar Canarana.....	80
1.2.1.2. Cultivar Doko.....	82
1.2.1.3. Cultivar Piramama.....	84
1.2.2. Effet des rhizobia locaux sur la croissance et le développement du soja .....	87
1.2.2.1. Effet des rhizobia locaux sur la hauteur des plantules du soja en début de floraison.....	87
1.2.2.2. Effet des rhizobia locaux sur la biomasse fraîche du soja.....	90
1.2.2.3. Effet des rhizobia locaux sur la biomasse sèche du soja en début de floraison	94
1.2.2.4. Effet des rhizobia locaux sur le délai de floraison du soja.....	98
1.2.2.5. Effet des rhizobia locaux sur la vigueur des plants et la coloration des feuilles	99
1.2.2.6. Effet des rhizobia locaux sur le niveau d’insertion des premières gousses ....	100
1.2.2.7. Effet des rhizobia locaux sur le délai de maturité des gousses .....	103
1.2.3. Effet des rhizobia locaux sur le nombre et le poids des gousses des cultivars de soja .....	104
1.2.3.1. Cultivar Canarana.....	104
1.2.3.2. Cultivar Doko.....	107
1.2.3.3. Cultivar Piramama.....	109
1.2.4. Effet des rhizobia locaux sur le poids de 100 graines et le rendement en graines des cultivars de soja.....	111
1.2.4.1. Cultivar Canarana.....	111
1.2.4.2. Cultivar Doko.....	114
1.2.4.3. Cultivar Piramama.....	116
<b>1.3. Evaluation de l’arrière effet des rhizobia locaux inoculés au soja sur la qualité des sols.....</b>	<b>118</b>

1.3.1. Caractéristiques physiques et chimiques des sols des sites d'expérimentation .....	118
1.3.2. Arrière effet des rhizobia locaux inoculés au soja sur la qualité des sols .....	119
<b>2. Discussion .....</b>	<b>124</b>
<b>2.1. Isolats locaux de soja (<i>Glycine max</i>) collectés .....</b>	<b>124</b>
<b>2.2. Efficacité symbiotique et agronomique des isolats collectés .....</b>	<b>133</b>
<b>2.3. Arrière effet des rhizobia inoculés au soja sur la qualité du sol.....</b>	<b>138</b>
<b>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>140</b>
<b>REFERENCES.....</b>	<b>144</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>167</b>

## DEDICACES

*Ce travail de thèse n'aurait pas connu d'aboutissement sans la confiance, l'amour et le soutien de ma famille à qui je le dédie. Il s'agit notamment de :*

*mon père YEBOUE Amani et ma mère KOFFI Ahou Amélie pour avoir cru en moi ;*

*mes frères Armand et Maxime AMANI ;*

*mon aînée YEBOUE Roséline ;*

*mes sœurs Anne Marie, Yolande, Adéline, Nadine, Nicole et Natacha AMANI ;*

*ma fiancée N'GUESSAN Béatrice pour sa patience ;*

*mes deux adorables garçons Fréjus et Yacimien AMANI.*

*Je dédie aussi cette thèse à Feu KOUASSI Kouakou Silvain qui a pris une part active à sa réalisation. Que son âme repose en paix.*

## REMERCIEMENTS

La réalisation de ce travail a été la résultante des efforts conjugués de plusieurs personnes morales et physiques. C'est pourquoi, voudrais-je à travers cette lucarne leur dire merci.

Cette thèse de l'Université Jean Lorougnon Guédé (UJLoG) ayant été réalisée en cotutelle avec le Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), mes premiers mots de remerciements sont adressés aux premiers responsables de ces deux structures à savoir :

- Mme TIDOU Abiba Sanogo épouse KONE, Professeur Titulaire, Présidente de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, pour avoir autorisé l'exécution de ce travail et pour l'honneur qu'elle me fait en présidant le jury chargé de l'évaluer.

- M. YTE Wongbé, Directeur de Recherches, Directeur du Centre National de Recherche Agronomique pour avoir permis que sa structure soit partie prenante de cette thèse.

Mes remerciements vont aussi à l'endroit de :

- M. KONE Tidiani, Professeur Titulaire, Vice-Président de l'Université Jean Lorougnon Guédé, Chargé de la Pédagogie, de la Vie universitaire, de la Recherche et de l'Innovation pour avoir été toujours attentifs à nos préoccupations.

- M. AKAFFOU Doffou Sélastique, Maître de Conférences, Vice-Président de l'Université Jean Lorougnon Guédé, Chargé de la Programmation, de la Planification et des Relations Extérieures pour ses encouragements et l'intérêt qu'il a porté à ce travail.

- Mme TONESSIA Dolou Charlotte, Maître de Conférences, Directrice de l'UFR Agroforesterie de l'Université Jean Lorougnon Guédé et M. BEUGRE Avit Grah Maxwell, Maître de Conférences, Directeur du Laboratoire d'Agrovalorisation, pour leurs disponibilités chaque fois que j'ai eu à les solliciter pour des questions administratives.

- M. Zoumana COULIBALY, Zootechnicien, Directeur Régional du Centre National de Recherche Agronomique de Bouaké pour m'avoir reçu dans sa structure.

- M. KOUAKOU Amani Michel, Maître de Recherche, Directeur de la Station de Recherche sur les Cultures Vivrières et Maraichères du Centre National de Recherche Agronomique de Bouaké de m'avoir accueilli dans sa station.

Je voudrais exprimer toute ma gratitude à M. N'GBESSO Mako François De Paul, Maître de Recherche, Chef du programme Cultures Maraichères et Protéagineuses du Centre National de Recherche Agronomique de Bouaké pour son implication personnelle et les moyens qu'il a mis à ma disposition pour la réalisation de ce travail.

Ce mémoire n'aurait pu être effectif sans le soutien moral, matériel et la disponibilité de deux personnes de bonnes volontés :

- M. KONATE Ibrahim, Maître de Conférences à l'Université Jean Lorougnon Guédé, est co-Directeur de cette thèse. Je voudrais vous dire merci pour tous les efforts et sacrifices inestimables que vous avez consentis pour la réalisation de ces travaux. Les qualités humaines exceptionnelles que vous m'avez toujours témoignées depuis ma Licence où vous m'avez fait découvrir le « monde merveilleux des microorganismes » m'ont été très bénéfiques. Les mots ne sont certainement pas assez forts pour vous exprimer ma gratitude et ma reconnaissance mais sachez que vous avez semé dans de la « terre fertile ».

- M. FONDIO Lassina, Maître de Recherche, Directeur Régional du Centre National de Recherche Agronomique de Korhogo est co-Directeur de ce travail. Merci pour votre générosité, votre promptitude et votre engagement personnel pour la réalisation des travaux. Nos moments de travail ont été certes courts mais très enrichissants. Merci pour vos encouragements indéfectibles et pour vos « coups d'œil de chercheur » qui m'ont permis de recadrer ce travail.

Je voudrais en toute modestie remercier M. PENE Bi Crépin, Directeur de Recherches à SUCAF-CI qui me fait l'honneur d'être le rapporteur de cette thèse. Mes remerciements vont aussi à l'endroit de M. KOFFI N'Goran Mathurin, Maître de conférences à l'Université Jean Lorougnon Guédé et M. KOUAME Christophe, Maître de Recherche au Centre International de Recherche en Agroforesterie (ICRAF) pour avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Mes remerciements vont aussi à l'endroit de M. FILALI-MALTOUF Abdelkarim, Professeur Titulaire, Directeur du laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire de l'Université Mohamed V de Rabat (Maroc) pour ses conseils avisés et sa contribution à la réalisation de ce travail.

Je ne saurai oublier M. KOUAME Kouamé Victor, Maître-Assistant, Directeur de la scolarité centrale de l'Université Jean Lorougnon Guédé, M. N'DRI Olivier, Pharmacien, Directeur Départemental de la santé à Sinfra et M. N'DRI Sylvain, Enseignant de Philosophie au Lycée Antoine GAUZE de Daloa pour tout le soutien à mon égard et pour l'ambiance fraternelle qu'ils

ont créés autour de moi. J'espère que vous serez fiers du travail ainsi réalisé par votre jeune frère que je suis.

Je tiens à remercier M. COULIBALY Noupé, Attaché de Recherche au CNRA pour tout son soutien.

J'ai eu la chance de côtoyer d'autres personnes très avisées qui n'ont cessé de m'encourager et de me prodiguer de sages conseils. Ainsi, je voudrais remercier :

- M. KOKO Anoma Casimir, M. ZRO Bi Gauhi Ferdinand, M. KOUAME Kan Benjamin, M. SORO Dogniméton et M. AYOLIE Koutoua, tous Maîtres de conférences à l'UJLoG pour leur soutien moral et conseils avisés ;

- les enseignants-Chercheurs du Département Biochimie-Microbiologie qui m'ont adopté. Un merci particulier à M. KOUASSI Clément, M. KRA Athanase, M. VOKO Bi Rosin et M. OUATTARA Abou, tous Maître-Assistants ;

- les membres de l'Unité de Recherche en Génétique et Epidémiologie Moléculaire (URGEM) pour la très bonne ambiance qui a prévalu pendant notre période de travail. Je suis très reconnaissant à M. AHOUTY Bernadin, M. SIMARO Siriki et M. N'DJETCHI Martial, tous Docteurs en Génétique et Epidémiologie moléculaire, à M. KONAN Thomas et M. ABE Allepo Innocent ;

- M. N'GUETTIA Jérémie et M. KANATE Zoumana, techniciens supérieurs au CNRA de Bouaké, pour l'assistance technique qu'ils m'ont apportée lors de la réalisation de ce travail ;

- Mes compagnons de paillasse, GUEI Raïssa et OUATTARA Adama pour la convivialité qui a régné entre nous.

Ce travail n'aurait pas été possible sans l'aide précieuse de certaines personnes qui m'ont donné de « bons coups de mains ». Je les remercie également du fond du cœur. Il s'agit notamment de KONAN Arsène, ATSE Marie Paule, KONAN Cédric, KOFFI Jean Mathias, KOUAKOU Eugène, ASSOH Bernadette, KOUADIO Didier Marius, KOUAKOU Bertrand, KOFFI Jean Olivier, YAO Nicole, KOUADIO Gédéon, BLEHOU Clotaire, KONAN Bertin, OUATTARA Gaoussou et KOFFI Souares.

Je ne pu terminer mon propos sans remercier très chaleureusement KOUADIO Marius, DEKAO Henri Joël, N'DRI Prisca, YOBOUE Gaétan, KONAN Bozador, KOFFI Jonas, SOUANGA Albert, KOFFI Olivier, KOUASSI Eli, KOUASSI Frédéric, KOUAME Dorcas et YAO Michaëlle, pour leur sincère amitié.

## LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

av. J.C	: Avant Jésus Christ
Chlor	: Chlorpyrifos-éthyl
CMP	: Cultures Maraîchères et Protéagineuses
CNRA	: Centre National de Recherche Agronomique
CNUCED	: Conférence des Nations Unies sur le Commerce et le Développement
Cyp	: Cyperméthrine
ETM	: Eléments Traces Métalliques
FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations
GPS	: Global Positioning System
IITA	: International Institute for Tropical Agriculture
INP-HB	: Institut National Polytechnique Felix Houphouët-Boigny de Yamoussoukro
INS	: Institut National de la Statistique
IRAT	: Institut de Recherche d'Agronomie Tropicale
ISK	: Indice de Solubilisation du Potassium
ISP	: Indice de Solubilisation du Phosphate tricalcique
LCA	: Lambdacyhalotrine+Acétamipride
LSTM	: Laboratoire des Symbioses Tropicales de Montpellier
MINAGRI	: Ministère de l'Agriculture
MIPD	: Ministère du Plan et du Développement
MT	: Millions de Tonnes
PIB	: Produit Intérieur Brut
PRICI	: Projet de renaissance des infrastructures et de gestion urbaine en Côte d'Ivoire

PTC	: Phosphate tricalcique
PVK	: Pikovskaya
RDC	: République Démocratique du Congo
RGPH	: Recensement Général de la Population et de l'Habitat
RLNS	: Rhizobia Locaux Nodulant le Soja
RSC	: Rhizobia isolé du Soja en Côte d'Ivoire
SRCVM	: Station de Recherche sur les Cultures Vivrières et Maraichères
UJLoG	: Université Jean Lorougnon Guédé
UPIL	: Unité de Production d'Inoculum de Légumineuses
WWF	: World Wide Fund For nature anciennement World Wildlife Fund
YEMA	: Yeast Extract Mannitol solide

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Principaux pays africains producteurs de soja .....	11
Tableau II : Teneurs en protéines du soja et d'aliments de consommation courante.....	12
Tableau III : Espèces bactériennes nodulant le soja.....	16
Tableau IV : Différents sites d'échantillonnage et leurs antécédents culturaux. ....	36
Tableau V: Différents métaux lourds et leurs concentrations testés .....	45
Tableau VI : Caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques des isolats bactériens locaux du soja sur le milieu YEM.....	54
Tableau VII : Liste des isolats locaux authentiques du soja en fonction des variétés.....	58
Tableau VIII : Nombre de nodules induits par 16 rhizobia indigènes sur différents cultivars de soja .....	60
Tableau IX : Impact des rhizobia indigènes et de la souche introduite de <i>Bradyrhizobium japonicum</i> sur le poids sec des nodules des différents cultivars de soja .....	62
Tableau X : Impact des rhizobia et du nitrate de potassium sur la biomasse sèche de cinq cultivars de soja sur substrat stérile.....	64
Tableau XI : Effet du pH sur la croissance des rhizobia indigènes nodulant le soja .....	71
Tableau XII : Effet de la température sur la viabilité des rhizobia locaux nodulant le soja .....	73
Tableau XIII : Effet du NaCl sur la croissance des rhizobia indigènes isolés du soja <i>in vitro</i> .....	74
Tableau XIV : Impact des métaux lourds sur la survie des rhizobia indigènes du soja.....	76
Tableau XV : Effet des pesticides (herbicides, insecticides et fongicides) sur la survie des bactéries indigènes du soja <i>in vitro</i> . ....	79
Tableau XVI : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais NPK 12 22 22 sur la hauteur des plantules du cultivar Canarana à Daloa, Divo et Hiré.....	88
Tableau XVII : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais de synthèse NPK 12 22 22 sur la hauteur des plantules du cultivar Doko à Daloa, Divo et Hiré.....	89
Tableau XVIII : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais de synthèse NPK 12 22 22 sur la hauteur des plantules du cultivar Piramama à Daloa, Divo et Hiré.....	90
Tableau XIX : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais de synthèse NPK 12 22 22 sur la biomasse fraîche du cultivar Canarana à Daloa, Divo et Hiré .....	91
Tableau XX : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais de synthèse NPK 12 22 22 sur la biomasse fraîche du cultivar Doko à Daloa, Divo et Hiré.....	93

Tableau XXI : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais de synthèse NPK 12 22 22 sur la biomasse fraîche du cultivar Piramama à Daloa, Divo et Hiré .....	94
Tableau XXII : Effet es rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais de synthèse NPK 12 22 22 sur la biomasse sèche du cultivar Canarana à Daloa, Divo et Hiré.....	95
Tableau XXIII : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais de synthèse NPK 12 22 22 sur la biomasse sèche du cultivar Doko à Daloa, Divo et Hiré.....	96
Tableau XXIV : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais de synthèse NPK 12 22 22 sur la biomasse sèche du cultivar Piramama à Daloa, Divo et Hiré.....	97
Tableau XXV : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais de synthèse NPK 12 22 22 sur le délai de floraison des cultivars Canarana, Doko et Piramama à Daloa, Divo et Hiré.....	99
Tableau XXVI : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais de synthèse NPK 12 22 22 sur le niveau d'insertion des premières gousses des cultivars Canarana, Doko et Piramama à Daloa, Divo et Hiré .....	102
Tableau XXVII : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais chimique NPK 12 22 22 sur le délai de maturité des gousses des cultivars Canarana, Doko et Piramama à Daloa, Divo et Hiré.....	104
Tableau XXVIII : Effet des rhizobia indigènes, de la souche IRAT FA3 et de l'engrais chimique NPK 12 22 22 sur le nombre et le poids des gousses du cultivar Canarana à Daloa, Divo et Hiré .....	106
Tableau XXIX : Effet des rhizobia indigènes, de la souche IRAT FA3 et de l'engrais chimique NPK 12 22 22 sur le nombre et le poids des gousses du cultivar Doko à Daloa, Divo et Hiré ...	108
Tableau XXX : Effet des rhizobia indigènes, de la souche IRAT FA3 et de l'engrais chimique NPK 12 22 22 sur le nombre et le poids des gousses du cultivar Piramama à Daloa, Divo et Hiré .....	110
Tableau XXXI : Effet des rhizobia indigènes sur le poids de 100 g et le rendement en graines du cultivar Canarana à Daloa, Divo et Hiré .....	113
Tableau XXXII : Effet des rhizobia indigènes sur le poids de 100 g et le rendement en graines du cultivar Doko à Daloa, Divo et Hiré .....	115
Tableau XXXIII : Effet des rhizobia locaux sur le poids de 100 g et le rendement en graines du cultivar Piramama à Daloa, Divo et Hiré .....	117

Tableau XXXIV : Caractéristiques physiques, physico-chimiques et chimiques des sols des sites d'expérimentation en conditions paysannes à Daloa, Divo et Hiré .....**Erreur ! Signet non défini.**

Tableau XXXV : Arrière effet des rhizobia indigènes inoculés au cultivar Canarana sur la qualité du sol ..... 120

Tableau XXXVI : Arrière effet des rhizobia indigènes inoculés au cultivar Doko sur la qualité du sol ..... 121

Tableau XXXVII : Arrière effet des rhizobia indigènes inoculés au cultivar Piramama sur la qualité du sol ..... 122

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Inflorescences et graines de différentes variétés de soja .....	6
Figure 2 : Classification des légumineuses de la sous famille des Papilionoideae .....	7
Figure 3 : Différentes étapes de la croissance du soja.....	9
Figure 4 : Arbre phylogénétique simplifié représentant les différentes classes des Protéobacteries, basé sur la comparaison des séquences de l'ARNr 16S.....	15
Figure 5 : Processus de formation des nodules par les rhizobia.....	17
Figure 6 : Cycle de l'azote .....	21
Figure 7 : Présentation de la zone d'étude .....	29
Figure 8 : Pots en plastique contenant les sols composites échantillonnés .....	37
Figure 9 : Préparation du substrat. ....	40
Figure 10 : Dispositif expérimental en condition de champ .....	47
Figure 11 : Processus d'inoculation des graines de soja .....	48
Figure 12 : Parcelle élémentaire.....	49
Figure 13 : Nombre de nodules obtenus en fonction des sols échantillonnés et de la variété de soja .....	53
Figure 14 : Aspect microscopique des isolats du soja après la coloration de Gram (G×100). ....	56
Figure 15 : Répartition des isolats en fonction de leur infectivité. ....	57
Figure 16 : Nodules induits sur les racines de différents cultivars de soja par les rhizobia locaux. ....	57
Figure 17 : Efficience symbiotique des isolats testés sur différentes variétés de soja en condition contrôlée .....	66
Figure 18 : Corrélations entre le nombre de nodules et la biomasse sèche de cinq cultivars de soja dépotés en début de floraison. ....	67
Figure 19 : Indices de solubilisation du Phosphate tricalcique par les bactéries indigènes présélectionnées du soja .....	68
Figure 20 : solubilisation du phosphate tricalcique par l'isolat RSC119.....	69
Figure 21 : Indices de solubilisation du potassium des bactéries indigènes de soja .....	70
Figure 22 : Tolérance des rhizobia indigènes nodulant le soja au pH.....	71
Figure 23 : Tolérance des rhizobia locaux nodulant le soja à la température .....	72

Figure 24 : Impact de différents types de pesticides sur la croissance des rhizobia indigènes isolés du soja <i>in vitro</i> .....	78
Figure 25 : Effet de l'inoculation sur nombre de nodules formés sur le cultivar Canarana à Daloa, Divo et Hiré.....	81
Figure 26 : Effet de l'inoculation sur poids sec des nodules formés sur le cultivar Canarana à Daloa, Divo et Hiré .....	82
Figure 27 : Effet de l'inoculation sur la formation de nodules sur le cultivar Doko à Daloa, Divo et Hiré.....	83
Figure 28 : Effet de l'inoculation sur le poids sec des nodules formés sur le cultivar Doko à Daloa, Divo et Hiré .....	84
Figure 29 : Effet de l'inoculation sur le nombre de nodules formés sur le cultivar Piramama à Daloa, Divo et Hiré. ....	85
Figure 30 : Effet de l'inoculation sur le poids sec des nodules formés sur le cultivar Piramama à Daloa, Divo et Hiré .....	86
Figure 31 : Influence de l'inoculation sur l'aspect des plantules de différents cultivars de soja.	100

## LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Nodules observés sur les racines de soja lors du piégeage.....	167
Annexe 2 : Formes des colonies sur le milieu YEM gélosé.....	167
Annexe 3 : Apparitions des premières fleurs sur les cultivars de soja.....	168
Annexe 4 : Gousses de soja matures .....	168

# **INTRODUCTION GENERALE**

La population ivoirienne a connu une forte croissance durant ces cinq dernières décennies. Elle est passée de 3,5 millions d'habitants en 1970 à 22,8 millions en 2014 selon le Recensement Général de la Population et de l'Habitat (INS, 2015), avec un taux de croissance annuel estimé à 2,6 %. Cette population est inégalement répartie sur le territoire national avec 73 % en zone forestière et seulement 27 % en zone de savane. Cette disparité démographique s'explique par les conditions pédoclimatiques en zone forestière plus favorables à l'agriculture (Ducroquet *et al.*, 2017). En effet, l'agriculture reste indéniablement un levier important de l'économie ivoirienne. Elle représente environ 25 % du Produit Intérieur Brut (PIB) et 40 % des recettes d'exportation du pays. L'agriculture ivoirienne génère deux tiers des emplois et permet au pays d'occuper des rangs honorables au plan international pour nombre de produits d'exportation (Deheuvelds *et al.*, 2003 ; Youan Bi, 2016). A titre d'exemple, la Côte d'Ivoire est le leader mondial de la production de fèves de cacao depuis quatre décennies. Elle est aussi le premier producteur africain de caoutchouc et troisième producteur africain d'huile de palme (Ducroquet *et al.*, 2017). La majorité de ces produits agricoles de rente sont issus de la zone forestière. Cette zone forestière fut dominée historiquement par des systèmes de production à base de café et de cacao (Paivinen *et al.*, 1992 ; Koné *et al.*, 2014). Ces cultures occupaient 75 % des surfaces disponibles dans des exploitations agricoles de type familial (Freud *et al.*, 2000 ; Ezzo, 2009). Aussi, la hausse du prix bord champ du cacao de ces dernières années, la vulgarisation de l'hévéaculture en milieu villageois et son adoption massive par les paysans ont-elles profondément modifié les habitudes agricoles. Les terres réservées à la mise en place des cultures de subsistance ont servi à l'extension des plantations de cacaoyers, d'hévéas et de palmiers à huile (Koné *et al.*, 2014). Cette situation a entraîné une forte pression sur les reliques de terres agricoles entraînant leur appauvrissement (Kéli *et al.*, 2005 ; Koko *et al.*, 2009). Pour répondre aux besoins alimentaires de plus en plus accrus, la méthode de fertilisation naturelle des sols par la jachère a été abandonnée au profit de celle basée sur l'utilisation d'engrais et de pesticides de synthèse. Toutefois, l'utilisation de ces intrants chimiques a des conséquences sur l'environnement, le revenu et le bien-être des agriculteurs (Konaté *et al.*, 2015a ; Eponon *et al.*, 2019).

Aujourd'hui, avec la prise de conscience croissante de l'opinion publique sur les questions liées à la préservation de l'environnement et à la sécurité alimentaire, l'adoption de nouvelles techniques agricoles respectueuses de l'environnement s'avère nécessaire. Parmi celles-ci, l'introduction de légumineuses comme le soja (*Glycine max* L. Merrill) dans les systèmes de

culture pourrait être une solution durable pour restaurer la fertilité des sols agricoles, en zone de forte densité de population, soumis à des jachères de courtes durées. Le soja est une légumineuse introduite en Côte d'Ivoire depuis 1970. Sa culture a connu un boom de production à la faveur des "Projets soja" (N'Gbesso *et al.*, 2010). Les principales zones de productions de cette spéculature sont Touba, Odiénné et Bouaké (Beugré *et al.*, 2013). Il tire son succès de la richesse exceptionnelle de ses graines en protéines digestibles (30-50 %) et de sa teneur élevée en huile de qualité de l'ordre de 20 % (Boucher *et al.*, 2011). Le soja possède également des atouts écologiques pour améliorer les performances agronomiques des systèmes de culture dans lesquels il est inséré. En effet, il peut fixer en symbiose avec les souches de *Bradyrhizobium* sp entre 168 et 450 kilogrammes (kg) d'azote par hectare chaque année (Ahemad & Khan, 2011 ; Assani *et al.*, 2014). Cette capacité de fixation symbiotique est une potentialité économique et écologique pour restaurer durablement la fertilité des sols appauvris et augmenter significativement le rendement des cultures subséquentes dans un système de rotation.

La mise en place de cette spéculature nécessite l'apport d'un inoculum bactérien. L'inoculum du soja produit en Côte d'Ivoire est à base d'une souche introduite de *Bradyrhizobium japonicum*. Cette souche bactérienne issue du Laboratoire des Symbioses Tropicales de Montpellier (LSTM) est vulgarisée par le Centre National de Recherche Agronomique (CNRA) dans le pays depuis une vingtaine d'années. Toutefois, plusieurs travaux ont révélé que la performance et l'efficacité symbiotiques de cette souche bactérienne variaient significativement en fonction des variétés de soja disponibles et des zones où elle était introduite (N'Gbesso, 2011 ; N'Zi *et al.*, 2015). A titre d'exemple, la variété Canarana inoculée avec cette souche exotique à Béoumi, Odiénné et Dabakala a donné respectivement des rendements de 1,35 t/ha, 1,15 t/ha et 0,65 t/ha. N'Gbesso (2011) a attribué la variabilité des performances de l'inoculum bactérien aux conditions du milieu. Aussi, l'utilisation de souches locales de *Bradyrhizobium* en zone savanicole en 2013 a montré que certaines d'entre elles avaient un poids de nodules et un taux de couverture du sol élevés comparés à ceux de la souche introduite (N'Gbesso *et al.*, 2017). Ces différents travaux montrent la nécessité de disposer d'une souche rhizobiale qui soit compatible avec la variété de soja et compétitive dans le milieu écologique où elle doit être introduite. La zone forestière, caractérisée par des jachères de courtes durées mériterait une attention particulière. La mise en œuvre de tels travaux susciterait deux questionnements scientifiques ci-après : (i) Existe-t-il dans la rhizosphère du Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire des rhizobia efficaces et compétitifs adaptés

aux conditions environnementales et anthropiques locales pour améliorer la productivité du soja dans la mesure où cette zone ne fait pas partie des lieux où le soja a été introduit dans le pays ?

(ii) Les rhizobia locaux ont-ils la capacité d'améliorer les propriétés physiques, chimiques et biologiques des sols après la culture du soja dans le cadre d'une rotation ?

Pour répondre à ces interrogations, cette étude stipule qu'une diversité de rhizobia locaux adaptés aux conditions environnementales et anthropiques locales établirait une symbiose efficace avec plusieurs variétés de soja. Ces rhizobia locaux amélioreraient la productivité des différentes variétés de soja cultivées en Côte d'Ivoire en comparaison avec celles de la souche *Bradyrhizobium japonicum* IRAT-FA3 introduite, des engrais de synthèse et des jachères de courtes durées dans différentes zones agro-écologiques. En outre, ils restaureraient les propriétés physiques, chimiques et biologiques des sols par rapport à la souche exotique et aux engrais de synthèse.

L'objectif général de cette étude est de contribuer à l'amélioration de la productivité du soja et à la restauration de la fertilité des sols en Côte d'Ivoire.

De façon spécifique il s'agira de :

- mettre en place une collection de rhizobia locaux nodulant le soja (RLNS), adaptés aux conditions environnementales ;
- sélectionner des souches locales de rhizobia performantes, compétitives, capables de booster de façon significatives le rendement du soja ;
- évaluer les arrière-effets des rhizobia indigènes inoculés au soja sur la qualité des sols.

Le présent manuscrit qui rend compte du travail réalisé est composé de trois parties. La première partie, relative aux généralités, fait une synthèse de la littérature sur le soja, les rhizobia, la symbiose rhizobia-légumineuse et les facteurs limitants le fonctionnement de cette symbiose. De cet état de l'art découle, dans la deuxième partie relative aux matériel et méthodes, la présentation de la zone de l'étude, du matériel utilisé et de la méthodologie adoptée pour la mise en œuvre du travail. La troisième partie fait l'objet de la présentation des résultats obtenus et de la discussion découlant de ceux-ci. Une conclusion générale faisant la synthèse des principaux résultats obtenus, assortis de recommandations et perspectives de recherches, permettent de clore cette 3<sup>ème</sup> partie. Une liste détaillée des références bibliographiques citées mettent fin au document.

# **Première partie : GENERALITES**

## **1. Généralités sur le soja**

### **1.1. Description botanique**

Le soja (*Glycine max* L. Merrill) est une légumineuse herbacée annuelle. Il est dressé et peut atteindre une hauteur de 1,5 m selon les variétés et les conditions de culture. La plante de soja est entièrement (feuilles, tiges, gousses) revêtue de fins poils gris ou bruns. Il existe plusieurs variétés de soja qui se distinguent par le port (grimpant, dressé ou rampant), la fleur et les graines (Demol *et al.*, 2002).

Les premières feuilles du soja sont simples et opposées, tandis que les suivantes sont trifoliées et alternes avec 6 à 15 cm de long et 2 à 7 cm de large. La forme des feuilles rappelle la forme générale des feuilles du haricot. Celles-ci tombent avant la maturité complète des gousses (Doré & Varoquaux, 2006). Les fleurs, de type papilionacé se forment à l'aisselle des feuilles sous forme de grappe. Elles sont petites de couleurs violettes ou blanches (Figure 1). Les fleurs sont hermaphrodites et autogames. Toutefois, la pollinisation croisée est parfaitement possible dans 1 % des cas. Sa fécondation est dite cléistogamique car ses fleurs s'autofécondent avant même qu'elles ne s'ouvrent (Caviness, 1966 ; Simon, 2005). Les fruits sont des gousses velues de couleurs grises ou brunes à maturité. Elles mesurent 3 à 8 cm et contiennent en général 2 à 3 graines. La forme et la couleur des graines varient en fonction de la variété (figure 1). Elles sont généralement ovales, sphériques, allongées et aplaties avec des couleurs jaune, noire, unie ou mélangée (Bila *et al.*, 2009).

La croissance du soja peut être déterminée ou indéterminée selon la variété. Les variétés à croissance déterminée produisent leurs inflorescences à l'apex des rameaux terminaux, une fois la croissance végétative terminée. Ces variétés sont favorisées lorsque la récolte est mécanisée. L'activité végétative des variétés à croissance indéterminée se poursuit pendant la floraison. Ainsi, elles produisent leurs inflorescences le long des nœuds foliaires au fur et à mesure que la plante se développe (Simon, 2005).

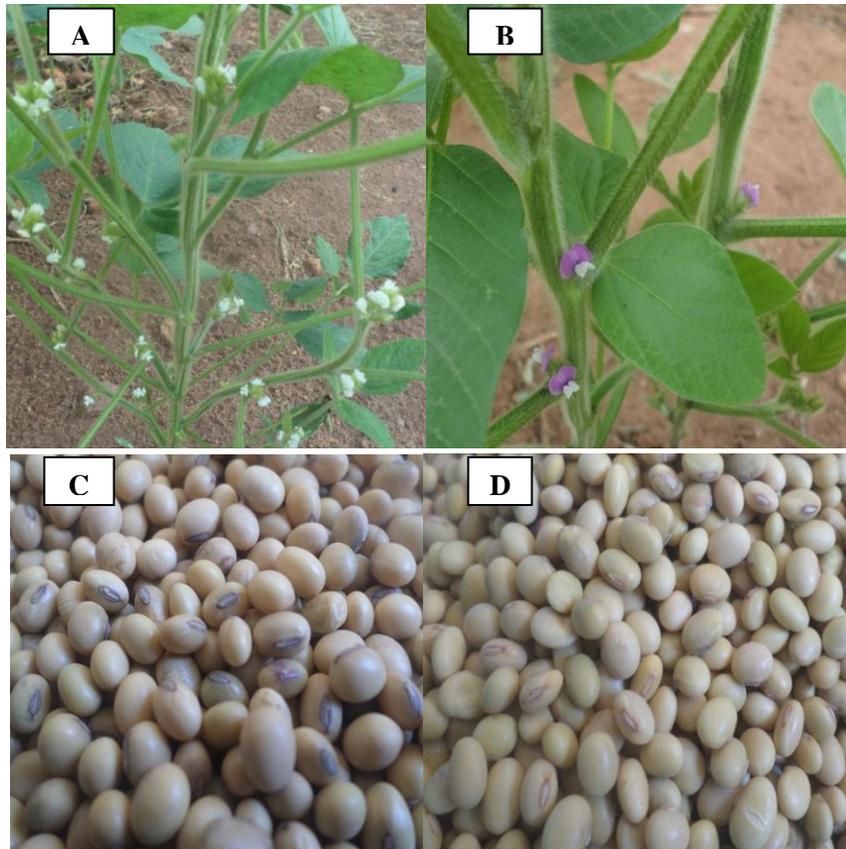


Figure 1 : Inflorescences et graines de différentes variétés de soja (Photo Amani, 2018).

A et B : Différentes couleurs des fleurs de soja ; C et D : Graines de soja

## 1.2. Taxonomie

Les légumineuses sont des plantes classées parmi les Angiospermes Eudicotylédones à gousses. Elles constituent la troisième plus grande famille des Angiospermes en nombre d'espèces après les Orchidaceae et les Asteraceae. Toutefois, elles représentent le second groupe de végétaux supérieurs le plus diversifié après les *Poaceae* avec 727 genres et près de 20000 espèces (Guignard & Dupont, 2005 ; Cronk *et al.*, 2006). Les légumineuses sont divisées en trois sous-familles que sont les Mimosoideae, les Caesalpionioideae et les Papilionoideae. Cette dernière sous famille regroupe la majorité des espèces cultivées ou légumineuses à graines. Ces légumineuses cultivées forment deux groupes appelés Galegoïdes et Phaseoloïdes, à l'exception de l'arachide qui appartient au groupe des Aeschynomeneae. Les espèces cultivées les plus importantes à l'échelle mondiale sont le soja (*Glycine max*), le haricot (*Phaseolus vulgaris*), le pois (*Pisum sativum*), la luzerne (*Medicago sativa*), l'arachide (*Arachis hypogaea*), le pois

chiche (*Cicer arietinum*) et la fève (*Vicia faba*). Les Galegoïdes sont cultivés en zones tempérées tandis que les Phaseoloïdes sont cultivés en zones tropicales (Broughton *et al.*, 2003).

Le soja ou soya appartient au groupe des Phaseoloïdes, à la tribu des Phaseoleae et au genre *Glycine* (Figure 2). Le genre *Glycine* est composé d'environ 280 espèces représentées par des plantes arbustives ligneuses, herbacées vivaces et annuelles (Simon, 2005). Il est subdivisé en deux sous-genres : *Glycine* et *Soja* (Demol *et al.*, 2002). Le sous-genre *Soja* comprend les espèces *soja* Sieb et Zucc qui sont des espèces de types sauvages. Ces espèces se retrouvent uniquement en Asie Orientale. Le sous genre *Glycine* est constitué de l'espèce *Glycine max* (L.) Merrill qui est la forme cultivée. Toutefois, Ces deux sous genres s'hybrident facilement et peuvent également être considérés comme une seule espèce biologique (Javaheri & Baudoin, 2001).

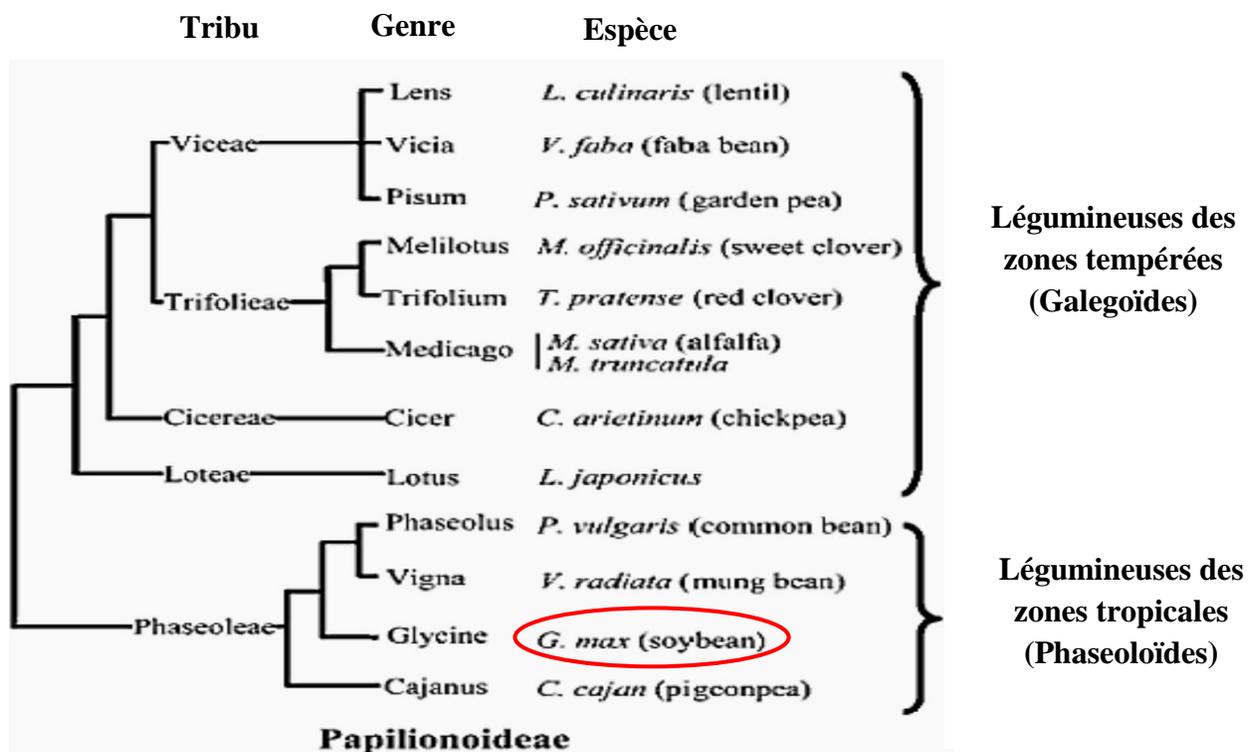


Figure 2 : Classification des légumineuses de la sous famille des Papilionoideae (Zhu *et al.*, 2005).

### **1.3. Ecologie**

Le cycle du soja est compris entre 3 et 4 mois. Ce cycle varie selon les variétés et le climat. Il est caractérisé par deux phases de croissance distinctes (la phase végétative et la phase de reproduction). La phase végétative de la croissance du soja couvre la période de l'émergence des plantules à la floraison. Quant à la phase de reproduction, elle couvre la période de la floraison jusqu'à la maturation. Ces stades sont déterminés par les différents stades de développement de la feuille, de la fleur, de la gousse et de la graine (Figure 3).

Le soja est une plante fragile qui craint l'excès d'humidité. Il est classé parmi les cultures relativement résistantes à la sécheresse. Ses besoins en eau peuvent varier de 250 à 450 mm sur son cycle selon la région considérée (Bonnemort *et al.*, 2001 ; Gigandon *et al.*, 2005). Les plus grands besoins en eau se font sentir en début de floraison et en début de remplissage des gousses (Galhem, 2010).

Le soja s'adapte à plusieurs types de sols, excepté les sols à dominance calcaire. Le pH des sols propices à la culture du soja est compris entre 5,5 et 6,5. En absence d'une irrigation régulière, les sols limoneux conviendraient les mieux à la culture du soja.

Le photopériodisme et la réaction à la température sont des éléments importants quand il s'agit d'établir les zones d'adaptation des variétés. Le soja est une plante nyctipériodique préférante. En effet, il fleurit plus vite dans les conditions de jour court. Ainsi, il est classé parmi les plantes de jour court mais avec un plein éclairage durant tout son cycle (Galhem, 2010). La température minimale pour que le soja germe est de 10 °C. Toutefois, cette température doit varier entre 15 et 40 °C avec un optimum de 30 °C pendant sa phase de croissance et de floraison (Gigandon *et al.*, 2005 ; Mouhouche, 2007).

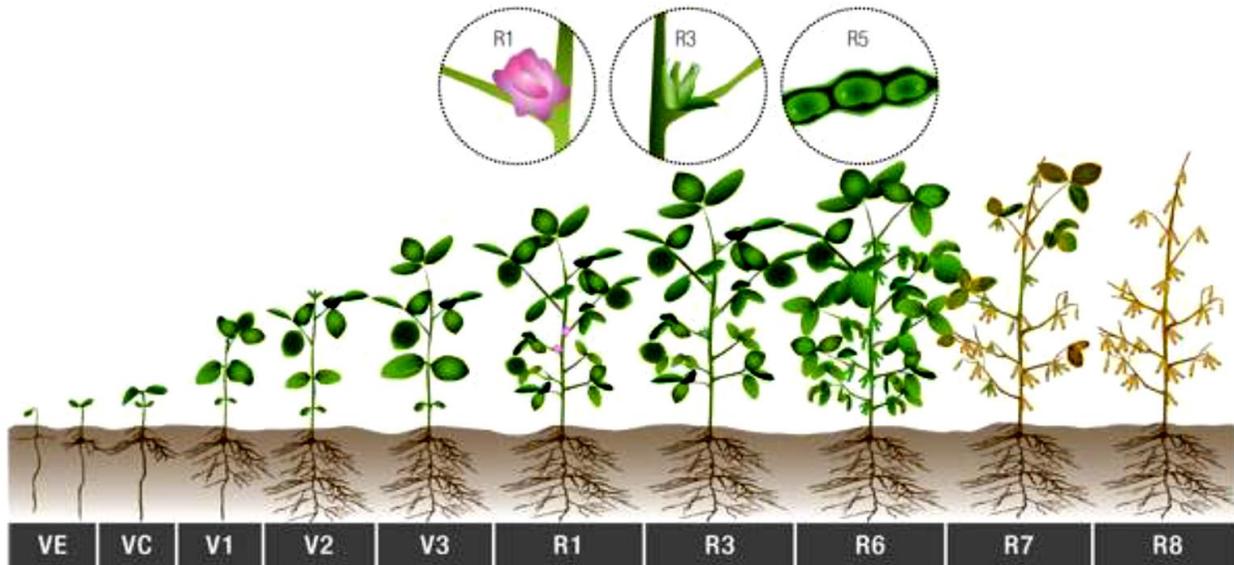


Figure 3 : Différentes étapes de la croissance du soja (Endres & Kandel, 2015).

VE: Cotylédons au-dessus de la surface du sol ; VC : Cotylédons avec feuilles unifoliées; V1 à V3 : Nombre nodules et feuilles entièrement développées ; R1 : Début de floraison ; R3 : Début de formation des gousses ; R5 : Début de formation des graines ; R6 : Graines entières formées ; R7 : Début de maturité des gousses et R8 : Maturité complète des gousses.

#### 1.4. Origine et expansion de la culture

Le soja est considéré comme l'une des plus anciennes espèces végétales cultivées. Il est originaire du nord et du centre de la Chine il y a plus de 10 000 ans (Hymowitz, 1970). La première mention de cette plante proviendrait d'une série de livres écrits par l'empereur Sheng Nung en 2838 av. J.C décrivant les plantes de la Chine. Toutefois, les références historiques situent la domestication et l'utilisation du soja dans la moitié Est de la Chine au XI<sup>e</sup> siècle (Hymowitz & Shurtleff, 2005 ; Roumet *et al.*, 2010). A partir de la Chine, la culture du soja s'est étendue à la Corée, au Japon et aux autres régions d'Asie au premier siècle av. J.C (Hymowitz, 2004). Le soja a ensuite été propagé à travers le monde.

Il est apparu en Europe au XVII<sup>e</sup> siècle grâce à des missionnaires. Il a d'abord été planté en France dans le jardin des Plantes de Paris en 1740, puis en Angleterre au jardin botanique de Kew en 1790 (Hymowitz & Shurtleff, 2005). Il fut introduit aux Etats-Unis par David Bowen en 1765 puis, au Canada en 1893 (Hymowitz & Harlan, 1983).

Son introduction en Afrique semble avoir été au XIX<sup>e</sup> siècle par des commerçants chinois le long de la côte Est (Giller & Dashiell, 2006). Le soja aurait été cultivé pour la première fois en Égypte

vers 1858, puis en Tunisie (1873), en Algérie (1880), en Afrique du Sud (1903), en Tanzanie et à Madagascar (1907) (Shurtlef & Aoyagi, 2009 ; Karaboneye, 2013). Il aurait été introduit en Afrique pour lutter contre la malnutrition provoquée par la croissance rapide de la population et les problèmes économiques qui ont réduit le niveau de vie (IITA, 1986 ; N’Gbesso, 2011).

L’introduction du soja en Côte d’Ivoire a été effectuée par l’Institut de Recherche d’Agronomie Tropicale (IRAT) en 1965. Toutefois, c’est à la faveur du projet soja qu’il a été vulgarisé dans les années 1980 (N’Gbesso *et al.*, 2010 ; Ama-Abina *et al.*, 2012). Les principales zones de culture en Côte d’Ivoire sont Touba, Odienné et Bouaké (MINAGRI, 2008).

### **1.5. Production**

La production de graine de soja a connu un essor exceptionnel dans le monde entier ces 50 dernières années. Elle est passée de 27 à 349 millions de tonnes en 2018. Une proportion de 91 % de cette production provenait des États-Unis, du Brésil, de l’Argentine, de la Chine, de l’Inde et du Paraguay (FAOSTAT, 2018). C’est en Amérique Latine qu’elle a connu sa croissance la plus importante avec une augmentation de la production de 123 %. Selon l’Organisation des Nations unies pour l’alimentation et l’agriculture (FAO), la production de soja doublera d’ici 2050. La Chine, berceau de la culture du soja a été classée quatrième producteur mondial de soja en 2018, loin derrière les États-Unis, le Brésil et l’Argentine avec environ 14 millions de tonnes (MT) produit (FAOSTAT, 2018). Malgré ce rang honorifique, la Chine est aussi le premier pays importateur de soja devant l’Union Européenne (Labalette & Jouffret, 2014 ; WWF, 2014).

L’Afrique ne contribue qu’à 1 % de la production mondiale de soja. Cette production est assurée en grande partie par l’Afrique du Sud, le Nigéria, la Zambie, le Malawi, le Ghana et le Bénin (Tableau I). Ces pays ont fourni environ 89 % de la production africaine de soja estimée à 3 556 163 tonnes en 2018 (FAOSTAT, 2018).

La production ivoirienne de soja a été de 2 200 tonnes en 1996. Elle a atteint 9 000 tonnes en 2001, représentant seulement 23 % des besoins nationaux estimés à plus de 25 000 tonnes (N’Zoué *et al.*, 2003). En 2005, cette production a chuté à 2 270 tonnes de soja, puis à 705 tonnes en 2007 (FAO, 2009). Selon la FAO, la production nationale du soja a été estimée à 606 tonnes en 2018. Cette production est dépendante du Nord-Ouest et du Centre du pays situés en zone savanicole (N’Gbesso *et al.*, 2010).

Tableau I : Principaux pays africains producteurs de soja

<b>Pays</b>	<b>Début de production</b>	<b>Production en 2018 (tonnes)</b>
Afrique du Sud	1961	1 540 000
Benin	1985	221 977
Burkina Faso	1983	31 314
Cameroun	1978	20 824
Congo (RDC)	1961	25 772
Côte d'Ivoire	1976	606
Egypte	1972	48 000
Ethiopie	1993	98 000
Ghana	1993	152 023
Malawi	1969	175 475
Mali	1980	6 693
Nigéria	1961	780 679
Rwanda	1961	23 804
Ouganda	1961	29 000
Zambie	1973	302 720
Zimbabwe	1961	90 000

Source : Shurtlef & Aoyagi, 2009 ; FAOSTAT, 2018

## **1.6. Importance**

### **1.6.1. Importance nutritionnelle**

Le soja, considéré comme « la viande des pauvres » par les chinois, est une espèce oléo-protéagineuse multifonctionnelle. Il fournit des protéines (30-40 %), de l'huile (20 %) et des hydrates de carbone (21 %) pour l'alimentation humaine et animale (Karaboneye, 2013). Il constitue la première source de protéines et la deuxième source de lipides dans le monde. Le soja constitue la plante qui a la teneur en protéines la plus élevée comparée aux autres espèces végétales, animales et aux œufs (Tableau II). Il représente donc une énorme source nutritionnelle pour les populations des pays en développement (Fekadu *et al.*, 2009 ; Mahamood *et al.*, 2009).

La graine de soja est utilisée de diverses manières dans l'alimentation. Elle est utilisée pour produire du lait, du yogourt, des crèmes de soja, de l'huile de soja, de la farine, de la bière, des hot-dogs, des adhésifs, de la margarine et d'autres produits dérivés (Qiu & Chang, 2010).

Le tourteau de soja est utilisé dans l'alimentation des vaches laitières, des porcs, des volailles et des poissons. Aussi, sa biomasse aérienne peut servir de fourrage pour l'alimentation du bétail (Lee *et al.*, 2007).

Tableau II : Teneurs en protéines du soja et d'aliments de consommation courante

Aliments courants (100 g)	Teneur en protéines (%)
<b>Graine de soja</b>	<b>38-40</b>
Viande de bœuf	21
Viande de poulet	21
Poisson	21
Lait de vache	3,5
2 œufs moyens	12,3
Farine de maïs	9,5
Farine de blé	11
Feuille de manioc	23
Haricot sec	21
Lentilles	24
Pois chiche	18

Source : FAO, 1995 ; Wahiba, 2015

### 1.6.2. Importance sanitaire et thérapeutique

Les aliments issus de la graine de soja sont composés d'éléments fonctionnels comme les protéines, les isoflavones, les saponines, les phosphatides, les oligosaccharides, les vitamines A, D, E, K et B (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub> et B<sub>12</sub>), les minéraux, l'acide folique et les fibres alimentaires (Bau *et al.*, 2001 ; Labat, 2013).

Ces éléments ont des effets bénéfiques pour la santé de l'homme. En effet, plusieurs études ont montré que les produits dérivés du soja interviennent dans la prévention des cancers. Wu *et al.* (2013) ont montré que la consommation de produits à base de soja par les femmes asiatiques réduit le risque de développement et de mortalité du cancer du sein. D'autres chercheurs ont conclu que la consommation de soja contribuerait également à la prévention et à la réduction des

cancers de la prostate, du poumon et du côlon (Yan & Spitznagel, 2009 ; Desgrandchamps & Bastien, 2010). Les compléments alimentaires à base de soja permettraient aux femmes ménopausées d'atténuer les bouffées de chaleur en cas de ménopause. Ils seraient aussi préconisés dans le traitement des cas de tuberculose, d'anémie, de maladies cardio-vasculaires, de diabète et des maladies dues aux carences protéino-énergétiques des enfants (Tefera *et al.*, 2009).

### **1.6.3. Importance agronomique et écologique**

L'un des intérêts majeurs du soja est son aptitude à fixer l'azote de l'air (N<sub>2</sub>) en symbiose avec des rhizobactéries communément appelées rhizobiums ou rhizobia. En tant que légumineuse, le soja est connu pour améliorer les propriétés physiques, chimiques et biologiques des sols (Singh & Shivakumar, 2010). Il peut être utilisé comme « engrais vert » dans les rotations culturales avec les céréales (blé ou maïs) qui consomment bien plus d'azote que les légumineuses (Billon *et al.*, 2009). En effet, la symbiose soja-rhizobia laisse dans le sol, après la récolte, un reliquat d'azote dont peuvent profiter les cultures suivantes. De plus, les résidus végétaux de cette spéculation sont riches en azote et contribuent à enrichir le sol en cet élément. Aussi, 90 à 100 % des feuilles du soja chutent à la sénescence et restituent au sol environ 110 kg N/ha (Osunde *et al.*, 2003 ; Okogun *et al.*, 2004 ; Yusuf *et al.*, 2009).

La culture du soja constitue un moyen important de lutte contre l'exploitation accélérée des massifs forestiers et des jachères. Avec un hectare de soja, on obtient autant de protéines qu'en élevant des bœufs sur dix hectares de pâturage. De plus, la culture du soja nécessite l'utilisation de peu de fertilisants chimiques et de pesticides dans son cycle de production. Sa culture pourrait donc contribuer à résoudre les problèmes environnementaux liés à l'utilisation de ces intrants chimiques (Meynard & Cresson, 2011).

## **2. Rhizobium**

### **2.1. Définition**

Les rhizobia sont des bactéries rhizosphériques qui ont la capacité d'établir des associations symbiotiques avec les plantes de la famille des légumineuses (Doyle & Luckow, 2003). Ce sont

des bactéries aérobies à Gram négatifs non sporulantes. Ces bactéries sont mobiles grâce à un flagelle polaire ou subpolaire ou 2 à 6 flagelles péritriches (Werner, 1992).

Les rhizobia sont qualifiés de chimioorganotrophes grâce à leur aptitude à utiliser le glucose, le mannitol, le saccharose et des composés aminés comme source de carbone. Ils peuvent se contenter d'une faible quantité en oxygène pour leur survie. (Somasegaran & Hoben, 1994). La croissance des rhizobia est optimale à une température de 28 °C et à un pH compris entre 6 et 7. Toutefois, certaines espèces de *Bradyrhizobium* tolèrent un milieu acide (Burton & Elkan, 1985).

## **2.2. Historique et taxonomie**

Du grec rhiza (racine) et bios (vie), le rhizobium est un nom générique attribué aux bactéries qui vivent en symbiose avec les légumineuses et capables d'induire des nodules sur les racines de ces dernières. Ces microorganismes ont pu être isolés pour la première fois à partir des nodules du lupin et du pois par Beyerinck en 1888 et leur aurait donné le nom de *Bacillus radicicola*. Un an plus tard, le microbiologiste allemand Frank, a décrit ces bactéries comme des microorganismes qui vivent dans le sol avec le potentiel de noduler des légumineuses. Il leur attribua le nom «*Rhizobium*» (Frank, 1889). D'autres chercheurs ont proposé des noms à ces bactéries en se basant sur leur spécificité par rapport à la plante hôte. Sur cette base, cinq espèces de bactéries ont été identifiées. Ce sont *Rhizobium leguminosarum* pour *Lathyrus*, *Pisum*, *Vicia* et *Lens* ; *R. trifolii* pour *Trifolium* ; *R. phaseoli* pour *Phaseolus* ; *R. meliloti* pour *Medicago* et *R. lupini* pour *Lupinus*. Cette classification s'est ensuite basée sur la vitesse de croissance des rhizobia (Fred *et al.*, 1932). Cependant, des observations discordantes entre la croissance de la bactérie et la gamme d'hôtes ont jeté le doute sur la validité de cette classification. Ces rhizobia ont ensuite été reclassés en deux genres en tenant compte de leur temps de croissance. On distinguait ainsi, le genre *Rhizobium* comprenant toutes les souches à croissance rapide et le genre *Bradyrhizobium* comprenant l'ensemble des souches à croissance lente (Jordan, 1982).

La taxonomie bactérienne actuelle a évolué grâce à l'avènement des méthodes de la Biologie Moléculaire. Ces méthodes ont permis de classer les rhizobia en fonction des relations phylogénétiques existantes entre eux. Selon une analyse phylogénétique basée sur l'ARN 16S, on distingue les vrais rhizobia appartenant à la classe des alphaproteobacteria de celle des Beta et Gammaproteobacteria. La première classe contient actuellement les genres *Rhizobium*,

*Sinorhizobium* (*Ensifer*), *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium* et *Azorhizobium* capables de former des nodosités. La classe des Beta et Gammaproteobacteria regroupe des bactéries non-rhizobia mais qui sont capables aussi de noduler (Figure 4). Elle inclue les genres *Methylobacterium*, *Blastobacter*, *Ochrobactrum*, *Cupriavidus* et *Burkholderia* (Sawada *et al.*, 2003 ; Zakhia & de Lajudie, 2006).

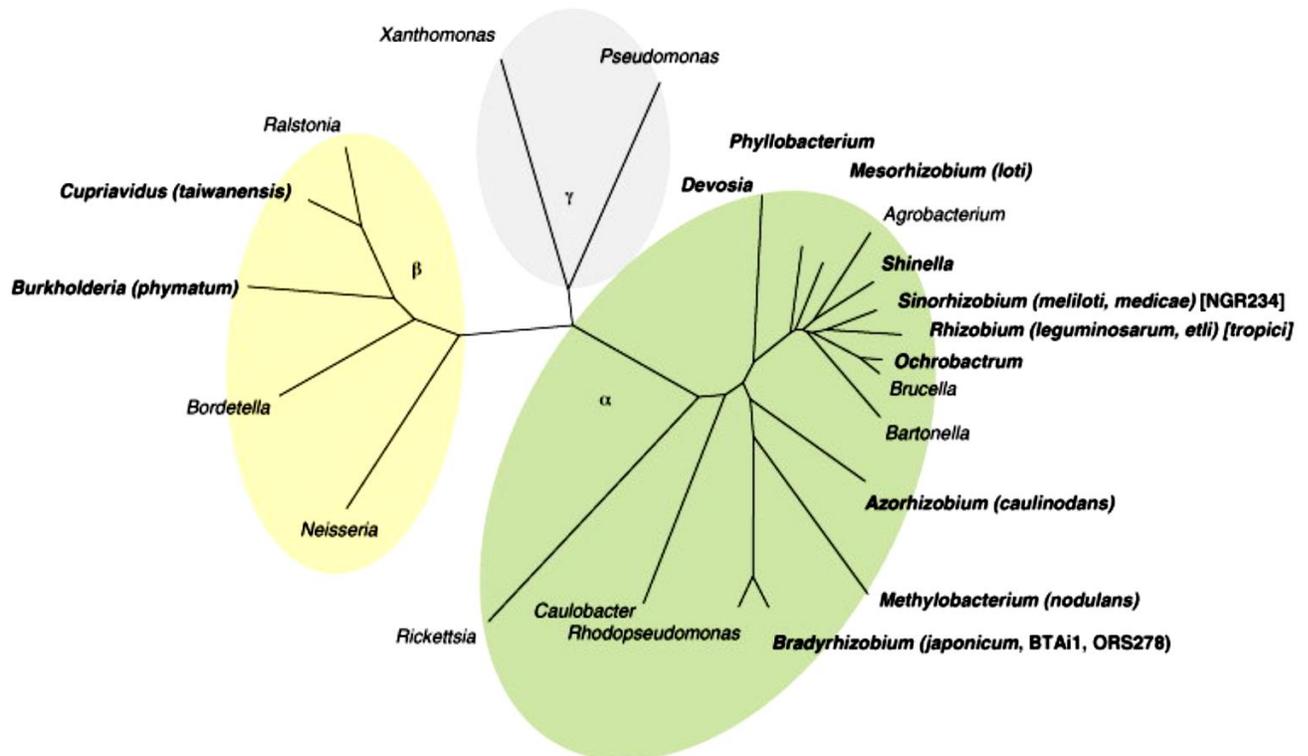


Figure 4 : Arbre phylogénétique simplifié représentant les différentes classes des Protéobactéries, basé sur la comparaison des séquences de l'ARNr 16S (Boivin *et al.*, 2009).

### 2.3. Diversité des rhizobia nodulant le soja

Le soja est considéré comme une légumineuse relativement spécifique envers les rhizobia avec lesquels il entre en symbiose. Ainsi, toutes les espèces bactériennes capables de rentrer en symbiose avec le soja étaient considérées comme des bactéries appartenant au genre *Bradyrhizobium*. Cette classification qui se basait spécialement sur le temps de croissance des bactéries fut révisée à cause de l'aptitude du soja à héberger à la fois des rhizobia à croissance lente, rapide ou intermédiaire.

La classification actuelle basée sur des approches moléculaires a permis d'identifier six espèces bactériennes capables de noduler le soja (Tableau III). Celles-ci sont réparties dans les genres *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* et *Sinorhizobium* (Chen *et al.*, 2004 ; Albareda *et al.*, 2009).

En Afrique Subsaharienne, seules les espèces *B. elkanii* et *B. japonicum* ont été identifiées comme des souches locales capables d'induire la nodulation avec différentes variétés de soja (Chibeba *et al.*, 2017 ; N'Gbesso *et al.*, 2017 ; Gyogluu *et al.*, 2018).

Tableau III : Espèces bactériennes nodulant le soja.

Genres	Espèces	Références
<i>Bradyrhizobium</i>	<i>B. japonicum</i> <i>B. elkanii</i> <i>B. liaoningense</i> <i>B. daqingense</i>	Jordan, 1984 Kuykendel <i>et al.</i> , 1995 Xu <i>et al.</i> , 1995 Wang <i>et al.</i> , 2013
<i>Ensifer (Sinorhizobium)</i>	<i>E. fredii</i> <i>E. xinjiangensis</i>	Scholla et Elkan, 1984 Chen <i>et al.</i> , 1995
<i>Mesorhizobium</i>	<i>M. tianshanense</i>	Chen <i>et al.</i> , 1995

### 3. Etablissement de la symbiose

#### 3.1. Conditions pour l'établissement de la symbiose

Les rhizobia constituent un groupe remarquable de la communauté de la rhizosphère. Ces bactéries établissent une association symbiotique avec les légumineuses et fixent l'azote au bénéfice de la plante. L'établissement de la symbiose légumineuse-rhizobia est un phénomène complexe et indispensable à la plante pour acquérir l'azote sous forme réduite (Vessey & Chemining, 2006). L'optimisation de cette symbiose exige la présence dans la rhizosphère de souches de bactéries compatibles, infectives et compétitives. Le succès de la symbiose nécessite aussi une faible teneur en azote du sol et une photosynthèse active pour assurer une source suffisante d'énergie (Kondorosi & Kondorosi, 2000).

### 3.2. Différentes étapes de la fixation symbiotique

L'interaction symbiotique entre les rhizobia et les légumineuses se traduit par la formation d'organes spécifiques appelés nodules ou nodosités (Perry *et al.*, 2004). L'organogénèse du nodule est un processus parfaitement bien connue aujourd'hui (Madigan & Martink, 2007). Elle implique une série d'échanges de signaux entre la bactérie et la plante à travers plusieurs types de cellules spécialisées (Brewin *et al.*, 1992). La Figure 5 résume cette série d'échanges de signaux entre la plante et la bactérie.

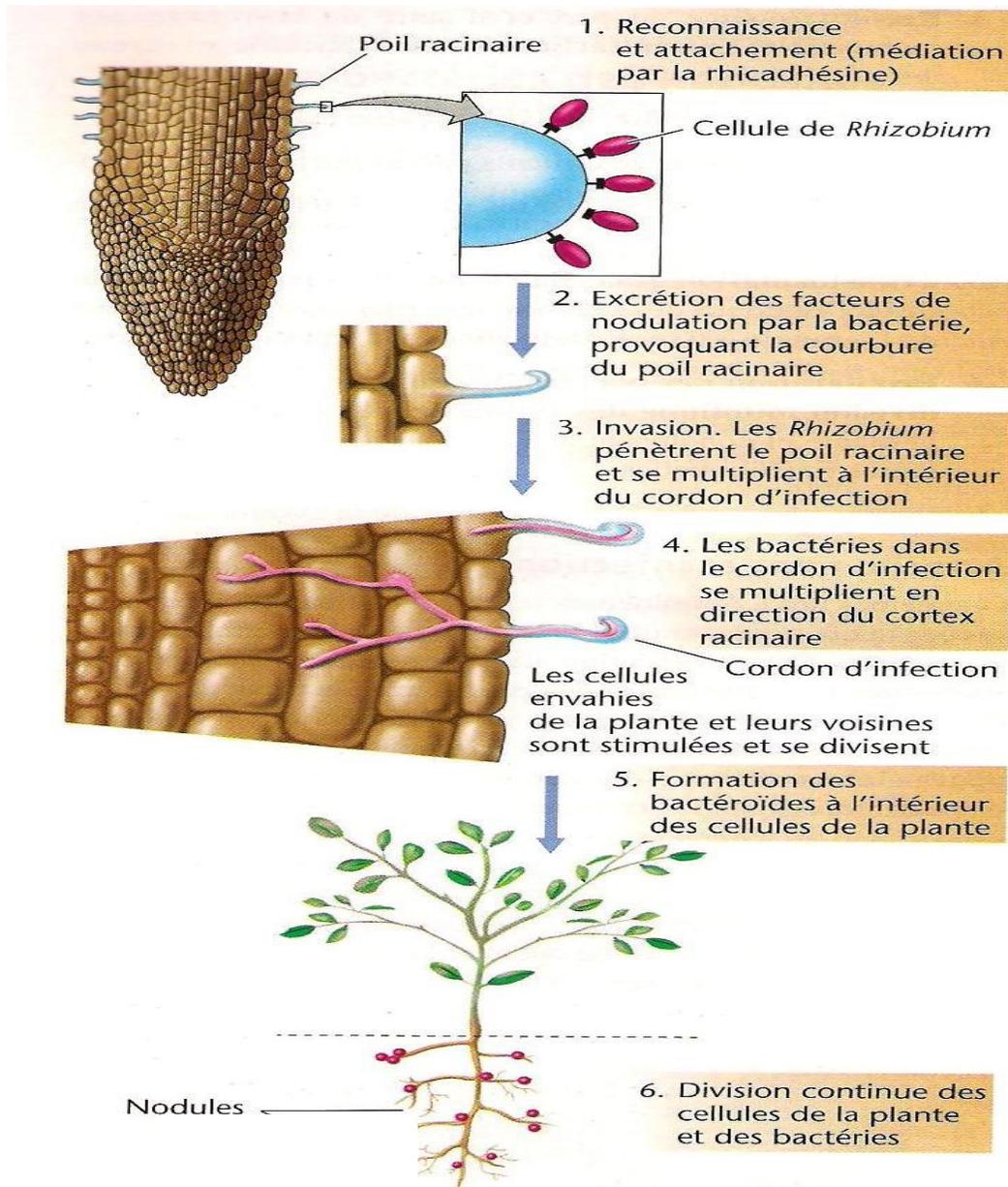


Figure 5 : Processus de formation des nodules par les rhizobia (Madigan & Martinko, 2007).

### **3.2.1. Pré-infection**

L'interaction entre la plante et la bactérie débute dans la rhizosphère. La croissance des bactéries se fait de manière sélective par la plante. En effet, les rhizobia sont attirés vers les poils racinaires par une large gamme de substances appartenant au groupe des flavonoïdes (flavones, isoflavones et flavonones) exsudées par la racine (Rasanen, 2002 ; Savka *et al.*, 2002 ; Mouna, 2008). Une production plus importante de ces composés est observée dans des conditions limitantes en azote (Coronado *et al.*, 1995). Ainsi, les flavonoïdes présents dans les exsudats racinaires engendrent l'expression des gènes *nod* bactériennes qui induiront la production des facteurs Nod. Ces derniers sont des signaux de nodulation ciblant les transformations physiologiques et moléculaires chez la plante hôte et la déformation des poils racinaires (Oldroyd *et al.*, 2001 ; Patriarca *et al.*, 2004).

### **3.2.2. Infection**

L'infection des légumineuses par les bactéries s'effectue à travers les poils absorbants ou les blessures occasionnées par des éléments extérieurs. Les bactéries s'attachent aux racines par l'intermédiaire d'une molécule d'adhésion spécifique appelée rhicadhésine, localisée à la surface des cellules (Perry *et al.*, 2004). Cette protéine est sécrétée par la bactérie. Elle se fixe sur les complexes calciques à la surface des poils absorbants et génère ainsi une oscillation en ions  $Ca^{2+}$ . D'autres substances comme les lectines, qui sont des glycoprotéines végétales jouent également un rôle dans la reconnaissance et l'attachement des bactéries à la plante (Madigan & Martink, 2007).

Les bactéries migrent vers l'extrémité des poils absorbants, s'y fixent et libèrent à leur tour des hormones (acides gibbérellique et indole-acétique) qui assouplissent la paroi cellulaire. En réponse, le poil absorbant sécrète une enzyme : la polygalacturonase, qui fragilise la paroi, facilitant ainsi la pénétration des bactéries (Dupuy & Nougier, 2005). Cette pénétration se fait par un mécanisme d'invagination. Les cellules bactériennes entrent par un poil absorbant, perdent leur membrane externe et changent de forme, tout en produisant de la cytokine (Pelmont, 2005). Cette étape se poursuit par une induction de l'expression de gènes spécifiques et une modification de la croissance polaire des poils absorbants formant une structure dite en « crosse de berger » à l'intérieur de laquelle les rhizobia se multiplient (Esseling *et al.*, 2003 ; Gage,

2004). C'est également à cet endroit que la paroi du poil absorbant est lysée puis s'invagine pour former un cordon d'infection (Duhoux *et al.*, 2004). Ce cordon poursuit sa progression en se ramifiant et déverse par endocytose les rhizobia dans les cellules du méristème nodulaire.

### **3.2.3. Développement du nodule**

La dernière étape du processus infectieux est atteinte lorsque les bactéries sont déversées dans la cellule hôte (Hopkin, 2003). Les rhizobia se libèrent du filament d'infection et pénètrent dans des enveloppes dérivées de la membrane plasmique de la cellule hôte (Raven *et al.*, 2007). Ils se divisent et se différencient en des cellules fixatrices d'azote appelées bactéroïdes. La différenciation des rhizobia en bactéroïdes est marquée par de nombreuses modifications métaboliques comprenant la synthèse d'enzymes et d'autres facteurs dont le microorganisme a besoin pour accomplir sa tâche principale : la fixation d'azote (Machrafi, 2001 ; Hopkin, 2003). Les bactéroïdes restent entourés d'une enveloppe, nommée membrane péribactéroïdienne. Cette membrane protège la plante contre l'ammoniac produit et une pathogénicité potentielle de la bactérie. Elle maintient un gradient d'azote, d'oxygène et de nutriments nécessaires à la fixation de l'azote (Bélanger, 1998 ; Perry *et al.*, 2004). Quelques rares cellules bactériennes quiescentes, de formes bacillaires, sont présentes dans le nodule. Ce sont ces cellules qui survivront et se multiplieront dans le sol après la senescence de la plante. Elles pourront alors infecter les racines des légumineuses introduites dans le même site (Perry *et al.*, 2004).

## **4. Contribution de la symbiose légumineuse-rhizobia dans la disponibilité de l'azote pour la plante**

### **4.1. Place de l'azote dans la nutrition de la plante**

L'azote est incontestablement l'un des éléments nutritifs majeurs dont les plantes ont besoin pour leur croissance. Il constitue 79 % des gaz de l'atmosphère sous forme de diazote ou azote moléculaire ou azote de l'air ( $N_2$ ). Il intervient dans l'élaboration de molécules importantes comme les protéines, les acides nucléiques et la chlorophylle. Les plantes l'absorbent sous forme de nitrates ( $NO_3^-$ ) et d'ammonium ( $NH_4^+$ ) ; l'azote de l'air n'étant pas directement assimilable par les plantes (Ferguson *et al.*, 2010 ; Solomon *et al.*, 2012). Ces différentes formes assimilables de l'azote sont accessibles dans le sol où elles sont moins abondantes. Il en résulte que l'azote est

souvent un facteur limitant dans la mise en place des cultures (Raven *et al.*, 2003 ; Perry *et al.*, 2004). Pour suppléer ce manque, l'agriculture moderne utilise d'avantage d'azote de synthèse pour accroître les rendements. Cette technologie nécessite l'utilisation d'importantes quantités d'énergie fossile entraînant des coûts économiques et environnementaux conséquents. Ces coûts onéreux peuvent être évités grâce à des microorganismes appartenant au groupe des procaryotes qui ont la capacité de réduire le N<sub>2</sub> en une forme recombinée assimilable par les plantes (Figure 6). Parmi ceux-ci, certains vivent libres dans le sol et ne requièrent pas d'hôte pour effectuer le processus de fixation de l'azote. C'est le cas de *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Clostridium*, *Rhodospirillum* (Davet, 1996 ; Madigan & Martinko, 2007). Selon Tortora *et al.* (2003), la majorité de ces fixateurs libres sont capables de fixer de grandes quantités d'azote en laboratoire. Cependant, leur capacité à réduire l'azote de l'air en ammoniac dans le sol est limitée par la quantité de glucides disponible. En revanche, d'autres le fixent en symbiose avec les plantes. Les symbioses les plus étudiées sont : la symbiose actinorhizienne impliquant une bactérie du genre *Frankia* avec des plantes ligneuses, l'association entre des fougères aquatiques du genre *Azolla* et des cyanobactéries et la symbiose rhizobium-légumineuse (Tortora *et al.*, 2003 ; Pelmont, 2005).

Les microorganismes impliqués dans la fixation du N<sub>2</sub> jouent un rôle prépondérant dans la croissance des plantes agricoles. Parmi ces différentes formes de fixation du N<sub>2</sub>, la symbiose rhizobium-légumineuse occupe une place de choix.

## **4.2. Cas particulier de la symbiose légumineuse-rhizobium**

### **4.2.1. Intérêt de la symbiose légumineuse-rhizobium dans la biodisponibilité de l'azote**

Il est généralement admis que l'ensemble des fixateurs non-symbiotiques et symbiotiques fixent environ 150 à 200 millions de tonnes d'azote par an à l'échelle de la planète (Bliefert & Perraud, 2001 ; Lèveque & Mounolou, 2001). Pour comparaison, les engrais de synthèse utilisés en agriculture correspondent à environ 40 millions de tonnes d'azote par an. La symbiose légumineuse-rhizobium contribue à plus de la moitié d'azote atmosphérique (N<sub>2</sub>) fixé par l'ensemble de ces systèmes (Graham & Vance, 2003). Cette importante quantité de N<sub>2</sub> fixé faisant de la symbiose légumineuse-rhizobia, la plus importante d'un point de vue agronomique et écologique.

La contribution des légumineuses à graines dans cette symbiose est estimée à 40 millions de tonnes d'azote par an. Elle représente une source importante pour accroître la production des cultures et la fertilité des sols limitant ainsi les besoins en fertilisants azotés de synthèse dans les agrosystèmes (Mpeperekki *et al.*, 2000). Par exemple, l'inoculation du soja dans les systèmes culturaux au Brésil, fournit jusqu'à 300 Kg d'azote par hectare, entraînant des économies d'engrais azotés estimés à 3 milliards de dollars (Giller, 2001 ; Santos *et al.*, 2006).

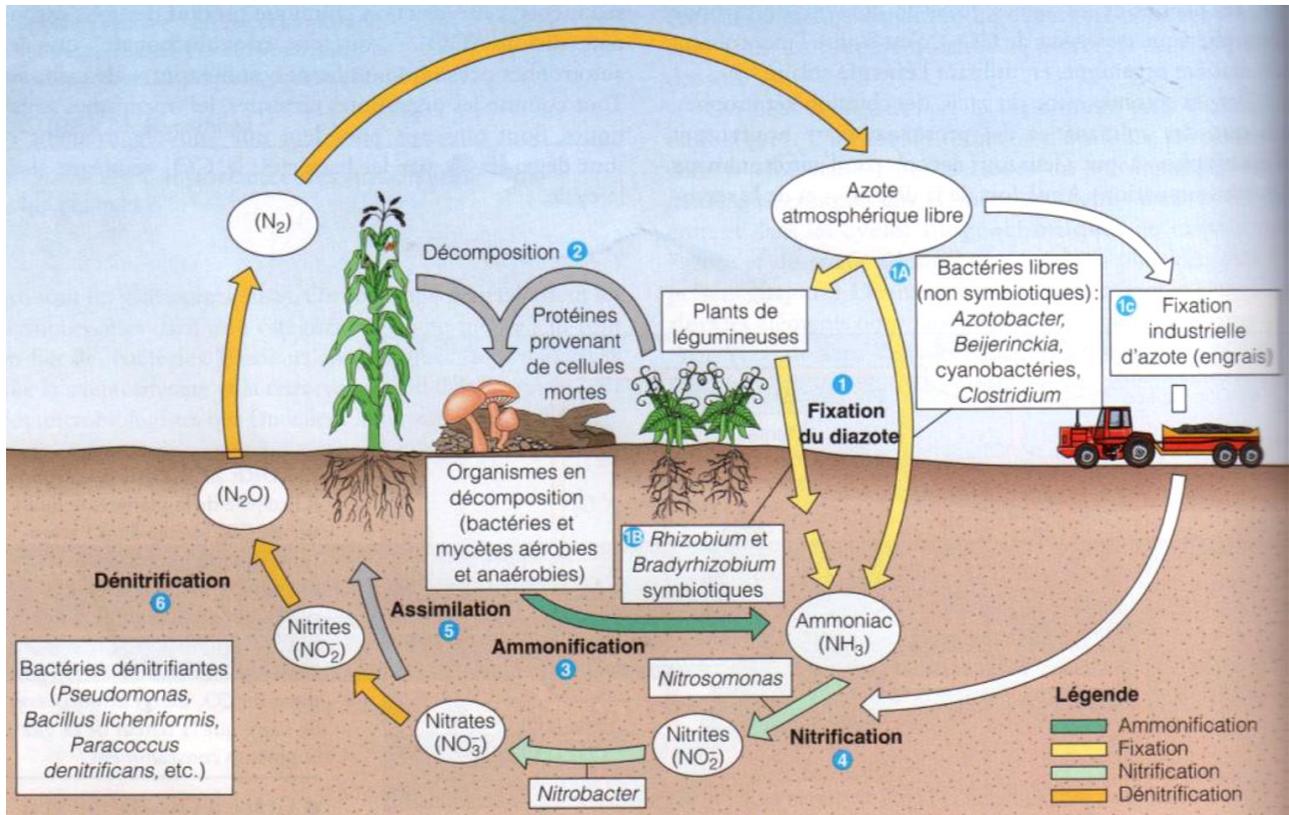


Figure 6 : Cycle de l'azote (Tortora *et al.*, 2003).

#### 4.2.2. Spécificité de l'hôte

L'une des caractéristiques majeures des associations rhizobium-légumineuse est leur spécificité d'hôte. En effet, un rhizobium donné n'est capable d'établir une relation symbiotique efficace que si l'autre partenaire appartient à son spectre d'hôte. De même une espèce de légumineuse ne peut être nodulée que par un groupe de rhizobia. Les amplitudes des spectres des légumineuses et des rhizobia sont très variables (Tilak *et al.*, 2005). Par exemple, *Azorhizobium caulinodans* ne s'associe qu'avec *Sesbania rostrata*. Alors que cette même espèce végétale peut entrer en symbiose avec d'autres espèces bactériennes telles que *Sinorhizobium saheli* et *S. teranga*

(Boivin *et al.*, 1997). Saeki *et al.* (2000) ont attribué la variabilité des relations symbiotiques aux variations des génotypes des différentes espèces végétales. Selon ces auteurs, le génotype du végétal contrôlerait la formation des nodosités. Contrairement à ceux-ci, d'autres auteurs ont montré que l'une des bases de la réponse des plantes à l'inoculation est liée à la capacité des rhizobia à disposer dans leur génome un ensemble de gènes indispensables à la symbiose. Ces derniers seraient impliqués dans la biosynthèse des lipochito-oligosaccharides communément appelés facteurs Nod agissant comme molécules signal dans la formation des nodules (Boivin *et al.*, 2006).

## **5. Facteurs limitant la fixation biologique de l'azote**

### **5.1. Facteurs environnementaux**

#### **5.1.1. Salinité**

Parmi les facteurs environnementaux, la salinité constitue l'une des contraintes majeures limitant le développement et la productivité des plantes cultivées. La salinisation des sols est le processus d'accumulation de sels à la surface du sol et dans la rhizosphère. Les sols salins se caractérisent par la présence de sels solubles tels que les ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  en concentration suffisamment élevée dans la rhizosphère (Hu & Schmidhalter, 2001 ; Zhu, 2001). Ils constituent un environnement défavorable à la croissance de la plupart des plantes et des bactéries qui leurs sont associées (El Hilali, 2006).

Ces sols sont repartis à travers le globe terrestre. Ils existent dans les zones désertiques, côtières et tropicales. Environ 40 % des surfaces agricoles dans le monde sont caractérisées par la présence d'un problème potentiel de salinité (Zahran, 1999). Chaque minute, le monde perd en moyenne 10 hectares de terres cultivables dont 3 ha à cause de la salinisation. En Afrique, près de 40 millions d'hectares sont affectés par la salinisation, soit près de 2 % de la surface totale (Kovda, 1983 ; Geetanjali & Neera, 2008).

Le stress salin affecte d'une manière délétère la croissance et la persistance des souches rhizobiales dans le sol. Toutefois, la croissance des rhizobia sous des conditions salines varie d'une espèce à l'autre et d'un type de sel à l'autre (El Sheikh & Wood, 1990). Il peut aussi affecter certains processus physiologiques de la symbiose légumineuse-rhizobia et le développement des nodules. En général, les premières étapes de la nodulation sont plus sensibles au

stress salin que plus tard. En effet, le sel inhibe l'activité de la nitrogénase et la respiration nodulaire entraînant ainsi, une diminution des teneurs en azote total dans la plante (Salehi *et al.*, 2008 ; Arrese-Igor *et al.*, 2011 ; Faghire *et al.*, 2011). La réduction de l'activité fixatrice de N<sub>2</sub> par le stress salin est généralement due à la réduction de la respiration nodulaire (Aydi *et al.*, 2008 ; Bargaz *et al.*, 2011). Cette réduction est liée à une limitation de l'oxygène, de l'azote atmosphérique ou d'une diminution de la production de la légghémoglobine par les nodules (López *et al.*, 2008).

### **5.1.2. Température**

La température joue un rôle important sur les équilibres microbiens du sol. Sous les tropiques, la température peut atteindre 65 à 70 °C à la surface du sol et 50 °C dans les horizons inférieurs. Ces températures élevées inhibent généralement la croissance des microorganismes (Hungria & Vargas, 2000 ; Rahmani *et al.*, 2009). Chez les rhizobia, les hautes températures peuvent empêcher la nodulation et inhiber la fixation de l'azote atmosphérique. En effet, les températures élevées affectent la différenciation des rhizobia en bactéroïdes et le fonctionnement de la nodosité. Elles affectent aussi la production des exopolysaccharides et des lipopolysaccharides (Zahran, 1999 ; Nandal *et al.*, 2005). Les températures élevées engendrent également la déshydratation et la dégradation des enzymes de la voie métabolique des rhizobia induisant chez ces derniers, des modifications physiologiques, génétiques et biochimiques.

Quant aux basses températures, elles entraînent la gélification de l'eau cellulaire et l'inactivation parfois irréversible des enzymes. Zhang *et al.* (1996) ont rapporté que les températures basses extrêmes inhibent l'expression des gènes *nod* empêchant ainsi, l'infection et la nodulation. Cloutier *et al.* (1992) ont observé que lorsque le stress thermique n'est pas extrême, la température induit généralement l'expression de protéines de stress thermique qui assurent la protection des enzymes clefs de la physiologie microbienne.

La température optimale pour la croissance des rhizobia et de la fixation d'azote est généralement corrélée avec la zone climatique où ils sont isolés. Ainsi, certains auteurs ont rapporté que les températures critiques de la fixation d'azote sont de 30 °C pour la trèfle et le pois et varient entre 35 °C et 40 °C pour le soja (Michiels *et al.*, 1994).

### **5.1.3. pH**

Le pH du sol joue un rôle prépondérant aussi bien dans la survie et la prolifération des rhizobactéries que dans la croissance de leur plante hôte. Les pH extrêmes affectent considérablement tous les stades de la symbiose légumineuse-rhizobia. Ils occasionnent une perte d'environ 25 % de la production agricole mondiale observée dans les terres cultivables (Coventry & Evans, 1989). La majorité des légumineuses nécessitent des pH neutres ou légèrement acides pour s'établir dans le sol.

Pour les rhizobia, l'acidité est généralement plus néfaste que l'alcalinité (Bordeleau & Prévost, 1994). Ces bactéries nécessitent un pH optimal compris entre 6,5 et 7,5 pour leur croissance. Toutefois, d'autres auteurs ont indiqué que les rhizobia présentent des réponses variées face aux variations du pH (Jordan, 1984 ; Glenn & Dilworth, 1994). Ces auteurs ont observé que les rhizobia ont la capacité de s'adapter à l'acidité des sols présentant des teneurs élevées en aluminium et en manganèse par l'induction d'une réponse tolérante vis-à-vis du pH (Hungria & Vargas, 2000).

## **5.2. Facteurs anthropiques**

### **5.2.1. Métaux lourds**

Les métaux lourds sont des éléments chimiques très répandus dans l'environnement. Ils ont une origine naturelle ou anthropique. Certains métaux sont des éléments indispensables à la croissance des rhizobia et de leurs plantes hôtes. Ils jouent un rôle important dans le métabolisme des protéines, des glucides et des lipides. C'est le cas du calcium (Ca), du cuivre (Cu), du fer (Fe), du molybdène (Mo), du nickel (Ni), du phosphore (P) et du zinc (Zn). Toutefois, ils peuvent devenir toxiques lorsque la concentration dépasse un certain seuil (Loué, 1993).

D'autres métaux appelés « Eléments Traces Métalliques » (ETM) ont des effets toxiques pour les organismes vivants même à faible concentration. Ils n'ont aucun effet bénéfique connu pour la cellule. Ils ne peuvent pas être biodégradés et donc persistent dans l'environnement pendant de longues périodes. La contamination des sols par les ETM sont d'origine anthropique. Les principaux types de pollutions anthropiques proviennent de certaines pratiques agricoles telles que l'apport d'engrais, des composts et des pesticides. C'est le cas du plomb (Pb), du mercure (Hg) et du cadmium (Cd).

Les métaux lourds entraînent des modifications plus ou moins drastiques dans la structure des communautés bactériennes telluriques (Moffett *et al.*, 2003 ; Hinojosa *et al.*, 2005). Les rhizobia réagissent variablement aux différents types de métaux présents dans le sol. Certains chercheurs ont rapporté que les souches à croissance lente sont plus résistantes aux métaux lourds que les souches à croissance rapide (Tong & Sadowsky, 1994). D'autres estiment que les ETM peuvent entraîner le déclin des populations de rhizobiums et affecter irréversiblement leur croissance et leur performance symbiotique (Mc Grath *et al.*, 1995 ; Giller *et al.*, 1998).

### **5.2.2. Pesticides**

Les pesticides ou produits phytosanitaires constituent l'ensemble des substances chimiques ou biologiques utilisées pour empêcher, contrôler ou détruire un parasite (Fortin *et al.*, 2001). Dans le secteur agricole, les pesticides utilisés sont généralement chimiques et repartis dans l'une des trois grandes catégories en fonction du type d'organisme ciblé. Ce sont les insecticides, les herbicides et les fongicides.

Les insecticides sont employés pour protéger les plantes contre les insectes nuisibles. Leur mécanisme d'action se fait soit directement sur les parasites cibles par simple contact, digestion ou inhalation, soit indirectement, dans ce cas le pesticide pénètre et se diffuse dans la plante. Les plus utilisés dans l'agriculture de subsistance sont ceux de la famille des pyréthrinoïdes de synthèse (Cyperméthrine, Deltaméthrine), des organophosphorés (Chorpyriphos) et des organochlorés dont le célèbre DDT commercialisé en 1942 et interdit en 1970 (Debbab, 2014 ; Alix *et al.*, 2016).

Les herbicides ou désherbants sont des molécules de synthèse ou non dont l'objectif est de détruire ou de limiter la croissance de certains végétaux. Les premiers herbicides sont les dérivés arsenicaux, les chlorates et le borate de sodium. Ces produits détruisaient indistinctement les plantes et leur toxicité chez les mammifères était élevée. Toutefois, la recherche agrochimique a permis l'identification d'un grand nombre de molécules ayant des cibles précises et souvent spécifiques du monde végétal, voire d'une espèce végétale. Grâce à ces molécules, différentes sortes d'herbicides tels que le Glyphosate et le 2,4-D sel d'amine ont été développés.

Les fongicides sont des produits phytosanitaires conçus pour combattre la prolifération des maladies des plantes provoquées par des champignons. La famille la plus importante de

fongicides utilisés en agriculture est celle des dithiocarbamates. Les fongicides tels que le Mancozèbe, le Manèbe et le Propineb font partie de cette famille. Ils sont capables d'agir au niveau de plusieurs constituants cellulaires chez les champignons. Ce sont des fongicides de contact que l'on utilise de façon préventive (Riadi *et al.*, 2010).

L'utilisation des pesticides a pour but d'améliorer la productivité des plantes en les protégeant des nuisibles. Toutefois, leur utilisation anarchique et répétée peut être défavorable pour les rendements agricoles. En effet, certains pesticides libèrent en solution des éléments, comme le Hg, le Ni et le Cu, qui ont potentiellement un effet toxique sur le sol, ce qui engendre une modification de leur fertilité (Jiries *et al.*, 2002 ; Floch *et al.*, 2011). L'application massive de ces produits de synthèse provoque un enrichissement des sols en métaux et augmente leur absorption par les cultures entraînant ainsi, un risque potentiel de santé publique (Peris *et al.*, 2007 ; Tu *et al.*, 2011). L'utilisation de ces produits agrochimiques a aussi un impact sur la communauté des bactéries rhizosphériques impliquées dans la croissance et le développement des plantes. Leur impact sur les bactéries nodulant les légumineuses ont fait l'objet de plusieurs travaux (Khan *et al.*, 2006 ; Al Abboud, 2014 ; Mohamad & Al-Naser, 2018).

## **6. Autres éléments majeurs limitant la croissance des plantes**

### **6.1. Phosphore**

Après l'azote, le phosphore (P) est le deuxième macronutriment majeur nécessaire à la croissance et au développement des plantes (Vance, 2001 ; Solano *et al.*, 2008 ; Keneni *et al.*, 2010). C'est un élément nutritif indispensable et irremplaçable pour les besoins vitaux des plantes (Rfaki *et al.*, 2014). Il est l'un des constituants essentiels de l'ADN, de l'ARN et de nombreuses molécules énergétiques (ATP, ADP et AMP) chez tous les êtres vivants. Le phosphore entre dans la composition des phospholipides qui contrôlent la stabilité et les propriétés des membranes cellulaires (Marschner, 1995). Son rôle majeur est le stockage d'énergie, et sa libération durant le métabolisme cellulaire.

La majorité du phosphore est généralement présente sous forme de complexes métalliques insolubles liés au fer, à l'aluminium ou au silicium dans les sols acides ou avec le carbonate de calcium dans les sols alcalins (Whitelaw, 2000 ; Gyaneshwar *et al.*, 2002). Richardson *et al.* (2009) ont estimé que la majorité des sols agricoles possèdent une quantité importante de P total

(phosphore organique et minéral). Toutefois, seule une faible fraction généralement inférieure à 1 % serait disponible ou assimilable pour être absorbé par les végétaux. Sa faible disponibilité dans les sols est l'un des affecte la fixation symbiotique de l'azote et les rendements chez les légumineuses. En effet, ces plantes ont des besoins plus importants en phosphore comparées aux autres (Sadowsky, 2005). Le déficit en cet élément réduit le nombre et la masse des nodules ainsi que l'activité de la nitrogénase des légumineuses (Qiao *et al.*, 2007).

Les travaux de plusieurs chercheurs, ont montré que certains microorganismes ont la capacité de solubiliser le Phosphore et améliorer la croissance des plantes. Le mécanisme commun utilisé par ces microorganismes pour la solubilisation du phosphate tri-calcique est l'acidification du milieu *via* la biosynthèse et la libération d'un large éventail d'acides organiques (Goldstein, 2007 ; Delvasto *et al.*, 2008). Parmi ces microorganismes, les rhizobia, grâce à leur capacité à produire l'acide 2-ketogluconique et des enzymes phosphatases possèdent cette aptitude à solubiliser cet élément chimique (Sharma, 2005).

## **6.2. Potassium**

Le potassium est le troisième nutriment majeur important pour les plantes. Il intervient dans plusieurs processus physiologique et biochimique lors de la croissance et le développement des végétaux. En effet, le potassium joue un rôle clé dans la réalisation de la photosynthèse par l'activation des enzymes de régulation de l'ouverture et de la fermeture des stomates. Il joue également un rôle primordial dans le transport de l'eau et des nutriments à travers le xylème (Pettrigrew, 2008 ; Shanware *et al.*, 2014). Ainsi, sans une teneur adéquate de potassium, les plantes poussent avec des racines peu développées ce qui pourrait entraîner une baisse qualitative et quantitative de la production agricole.

Le potassium est présent dans le sol sous différentes formes. Il s'y trouve des formes échangeables, non échangeables et sous la forme minérale comme la biotite, la muscovite, le mica, etc. 90 à 98 % du potassium dans le sol est insoluble et inutilisable par la plante exceptée une infime partie (1 à 8 %) présente dans la solution du sol (Parmar & Sindhu, 2013 ; Pratama & Anas, 2016). Pour pallier cette insuffisance, les agriculteurs utilisent d'avantages d'engrais phosphatés de synthèse dont l'utilisation répétée peut entraîner des conséquences négatives sur l'environnement (Kumar & Dubey, 2012 ; Archana *et al.*, 2013).

Ainsi, pour allier production agricole et protection de l'environnement, des chercheurs ont montré que certains microorganismes du sol sont capables de solubiliser le potassium naturel pour le mettre à la disposition de la plante (Kumar & Dubey, 2012). Les travaux de Liu *et al.* (2012) et Archana *et al.* (2013) ont montré que *Aspergillus niger*, *Clostridium pasteurianum*, *Pseudomonas* sp, *Burkholderia*, *Bacillus mucilaginosus*, *B. extroquens*, *B. edaphicus*, *B. circulans*, *Acidothiobacillus ferrooxidans* et *Paenibacillus* sp. sont capables de solubiliser *in vitro* le mica, la muscovite, la biotite et le feldspath. Ces microorganismes peuvent fournir une technologie alternative pour rendre le Potassium disponible pour les plantes en protégeant ainsi l'environnement (Rogers *et al.*, 1998).

## **Deuxième partie : MATERIEL ET METHODES**

## 1. Zone d'étude

### 1.1. Situation géographique

L'étude a été menée dans le Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire, précisément dans les départements de Daloa et Divo (Figure 7). Ces départements sont respectivement les chefs-lieux des régions du Haut Sassandra et du Lôh Djiboua. Ils sont situés dans la Moyenne Côte d'Ivoire Forestière, entre la Basse Côte d'Ivoire et la zone préforestière ou zone de transition.

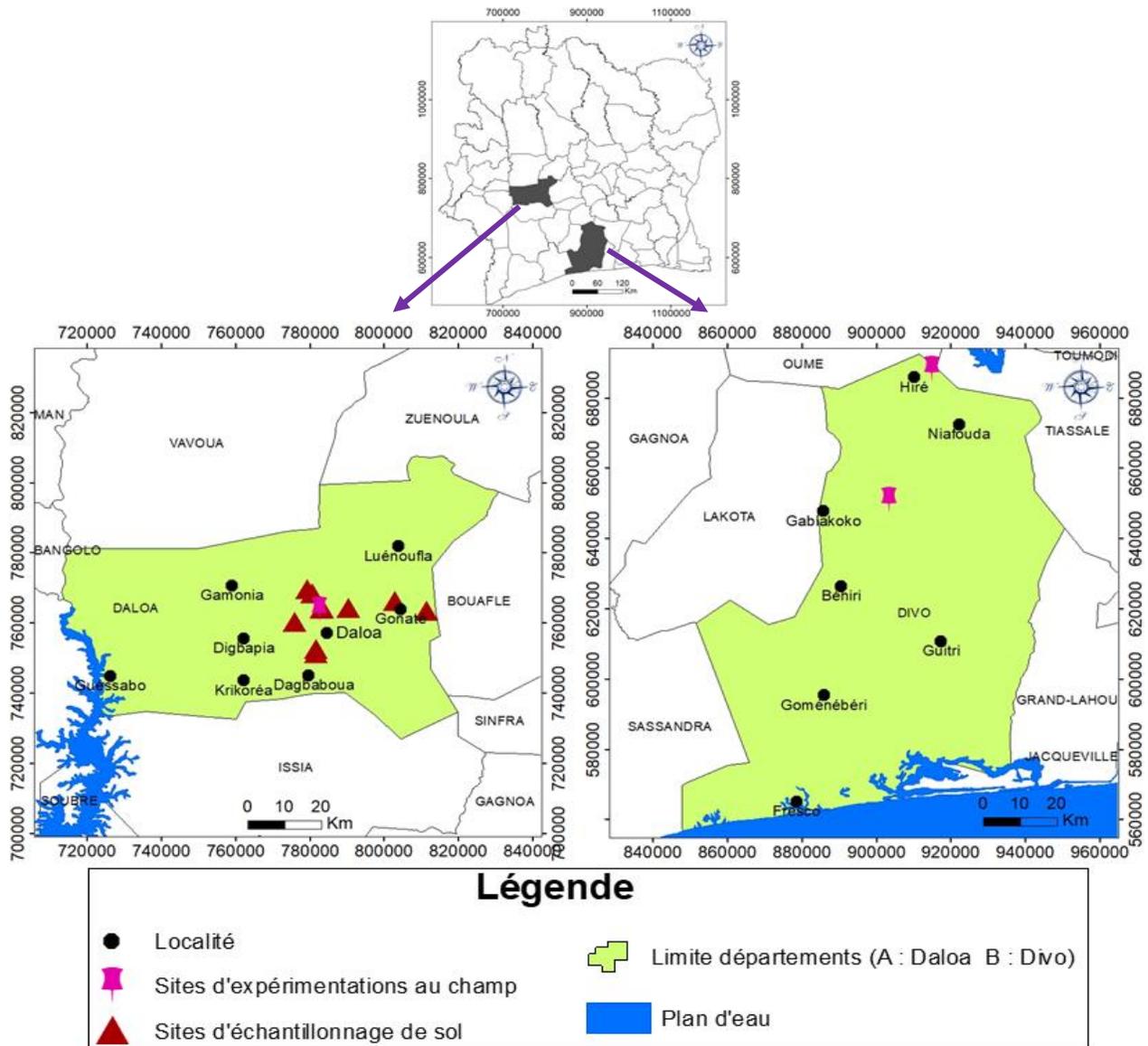


Figure 7 : Présentation de la zone d'étude

### **1.1.1. Département de Daloa**

Situé dans le Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire, le département de Daloa est le chef-lieu de la région du Haut Sassandra. Il est localisé entre 6°84' et 6°91' de latitude Nord et entre 6°41' et 6°48' de longitude Ouest (Konaté *et al.*, 2018). Ce département a une superficie de 5 450 km<sup>2</sup> et regroupe les Sous-Préfectures de Daloa, Bédiala, Gadouan, Gboguhé, Gonaté et Zaïbo. Il est limité par les départements de Zoukougbeu à l'Ouest, Bouaflé à l'Est, Issia et de Sinfra au Sud, puis par ceux de Vavoua et Zuénoula au Nord. Selon le Recensement Général de la Population et de l'Habitat (RGPH), la population du Département était de 591 633 habitants en 2014. Cette population est constituée de trois (3) groupes. Le premier groupe est constitué des populations autochtones qui sont : les Bété, les Niamboua, les Kwia, les Gouro et une partie des Niédéboua. Le second groupe comprend les populations d'allochtones composées en majorité des Baoulé, Sénoufo et Malinké. Le dernier groupe est constitué d'allogènes dont des populations de la CEDEAO (Burkinabès, Maliens, Guinéens, Sénégalais et Nigériens) et les communautés libanaises et Mauritanienes (PRICI, 2016).

### **1.1.2. Département de Divo**

Autrefois situé dans la région du Bandaman, le département de Divo est actuellement le chef-lieu de la Région du Lôh-Djiboua. Il est constitué des sous-préfectures de Divo, Chiepo, Didoko, Hiré, Nébo, Ogoudou et Zégo (PRICI, 2016). Il est limité au Nord par le département d'Oumé, au Sud par celui de Guitry, à l'Est par les Départements de Tiassalé et Grand-Lahou puis, à l'Ouest par le Département de Lakota. Le département de Divo est composé d'une population cosmopolite estimée en 2014 à 380 220 habitants selon les résultats du RGPH (INS, 2015). Celle-ci comprend les peuples autochtones issus du groupe Krou (Dida et Godié) et du groupe Akan (Ega), des allochtones (Baoulé, Malinké, Senoufo, Wê et Bété) et des allogènes Burkinabés, Maliens, Nigériens, Guinéens, Nigériens et Libanais (MPD, 2016).

## **1.2. Sols, climat et végétation**

### **1.2.1. Département de Daloa**

La région du Haut Sassandra est située dans la Moyenne Côte d'Ivoire Forestière. Elle est couverte par une forêt dense humide semi-décidue ou une forêt défrichée mésophile. Les sols du département de Daloa sont de type ferrallitique remanié faiblement à moyennement désaturés et des ferrisols (Brou, 2010 ; Konaté *et al.*, 2018).

Le régime climatique du département de Daloa est celui du domaine Guinéen. C'est un climat humide avec quatre saisons dont deux saisons pluvieuses et deux saisons sèches. La première saison des pluies se situe entre avril et mi-juillet et marque la plus grande saison des pluies. La seconde saison pluvieuse est de courte durée. Elle se situe entre mi-septembre et novembre. Les deux saisons se situent entre décembre et mi-mars, puis entre mi-juillet et mi-septembre respectivement pour la grande et la petite. Les pluviométries moyennes sont comprises entre 1400 et 1600 mm par an avec une moyenne annuelle de 1300 mm. La température moyenne annuelle est de 25,6 °C. Selon Brou (2005), le mois de juin représente le pic de la grande saison pluvieuse et celui de septembre, le pic de la petite saison des pluies. Ces deux maxima sont séparés par un ou deux mois plus ou moins pluvieux. Ces conditions naturelles favorables à un bon développement agricole ont été à la base de la migration des populations allochtones et allogènes vers cette zone qui demeure une zone agricole de référence.

### **1.2.2. Département de Divo**

Le département de Divo est couvert par différentes classes de sols. On n'y trouve des ferrallitiques moyennement lessivés dans sa moitié sud et des ferrisols dans le nord de la région (Dabin, 1960).

La végétation de la zone est constituée d'une mosaïque de forêts dégradées et de forêts denses semi-décidues (Kassin, 2009). On y rencontre plusieurs espèces ligneuses. Le relief est caractérisé par de vastes plateaux offrant d'importantes potentialités agricoles et forestières. Aujourd'hui, les activités humaines entraînent une dégradation progressive de celles-ci. Le climat du département de Divo est de type équatorial de transition, qui associe deux saisons pluvieuses à deux saisons sèches. Divo fait partie des régions moyennement arrosées du pays, avec une pluviométrie moyenne annuelle comprise entre 1200 et 1600 mm, ainsi qu'une

température annuelle maximale autour de 35 °C et une minimale autour de 20 °C (Kassin *et al.*, 2008).

### **1.3. Activités agricoles**

#### **1.3.1. Département de Daloa**

Les activités agricoles sont assez diversifiées dans le département de Daloa. On y trouve les cultures de rente comme le café, le cacao et l'hévéa. C'est la deuxième zone de production du cacao et la première du café du pays (MINAGRI, 2010). Les principales cultures familiales sont le riz, la banane plantain, le manioc, le maïs et les légumes (Koffie-Bikpo & Kra, 2013).

#### **1.3.2. Département de Divo**

Le département de Divo dispose de multiples potentialités dans le domaine agricole. Les principales cultures de rente sont le cacao, le café et le palmier à huile. Ces cultures occupent une place de choix dans la croissance économique de la Côte d'Ivoire. Dans ce département, les cultures de subsistances sont dominées par le riz, le manioc, le maïs et les légumes (MPD, 2016).

### **1.4. Justification du choix de la zone d'étude**

Les départements de Daloa et de Divo situés respectivement dans les régions du Haut Sassandra et du Lôh Djiboua sont couverts par une forêt dense humide semi-décidue à une forêt défrichée mésophile (Guillaumet & Adjanohoun, 1971 ; Kouamé & Zoro Bi, 2010). Ils ont connu une perte de 84 % de leur superficie en forêts pendant les quatre (4) dernières décennies au profit des cultures de rente (Koné *et al.*, 2009). En effet, les régions du Haut Sassandra et du Lôh Djiboua qui a habité la zone de l'étude ont une part importante dans la production et la commercialisation des produits de rentes tels que le cacao, l'hévéa et le palmier à huile. En 2003, elles occupaient 21 % de la surface totale de la production cacaoyère en Côte d'Ivoire (Konaté *et al.*, 2015a). Malgré les potentialités de ces régions, elles font partie des huit (08) régions qui enregistrent les taux élevés de populations rurales extrêmement pauvres avec 59,7 % pour le Haut Sassandra et 58,1 % pour le Lôh Djiboua (Youan Bi, 2016 ; Ducroquet, 2017). Ce paradoxe est dû au fait que les engrais et les pesticides utilisés par les agriculteurs sont acquis à crédit (Youan Bi, 2016). Ceux-ci ont le devoir de rembourser ces crédits après les récoltes. Ainsi,

lorsque leurs recettes sont inférieures aux investissements réalisées, certains parmi eux sont contraints de brader leurs champs pour rembourser les crédits contractés (Youan Bi, 2016). De plus, l'utilisation répétée des jachères ne permet plus aux agriculteurs d'être autosuffisants en aliments.

Ce travail réalisé dans cette zone permettra de proposer aux agriculteurs, à court terme, des techniques culturales viables économiquement et écologiquement. En effet, les agriculteurs de la zone de l'étude pourront utiliser le soja inoculé avec les rhizobia locaux pour fertiliser les reliques de terre qu'ils disposent. Ils pourront ainsi réduire les investissements liés à l'achat des intrants chimiques. Aussi, la vente des graines de soja ou de ses produits dérivés pourrait-elle leur permettre de diversifier les sources de revenu.

## **2. Matériel**

### **2.1. Matériel biologique**

#### **2.1.1. Matériel végétal**

Le matériel végétal utilisé est constitué de cinq (05) cultivars de soja (Canarana, Doko, IT-235, Piramama et Tracaja). Ces cultivars ont été fournis par le Centre National de Recherche Agronomique (CNRA). L'ensemble de ces cultivars de soja est originaire du Brésil excepté IT-235 qui provient de l'Institut International pour l'Agriculture Tropicale (IITA) basé à Ibadan au Nigeria. Parmi ceux-ci, Canarana et Doko ont été introduits et cultivés en Côte d'Ivoire depuis 1990. Ils sont considérés actuellement comme des variétés locales de soja. Piramama et Tracaja introduits dans le pays en 2007 sont en phase de pré vulgarisation. En revanche, le cultivar IT-235 issu du continent est une variété à forte promiscuité. Il est en phase de sélection finale dans le pays.

#### **2.1.2. Matériel bactérien**

Le matériel bactérien est constitué des bactéries locales nodulant le soja isolées des nodosités des différents cultivars Canarana, Doko, IT-235, Piramama et Tracaja dans cette étude et la souche *Bradyrhizobium japonicum* IRAT-FA3 utilisée comme référence. Cette souche de *Bradyrhizobium* a été introduite en Côte d'Ivoire par le Laboratoire des Symbioses Tropicales de Montpellier (LSTM) en France. Elle est utilisée depuis une vingtaine d'années par le Centre National de Recherche Agronomique (CNRA) pour produire de l'inoculum de soja.

### **2.2. Matériel technique**

Le matériel technique est constitué du matériel de laboratoire et de matériel de terrain.

Le matériel de laboratoire est essentiellement constitué de :

- boîtes de Pétri pour l'ensemencement des bactéries ;
- une balance électronique de marque Adventurer Pro de précision 0,01 g pour réaliser les pesées ;
- un réfrigérateur pour la conservation des produits et des isolats ;
- un vortex pour homogénéiser les précultures ;

- une plaque chauffante pour homogénéiser et chauffer les milieux de culture ;
- une étuve pour l'incubation des milieux de culture ;
- un autoclave pour la stérilisation des milieux et de la verrerie ;
- une hotte et un bec Bunsen pour travailler en condition d'asepsie ;
- un microscope optique pour l'observation de la forme des bactéries et de la coloration de leur paroi.

Le matériel de terrain est composé de :

- décamètre pour mesurer les dimensions des terrains, des différentes parcelles du dispositif utilisé et la hauteur des plants ;
- machettes et de dabs pour le labour des terrains ;
- sachets plastiques pour conserver les échantillons de sol et les nodules ;
- Pots en plastique de 3 litres pour les essais en conditions contrôlées ;
- un G.P.S (Global Positioning System) pour géoréférencer les sites d'échantillonnage des sols et des parcelles expérimentales dans les différentes régions ;
- un appareil photographique pour les prises de vues des parcelles et des paramètres végétatifs du soja.

### 3. Méthodes

#### 3.1. Constitution d'une collection de rhizobia indigènes nodulant le soja

##### 3.1.1. Collecte des échantillons de sols

Dans le but d'avoir une collection comportant un maximum de bactéries nodulant le soja, des échantillons de sols ont été collectés lors des prospections sur six (06) sites dans le département de Daloa. Ces sites d'échantillonnage sont localisés à Daloa, Bribouo, Gbétitapéa, Tapéguhé et Gonaté. Cette dernière localité (Gonaté) a abrité deux (02) sites. Le choix des sites d'échantillonnage a été fait en tenant compte de leur historique culturel (tableau IV). Un accent particulier a été mis sur les sols ayant déjà reçu la culture de soja sans apport d'inoculum ou à défaut d'autres types de légumineuses à graines telles que l'arachide (*Arachis hypogaea*), le niébé (*Vigna unguiculata*), le soja vert (*Vigna radiata*) et le haricot (*Phaseolus vulgaris*).

Sur chaque site, des sous échantillons de sols ont été prélevés à l'aide d'une tarière à une profondeur de 0 à 15 cm au hasard dans 05 endroits distincts et mélangés pour obtenir un échantillon composite. Au total six (06) échantillons composites correspondant aux différents sites ont été transportés au laboratoire, puis conservés dans des sachets plastiques à fermeture hermétique à la température ambiante.

Tableau IV : Différents sites d'échantillonnage et leurs antécédents cultureux.

Sites	Antécédents cultureux	Coordonnées géographiques
Daloa	Soja vert ( <i>Vigna radiata</i> )	6°54'31.76''N ; 6°26'14.99''W
Bribouo	Niébé ( <i>Vigna unguiculata</i> )	6°52'22.12''N ; 6°30'11.96''W
Gbetitapéa	Arachide ( <i>Arachis hypogea</i> )	6°47'31.35''N ; 6°27'7.84''W
Gonaté Nord	Soja ( <i>Glycine max</i> )	6°55'36.59''N ; 6°15'31.76''W
Gonaté SODEFOR	Soja ( <i>Glycine max</i> )	6°53'59.14''N ; 6°10'54.89''W
Tapéguhé	Haricot ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	6°57'25.48''N ; 6°28'22.69''W

### **3.1.2. Piégeage des bactéries nodulant le soja**

Le piégeage des bactéries nodulant le soja (BNS) potentiellement présentes dans les échantillons de sols prélevés a été réalisé en conditions contrôlées (sous abri et un régime hydrique dépendant d'un arrosage régulier) sur le site expérimental de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa (UJLoG) (6°54'27,37''N ; 6°26'11,26''W). Des pots en plastique de capacité 04 litres ont été remplis avec les sols composites échantillonnés (Figure 8). Ces pots avaient une profondeur de 17 cm et un diamètre de 20 cm en surface et 15 cm à la base.

Les graines des cinq variétés de soja ont été stérilisées en surface avec une solution de chlorure de mercure ( $\text{HgCl}_2$ ) à 0,1 % (m/v) pendant 3 min puis, rincées six fois à l'eau distillée. Trois (3) graines stériles de chacune des variétés ont été semées dans chaque pot à une profondeur de 3 cm. Chaque cultivar a été semé dans un pot avec quatre répétitions, soit 30 pots par bloc et 120 pots pour l'ensemble des sols échantillonnés.



Figure 8 : Pots en plastique contenant les sols composites échantillonnés

### **3.1.3. Collecte et conservation des nodules**

La collecte des nodules a été réalisée au niveau des racines des plantules de soja obtenues au début de la floraison. Les pots ont d'abord été secoués délicatement afin de vider leurs contenus. Ensuite, les mottes de terres ont été débarrassées des racines manuellement sans toutefois endommager les nodules. Puis, le système racinaire (racines et nodules) a été lavé plusieurs fois à l'eau ordinaire afin d'éliminer les restes de terre. Enfin, les nodules obtenus ont été séchés sur du

papier filtre et conservés au réfrigérateur à 4 °C pour usage allant jusqu'à 2 jours. Toutefois, pour une longue durée de conservation allant de 6 à 12 mois, une dessiccation a été faite. La méthode utilisée est celle décrite par Vincent (1970) et Somasegaran & Hoben (1994). Elle a consisté à déposer les nodules sur du coton dans des flacons stérilisés préalablement remplis de moitié par du chlorure de calcium.

#### **3.1.4. Isolement des rhizobia**

La technique classique d'isolement des souches de rhizobium décrite par Cleyet-Marel (1989) a été adoptée. Les nodules récupérés à partir des racines des différentes variétés de soja ont été stérilisés superficiellement dans une solution de chlorure mercurique  $HgCl_2$  à 0,1 % (m/v) pendant deux (2) minutes pour éliminer le plus de bactéries possibles de la rhizosphère. Ils ont ensuite été rincés 10 fois à l'eau distillée stérile.

Les nodules stériles ont été écrasés individuellement dans 1 mL NaCl 8,5 % à l'aide d'une anse de platine jusqu'à obtenir une suspension laiteuse. L'opération est réalisée dans des conditions d'asepsie totale (hotte à flux laminaire, pince flambée). Un volume de 100  $\mu$ L de chaque broyat laiteux obtenu a été ensemencé sur le milieu Yeast Extract Mannitol (YEM) solide additionné de rouge Congo (Vincent, 1970). Ce milieu à base d'extrait de levure et de mannitol est strictement dépourvu d'azote. Il est composé de Mannitol (10 g/L), d'Extrait de levure (1 g/L), de  $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$  (0,46 g/L), de  $KH_2PO_4$  (0,12 g/L), de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (0,2 g/L), de NaCl (0,1 g/L), d'Agar (14 g/L) et de rouge Congo (0,025 %). Les boîtes de pétri ensemencées ont été incubées à une température de 28 °C pendant 2 à 7 jours.

#### **3.1.5. Purification, conservation et nomenclature des isolats bactériens**

Après croissance sur le milieu YEM solide, chaque colonie bactérienne représentant un phénotype particulier (couleur, forme...) a été sélectionnée. Les colonies apparues après l'incubation sur le milieu YEM ont subies une série de repiquages successifs sur le même milieu. En effet, chaque colonie choisie a été prélevée par une anse de platine stérile et ensemencée par des stries sur le milieu YEM solide puis réincubée à 28 °C pendant 2 à 7 jours. Ces isolats ont été codifiés RSC (Rhizobia isolés du Soja en Côte d'Ivoire) et conservés pour des études ultérieures.

Deux méthodes de conservation des souches bactériennes ont été utilisées dans la présente étude,

- Pour la première technique de conservation, des tubes à essai contenant le milieu YEM ont été autoclavés à 120 °C pendant 20 minutes, puis inclinés. Après refroidissement, chaque isolat a été conservé par des stries sur la surface de la gélose inclinée. Les tubesensemencés ont été incubés à une température de 28 °C pendant 3 à 5 jours (Vincent, 1970). Cette technique permet une conservation des isolats de 6 à 12 mois à 4 °C. Elle est qualifiée de conservation à court terme. Elle est utilisée dans le cas des sous collections de travail.

- Quant à la deuxième méthode, elle a consisté à ensemenecer les isolats dans des tubes Eppendorfs contenant un milieu de cryoconservation à base de glycérol, puis conservés au surgélateur à -80 °C. Cette méthode permet en général une conservation des isolats sur une période relativement longue (4 à 10 ans).

### **3.1.6. Caractérisation biochimique et physiologique des isolats**

#### **3.1.6.1. Coloration de Gram**

Les isolats obtenus ont été soumis à un test de coloration différentielle de la paroi à travers la coloration de Gram. Ce test est une double coloration qui permet de mettre en évidence la forme, l'arrangement, la pureté et la nature biochimique de la paroi des cellules purifiées. Ainsi, à partir de pré-culture de chaque isolat, des frottis ont été faits sur des lames à l'aide d'une anse de platine (flambée et refroidie) puis fixés à la chaleur du bec Bunsen. Ces lames ont été recouvertes par une série de colorations dont le violet de gentiane (1 min), une solution iodée (lugol) pendant 30 secondes, quelques gouttes d'alcool-acétone et la fuschine (1 min). Chaque étape est suivie d'un rinçage à l'eau distillée. Après séchage des lames, les bactéries colorées ont été observées au microscope (X 100) avec de l'huile à immersion.

#### **3.1.6.2. Vitesse de croissance**

La vitesse de croissance des bactéries isolées a été évaluée sur le milieu YEM solide additionné de rouge Congo. Chaque colonie bactérienne purifiée a été mise en culture dans des tubes contenant le milieu YEM liquide pour constituer des précultures. Un volume égal à 10 µL de chaque préculture de charge 10<sup>9</sup> cellules par millilitre estensemencé sur le milieu gélosé, puis les boites de pétri incubées à 28 °C et le temps d'apparition de chaque colonie est observé.

### **3.1.7. Authentification des isolats et évaluation préliminaire de leur efficacité symbiotique**

L'efficacité symbiotique des isolats a été réalisée à travers le test d'authentification. Ce test a été conduit sous abri sur la station expérimentale de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa. L'authentification consistait à vérifier l'aptitude des isolats à rénoduler la plante hôte. La capacité à induire la formation de nodules sur les racines de la légumineuse hôte est un critère de base pour la caractérisation des bactéries de la famille Rhizobiaceae (Somasegaran & Hoben, 1994). Ce test a été réalisé sur un substrat stérile.

#### **3.1.7.1. Préparation du substrat**

Le substrat utilisé était le sable blanc de rivière. Ce substrat a d'abord été lavé jusqu'à ce que l'eau devienne claire puis séché à l'air libre. Il a été ensuite stérilisé à l'étuve à 150 °C pendant un (01) jour. Le sable aussitôt enlevé de l'étuve a été réparti dans les pots en plastique de capacité 3 L (Figure 9). Ces pots ont été préalablement désinfectés à l'eau de javel et leurs fonds ont été perforés pour assurer l'aération et le drainage d'un éventuel excès d'eau.

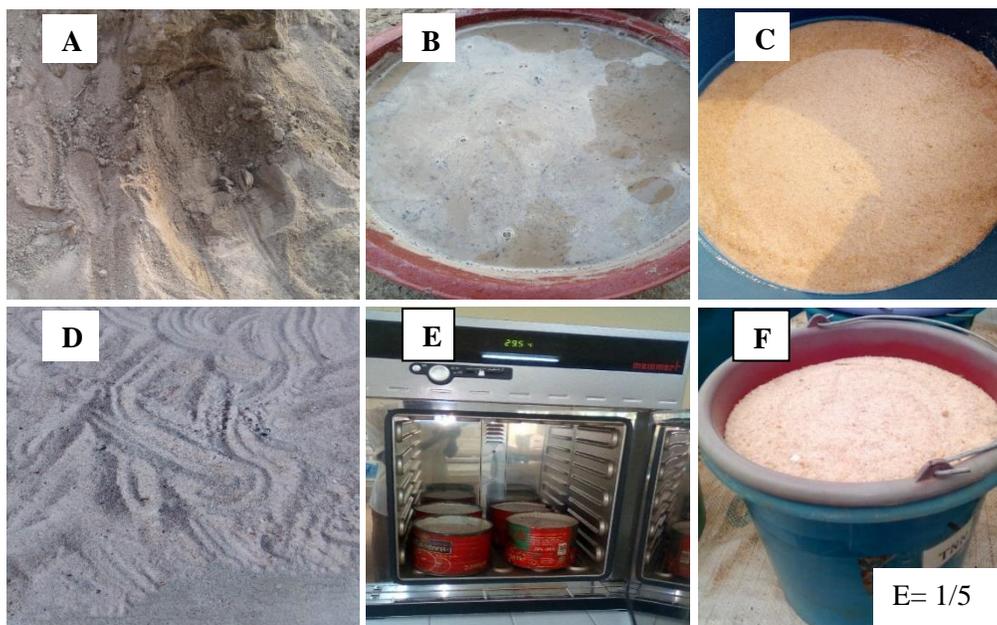


Figure 9 : Préparation du substrat.

**A** : Sable de construction riche en matière organique. **B** : Sable en début de lavage. **C** : Sable en fin de lavage.  
**D** : Sable séché. **E** : Stérilisation du sable. **F** : sable stérile empoté.

### **3.1.7.2. Stérilisation des graines**

Les graines de soja des cultivars Canarana, Doko, IT-235, Piramama et Tracaja ont été désinfectées avec une solution de chlorure mercurique acidifiée ( $\text{HgCl}_2$ ) 0,1 % (m/v) pendant 3 min, puis rincées 6 fois avec de l'eau distillée stérile. Elles ont ensuite été laissées dans la dernière eau de rinçage pendant 24 h. Trois (3) graines ont été semées aseptiquement dans chaque pot contenant le substrat stérile. Après la germination, les plantules ont été démarriées afin de laisser croître que deux (2) plantules par pots.

### **3.1.7.3. Préparation des inocula et inoculation des plantules**

Les isolats bactériens ont été mis en culture dans des tubes contenant 10 mL du milieu YEM liquide, puis incubés à 28 °C dans un incubateur-agitateur à 120 tours/min pendant 5 jours.

Sept (07) jours après semi (JAS), 1 mL de la suspension bactérienne de chaque isolat dont la charge a été estimée à  $10^9$  bactéries/mL a été utilisé pour inoculer les plantules de son cultivar hôte. Pour chaque cultivar, des plantules non inoculées ont servi de témoins. Les plantules ont été arrosées deux fois par semaine avec de l'eau distillée stérile et une fois avec de la solution nutritive dépourvue d'azote.

Au bout de 35 JAS, les plantes ont été dépotées pour évaluer la capacité de chaque isolat bactérien à former des nodosités sur le système racinaire de leur plante hôte respective. Les nodules ont été observés, puis dénombrés et les isolats correspondants ont été classés en fonction de leur infectivité.

## **3.2. Evaluation du spectre d'hôtes et présélection des isolats**

### **3.2.1. Evaluation du spectre d'hôtes de chaque isolat bactérien**

La capacité de chaque isolat authentifié à noduler d'autres variétés de soja a été évaluée. Ainsi, tout isolat ayant présenté une efficacité élevée avec le cultivar hôte a été inoculé aux quatre (04) autres cultivars de soja.

L'efficacité symbiotique (ES) d'une légumineuse est évaluée par comparaison de la biomasse obtenue avec la fixation symbiotique et de la biomasse que permet une fertilisation avec un

engrais azoté de synthèse (Karaboneye, 2013). Elle a été déterminée selon la méthode proposée par Maâtallah *et al.* (2002).

$$ES (\%) = \frac{\text{Poids sec des plantes inoculées (g)}}{\text{Poids sec des plantes fertilisées (g)}} \times 100$$

### **3.2.2. Evaluation des activités solubilisatrices du phosphate et du potassium par les isolats**

Le pouvoir des microorganismes à solubiliser le phosphate et le potassium peut être visuellement remarqué et même estimé en utilisant des méthodes de sélection sur milieu solide. Ce test est considéré en général comme une caractérisation fiable et préliminaire des microorganismes dissolvant le phosphate et le potassium (Katznelson *et al.*, 1962 ; Bardiya & Gaur, 1974).

#### **3.2.2.1. Solubilisation du phosphate**

Le test de solubilisation du phosphate permet d'évaluer la capacité des bactéries à solubiliser le phosphate tricalcique sur milieu Pikovskaya (PVK) par la production des zones claires autour des colonies microbiennes (Pikovskaya, 1948). C'est un milieu de base préconisé à l'isolement des microorganismes solubilisant les phosphates insolubles, il contient du phosphate tricalcique  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  comme seule source de phosphate. Ce milieu est composé de 10 g de D-Glucose, de 0,5 g de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , de 0,2 g de NaCl, de 0,1 g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , de 0,2 g de KCl, de 0,5 g d'Extrait de levure, de 0,002 g de  $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , de 0,002 g de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  et de 5 g de  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  pour 1 Litre.

La capacité de solubilisation des phosphates a été testée selon la méthode décrite par Nautiyal (1999). Un volume de 10  $\mu\text{L}$  de chaque culture bactérienne a été déposé en spot à la surface de la gélose PVK et incubé à 28 °C pendant 7 jours. Le diamètre de la zone claire autour de la colonie et le diamètre de la colonie ont été mesurés selon la méthode de Chibani (2017). L'indice de solubilisation du phosphate (ISP) a été calculé par la formule suivante :

$$ISP (\%) = \frac{\text{Diamètre de l'halo} - \text{Diamètre de la colonie}}{\text{Diamètre de la colonie}} \times 100$$

### **3.2.2.2. Solubilisation du potassium**

Les rhizobia indigènes nodulant le soja ont été soumis à ce test afin d'évaluer leur aptitude ou non à solubiliser le potassium sur le milieu Aleksandrov. Dans ce test, une roche potassique (le mica) a été utilisée comme source de potassium insoluble. Toute bactérie capable de produire une zone claire autour de la colonie sur le milieu Aleksandrov après sept (7) jours d'incubation à 28°C est susceptible de solubiliser le potassium. Ce milieu est constitué de 5 g de Glucose, de 0,5 g de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, de 0,1 g de CaCO<sub>3</sub>, 0,005 g de FeCl<sub>3</sub>, 2 g de poudre de mica (potassium insoluble) et de 14 g d'Agar pour 1 litre d'eau distillée stérile.

Un volume de 10 µL de chaque culture bactérienne a été déposé en spot à la surface de la gélose du milieu Aleksandrov. Après incubation à 28 °C pendant 7 jours, un halo blanc ou rose apparaît autour des colonies ayant la capacité de solubiliser le potassium (Hu *et al.*, 2006). La détermination de l'indice de solubilisation de potassium (ISK) est faite selon la formule :

$$\text{ISK (\%)} = \frac{\text{Diamètre de l'halo} - \text{Diamètre de la colonie}}{\text{Diamètre de la colonie}} \times 100$$

### **3.3. Evaluation *in vitro* des facteurs environnementaux et anthropiques sur la croissance des isolats bactériens**

#### **3.3.1. Effet des facteurs environnementaux sur la croissance des isolats bactériens**

##### **3.3.1.1. Tolérance aux variations de pH**

L'évaluation de la tolérance des isolats bactériens aux pH acides et alcalins a été réalisée sur milieu YEM solide. Les boîtes de Pétri subdivisées en sections sontensemencées par 10 µL de chaque suspension bactérienne dont la charge était de 10<sup>9</sup> bactéries/mL, puis incubées dans les boîtes de pétri contenant le milieu YEM à différents pH à 28 °C selon les tests préalablement décrits. Les valeurs du pH ont été fixées à pH = 4 ; pH = 4,5 ; pH = 5 ; pH = 6 ; pH = 6,5 ; pH = 7 ; pH = 8 ; pH = 9 et pH = 10. Sept (07) jours après l'incubation, la capacité des isolats à tolérer la variation du pH a été observée (Zhang *et al.*, 2014 ; Konaté *et al.*, 2015d).

### **3.3.1.2. Tolérance à la température**

Ce test de tolérance à la température des isolats a été réalisé sur du YEM solide à 0,1 % de NaCl, à pH = 7. Chaque boîte de pétri contenant le milieu YEM solide a étéensemencée par 10 µL d'une pré-culture fraîchement préparée puis incubée à différentes températures. Les températures d'incubation ont été 4 °C, 10 °C, 15 °C, 20 °C, 28 °C, 35 °C, 40 °C et 45 °C. Sept (07) jours après l'incubation, le niveau de croissance des isolats a indiqué la capacité de ceux-ci à tolérer la variation de la température (El Hilali, 2006).

### **3.3.1.3. Tolérance à la salinité**

La tolérance des souches à la salinité a été évaluée par la détermination de la croissance sur le milieu YEM solide additionné de NaCl à différentes concentrations. Le sel a été ajouté dans le milieu avant autoclavage à des concentrations de 0 %, 0,5 %, 1 %, 1,5 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 8 % et 10 % (Hajjam *et al.*, 2016). Les boîtes de Pétri subdivisées en sections ont étéensemencées par 10 µL de chaque suspension bactérienne dont la charge était de 10<sup>9</sup> bactéries/mL. La croissance des bactéries a été estimée par l'importance du diamètre de la colonie en comparaison à des témoins sans sel sept (07) jours après l'incubation (Reva *et al.*, 2002 ; Konaté *et al.*, 2014).

## **3.3.2. Effet des facteurs anthropiques sur la croissance des isolats bactériens**

### **3.3.2.1. Effet des métaux lourds**

Ce test a été réalisé afin d'évaluer la capacité des souches à résister à différentes concentrations de métaux lourds sous forme de chlorures, de sulfates et de sels de plomb. Les solutions de différents métaux ont été stérilisées par filtration (Millipore 0,22 µm) puis additionnées au milieu YEM gélosé (Zhang *et al.*, 2014 ; Hajjam, 2017). Les métaux lourds utilisés et leurs différentes concentrations sont consignés dans le tableau V. Les boîtes de pétri ont étéensemencées comme précédemment et incubées à 28 °C pendant 7 jours.

Tableau V: Différents métaux lourds et leurs concentrations testés

Noms des métaux	Formules chimiques	Masses Molaires (g/L)	Concentrations testées (µg/mL)
Chlorure de Cobalt II	CoCl <sub>2</sub>	129,84	50 - 75 - 100
Sulfate de Zinc	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	287,40	
Sulfate de Cuivre	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	249,68	200 - 400 - 600
Sulfate de Manganèse	MnSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	241,08	400 - 800 - 1200
Acétate de Plomb	Pb(C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	379,33	1000 - 1500 - 2000

### 3.3.2.2. Effet des Pesticides

Le test de sensibilité/tolérance des rhizobia nodulant le soja (*Glycine max.* L) aux pesticides a été réalisé suivant le protocole de Khan *et al.* (2006) modifié par Konaté *et al.* (2015b). La dose recommandée et la moitié de la dose recommandée de chaque pesticide ont été ajoutées aseptiquement et séparément aux différents milieux YEM gélosés stériles et refroidis à 60 °C. Après solidification des milieux gélosés, un volume de 10 µL de chaque isolat en préculture fraîche avec une charge de 10<sup>9</sup> bactéries/mL a été inoculé sur les milieux de culture subdivisés en 16 secteurs. Les cultures ont été incubées à 28 °C pendant 72 heures.

Les pesticides utilisés pour ce test sont constitués d'herbicides (Glyphosate, Haloxyfop-R méthyle et 2,4-D sels d'amine), de fongicides (Mancozèbe et Propinèbe) et d'insecticides (Cypermethrine, Chlorpyrifos-ethyl et Lambda-cyhalothrine + Acétamipride).

## 3.4. Evaluation au champ de l'efficacité symbiotique et agronomique des isolats présélectionnés

### 3.4.1. Dispositif expérimental

L'expérimentation en conditions paysannes a été réalisée sur trois sites n'ayant jamais reçu d'inoculum de souches de rhizobia afin de pouvoir évaluer l'impact réel des isolats bactériens sur la nodulation, la productivité du soja et la qualité du sol sur chaque site. Les sites sont situés à Daloa, à Divo et à Hiré dans le Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire.

Sur chaque site, l'expérimentation a été conduite selon un dispositif en split plot à deux facteurs avec 3 répétitions (Figure 10). L'un des facteurs a été l'inoculation avec 10 modalités dont 7 isolats indigènes (RSC115, RSC119, RSC309, RSC324, RSC502, RSC504 et RSC508), 1 souche de référence (IRAT-FA3), 1 témoin azoté (TN) représenté par l'engrais de synthèse NPK de formulation 12 22 22 et 1 témoin non traité (T0). L'autre facteur est représenté par trois (3) variétés de soja qui sont : Canarana, Doko et Piramama. Sur chaque site, le nombre de parcelles par variété a été fixé à 30 soit au total 90 parcelles par site d'expérimentation. Ainsi, l'ensemble des essais au champ comprenait 270 parcelles élémentaires. Chaque parcelle élémentaire a une superficie de 3 m x 2 m, soit 6 m<sup>2</sup>.

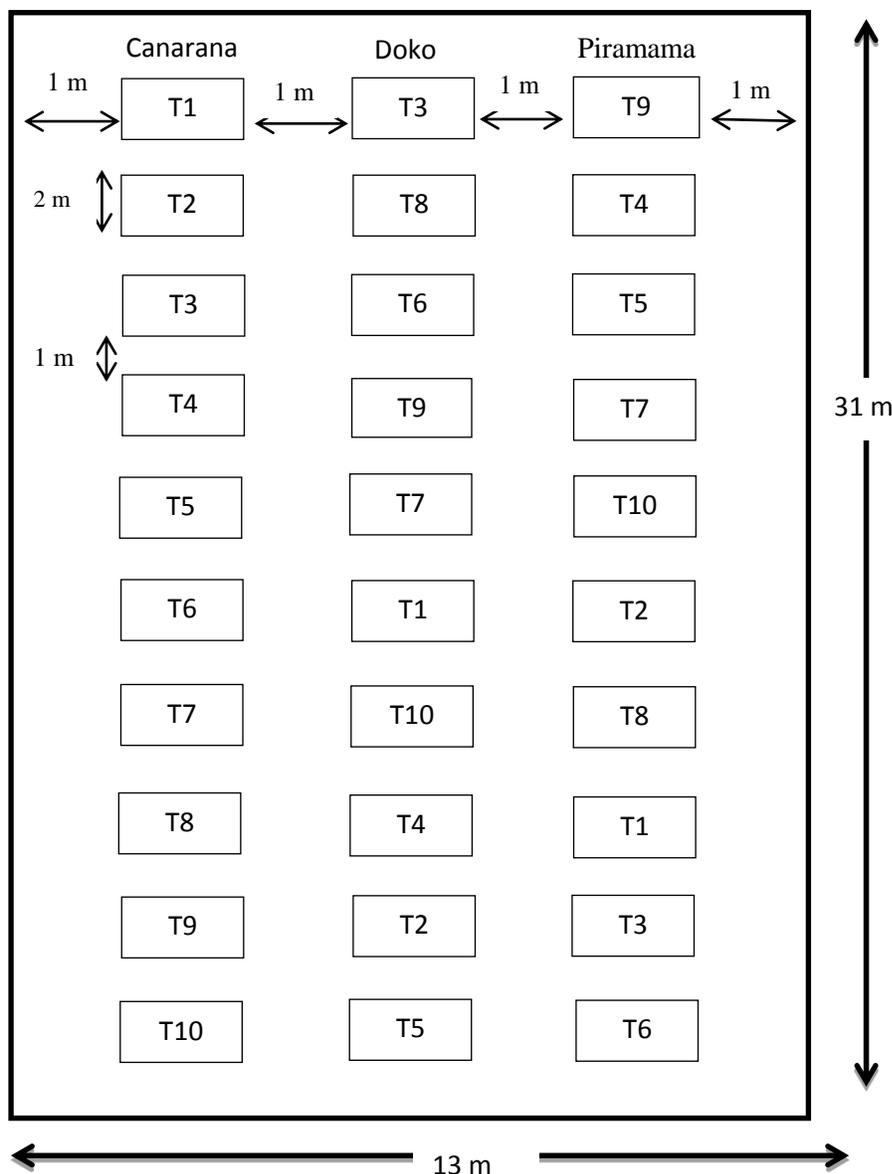


Figure 10 : Dispositif expérimental en condition de champ

T1 : Inoculation avec RSC115 ; T2 : Inoculation avec RSC119 ; T3 Inoculation avec RSC309 ; T4 : Inoculation avec RSC324 ; T5 : Inoculation avec RSC502 ; T6 : Inoculation avec RSC504 ; T7 : Inoculation avec RSC508 ; T8 : Inoculation avec la souche de référence IRAT FA3 ; T9 : apport d'engrais de synthèse (12 22 22) sans inoculation (TN) ; T10 : Témoin absolu sans apport d'engrais et d'inoculum (T0).

### 3.4.2. Inoculation et semis des graines de soja

L'inoculum bactérien a été conditionné sous la forme concentrée dans des sachets de 100 g de tourbe stérilisée au sein de l'Unité de Production d'Inoculum de Légumineuses (UPIL) du CNRA de Bouaké. La densité des bactéries a été estimée à  $10^9$  bactéries/gramme d'inoculum. Avant le semis, les graines de soja ont été inoculées avec les inocula contenant individuellement chacune

des souches sélectionnées. La méthode d'inoculation par enrobage des semences a été utilisée à raison de 15 kg de semences pour une dose de 100 g d'inoculum. Cette méthode consiste à la préparation d'une solution épaisse en faisant dissoudre 120 g de sucre dans 250 mL d'eau (Figure 11-A). La dose d'inoculum a ensuite été mélangée dans la solution sucrée (Figure 11-B). Le mélange de l'inoculum et de l'eau sucrée a été versé sur les graines puis l'ensemble a été mélangé jusqu'à ce que l'inoculum adhère à la totalité des graines (Figure 11-C-D).

Les graines ont été semées en lignes à raison de 3 graines par poquet à une profondeur de 3 cm. Chaque parcelle comptait sept (7) lignes et dix (10) poquets par ligne. Les poquets étaient distants entre eux de 20 cm et les lignes de 50 cm entre elles. Sept (07) jours après la levée, un démariage a été fait pour avoir deux (2) plants par poquet, soit 20 plants par ligne et 140 plants par parcelle élémentaire (Figure 12).

Les observations des paramètres ont été faites sur les huit (08) lignes du milieu représentant la parcelle utile en laissant les deux d'extrémités pour éviter les effets de bordure.

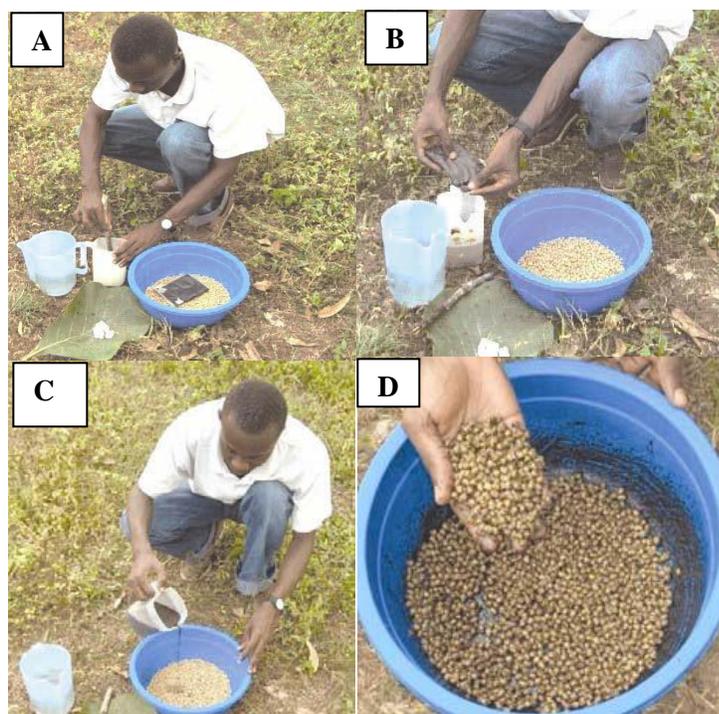


Figure 11 : Processus d'inoculation des graines de soja (Kouamé *et al.*, 2007).

A : Préparation de l'eau sucrée ; B : Incorporation de l'inoculum dans la solution d'eau sucrée ; C : Mélange de l'inoculum aux graines ; D : Adhésion de l'inoculum par les graines.

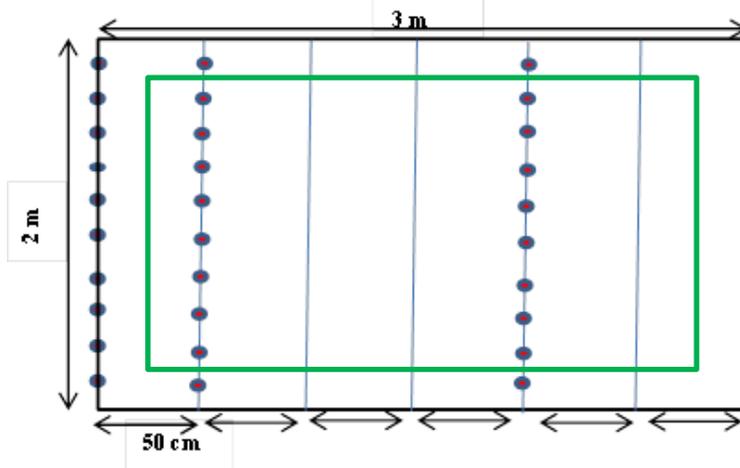


Figure 12 : Parcelle élémentaire

□ : Limite de la parcelle élémentaire ; □ : Limite de la parcelle utile ; ● : Poquet

### 3.4.3. Observations et mesures

#### 3.4.3.1. Détermination de l'incidence des isolats sur la nodulation et les paramètres végétatifs du soja

En début de floraison, cinq (5) plantules par traitement et par répétition ont servi à mesurer l'incidence de chaque traitement sur les paramètres végétatifs et de nodulation.

Les paramètres végétatifs évalués sont la hauteur des plants, l'aspect des plants, les biomasses fraîches et sèches. D'autres paramètres à savoir le délai de floraison, le niveau d'insertion de la première gousse et le délai de maturité des gousses ont été déterminés respectivement en début de la floraison, lors de la formation des gousses et à la maturité des gousses pour chaque traitement en fonction de la variété de soja.

Les paramètres de nodulation déterminés sont le nombre de nodosités et les poids secs des nodosités par plantule. Ces différents paramètres ont servi à renseigner sur l'infektivité des isolats bactériens en condition réelle.

### **3.4.3.2. Détermination de l'incidence des isolats sur la production et le rendement en gousses et en graines du soja**

Au stade de maturité, le nombre et le poids des gousses par plant, puis le poids de 100 graines et le rendement à l'hectare ont été déterminés pour chaque traitement. Les rendements à l'hectare ont été obtenus par extrapolation de la masse des graines selon la formule suivante :

$$\text{Rendement en graine (t. ha}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Masse des graines (Kg)}}{\text{Surface parcelaire (m}^2\text{)}} \times \frac{10.000 \text{ m}^2}{1.000}$$

### **3.4.4. Evaluation de l'effet post récolte du soja inoculé sur la qualité du sol**

Avant la mise en place des essais, des échantillons de sols des sites expérimentaux ont été prélevés sur chaque site à l'aide d'une tarière à une profondeur de 0 à 15 cm au hasard dans 5 endroits distincts. Ces échantillons de sol prélevés sur chaque site ont été mélangés pour obtenir un échantillon composite. Au total trois (03) échantillons composites ont été obtenus par site, soit neuf (09) au total. Ces échantillons de sols ont été analysés au laboratoire d'analyse des végétaux et des sols de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny de Yamoussoukro (INP-HB). Les paramètres évalués sont la granulométrie, le  $\text{pH}_{\text{eau}}$ , la teneur en carbone organique et en azote total, le phosphore assimilable, le phosphore total, la capacité d'échange cationique (CEC) et les bases échangeables. A la fin de l'expérimentation, d'autres échantillons de sol ont été prélevés un (01) mois après la récolte du soja sur chaque parcelle du site expérimental de Daloa et analysés. Les analyses ont concerné les paramètres indiqués ci-dessus excepté la granulométrie, la CEC et les bases échangeables. La comparaison des états initial et final du sol a permis d'évaluer l'impact réel de l'inoculation sur la qualité des sols.

La granulométrie a été effectuée par la méthode densimétrique à l'aide de la pipette de Robinson (Gee & Bauder, 1986). Cette méthode consiste à séparer les particules du sol en fonction de leurs dimensions. Elle permet de connaître sous une forme pondérale, la répartition des particules minérales de moins de 2 mm de diamètre selon différentes classes de grosseur.

Le  $\text{pH}_{\text{eau}}$  des sols a été mesuré par lecture directe au pH-mètre selon un rapport sol/eau distillée de 1: 2,5 (m/v) après agitation de la suspension à 175 tours par minute pendant 30 minutes

(Anderson & Ingram, 1993). Le pH fournit des informations sur l'activité microbienne du sol et sur le degré d'assimilation des éléments chimiques par les plantes. Il représente ainsi du point de vue agronomique un indicateur de la fertilité du sol (Pansu & Gautheryou, 2003).

Le carbone organique a été dosé après calcination des échantillons de sol au four à moufle selon la méthode de Walkley et Black (1934), puis converti en matière organique (MO) en utilisant le facteur 1,724 ( $MO = C \times 1,724$ ).

Le dosage de l'azote a été réalisé selon la méthode Kjeldahl (Bremner, 1996). Cette méthode se déroule en trois étapes (minéralisation, distillation et titration). La minéralisation consiste en la transformation de l'azote organique en une forme minérale (le sulfate d'ammonium) dans un milieu concentré acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ), en présence d'un catalyseur ( $K_2SO_4$ ) dont le rôle est d'augmenter et de stabiliser la température de la réaction. La distillation permet la transformation du  $(NH_4)_2SO_4$  en  $NH_4OH$  en présence d'un excès de soude qui alcalinise le milieu réactionnel. La solution obtenue est distillée, puis l'ammonium est récupéré dans une solution d'acide borique. La solution résultante a été titrée à l'aide d'une solution d'acide sulfurique.

Le phosphore assimilable a été déterminé selon la méthode Olsen modifiée (Dabin, 1967) et le phosphore total par colorimétrie après extraction à l'acide perchlorique (Murphy & Riley, 1962).

Les bases échangeables ( $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{3+}$ ,  $Mg^{2+}$ ) ont été extraites grâce à l'acétate d'ammonium 1 M tamponnée à pH=7. Le calcium et le magnésium ont été quantifiés par absorption atomique. Quant au potassium, il a été mesuré à travers une spectrophotométrie à flamme (Eponon *et al.*, 2019). La capacité d'échange cationique (CEC) correspond à la somme des bases du complexe d'échange.

### **3.5. Analyses statistiques des données**

Toutes les données ont été saisies sous le tableur Excel 2007. Les diagrammes et les régressions linéaires ont été réalisés grâce à ce tableur. La comparaison des moyennes des données collectées tant sur le sol que le soja a été faite par une analyse de la variance (ANOVA) au seuil de probabilité 5 %. Lorsqu'une différence significative est avérée entre les les traitements pour un caractère donné, le test de la plus petite différence significative (LSD) de Fisher est réalisé au seuil de 5 %. Toutes ces analyses ont été effectuées à l'aide du logiciel STATISTICA 7.1.

## **Troisième partie : RESULTATS ET DISCUSSION**

## **1. Résultats**

### **1.1. Collection de rhizobia indigènes nodulant le soja**

#### **1.1.1. Influence de l'origine du sol et du précédent cultural sur la nodulation**

Les résultats du test de piégeage ont montré que l'origine du sol et de l'antécédent cultural ont influencé la formation de nodules sur les systèmes racinaires des différents cultivars de soja (Figure 13). En effet, seuls les échantillons de sol provenant de la localité de Gonaté avec précédents de culture de soja ont induit la formation de nodules. Les sols provenant de Bribouo, de Daloa, de Gbetitapéa et de Tapéguhé ont été incapables d'induire la formation de nodules chez les cinq (05) cultivars de soja (Canarana, Doko, IT 235, Canarana et Tracaja) testés bien que ces derniers avaient des antécédents de cultures de légumineuses.

Aussi, l'analyse de la variance a révélé que le nombre de nodules formés sur les sites de Gonaté SODEFOR et Gonaté Nord a varié en fonction du cultivar de soja. Sur le sol de Gonaté SODEFOR le nombre de nodules a été plus élevé (38) sur le cultivar Piramama, tandis que peu de nodules ont été observés sur les cultivars IT\_235 et Tracaja (5 et 3 nodules respectivement). En revanche, le nombre de nodules le plus élevé sur le sol de Gonaté Nord a été observé sur le cultivar IT\_235 (Annexe 1). Ce cultivar a induit en moyenne 27 nodules par plante. Sur ce site, les cultivars Piramama, Doko et Canarana ont induit respectivement 7 ; 9 et 10 nodules par plantule. De plus, aucun nodule n'a été observé sur le système racinaire du cultivar Tracaja sur ce même sol. Dans l'ensemble, le cultivar Tracaja a été le moins compatible avec les rhizobia indigènes sur les échantillons de sols provenant des sites d'échantillonnage de la localité de Gonaté.

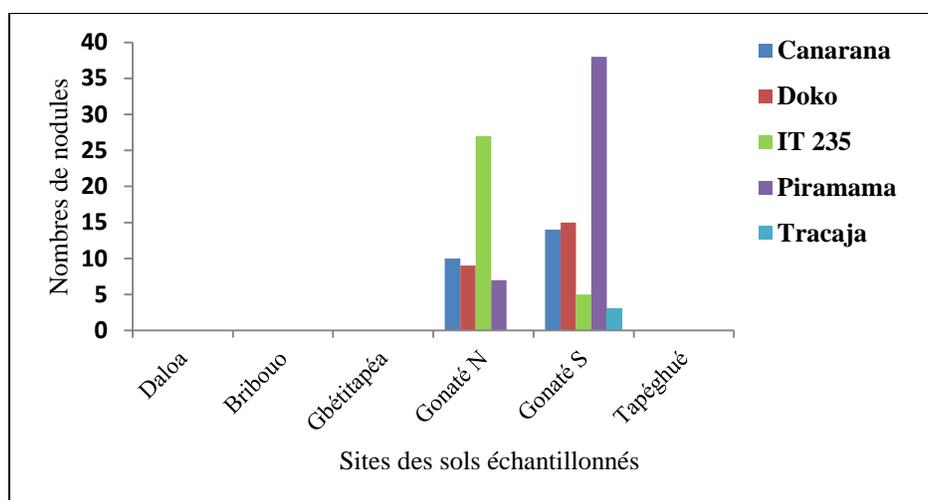


Figure 13 : Nombre de nodules obtenus en fonction des sols échantillonnés et de la variété de soja

### 1.1.2. Caractéristiques morphologiques et biochimiques des isolats bactériens

L'isolement des bactéries à partir des nodules des différents cultivars de soja a permis d'obtenir sur milieu le YEM (Yeast Extract Mannitol) plusieurs colonies après deux (02) à sept (07) jours d'incubation à 28 °C. Le repiquage et la striation en surface d'une colonie représentative d'un groupe morphotype ont permis la sélection de quatre-vingt-neuf (89) isolats codifiés RSC (Rhizobia isolés du Soja en Côte d'Ivoire).

La caractérisation morphologique de ces isolats a montré une diversité des différents paramètres étudiés (forme, élévation, couleur, opacité et diamètre des colonies). En effets, les isolats ont formé sur le milieu YEM solide des colonies circulaires à ovoïdes de diamètre variable (1 à 7 mm) avec un aspect gommeux, translucide ou crémeux (Annexe 2). La majorité de ceux-ci a présenté des couleurs rosâtre, blanchâtre ou beige indiquant une faible absorption du rouge Congo. Toutefois, les isolats RSC119 et RSC502 provenant respectivement des nodules de Doko et de Tracaja ont présenté une coloration jaunâtre, ce qui les distinguent des autres isolats (Tableau VI).

En considérant leur vitesse de croissance, ces isolats ont été scindés en deux (02) groupes. Les isolats du groupe I ont été visibles sur le milieu YEM entre 2 et 3 jours d'incubation. En revanche, ceux du groupe II n'ont pu croître qu'après 4 jours d'incubation.

Le test de la coloration de Gram a révélé que les 89 isolats sont tous des bacilles à Gram négatif (Figure 14).

Tableau VI : Caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques des isolats bactériens locaux du soja sur le milieu YEM.

<b>Isolats</b>	<b>Forme</b>	<b>Elevation</b>	<b>Couleur</b>	<b>Opacité</b>	<b>D.C (mm)</b>	<b>Vit. C (jours)</b>	<b>C. Gram</b>
<b>RSC101</b>	circulaire	Bombée	Beige	Transparent	5	3	Négative
<b>RSC102</b>	circulaire	Plate	Beige	Transparent	7	2	Négative
<b>RSC103</b>	circulaire	Bombée	Blanchâtre	Translucide	5	2	Négative
<b>RSC104</b>	circulaire	Bombée	Blanchâtre	Transparent	4	3	Négative
<b>RSC106</b>	circulaire	Plate	Beige	Transparent	5	3	Négative
<b>RSC107</b>	circulaire	Plate	Rosâtre	Transparent	5	2	Négative
<b>RSC108</b>	circulaire	Bombée	Blanchâtre	Transparent	5	2	Négative
<b>RSC109</b>	circulaire	Plate	Rosâtre	Transparent	5	2	Négative
<b>RSC110</b>	circulaire	Plate	Beige	Translucide	3	3	Négative
<b>RSC111</b>	circulaire	Plate	Beige	Opaque	5	2	Négative
<b>RSC112</b>	circulaire	Plate	Beige	Transparent	6	2	Négative
<b>RSC113</b>	circulaire	Plate	Rosâtre	Transparent	2	2	Négative
<b>RSC114</b>	circulaire	Plate	Rosâtre	Transparent	2	2	Négative
<b>RSC115</b>	circulaire	Plate	Rosâtre	Transparent	3	6	Négative
<b>RSC116</b>	circulaire	Plate	Beige	Transparent	2	3	Négative
<b>RSC117</b>	circulaire	Plate	Beige	Transparent	5	2	Négative
<b>RSC118</b>	circulaire	Plate	Beige	Transparent	2	4	Négative
<b>RSC119</b>	circulaire	Plate	Jaunâtre	Transparent	1	2	Négative
<b>RSC201</b>	circulaire	Bombée	Blanchâtre	Transparent	4	3	Négative
<b>RSC202</b>	circulaire	Bombée	Beige	Transparent	3	2	Négative
<b>RSC203</b>	circulaire	Bombée	Blanchâtre	Transparent	5	2	Négative
<b>RSC204</b>	circulaire	Bombée	Beige	Transparent	5	3	Négative
<b>RSC205</b>	circulaire	Bombée	Blanchâtre	Transparent	2	5	Négative
<b>RSC206</b>	circulaire	Bombée	Blanchâtre	Transparent	5	2	Négative
<b>RSC207</b>	circulaire	Bombée	Blanchâtre	Transparent	3	4	Négative
<b>RSC208</b>	circulaire	Bombée	Blanchâtre	Transparent	6	2	Négative
<b>RSC209</b>	circulaire	Bombée	Beige	Opaque	4	3	Négative
<b>RSC210</b>	circulaire	Bombée	Beige	Transparent	6	2	Négative
<b>RSC211</b>	circulaire	Bombée	Beige	Transparent	4	3	Négative
<b>RSC212</b>	circulaire	Bombée	Beige	Transparent	5	2	Négative
<b>RSC213</b>	circulaire	Bombée	Beige	Opaque	6	2	Négative
<b>RSC214</b>	ovoïde	Bombée	Beige	Opaque	5	2	Négative
<b>RSC215</b>	circulaire	Plate	Rosâtre	Transparent	6	2	Négative
<b>RSC216</b>	circulaire	Plate	Rosâtre	Transparent	7	2	Négative
<b>RSC217</b>	circulaire	Plate	Rosâtre	Transparent	5	2	Négative
<b>RSC301</b>	circulaire	Bombée	Blanchâtre	Transparent	3	3	Négative
<b>RSC302</b>	circulaire	Bombée	Blanchâtre	Transparent	4	3	Négative
<b>RSC303</b>	circulaire	Bombée	Blanchâtre	Transparent	4	2	Négative
<b>RSC304</b>	circulaire	Bombée	Rosâtre	Opaque	4	2	Négative

*Troisième partie : Résultats et discussion*

<b>RSC305</b>	circulaire	Bombée	Rosâtre	Transparent	5	2	Négative
<b>RSC306</b>	circulaire	Plate	Beige	Transparent	7	2	Négative
<b>RSC307</b>	circulaire	Bombée	Rosâtre	Opaque	4	3	Négative
<b>RSC308</b>	circulaire	Bombée	Rosâtre	Opaque	3	3	Négative
<b>RSC309</b>	circulaire	Bombée	Jaunâtre	Transparent	2	4	Négative
<b>RSC310</b>	circulaire	Bombée	Rosâtre	Transparent	2	5	Négative
<b>RSC312</b>	circulaire	Bombée	Rosâtre	Transparent	3	3	Négative
<b>RSC313</b>	circulaire	Bombée	Rosâtre	Transparent	4	3	Négative
<b>RSC314</b>	circulaire	Bombée	Rosâtre	Transparent	6	2	Négative
<b>RSC315</b>	circulaire	Bombée	Blanchâtre	Transparent	3	4	Négative
<b>RSC316</b>	circulaire	Bombée	Blanchâtre	Transparent	4	3	Négative
<b>RSC317</b>	circulaire	Bombée	Blanchâtre	Transparent	2	6	Négative
<b>RSC318</b>	circulaire	Bombée	Rosâtre	Transparent	4	2	Négative
<b>RSC319</b>	circulaire	Bombée	Rosâtre	Transparent	4	3	Négative
<b>RSC320</b>	circulaire	Bombée	Blanchâtre	Transparent	4	3	Négative
<b>RSC321</b>	circulaire	Bombée	Rosâtre	Transparent	7	2	Négative
<b>RSC322</b>	circulaire	Bombée	Rosâtre	Transparent	2	5	Négative
<b>RSC323</b>	circulaire	Bombée	Rosâtre	Transparent	3	3	Négative
<b>RSC324</b>	circulaire	Bombée	Rosâtre	Transparent	2	4	Négative
<b>RSC325</b>	circulaire	Bombée	Rosâtre	Transparent	4	3	Négative
<b>RSC326</b>	circulaire	Bombée	Rosâtre	Transparent	6	5	Négative
<b>RSC327</b>	circulaire	Bombée	Rosâtre	Transparent	3	3	Négative
<b>RSC328</b>	circulaire	Bombée	Beige	Transparent	3	2	Négative
<b>RSC329</b>	circulaire	Bombée	Beige	Transparent	4	2	Négative
<b>RSC330</b>	circulaire	Bombée	Rosâtre	Transparent	2	3	Négative
<b>RSC331</b>	circulaire	Bombée	Rosâtre	Transparent	2	4	Négative
<b>RSC401</b>	circulaire	Plate	Jaunâtre	Opaque	5	5	Négative
<b>RSC404</b>	circulaire	Plate	Beige	Transparent	7	3	Négative
<b>RSC405</b>	circulaire	Plate	Beige	Transparent	6	2	Négative
<b>RSC406</b>	circulaire	Plate	Beige	Transparent	4	5	Négative
<b>RSC408</b>	point	Plate	Rosâtre	Transparent	2	6	Négative
<b>RSC409</b>	circulaire	Plate	Blanchâtre	Transparent	1	5	Négative
<b>RSC410</b>	circulaire	Plate	Blanchâtre	Transparent	3	4	Négative
<b>RSC411</b>	circulaire	Plate	Rosâtre	Transparent	2	6	Négative
<b>RSC412</b>	irrégulière	Plate	Blanchâtre	Transparent	2	6	Négative
<b>RSC413</b>	irrégulière	Plate	Beige	Transparent	6	2	Négative
<b>RSC414</b>	circulaire	Plate	Beige	Transparent	2	6	Négative
<b>RSC415</b>	circulaire	Plate	Beige	Transparent	4	3	Négative
<b>RSC416</b>	circulaire	Plate	Beige	Transparent	4	3	Négative
<b>RSC501</b>	circulaire	Plate	Blanchâtre	Transparent	3	4	Négative
<b>RSC502</b>	circulaire	Plate	Jaunâtre	Transparent	4	3	Négative
<b>RSC503</b>	circulaire	Plate	Rosâtre	Transparent	4	3	Négative
<b>RSC504</b>	circulaire	Plate	Blanchâtre	Transparent	3	4	Négative
<b>RSC505</b>	circulaire	Plate	Rosâtre	Transparent	4	3	Négative

### Troisième partie : Résultats et discussion

<b>RSC506</b>	circulaire	Plate	Rosâtre	Transparent	3	3	Négative
<b>RSC507</b>	circulaire	Plate	Rosâtre	Transparent	5	2	Négative
<b>RSC508</b>	circulaire	Plate	Rosâtre	Transparent	5	3	Négative
<b>RSC509</b>	circulaire	Plate	Rosâtre	Transparent	5	2	Négative
<b>RSC510</b>	circulaire	Plate	Rosâtre	Transparent	3	4	Négative
<b>RSC511</b>	circulaire	Plate	Rosâtre	Transparent	3	3	Négative

Vit. C : Vitesse de croissance ; C Gram : Coloration de Gram ; D.C : Diamètre des colonies ; RSC : Rhizobia de Soja isolés en Côte d'Ivoire

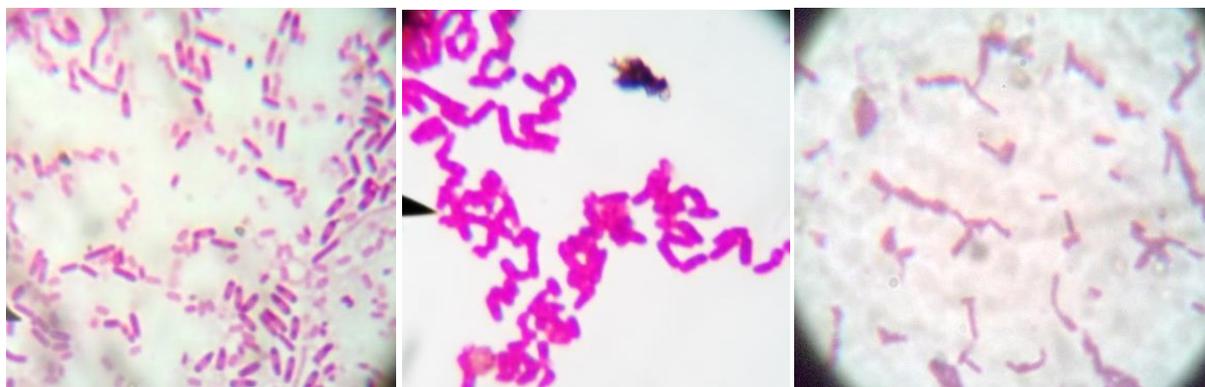


Figure 14 : Aspect microscopique des isolats du soja après la coloration de Gram (G×100).

#### 1.1.3. Isolats bactériens du soja authentifiés

Un total de 89 isolats a été collectionné à partir de l'isolement direct de nodosités fraîches issues des racines de plantules de soja. Tous ces isolats ont présenté des traits distinctifs (morphologies, temps de génération, coloration de Gram) des rhizobia. En effet, il est ressorti que l'infectivité des isolats locaux est variable. Une proportion de 66,29 % des isolats a été capable de rénoduler la plante hôte de soja. Aussi, le nombre de nodules formés a-t-il varié en fonction de l'isolat pour chaque variété hôte. Le nombre de nodules formés par plantule est compris entre 1 et 45. En tenant compte du nombre total de nodosités formées sur chaque plantule de soja, l'étude a montré que :

- 63 % des isolats ont une infectivité symbiotique inférieure à 10 nodules par plantule.
- 12 % des isolats ont une infectivité comprise entre 10 et 20 nodules par plantule.
- 8 % des isolats ont une infectivité comprise entre 20 et 30 nodules par plantule.
- 17 % des isolats ont une infectivité supérieure à 30 nodules par plantule (Figure 15).

Le test d'authentification a permis aussi d'identifier les rhizobia locaux les plus infectifs. Il s'agit des seize (16) rhizobia locaux ayant induit une infectivité supérieure à 20 nodules par plant. Ce

sont RSC114, RSC115, RSC119, RSC207, RSC309, RSC310, RSC312, RSC323, RSC324, RSC325, RSC412, RSC413, RSC502, RSC504, RSC506 et RSC508 (Tableau VII). Toutefois, ce sont les isolats RSC119, RSC508 et RSC 309 qui ont induit les nombres les plus élevés de nodules respectivement : 45, 43 et 42 nodules formés avec les plantes hôtes (Figure 16).

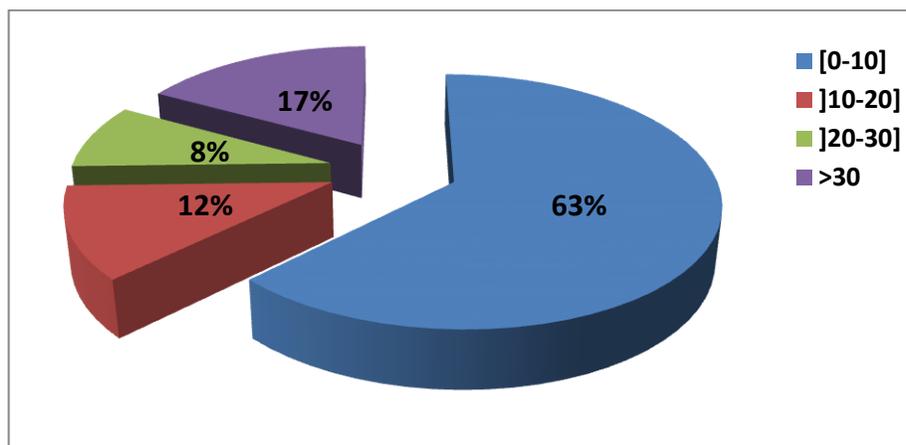


Figure 15 : Répartition des isolats en fonction de leur infectivité.



Figure 16 : Nodules induits sur les racines de différents cultivars de soja par les rhizobia locaux.

A. Cultivar Canarana sans inoculation ; B. Cultivar Tracaja inoculée avec l'isolat RSC508 ; C. Cultivar Doko inoculée avec l'isolat RSC119 ; D. Variété Piramama inoculée avec l'isolat RSC309.

Tableau VII : Liste des isolats locaux authentiques du soja en fonction des variétés

Isolats	Nombre de nodules/plante	Variété hôte	Isolats	Nombre de nodules/plante	Variété hôte
RSC101	1	Doko	RSC315	7	Piramama
RSC103	2	Doko	RSC316	3	Piramama
RSC104	1	Doko	RSC317	4	Piramama
RSC105	2	Doko	RSC318	20	Piramama
RSC110	3	Doko	RSC319	7	Piramama
RSC112	1	Doko	RSC320	6	Piramama
RSC114	32	Doko	RSC321	4	Piramama
RSC115	22	Doko	RSC322	8	Piramama
RSC119	45	Doko	RSC323	38	Piramama
RSC201	2	IT_235	RSC324	32	Piramama
RSC203	2	IT_235	RSC325	39	Piramama
RSC204	1	IT_235	RSC326	11	Piramama
RSC206	2	IT_235	RSC328	7	Piramama
RSC207	36	IT_235	RSC329	6	Piramama
RSC208	14	IT_235	RSC331	11	Piramama
RSC211	3	IT_235	RSC406	5	Canarana
RSC212	4	IT_235	RSC410	5	Canarana
RSC215	20	IT_235	RSC411	8	Canarana
RSC301	11	Piramama	RSC412	22	Canarana
RSC302	3	Piramama	RSC413	28	Canarana
RSC303	4	Piramama	RSC414	5	Canarana
RSC304	5	Piramama	RSC501	4	Tracaja
RSC305	3	Piramama	RSC502	32	Tracaja
RSC307	4	Piramama	RSC504	43	Tracaja
RSC308	4	Piramama	RSC505	2	Tracaja
RSC309	42	Piramama	RSC506	20	Tracaja
RSC310	38	Piramama	RSC507	3	Tracaja
RSC312	27	Piramama	RSC508	23	Tracaja
RSC313	10	Piramama	RSC511	3	Tracaja
RSC314	7	Piramama			

#### **1.1.4. Evaluation du spectre d'hôtes de soja des isolats authentifiés**

##### **1.1.4.1. Capacité d'induction de nodosités sur différents cultivars de soja**

Les 16 isolats les plus infectifs sur 89 testés lors du test d'authentification ont pu induire la formation de nodosités avec d'autres cultivars de soja contrairement aux témoins. Toutefois, l'analyse de la variance a montré que le nombre de nodules formés a été influencé significativement ( $P = 0,02$ ) par les isolats et les cultivars testés. Une proportion de 81,3 % isolats a induit la formation de nodosités sur tous les cultivars testés (Canarana, Doko, IT\_235, Piramama et Tracaja). L'isolat RSC114 a été la bactérie qui a eu le spectre d'hôtes le plus étroit. En effet, cette bactérie n'a pu induire la formation de nodosités sur le système racinaire des cultivars Canarana, Doko, et Tracaja (Tableau VIII).

Parmi les isolats indigènes à large spectre d'hôtes, RSC115, RSC119, RSC309, RSC324, RSC502, RSC504 et RSC508 ont été plus infectifs par rapport à la souche de référence (*Bradyrhizobium japonicum* IRAT FA3) avec les cultivars excepté Canarana. L'isolat RSC504 a été la bactérie qui a induit le plus la formation de nodosités sur les racines des cultivars Doko, IT\_235 et Tracaja. Il a induit respectivement la formation de 52 ; 79 et 66 nodules par plant. En revanche, la souche *B. japonicum* IRAT FA3 a induit la formation de 34, 35 et 20 nodules par plant respectivement avec ces mêmes cultivars. Pour le cultivar Piramama, l'isolat RSC502 a été le plus infectif avec 64 nodules formés par plant contre 35 nodules par plant pour la souche de référence.

Sur l'ensemble des cultivars, Canarana a été moins réceptif à l'inoculation avec les isolats locaux. En effet, aucun isolat indigène n'a pu accroître la formation de nodosités sur son système racinaire par rapport à *B. japonicum* IRAT FA3. Toutefois, cette souche a induit statistiquement le même nombre de nodules que l'isolat RSC119.

En tenant compte de leur réceptivité vis-à-vis des isolats locaux, les cultivars de soja testés ont été classés en trois (03) groupes : le premier groupe concerne le cultivar Piramama avec plus de 30 nodules formés en moyenne sur son système racinaire ; le second groupe est composé des cultivars Doko, IT-235 et Tracaja avec un nombre de nodules compris entre 20 et 30. Le cultivar Canarana, avec moins de 20 nodules observés en moyenne sur son système racinaire, constitue le troisième groupe.

Tableau VIII : Nombre de nodules induits par 16 rhizobia indigènes sur différents cultivars de soja

Sources d'azote	Cultivars de soja					Moyenne
	Canarana	Doko	IT_235	Piramama	Tracaja	
RSC114	-	-	8±1g	11±2,1hi	-	4
RSC115	10±1,5ge	39±2c	39±2d	58±4,5b	28±4,6e	35
RSC119	28±4a	45±3b	37±3de	42±2,4d	38±2c	38
RSC207	10±1,5ge	-	28±2f	13±3h	4±1	11
RSC309	16±2d	40±3c	25±2f	42±2,9d	24±1,7f	29
RSC310	13±2ef	10±1,5f	1±0h	38±3,2de	9±2i	14
RSC312	8±1,7e	18±2,6e	25±2,6f	30±2,1f	9±1i	18
RSC323	10±1,5ge	1±0,6h	26±2f	36±1,5e	1±0jk	15
RSC324	18±2d	35±3d	28±1,7f	50±2,1c	25±3ef	31
RSC325	12±2fg	7±1,5fg	46±3,6c	39±3,6de	15±3h	24
RSC412	18±2d	8±1,5f	8±1g	15±0,6h	2±1jk	10
RSC413	13±2ef	4±1,5g	-	9±1,1i	8±1i	7
RSC502	15±2de	46±1,6b	36±1,7de	64±3,5a	58±2,6b	44
RSC504	21±3c	52±2a	79±3a	36±1,5e	66±3,6a	51
RSC506	12±2fg	34±1,7d	35±1e	26±2,9g	34±2d	28
RSC508	24±4b	47±2,5b	50±3,5b	41±3d	32±2,6d	39
IRAT FA3	27±5a	34±1,7d	35±1,7e	35±1,5ef	20±2g	30
TN	-	-	-	-	-	-
T0	-	-	-	-	-	-
<b>Moyenne</b>	16	26	30	34	22	
<b>CV (%)</b>	25	11,6	13,3	14,7	22,7	
<b>LSD (5 %)</b>	2,3	3,7	4,0	5,0	4,0	

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher ; TN : Témoin fertilisé et non inoculé ; T0 : Témoin non fertilisé et non inoculé ; LSD : Plus petite différence significative.

Comme le nombre de nodules, le poids sec des nodules formés sur les systèmes racinaires des différents cultivars de soja a été influencé significativement ( $P < 0,05$ ) par l'inoculation (Tableau IX). Toutefois, l'effet des isolats a varié en fonction du cultivar de soja. En effet, avec la variété Doko, dix (10) rhizobia locaux ont augmenté le poids sec des nodules par rapport à la souche de référence. L'isolat RSC504 a induit le poids de nodules par plantule le plus élevé qui a été estimé à 321 mg contre 95 mg pour la souche de référence, soit un gain de biomasse nodulaire de 237,9 %.

Au niveau du cultivar IT\_235, le poids sec nodulaire a varié de 0 à 296,7 mg. Parmi les rhizobia locaux testés, RSC207, RSC309, RSC324, RSC325, RSC502, RSC504, RSC506 et RSC508 ont

induit des poids de nodules supérieurs à celui induit par la souche IRAT FA3. Cependant, cette dernière a induit des effets statistiquement similaires aux isolats locaux RSC114, RSC115, RSC119, RSC324 et RSC413 avec le même cultivar.

En ce qui concerne le cultivar Piramama, les isolats RSC119, RSC324, RSC502 et RSC508 ont induit des poids secs nodulaires élevés par rapport à la souche de référence. En revanche, cette souche de *Bradyrhizobium* a induit une biomasse nodulaire statistiquement similaire à celle induite par RSC115, RSC207, RSC309, RSC310, RSC312, RSC323, RSC325, RSC504 et RSC506. Le poids sec de nodules le plus élevé a été induit par l'isolat RSC119 avec 253,3 mg contre 113,3 mg pour la souche IRAT FA3.

Pour le cultivar Tracaja, le poids sec nodulaire a été amélioré par les isolats RSC119, RSC309, RSC502, RSC506 et RSC508 comparé à celui induit par la souche de référence. La biomasse nodulaire la plus élevée (143,3 mg) a été obtenue avec RSC309. Celle induite par la souche introduite a été 76,7 mg.

Quant au cultivar Canarana, aucun isolat local testé n'a pu induire un poids sec nodulaire supérieur à la souche *B. japonicum* IRAT FA3. Toutefois, l'isolat RSC119 a induit un poids sec de nodule similaire à celui de la souche de référence. Ces bactéries ont favorisé respectivement 89,7 mg et 80 mg de poids secs de nodules.

Tableau IX : Impact des rhizobia indigènes et de la souche introduite de *Bradyrhizobium japonicum* sur le poids sec des nodules des différents cultivars de soja

Sources d'azote	Cultivars de soja					Moyenne
	Canarana	Doko	IT_235	Piramama	Tracaja	
<b>RSC114</b>	-	-	96,7±5,8f	80±8,6f	-	35,3
<b>RSC115</b>	46,7±5,8d	266,7±8,8b	122,3±9,3 ef	125±8,2de	66,7±5,8fgh	125,5
<b>RSC119</b>	80±10a	263,3±6,7bc	118,3±5,8 ef	253,3±12,3a	117±16,1bc	166,4
<b>RSC207</b>	15±5,0e	-	200±10b	113,3±8,8e	40±8,7ij	73,7
<b>RSC309</b>	53,3±5,8d	250±10,0c	186,7±15,3bc	133,3±5,8cde	143,3±35,1a	153,3
<b>RSC310</b>	45±5de	166,7±4,9e	16,7±5,8g	130±10cde	53,3±5,8hi	82,3
<b>RSC312</b>	15±2,5e	183,3±5,8d	203,3±20,8b	116,7±9,3e	65±8,7fgh	116,7
<b>RSC323</b>	15±3e	10±2,9j	116,7±28,9ef	120±9,9e	11,7±2,9kl	54,7
<b>RSC324</b>	66,7±6,2b	110±10f	206,7±5,8b	213,3±10,3b	86,7±5,8de	136,7
<b>RSC325</b>	36,7±7,6e	73,3±3h	296,7±20,8a	146,7±12,5cd	80±5efg	126,7
<b>RSC412</b>	21,7±2,9f	77,7±2,5h	126±12,2e	78±5,8f	26,7±11,5jk	66
<b>RSC413</b>	21,7±2,8f	46,7±2,9i	-	80±10f	63,3±10,4gh	42,3
<b>RSC502</b>	56,7±5,8cd	181,3±10,3d	183,3±28,9bcd	246,7±8,3a	126,7±11,5ab	158,9
<b>RSC504</b>	69±8,9c	321±13,3a	186,7±23,1bc	153,3±5,8c	83,3±11,5ef	162,7
<b>RSC506</b>	36,7±7,6e	190±10d	163,3±23,1cd	146,7±12,5cd	110±10bc	129,3
<b>RSC508</b>	73,3±7,7bc	273,3±5,8b	160±20d	193,3±11,5b	103,3±5,8cd	160,7
<b>IRAT FA3</b>	89,7±10,2a	95±3,8g	110±10ef	133,3±10,3cde	76,7±5,8efg	100,9
<b>TN</b>	-	-	-	-	-	-
<b>T0</b>	-	-	-	-	-	-
<b>Moyenne</b>	43,6	147,5	146,7	144,9	73,7	
<b>CV (%)</b>	22,9	23,7	19,1	24,8	20,3	
<b>LSD (5 %)</b>	10	14,7	31,6	26,7	26,6	

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher. TN : Témoin fertilisé et non inoculé ; T0 : Témoin non fertilisé et non inoculé ; LSD : Plus petite différence significative.

#### 1.1.4.2. Efficacité symbiotique des isolats locaux du soja

L'analyse de la variance (ANOVA) a montré que l'inoculation a influencé de manière significative ( $P = 0,03$ ) la biomasse sèche des plantules par rapport au témoin absolu quel que soit le cultivar. Toutefois, l'effet de l'inoculation a varié en fonction de l'isolat et du cultivar de soja.

La biomasse sèche de tous les cultivars a été améliorée par l'ensemble des isolats testés par rapport au témoin non fertilisé (T0). Parmi ceux-ci, certains ont induit des biomasses supérieures à celles induites par le témoin azoté (TN) et la souche de référence (Tableau X).

Les isolats indigènes RSC324, RSC119 RSC504 et RSC508 inoculés au niveau du cultivar Canarana, ont induit des biomasses sèches les plus élevées par rapport à l'ensemble des isolats locaux testés. Ils ont induit respectivement 2,5 g, 2,18 g, 2,30 g et 2,23 g de matières sèches. Toutefois, les biomasses sèches induites par ces isolats ont été statistiquement similaires à celles obtenues avec TN (2,5 g) et la souche IRAT FA3 (2,46 g).

Concernant le cultivar Doko, les isolats RSC115, RSC119, RSC324, RSC502, RSC504, RSC506 et RSC508 ont boosté la production de biomasses sèches plus que TN et la souche IRAT FA3. La plus importante biomasse a été 4,61 g. Elle a été induite par l'isolat RSC504. Selon le test de LSD de Fisher, cet isolat a induit les mêmes effets sur la production de biomasse sèche que les isolats RSC119 et RSC502 au seuil de 5 %. Les poids de matières sèches induits par ces derniers ont été 4,5 g et 4,47 g respectivement. Les biomasses induites avec le témoin azoté et la souche de référence ont été 2,23 g et 3,33 g respectivement.

Pour le cultivar IT-235, les isolats RSC115, RSC119 et RSC504 ont augmenté la biomasse sèche par rapport à l'ensemble des traitements. Ils ont induit respectivement 4,65 g, 4,63 g et 4,83 g de biomasse sèche. En revanche, le témoin azoté a induit 4,02 et la souche de référence 3,77 g de biomasses sèches.

Au niveau du cultivar Piramama, seuls les isolats RSC119 et RSC508 ont accru la biomasse sèche par rapport à l'ensemble des isolats locaux testés. Ils ont par ailleurs amélioré ce paramètre par rapport au témoin azoté et à la souche de référence. Ces isolats ont induit 4,17 g et 4,16 g de matière sèche respectivement contre 3,07 g pour TN et 3,13 g pour IRAT FA3.

S'agissant du cultivar Tracaja, plusieurs isolats ont été capables d'accroître la production de biomasses par rapport à TN et IRAT FA3. Parmi ceux-ci, RSC502 et RSC504 ont induit la biomasse sèche la plus élevée (3,12 g). Les quantités de matières sèches apportées par TN et IRAT FA3 à ce cultivar sont estimées respectivement à 2,10 g et 2,15 g.

Tableau X : Impact des rhizobia et du nitrate de potassium sur la biomasse sèche de cinq cultivars de soja sur substrat stérile

Sources d'azote	Cultivars de soja					Moyenne
	Canarana	Doko	IT 235	Piramama	Tracaja	
RSC114	1,41±0,02fg	1,60±0,35j	2,63±0,29g	2,57±0,40cd	1,43±0,06l	1,9
RSC115	1,17±0,04gh	4±0,26b	4,65±0,05a	2,6±0,10cd	2,42±0,24cd	3,0
RSC119	2,18±0,13bc	4,5±0,5a	4,63±0,31a	4,17±0,17a	2,75±0,13b	3,7
RSC207	1,77±0,06de	2,02±0,27i	3,50±0,10e	1,83±0,12e	2,00±0,10ghi	2,2
RSC309	1,98±0,03cd	2,98±0,06ef	3,65±0,13de	2,63±0,21cd	2,17±0,25defg	2,7
RSC310	1,66±0,25gh	2,56±0,16gh	2,53±0,12g	1,43±0,12fg	2,37±0,21de	2,1
RSC312	1,13±0,06gh	2,69±0,11fg	4,07±0,15b	2,4±0,26d	1,82±0,16ijk	2,4
RSC323	1,31±0,02gh	1,62±0,06j	3,07±0,15f	2,4±0,26d	1,74±0,07jk	2,0
RSC324	2,5±0,43a	3,52±0,33cd	3,97±0,12bc	2,77±0,40bcd	1,94±0,10ghij	2,9
RSC325	1,62±0,08ef	2,23±0,25hi	3,97±0,12bc	2,38±0,33d	2,27±0,13def	2,5
RSC412	1,14±0,03gh	2,54±0,17gh	2,23±0,15h	1,47±0,19efg	1,61±0,10kl	1,8
RSC413	1,28±0,03gh	2,13±0,21i	2,05±0,05h	1,8±0,20ef	1,90±0,17hij	1,8
RSC502	1,71±0,06def	4,47±0,30a	3,85±0,09bcd	2,63±0,23cd	3,12±0,15a	3,2
RSC504	2,3±0,10ab	4,61±0,14a	4,83±0,12a	2,5±0,10cd	3,12±0,12a	3,5
RSC506	1,85±0,13de	3,62±0,15cd	3,23±0,15f	2,87±0,23bc	2,67±0,12bc	2,8
RSC508	2,23±0,06abc	3,85±0,04bc	4,10±0,20b	4,16±0,40a	2,63±0,21bc	3,4
IRAT FA3	2,46±0,19ab	3,33±0,23de	3,77±0,19cd	3,13±0,15b	2,15±0,05efgh	3,0
TN	2,5±0,43a	2,23±0,06hi	4,02±0,11bc	3,07±0,15b	2,10±0,26fgh	2,8
T0	1,02±0,14h	1,40±0,20j	1,74±0,05i	1,12±0,10g	1,43±0,05i	1,3
<b>Moyenne</b>	1,73±0,35	2,98±0,72	3,50±0,90	2,52±0,8	2,19±0,51	
<b>CV (%)</b>	20	24	25,7	31,7	23,3	
<b>LSD (5 %)</b>	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3	

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher. TN : Témoin fertilisé avec KNO<sub>3</sub> (5 %) et non inoculé ; T0 : Témoin non fertilisé et non inoculé ; LSD : Plus petite différence significative.

Le test de détermination de l'efficacité symbiotique a permis de montrer que l'ensemble des isolats testés a favorisé un gain en matière sèche comparativement au témoin azoté représentant 100 % de matière sèche totale produite (Figure 17). Parmi ceux-ci, les isolats RSC119, RSC324, RSC504, RSC506, RSC508 et la souche IRAT FA3 ont induit un gain en matières sèches

supérieur à 100 % de celles produites par TN avec l'ensemble des cultivars. Quant aux isolats RSC115, RSC309 et RSC502, le gain en biomasses sèches supérieur à 100 % de celles produites par TN a été obtenu avec quatre (4) cultivars.

En considérant individuellement les cultivars, les isolats RSC119 et RSC508 ont augmenté de 141,24 % la biomasse sèche totale des plants du cultivar Canarana. La souche de référence a induit avec ce même cultivar 125 % de matière sèche. Au niveau du cultivar Doko, le gain le plus élevé de biomasse a été obtenu avec les isolats RSC119, RSC502 et RSC504 respectivement avec 202 %, 200,45 % et 206,73 % contre 149,33 % pour la souche de référence. Pour le cultivar IT\_235, les gains de matières sèches les plus élevés ont été obtenus avec les isolats RSC115, RSC119 et RSC504 avec 143,96 %, 143,34 % et 149,54 % respectivement. La souche de référence a eu un apport de 124,96 % de biomasse sèche avec ce même cultivar. En revanche pour les cultivars Piramama et tracaja, ce sont respectivement les isolats RSC119 et RSC508 qui ont fourni le plus de matière sèche. L'isolat RSC119 a fourni 160,38 % avec Piramama et RSC508 143,23 % avec Tracaja. Le gain en biomasse sèche pour la souche de référence a été de 110 % et 111,98 % respectivement avec ces mêmes cultivars de soja.

A ce stade des résultats, les isolats RSC115, RSC119, RSC324, RSC502, RSC504 et RSC508 ont présenté les meilleurs avantages dans la promotion de la croissance des plants de soja et la production de biomasse végétale en condition contrôlée.

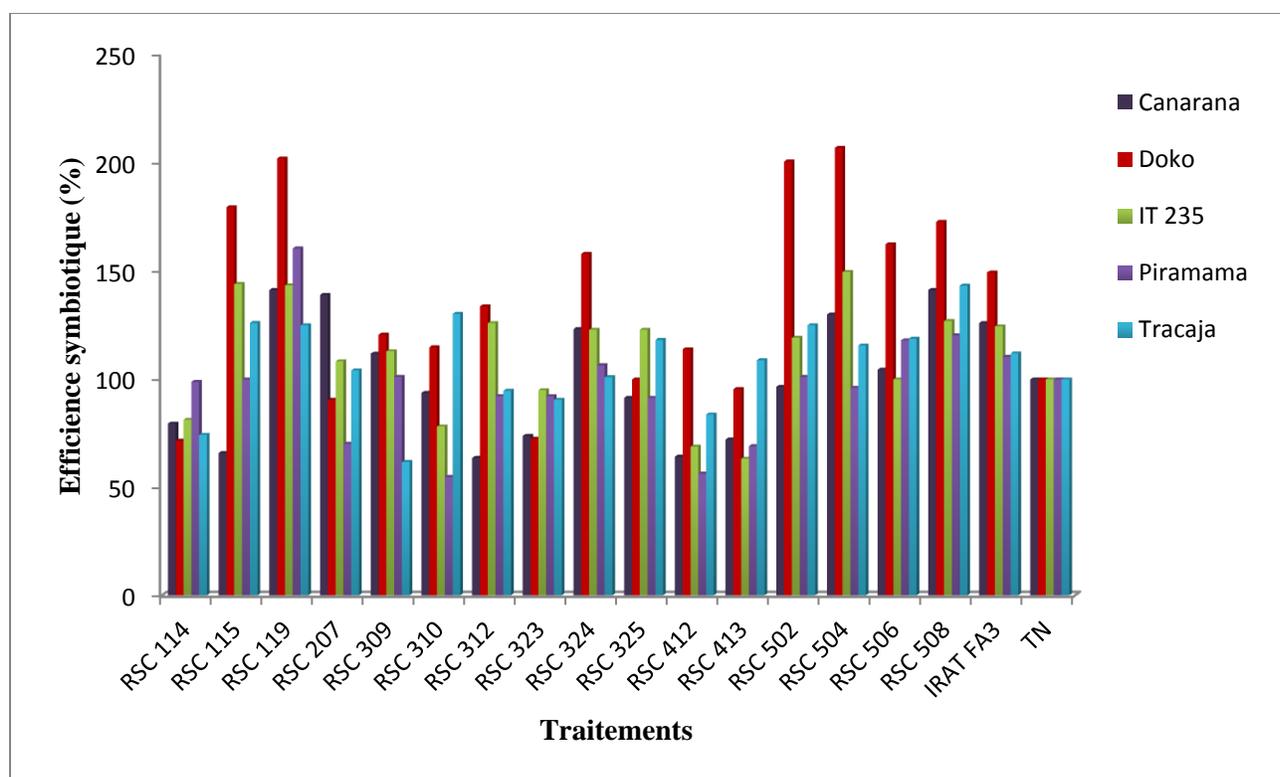


Figure 17 : Efficacité symbiotique des isolats testés sur différentes variétés de soja en condition contrôlée

#### 1.1.4.3. Corrélation entre le nombre de nodules et la biomasse sèche produite

Les corrélations entre le nombre de nodules et la biomasse sèche totale sont présentées dans la Figure 18. Cette figure montre qu'au cours de la croissance du soja, le nombre de nodules a influencé positivement la biomasse végétale sèche de l'ensemble des cultivars testés excepté Piramama. Cette observation a été traduite par les différents coefficients de corrélations. La corrélation a été plus forte avec les cultivars Tracaja ( $r = 0,90$ ), Doko ( $r = 0,87$ ) et IT-235 ( $r = 0,81$ ). Au niveau de ces cultivars la biomasse sèche a été accrue lorsque le nombre de nodules augmentait. En revanche, chez le cultivar Piramama, le nombre de nodules n'a pas toujours influencé la biomasse sèche d'où la faible valeur du coefficient de corrélation ( $r = 0,41$ ) observée.

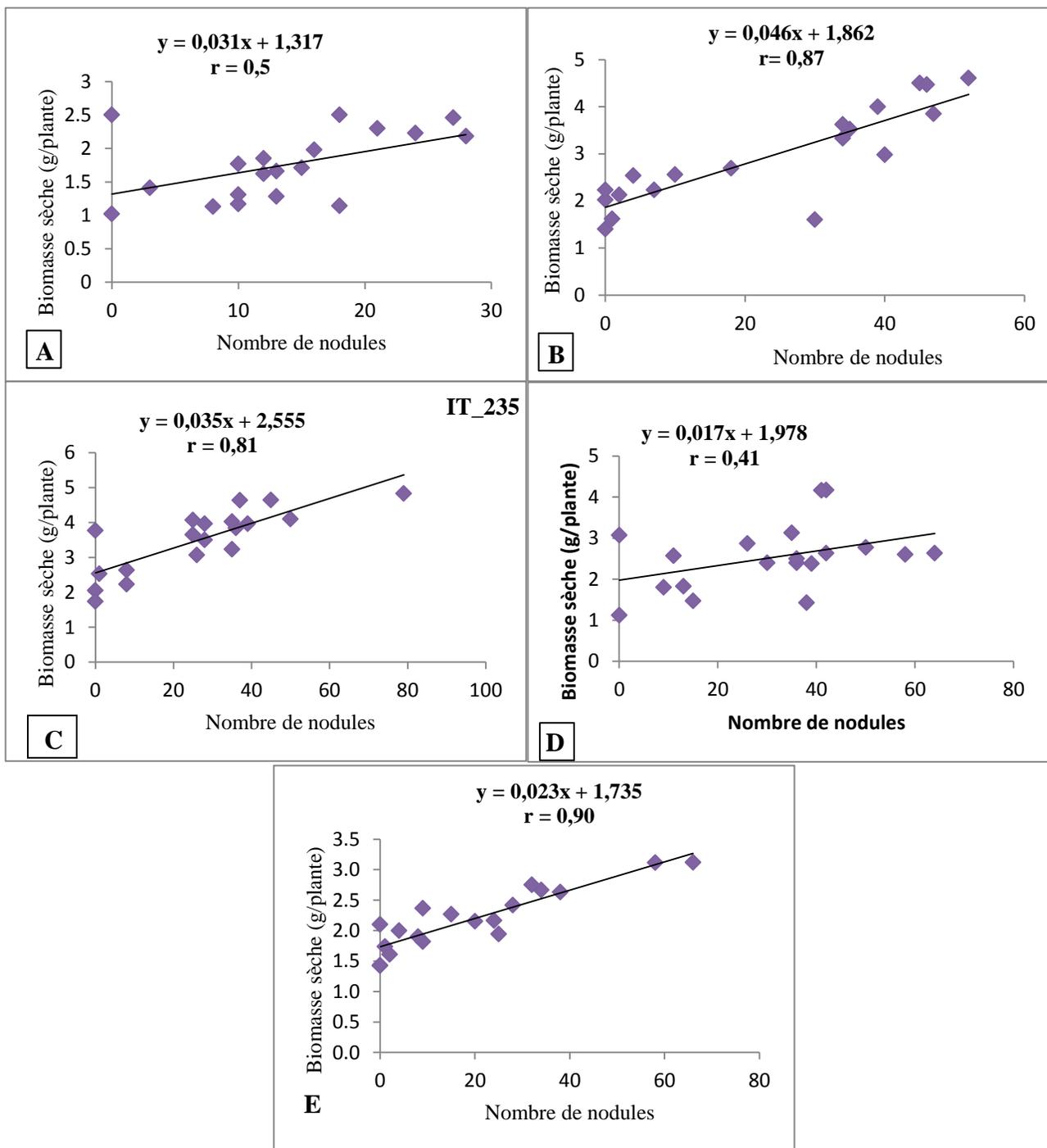


Figure 18 : Corrélations entre le nombre de nodules et la biomasse sèche de cinq cultivars de soja déposés en début de floraison.

A : Canarana ; B : Doko ; C : IT-235 ; D : Piramama ; E : Tracaja.

### 1.1.5. Capacité des isolats présélectionnés à solubiliser *in vitro* le phosphate tricalcique et le potassium

Les résultats du test d'évaluation de la capacité des bactéries à solubiliser le phosphore inorganique ont révélé que les bactéries indigènes nodulant le soja ont formé des halos clairs autour des colonies excepté les isolats RSC309, RSC312, RSC323, RSC413 et RSC506. Les isolats bactériens présentant ces zones claires ont ainsi la capacité de solubiliser le phosphate tricalcique (PTC) *in vitro*. Les indices de solubilisation du phosphate (ISP) des différentes bactéries ont varié de 20 à 344 % (Figure 19). Les plus faibles indices ont été obtenus avec les isolats RSC114 et RSC207. Ces isolats bactériens ont présenté un ISP = 20 %. En revanche, les isolats RSC115, RSC119, RSC325 et RSC502 ont produit des indices de solubilisation supérieurs ou égales à 100 %. Parmi ceux-ci, l'isolat RSC119 a présenté l'indice de solubilisation le plus élevé avec 344 % (Figure 20).

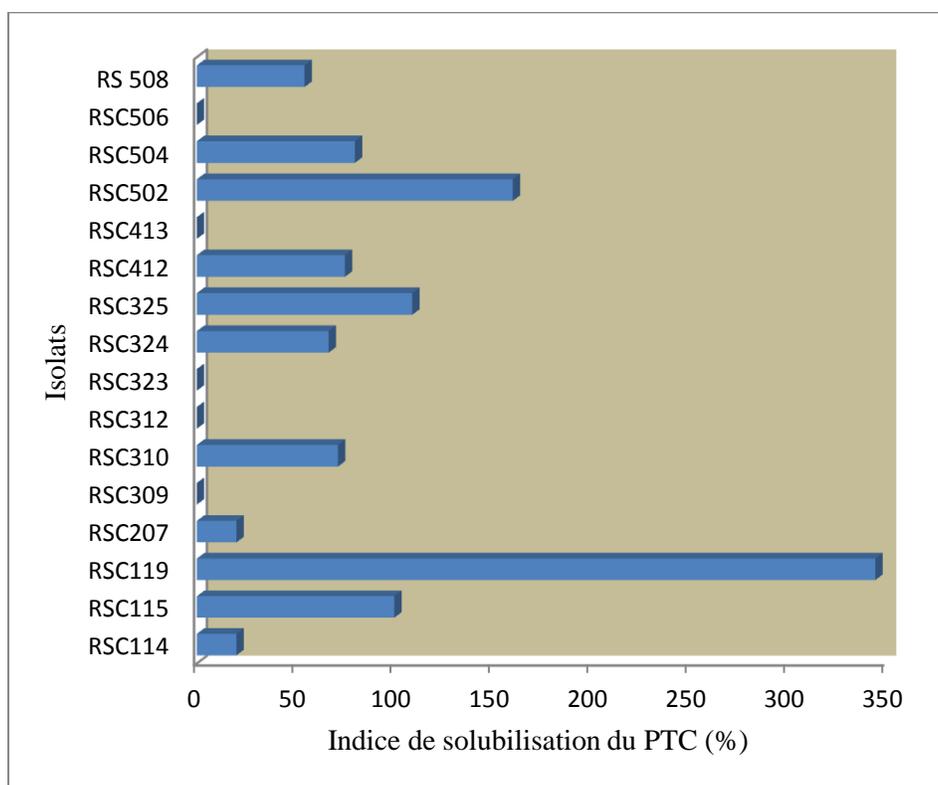


Figure 19 : Indices de solubilisation du Phosphate tricalcique par les bactéries indigènes présélectionnées du soja

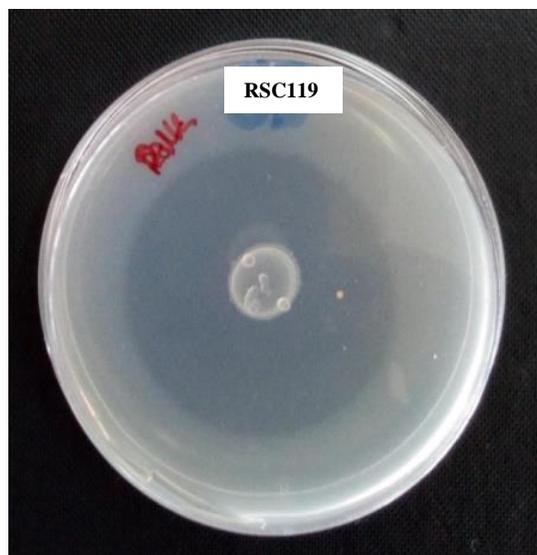


Figure 20 : solubilisation du phosphate tricalcique par l'isolat RSC119

Les résultats du test de solubilisation du potassium montrent que l'ensemble des isolats testés a formé sur le milieu de culture des halos clairs autour des colonies traduisant ainsi leur capacité à solubiliser le potassium (mica). Toutefois, ces isolats ont solubilisé différemment cet élément chimique. Cette différence du pouvoir solubilisateur est traduite par la variation de l'indice de solubilisation du Potassium (ISK) de 47,37 % à 257 % (Figure 21). L'isolat RSC309 a présenté le plus faible indice de solubilisation. Par ailleurs, les isolats RSC115, RSC207, RSC310, RSC312, RSC324, RSC502, RSC506 et RSC508 ont donné des ISK supérieurs à 100 %. L'isolat RSC310 a présenté l'indice de solubilisation le plus élevé estimé à 257 %.

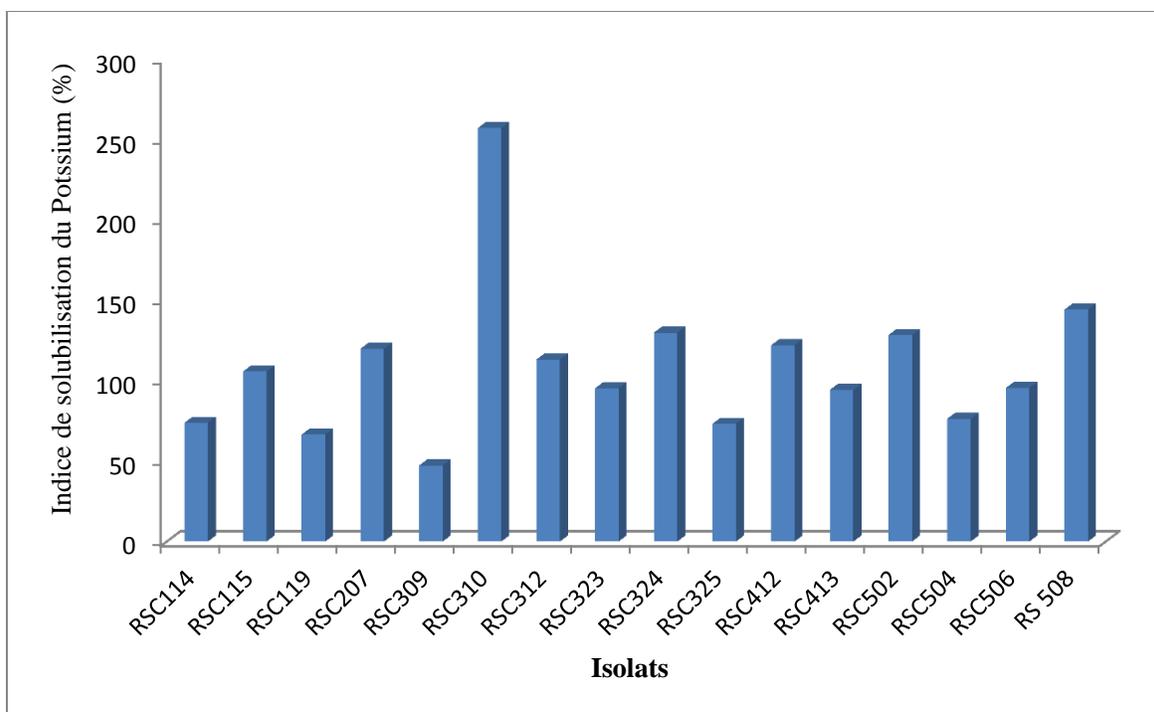


Figure 21 : Indices de solubilisation du potassium des bactéries indigènes de soja

### 1.1.6. Impact des facteurs environnementaux et anthropiques sur la viabilité des rhizobia locaux nodulant le soja *in vitro*.

#### 1.1.6.1. Effet du pH sur la survie des rhizobia locaux

La survie des bactéries testées a varié en fonction des valeurs de pH auxquelles elles ont été soumises. L'ensemble des bactéries a pu croître à des pH alcalins (pH = 8 à pH = 10) à des pH légèrement acides (pH = 6 et pH = 6,5). Toutefois, cette tolérance du pH par les bactéries a diminué progressivement avec l'augmentation de l'acidité du milieu de culture (Figure 22). Elle est passée de 93,75 % à pH = 5 à 50 % à pH = 4,5 puis à 18,5 % de l'ensemble des bactéries testées à pH = 4. Les bactéries qui ont supporté les pH acides extrêmes dans cette étude sont RSC114, RSC115, RSC119, RSC207, RSC309, RSC310, RSC312 et RSC323. Parmi, ceux-ci, seuls les isolats bactériens RSC114, RSC309 et RSC310 ont pu croître à pH = 4 (Tableau XI).

Dans l'ensemble, les isolats bactériens RSC114, RSC115, RSC119, RSC207, RSC309, RSC310, RSC312 et RSC323 ont présenté un spectre large pour le pH. Ces isolats ont pu croître entre pH = 4,5 et pH = 10.

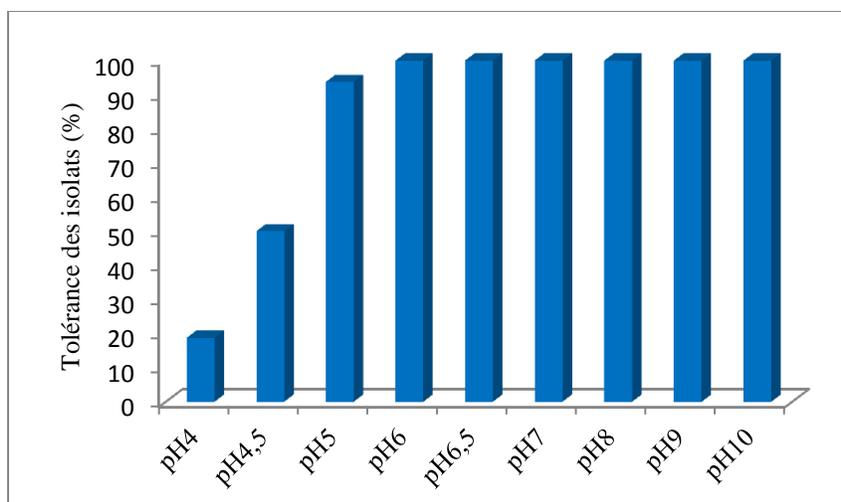


Figure 22 : Tolérance des rhizobia indigènes nodulant le soja au pH.

Tableau XI : Effet du pH sur la croissance des rhizobia indigènes nodulant le soja

Isolats	pH4	pH4,5	pH5	pH6	pH6,5	pH7	pH8	pH9	pH10
RSC114	1+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+
RSC115	-	1+	1+	1+	2+	2+	2+	1+	1+
RSC119	-	1+	1+	2+	2+	2+	2+	2+	2+
RSC207	-	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+
RSC309	1+	2+	3+	3+	3+	3+	2+	2+	2+
RSC310	1+	1+	1+	2+	2+	2+	2+	1+	1+
RSC312	-	1+	2+	2+	2+	2+	2+	1+	1+
RSC323	-	1+	1+	1+	2+	2+	2+	2+	2+
RSC324	-	-	1+	1+	2+	2+	2+	1+	1+
RSC325	-	-	-	2+	2+	2+	2+	1+	1+
RSC412	-	-	1+	2+	2+	2+	2+	2+	2+
RSC413	-	-	2+	3+	3+	3+	3+	3+	3+
RSC502	-	-	1+	2+	2+	2+	2+	1+	1+
RSC504	-	-	1+	2+	2+	2+	2+	1+	1+
RSC506	-	-	1+	2+	2+	2+	2+	2+	2+
RSC508	-	-	1+	2+	2+	2+	2+	2+	2+

- : Pas de croissance ; 1+ : Croissance moyenne ; 2+ : Bonne croissance ; 3+ : Très bonne croissance

### 1.1.6.2. Effet de la température sur la croissance des rhizobia locaux

Le test de tolérance-sensibilité des rhizobia locaux réalisé sur le milieu YEM à différentes températures a montré que l'ensemble des isolats tolèrent une large gamme de températures située entre 20 °C et 40 °C (Figure 23). En dehors de cet intervalle de températures, la croissance des rhizobia a été significativement influencée. En effet, seulement 31,25 % des bactéries testées soit cinq (5) isolats (RSC115, RSC119, RSC309, RSC324 et RSC325) ont pu croître à 45 °C (Tableau XII). Aussi, neuf (9) isolats bactériens soit 56,25 % des bactéries soumises au test de la température ont pu se développer à 15 °C *in vitro*. Ce taux a décliné lorsque les bactéries ont été exposées à 10 °C et 4 °C avec seulement la croissance de 12,5 % des isolats bactériens testés, soit deux bactéries (RSC310 et RSC312).

Dans l'ensemble, RSC115, RSC119, RSC309, RSC324 et RSC325 sont les isolats qui ont présenté un large spectre pour la température. Ils ont pu croître entre 15 °C et 45°C.

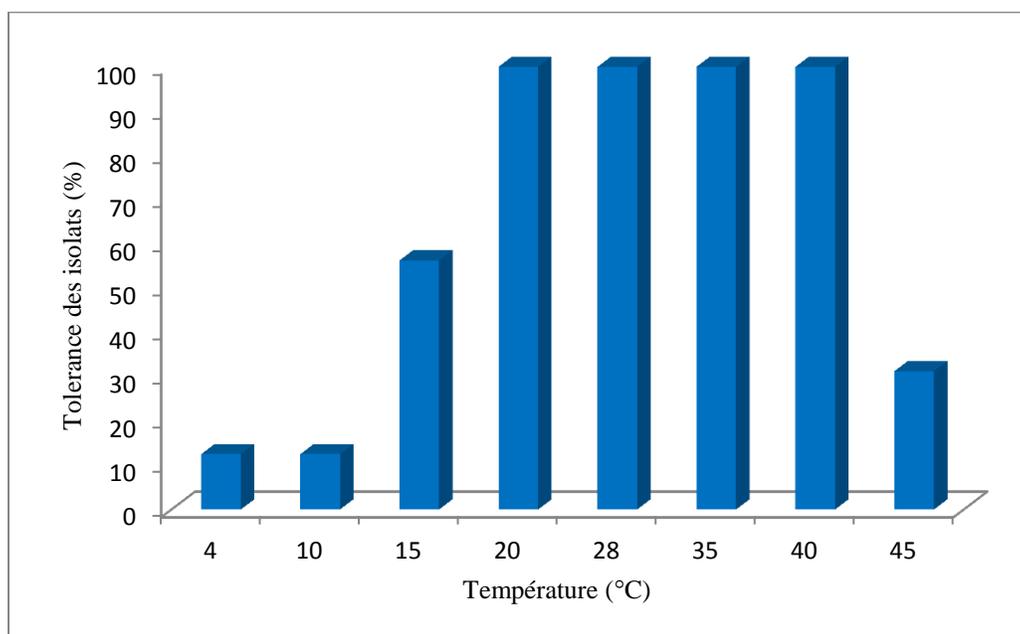


Figure 23 : Tolérance des rhizobia locaux nodulant le soja à la température

Tableau XII : Effet de la température sur la viabilité des rhizobia locaux nodulant le soja

Isolats	4°C	10°C	15°C	20°C	28°C	35°C	40°C	45°C
RSC114	-	-	1+	1+	2+	2+	2+	-
RSC115	-	-	1+	1+	2+	2+	2+	1+
RSC119	-	-	1+	1+	2+	2+	2+	1+
RSC207	-	-	-	1+	2+	2+	1+	-
RSC309	-	-	1+	1+	2+	3+	2+	2+
RSC310	1+	1+	1+	1+	2+	2+	1+	-
RSC312	1+	1+	1+	1+	2+	2+	1+	-
RSC323	-	-	1+	1+	2+	2+	2+	-
RSC324	-	-	1+	1+	2+	2+	2+	1+
RSC325	-	-	1+	1+	2+	3+	3+	2+
RSC412	-	-	-	1+	2+	2+	1+	-
RSC413	-	-	-	1+	2+	2+	1+	-
RSC502	-	-	-	1+	2+	2+	1+	-
RSC504	-	-	-	1+	2+	2+	1+	-
RSC506	-	-	-	1+	2+	2+	1+	-
RSC508	-	-	-	1+	2+	2+	1+	-

- : Pas de croissance ; 1+ : Croissance moyenne ; 2+ : Bonne croissance

### 1.1.6.3. Effet du sel sur la croissance des rhizobia indigènes

Les résultats du test d'évaluation de la survie des bactéries en présence de chlorure de sodium (NaCl) *in vitro* ont montré que le sel a influencé la survie des rhizobia locaux. Toutefois, l'impact du sel a varié en fonction de sa concentration utilisée. En effet, l'ensemble des isolats a été capable de tolérer jusqu'à 1,5 % de NaCl dans le milieu de culture excepté l'isolat RSC207 qui ne tolère que moins de 1 % de sel (Tableau XIII). Aussi, la croissance des isolats diminue avec l'augmentation graduelle de la concentration de NaCl du milieu. Ainsi, la tolérance des isolats bactériens testés est passée de 93,75 % dans les milieux de culture additionnés de 1,5 % de NaCl à 50 % lorsqu'ils ont été mis en culture sur le milieu YEM supplémenté de 5 % de sel. Les isolats qui ont toléré la présence de 5 % de sel dans le milieu RSC119, RSC310, RSC312, RSC323, RSC412, RSC413 et RSC508. La croissance des isolats a été plus affectée avec l'ajout

de 8 à 10 % de NaCl au milieu de culture. En effet, seuls les isolats RSC310 et RSC412 ont toléré ces concentrations en sel.

Tableau XIII : Effet du NaCl sur la croissance des rhizobia indigènes isolés du soja *in vitro*

<b>Isolats</b>	<b>0 %</b>	<b>0,5 %</b>	<b>1 %</b>	<b>1,5 %</b>	<b>2 %</b>	<b>3 %</b>	<b>4 %</b>	<b>5 %</b>	<b>8 %</b>	<b>10 %</b>
RSC114	3+	3+	2+	1+	-	-	-	-	-	-
RSC115	3+	3+	2+	1+	1+	1+	-	-	-	-
RSC119	3+	3+	2+	2+	1+	1+	1+	1+	-	-
RSC207	3+	2+	-	-	-	-	-	-	-	-
RSC309	3+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	-	-	-
RSC310	3+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	1+	1+	1+
RSC312	3+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	1+	-	-
RSC323	3+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	1+	-	-
RSC324	3+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	-	-	-
RSC325	3+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	-	-	-
RSC412	3+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	1+	1+	1+
RSC413	3+	2+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	-	-
RSC502	3+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	1+	-	-
RSC504	3+	2+	2+	2+	1+	1+	-	-	-	-
RSC506	3+	3+	2+	1+	1+	-	-	-	-	-
RSC508	3+	3+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	-	-

- : Pas de croissance ; 1+ : Croissance moyenne ; 2+ : Bonne croissance ; 3+ : Très bonne croissance

#### **1.1.6.4. Effet des métaux lourds sur la croissance des rhizobia indigènes**

Les résultats issus du test des métaux lourds sur la croissance des rhizobia indigènes ont révélé que la survie de ces bactéries sur le milieu de culture dépend du type de métal et de la concentration utilisée (Tableau XIV).

En effet, Le chlorure de cobalt (CoCl<sub>2</sub>) a inhibé la croissance de l'ensemble des isolats testés. Aucun de ceux-ci n'a pu croître sur le milieu YEM additionné de 100 µg/mL de CoCl<sub>2</sub>. De plus, lorsque la concentration de ce métal a été réduite à 50 µg/mL et 75 µg/mL dans le milieu de culture, seulement 25 % des isolats ont été capables de s'y développer. Les isolats qui ont

supportés la présence de ces concentrations de cobalt sont : RSC207, RSC309, RSC412 et RSC506.

La présence du sulfate manganèse ( $MnSO_4$ ) dans le milieu de culture a influencé la croissance des isolats. L'augmentation de la concentration de ce métal dans le milieu de culture a provoqué l'inhibition de la croissance des isolats. En effet, 68,75 % de ceux-ci ont toléré  $400 \mu g/mL^{-1}$  de  $MnSO_4$  supplémentée au milieu YEM. Ce taux a chuté drastiquement à 31,25 et 18,75 % lorsque la concentration a été respectivement de  $800 \mu g/mL$  et de  $1200 \mu g/mL$  de manganèse. Les isolats qui ont exhibés une tolérance en présence de ces concentrations élevées en cet élément chimique ont été RSC114, RSC504 et RSC508.

Le cuivre et le zinc ont inhibé la croissance de l'ensemble des isolats. En effet, aucun isolat bactérien n'a pu supporter la présence de sulfate de Cuivre ( $CuSO_4$ ) dans le milieu quelque soit la concentration. Quant au sulfate de zinc ( $ZnSO_4$ ), Seul l'isolat RSC119 a pu se développer lorsque sa concentration dans le milieu de culture a été de  $50 \mu g/mL$ .

Contrairement à ces différents métaux, le plomb a été toléré par l'ensemble des isolats testés. En effet, ces derniers ont montré une résistance intrinsèque aux concentrations élevées de plomb.

Dans l'ensemble, les métaux lourds testés ont affecté la survie et la croissance des bactéries sur le milieu de culture excepté le plomb. L'ordre décroissant d'inhibition de la croissance des isolats bactériens par les métaux s'établit comme suit : cuivre > zinc > cobalt > manganèse > plomb.

Tableau XIV : Impact des métaux lourds sur la survie des rhizobia indigènes du soja

Isolats	Acetate de plomb (µg/mL)			Chlorure de cobalt (µg/mL)			Sulfate de manganèse (µg/mL)			Sulfate de zinc (µg/mL)			Sulfate de cuivre (µg/mL)		
	1000	1500	2000	50	75	100	400	800	1200	50	75	100	200	400	600
RSC114	1+	1+	2+	-	-	-	2+	2+	2+	-	-	-	-	-	-
RSC115	2+	1+	1+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RSC119	1+	1+	1+	-	-	-	1+	1+	-	1+	-	-	-	-	-
RSC207	1+	1+	1+	1+	1+	-	1+	-	-	-	-	-	-	-	-
RSC309	1+	1+	1+	1+	1+	-	1+	-	-	-	-	-	-	-	-
RSC310	1+	1+	1+	-	-	-	2+	1+	-	-	-	-	-	-	-
RSC312	1+	1+	1+	-	-	-	1+	-	-	-	-	-	-	-	-
RSC323	1+	1+	1+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RSC324	1+	1+	1+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RSC325	1+	1+	1+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RSC412	1+	1+	1+	1+	1+	-	1+	-	-	-	-	-	-	-	-
RSC413	1+	1+	1+	-	-	-	2+	-	-	-	-	-	-	-	-
RSC502	2+	1+	1+	-	-	-	2+	-	-	-	-	-	-	-	-
RSC504	1+	2+	2+	-	-	-	1+	1+	1+	-	-	-	-	-	-
RSC506	2+	1+	2+	1+	1+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RSC508	2+	2+	1+	-	-	-	2+	1+	1+	-	-	-	-	-	-

- : Pas de croissance ; 1+ : Croissance moyenne ; 2+ : Bonne croissance

#### **1.1.6.5. Effet des pesticides sur la croissance des bactéries nodulant le soja**

Les résultats de l'évaluation de l'impact des pesticides sur la croissance des isolats indigènes de soja ont révélé que la sensibilité des rhizobia est fonction de la nature du pesticide et de la dose utilisée (Figure 24).

Au niveau des herbicides, la croissance de l'ensemble des isolats mis en culture sur le milieu YEM additionné de Glyphosate a été inhibé par cet herbicide quel que soit la dose appliquée. Concernant l'Haloxypop-R-méthyle, 68,75 % des isolats bactériens testés ont pu croître lorsque le milieu de culture contenait la moitié de la dose recommandée. Ce taux de survie des isolats a chuté à 56,25 %, lorsque le milieu de culture contenait la dose recommandée de cet herbicide. Quant au 2,4-D sel d'amine, la tolérance des isolats a été stationnaire à 68,75 % quel que soit la dose d'application. Ces herbicides (Haloxypop-R-méthyle et 2,4-D sel d'amine) ont été tolérés par les isolats RSC114, RSC119, RSC207, RSC309, RSC310, RSC312, RSC325, RSC413, RSC502, RSC506 et RSC508. Cependant, ils ont été toxiques pour les isolats RSC115, RSC323, RSC324 et RSC504 (Tableau XV).

Les insecticides Lambdacyhalotrine+Acétamipride (LCA), Cyperméthrine (Cyp) et Chlorpyrifos-éthyl (Chlor) ajoutés au milieu YEM ont été relativement toxiques pour l'ensemble des isolats testés quel que soit la dose d'application. Pour le Lambdacyhalotrine+Acétamipride, 43,75 % des isolats ont toléré la moitié de sa dose recommandée. Cette tolérance des isolats a chuté à 31,25 %, lorsque cet insecticide est appliqué à sa dose recommandée. En revanche, La Cyperméthrine et le Chlorpyrifos-éthyl ont été plus toxiques pour les isolats. Seulement cinq isolats bactériens (31,25 %) ont toléré la Cyperméthrine. Ce taux a régressé avec le Chlorpyrifos-éthyl dans le milieu de culture, il est passé de 31,25 % à 18,75 % (Figure 24). Les isolats RSC114, RSC207, RSC310, RSC312 et RSC413 ont toléré l'ensemble des doses d'insecticides appliquées. En revanche, la croissance des isolats RSC115, RSC119, RSC309, RSC323, RSC324, RSC325, RSC504, RSC506 et RSC508 a été inhibée par ces pesticides (Tableau XV).

Contrairement aux herbicides et aux insecticides, les fongicides Propinèbe et Mancozèbe ont été toxiques pour l'ensemble des isolats testés. En effet, la croissance de tous les isolats a été inhibée par ces fongicides quel que soit la dose d'application.

Au regard de l'ensemble des pesticides testés, l'herbicide Glyphosate et les fongicides Propinèbe et Mancozèbe ont été toxiques pour l'ensemble des isolats. Les herbicides 2,4-D sel d'amine et Haloxyfop-R-méthyle ont été les pesticides les moins toxiques. Aussi, les isolats RSC115, RSC323, RSC324 et RSC504 ont-ils été sensibles à l'ensemble des traitements. Toutefois, les isolats RSC114, RSC207, RSC310, RSC312 et RSC413 ont présenté une large tolérance vis-à-vis de ces pesticides.

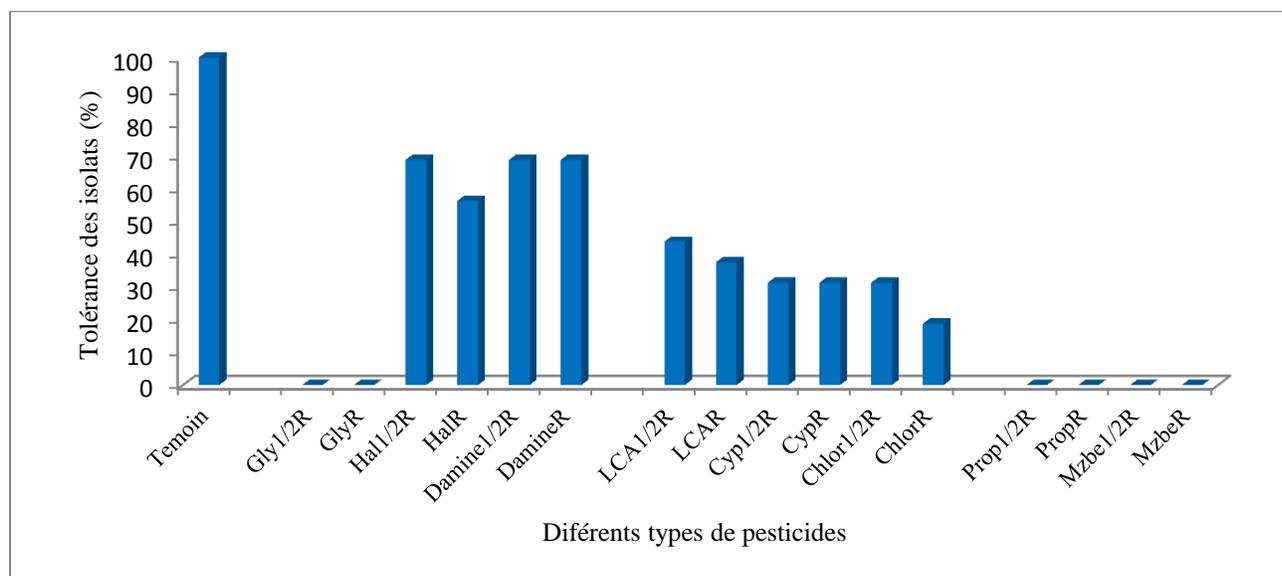


Figure 24 : Impact de différents types de pesticides sur la croissance des rhizobia indigènes isolés du soja *in vitro*.

Gly : Glyphosate ; Hal : Haloxyfop-R-méthyle ; Damine : 2,4-D Sel d'amine ;  
 LCA : Lambdacyhalotrine+Acétamipride ; Cyp : Cyperméthrine ; Chlor : Chlorpyrifos-éthyl ; Prop : Propinèbe ;  
 Mzbe : Mancozèbe ; R : Dose recommandée ; 1/2R : Moitié de la dose recommandée.

Tableau XV : Effet des pesticides (herbicides, insecticides et fongicides) sur la survie des bactéries indigènes du soja *in vitro*.

	Herbicides						Insecticides						Fongicides			
	Gly1/2R	GlyR	Hal1/2R	HalR	Damine1/2R	DamineR	LCA1/2R	LCAR	Cyp1/2R	CypR	Chlor1/2R	ChlorR	Prop1/2R	PropR	Mzbe1/2R	MzbeR
<b>RSC114</b>	-	-	2+	2+	2+	2+	3+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-
<b>RSC115</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>RSC119</b>	-	-	1+	1+	1+	1+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>RSC207</b>	-	-	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-
<b>RSC309</b>	-	-	1+	-	1+	1+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>RSC310</b>	-	-	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	-	-	-	-
<b>RSC312</b>	-	-	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-
<b>RSC323</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>RSC324</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>RSC325</b>	-	-	1+	-	1+	1+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>RSC412</b>	-	-	-	1+	-	-	1+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>RSC413</b>	-	-	2+	2+	2+	2+	2+	2+	3+	2+	2+	2+	-	-	-	-
<b>RSC502</b>	-	-	1+	-	1+	1+	1+	1+	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>RSC504</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>RSC506</b>	-	-	1+	1+	1+	1+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>RSC508</b>	-	-	1+	1+	1+	1+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- : Pas de croissance ; 1+ : Croissance moyenne ; 2+ : Bonne croissance ; Gly : Glyphosate ; Hal : Haloxyfop-R-méthyle ; Damine : 2,4-D Sel d'amine ; LCA : Lambdacyhalotrine+Acétamipride ; Cyp : Cyperméthrine ; Chlor : Chlorpyrifos-éthyl ; Prop : Propinèbe ; Mzbe : Mancozèbe ; R : Dose recommandée ; 1/2R : Moitié de la dose recommandée.

## **1.2. Sélection des rhizobia locaux performants, compétitifs et capables de booster la productivité du soja**

### **1.2.1. Effet des rhizobia locaux sur nodulation de différents cultivars de soja en condition paysanne**

#### **1.2.1.1. Cultivar Canarana**

Le nombre de nodules a varié significativement ( $P = 0,002$ ) en fonction des traitements et du site par rapport aux témoins non inoculés (Figure 25). L'observation du système racinaire a montré que les témoins non inoculés (fertilisés et non fertilisés) n'ont pas induit la formation de nodules sur les racines de ce cultivar quel que soit le site. En revanche, l'ensemble des bactéries utilisées comme inoculum a induit la formation de nodosités sur le système racinaire de ce cultivar sur tous les sites. A Daloa, le nombre de nodule induit par les bactéries a varié entre 22 et 46 nodules par plant. L'isolat RSC119 a été le plus infectif (46 nodules) comparé à l'ensemble des traitements. Sur ce site, les isolats RSC309, RSC324 et RSC502 ont produit statistiquement le même nombre de nodules que la souche exotique *Bradyrhizobium japonicum* IRAT FA3. Le plus petit nombre de nodules (22) a été obtenu avec l'isolat RSC508. A Divo, le nombre de nodules par plantule a varié de 23 à 34. Le nombre le plus élevé de nodules (34) sur ce site a été observé sur les systèmes racinaires des plants inoculés avec les isolats RSC324 et RSC502. Ces isolats ont eu des effets similaires sur la formation de nodosités que la souche IRAT FA3. Cette dernière a induit les mêmes effets que les isolats RSC119 et RSC508 respectivement avec 32 ; 30 et 31 nodules par plantule. L'isolat RSC309 a été le moins infectif sur ce site. A Hiré, le nombre de nodules a varié en fonction des traitements. L'isolat RSC119 a induit le nombre le plus élevé de nodules avec 35 nodules par plantule. L'isolat le moins infectif a été RSC324 avec 20 nodules par plantule. L'isolat RSC309 et la souche de référence ont induit des effets similaires avec 31 par plantule sur ce site.

Le poids sec des nodules a aussi varié en fonction de l'isolat et du lieu (Figure 26). Ainsi, à Daloa, les isolats RSC119, RSC309, RSC324, RSC502 et RSC504 ont augmenté le poids sec nodulaire par rapport à la souche de référence. L'isolat qui a favorisé le poids sec le plus élevé est RSC119 avec  $130 \text{ mg.plantule}^{-1}$  contre  $68 \text{ mg.plant}^{-1}$  pour *B. japonicum* IRATFA3. Cet isolat

a aussi induit le poids sec nodulaire le plus élevé à Hiré avec 95 mg.plantule<sup>-1</sup>. Cependant, selon le test LSD de Fischer au seuil de 5 %, RSC119 a eu les mêmes effets que l'isolat RSC502 et la souche IRAT FA3 eux-mêmes ayant des effets similaires avec l'isolat RSC309 sur le site de Hiré. A Divo, l'isolat RSC324 a induit le poids des nodules le plus élevé avec 111 mg comparé à l'ensemble des bactéries testées. Aussi, la souche de référence IRAT FA3 a induit statistiquement le même poids nodulaire que les autres isolats testés excepté RSC115. Les nodules issus des plantules inoculées avec ce dernier ont obtenu le poids sec de nodule le plus faible (44 mg).

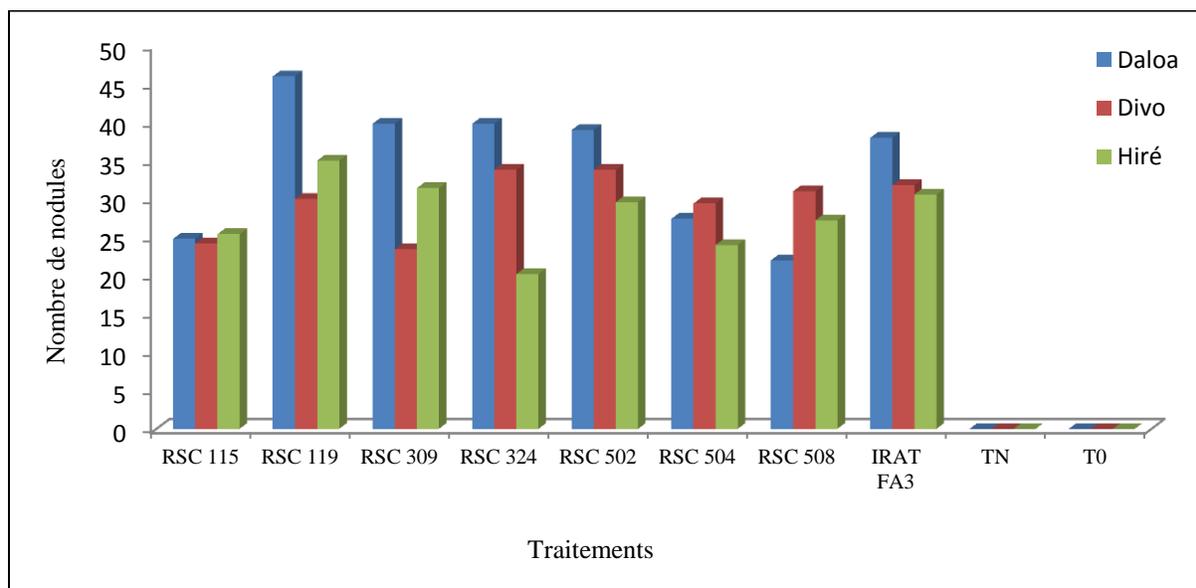


Figure 25 : Effet de l'inoculation sur nombre de nodules formés sur le cultivar Canarana à Daloa, Divo et Hiré

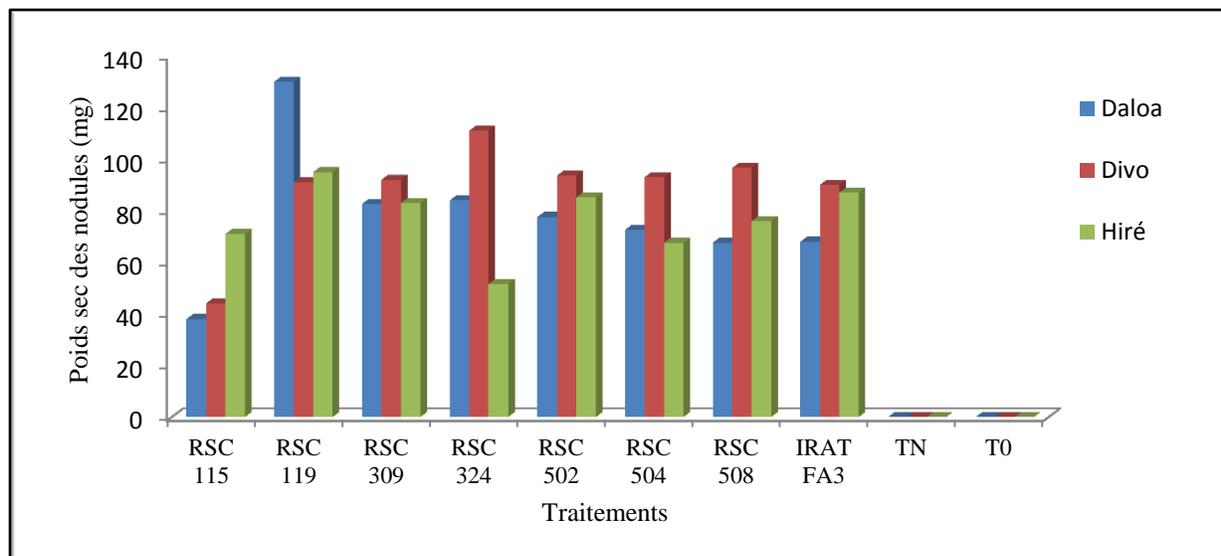


Figure 26 : Effet de l'inoculation sur poids sec des nodules formés sur le cultivar Canarana à Daloa, Divo et Hiré

### 1.2.1.2. Cultivar Doko

La différence entre le nombre de nodules produit a été hautement significative ( $P < 0,01$ ) entre les traitements sur l'ensemble des sites d'essai et les témoins non inoculés (Figure 27). En effet, les témoins non inoculés (fertilisés et non fertilisés) n'ont pas induit la formation de nodules sur les racines de ce cultivar quel que soit le site de l'expérimentation. Pour l'ensemble des sites, l'isolat RSC119 a accru le plus, la formation de nodules à Daloa, Divo et Hiré avec respectivement 60 ; 35 et 39 nodules par plantule. Outre cette bactérie, les isolats bactériens RSC115, RSC309, RSC504 et RSC508 ont induit un nombre de nodules supérieur à celui de la souche de référence à Daloa. De plus, sur le site de Divo, la bactérie RSC119 a eu des effets statistiquement similaires à ceux des bactéries RSC309 et RSC504. Ces rhizobia ont induit plus de nodules que *B. japonicum* IRAT FA3. Aussi, le nombre de nodules induit par cette souche bactérienne a été similaire à ceux de l'isolat RSC508 avec la production respective de 29 et 31 nodules par plant respectivement à Daloa, Divo et Hiré. En revanche, sur le site de Hiré, hormis l'isolat RSC119 qui a induit la formation de nodules sur le système racinaire, les bactéries indigènes RSC309, RSC502 et RSC504 ont favorisé la formation de plus de nodules que les autres bactéries locales. Elles ont permis la formation de 31, 30 et 32 nodules par plant. Sur l'ensemble des sites, l'isolat RSC324 a été le moins infectant. Il a induit la formation de 20 ; 19 et 16 nodules par plantule respectivement à Daloa, à Divo et à Hiré.

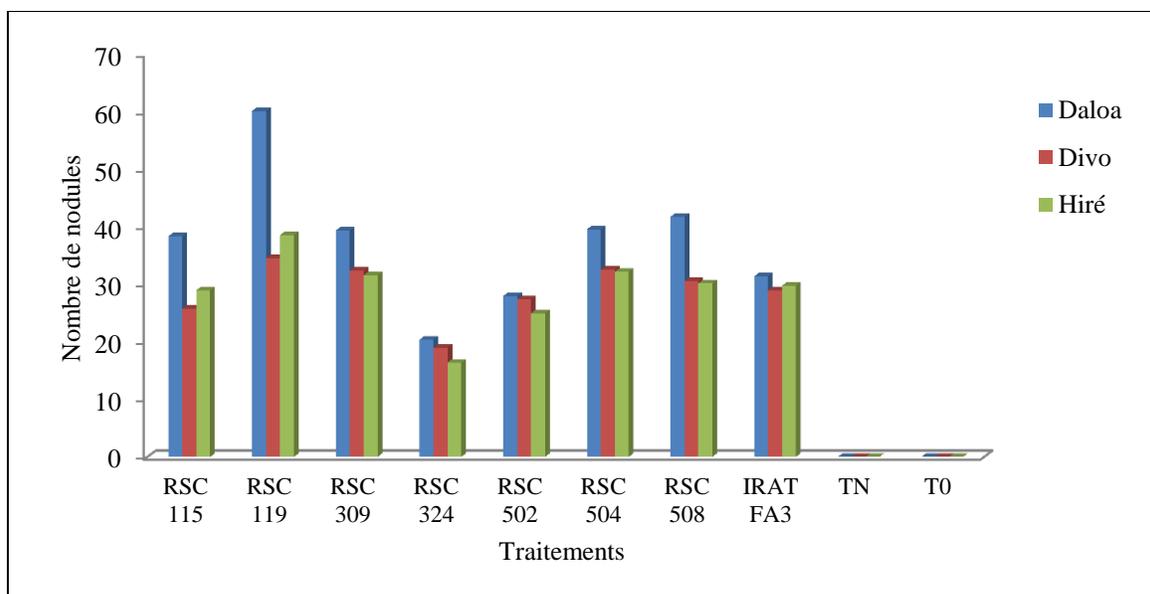


Figure 27 : Effet de l'inoculation sur la formation de nodules sur le cultivar Doko à Daloa, Divo et Hiré.

Le poids sec des nodules a été très hautement influencé ( $P < 0,001$ ) par les différents traitements. Toutefois, l'effet des traitements a varié en fonction du lieu de l'expérimentation (Figure 28). Ainsi, au niveau de Daloa, l'isolat RSC508 a induit le poids sec le plus élevé comparé aux autres isolats et la souche de référence. Le poids sec produit par les plantules inoculées avec cette bactérie a été  $192 \text{ mg.plantule}^{-1}$ . Outre cette bactérie, les isolats bactériens RSC115 et RSC504 ont augmenté le poids sec des nodules par rapport aux autres isolats indigènes. Ils ont induit respectivement  $131,60 \text{ mg}$  et  $134,60 \text{ mg}$  de nodules. Toutefois, ces poids secs de nodules induit par ceux-ci étaient inférieurs à celui de la souche IRAT FA3. Cette bactérie a favorisé un poids sec nodulaire de  $152,20 \text{ mg}$  par plantule sur ce site. En revanche, à Divo et à Hiré, les poids secs nodulaires les plus élevés ont été obtenus avec les isolats RSC504, RSC119 et RSC508 comparé aux autres isolats bactériens locaux et à la souche de référence. La bactérie RSC504 a induit le poids de nodules le plus élevé à Daloa ( $156,20 \text{ mg}$ ) et à Hiré ( $135,40 \text{ mg}$ ). Les plus faibles poids secs de nodules observés avec ce cultivar ont été favorisés sur tous les sites avec la bactérie RSC324. Cette dernière a induit  $54,60 \text{ mg}$ ,  $49,20 \text{ mg}$  et  $50,40 \text{ mg}$  de nodules secs respectivement à Daloa, à Divo et à Hiré.

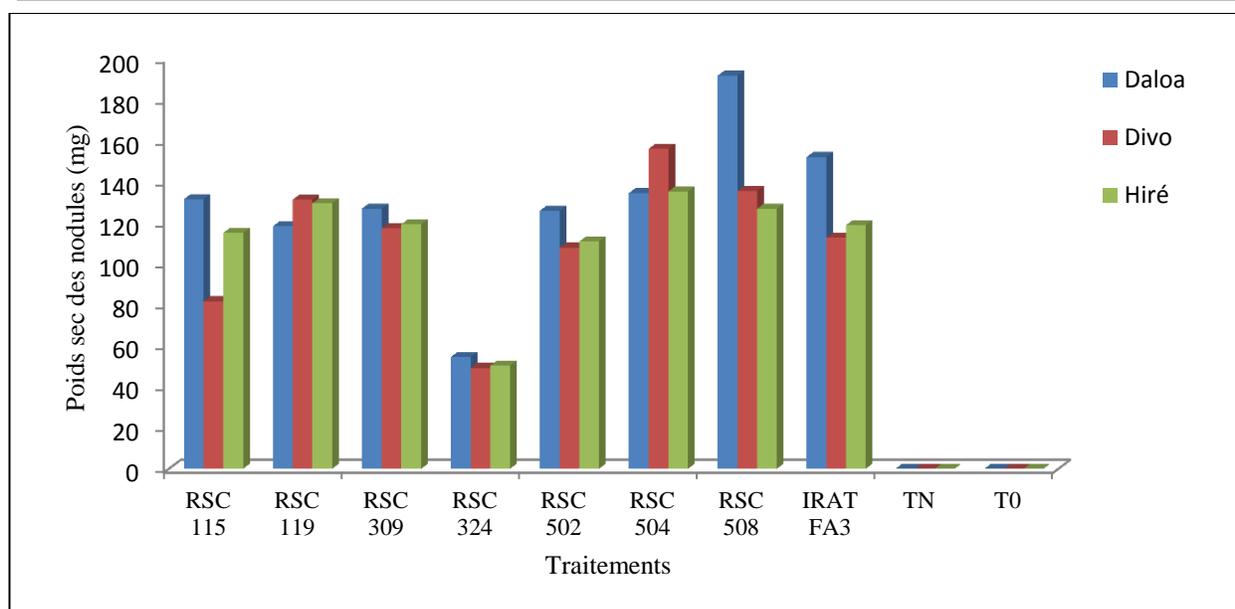


Figure 28 : Effet de l'inoculation sur le poids sec des nodules formés sur le cultivar Doko à Daloa, Divo et Hiré

### 1.2.1.3. Cultivar Piramama

Entre les différents traitements, le nombre et le poids sec des nodules sur le système racinaire du cultivar Piramama sont apparus différents de manière hautement significative ( $P = 0,001$ ). En effet, au niveau de ce cultivar, des nodules ont été observés sur les racines des plantules non inoculées et non fertilisées (T0) et les plantules non inoculées mais fertilisées avec l'engrais de synthèse de formulation 12 22 22 (TN) uniquement à Daloa (Figure 29). Le nombre de nodules formés sur ces plants témoins étaient de 3 et 5 nodules respectivement. Ces nodules ont présenté à l'intérieur une coloration blanchâtre indiquant l'inefficacité des bactéries qui s'y nichent. Au niveau des bactéries testées, les isolats RSC119 et RSC504 ont induit plus de nodules que les autres traitements à Daloa. Ils ont favorisé la formation de 42 et 50 nodules par plantule respectivement. Sur ce site, les bactéries RSC508 et RSC309 ont induit la formation de 38 et 37 nodules par plant. Toutefois, elles ont obtenu des effets statistiquement similaires à celui de la souche de référence IRAT FA3 qui a induit la formation de 35 nodules. En revanche à Divo, le nombre le plus élevé de nodules a été induit par RSC309 avec 40 nodules par plant. Les bactéries locales RSC115, RSC119, RSC324, RSC504 et RSC508 testées ont induit la formation de nodules par plantule identique à la souche de référence (29 nodules) excepté le rhizobium RSC502 (25 nodules). A Hiré, le nombre le plus élevé de nodules a été obtenu sur le système

racinaire des plants inoculés avec l'isolat RSC309 avec 37 nodules par plant. Toutefois, le nombre de nodules produit avec cet isolat bactérien a été statistiquement similaire à ceux obtenus avec RSC115 (34 nodules), RSC119 (36 nodules) et RSC508 (34 nodules). L'ensemble de ces isolats a augmenté de manière significative le nombre de nodules par rapport à la souche de référence (25 nodules) et aux isolats locaux RSC324 (24 nodules), RSC502 (26 nodules) et RSC504 (24 nodules). Ces derniers ont induit les mêmes effets sur la formation de nodules avec la souche de référence sur ce site.

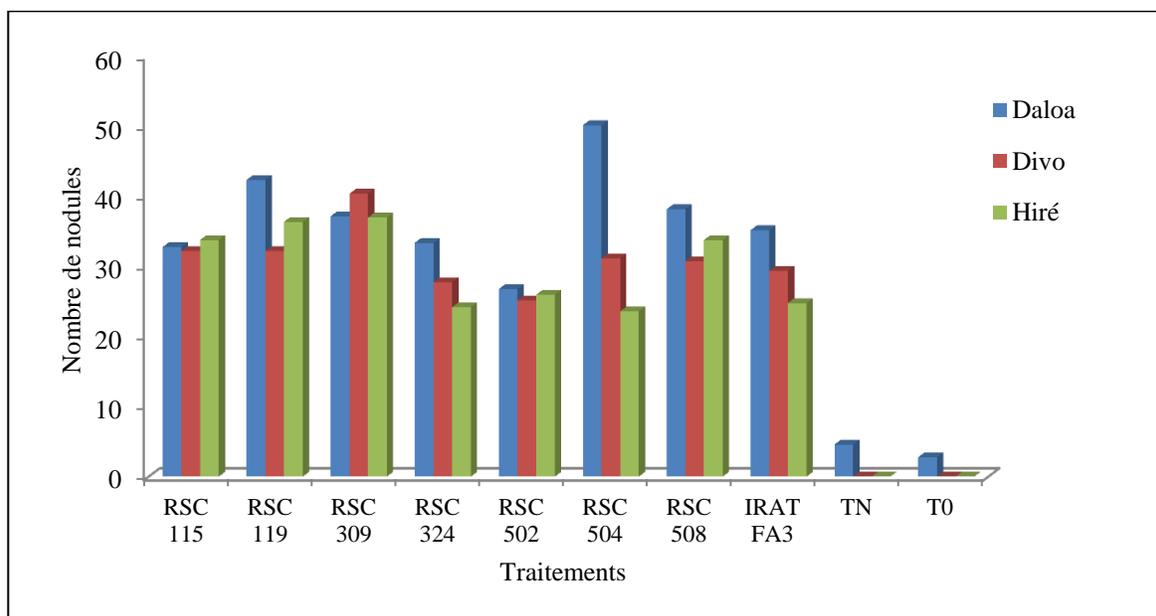


Figure 29 : Effet de l'inoculation sur le nombre de nodules formés sur le cultivar Piramama à Daloa, Divo et Hiré.

Le poids sec des nodules a aussi varié en fonction des traitements et des lieux (Figure 30). Les isolats RSC119, RSC504 et RSC508 ont augmenté le poids sec des nodules par rapport aux autres traitements à Daloa. Ils ont permis d'avoir respectivement 331,80 mg, 201 mg et 203 mg de nodules secs. En plus de ces bactéries, RSC309 a aussi augmenté le poids sec de nodules (183,20 mg) par rapport à la souche de référence (163 mg). La bactérie RSC119 a induit le poids le plus élevé avec 331,8 mg sur ce site. A Divo, ce sont les isolats RSC309 et RSC504 qui ont induit les poids secs de nodules les plus élevés par rapport à l'ensemble des traitements. Ces isolats ont induit respectivement 196,20 mg et 201 mg de nodules secs par plantule. En plus de ceux-ci, l'isolat RSC324 a induit, un poids sec nodulaire (150,20 mg) supérieur au reste des bactéries testées. Toutefois, selon le test de LSD de Fischer au seuil 5 %, cet isolat a obtenu des

effets similaires avec la souche introduite (142 mg) qui elle-même n'a pas été différente de l'isolat RSC119. En revanche à Hiré, l'ensemble des isolats testés a augmenté le poids sec des nodules par rapport à IRAT FA3 sauf l'isolat RSC324. Quant aux isolats RSC502 et RSC504, ils ont obtenu les mêmes effets que la souche de référence. Le poids sec le plus élevé a été 185,2 mg. Il a été induit par la bactérie RSC309. Celle-ci a induit statistiquement un poids sec similaire avec RSC119 et RSC508. Ces isolats bactériens ont induit respectivement 183,40 mg et 154 mg de nodules secs. La souche de référence a induit dans cette localité un poids sec nodulaire de 118,2 mg par plantule.

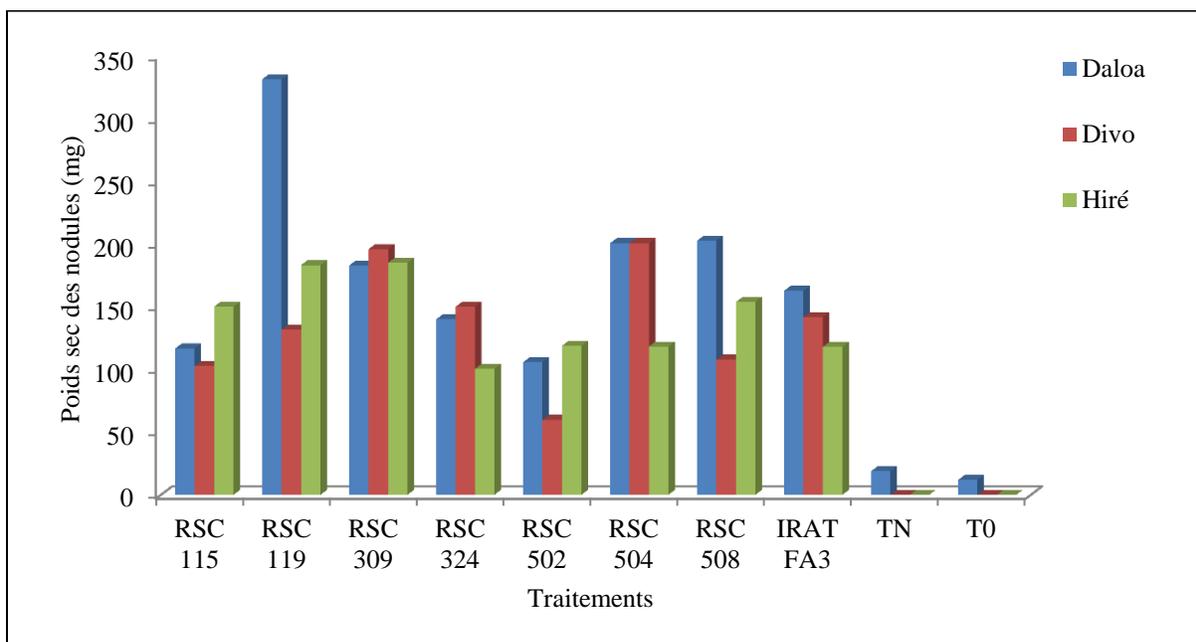


Figure 30 : Effet de l'inoculation sur le poids sec des nodules formés sur le cultivar Piramama à Daloa, Divo et Hiré

En considérant l'ensemble des sites d'expérimentation, le nombre de nodules formés sur les racines du cultivar Canarana a été plus réhaussé par les isolats RSC119 et RSC502. Quant au poids sec des nodules obtenu sur ce cultivar, il a été augmenté par les isolats RSC119, RSC309 et RSC324. Pour les cultivars Doko et Piramama, le nombre et le poids sec des nodules ont été boostés par les isolats RSC119, RSC309, RSC504 et RSC508. En plus de ces bactéries, RSC115 a aussi accru le nombre de nodules et le poids sec nodulaire du cultivar Doko.

## **1.2.2. Effet des rhizobia locaux sur la croissance et le développement du soja**

### **1.2.2.1. Effet des rhizobia locaux sur la hauteur des plantules du soja en début de floraison**

Toutes les bactéries testées ont amélioré significativement ( $P = 0,02$ ) la hauteur des plantules par rapport au témoin non inoculé et non fertilisé (T0) quel que soit le cultivar. Toutefois, lorsque les isolats ont été comparés entre eux par le test de LSD de Fisher au seuil de 5 %, il est ressorti que leur capacité à faire croître les plantules varie en fonction des cultivars et du lieu de l'expérimentation.

Pour le cultivar Canarana, l'isolat RSC508 a plus fait croître les plantules avec 41 cm à Hiré (Tableau XVI). Sur ce site, cet isolat a eu des effets similaires à ceux de l'engrais de synthèse (39,40 cm). A Daloa, la hauteur a varié entre les plantules inoculées avec les rhizobia locaux et la souche exotique. Parmi les bactéries testées, RSC508 et la souche de référence ont réhaussé la hauteur des plants similairement à l'engrais chimique. En effet, ces bactéries ont induit respectivement une hauteur de 40,70 cm et de 40,90 cm contre 41, 80 cm pour l'engrais de synthèse. A Divo, les plants inoculés avec l'isolat RSC502 ont présenté la hauteur la plus élevée (38,40 cm). Cette valeur est statistiquement identique à celles observées avec les plants inoculés avec les isolats RSC324 (38,2 cm), RSC504 (37,6 cm), RSC508 (37,4 cm) et RSC309 (36,80 cm). Ces bactéries ont produit les mêmes effets que la souche IRAT FA3 (37,60 cm). En revanche, aucun des traitements n'a augmenté la hauteur des plants plus que le témoin fertilisé (41,80 cm) sur à Divo.

Tableau XVI : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais NPK 12 22 22 sur la hauteur des plantules du cultivar Canarana à Daloa, Divo et Hiré

Sources d'azote	Localités			Moyenne
	Daloa	Divo	Hiré	
RSC115	36,36±0,9d	33±1d	34,40±0,9cde	34,6
RSC119	37,16±1,3d	35,80±0,8c	33,40±1,1def	35,5
RSC309	38,20±2,2d	36,80±1,3bc	35±1,6cd	36,7
RSC324	37,60±1,1d	38,20±1,5b	33,20±0,8ef	36,3
RSC502	38,70±2,6bcd	38,40±1,1b	37±1,4b	38
RSC504	38,40±2,6cd	37,60±1,5b	35±1cd	37
RSC508	40,70±2,3abc	37,40±1,3bc	41±2a	39,7
IRAT FA3	40,90±2,1ab	37,60±1,1b	35,40±1,1bc	38
TN	41,80±1,6a	41,80±1,3a	39,40±1,7a	41
T0	30,82±1,3e	32±1,6d	32,60±1,1f	31,8
Moyenne	38,1±3,4	36,9±2,9	35,6±2,9	
CV (%)	9	7,9	8,1	
LSD (5 %)	2,5	1,8	1,8	

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher. T0 : Témoin non traité ; TN : Engrais de synthèse NPK 12 22 22.

En considérant le cultivar Doko, l'isolat RSC508 a amélioré le plus la hauteur des plants à Daloa (44,4 cm) et à Divo (42,60 cm) par rapport aux autres bactéries testées (Tableau XVII). Sur ces sites, l'isolat RSC508 a induit des effets similaires que les bactéries RSC309 et RSC504, puis avec RSC502 à Divo. L'ensemble de ces rhizobia locaux a amélioré la hauteur des plants au même titre que l'engrais de synthèse. A Hiré, les plants inoculés avec l'isolat RSC119 ont été plus développés par rapport à l'ensemble des bactéries testées. Cette bactérie a induit une hauteur de 43,2 cm. Elle a par ailleurs induit des effets similaires que les isolats RSC504 et RSC508 respectivement avec 41 cm et 41,6 cm pour ce paramètre. Sur ce site, les isolats RSC119, RSC309, RSC 508, RSC504 et RSC502 ont augmenté la hauteur des plants par rapport à la souche IRAT FA3.

Sur l'ensemble des sites, les isolats bactériens RSC508, RSC504, RSC309 et RSC119 ont augmenté le plus la hauteur des plants de Doko. Ces isolats ont induit des effets similaires à ceux de l'engrais de synthèse NPK 12 22 22 appliqué.

Tableau XVII : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais de synthèse NPK 12 22 sur la hauteur des plantules du cultivar Doko à Daloa, Divo et Hiré

Sources d'azote	Localités			Moyenne
	Daloa	Divo	Hiré	
RSC115	35,30±1,8e	33,20±2,4e	36,20±1,8de	34,9
RSC119	40,40±1,1bcd	37,80±1,9cd	43,20±2,2ab	40,7
RSC309	42,90±2,4ab	40±1bc	40,80±2,6c	41,2
RSC324	38,80±2,7d	35,20±2,3de	34,60±1,5ef	36,2
RSC502	39,50±1,8d	40,80±1,5bc	37,20±1,3d	39,2
RSC504	42,40±3,1abc	42±3,4b	41±1,6bc	41,8
RSC508	44,40±0,6a	42,60±1,8ab	41,60±2,1abc	42,9
IRAT FA3	40,20±1,9cd	35,40±2,4de	38,20±1,1d	37,9
TN	42,70±0,8abc	45,20±3,3a	43,40±1,7a	43,8
T0	29,70±1,9f	28,80±2,6f	33±2,2f	30,5
Moyenne	39,6±4,5	38,1±5,2	38,9±3,8	
CV (%)	11,4	13,7	9,9	
LSD (5 %)	2,7	3,2	2,4	

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher. T0 : Témoin non traité ; TN : Engrais de synthèse NPK 12 22 22.

La croissance des plants du cultivar Piramama a varié en fonction de la bactérie appliquée et du site de l'expérimentation (Tableau XVIII). En effet, sur le site de Daloa, les hauteurs les plus élevées obtenues avec les rhizobia locaux étaient 44,4 cm et 44,5 cm. Elles ont été induites respectivement par RSC119 et RSC504. En addition, selon le test LSD de Fischer, ces isolats ont augmenté la hauteur des plantules sur ce site similairement que les rhizobia locaux RSC309, RSC324, RSC508 et la souche IRAT FA3. A Hiré, la hauteur la plus élevée (41 cm) a été observée avec les plantules inoculées avec RSC508. L'effet de cette bactérie sur le développement des plantules est avéré similaire à ceux de RSC119 (40,60 cm), RSC309 (39,80 cm) et l'engrais chimique (40,80 cm). Sur ce site, les isolats RSC115, RSC324, RSC502 et RSC504 et la souche IRAT FA3 ont induit des effets similaires sur les hauteurs de plantules. Parmi les bactéries testées à Divo, RSC309 a présenté la hauteur la plus élevée avec 39,80 cm. La souche IRAT FA3 a induit la plus faible hauteur (35,40 cm). Toutefois, la croissance des

plantules inoculées avec les bactéries testées sur ce site a été moins importante que celle observée au niveau des plantules qui ont reçu l'apport de l'engrais de synthèse (46,40 cm).

Tableau XVIII : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais de synthèse NPK 12 22 sur la hauteur des plantules du cultivar Piramama à Daloa, Divo et Hiré

Sources d'azote	Localités			Moyenne
	Daloa	Divo	Hiré	
RSC115	32,50±1,5e	36,40±2,9cd	37,40±1,5b	35,4
RSC119	44,40±2,33ab	38±1,6bcd	40,60±2,4a	41
RSC309	41,30±3,2cd	39,60±2,3bc	39,80±1,9a	40,2
RSC324	40,20±1,6cd	36,40±2,6cd	36±1,6b	37,5
RSC502	39,40±1,1d	38,60±0,9bcd	36,40±1,1b	38,1
RSC504	44,50±2,3ab	36,80±1,9cd	37±1b	39,4
RSC508	41±3,2cd	37,60±0,9bcd	41±2a	39,9
IRAT FA3	42,60±1,2bc	35,60±1,67d	35,40±1,3b	37,9
TN	46,20±2a	46,40±2,30a	40,80±1,3a	44,5
T0	31,12±1,8e	31,80±1,92e	29,20±1,3c	30,7
Moyenne	40,3±5,1	37,7±4	37,4±3,7	
CV (%)	12,7	10,6	10	
LSD (5 %)	3,1	2,8	2,2	

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher. T0 : Témoin non traité ; TN : Engrais de synthèse NPK 12 22 22.

### 1.2.2.2. Effet des rhizobia locaux sur la biomasse fraîche du soja

Les bactéries testées ont influencé significativement ( $P = 0,002$ ) la production de biomasse fraîche des différents cultivars en début de floraison. Toutefois, l'efficacité de chaque bactérie a varié en fonction du cultivar et du lieu de l'expérimentation.

L'ensemble des bactéries testées a accru la biomasse fraîche des plantules du cultivar Canarana par rapport au témoin absolu sur tous les sites exceptés RSC115 et RSC119 à Divo, puis RSC115 et RSC324 à Hiré (Tableau XIX). Ces isolats bactériens n'ont pas eu plus d'effet sur la biomasse fraîche par rapport à T0 sur ces différents sites. Sur le site de Daloa, la souche IRAT FA3 et les rhizobia indigènes RSC309, RSC324, RSC504 et RSC502 ont induit des effets similaires sur la

production de biomasses fraîches. Ces effets sont moins importants que celui induit par l'engrais de synthèse qui a favorisé une production de 17,5 g de biomasse fraîche. Sur le site de Divo, la biomasse fraîche la plus élevée a été obtenue avec les plants fertilisés (16,5 g). Les effets de cet engrais de synthèse sur la production de biomasse fraîche étaient statistiquement similaires à ceux des rhizobia indigènes RSC309 (15,3 g), RSC324 (15,8 g), RSC502 (15,5 g), RSC504 (15,1 g) et de la souche introduite IRAT FA3 (15,1 g). En revanche sur le site de Hiré, la production de matière fraîche a été plus accrue avec l'isolat RSC508 par rapport à l'ensemble des bactéries testées (indigènes et exotique). Cette bactérie a, par ailleurs, induit le même poids de matière fraîche que l'engrais de synthèse NPK 12 22 22. Ces traitements ont fourni respectivement 15,9 g et 16,4 g de matières fraîches.

Tableau XIX : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais de synthèse NPK 12 22 22 sur la biomasse fraîche du cultivar Canarana à Daloa, Divo et Hiré

Sources d'azote	Localités			Moyenne
	Daloa	Divo	Hiré	
RSC 115	13,9±0,7d	12,5±1,2c	12,3±1,1ef	12,9
RSC 119	15,5±1,2bc	13±0,6c	12,8±0,5de	13,8
RSC 309	14,6±1,8cd	15,3±1,5ab	14,3±0,8c	14,7
RSC 324	14,5±1,4cd	15,8±1,4ab	12,8±0, def	14,4
RSC 502	15,6±1bc	15,5±0,7ab	15,3±1,3b	15,5
RSC 504	14,30±0,9cd	15,1±0,8ab	13,2±0,2de	14,2
RSC 508	15,2±1,3bcd	14,9±1,3b	15,9±0,4ab	15,3
IRAT FA3	16,2±0,7ab	15,1±1,5ab	13,6±0,3cd	15
TN	17,5±0,9a	16,5±0,6a	16,4±0,8a	16,8
T0	11,1±1e	12,29±1,1c	12±0,4f	11,8
Moyenne	14,9±1,9	14,6±1,7	13,9±1,6	
CV (%)	12,9	11,9	11,6	
LSD (5 %)	1,6	1,5	1	

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher. T0 : Témoin non traité ; TN : Engrais de synthèse NPK 12 22 22.

La biomasse fraîche des plants du cultivar Doko a varié significativement en fonction des bactéries testées et des sites d'essais (Tableau XX). A Daloa, l'ensemble des bactéries utilisées comme inoculum a accru le poids frais des plants par rapport au témoin absolu (9,7 g) excepté les plants inoculés avec RSC324 (10,3 g) et IRAT FA3 (10,9 g). Parmi ces bactéries, RSC115, RSC502, RSC504 et RSC508 ont produit des biomasses fraîches similaires à celles de l'engrais de synthèse. Le poids frais le plus élevé sur ce site était 15,4 g. Il a été induit par l'isolat RSC115. Sur le site de Divo, l'ensemble des bactéries a accru le poids frais des plantules par rapport au témoin absolu. Parmi ces bactéries, RSC309 (13,3 g), RSC504 (14,1 g) et RSC508 (15,7 g) ont augmenté la biomasse fraîche par rapport à la souche exotique IRAT FA3 (11,9 g). Toutefois, aucune d'elles n'a pu accroître le poids frais des plantules comme l'engrais de synthèse (16,63 g) sur ce site. En revanche sur le site de Hiré, en dehors des isolats RSC115 et RSC324, les rhizobia locaux testés et la souche IRAT FA3 ont augmenté la biomasse fraîche des plants mieux que le témoin absolu. Comparées entre elles, les bactéries indigènes RSC119, RSC309, RSC504 et RSC508 ont induit une production de matière végétale fraîche similaire à celle de la souche de référence. Par ailleurs, la biomasse fraîche obtenue avec l'engrais chimique (16) était supérieure à celle obtenue avec ces bactéries.

Tableau XX : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais de synthèse NPK 12 22 22 sur la biomasse fraîche du cultivar Doko à Daloa, Divo et Hiré

Sources d'azote	Localités			Moyenne
	Daloa	Divo	Hiré	
RSC115	15,4±0,9a	12,3±0,7e	10,7±1,1d	12,8
RSC119	12,3±1,3b	13,3±0,6d	14,5±0,7b	13,4
RSC309	12,2±1,2bc	14,3±0,8c	13,7±1,3b	13,4
RSC324	10,3±0,6d	12,2±1e	11,3±1,1d	11,2
RSC502	14,2±0,7a	11,7±0,5e	12,4±0,6c	12,8
RSC504	14,2±0,6a	14,1±0,9cd	14,4±0,9b	14,2
RSC508	14,2±1,4a	15,7±0,6b	14,5±0,8b	14,8
IRAT FA3	10,9±1,3cd	11,9±0,5e	13, 8±0,6b	12,2
TN	14,3±0,7a	17±0,7a	16±0,2a	15,8
T0	9,7±1,3d	10 ±0,5f	10,2±0,2d	10
Moyenne	12,8±2,1	13,3±2,1	13,2±2	
CV (%)	16,5	15,5	15,13	
LSD (5 %)	1,4	0,97	0,85	

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher ; T0 : Témoin non traité ; TN : Engrais de synthèse NPK 12 22 22.

Pour le cultivar Piramama, l'ensemble des bactéries testées a influencé significativement le poids frais des plants par rapport au témoin non traité. Toutefois, leur impact variait en fonction des sites (Tableau XXI). A Daloa, hormis l'isolat RSC115, toutes les bactéries ont augmenté le poids frais des plants par rapport au témoin non traité. Parmi celles-ci, RSC119 et RSC504 ont le plus boosté la production de biomasse fraîche respectivement avec 16,1 g et 16,5 g. Ces deux bactéries indigènes ont induit des biomasses fraîches similaires à ceux de l'engrais de synthèse (17,4 g). Sur le site de Divo, les bactéries testées ont accru la biomasse fraîche mieux que le témoin absolu exceptées la bactérie indigène RSC324 et la souche IRAT FA3. Parmi ces bactéries, RSC309 a induit le poids frais le plus élevé avec 13,5 g. Cependant, cette valeur est inférieure au poids obtenu avec le témoin fertilisé (16,6 g). A Hiré, toutes les bactéries testées ont boosté la biomasse fraîche des plants par rapport à T0. L'isolat RSC119 a induit la biomasse

fraiche la plus élevée parmi ces bactéries, à savoir 14,3 g. Ce poids est ainsi similaire à celui induit par l'engrais de synthèse estimé à 15,1 g.

Tableau XXI : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais de synthèse NPK 12 22 22 sur la biomasse fraîche du cultivar Piramama à Daloa, Divo et Hiré

Sources d'azote	Localités			Moyenne
	Daloa	Divo	Hiré	
RSC115	10,8±1,5de	12,2±1,3c	12,8±1,1cd	12
RSC119	16,1±1,7ab	11,9±1,3c	14,3±1,4ab	14,1
RSC309	15±1,5bc	13,5±1,2b	13,7±1bc	14,1
RSC324	12,2±0,5d	11,5±0,3cd	12,1±0,6de	11,9
RSC502	12±1,2d	12,6±0,9bc	11,4±1,3d	12
RSC504	16,5±0,7a	12,2±1,1c	11,9±0,3de	13,5
RSC508	13,8±0,6c	11,9±1c	13,7±0,5bc	13,1
IRAT FA3	14,1±0,5c	10,6±0,5d	12,1±0,2de	12,3
TN	17,4±0,6a	16,3±0,8a	15,1±1,1a	16,4
T0	10,7±0,6e	10,4±0,3d	10 ±0,4e	10,4
Moyenne	13,8±2,5	12,3±1,9	12,7±1,7	
CV (%)	17,95	15,26	13,1	
LSD (5 %)	1,46	1,2	1,3	

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher ; T0 : Témoin non traité ; TN : Engrais de synthèse NPK 12 22 22.

### 1.2.2.3. Effet des rhizobia locaux sur la biomasse sèche du soja en début de floraison

Toutes les bactéries testées ont influencé de façon significative ( $P = 0,005$ ) la biomasse sèche des différents cultivars de soja. Toutefois, l'impact de ces bactéries était différent d'une variété à une autre.

En tenant compte du cultivar Canarana, la biomasse sèche produite sous l'effet des bactéries indigènes est avérée améliorée par rapport à celle des plants non traitées quel que soit le site de l'essai. Sur le site de Daloa, les poids secs les plus élevés induits par bactéries locales ont été observés avec les plants inoculés avec RSC115 (3,4 g), RSC502 (3,4 g) et RSC508 (3,5 g). A Divo, les bactéries locales RSC309 (3,4 g), RSC324 (3,3 g), RSC502 (3,3 g) et RSC508 (3,3 g)

ont augmenté la biomasse sèche par rapport à T0 (2,8 g). Cependant, les poids secs des plants induits par les bactéries indigènes à Daloa et Divo étaient inférieurs à ceux induits par l'engrais de synthèse (TN) à Daloa et Divo avec 3,9 g (Tableau XXII). En revanche, toutes les bactéries testées ont amélioré la biomasse sèche des plants par rapport au témoin absolu à Hiré. Sur ce site, le poids de la matière sèche le plus élevé (3,68 g) a été obtenu avec RSC508. La biomasse sèche produite avec cette bactérie était statistiquement similaire à celles obtenues avec RSC502 (3,5 g) et TN (3, g).

Tableau XXII : Effet es rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais de synthèse NPK 12 22 22 sur la biomasse sèche du cultivar Canarana à Daloa, Divo et Hiré

Sources d'azote	Localités			Moyenne
	Daloa	Divo	Hiré	
RSC115	3,4±0,4b	3±0,6bc	3,1±0,4cd	3,2
RSC119	3,2±0,4bc	3±0,4bc	3±0,2de	3,1
RSC309	3,2±0,2bc	3,4±0,21b	3,3±0,3bc	3,3
RSC324	3,2±0,3bc	3,3±0,3b	3±0,2cd	3,2
RSC502	3,4±0,3b	3,3±0,3b	3,5±0,3ab	3,4
RSC504	3,4±0,3bc	3,1±0,3bc	3,1±0,1cd	3,2
RSC508	3,4±0,3b	3,3±0,3b	3,7±0,1a	3,5
IRAT FA3	3,5±0,2ab	3,2±0,4bc	3,2±0,2bcd	3,3
TN	3,9±0,3a	3,9±0,3a	3, 7±0,1a	3,8
T0	3±0,2c	2,8±0,3c	2,7±0,1e	2,8
Moyenne	3,3±0,4	3,2±0,4	3,2±0,4	
CV (%)	11	12,7	11,4	
LSD (5 %)	0,4	0,5	0,3	

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher ; T0 : Témoin non traité ; TN : Engrais de synthèse NPK 12 22 22.

Pour le cultivar Doko, la biomasse sèche a varié en fonction des traitements et des sites (Tableau XXIII). A Daloa, l'ensemble des rhizobia indigènes testés a amélioré la biomasse sèche par rapport au témoin absolu (T0) excepté RSC324. Cette bactérie et la souche IRAT FA3 n'ont pas influencé la matière sèche. Hormis RSC324, les bactéries indigènes ainsi que l'engrais chimique de formulation 12 22 22 ont amélioré de façon similaire le poids sec des plants sur ce site. Sur le

site de Divo, les rhizobia locaux ont augmenté le poids sec des plants par rapport à T0 (2,2 g) et à la souche de référence (3 g). La biomasse sèche induite par ces bactéries était statistiquement identique à celle obtenue avec l'engrais de synthèse (3,6 g). La biomasse sèche la plus importante (3,94 g) a été obtenue avec RSC119. Tous les traitements effectués sur le site de Hiré ont augmenté la biomasse sèche des plants de soja par rapport à T0. Lorsque ces traitements sont comparés entre eux, l'engrais de synthèse est celui qui a produit le poids sec le plus élevé (4 g). Ce résultat n'est pas statistiquement différent des effets engendrés par RSC504 et RSC508 (3,8 g). En plus de ces bactéries, RSC119 (3,5 g) et RSC309 (3,5 g) ont aussi accru la biomasse sèche par rapport à IRAT FA3 (3,3 g), mais de façon moindre.

Tableau XXIII : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais de synthèse NPK 12 22 22 sur la biomasse sèche du cultivar Doko à Daloa, Divo et Hiré

Sources d'azote	Localités			Moyenne
	Daloa	Divo	Hiré	
RSC115	3,6±0,7a	3,1±0,4bc	2,9±0,3de	3,2
RSC119	3,2±0,4ab	3,9±0,4a	3,5±0,3bc	3,6
RSC309	3,2±0,5ab	3,6±0,4a	3,5±0,4bc	3,4
RSC324	2,4±0,5c	3,1±0,4c	2,6±0,4e	2,7
RSC502	3,4±0,3a	3±0,2c	3±0,4de	3,1
RSC504	3,6±0,5a	3,6±0,4a	3,8±0,3ab	3,7
RSC508	3,5±0,6a	3,7±0,5a	3,8±0,3ab	3,7
IRAT FA3	3±0,4bc	3±0,3c	3,3±0,2cd	3
TN	3,7±0,3a	3,6±0,3ab	4±0,2a	3,8
T0	2,4±0,3c	2,2±0,2d	2,1±0,1f	2,2
Moyenne	3,2±0,6	3,3±0,6	3,2±0,6	
CV (%)	20	18,1	19,55	
LSD (5 %)	0,7	0,5	0,5	

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher ; T0 : Témoin non traité ; TN : Engrais de synthèse NPK 12 22 22.

Les isolats bactériens inoculés au cultivar Piramama ont influencé significativement le poids sec de la matière végétale. Toutefois, leur effet a varié en fonction du site (Tableau XXIV). Toutes

les bactéries testées à Daloa excepté RSC115 ont augmenté le poids sec des plants par rapport à T0. Les rhizobia RSC119 et RSC504 ont induit les poids secs des plantules les plus élevés avec 4,8 g et 4,4 g respectivement. Par ailleurs, les biomasses sèches produites par ces bactéries étaient statistiquement similaires à celle produite par l'engrais de synthèse (4,8 g) dans cette même localité. Sur le site de Hiré, l'ensemble des bactéries testées a accru la production de biomasse sèche par rapport au témoin absolu. Parmi les bactéries, ce sont RSC309 (3,7 g) et RSC508 (3,5 g) qui ont plus accru la biomasse sèche. L'engrais de synthèse appliqué sur ce site a fait mieux que les bactéries en favorisant une production de 3,8 g qui, toutefois, n'est pas très différente des résultats obtenus avec RSC309 et RSC508. En revanche sur le site de Divo, toutes les bactéries testées ont induit une augmentation de la biomasse sèche des plantes. Parmi ces bactéries, RSC119 (3,5 g), RSC309 (3,6 g) et RSC324 (3,3 g) ont été plus performantes que la souche de référence (2,7 g). Cependant, aucune d'elle n'a pu accroître la matière sèche des plantules mieux que le témoin fertilisé (4,3 g).

Tableau XXIV : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais de synthèse NPK 12 22 sur la biomasse sèche du cultivar Piramama à Daloa, Divo et Hiré

Sources d'azote	Localités			Moyenne
	Daloa	Divo	Hiré	
RSC115	2,7±0,5f	3,2±0,6bcd	3,2±0,4cd	3,1
RSC119	4,8±0,4a	3,5±0,5b	3,4±0,3bc	3,9
RSC309	3,9±0,3bc	3,6±0,4b	3,7±0,4ab	3,7
RSC324	3,1±0,3de	3,3±0,4bc	2,9±0,2de	3,1
RSC502	3,1±0,5de	3,1±0,4bcd	2,9±0,3de	3
RSC504	4,4±0,6ab	3,2±0,4bcd	2,9±0,2de	3,5
RSC508	3,4±0,4cd	2,9±0,2cd	3,5±0,3abc	3,3
IRAT FA3	3,5±0,3cd	2,7±0,2d	2,7±0,2e	3
TN	4,8±0,2a	4,3±0,3a	3,8±0,4a	4,3
T0	2,4±0,3f	2,2±0,1e	2±0,1f	2,3
Moyenne	3,6±0,9	3,2±0,6	3,1±0,6	
CV (%)	24	19,6	19	
LSD (5 %)	0,6	0,5	0,4	

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher ; T0 : Témoin non traité ; TN : Engrais de synthèse NPK 12 22 22.

#### **1.2.2.4. Effet des rhizobia locaux sur le délai de floraison du soja**

L'analyse de la variance des données issues de ce test a montré que les traitements ont influencé significativement ( $P = 0,007$ ) le délai de floraison des plants. En outre, l'effet de ces traitements sur ce paramètre a varié en fonction du cultivar et du site d'expérimentation.

En effet, au niveau du cultivar Canarana, le délai de floraison a varié entre 40 et 53 jours après semis (JAS) sur l'ensemble des sites (Tableau XXV). Les inflorescences les plus précoces ont été observées à 40 JAS avec les rhizobia locaux RSC119, RSC309 et RSC324 sur le site de Divo, soit quatre (04) jours avant l'apparition des fleurs chez le témoin absolu (T0). L'apparition d'inflorescences a été tardive à Daloa avec un délai situé entre 45 et 53 JAS. Cependant, l'inoculation des plantules avec les isolats RSC504 et RSC508 a permis de réduire le délai de floraison de huit (08) jours par rapport au témoin absolu sur ce site. A Hiré, le délai de floraison était situé entre 45 et 49 JAS. L'inoculation avec les isolats RSC115, RSC504 et la souche IRAT FA3 a eu pour effet de réduire de quatre (04) jours ce délai par rapport au témoin absolu (49 JAS).

Le délai de floraison du cultivar Doko a varié entre 39 et 49 JAS sur l'ensemble des sites (Tableau XXV). Le délai de floraison était réduit de 6 et 7 jours sur plantules inoculées avec les isolats RSC504 et RSC119 respectivement à Daloa et Divo avant l'apparition des fleurs sur les plantules non traitées. En revanche, l'apparition d'inflorescences sur les plantules inoculées avec les isolats RSC309 et RSC502 était retardée de 3 et 4 jours à Hiré.

L'inflorescence chez le cultivar Piramama était apparue entre 40 et 46 JAS sur l'ensemble des sites (Tableau XXV). A Daloa, les isolats RSC115 et RSC119 ont induit une réduction du délai de floraison de 3 jours. Toutefois, les isolats RSC309, RSC502, RSC508 la souche IRAT FA3 et l'engrais chimique n'ont pas influencé ce paramètre. A Divo, les isolats testés ont permis de réduire de 4 à 5 jours le délai de floraison excepté l'isolat RSC309. Sur ce site, l'inflorescence des plantules inoculées avec les isolats RSC119, RSC504 et RSC508 était visible 40 JAS soit 5 jours avant l'apparition des fleurs sur les plantules non traitées. En revanche, le délai de floraison des plantules inoculées avec la bactérie RSC309 était retardé de 1 jour. A Hiré, ce paramètre a été influencé par les bactéries RSC115, RSC504 et IRAT FA3. Ces bactéries ont permis de réduire le délai de floraison de trois (03) jours.

Tableau XXV : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais de synthèse NPK 12 22 22 sur le délai de floraison des cultivars Canarana, Doko et Piramama à Daloa, Divo et Hiré

Sources d'azote	Canarana			Doko			Piramama		
	Daloa	Divo	Hiré	Daloa	Divo	Hiré	Daloa	Divo	Hiré
<b>RSC115</b>	52g	43b	45a	43c	42b	45a	40a	41b	42a
<b>RSC119</b>	48c	40a	49c	41b	40a	46b	40a	40a	46c
<b>RSC309</b>	47b	40a	49c	43c	49f	49d	43d	46d	46c
<b>RSC324</b>	50f	40a	49c	43c	43bc	46b	42c	41b	46c
<b>RSC502</b>	48c	40a	48b	43c	48ef	48c	43d	41b	45b
<b>RSC504</b>	45a	43b	45a	39a	41a	45a	41b	40a	42a
<b>RSC508</b>	45a	43b	48b	43c	46d	46b	43d	40a	46c
<b>IRAT FA3</b>	49d	43b	45a	43c	41a	45a	43d	40a	42a
<b>TN</b>	51e	43b	48b	43c	44c	45a	43d	40a	45b
<b>T0</b>	53h	44c	49c	45d	47de	45a	43d	45c	45b
<b>Moyenne</b>	49	42	48	43	44	46	42	41	45
<b>CV (%)</b>	3,1	3,1	3,7	4,0	7,1	3,1	6,6	5,3	3,8
<b>LSD (5 %)</b>	1,4	0,8	1,2	1,6	1,8	0,9	0,7	1,2	0,8

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher ; T0 : Témoin non traité ; TN : Engrais de synthèse NPK 12 22 22.

#### 1.2.2.5. Effet des rhizobia locaux sur la vigueur des plants et la coloration des feuilles

L'observation de la vigueur des plantules et de la coloration des feuilles lors de la formation des gousses a montré qu'il existe des différences significatives ( $P = 0,04$ ) entre les plantules inoculées avec les bactéries et le témoin absolu (Figure 31). Les plantules inoculées avec l'ensemble des bactéries (excepté RSC502 inoculée au cultivar Piramama à Hiré et RSC324 inoculée au cultivar Doko à Hiré) présentaient des côtes de 4/5 et 5/5 sur l'ensemble des sites. Ces côtes indiquent dans cet ordre que les plantules inoculées ont été moyennement vigoureuses à vigoureuses avec un feuillage vert foncé. Pour le cultivar Piramama, les plantules vigoureuses étaient celles inoculées avec les bactéries RSC115, RSC119 et RSC309. En revanche, les plantules vigoureuses au niveau du cultivar Doko ont été observées suite à l'application des isolats RSC502, RSC504 et RSC508. Au niveau du cultivar Canarana, les plantules inoculées avec RSC508 ont présenté les meilleurs aspects sur l'ensemble des sites. Quant aux plantules

non inoculées, elles étaient relativement petites avec des feuilles de coloration vert-foncée pour les cultivars Piramama et Doko puis, vert-claire pour le cultivar Canarana.

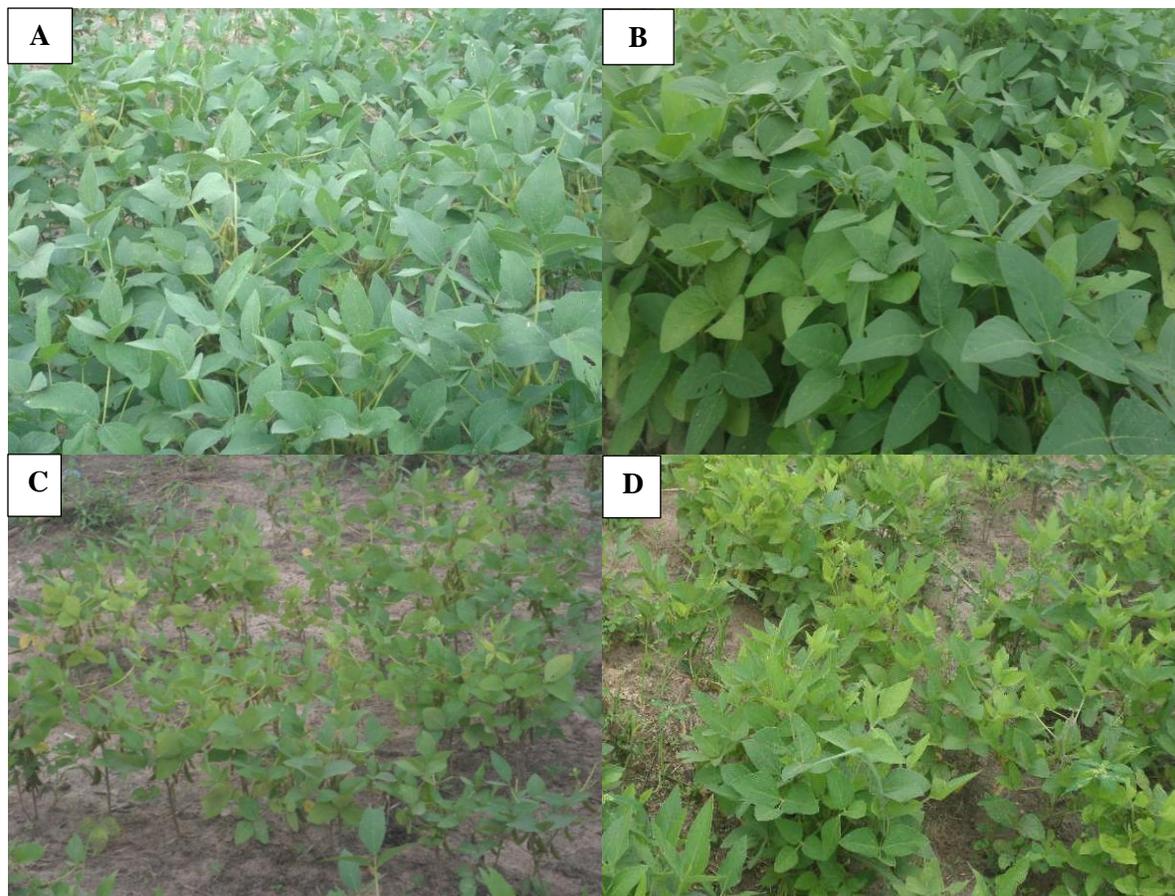


Figure 31 : Influence de l'inoculation sur l'aspect des plantules de différents cultivars de soja  
A : Plantules de soja Cv. Doko inoculées avec RSC119 ; B : Plantules de soja Cv. Piramama inoculées avec RSC508 ; C : Plantules de soja Cv. Doko non traitées ; D : Plantules de soja Cv. Canarana non traitées.

#### **1.2.2.6. Effet des rhizobia locaux sur le niveau d'insertion des premières gousses**

Les plantes inoculées avec les rhizobia indigènes ont présenté des différences significatives ( $P = 0,03$ ) sur le niveau d'insertion des premières gousses par rapport au témoin non inoculé excepté les cultivars Canarana et Piramama à Daloa (Tableau XXVI).

Le niveau d'insertion des premières gousses a varié entre 14,2 cm et 24,8 cm pour l'ensemble des cultivars sur tous les sites. Le cultivar Piramama a présenté les niveaux d'insertion les moins élevés avec 16 cm en moyenne sur l'ensemble des sites. Les isolats RSC324 et IRAT FA3 ont

induit le niveau d'insertion le plus faible (14,2 cm) respectivement à Hiré et à Divo. Le niveau d'insertion le plus élevé pour ce cultivar était de 19,6 cm induite par la souche IRAT FA3 à Hiré.

Le niveau d'insertion des premières gousses sur la tige principale des cultivars Canarana et Doko a varié entre 16,6 et 24,8 cm. L'isolat RSC508 et la souche IRAT FA3 ont induit les niveaux les plus bas à Divo avec respectivement 16,8 cm et 16,6 cm. A Hiré, par contre, la souche IRAT FA3 a favorisé les niveaux d'insertion les plus élevés (24,6 et 24,8 cm) lorsqu'elle était inoculée respectivement aux cultivars Doko et Canarana.

Tableau XXVI : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais de synthèse NPK 12 22 22 sur le niveau d'insertion des premières gousses des cultivars Canarana, Doko et Piramama à Daloa, Divo et Hiré

Sources d'azote	Cultivars de soja								
	Canarana			Doko			Piramama		
	Daloa	Divo	Hiré	Daloa	Divo	Hiré	Daloa	Divo	Hiré
RSC115	19,4±1,9	18±1,2ef	20±1,2c	18,2±3,6bcd	17±3d	20±1,2cd	15,2±0,8	15,4±1,1bc	15,4±0,9bcd
RSC119	19,6±2,1	20,8±0,8bc	17,8±1,3de	17,8±0,4cd	20,8±0,8bc	18±1,2de	16±1,6	15,2±0,8bc	15,8±0,8bcd
RSC309	21±3,4	24,2±2,3a	17±1,9e	18,4±1,1bcd	24,2±2,3a	17,8±1,9e	16,4±1,1	17,4±1,8a	16,6±2,4b
RSC324	19±1,4	20±0,7cd	19,6±0,9cd	20±0,7ab	20±0,7c	19,8±0,4cde	16±0,7	16,8±2,6ab	14,2±0,8d
RSC502	17,6±0,9	20±0,7cd	17,8±1,3de	20,±0,5a	20c	17,8±1,3e	15,8±1,5	16,8±0,8ab	16±1bc
RSC504	20,8±1,6	22,2±1,3b	24,6±1,8a	17,2±0,8d	22,2±1,3b	24,4±1,8a	16,8±1,3	15±1,6c	16,6±2,1b
RSC508	18±1,9	16,8±0,8fg	20,2±1,5bc	17,8±1,3cd	16,8±0,8d	20±1,9cd	16,2±1,3	15±1,2c	15,6±1,5bcd
IRAT FA3	19,6±4,1	16,8±0,8fg	24,8±1,5a	18,2±1,1bcd	16,6±0,5d	24,6±1,7a	16±1,6	14,2±0,8c	19,6±0,5a
TN	19,8±4,2	15,4±0,5g	22,2±1,6b	19,2±1,1abc	15,4±0,5d	22,6±1,5ab	16,6±0,9	14,2±0,8c	14,4±0,5cd
T0	19,2±1,1	19,2±1,1de	20,6±2,6bc	18,6±1,3bcd	19,2±1,1c	21,6±2,1bc	15,6±1,1	14,2±0,8c	20±0,7a
Moyenne	19,4±2,5	19,3±2,8	20,5±3	18,6±1,6	19,2±3	20,7±2,8	16,3±1,3	15,4±1,7	16,4±2,2
CV (%)	12,9	14,3	14,6	8,9	15,3	13,7	8,2	10,9	13,4
LSD (5 %)	NS	1,6	2,4	1,8	2,2	2,2	NS	1,8	1,8

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher ; T0 :

Témoin non traité ; TN : Engrais de synthèse NPK 12 22 22.

### **1.2.2.7. Effet des rhizobia locaux sur le délai de maturité des gousses**

Le délai de maturité des gousses des différents cultivars a été significativement influencé ( $P = 0,008$ ) par l'inoculation. Toutefois, l'effet de chaque bactérie sur ce délai pour chaque cultivar a varié en fonction de la zone de production.

Au niveau du cultivar Canarana, le délai de maturité des gousses a varié de 106 à 121 JAS (Tableau XXVII). Les délais de maturité les plus précoces ont été observés sur le site de Divo. Sur ce site, l'ensemble des isolats testés et la souche IRAT FA3 ont induit une réduction du délai de maturité des gousses de 7 à 14 jours avant la maturité des gousses sur les plants témoins. Les gousses issues des plants inoculés avec les isolats RSC502 et RSC504 ont été matures 106 JAS, soit 14 jours avant la maturité des gousses des plants non traitées. En revanche, ce paramètre a été faiblement influencé à Daloa pour la même variété. Sur ce site, le délai de maturité des gousses a varié de 111 à 113 jours. Seuls, les isolats RSC309 et RSC504 ont permis de réduire de deux (02) jours ce paramètre par rapport au témoin absolu. Le délai de maturité des gousses a été plus tardif à Hiré. Il a varié entre 112 et 121 jours. Toutefois, les bactéries RSC115, RSC502 et IRAT FA3 ont favorisé un gain de neuf (09) jours sur le délai de maturité des gousses.

Quant au cultivar Doko, le délai de maturité a varié de 98 à 112 jours (Tableau XXVII). Le délai le plus précoce (98 JAS) a été obtenu avec l'isolat RSC502 à Divo contre 110 JAS pour le témoin. Sur ce site, les bactéries testées ont permis de réduire le délai de maturité de quatre (04) à douze (12) jours exceptés les isolats RSC324 et RSC504. A Daloa, l'ensemble des bactéries testées a réduit le délai de maturité des gousses comparé au témoin. RSC119 et RSC504 ont induit le délai de maturité des gousses le plus précoce estimé à 101 JAS contre 119 JAS pour le témoin. Ce délai était plus tardif à Hiré avec l'ensemble des traitements excepté l'isolat RSC115 qui l'a réduit de 9 jours.

Le cultivar Piramama a été le cultivar le plus précoce. En effet, le délai de maturité de ses gousses a varié entre 88 et 104 jours (Tableau XXVII). L'ensemble des bactéries testées à Hiré a réduit le délai de quatre (04) à treize (13) jours par rapport au témoin absolu. L'isolat RSC502 et la souche IRAT FA3 ont été les plus précoces dans cette localité. Toutefois, aucune des bactéries testées sur le site de Daloa n'a pu réduire le délai de maturité. Au contraire, les isolats RSC324, RSC502 et la souche IRAT FA3 ont retardé de deux (02) à quatre (04) jours la maturité des gousses en comparaison au témoin absolu. L'activité des bactéries a été variable à Divo. En effet, les isolats RSC115, RSC119, RSC324 et RSC508 y

ont réduit de huit (08) jours le délai de maturité des gousses quand les isolats RSC502 et RSC504 retardait ce délai de un (01) à deux (02) jours.

Tableau XXVII : Effet des rhizobia locaux, de la souche introduite et de l'engrais chimique NPK 12 22 sur le délai de maturité des gousses des cultivars Canarana, Doko et Piramama à Daloa, Divo et Hiré

Sources d'azote	Cultivars du soja								
	Canarana			Doko			Piramama		
	Daloa	Divo	Hiré	Daloa	Divo	Hiré	Daloa	Divo	Hiré
RSC115	113c	111d	112a	104b	101b	103a	88a	90a	100b
RSC119	112b	113e	121b	101a	100b	112c	88a	90a	100b
RSC309	111a	110c	121b	107c	106c	110b	88a	97c	100b
RSC324	113c	108b	121b	104b	110d	112c	92c	90a	100b
RSC502	113c	106a	121b	107c	98a	112c	92c	99e	91a
RSC504	111a	106a	112a	101a	110d	110b	88a	100f	100b
RSC508	112b	110c	121b	107c	106c	112c	90b	90a	100b
IRAT FA3	112b	110c	112a	104b	106c	110b	90b	94b	91a
TN	111a	106a	121b	107c	106c	110b	90b	98d	91a
T0	113c	120f	121b	107c	110d	112c	88a	98d	104c
Moyenne	112	110	118	105	105	110	89	94	97
CV (%)	5,5	2,5	3,6	2,3	5,9	5,4	4,0	4,1	3,2
LSD (5 %)	1,0	1,7	3,0	1,0	1,8	1,8	1,9	2,4	3,0

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher. T0 : Témoin non traité ; TN : Engrais chimique NPK 12 22 22.

### 1.2.3. Effet des rhizobia locaux sur le nombre et le poids des gousses des cultivars de soja

#### 1.2.3.1. Cultivar Canarana

L'ensemble des rhizobia indigènes inoculés au soja a influencé significativement ( $P = 0,04$ ) le nombre et le poids des gousses. Ces différents paramètres ont varié en fonction des sites (Tableau XXVIII).

Sur le site de Daloa, le nombre de gousses et le poids des gousses par plantule ont été améliorés par les bactéries qui ont servi à l'inoculation. Parmi celles-ci, RSC119 a été celle qui a le plus augmenté ces paramètres. Cette bactérie a induit la formation de 128 gousses et un poids de gousses de 42,41 g par plantule. Le nombre de gousses induit par cette bactérie

était statistiquement similaire à celui induit par l'engrais de synthèse (133 gousses) et moins élevé que celui obtenu avec la souche de référence (143). Cette souche a, par ailleurs, été celle qui aura augmenté le plus le nombre de gousses et le poids des gousses par plantule (63,8 g) à Daloa.

Sur le site de Divo, ce sont les rhizobia RSC324 et RSC502 qui ont induit plus de gousses que les autres bactéries (Tableau XXVIII). Ces rhizobia ont induit respectivement 144 et 133 gousses par plantule. A leur suite, RSC508 a favorisé la formation de 129 gousses et IRAT FA3 de 102 gousses. L'engrais de synthèse de formulation 12 22 22 a permis la formation de 120 gousses. Sur ce même site, le poids des gousses a été accru avec l'ensemble des rhizobia testés. Les isolats RSC324 et RSC508 ont induit les poids de gousses les plus élevés respectivement : 55,7 et 52,2 g. Les poids de gousses obtenus avec ces bactéries locales étaient supérieurs à ceux enregistrés avec la souche IRAT FA3 (42,9 g) et l'engrais chimique (51,3 g).

Au niveau de Hiré, le nombre et le poids des gousses ont été accrus par l'ensemble des traitements en comparaison au témoin absolu (Tableau XXVIII). Les nombres de gousses les plus importants ont été obtenus avec RSC309 et RSC508, à savoir : 163 et 154 gousses. Ces nombres de gousses étaient supérieurs à celui induit par la souche exotique estimé à 137 gousses. Ces mêmes rhizobia ont augmenté le plus le poids des gousses avec 68,4 g et 66 g respectivement pour RSC309 et RSC508. Toutefois, le nombre et le poids des gousses favorisés par ces rhizobia indigènes n'étaient statistiquement différents de ceux obtenus avec l'application de l'engrais de synthèse avec lequel 152 gousses et un poids de 69,9 g ont été mesurés par plant.

Tableau XXVIII : Effet des rhizobia indigènes, de la souche IRAT FA3 et de l'engrais chimique NPK 12 22 22 sur le nombre et le poids des gousses du cultivar Canarana à Daloa, Divo et Hiré

Sources d'azote	Nombre de gousses/plante			Poids des gousses/plante (g)		
	Daloa	Divo	Hiré	Daloa	Divo	Hiré
RSC115	91±4ef	91±5g	88±6cd	34,6±1,9de	35±2,1d	36,1±3,9d
RSC119	128±10b	108±10ef	127±12b	42,4±4b	44,8±5,3c	55±3,4b
RSC309	105±12cd	112±5def	163±12a	36,1±3,2de	50,3±2,2b	68,4±6,2a
RSC324	110±9cd	144 ±17a	88±6cd	37,3±3cd	55,7±3,4a	35,6±2,2d
RSC502	114±11c	133±9ab	99±6c	40,8±3bc	49,6±2,8b	44,5±3,8c
RSC504	81±7f	118±6cde	81±10d	28,2±2,4f	50,7±2,2b	33,5±2,2d
RSC508	102±6de	129±8bc	154±12a	33,1±1,4e	52,2±2,2ab	66±4,7a
IRAT FA3	143±10a	102±8fg	137±10b	63,8±2a	42,9±2,4c	53,8±4,9b
TN	133±15ab	120±8cd	152±10a	43,1±5,7b	51,3±3,5b	69,9±3,1a
T0	65±3g	51 ±3h	37±5e	28,6±2,3f	24,5±2,3e	22±3,6e
Moyenne	113±36	111±26	113±40	38,8±10,2	45,7±9,5	48,5±16,3
CV (%)	32,1	23,5	35,1	26,2	20,8	33,7
LSD (5 %)	12	11	15,2	4,2	4,4	9,3

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher ; T0 : Témoin non traité ; TN : Engrais chimique NPK de formulation 12 22 22.

### **1.2.3.2. Cultivar Doko**

Les rhizobia indigènes et la souche exotique inoculés au soja ont influencé significativement ( $P=0,006$ ) le nombre et le poids des gousses comparativement au témoin non traité. Cependant, ces paramètres ont varié en fonction du traitement appliqué et du site de l'essai (Tableau XXIX).

A Daloa, l'ensemble des bactéries testées a amélioré les paramètres étudiés. Parmi ces bactéries, l'isolat RSC508 a induit le nombre et le poids des gousses les plus élevés. Cette bactérie a favorisé la production de 99 gousses par plant et un poids de gousses de 64,87 g. En plus d'elle, RSC115, RSC119 et RSC309 ont augmenté le nombre et le poids des gousses ces par rapport à IRAT FA3 et à l'engrais de synthèse.

Concernant le site de Divo, le nombre de gousses le plus élevée était de 82 gousses obtenues sur les plants inoculées avec l'isolat RSC309. Cette bactérie a, par ailleurs, induit des effets statistiquement similaires à ceux des isolats RSC119, RSC504, RSC508 et de la souche IRAT FA3. Ces bactéries ont favorisé la production de 76 à 80 gousses par plant. Toutes En somme, elles ont toutes boosté la production en gousses que l'engrais de synthèse qui n'a favorisé que la formation de 66 gousses par plant. Par ailleurs, sur ce site, l'isolat RSC508 apparait comme la bactérie qui a favorisé les poids les plus élevés de gousses en induisant la production de 50,1 g de gousses par plant. Le rendement en gousse induit par cette bactérie était toutefois statistiquement similaire à ceux obtenus avec RSC119, RSC309 et RSC504 qui sont dans l'ordre : 45,3 g, 49,9 g et 48,6 g de gousses par plant. L'ensemble de ces bactéries a amélioré le poids des gousses que la souche de *Bradyrhizobium japonicum* introduite (38,9 g) et le témoin fertilisé (38,9 g).

Sur le site de Hiré, les différents traitements ont augmenté le nombre et le poids des gousses par rapport au témoin absolu exceptés RSC324 et RSC502. RSC119 a induit le nombre le plus élevé de gousses par plant (106) ainsi que le poids de gousses le plus élevé (71,6 g). RSC504 a augmenté ces paramètres de façon similaires que l'engrais chimique (respectivement 88 gousses et 54,7 g contre 94 gousses et 60,4 g).

Tableau XXIX : Effet des rhizobia indigènes, de la souche IRAT FA3 et de l'engrais chimique NPK 12 22 22 sur le nombre et le poids des gousses du cultivar Doko à Daloa, Divo et Hiré

Sources d'azote	Nombre de gousses/plante			Poids des gousses/plante (g)		
	Daloa	Divo	Hiré	Daloa	Divo	Hiré
RSC115	71±6cd	53±3c	66±5ef	35,5±5,1cd	38,3±3,6b	43,3±6,6ef
RSC119	78±5c	76±4a	106±10a	40,5±3,4c	45,3±1,7a	71,6±5,4a
RSC309	90±6b	82±7a	90±7b	51,9±3,7b	49,9±10a	53,9±3,7c
RSC324	52±4f	50±6c	56±5g	26,1±1,9ef	34,8±5,7b	38,2±3,3fg
RSC502	44±6g	56±4c	59±6fg	22,7±2,9f	33,6±2,4b	40,8±4,9efg
RSC504	60±3e	76±6a	88±7bc	29,3±2ef	48,6±4,3a	54,7±5,5bc
RSC508	99±7a	80±5a	70±8de	64,8±9a	50,1±3,6a	46,3±5,2de
IRAT FA3	65±6de	76±7a	80±4cd	34,3±3,4de	38,9±4,9b	51,5±1,5cd
TN	58±4ef	66±6b	94±13b	32,4±1,7de	38,9±2b	60,4±6,9b
T0	25±6h	38±6d	50±7g	25,4±4ef	27,4±1,8c	35,6±3,3g
Moyenne	64±21	65±15	76±19	36,3±13,1	40,6±8,5	49,6±11,5
CV (%)	33,1	23,5	25,2	36,2	20,9	23,1
LSD (5 %)	8	9,6	9,8	6,2	6,2	5,5

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher ; T0 : Témoin non traité ; TN : Engrais chimique NPK de formulation 12 22 22.

### **1.2.3.3. Cultivar Piramama**

Les bactéries testées ainsi que l'engrais chimique ont amélioré significativement ( $P= 0,008$ ) le nombre et le poids des gousses par plant en comparaison au témoin absolu (T0) sur les trois sites (Tableau XXX).

Le nombre de gousses a varié de 62 à 133 gousses pour l'ensemble des traitements contre 44 à 50 gousses pour le témoin non azoté sur l'ensemble des sites. L'isolat bactérien RSC508 a induit le nombre le plus élevé de gousses sur tous les sites. Il a induit respectivement 102 ; 87 et 133 gousses par plant à Daloa, Divo et Hiré. L'impact de cette bactérie sur la production de gousses a été similaire avec ceux des isolats RSC119 et RSC309 à Daloa et à Divo. Ces bactéries ont induit respectivement la production de 99 et 96 gousses par plant à Daloa, puis 83 et 81 gousses par plantules à Divo. Tous ces rhizobia indigènes ont augmenté le nombre de gousses sur ces sites que l'engrais chimique et la souche IRAT FA3. L'engrais chimique a induit la formation de 80 et 74 gousses respectivement à Daloa et Divo tandis que la souche IRAT FA3 a induit la formation de 85 et 67 gousses respectivement à Daloa et Divo. Par ailleurs, le nombre de gousses obtenu avec RSC508 à Hiré (133 gousses) est similaire à celui obtenu avec le témoin azoté (125 gousses).

Le poids des gousses a aussi varié en fonction du traitement et du site d'expérimentation. Il a varié de 32,6 à 118,4 g pour les traitements et de 30,9 à 39,6 g pour le témoin absolu sur l'ensemble des sites. L'isolat RSC508 a induit les poids de gousses les plus élevés sur tous les sites à savoir, 56,1 g à Daloa, 56,9 g à Divo et 118,4 g à Hiré. Les résultats obtenus à Daloa et Divo ne diffèrent pas sensiblement avec celui obtenu avec l'isolat RSC119 dans ces mêmes lieux. Hormis ces deux bactéries, RSC309 a aussi induit des nombres de gousses par plant supérieurs à ceux observés sur les plants inoculés avec la souche IRAT FA3 et ceux traités avec l'engrais chimique à Daloa et Divo. En revanche, à Hiré, le poids des gousses le plus élevé (118,4 g) obtenu avec RSC508 n'est pas statistiquement différent de celui enregistré au niveau des plants fertilisés à l'engrais chimique (111,3 g).

Tableau XXX : Effet des rhizobia indigènes, de la souche IRAT FA3 et de l'engrais chimique NPK 12 22 22 sur le nombre et le poids des gousses du cultivar Piramama à Daloa, Divo et Hiré

Sources d'azote	Nombre de gousses/plante			Poids des gousses/plante (g)		
	Daloa	Divo	Hiré	Daloa	Divo	Hiré
RSC115	64±7c	66±5c	71±5cd	37,1±2,6f	37,6±3,2ef	49,9±4,1cd
RSC119	99±4a	83±7a	77±5bc	52,9±1,5ab	54±4,5ab	55,5±3,7bc
RSC309	96±8a	81±9a	85±11b	50,9±6,2bc	50,9±7,3bc	60,2±6,9b
RSC324	86±8b	64±3c	68±3cd	47,4±4,4cd	40,7±3,2de	43,3±4,2de
RSC502	68±3c	63±7c	74±5bc	32,6±1,9gh	35,3±4,9fg	45,5±4,2de
RSC504	69±4c	62±2c	70±5cd	35±1,3fg	41,9±1,4de	43,4±2,9de
RSC508	102±9a	87±6a	133±16a	56,1±4,1a	56,9±4,5a	118,4±9,5a
IRAT FA3	85±4b	67±2bc	68±8cd	48,8±0,8cd	43,8±1,3d	47,5±5,8cde
TN	80±3b	74±4b	125±24a	45,8±1,9e	48,8±3,3c	111,3±13,9a
T0	44±4d	50±3d	59±6d	30,9±1,81i	32,2±1,1g	39,6±4,4e
Moyenne	79±18	70±12	86±32	43,7±9,1	44,2±8,6	61,5±28,3
CV (%)	23	17,3	37	20,9	19,6	46
LSD (5 %)	10,2	7,2	13,8	4,2	5,1	10,1

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fischer. T0 :

Témoin non traité ; TN : Engrais chimique de formulation 12 22 22.

#### **1.2.4. Effet des rhizobia locaux sur le poids de 100 graines et le rendement en graines des cultivars de soja**

##### **1.2.4.1. Cultivar Canarana**

L'analyse de la variance a montré que l'inoculation a influencé significativement ( $P = 0,03$ ) le poids de 100 graines et le rendement en graines à l'hectare sur l'ensemble des sites. Toutefois, l'impact de ces bactéries a varié en du lieu de l'expérimentation.

Le poids de 100 graines a varié de 10,1 g à 15,5 g. Les poids les plus élevés ont été obtenus à Divo (Tableau XXXI). Sur ce site, le poids moyen de 100 graines a été 14,2 g. Les bactéries RSC309 et RSC119 ont favorisé les poids de 100 graines les plus élevés. Ces bactéries ont induit respectivement 15,2 g et 15,5 g sur ce site. Elles ont significativement augmenté ce paramètre que la souche de référence (13,7 g) et l'engrais chimique de formulation 12 22 22 (14,3 g). A Daloa, tous les rhizobia indigènes ont augmenté le poids des 100 graines par rapport à IRAT FA3. Cependant, ils ont induit des effets similaires avec l'engrais chimique excepté RSC115. En revanche à Hiré, l'ensemble des traitements a enregistré une augmentation du poids des 100 graines par rapport au témoin absolu (10,07 g). Parmi les rhizobia indigènes testés, RSC115 a induit le poids des 100 graines le plus élevé (12,73 g). Toutefois, le poids des graines induit par la souche IRAT FA3 (12,98 g) a été supérieur à celui induit par cet isolat. Les poids des 100 graines obtenus avec ces deux bactéries ont été supérieurs à celui obtenu avec l'engrais chimique testé (12,29 g).

Le rendement en graines a aussi été amélioré par les rhizobia testés comparé au témoin non fertilisé sur l'ensemble des sites. Ce rendement a varié de 0,3 t/ha à 2,7 t/ha sur tous les sites (Tableau XXXI). A Daloa, les isolats RSC119, RSC324 et RSC502 a induit le rendement le plus élevé parmi les rhizobia locaux testés avec 2,7 t/ha. Ce rendement a été similaire à celui obtenu avec la souche IRAT FA3 et à celui de l'engrais chimique 12 22 22. Sur la parcelle non traité, le rendement a été de 0,7 t/ha. Au niveau du site de Divo, le rendement enregistré sur la parcelle témoin a été de 0,5 t/ha. Le rendement a plus été amélioré avec les rhizobia RSC324 et RSC502 avec 2,5 t/ha. Les rendements induits par ces bactéries étaient supérieurs à ceux obtenus avec l'engrais de synthèse (2,4 t/ha) et la souche IRAT FA3 (2,3 t/ha) sur ce site. De plus, le rendement obtenu avec l'application de l'engrais chimique a été statistiquement similaire à ceux obtenus avec les isolats RSC504 et RSC508. Ce rendement a variée de 0,3 t/ha à 2,7 t/ha sur le site de Hiré. Dans cette localité, le rendement du cultivar

### ***Troisième partie : Résultats et discussion***

---

Canarana a plus été boosté par RSC309 et RSC508. Ces bactéries ont favorisé des rendements en graines de 2,7 tonnes à l'hectare. Ces rendements ont été supérieurs à ceux induits par la souche IRAT FA3 et TN respectivement avec 2,4 t/ha et 2,6 t/ha. Par ailleurs, le rendement obtenu avec l'engrais chimique a été identique à celui obtenu avec RSC119 (2,6 t/ha).

Tableau XXXI : Effet des rhizobia indigènes sur le poids de 100 g et le rendement en graines du cultivar Canarana à Daloa, Divo et Hiré

Sources d'azote	Poids de 100 graines (g)			Rendement (t/Ha)		
	Daloa	Divo	Hiré	Daloa	Divo	Hiré
RSC115	12,2±0,1bc	13,6±0,2h	12,7±0,4b	2,1c	1,9e	1,7f
RSC119	12,2±0,2abc	15,2±0,3b	12,5±0,1c	2,7±0,1a	2,2d	2,6b
RSC309	12,3±0,1ab	15,5±0,1a	10,9±0,2g	2,5±0,1b	2,3c	2,7a
RSC324	12,4±0,2ab	13,8±0,1fg	10,8±0,2g	2,7a	2,5a	1,9e
RSC502	12,5±0,1a	14±0,2de	12±0,1d	2,7a	2,5a	2d
RSC504	12,4±0,3ab	14±0,1ef	11,4±0,2f	2,1c	2,4b	1,7f
RSC508	12,5±0,1a	14,2±0,1cd	11,7±0,1e	2,1c	2,4b	2,7a
IRAT FA3	12±0,4c	13,7±0,1gh	13±0,1a	2,7a	2,3c	2,4c
TN	12,5±0,2a	14,3±0,1c	12,3±0,1c	2,7a	2,4b	2,6b
T0	11,7±0,4d	13,7±0,0gh	10,1±0,1h	0,6d	0,5±0,1f	0,3g
Moyenne	12,3±0,3	14,2±0,6	11,7±0,9	2,3±0,4	2,1	2,1±0,5
CV (%)	2,8	4,6	7,7	26,7	24,7	41,3
LSD (5 %)	0,3	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher ; T0 :

Témoin non traité ; TN : Engrais chimique de formulation 12 22 22.

#### **1.2.4.2. Cultivar Doko**

L'ensemble des traitements a influencé significativement ( $P = 0,04$ ) le poids de 100 graines et le rendement en graines à l'hectare par rapport au témoin absolu. Toutefois, l'impact des bactéries testées a varié en fonction des sites (Tableau XXXII).

Le poids de 100 graines a varié de 15,2 g à 19,2 g sur l'ensemble des sites. Le poids le plus élevé (19,2 g) a été obtenu avec RSC119 à Divo. Sur ce site, les rhizobia indigènes ont augmenté le poids de 100 graines comparés au témoin non traité (16,3g) sauf RSC115 (15,2 g) et RSC504 (15,5 g). Parmi ces bactéries, RSC508 (18,6 g) et RSC324 (18 g) ont augmenté significativement ce paramètre que l'engrais de synthèse (17,4 g) et la souche IRAT FA3 (16,3 g). Sur le site de Daloa, tous les rhizobia locaux (hormis RSC115 et RSC502) ont amélioré le poids de 100 graines par rapport au témoin non traité. Parmi ces bactéries testées, RSC504 (16,6 g) et RSC508 (16,6 g) ont induit des poids de graines supérieurs à celui favorisé par l'engrais 12 22 22 (16,1 g). En revanche, elles ont induit des poids de 100 g statistiquement similaires à celui obtenu avec la souche IRAT FA3 (16,7g) sur ce site. Par contre à Hiré, l'ensemble des isolats testés ont augmenté significativement le poids de 100 graines par rapport au témoin non traité. Parmi les rhizobia indigènes, RSC324 a favorisé le poids de 100 graines le plus élevé (18 g). Cette bactérie locale a augmenté ce paramètre que la souche exotique (17,5 g). Toutefois, son impact a été inférieur à l'engrais chimique NPK de formulation 12 22 22 appliqué dans cette localité.

Le rendement des graines de ce cultivar a varié de 0,3 tonne à 2,7 tonnes par hectare. A Daloa, les rendements les plus élevés ont été obtenus avec RSC508, RSC115, RSC119 et RSC309. Ces bactéries ont induit des rendements supérieurs à ceux de l'engrais de synthèse et de la souche de référence. Sur ce site, le rendement le plus élevé a été 2,6 t/ha. Il a été obtenu avec RSC508. Les rendements obtenus sur les parcelles testées avec l'engrais chimique de formulation 12 22 22 et la souche IRAT FA3 ont été respectivement 2,2 t/ha et 2,1 t/ha. Sur les sites de Divo et de Hiré, les rhizobia locaux RSC119, RSC309 et RSC508 ont induit les rendements en graines par hectare les plus élevés. Le rendement le plus élevé obtenu à Divo a été 2,3 t/ha. Ce rendement a été favorisé sur ce site par les isolats RSC119 et RSC309. Ce rendement a été de 0,3 t/ha pour le témoin absolu et de 1 t/ha pour l'engrais de synthèse sur le même site. A Hiré, le rendement en graines le plus élevé (2,7 t/ha) a été favorisé par RSC119. Ce rendement a été statistiquement similaire à celui obtenu avec RSC508 (2,6 t/ha). Les rendements induits par ces bactéries ont été significativement supérieurs à ceux du témoin absolu (0,4 t/ha), de la souche IRAT FA3 (2 t/ha) et de l'engrais chimique (1,9 t/ha).

Tableau XXXII : Effet des rhizobia indigènes sur le poids de 100 g et le rendement en graines du cultivar Doko à Daloa, Divo et Hiré

Sources d'azote	Poids de 100 graines (g)			Rendement (t/Ha)		
	Daloa	Divo	Hiré	Daloa	Divo	Hiré
RSC115	15,6±0,1cd	15,2±0,1g	17,2±0,1d	2,5b	1,6e	1,9cd
RSC119	16,3±0,4b	19,2±0,2a	17,4±0,1c	2,4c	2,3a	2,7a
RSC309	16,3±0,1b	17,7±0,3c	17,6±0,1c	2,3d	2,3a	2,4b
RSC324	15,5±0,1d	17,2±0,1d	18±0,1b	1,6h	1,5f	1,6e
RSC502	15,7±0,0cd	18,7±0,3b	17,6±0,1c	1,4i	1,7d	1,7e
RSC504	16,6±0,1a	15,5±0,1f	17,6±0,1c	1,7g	1,9c	2c
RSC508	16,6±0,2a	18,6±0,1b	16,9±0,3e	2,6a	2,1b	2,6a
IRAT FA3	16,7±0,1a	16,3±0,1e	17,5±0,1c	2,1f	1,9c	2c
TN	16,1±0,4b	17,4±0,2cd	18,3±0,2a	2,2e	2c	1,9cd
T0	15,8±0,1c	16,3±0,3e	16,5±0,2f	0,3j	0,3g	0,4f
Moyenne	16,1±0,5	17,2±1,3	17,5±0,5	1,9±0,5	1,8±0,3	1,9±0,4
CV (%)	3,1	75,6	2,9	43,9	38	41,6
LSD (5 %)	0,3	0,5	0,2	0,1	0,1	0,2

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher ; T0 :

Témoin non traité ; TN : Engrais chimique de formulation 12 22 22.

### **1.2.4.3. Cultivar Piramama**

L'ensemble des traitements a amélioré significativement le poids de 100 graines (sauf RSC115 à Daloa et à Divo) et le rendement en graines à l'hectare par rapport au témoin absolu sur l'ensemble des sites.

Le poids de 100 graines a varié de 14,5 g à 19,6 g. Les poids les plus élevés ont été induits par les rhizobia locaux RSC324 et RSC508 sur l'ensemble des sites (Tableau XXXIII). A Daloa, la bactérie RSC324 a induit un poids de 16,8 g. Ce rendement n'a pas été statistiquement différent de celui de l'engrais de synthèse (17 g) sur ce site. A Divo, le poids de 100 graines le plus élevé a été 19,6 g. Il a été induit par RSC508. Cette bactérie a favorisé un poids statistiquement similaire à celui de RSC324 (19,4 g). En plus de ces bactéries, RSC119, RSC309, RSC502 et RSC504 ont induit des poids de 100 graines supérieurs à ceux obtenus avec la souche IRAT FA3 (16,4 g) et l'engrais chimique (17,1 g) sur ce site. A Hiré, le poids le plus élevé (18,7 g) a été favorisé par RSC508. Le poids de 100 graines induit par cette dernière n'a pas été différent de ceux des bactéries RSC324 (18,6 g) et RSC504 (18,6 g). Ces bactéries ont amélioré ce paramètre par rapport à IRAT FA3 (18,3 g) et l'engrais 12 22 22 (18,2 g) sur ce site.

Concernant le rendement en graines par hectare, il a varié de 0,4 t/ha à 4,3 t/ha sur l'ensemble des sites (Tableau XXXIII). A Daloa, le rendement en graines a plus été amélioré par les isolats RSC119, RSC309, RSC508 et la souche IRAT FA3. Ces bactéries ont induit des rendements supérieurs à l'engrais de synthèse. Parmi celles-ci, RSC508 a donné le rendement le plus élevé soit 4,3 t/ha contre 3,5 t/ha pour le témoin fertilisé et 0,7 t/ha pour le témoin absolu. A Divo, le rendement le plus élevé (3,2 t/ha) a été obtenu avec RSC119. Cette bactérie a induit un rendement en graines par hectare similaire à celui obtenu avec RSC508. Sur ce site, ces bactéries (RSC119 et RSC508) ont augmenté ce paramètre plus que le témoin fertilisé (3,1 t/ha) et la souche IRAT FA3 (3 t/ha). A Hiré, le rendement en graines le plus élevé (4 t/ha) a été obtenu avec RSC508. Toutefois, ce rendement ne diffère pas statistiquement de celui obtenu avec l'engrais de synthèse qui était de 3,9 t/ha. De plus sur ce site, les isolats RSC119, RSC309 et RSC324 ont produit des rendements supérieurs à celui obtenu avec la souche IRAT FA3.

Tableau XXXIII : Effet des rhizobia locaux sur le poids de 100 g et le rendement en graines du cultivar Piramama à Daloa, Divo et Hiré

Sources d'azote	Poids de 100 graines (g)			Rendement (t/Ha)		
	Daloa	Divo	Hiré	Daloa	Divo	Hiré
RSC115	14,5±0,1d	17,7±0,0d	18±0,2e	3,2e	2,8de	2,9c
RSC119	15,4±0,1c	18,7±0,1b	18,4±0,1b	3,7c	3,2a	3,1b
RSC309	14,5±0,2d	18,3±0,1c	18,4±0,1bc	3,9b	2,9cd	3,2b
RSC324	16,8±0,5ab	19,4±0,2a	18,6±0,1a	3,5d	2,8de	2,9c
RSC502	15,5±0,2c	18,9±0,5b	18,2±0,1d	2,6f	2,8de	2,8c
RSC504	14,7±0,2d	18±0,1c	18,6±0,1a	3,2e	2,7e	2,8c
RSC508	16±0,2b	19,6±0,4a	18,7±0,1a	4,3a	3,2a	4a
IRAT FA3	16 ±0,1b	16,4±0,1f	18,3±0,1cd	3,6cd	3bc	2,8c
TN	17±0,3a	17,1±0,1e	18,2±0,1de	3,5d	3,1ab	3,9a
T0	15,3±0,2c	17,7±0,2d	16,8±0,1f	0,7g	0,5f	0,4d
Moyenne	15,6±0,9	18,2±1	18,2±0,5	3±0,5	2,7±0,2	2,9±0,5
CV (%)	5,8	5,5	3	36,3	25,3	44,7
LSD (%)	0,9	0,5	0,2	0,2	0,2	0,2

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher ; T0 : Témoin non traité ; TN : Engrais chimique de formulation 12 22 22.

### **1.3. Evaluation de l'arrière effet des rhizobia locaux inoculés au soja sur la qualité des sols**

#### **1.3.1. Caractéristiques physiques et chimiques des sols des sites d'expérimentation**

Les résultats des analyses physiques, physico-chimiques et chimiques effectuées sur les échantillons de sol prélevés sur les sites d'expérimentation à Daloa, Divo et Hiré avant la mise en place des cultures ont été consignés dans le tableau XXXIV. L'analyse a révélé l'existence d'une différence significative entre les paramètres analysés en fonction des sites.

En ce qui concerne la composition granulométrique, le sol de Divo a présenté des taux d'argile (14,5 %), de limon fin (13,5 %) et de limon grossier (13,4 %) significativement élevés par rapport aux sols de Hiré et de Daloa. En revanche, le sol du site de Daloa a présenté les plus faibles teneurs en limon fin (4,5 %) et en limon grossier (9,46 %). Par ailleurs, ce sol était très pourvu en sables, notamment les sables grossiers (56,55 %) par rapport aux autres sites qui contenaient des teneurs statistiquement similaires en cet élément. Quant au sol de Hiré, il était plus pourvu en sable fin (39,64 %). Le site expérimental de Daloa a donc une texture sableuse majoritairement constitué d'éléments grossiers, tandis que ceux de Divo et de Hiré ont une texture sablo-limoneuse, avec une part importante en argile pour le site de Divo.

Les résultats des analyses physico-chimiques ont révélé que les sols de Daloa (pH=6,4) et de Hiré (pH=6,5) sont faiblement acides, tandis que celui de Divo (pH=6) est acide. Toutefois, ce dernier regorge les plus importantes teneurs en matière organique (4,23 %) ou carbone organique (2,46 %) et en azote totale (0,19 %) que les sites de Daloa et de Hiré. Le rapport carbone/azote est sensiblement similaire sur l'ensemble des sites. Aussi, l'ensemble des sites présente de fortes teneurs en phosphore totale et en phosphore assimilable ( $P_{\text{ass}} > 15$  ppm). Cependant, ces teneurs en phosphore ont été significativement plus élevées respectivement à Divo (70 ppm) et à Daloa (65 ppm) par rapport au sol du site expérimental de Hiré (49 ppm).

Pour ce qui est du complexe absorbant, l'ensemble des sites de l'expérimentation a présenté des capacités d'échanges cationiques (CEC) relativement faibles. Elles ont varié de 2,72 Cmol.Kg<sup>-1</sup> à 10,80 Cmol.Kg<sup>-1</sup>. Le sol du site de Divo s'est distingué par une CEC élevée (10,80 Cmol.Kg<sup>-1</sup>) que celui de Hiré (6,40 Cmol.Kg<sup>-1</sup>) et de Daloa (2,72 Cmol.Kg<sup>-1</sup>). Ce dernier a d'ailleurs été caractérisé par une faible capacité d'échange cationique (2,72 Cmol.Kg<sup>-1</sup>). Les résultats montrent également que les sols de tous les sites expérimentaux

sont pourvus en magnésium, potassium et sodium. Cependant, leurs teneurs en calcium demeurent inférieures à 4 Cmol.Kg<sup>-1</sup>.

Tableau XXXIV : Caractéristiques physiques, physico-chimiques et chimiques des sols des sites d'expérimentation en conditions paysannes à Daloa, Divo et Hiré

<b>Types d'analyses</b>	<b>Daloa</b>	<b>Divo</b>	<b>Hiré</b>
<b>Granulométrie</b>			
Argile (%)	3,5	14,5	0,5
Limon fin (%)	4,5	13,5	12
Limon grossier (%)	9,46	13,4	11,25
Sable fin (%)	25,25	24,15	39,64
Sable grossier (%)	56,55	33,49	33,55
<b>Analyses physico-chimiques</b>			
pH <sub>eau</sub>	6,4	6	6,5
Corg (%)	0,74	2,46	1,56
Nt (%)	0,06	0,19	0,12
C/Nt	12	13	13
M.O (%)	1,27	4,23	2,68
Pt (ppm)	258	280	196
Pass (ppm)	65	70	49
<b>Complexe adsorbant</b>			
CEC	2,72	10,80	6,40
Ca	0,998	2,309	1,683
Mg	0,76	1,049	0,961
K	0,234	0,243	0,643
Na	0,053	0,077	0,088

Nt : azote total ; Corg : carbone organique ; C/Nt : Rapport carbone-azote totale ; Pt : phosphore total ; Pass : phosphore assimilable ; CEC : Capacité d'échange cationique.

### 1.3.2. Arrière effet des rhizobia locaux inoculés au soja sur la qualité des sols

L'analyse de la variance réalisée sur différents paramètres physiques, physico-chimiques et chimiques des sols prélevés un (01) mois après de la récolte du soja a montré que l'inoculation a influencé significativement ( $P = 0,006$ ) les paramètres étudiés. Cependant, l'influence des bactéries testées a varié en fonction du cultivar.

Sur les échantillons de sol prélevés sous le cultivar Canarana, l'ensemble des bactéries testées a amélioré les teneurs en azote total (Nt), en carbone organique (C<sub>org</sub>) et matière organique (M.O) excepté RSC119 (Tableau XXXV). Les bactéries RSC309, RSC324 et RSC502 ont augmenté le plus les teneurs de ces éléments par rapport à l'ensemble des traitements. L'isolat RSC324 a augmenté ces paramètres de plus de 100 % comparativement aux teneurs initiales

### *Troisième partie : Résultats et discussion*

respectives de ces éléments chimiques. L'ensemble des bactéries testées a induit des rapports C/N compris entre 9 et 13. En outre, l'impact des bactéries testées a été variable sur le pH et la disponibilité du phosphore. Les bactéries RSC309, RSC324, RSC502 et RSC508 inoculées à la variété Canarana ont augmenté le pH<sub>eau</sub> des sols de façon très significative. En effet, le pH de ces sols est passé de faiblement acide (pH = 6,4) à neutre (pH = 6,9 à pH = 7,3). En revanche, les teneurs en phosphore assimilable et en phosphore total n'ont pas été améliorées par les bactéries testées. Toutefois, les sols inoculés avec RSC502, RSC508 et IRAT FA3 ont induit des teneurs en phosphore similaires à l'état initial sol. L'engrais chimique appliqué à ce cultivar a maintenu la teneur en phosphore du sol.

Tableau XXXV : Arrière effet des rhizobia indigènes inoculés au cultivar Canarana sur la qualité du sol

Sources d'azote	pHeau	C (%)	Nt (%)	C/Nt	M.O (%)	P.ass (ppm)	P.tot (ppm)
Jac. init	6,4bc	0,74de	0,06c	12±1	1,27c	66a	258a
RSC115	6,2c	0,82de	0,07bc	12±1	1,41bc	47def	186d
RSC119	6,2c	0,68e	0,06c	12±1	1,17c	55cdef	219c
RSC309	7,2a	1,21b	0,10b	12±1	2,08b	57bcde	223b
RSC324	7,2a	1,64a	0,13a	13±1	2,82a	52def	207cd
RSC502	7,3a	1,21b	0,10b	12±1	2,08b	63abc	253a
RSC504	7,2a	0,82de	0,07bc	12±2	1,41bc	56bcde	224b
RSC508	6,9b	0,94cd	0,08bc	12±1	1,61bc	62abcd	246ab
IRAT FA3	6,3c	0,90cde	0,08bc	11±1	1,54bc	63abc	251a
TN	6,3c	0,98bcd	0,08bc	12±2	1,68bc	64ab	258a
T0	6,3c	1,15bc	0,09bc	13±1	1,98b	54def	215c
Moyenne	6,7	1	0,08	12	1,7	58	231
CV (%)	7,5	30	25	8	29,4	10,3	10
LSD (5 %)	0,3	0,25	0,03	NS	0,7	8	24

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher ; T0 : Témoin non traité ; TN : Engrais chimique de formulation 12 22 22 ; Jac. init : Jachère initiale.

Les échantillons de sols prélevés sur les parcelles ayant reçu le cultivar Doko ont montré que l'impact des bactéries testées sur le sol est variable. Au niveau de ce cultivar, seul RSC119 a

augmenté significativement le pH de 0,2 unité par rapport au pH initial du sol (Tableau XXXVI). Hormis cette bactérie, tous les traitements ont diminué le pH du sol. Ce paramètre a été réduit de façon sensible par RSC504 et IRAT FA3. Il est passé de 6,4 à 5,5 et 5,3 respectivement avec ces bactéries, créant ainsi des environnements très acides. Les teneurs en  $C_{org}$  et en M.O ont été accrues avec les bactéries RSC115, RSC119, RSC324 et RSC502 par rapport à l'état initial du sol. Toutefois, les valeurs enregistrées avec l'ensemble des traitements étaient inférieures à 2 %. Le rapport C/N a varié pour tous les traitements entre 9 et 13. Les teneurs du sol en  $P_{ass}$  et  $P_{tot}$  ont été augmentées par l'isolat RSC119 de 6 et 24 ppm. Outre cette bactérie, RSC508 a maintenu le taux de P du sol. En revanche, ces paramètres ont été plus réduits dans les sols où le cultivar Doko a été inoculé avec la souche IRAT FA3 qui par ailleurs a induit 49 et 194 ppm respectivement pour le Phosphore assimilable et le Phosphore total.

Tableau XXXVI : Arrière effet des rhizobia indigènes inoculés au cultivar Doko sur la qualité du sol

Sources d'azote	pHeau	C (%)	Nt (%)	C/Nt	M.O (%)	P.ass (ppm)	P.tot (ppm)
Jac init	6,4bc	0,74bcd	0,06	12b	1,27cde	66ab	258bc
RSC115	6,1b	0,90ab	0,08	12b	1,64a	55cd	220de
RSC119	6,6a	0,96a	0,10	9e	1,54ab	71a	282a
RSC309	6bc	0,74bcd	0,06	12b	1,27cde	50de	202efg
RSC324	5,7cd	0,92ab	0,08	12b	1,58ab	61bc	244c
RSC502	5,7cd	0,84abc	0,08	10d	1,44abc	64b	256bc
RSC504	5,5de	0,70cd	0,06	13a	1,21cde	56cd	224d
RSC508	5,9b	0,68cd	0,07	10d	1,17de	66ab	266ab
IRAT FA3	5,3e	0,64cd	0,07	9e	1,11e	49e	194g
TN	5,7cd	0,80abc	0,07	11c	1,38bcd	54de	216def
T0	5,8bcd	0,74bcd	0,07	11c	1,27cde	51de	203efg
Moyenne	5,8	0,8	0,07	11	1,4	58	233
CV (%)	6,9	12,5	14,3	16,4	14,3	12,6	12,3
LSD	0,3	0,2	NS	1	0,2	6	18

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher ; T0 : Témoin non traité ; TN : Engrais chimique de formulation 12 22 22 ; Jac init : Jachère initiale.

Les différents traitements appliqués à la variété Piramama ont influencé significativement l'ensemble des paramètres étudiés. Concernant le pH, deux groupes homogènes ce sont

distingués. Le premier groupe comprend les bactéries RSC508, IRAT FA3 et l'engrais 12 22 22 qui ont eu tendance à maintenir le pH du sol initial. Au contraire, le deuxième groupe constitué de RSC115, RSC119, RSC309, RSC324, RSC502 et RSC504 ont eu tendance à diminuer le pH du sol de 0,3 à 0,5 unité (Tableau XXXVII). Les teneurs en Nt, en C<sub>org</sub> et en M.O ont été significativement augmentées par la bactérie RSC119 comparées aux autres traitements et à l'état initial du sol. La M.O induite par cette bactérie est estimée à 3,12 %, soit 2,5 fois celle du sol initial. Par ailleurs, elle a induit les teneurs les plus élevées en P assimilable et total par rapport à l'ensemble des traitements avec 64 ppm et 254 ppm respectivement. Toutefois, les teneurs en P induites par RSC119 ne sont pas significativement différentes de celles obtenues avec RSC508 et RSC502 tout comme le sol initial. Le rapport C/N était compris de façon générale entre 11 et 12 entre les traitements. Cependant, RSC324, RSC502 et T0 ont induit des ratios C/N compris entre 13 et 14 traduisant une minéralisation relativement lente mais acceptable.

Tableau XXXVII : Arrière effet des rhizobia indigènes inoculés au cultivar Piramama sur la qualité du sol

Sources d'azote	pHeau	C (%)	Nt (%)	C/Nt	M.O (%)	P.ass (ppm)	P.tot (ppm)
Jac init	6,4a	0,7ef	0,06b	12c	1,27cd	66a	258a
RSC115	5,9b	0,62f	0,06b	11d	1,07d	56bcd	225bc
RSC119	6b	1,81a	0,15a	12c	3,12a	64a	254a
RSC309	6,1b	0,92cde	0,08b	11d	1,58bc	55bcd	220c
RSC324	6,1b	0,76def	0,06b	14a	1,31cd	54cd	217c
RSC502	6b	0,74ef	0,06b	13b	1,27cd	60abc	240ab
RSC504	6,1b	0,96bcd	0,08b	12c	1,64bc	50de	198de
RSC508	6,6a	1,15b	0,10b	12c	1,98b	61ab	244a
IRAT FA3	6,4a	0,98bc	0,08b	12c	1,68bc	56bcd	223bc
TN	6,4a	0,76def	0,07b	11d	1,31cd	46e	182e
T0	6,1b	0,88cde	0,07b	13b	1,51cd	52de	210c
Moyenne	6,2	0,9	0,08	12	1,6	56	224
CV (%)	8,1	33,3	20	16,7	31,2	10,7	11,2
LSD	0,3	0,2	0,05	1,0	0,4	6	18

Dans chaque colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de LSD de Fisher ; T0 : Témoin non traité ; TN : Engrais chimique NPK 12 22 22 ; Jac init : Jachère initiale.

En somme, le  $\text{pH}_{\text{eau}}$  du sol a été corrigé par RSC309, RSC324, RSC502, RSC504 et RSC508 inoculées à la variété Canarana, puis par RSC119 et RSC508 inoculées respectivement à Doko et à Piramama. En revanche, ce paramètre a le plus été affecté par IRAT FA3 inoculé au cultivar Doko. Les teneurs des sols en Nt,  $\text{C}_{\text{org}}$  et M.O ont été améliorées par l'ensemble des traitements par rapport à l'état initial. Les taux les plus élevés ont été obtenus avec RSC119, RSC309, RSC324 et RSC502. Toutefois, les taux restent faibles comparés aux différents seuils. Les taux du Phosphore assimilable et Phosphore total ont en général diminué par rapport au sol initial excepté RSC119 et RSC508. En effet, RSC119 a permis un gain de 9,23 % en P au niveau du sol sous culture de Doko. Quant à RSC508, elle a restitué au sol les teneurs de P, un mois après la récolte des cultivars Canarana, Doko et Piramama.

## **2. Discussion**

La présente étude visait en général de disposer de souches indigènes de rhizobia efficaces, compétitives et adaptées aux conditions environnementales locales pour accroître la productivité du soja et améliorer les propriétés physiques, chimiques et biologiques des sols. A la fin des expérimentations plusieurs résultats ont été obtenus, notamment :

- la constitution d'une collection de rhizobia locaux nodulant le soja,
- la détermination tant en laboratoire qu'en conditions paysannes de l'efficacité symbiotique et agronomique de ces isolats bactériens,
- et la détermination de l'arrière effet des rhizobia locaux inoculés aux différents cultivars de soja sur la qualité des sols.

### **2.1. Isolats locaux de soja (*Glycine max*) collectés**

La méthode de piégeage conduite sur les sols échantillonnés a permis l'obtention de nodules fonctionnels formés sur les racines des différents cultivars de soja testés. Ces nodules ont été observés uniquement sur les sols de Gonaté SODEFOR et Gonaté Nord qui avaient des précédents de soja (*Glycine max*). En revanche, aucun nodule n'a pu se former sur les sols ayant des précédents d'autres légumineuses telles que le soja vert (*Vigna radiata*), le niébé (*Vigna unguiculata*) et le haricot commun (*Phaseolus vulgaris*). Ces légumineuses font partie de la tribu des Phaseoleae tout comme le soja. Ces observations indiquent que le soja ne peut former de nodules fixateurs d'azote qu'en symbiose avec une gamme très étroite de symbiotes à l'image des constats faits par Karaboneye (2013) et Kumar & Reddy (2018). Selon ces auteurs, très peu de souches de rhizobia indigènes sont compatibles aux lignées de soja dans les sols tropicaux. Une conclusion similaire avait été préalablement tirée par Doku (1969) au Ghana, qui avait observé que les rhizobia isolés du niébé étaient incapables de noduler le soja. Cependant, des observations contradictoires ont été rapportées par Ampomah *et al.* (2008). En effet, ces auteurs ont montré que deux isolats sur un ensemble de rhizobia élités isolés du niébé ont été capables de noduler une variété de soja à promiscuité au Nigéria. Ils ont de ce fait, qualifié le niébé de réservoir universel des rhizobia nodulant plusieurs légumineuses.

Aussi, les cultivars de soja testés dans cette étude diffèrent-ils quant à leur capacité à entrer en symbiose avec les rhizobia. En effet, les cultivars Piramama, IT-235 et Tracaja ont induit des

taux élevés de nodules par rapport aux cultivars Canarana et Doko cultivés sur les mêmes sols. Cette différence à la nodulation serait due au fait que les cultivars de soja mis en culture préalablement sur les sols de Gonaté SODEFOR et Gonaté Nord ont des génotypes très proches des cultivars Piramama, IT-235 et Tracaja. Ainsi, la présence de nodules sur les racines d'une plantule est le signe d'une étroite compatibilité entre une variété de soja et la souche bactérienne locale dont les facteurs de nodulation ont été activés par la culture précédente de soja. Cette idée a été soutenue par N'Gbesso (2011) qui avait observé des résultats identiques sur d'autres lignées de soja dans les départements de Bouaké et de Touba. D'autres chercheurs ont attribué la réponse de certaines lignées de soja à la nodulation à leur bonne aptitude à noduler spontanément avec les fixateurs symbiotiques (N'Gbesso *et al.*, 2017).

L'isolement des bactéries symbiotiques à partir des nodules de différents cultivars de soja mis en culture sur des échantillons de sols prélevés dans différentes localités du département de Daloa a permis l'obtention de quatre-vingt neuf (89) isolats bactériens. Ces isolats étaient morphologiquement très homogènes quel que soit la variété et l'origine des sols dont ils étaient issus. Les colonies de ces isolats ont été visibles à l'œil nu entre 2 et 7 jours d'incubation sur milieu YEM gélosé. Ce milieu étant dépourvu d'azote, montre que ces isolats sont autotrophes vis-à-vis de l'azote. Ayant fait l'objet de caractérisations morphologique, physiologique et biochimique, les bactéries isolées des nodules de soja ont présenté sur le milieu YEM, des colonies de forme circulaire, opaque ou transparente et bombée. Elles avaient dans l'ensemble, une coloration blanchâtre, beige ou rosâtre excepté les isolats RSC119 et RSC502. Ces derniers ont présenté une coloration jaunâtre. L'analyse microscopique a révélé que tous les isolats sont des bacilles à Gram négatif. Ces caractéristiques ont été observées par plusieurs auteurs sur les bactéries isolées du soja à travers le monde (Sharma *et al.*, 2010 ; Jadhav, 2013 ; Kapembwa *et al.*, 2016) et ont été décrites par Jordan (1982) comme étant des traits distinctifs des rhizobia. La coloration jaunâtre observée chez les isolats RSC119 et RSC502 avait été déjà identifiée comme l'une des caractéristiques de rhizobia isolés du soja en Zambie par Kapembwa *et al.* (2016). Sur la base de leur vitesse de croissance sur le milieu YEM gélosé qui était située entre 2 et 7 jours après incubation à 28 °C, les isolats étudiés ont été scindés en deux groupes : ceux qui se sont développés entre 2 et 3 jours et entre 4 et 7 jours. Les premiers sont qualifiés de rhizobia à croissance intermédiaire et les seconds de rhizobia à croissance lente. Hossain *et al.* (2012) avaient procédé également à une classification similaire des rhizobia. Tous ces tests

morphologiques, physiologiques et biochimiques sont des tests de base pour la détermination des rhizobia. Toutefois, un isolat ne peut être considéré comme tel que s'il est capable de noduler la légumineuse dont il a été isolé dans des conditions bactériologiques contrôlées.

La capacité des isolats à former des nodules avec la plante hôte de soja a été réalisée sur un substrat stérile. Les résultats issus du test de nodulation ont montré que 66,29 % de la collection des isolats locaux étaient capables de réinfecter les cultivars hôtes de soja. Ce test a permis ainsi d'authentifier 59 isolats parmi les 89 isolés comme des rhizobia locaux nodulant le soja (RLNS) et confirmer leur appartenance au groupe des rhizobia. Plusieurs auteurs dont Slattery & Pearce (2002) et Bontemps *et al.* (2016) ont utilisé ce test comme référence dans la caractérisation des souches bactériennes isolées de différentes légumineuses. En revanche, aucun nodule n'a pu être observé sur les plantes non-inoculées sur le substrat stérile. Ces résultats sont liés aux conditions d'asepsie mises en place lors de la réalisation du test (Bola *et al.*, 2013). De plus, les résultats du test réalisé ont révélé que 33,71 % des isolats n'ont pas induit de nodules avec les plantes hôtes respectives. Plusieurs raisons peuvent expliquer cette situation. En effet, selon certains auteurs qui ont réalisé des travaux similaires, ces isolats pourraient être des bactéries du genre *Agrobacterium* qui sont les plus fréquemment isolées des nodules des légumineuses. Ces bactéries sont capables d'acquérir temporairement les gènes requis pour la nodulation afin de profiter de la source de carbone que les légumineuses mettent à la disposition des rhizobia (Lajudie *et al.*, 1999 ; Sachs *et al.*, 2010). Par ailleurs, selon Zézé *et al.* (2001), ces isolats pourraient être des rhizobia qui ont perdu leur pouvoir infectieux à cause de la perte des gènes symbiotiques situés sur les plasmides lors de l'isolement ou pendant la préparation de l'inoculum. Aussi est-il important de signaler que les isolats authentiques du soja diffèrent en fonction de leur capacité à induire la nodulation chez le cultivar hôte de soja. Les isolats RSC114, RSC115, RSC119, RSC207, RSC309, RSC310, RSC312, RSC323, RSC324, RSC325, RSC412, RSC413, RSC502, RSC504, RSC506 et RSC508 ont été les plus infectifs avec les cultivars hôtes respectifs sur l'ensemble des rhizobia locaux de soja. Cette variation de l'infectivité des isolats est souvent due à la densité des bactéries contenues dans les inocula ou à des facteurs environnementaux qui entravent le bon fonctionnement de la symbiose (Slattery & Pearce, 2002 ; Habtegebrail & Singh, 2006).

L'étude de l'infectivité symbiotique réalisée au préalable avait permis de confirmer que les isolats locaux testés sont des rhizobia et de présélectionner 16 isolats locaux les plus performants de la collection avec les cultivars hôtes. Ceci révèle l'importance du test d'authentification dans la sélection des isolats en ce qui concerne l'induction des nodules et la fixation d'azote atmosphérique. Cependant, la mise en œuvre d'une politique d'introduction de la sojaculture dans les zones de production cacaoyère requiert au préalable la disponibilité d'un inoculum capable de noduler plusieurs cultivars de soja et de fixer efficacement l'azote atmosphérique. Ainsi, le test du spectre d'hôtes a montré que les 16 isolats locaux ont la capacité d'infecter d'autres cultivars de soja. Il est aussi ressorti que les isolats locaux testés ont un large spectre à l'image de ce que Lemaire *et al.* (2015) ont observé sur 65 rhizobia isolés de légumineuses échantillonnées en Afrique du Sud. En effet, ils ont montré que les rhizobia isolés de *Sesbania punicea* ont induit la formation de nodules avec *S. rostrata* et *S. virgata*. Dans le cas présent, les cultivars Piramama et IT-235 ont induit plus de nodosités par rapport à Doko et tracaja. Le cultivar Canarana a été le moins réceptif. Cette variation de la nodulation peut être due à la spécificité des facteurs génétiques entre la plante et le symbionte (Pazdernik *et al.*, 1997). Cette spécificité est liée à l'interaction entre le gène Sym2 de la plante et le gène nodX de l'espèce rhizobiale (Gunnabo *et al.*, 2019).

La présente étude a aussi montré que l'inoculation a induit l'augmentation du poids sec des nodules et de la biomasse des plantules. Des observations similaires ont été faites par Alam *et al.* (2015) au Bangladesh sur des génotypes de soja avec l'isolat rhizobial BARIRGm901. Ainsi, bien que les isolats locaux ont pu noduler d'autres cultivars de soja, il n'y a toujours pas eu de corrélation entre le nombre de nodules produits et les paramètres de croissance. A titre d'exemple, la nodulation du cultivar Piramama n'est pas apparue corrélée avec la biomasse sèche produite. Cela pourrait s'expliquer par le fait que les rhizobia ont perdu leur capacité à fixer l'azote atmosphérique. En effet, lors de la symbiose rhizobia-légumineuse, une souche bactérienne peut être capable d'induire la formation de nodosités sur une plante alors qu'elle est incapable de réduire l'azote atmosphérique. La vérification du spectre des hôtes des isolats a montré que les isolats RSC115, RSC119, RSC309, RSC324, RSC502, RSC504 et RSC508 présentent un spectre large et sont plus infectants et plus efficaces que la souche étrangère IRAT-FA3.

Outre l'azote, le phosphore et le potassium sont des oligoéléments du sol qui limitent la croissance et la productivité des plantes. Or dans la plupart des sols tropicaux, ils sont présents sous formes de complexes qui doivent être solubilisés avant qu'ils ne soient absorbables par les plantes (Rfaki *et al.*, 2014). Disposer d'une bactérie capable à la fois de fixer l'azote de l'air et de solubiliser le phosphate inorganique et le potassium serait un atout indéniable pour une agriculture saine et durable. C'est dans cette optique que les isolats authentiques du soja qui ont été plus performants avec leurs plantes hôtes respectives ont été testés pour évaluer leur capacité à solubiliser le phosphate inorganique et le potassium.

Ces tests ont montré que onze (11) des seize (16) isolats soumis à l'étude sont capables de solubiliser le phosphate tricalcique. Parmi ceux-ci, les isolats RSC115, RSC119, RSC325 et RSC502 ont produit des indices de solubilisations supérieures à 100 %. L'isolat RSC119 a été le plus performant avec un indice de solubilisation de 344 %. Ces résultats traduisent un potentiel élevé des rhizobia locaux pour la solubilisation du phosphate inorganique (Pi). La capacité des bactéries à solubiliser le Pi est due à la sécrétion d'acides organiques tels que l'acide gluconique et les acides ceto-gluconiques (Maliha *et al.*, 2004 ; Hajjan *et al.*, 2016). De plus, Meek *et al.* (2001) et Asuming-Brempong & Aferi (2014) ont expliqué que les résultats de la solubilisation du Pi varient non seulement en fonction des types de métabolites mais surtout avec la rapidité des souches à libérer les acides organiques et le degré de réception dans le milieu. Cependant, d'autres auteurs ont démontré que certaines bactéries solubilisatrices du phosphore sont incapables de former des halos claires autour des colonies sur milieu solide toutefois, elles solubilisent cet élément en milieu liquide (Ouattara *et al.*, 2019).

Le potassium est le troisième oligoélément majeur dont la plante a besoin pour sa croissance. Il régule l'ouverture et la fermeture des stomates et active la synthétase, enzyme responsable de la synthèse de l'amidon (Pettigrew, 2008). Sa solubilisation dans le sol implique l'action des microorganismes. Les résultats de cette étude ont montré que la majorité des isolats testés sont capables de solubiliser le potassium (K) sur le milieu Aleksandrov. Une proportion de 50 % des isolats a présenté des indices de solubilisation supérieurs à 100 %. Ces résultats corroborent ceux de Fatharami & Rahayu (2018) qui ont rapporté que certaines bactéries isolées des racines du riz ont été capables de solubiliser le K (mica). Selon ces auteurs, la solubilisation du mica est facilitée par la sécrétion d'acides organiques par les bactéries. Toutefois, des travaux antérieurs réalisés par Aleksandrov *et al.* (1967) avaient montré que très peu de bactéries arrivent à

solubiliser le K. Selon ces auteurs, sur 137 rhizobactéries testées, seulement 27 % ont été capables de former de petits halos clairs autour des colonies.

Les isolats capables à la fois d'entrer en symbiose avec diverses variétés de soja puis de solubiliser le phosphore et le potassium complexés présentent un grand intérêt dans l'optique d'une agriculture durable. La mise en œuvre d'une telle agriculture nécessite la connaissance de certains facteurs environnementaux et anthropiques qui pourraient compromettre les rôles que peuvent jouer ces bactéries dans le cycle biogéochimique. Parmi ces facteurs, il y a le pH, la température, la salinité des sols, les métaux lourds et les pesticides qui méritent d'être élucidés. Ainsi, l'aptitude des isolats RSC114, RSC115, RSC119, RSC207, RSC309, RSC310, RSC312, RSC323, RSC324, RSC325, RSC412, RSC413, RSC502, RSC504, RSC506 et RSC508 à tolérer le pH, la température, la salinité, les pesticides (herbicides, fongicides et insecticides) et différents métaux lourds a été vérifiée sur le milieu YEM.

Les résultats relatifs aux pH ont montré que tous les isolats testés tolèrent les pH allant de 6 à 10. Toutefois, la tolérance vis-à-vis de l'acidité s'est révélée très variable au fur et à mesure que le milieu devenait de plus en plus acide. Une proportion de 50 % des isolats a pu croître à pH = 4,5 et seulement 18,75 % à pH = 4. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Raza *et al.* (2001) et Abdelnaby *et al.* (2015). Ces auteurs ont montré que les rhizobia isolés du lupin et du niébé sont capables de croître sur des milieux de culture avec des pH compris entre 4 et 10. Jordan (1984) a par ailleurs rapporté que les bactéries appartenant à la famille des rhizobia tolèrent des pH allant de 4,5 à 9. Il existe peu d'information sur le mécanisme d'adaptation des rhizobia aux pH acide ou alcalin. Toutefois, la tolérance des rhizobia à un pH acide dépend de leur aptitude à maintenir un pH intracellulaire entre 7,2 et 7,5 (Jordan, 1984). Pour d'autres auteurs, la tolérance des rhizobia aux pH acides est liée à la composition et à la structure de la membrane externe du rhizobium (Graham *et al.*, 1994).

Ayant testé la viabilité des isolats locaux sur le milieu YEM à différentes températures, il ressorti que l'ensemble de ces isolats est capable de tolérer la température entre 20 et 40 °C. Leur température optimale de croissance était comprise entre 28 et 35 °C. Ces résultats sont en accord avec des résultats de travaux antérieurs réalisés sur les rhizobia isolés de plusieurs légumineuses (Jarvis *et al.*, 1997 ; Zahran, 1999). Ces auteurs stipulent que la température optimale de

croissance des bactéries nodulant les légumineuses est située entre 28 et 31 °C. Il est important de signaler que certains isolats testés ici ont été capables de croître à des températures extrêmes : les isolats RSC310 et RSC312 à 4 °C puis, RSC115, RSC119, RSC309, RSC324 et RSC325 à 45 °C. Des bactéries capables de croître à de telles températures avaient été isolées par Ruiz-Diez *et al.* (2009). Cette thermotolérance des isolats serait due à leur capacité à produire des protéines de stress thermique ou HSP (Heat Shock Proteins) de poids compris entre 38 et 68 KDa. En effet, ces protéines jouent un rôle important dans la protection des organismes contre le stress thermique (Abou-Shanab, 2007). En revanche, la croissance de certains isolats bactériens locaux a été inhibée à des températures élevées (45 °C) et d'autres à des basses températures (4 et 5 °C) cela est liée au fait que les températures élevées engendrent la déshydratation et la dégradation des enzymes de la voie métabolique, alors que les basses températures provoquent la gélification de l'eau cellulaire et l'inactivation parfois irréversible des enzymes (Cloutier *et al.*, 1992).

Les résultats de l'étude sur la salinité (NaCl) ont montré que l'ensemble des isolats testés ont pu croître en présence de 2 % de NaCl excepté l'isolat RSC207 qui a cru sur un milieu contenant moins de 1 % de sel. Des travaux réalisés par plusieurs chercheurs ont montré que la croissance optimale des rhizobia se situe à des concentrations comprises entre 1 et 2 % (Maougal, 2004 ; Chabbi, 2010). Toutefois, cette croissance des isolats a diminué lorsque la concentration en sel (NaCl) du milieu augmentait. En effet, une proportion de 50 à 81,25 % des isolats a toléré 3 à 5 % de sel. Ce taux a chuté à 12,5 % lorsque les isolats ont été soumis à 10 % de NaCl. Des travaux similaires réalisés par d'autres auteurs ont confirmé que plusieurs rhizobia isolés de légumineuses annuelles et d'arbres ligneux sont capables de croître en présence de 3 à 10 % de NaCl. Ces isolats ont été qualifiés d'halotolérants (Merabet *et al.*, 2006 ; Konaté, 2007). Contrairement à ceux-ci, les travaux de Faghire *et al.* (2011) ont montré que la croissance de la majorité des rhizobia isolés du haricot au Maroc a été inhibée à moins de 1 % de sel. Ainsi, les limites de tolérance des rhizobia à la salinité peuvent varier considérablement entre les souches isolées d'une espèce végétale à une autre et même entre les souches isolées de la même espèce. Selon, Tilak *et al.* (2005) et Sebihi (2008), les rhizobia capables de supporter les fortes concentrations de sel sont dotés d'osmoprotecteurs. Ces derniers représentent un mécanisme d'accumulation intracellulaire de solutés organiques de faibles poids moléculaires permettant aux bactéries de surmonter l'effet du stress salin. Toutefois, certains auteurs ont attribué la tolérance

des souches rhizobiales aux concentrations élevées de sel par la synthèse des exopolysaccharides (Hung *et al.*, 2005).

Les métaux lourds entraînent des modifications importantes dans la structure des communautés microbiennes. Ces microorganismes occupent des positions clés dans les processus biogéochimiques et influencent le développement des plantes par leur contribution à la fertilité des sols. Certaines étapes clés du cycle des éléments ne peuvent d'ailleurs être réalisées que par les bactéries. Ainsi, leur disparition ne pourrait garantir à long terme la fertilité du sol. Les métaux lourds comme le plomb, le cuivre et le zinc ne peuvent pas être biodégradés et donc persistent dans l'environnement pendant de longues périodes. La capacité des souches bactériennes à tolérer des concentrations graduelles de zinc, de cuivre, de cobalt, de manganèse et de plomb a été étudiée. Les résultats issus de ce test ont montré que la survie des isolats varie en fonction du type de métal et de la concentration du milieu en métal. En effet, le zinc (Zn) et le cuivre (Cu) ont été les métaux les plus toxiques quel que soit la concentration appliquée. Selon Giller *et al.* (1998), un excès de Zn a un effet inhibiteur sur la croissance des rhizobia et provoque la perte des gènes symbiotiques situés au niveau des plasmides. Ces résultats sont différents de ceux de Sebihi (2008) et El Boutahiri *et al.* (2010) qui ont montré que les concentrations élevées de Zn et de Cu affectent modérément la croissance des rhizobia. Aussi, dans cette étude, seulement 18,75 à 50 % des isolats étaient capables de croître en présence du cobalt (Co) et le manganèse (Mn) dans le milieu de culture. Des constats similaires faits par Hajjam (2017) stipulent que les rhizobia ne peuvent tolérer ces métaux qu'à des concentrations allant jusqu'à 300 µg/mL. Selon Konaté *et al.* (2014), la variation de l'effet de ces métaux est liée à la nature intrinsèque des bactéries isolées. Parmi les métaux testés, le plomb (Pb) a été le seul métal sur lequel l'ensemble des isolats s'est développé même à des concentrations élevées (2000 µg/mL). Des résultats similaires ont été obtenus par Sebihi (2008). Toutefois, des observations contraires ont été faites par Maâtallah *et al.* (2002) qui ont montré que les rhizobia isolés de *Cicer arietinum* ne peuvent pas croître à des concentrations supérieures à 400 µg/mL de Pb. Le plomb comme l'ensemble des métaux lourds n'est pas dégradé et donc persiste dans l'environnement. Ainsi, la capacité des isolats testés à croître en présence de ce métal est prometteuse dans la mesure où ces bactéries pourraient être introduites dans les sols où la teneur du plomb est élevée.

La mise en place des cultures est tributaire des pesticides qui servent de moyens de lutte contre les ennemis tels que les mauvaises herbes, les insectes, les moisissures, etc. Leur utilisation permet un meilleur développement des plantes et accroît les rendements agricoles (Liu & Xiong, 2001). Cependant, on estime que moins de 5 % de ces intrants chimiques atteignent les organismes cibles. Une grande partie de ces produits atteint le sol avec souvent des conséquences irréversibles sur des organismes non cibles tels que les bactéries rhizosphériques essentielles pour la restauration de la fertilité des sols (Mohamed, 2011). Ainsi, l'utilisation d'un pesticide nécessite au préalable qu'il soit toléré par la bactérie utilisée comme inoculum. La présente étude a montré que la survie des isolats natifs présélectionnés variait en fonction du type de pesticide et de la dose d'application.

Ainsi, l'addition de différentes doses herbicides au milieu YEM a révélé que le Glyphosate a été extrêmement toxique pour l'ensemble des isolats testés quelle que soit la dose utilisée contrairement à l'Haloxypop-R-méthyl et le 2,4-D sel d'amine. Ces herbicides ont pu être tolérés par 56,25 à 68,75 % des isolats testés. Ces résultats confirment ceux de Konaté *et al.* (2015c) qui ont montré que le Glyphosate était plus toxique que l'Haloxypop-R-méthyl pour les bactéries symbiotiques du niébé. Ces différences seraient dues aux mécanismes d'action du type d'herbicide au niveau des isolats. En effet, la toxicité du Glyphosate est due à sa capacité à inhiber la synthèse de l'acide 5-Enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthetase, essentielle dans la formation des acides aminés aromatiques (Zablotowicz & Reddy, 2004). Selon Yu *et al.* (2010), la toxicité du Glyphosate pourrait entraîner une perturbation dans l'équilibre trophique du sol par la baisse de la concurrence pour les nutriments parmi les microbes. Toutefois, des résultats contradictoires ont été obtenus par Madhaiyan *et al.* (2006) avec le 2,4-D et par Aynalem & Assefa (2017) avec le Glyphosate.

Les insecticides ajoutés au milieu de culture ont été relativement toxiques pour l'ensemble des isolats. Ainsi, 43 % de ces isolats ont toléré la moitié de la dose recommandée du Lambdacyhalotrine+Acétamide, du Cyperméthrine et du Chlorpyrifos-éthyl. Ces mêmes observations ont été faites par Ajaz *et al.* (2005) et Al Abboud (2014). Ces auteurs ont montré que l'application du Cyperméthrine a un impact négatif sur les bactéries du sol, plus particulièrement sur les fixatrices de l'azote. Cette étude a aussi montré que le Chlorpyrifos-éthyl appliqué à la dose recommandée inhibe de la croissance de 80 % des isolats testés. Toutefois, les travaux réalisés par Sanaik *et al.* (2004) ont montré que l'application du Chlorpyrifos-éthyl sur le

sol augmente le nombre de rhizobia dans la rhizosphère du soja, mais affecte leur capacité à solubiliser le phosphate.

Les fongicides Mancozèbe et Propineb testés ont inhibé la croissance de l'ensemble des isolats quelle que soit la dose d'application. Ces observations corroborent celles de Drouin *et al.* (2010) et de Mohamed (2011) qui ont indiqué que les bactéries fixatrices d'azote ont une grande sensibilité vis-à-vis des fongicides. Toutefois, d'autres auteurs ont obtenu des résultats contraires. C'est le cas de Curley & Burton (1975) qui ont montré que le fongicide Thiram n'affecte pas la survie de *Bradyrhizobium japonicum*. Ils soutiennent d'ailleurs qu'en condition de champ, une concentration optimale de fongicides est en mesure d'augmenter la nodulation du soja. Cette divergence des résultats est due à la capacité des bactéries à produire ou non des exopolysaccharides pour se protéger en enrobant les résidus de pesticides afin d'éviter la dessiccation. D'autres l'attribuent à l'aptitude des bactéries à former une nouvelle voie métabolique pour contourner les réactions inhibitrices des pesticides (Moawad *et al.*, 2014).

Dans l'ensemble, les fongicides Mancozèbe, Propineb et l'herbicide Glyphosate ont inhibé la croissance des isolats testés. Par ailleurs, ces isolats ont présenté un taux de résistance relativement modéré vis-à-vis des insecticides Lambdacyhalotrine+Acétamipride, Cyperméthrine et Chlorpyrifos-éthyl. En revanche, ils ont induit une large tolérance pour les herbicides Haloxypop-R-méthyl et 2,4-D sels d'amine. Les isolats RSC310, RSC312 et RSC413 ont été les plus tolérants au contraire de RSC115, RSC323, RSC324 et RSC504 qui ont été sensibles à l'ensemble des traitements.

## **2.2. Efficacité symbiotique et agronomique des isolats collectés**

La vulgarisation du soja dans une zone où il n'est pas endémique nécessite l'apport d'inoculum à base de rhizobia compétitif pour booster sa productivité. Le choix de telles bactéries doit tenir compte des conditions environnementales du milieu pour leur permettre d'exprimer leur potentialité. Ainsi, sept (07) rhizobia indigènes (RSC115, RSC119, RSC309, RSC324, RSC502, RSC504 et RSC508) présélectionnés pour leur infectivité et leur efficacité sur cinq (05) cultivars de soja (Canarana, Doko, IT\_235, Piramama et Tracaja) en conditions contrôlées ont été testés en plein champ. Ce test a consisté à évaluer l'effet des rhizobia locaux du soja sur la nodulation,

la croissance et la productivité des cultivars Canarana, Doko et Piramama dans les localités de Daloa, Divo et Hiré.

Les résultats ont montré que les rhizobia locaux testés sont capables d'améliorer significativement les différents paramètres étudiés. L'ensemble des bactéries indigènes a induit la formation de nodules sur les systèmes racinaires des différents cultivars de soja quel que soit le site de l'essai. En revanche, aucune nodosité n'a pu être observée sur les systèmes racinaires des plants témoins (plants fertilisés au NPK et plantés non traités) excepté chez le cultivar Piramama à Daloa. Sur ce site, quelques nodosités à coloration interne blanchâtre ont été observées sur les plants témoins de ce cultivar. L'absence ou la présence de peu de nodosités sur les parcelles non inoculées traduit l'inexistence de souches autochtones de rhizobia dans les sols utilisés pour les essais au champ. Un constat similaire a été fait par Argaw (2014) dans l'Est de l'Éthiopie. Cet auteur a observé qu'aucun nodule n'a pu se développer sur les différents génotypes de soja (Giza et TG<sub>x</sub>-1332464) lorsque ceux-ci ne sont pas inoculés. Il a conclu qu'il n'existe pas de rhizobia nodulant le soja dans la zone d'étude. Cette même observation a été faite par Nzabi *et al.* (2000) sur les variétés de soja Belgium Congo et Hill au Kenya. Ainsi, la formation de nodosités sur les plants non inoculés du cultivar Piramama à Daloa est due à des bactéries indigènes du genre *Bradyrhizobium* qui entrent habituellement en symbiose avec le niébé (*Vigna unguiculata*) souvent cultivée dans la zone de l'essai. Ces nodules formés ont été non fonctionnelles car les bactéries ne disposeraient pas de gènes de fixation de l'azote spécifique pour le soja. Il est ressorti de l'étude que plusieurs rhizobia indigènes peuvent augmenter significativement le nombre et le poids sec des nodules par rapport à la souche exotique *Bradyrhizobium japonicum* IRAT FA3 utilisée comme inoculum de soja depuis deux décennies en Côte d'Ivoire. Les rhizobia locaux RSC119, RSC309 et RSC504 ont induit plus de nodosités avec toutes les variétés de soja sur tous les sites. Des travaux réalisés à Bouaké sur les mêmes cultivars de soja par N'Gbesso *et al.* (2017) ont révélé que la souche bactérienne locale 26D4 a été capable d'augmenter le poids sec nodulaire des différents cultivars testés par rapport à la souche IRAT FA3. D'autres travaux réalisés dans la province de Kaboul en Afghanistan ont montré que des souches autochtones de *Ensifer* (GS4 et GE6W) et de *Bradyrhizobium* (GE3) induisent la formation de plus de nodosités sur les variétés de soja Stime3300 et Enrei par rapport à la souche de référence USDA110 (Habibi *et al.*, 2017). Ici, le nombre et le poids des nodules d'une variété de soja inoculée avec la même bactérie ont varié en fonction des sites. En

somme, la plupart des bactéries testées ont augmenté ces paramètres à Daloa par rapport à Divo et Hiré.

Relativement à la croissance des plants, les paramètres comme la hauteur et la biomasse ont été influencés significativement par les bactéries testées. En effet, l'ensemble de ces bactéries a amélioré la hauteur, la biomasse fraîche et la biomasse sèche des différents cultivars par rapport au témoin non fertilisé quel que soit le site. Ces bactéries ont en général induit les mêmes effets que l'engrais de synthèse de formulation 12 22 22 pour ces différents paramètres. L'amélioration de la hauteur et de la biomasse observée dans ce travail serait due à l'apport de l'azote lors de la fixation symbiotique de l'azote de l'air. Ces résultats confirment ceux d'Alam *et al.* (2015) au Bangladesh. Ces auteurs ont montré que la hauteur et la biomasse sèche des géotypes de soja Shohag, BARI Soybean6, MTD10 et BGM02026 ont été améliorées par la souche locale de *Rhizobium sp.* BARIGm901 par rapport au témoin non inoculé. D'autres travaux ont montré que la hauteur et la biomasse des plantes ont été améliorées par l'inoculation similairement à la fertilisation azotée (Amani, 2007 ; Caliskan *et al.*, 2007). Cependant, les travaux réalisés par Ahliyah (2016) dans les localités de Puriya et de Bunglong dans le nord du Ghana ont aussi montré que l'application d'engrais de synthèse et de l'inoculum exotique LEGUMEFIX contenant la souche de *B. japonicum* USDA 532C n'a pas influencée la hauteur et la biomasse sèche du soja. Cette variation des résultats peut être expliquée par une différence des types de sol, des souches bactériennes utilisées comme inoculum et des variétés de soja.

Les bactéries testées ont favorisé la réduction du délai de floraison. Toutefois, la réduction a été plus ou moins importante selon les lieux et les variétés de soja en présence. L'apparition d'inflorescences a été réduit de 4 jours chez le cultivar Canarana à Divo par RSC119, RSC309, RSC324 et RSC502 et à Hiré par RSC115 et RSC504, puis de 7 jours chez le cultivar Doko inoculé avec RSC119 à Divo. Quant au cultivar Piramama, les premières fleurs ont été observées sur les plants inoculés avec les isolats RSC115, RSC119 et RSC504 à Divo et Daloa 5 jours avant l'apparition des fleurs sur les plants non traités. Dans tous les cas, les bactéries testées ont réduit le délai de floraison que celles testées par N'Gbesso *et al.* (2017) sur ces mêmes cultivars de soja à Bouaké. Ces auteurs ont montré que certaines souches locales de *Bradyrhizobium* et la souche IRAT FA3 pouvaient réduire de 1 à 2 jours le délai de floraison des cultivars Canarana (51 JAS) et Doko (48 JAS) par rapport au témoin. Par ailleurs, ils ont rapporté que ces bactéries n'ont pas influencées l'apparition des fleurs au niveau du cultivar Piramama.

Le délai de maturité des gousses a été influencé significativement par les bactéries testées selon la variété de soja et le lieu de l'essai. Les bactéries testées ont réduit de 9 à 14 jours le délai de maturité du cultivar Canarana à Divo et à Hiré. Le délai le plus précoce (106 JAS) pour cette variété a été induit à Divo par RSC502 et RSC504. Pour Doko, le délai le plus précoce (98 JAS) a été obtenu avec RSC502 à Divo. Ce délai était de 110 jours pour le témoin absolu sur ce site. Piramama a été le cultivar le plus précoce avec un délai de maturité des gousses situé entre 88 et 104 jours. La précocité de ce délai a été plus marquée avec RSC502 à Hiré. Le délai de maturité des gousses se présente ainsi, comme un critère important pour le choix de l'inoculum du soja. En effet, les bactéries qui ont réduit ce délai, agissent sur le cycle de production du soja. Des travaux similaires réalisés à Soubré et à Logboayo dans le Sud-Ouest de la Côte d'Ivoire ont aussi montré que le délai de maturité variait en fonction de la variété et des lieux (N'Zi *et al.*, 2015). Ces auteurs ont observé des délais de maturité de 100 et 97 jours respectivement avec Canarana et Doko inoculés avec la souche IRAT FA3. Dans ce travail, cette même souche a induit des délais de maturité de 110 à 121 jours pour Canarana et de 106 à 112 jours pour Doko. Ces différences observées avec la même bactérie dans différentes localités sont liées aux conditions environnementales locales qui changent d'un site à un autre.

Le niveau d'insertion des premières gousses sur la tige principale est un paramètre discriminant lors de la sélection d'une variété de légumineuse pour des cultures mécanisées. Dans ce travail, tous les plants inoculés ont donné les premières gousses situées au-delà de 10 cm. Cette hauteur d'insertion des gousses était ainsi supérieure à 8 cm, niveau requis pour des récoltes mécanisées. Toutes les bactéries testées sont donc toutes éligibles pour être utilisées comme inoculum du soja pour ce paramètre. Les niveaux d'insertion des gousses observés dans cette étude sont différents de ceux rapportés par N'Zi *et al.* (2015) et par N'Gbesso *et al.* (2017) dans différentes zones agro écologiques de la Côte d'Ivoire sur les mêmes cultivars. Il est donc clair que les traitements appliqués ainsi que les conditions du milieu agissent sur la croissance en hauteur des plants de soja inoculés. De cette hauteur, dépend le niveau d'insertion des premières gousses : plus une plante est grande, plus haut est son niveau d'insertion des gousses (Ziqiang & Danying, 2002) .

Les différents cultivars inoculés avec les différentes bactéries ont présenté une augmentation du nombre et du poids des gousses en comparaison aux témoins absolus quel que soit le site de l'étude. Des variétés de soja et de haricot mungo inoculées avec des souches de *Bradyrhizobium*

ont produit des résultats similaires à ceux obtenus dans cette étude (Abdel-Fattah *et al.*, 2011 ; Patra *et al.*, 2012 ; Koziel *et al.*, 2013). De plus, les plantules des cultivars Doko et Piramama inoculées dans cette étude avec les bactéries indigènes RSC119, RSC309 et RSC508 ont produit plus de gousses que la souche IRAT FA3 et l'engrais de synthèse NPK 12 22 22 sur l'ensemble des sites. Toutefois, ces bactéries locales ont induit des effets similaires sur la production en gousses que la souche introduite et l'engrais chimique au niveau du cultivar Canarana. Le nombre de gousses le plus élevé (163) a été observé sur le cultivar Canarana inoculé avec RSC309 à Hiré. Par contre, le poids des gousses le plus élevé (118,4 g) a été obtenu avec Piramama inoculé avec RSC508 à Hiré. Ces résultats corroborent ceux obtenus par Argaw (2014) qui testait la souche *Bradyrhizobium japonicum* TAL-379, souche locale éthiopienne de soja, par rapport à la souche de *Bradyrhizobium sp.* (UK isolate). Selon Abdel-Fattah *et al.* (2011), l'incapacité de l'engrais de synthèse à accroître le nombre et le poids des gousses comparativement à l'inoculation est due à son faible apport au sol. Cependant, il peut arriver que des plantules de soja inoculées par les souches rhizobiales produisent des nombres de gousses statistiquement similaires avec celles fertilisées avec des engrais de synthèse (Jarecki *et al.*, 2016).

Le poids de 100 graines a été significativement affecté par l'inoculation par rapport au témoin non traité. Les poids de 100 graines plus élevés ont été obtenus avec les cultivars Doko et Piramama par rapport à Canarana. Le poids de 100 graines le plus élevé (19,6 g) a été obtenu par l'isolat RSC508 avec le cultivar piramama à Divo. Ce constat avait été fait par N'Gbesso *et al.* (2010) à Bouaké et par N'Zi *et al.* (2015) dans la région de la Nawa. Ces auteurs ont montré que le cultivar Canarana présentait le plus faible poids de 100 graines parmi plusieurs génotypes de soja testés.

Concernant la productivité du soja, les cultivars inoculés à Daloa ont été plus productifs que ceux inoculés à Divo et à Hiré. Cette différence peut s'expliquer par l'interruption de la pluie pendant la période de remplissage des gousses sur les deux derniers sites. En effet, l'eau est un facteur déterminant pour la croissance et la productivité de plusieurs cultures. Ainsi, dans le cas du soja, le manque d'eau lors de la phase de nodulation et de remplissage des gousses entraîne la chute des fleurs et un faible taux de graines contenues dans les gousses. Aussi, le rendement à l'hectare des différents cultivars de soja a-t-il été significativement influencé par l'inoculation. Les

rendements les plus élevés ont été de 4,3 t/ha (RSC508) pour Piramama, 2,7 t/ha (RSC502 et RSC508) pour le cultivar Canarana, puis de 2,6 t/ha (RSC508) et de 2,7 t/ha (RSC119) pour le cultivar Doko. Toutes ces bactéries ont accru le rendement en graines du soja par hectare par rapport au témoin absolu (sauf Canarana à Daloa) et le témoin fertilisé avec l'engrais chimique de formulation 12 22 22. Patra *et al.* (2012) étaient parvenus à des résultats pareils avec le soja cultivar PK-416 en Inde. Selon Shahid *et al.* (2009), la variation du rendement entre les cultivars inoculés est due en grande à l'effet combiné des isolats bactériens sur les paramètres végétatifs et de production qui eux-mêmes sont influencés par les conditions environnementales. Pour d'autres auteurs, l'accroissement du rendement en graines des différentes variétés de soja par les bactéries rhizobiales est lié au faible taux d'azote contenu dans les sols tropicaux. Cette faible teneur des sols en azote est à l'origine de l'initiation de la symbiose entre le soja et son symbionte (Karaboneye, 2013 ; Lamptey *et al.*, 2014 ; Kumar & Reddy, 2018).

### **2.3. Arrière effet des rhizobia inoculés au soja sur la qualité du sol**

La mise en jachère des sols qui constituait la méthode par excellence permettant la reconstitution de la fertilité des sols n'existe quasiment plus. Pour pallier cette situation et augmenter la production agricole, les agriculteurs se sont orientés vers l'utilisation des engrais de synthèse avec des conséquences néfastes pour l'homme et l'environnement. Aujourd'hui, dans un contexte de préservation de l'environnement et de la santé humaine, des pratiques agricoles innovantes capables de restaurer la fertilité des sols doivent être proposées afin de réduire l'apport des engrais de synthèse dans les systèmes de production. C'est dans ce cadre que l'impact des rhizobia indigènes inoculés au soja sur la qualité du sol a été évalué.

Les résultats obtenus montrent que les bactéries apportées au soja sous forme d'inoculum, lors de la mise en place des cultures, ont des effets bénéfiques significatifs sur les paramètres chimiques étudiés environ un (1) mois après la récolte. Seulement, l'effet des bactéries sur les paramètres étudiés a varié en fonction des variétés de soja cultivées. Les teneurs du sol en matière organique (M.O) et azote total (Nt) ont augmentées sans toutefois atteindre le seuil minimum (2 %) pour l'azote total. Ces observations rejoignent celles faites par N'Goran *et al.* (2011) lors d'une association des cultures de l'igname et du soja. L'augmentation de ces éléments dans le sol est due entre autres, à la chute prématurée des feuilles du soja avant sa récolte. N'Diaye *et al.* (2014)

attribuent la hausse de des teneurs des sols en  $C_{org}$  et en Nt à une fourniture en matière organique provenant de toutes les parties de la plante. Pour ces auteurs, le carbone et l'azote du sol sont étroitement liés à la matière organique du sol (M.O) qui confère à ce dernier des propriétés physico-chimiques favorisant le fonctionnement durable des écosystèmes. Ainsi, ils ont précisé que les différentes parties d'une plante présentant des qualités biochimiques différentes ont des niveaux de dégradation différents conférant au sol une disponibilité continue de la matière organique. Cet apport des légumineuses en M.O est à l'origine de l'accroissement de la productivité du maïs dans les travaux de Kouassi *et al.* (2016). Les jachères naturelles jouent en général ce même rôle au niveau du sol, mais encore, faudra-t-il observer un temps plus long voire, plusieurs années (Gnahoua *et al.*, 2008). Dans le présent travail, l'impact des différentes bactéries testées sur la teneur des sols en M.O et Nt a varié en fonction des différentes variétés de soja. Ces paramètres ont été plus accrus sous les sols ayant reçus la variété Canarana par rapport à Piramama et Doko. Ce constat était ressorti des travaux d'Akédrin *et al.* (2010) qui ont remarqué que *Crotalaria goreensis* stimule mieux la croissance et la productivité du maïs par rapport à d'autres légumineuses telles que *Mimosa invisa*, *Pueraria phaseoloides* et *Centrosema pubescens* utilisées.

Les valeurs de C/N obtenus sont généralement comprises entre 9 et 12. Cet intervalle traduit une bonne minéralisation de la matière organique et une activité microbienne intense au niveau du sol. Ces résultats traduisent la capacité des bactéries indigènes à induire une production importante de matière organique chez les plants de soja et une intensification de l'activité microbienne au niveau du sol. Pour Konaté *et al.* (2012), l'accélération de l'activité de la biomasse microbienne stimule la décomposition et la minéralisation de la matière organique préexistante dans le sol.

La teneur en phosphore assimilable et en phosphore total a diminué avec l'ensemble des traitements excepté RSC119 inoculé à Doko. Cette baisse du P assimilable pourrait être liée à la texture sableuse des sols des sites de l'étude. En effet, la texture sableuse expose le sol au lessivage et à la lixiviation des éléments minéraux en général. Cette assertion justifie en partie les résultats obtenus par Kouadio *et al.* (2019) qui soutiennent que les sols caractérisés par une texture sableuse sont bien aérés et faciles à travailler. Toutefois, le phénomène de lessivage

auquel ils sont soumis pendant les saisons pluvieuses les exposent à un appauvrissement en éléments nutritifs.

Les résultats liés au pH ont montré que certaines bactéries ont eu tendance à rendre le milieu plus acide. Le niveau du pH induit par celles-ci était compris entre 5,5 et 6,4. Cette acidité du milieu est toujours satisfaisante pour une bonne activité biologique, chimique et microbiologique du sol. Ces résultats ne sont pas surprenants car lors du processus de la symbiose rhizobia-légumineuse, les différents partenaires produisent des acides organiques qui ont tendance à acidifier le milieu. Cependant, le  $\text{pH}_{\text{eau}}$  du sol 5,3 obtenu avec la souche IRAT FA3 inoculée à la variété Doko pourrait créer un environnement impropre à une activité biologique intense, donc défavorable pour la pratique de l'agriculture. Cette situation pourrait avoir comme conséquences, la diminution de la nitrification, la déficience en phosphore et la toxicité aluminique du milieu (N'Goran *et al.*, 2018). En revanche, parmi les bactéries testées, RSC324, RSC502, RSC504 et RSC508 ont augmenté le pH du sol lorsque celles-ci ont été inoculées au cultivar Canarana. Le pH du sol obtenu avec ces bactéries inoculées au cultivar Canarana est passé ainsi de faiblement acide à neutre. Par ailleurs, la bactérie locale RSC508 a augmenté le pH des sols avec l'ensemble des cultivars de soja testés. Cette augmentation du pH du sol est liée à plusieurs facteurs dont la capacité de la bactérie à induire la production d'une importante quantité de biomasses.

Cette étude suggère donc que l'utilisation du soja dans des systèmes de cultures tienne compte du pH du sol. Ce paramètre pourrait guider les chercheurs et les agriculteurs dans le choix de la variété de soja à introduire et aussi de la souche bactérienne à utiliser comme inoculum.

**CONCLUSION GENERALE ET  
PERSPECTIVES**

Cette étude a été réalisée pour isoler et sélectionner de potentiels rhizobia indigènes capables d'accroître la productivité du soja et de restaurer la fertilité des sols sous de courtes durées. Les résultats ont révélé que les sols du Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire sont pauvres en rhizobia nodulant le soja. Dans cette zone, seuls les sols ayant un précédent constitué de soja ont été capables d'induire la formation de nodules racinaires sur les différents cultivars testés. Quarante-neuf (49) isolats issus de ces nodules ont présenté sur le milieu YEM des colonies de forme circulaire, opaque ou transparente et bombée. Elles avaient, dans l'ensemble, une coloration blanchâtre, beige ou rosâtre excepté les isolats RSC119 et RSC504 qui présentaient une coloration jaunâtre. L'analyse microscopique a révélé que tous les isolats étaient des bacilles à Gram négatif. Toutes ces caractéristiques morphologiques permettaient considérer ces isolats comme des rhizobia. Toutefois, 63 % d'isolats capables de réinfecter les cultivars hôtes ont fait l'objet d'une collection de rhizobia locaux nodulant le soja.

Les isolats RSC114, RSC115, RSC119, RSC207, RSC309, RSC310, RSC312, RSC323, RSC324, RSC325, RSC412, RSC413, RSC502, RSC504, RSC506 et RSC508 avérés les plus infectants de cette collection sur les cultivars hôtes ont été sélectionnés pour la suite des tests. Ces isolats ont exhibé chacun un large spectre de cultivars hôtes. En particulier, les isolats RSC115, RSC119, RSC309, RSC324, RSC502, RSC504 et RSC508 se sont avérés les plus infectants et efficaces comparés à la souche de référence IRAT FA3 lorsqu'ils ont été inoculés aux cultivars Canarana, Doko, IT\_235, Piramama et Tracaja sur substrat stérile. Ils ont été capables de solubiliser *in vitro* le phosphate tricalcique et le potassium (mica). Les bactéries RSC115, RSC119, RSC325 et RSC502 ont produit des indices de solubilisation du phosphate supérieurs à 100 % sur le milieu PVK. L'isolat RSC119 a été le plus performant avec un indice de solubilisation de 344 %. Quant aux isolats RSC115, RSC207, RSC310, RSC312, RSC324, RSC502, RSC506 et RSC508, ils présentaient des indices de solubilisation du potassium supérieurs à 100 % sur le milieu Aleksandrov. La valeur la plus élevée de cet indice (257 %) a été obtenue avec l'isolat RSC310.

Par ailleurs, les isolats ont montré *in vitro* une large tolérance au pH, à la température, au plomb, à l'Haloxypop-R-méthyle et au 2,4-D sel d'amine. En revanche, ils ont présenté un taux de résistance relativement modéré *vis-à-vis* du NaCl, du Lambdacyhalotrine+Acétamipride, du Cyperméthrine, du Chlorpyrifos-éthyl, du chlorure de cobalt et du sulfate de manganèse à de

faibles concentrations. Toutefois, ils ont été sensibles au Glyphosate, au Mancozèbe, au Propineb, au sulfate de zinc et au sulfate de cuivre même à de faibles concentrations. Les isolats RSC310, RSC312 et RSC413 ont été les plus tolérants par contre RSC115, RSC323, RSC324 et RSC504 ont été sensibles à l'ensemble des traitements.

A l'issue de ces différents tests, les rhizobia locaux RSC115, RSC119, RSC309, RSC324, RSC502, RSC504 et RSC508 ont été présélectionnés, puis testés en conditions de champ à Daloa, à Divo et à Hiré pour évaluer leur compétitivité sur les cultivars canarana, Doko et Piramama. Ces essais au champ ont montré que les performances agro-morphologiques des différents cultivars de soja testés, en l'occurrence la hauteur des plants, les biomasses fraîche et sèche, étaient améliorées par rapport à celle du témoin non fertilisé et cela quel que soit le site. Les rhizobia RSC119, RSC309 et RSC504 ont induit le plus de nodosités racinaires chez tous les cultivars de soja sur l'ensemble des sites d'expérimentation. Le délai de floraison du soja a été réduit de 04 jours avec les isolats RSC119, RSC309 et RSC324 testés sur le cultivar Canarana à Divo, de 07 jours avec RSC119 sur le cultivar Doko également à Divo et de 05 jours avec les isolats RSC119, RSC504 et RSC508 sur le cultivar Piramama Daloa. Quant à l'isolat RSC502, il a réduit le délai de maturité des gousses de soja de 6, 12 et 14 jours chez les cultivars Piramama, Doko et Canarana respectivement.

Les bactéries indigènes RSC119, RSC309 et RSC508 ont induit plus de gousses par plant que la souche IRAT FA3 et l'engrais de synthèse (12 22 22) sur l'ensemble des sites d'essais. L'isolat RSC309 a induit le nombre de gousses le plus élevé par plant (163) sur le cultivar Canarana à Hiré. En plus, RSC119, RSC502 et RSC508 ont accru le rendement en graines des différents cultivars de soja par rapport à la souche de référence (sauf le cultivar Canarana à Daloa) et à l'engrais de synthèse. Les rendements en graines les plus élevés (4,3 t/ha) ont été obtenus avec la souche RSC508 sur le cultivar Piramama, suivis de 2,7 t/ha avec RSC502 et RSC508 sur le cultivar Canarana, puis de 2,7 et 2,6 t/ha avec RSC119 et RSC508 respectivement sur le cultivar Doko. Toutes ces souches bactériennes ont induit une hausse de rendement en graines de soja quel que soit le cultivar (hormis Canarana à Daloa), par rapport au témoin absolu, à la souche de référence et à l'engrais chimique de formulation 12 22 22.

Les échantillons de sol prélevés un (01) mois après la récolte du soja à Daloa ont montré que les teneurs en matière organique (M.O) et en azote total (Nt) s'étaient améliorées sous l'effet des souches bactériennes testées. Les teneurs du sol en phosphore assimilable et en phosphore total ont diminué pour l'ensemble des traitements excepté l'isolat indigène RSC119 inoculé au cultivar Doko. Certains isolats bactériens testés ont induit la baisse du pH du sol avec des valeurs comprises entre 5,5 et 6,4. Toutefois, les isolats RSC324, RSC502, RSC504 et RSC508 ont quant à elles augmenté le pH du sol, en passant facilement du pH acide à neutre, après inoculation du cultivar Canarana. La souche locale RSC508 s'est distinguée par sa capacité à accroître le pH du sol quels que soient le cultivar de soja testé et le site d'essais considéré.

A l'issue de la présente étude, les rhizobia indigènes RSC119, RSC309, RSC504 et RSC508 ce sont avérés les plus performants pour améliorer la productivité du soja et rehausser le niveau de la fertilité des sols sur de courtes durées. Aussi, les rhizobia RSC324, RSC502, RSC504 et RSC508 ont permis de corriger le pH très acides des sols. L'utilisation de ces souches locales de rhizobia dans un système de rotation culturale serait très bénéfique pour les décideurs, les institutions de recherche et les exploitants agricoles. Ces bactéries sont donc fortement recommandées à tous ces acteurs impliqués dans la production agricole en Côte d'Ivoire. Ainsi :

- les décideurs pourront désormais faire recours à ces bactéries pour promouvoir la culture du soja en Côte d'Ivoire et dans la sous region. Ils doivent aussi encourager cette initiative qui vise une production durable du soja et une exploitation efficace des ressources foncières.
- les parties prenantes (l'UJLoG et le CNRA) doivent labéliser les souches bactériennes locales sélectionnées pour produire de l'inoculum de soja en Côte d'Ivoire. Ces structures doivent mutualiser leurs ressources humaines et techniques pour la vulgarisation de cette technologie à travers les médias et les autres structures agricoles.
- les exploitants agricoles qui sont les bénéficiaires directs doivent s'approprier cette technologie. En effet, l'utilisation des bactéries locales dans la mise en place de la sojaculture leur permettra de diversifier leurs sources de revenu à travers la vente des graines du soja ou ces sous produits et améliorer les propriétés physiques, chimiques et biologiques des reliques de terres disponibles sous de courtes durées sans apports exogènes d'engrais chimiques.

Toutes ces recommandations contribueront à une utilisation rationnelle des ressources foncières et des intrants chimiques favorisant ainsi une production agricole durable en Côte d'Ivoire.

Les perspectives à court et moyen termes résultant de la présente étude sont les suivantes :

- augmenter la collection de souches de rhizobium nodulant le soja en prospectant des sols de différentes régions de la Côte d'Ivoire ;
- conduire des expérimentations à grande échelle afin de constituer une cartographie pour la production du soja en Côte d'Ivoire en tenant compte du pH du sol ;
- conduire des essais de co-inoculation du soja avec des souches performantes de rhizobium testées dans cette étude ;
- évaluer les apports en éléments nutritifs au sol liés à la culture du soja après inoculation d'isolats locaux de rhizobium, trois (3), six (6) et douze (12) mois après la récolte ;
- Quantifier l'azote fixé par les souches locales de rhizobia avec l'utilisation de l'azote radioactif  $^{15}\text{N}$  ;
- conduire des essais au champ avec les pesticides testés *in vitro* dans le cadre de la présente étude, afin de recommander aux agriculteurs ceux qui n'affecteraient pas l'activité des rhizobia ;
- étudier le pouvoir de ces rhizobia à produire des phytohormones telles que l'acide indole acétique (AIA), la cytokinine, la gibbérelline, etc.) ;
- caractériser avec les outils de la Biologie Moléculaire les rhizobia sélectionnés ;
- déterminer les enzymes responsables de la variation du pH sous culture du soja inoculé avec les rhizobia.

## **REFERENCES**

- Abdel-Fattah I., El-Shaarawi A., Sawsan Z.S., Abou-Taleb M. & Ahmed E.G. (2011). Effect of inorganic nitrogen and *Bradyrhizobium japonicum* inoculation on growth and yield of soybean. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5 (10) : 436-447.
- Abdelnaby M., Elnesairy N.N.B., Mohamed S.H. & Alkhayali Y.A.A. (2015). Symbiotic and Phenotypic Characteristics of Rhizobia Nodulating Cowpea (*Vigna Unguiculata* L. Walp) Grown in Arid Region of Libya (Fezzan). *Journal of Environmental Science and Engineering*, 4 : 227-239.
- Abou-Shanab R.A.I. (2007). Characterization and 16S rDNA Identification of thermotolerant bacteria Isolated from Hot Springs. *Journal of Applied Sciences Research*, 3 (10) : 994-1000.
- Adou Y.B., Goula B.T.A., Kouadio Z.A., Kouakou K.E., Kane A. & Sambou S. (2012). Analyse de la variabilité climatique et quantification des ressources en eau en zone tropicale humide : cas du bassin versant de la Lobo au Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire. *Revue Ivoirienne des Sciences et Technologies*, 19 : 136-157.
- Ahemad M. & Khan M.S. (2011). Reponse of greengram (*Vigna radiata* (L) Wilczek) grown in herbicide-amended soil to inoculation with *Bradyrhizobium* sp (*Vigna*) MRM6. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13 : 1209-1222.
- Ahlijah K. (2016). Response of soybean to rhizobial inoculation and nitrogen management options in the Southern Guinea Savannah zone of Ghana. Master of Philosophy Degree in Soil science, Faculty of Agriculture of the College of Agriculture and Natural Resources, Kwame Nkrumah University of Science and Technology, Kumasi (Ghana), 92 p.
- Ahnia H. (2015). Caractérisation phénotypique des endosymbiontes de *Cytisus* sp. Mémoire de Magister en Science de la Nature, Université A. Mira-Bejaia, Algérie, 78p.
- Ajaz M., Jabeen N., Akhtar S. & Rasool S.A. (2005). Chlorpyrifos resistant bacteria from pakistani soils: isolation, identification, resistance profile and growth kinetics. *Pakistan Journal of Botany*, 37 (2) : 381-388.
- Akédrin T.N., N'Guessan K., Aké-Assi E. & Aké S. (2010). Effet de légumineuses herbacées ou subligneuses sur la productivité du maïs. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 8 (2) : 953-963.
- Al Abboud M.A. (2014). Bioimpact of application of pesticides with plant growth hormone (gibberellic acid) on target and non-target microorganisms. *Journal of Saudi Chemical Society*, 18 : 1005-1010.
- Alam F., Bhuiyan M.A.H., Alam S.S., Waghmode T.R., Kim P.J. & Lee Y.B. (2015). Effect of *Rhizobium* sp. BARIRGm901 inoculation on nodulation, nitrogen fixation and yield of soybean (*Glycine max*) genotypes in gray terrace soil. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 79 : 1660-1668.
- Albareda M., Rodriguez-Navarro D.N. & Temprano F.J. (2009). Inoculation: dose, Nfertilizer supplementation and rhizobial persistence in soil. *Field Crops Research*, 113 : 352-356.
- Aleksandrov V.G., Blagodyr R.N. & Iiiev I.P. (1967). Liberation of phosphoric acid from apatite by silicate bacteria. *Mikrobiology*, 29 : 111-114.

- Alix M., Atiyeh A & Bonnin A. (2016). At lier Santé-Environnement : Les insecticides à usage domestique dans l'habitat. Mémoire d'Ingénieur du Génie Sanitaire, Ecole Nationale de la Santé Publique, Rennes, France, 67 p.
- Ama-Abina T.J., Beugré G.F., N'Gbesso M.F.D.P., Brou N.D. & Yoro G.R. (2012). Effets d'un herbicide et de l'inoculation sur les facteurs de rendement du soja cultivé sur un sol gravillonnaire de plateau. *International Journal of Biological and Chemical Science*, 6 (5) : 1970-1978.
- Amani A.B. (2007). Effect of plant density and urea foliar application on yield and yield component of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 3 (4) : 220-223.
- Ampomah O.Y., Ofori-Ayeh E., Solheim B. & Svenning M.M. (2008). Host range, symbiotic effectiveness and nodulation competitiveness of some indigenous cowpea bradyrhizobia isolates from the transitional savanna zone of Ghana. *African Journal of Biotechnology*, 7 (8) : 988-996.
- Anderson J.M. & Ingram J.S.I. (1993). Tropical Soil Biology and Fertility, A Handbook of Methods, CAB International, Wallingford, UK, 221 p.
- Archana D.S., Nandish M.S., Savalagi V.P. & Alagawadi A.R. (2013). Characterization of potassium solubilizing bacteria (KSB) from rhizosphere soil. *Bioinfolet*, 10 : 248-257.
- Argaw A. (2014). Response of soybean to inoculation with *Bradyrhizobium* spp. in saline soils of Shinille plains, Eastern Ethiopia. *East African Journal of Sciences*, 8 (2) : 79-90.
- Arrese-Igor C., Esther M.G., Daniel M., Ruben L., Estibaliz L. & Erena G.Q. (2011). Physiological response of legume nodules to drought. *Plant stress*, 5 : 24-31.
- Assani B.L.M., Mwangalalo A., Ekondo O.A., Mutomb M., Ilunga T.M. & Kanyenga L.A. (2014). The combination of mineral fertilizer and herbicide on Ferralsol is it an alternative to increase the yield of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by weed management in Lubumbashi, DR Congo? *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 9 : 1765-1772.
- Asuming-Brempong S. & Aferi N.K. (2014). Isolation of phosphate solubilizing bacteria from tropical soil. *Global Advanced Research Journal of Agricultural Science*, 3 (1) : 8-15.
- Aydi S., Sassi S. & Abdelly C. (2008). Growth, nitrogen fixation and ion distribution in *Medicago truncatula* subjected to salt stress. *Plant and Soil*, 312 : 59-67.
- Aynalem B. & Assefa F. (2017). Effect of Glyphosate and Mancozeb on the Rhizobia Isolated from Nodules of *Vicia faba* L. and on Their N<sub>2</sub>-Fixation, North Showa, Amhara Regional State, Ethiopia. *Advances in Biology*, 7 p.
- Bado B.V. (2002). Rôle des légumineuses sur la fertilité des sols ferrugineux tropicaux des zones guin enne et soudanienne du Burkina Faso. Thèse de Doctorat, Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Université Laval (Québec). 197 p.

- Bardiya M.C. & Gaur A.C. (1974). Isolation and screening of microorganisms dissolving low-grade rock phosphate. *Folia Microbiologica*, 19 : 386-389.
- Bau H.M., Villaume C., Giannangeli F., Nicolas J.P. & Mejean L. (2001). Optimisation du chauffage et valeurs nutritionnelle et fonctionnelle des protéines de soja. *Cahiers de nutrition et de diététique*, 36 (2) : 96-102.
- Bélangier E. (1998). Purification et caractérisation des facteurs de nodulation de *Rhizobium* sp. (Oxytropis Arctobla) souche N33. Mémoire pour l'obtention du grade de Maître des Sciences. Université de Laval.
- Beugré F.G., N'Gbesso P.D.F.M., Ama-abina J.T. & Yoro R.G. (2013). Influence d'un herbicide et de l'inoculation des semences sur la croissance du soja [*Glycine max* (L.) merrill] cultivé sur un sol gravillonnaire de plateau. *Agronomie Africaine*, 25 (3) : 221-229.
- Beyerinck M.W. (1888). Die Bacterien der Papilionaceen-Knöllchen. *Botanische Zeitung*, 46 : 725-804.
- Bila N.K., Bonkougou I. & Ouédraogo M. (2009). Etude sur la filière soja au Burkina Faso. Rapport final. APME 2A/HELVETAS, 61 p.
- Billon A., Neyroumande E. & Deshayes C. (2009). Vers plus d'indépendance en soja d'importation pour l'alimentation animale en Europe : Cas de la France. ENESAD et WWF-France, 49 p.
- Bliefert C. & Perraud R. (2001). Chimie de l'environnement : Air, eau, sols, déchets. Ed. De Boeck Université. Paris, (France), 496 p.
- Boivin M.C., Bontemps C., Golfier G., Gris-Liebe C. & Talini L. (2006). Détection et typage du gène *nod C* à l'aide de biopuces à ADN : Perspectives pour l'étude de la diversité et de l'écologie moléculaire des rhizobia. Les Actes du BRG6, pp 97-110.
- Boivin M.C., Giraud E., Perret X. & Batut J. (2009). Establishing nitrogen-fixing symbiosis with legumes : How many rhizobium recipes ? *Trends in Microbiology*, 17 : 458-466.
- Boivin M.C., Giraud E.L.R., Malpica C.A. & Rosenberg C. (1997). Genetic analysis of a region of the *Rhizobium meliloti* pSym plasmid specifying catabolism of trigonelline, a secondary metabolite presente in legumes. *Journal of Bacteriology*, 173 (9) : 2809-2817.
- Bonnemort C., Ferre S. & Storup B. (2001). Soja biologique : organisation de la production agricole et des filières de transformation. *Agronomie*, 47 : 15-27.
- Bontemps C., Rogel M.A., Wiechmann A., Mussabekova A., Moody S., Simon M.F., Moulin L., Elliott G.N., Lacercat-Didier L., Da Silva C., Grether R., Camargo-Ricalde S.L., Chen W., Sprent J.I., Martínez-Romero E., Young J.P.W. & James E.K. (2016). Endemic *Mimosa* species from Mexico prefer alphaproteobacterial rhizobial symbionts. *New Phytologist*, 209 : 319-333.
- Bordeleau L.M. & Prevost D. (1994). Nodulation and nitrogen fixation in extreme environments. *Plant Soil*, 161 : 115-124.

- Boucher D., Elias P., Lininger K., May-Tobin C., Roquemore S. & Saxon E. (2011). What's driving tropical deforestation today? union of concerned scientists, Washington, DC, États-Unis.
- Bremner J.M. (1996). Nitrogen-total. *In* : Methods of soil analysis : Chemical methods part 3. Sparks D.L. (Ed.), Soil Science Society of America Inc, *American Society of Agronomy*, Inc., Madison, Wisconsin, USA : 1085-1122.
- Brewin N J., Downie J.A. & Young J.P.W. (1992). Nodule formation legumes. *Encyclopedia of microbiology*. M.R Josha Lederberg. Rockefeller University New York n°3, pp 239-248.
- Brou Y.T. (2010). Variabilité climatique, déforestation et dynamique agrodémographique en Côte d'Ivoire. *Sécheresse*, 21 (1) : 1-6.
- Brou Y.T., Akindès F. & Bigot S. (2005). La variabilité climatique en Côte d'Ivoire : entre perceptions sociales et réponses agricoles. *Cahiers Agricultures*, 14 (6) : 533-540.
- Broughton W.J., Hernandez G., Blair M., Beebe S., Gepts P. & Vanderleyden J. (2003). Beans (*Phaseolus spp.*) model food legumes. *Plant and Soil*, 252 : 55-128.
- Burton M. & Elkan G. (1985). Multiple antibiotic resistance in *Rhizobium japonicum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 37 : 867-870.
- Caliskan S., Arslan M., Uremis I. & Caliskan M.E. (2007). The effect of row spacing on yield and yield components of full season and double-cropped soybean. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 147-154.
- Caviness C.E. (1966). Estimates of natural cross-pollination in Jackson soybeans in Arkansas. *Crop Science*, 6 : 2-11.
- Chabbi R. (2010). Caractérisation des bactéries isolées à partir du genre *Trigonella* L. (Légumineuses) poussant dans différents écosystèmes de l'Est algérien. Mémoire de Magister, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Mentouri Constantine, Algérie, 126 p.
- Chen W.L., Huang Q.Y. & Xiong X.J. (2004). Distribution and biodiversity of soybean rhizobia in the soils of Shennongjia forest reserve, China. *Biology and Fertility of Soils*, 40 : 306-312.
- Chen W.X., Wang E.T., Wang S., Chen X. & Li Y. (1995). Characteristics of *Rhizobium tianshanense* sp. nov., a moderately and slowly growing root nodule bacterium isolated from an arid saline environment in Xinjiang, People's Republic of China. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 45 : 153-159.
- Chibeba A.M., Kyei-Boahen S., Guimarães M.D.F., Nogueira M.A. & Hungria M. (2017). Isolation, characterization and selection of indigenous Bradyrhizobium strains with outstanding symbiotic performance to increase soybean yields in Mozambique. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 246 : 291-305.

- Cleyet-Marel J.C. (1989). Protocole de prélèvement et de conservation de nodosités récoltés sur les racines de Légumineuses. *In* : fichier technique de fixation symbiotique de l'azote, II RHIZ 1C Rome : FAO, pp 2.
- Cloutier J., Prévost D., Nadeau P. & Antoun H. (1992). Heat and cold shock protein synthesis in arctic and temperate strains of rhizobia. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(9) : 2846-2853.
- CNUCED. (2016). Soja : Un profil de produit de base par INFOCOMM. La CNUCED, Palais des Nations, CH-1211 Genève (Suisse), 25 p.
- Coronado C., Zuanazzi J., Sallaud C., Quirion J.C., Esnault R., Husson H.P., Kondorosi A. & Ratet P. (1995). Alfalfa root flavonoid production is nitrogen regulated. *Plant Physiology*, 108 : 533-542.
- Cronk Q., Ojeda I. & Pennington R.T. (2006). Legume comparative genomics : Progress in phylogenetics and phylogenomics. *Current Opinion in Plant Biology*, 9 : 99-103.
- Curley R.L. & Burton J.C. (1975). Compatibility of *Rhizobium japonicum* with chemical seed protectants. *Agronomy Journal*, 67 : 807-808.
- Dabin B. (1967). Sur une méthode d'analyse du phosphore dans les sols tropicaux. Colloque sur la fertilité des sols tropicaux, Antananarive, Madagascar, 19-25 novembre, n°1 : 99-115.
- Dabin B., Leneuf. & Riou G. (1960). Carte pédologique de la Côte d'Ivoire Au 1/2.000.000. Institut d'Enseignement et de Recherches Tropicales. Adiopodoumé (Côte d'Ivoire). 39 p.
- Davet P. (1996). Vie microbienne du sol et production végétale. Editions INRA, Paris. France. 383 p.
- Debbab M. (2014). Contribution à l'étude de résidus d'une formulation de cyperméthrine dans certains légumes et leur effet sur l'activité antioxydante de ces denrées. Thèse de Doctorat. Université Mohammed V Faculté des Sciences, Rabat (Maroc), 169 p.
- Deheuvels O., Assiri A.A., Pétithuguenin P., Kebé B. I. & Flori A. (2003). Production cacaoyère en Côte d'Ivoire : Etat actuel du verger et pratiques paysannes. *In* : Actes de la 14<sup>ème</sup> conférence internationale sur la recherche cacaoyère (Accra, Ghana, 18-23 octobre 2003), 2, pp. 1157-1166.
- Delvasto P., Valverde A., Ballester A., Muñoz J.A., González F., Blázquez M.L., Igual J.M. & García-Balboa C. (2008). Diversity and activity of phosphate bioleaching bacteria from a high-phosphorus iron ore. *Hydrometallurgy*, 92 : 124-129.
- Demol J., Baudoin J.P., Louant B.P., Maréchal R. & Mergeai G. (2002). Amélioration des plantes application aux principales espèces cultivées en régions tropicales. Les presses agronomiques de Gembloux. Louvain-la-Neuve par communication, 580 p.
- Desgrandchamps F. & Bastien L. (2010). Nutrition, suppléments alimentaires et cancer de la prostate. *Progrès en urologie*, 20 : 560-565.

- Doku E.V. (1969). Host specificity among five species in the cowpea cross-inoculation group. *Plant Soil*, 30 : 126-128.
- Doré C. & Varoquaux F. (2006). Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées. Institut national de la recherche agronomique. Editions Quae, Paris (France), 840 p.
- Doyle J.J. & Luckow M.A. (2003). The rest of the iceberg : Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. *Plant Physiology*, 131 : 900-910.
- Drouin P., Sellami M., Prevost D., Fortin J. & Antoun H. (2010). Tolerance to agricultural pesticides of strains belonging to four genera of *Rhizobiaceae*. *Journal of Environmental Science and Health*, 45 (8) : 757-765.
- Ducroquet H., Tillie P., Louhichi K. & Gomez-Y-Paloma S. (2017). L'agriculture de la Côte d'Ivoire à la loupe : Etat des lieux des filières de production végétales et animales et revue des politiques agricoles. Union Européenne, Luxembourg. 244 p.
- Duhoux E. & Nicole M. (2004). Biologie végétale : Associations et interactions chez les plantes. Edition DUNOD. Paris (France), 20 p.
- Dupuy Y. & Nougier P. (2005). Les micro-organismes: du gène à la biosphère. Ed. Ellipses. Paris, 256 p.
- El Boutahiri N., Thami-Alami I. & Udupa S.M. (2010). Phenotypic and genetic diversity in *Sinorhizobium meliloti* and *S. medicae* from drought and salt affected regions of Morocco. *BMC Microbiology*, 1 : 10-15.
- El Sheikh E.A.E. & Wood M. (1990). *Rhizobia* and *Bradyrhizobia* under salt stress: possible role of trehalose in osmoregulation. *Letters in Applied Microbiology*, 10 : 127-129.
- El-Hilali I. (2006). La symbiose rhizobium-lupin: biodiversité des microsymbiotes et mise en évidence d'une multi-infection nodulaire chez *Lupinus luteus*. Thèse de Doctorat, Faculté des sciences, Université Mohammed V-Agdal, Maroc, 205 p.
- Endres G.J. & Kandel H. (2015). Soybean growth and management. Quick guide, The North Dakota State University extension service, 8 p.
- Eponon C., Snoeck D., Konaté Z., Kassin K.E., Camara M., Légnaté H., Konan A., Cherif M. & Koné D. (2019). Characterization of soil fertility in Coffee (*Coffea* spp) production areas in Côte d'Ivoire. *Research Journal of Agriculture and Forestry Sciences*, 7 (2) : 15-24.
- Esseling J.J., Lhuissier F.G. & Emons A.M. (2003). Nod factor-induced root hair curling: continuous polar growth towards the point of nod factor application. *Plant Physiology*, 132 : 1982-1988.
- Esso L.J. (2009). Dynamique des recettes du café et du cacao en Côte d'Ivoire, Cellule d'Analyse de Politiques Economiques du CIRES, PED N° 10/2008, 18 p.

- Faghire M., Bargaz A., Farissi M., Palma F., Mandri B., Lluch C., Tejera G.N.A., Herrera-Cervera J.A., Oufdou K. & Ghoulam C. (2011). Effect of salinity on nodulation, nitrogen fixation and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris*) inoculated with rhizobial strains isolated from the Haouz region of Morocco. *Symbiosis*, 55 : 69-75.
- FAO. (1995). Perspectives de l'alimentation-N°2 : Graines oléagineuses, huiles et farines d'oléagineux.
- FAO. (2009). Soybean production in Africa : Results of search on FAO database. Rome, Italy, 11 p.
- FAOSTAT. (2018). <http://www.fao.org/faostat>. Données sur le soja. (Consultée le 13 mai 2020).
- Fatharani R. & Rahayu Y S. (2018). Isolation and characterization of potassium-solubilizing bacteria from paddy rhizosphere (*Oryza sativa* L.). *Journal of Physics : Conference Series*, 1108 (1) : 012105.
- Fekadu G., Hussein M. & Getinet A. (2009). Genotype x environment interactions and stability of soybean for grain yield and nutrition quality. *African Crop Science Journal*, 17 (2) : 87-99.
- Ferguson B.J., Indrasumar A., Hayashi S., Lin Y.R., Lin Y.H., Reid D.E. & Gresshoff P.M. (2010). Molecular analysis of legume nodule development and autoregulation. *Journal of Integrative Plant Biology*, 52 : 61-76.
- Floch M.H., Walker W.A., Madsen K., Sanders M.E., Macfarlane G.T., Flint H.J., Dieleman L.A., Ringel Y., Guandalini S., Kelly C.P. & Brandt L.J. (2011). Recommendations for probiotic use. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 45 : 168-171.
- Fortin J., Gagnon-Bertrand E., Vézina L. & Rompré M. (2001). Preferential bromide and pesticide movement to tile drains under different cropping practices. *Journal of Environmental Quality*, 31 (6) : 1940-1952.
- Frank B. (1889). Über die pilzsymbiose der leguminosen. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, 7 : 332-346.
- Fred E.B., Baldwin I.L. & McCoy E. (1932). Root nodule bacteria and leguminous plants. University of Wisconsin Press, Madison, Wis.
- Freud E.H., Pétithuguenin P. & Richard J. (2000). Les champs de cacao : Un défi de compétitivité Afrique-Asie. Editions Karthala et CIRAD. Paris, 207 p.
- Gage D.J. (2004). Infection and invasion of roots by symbiotic, nitrogen-fixing rhizobia during nodulation of temperate legumes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 68 (2) : 280-300.
- Galhem M. (2010). Contribution à l'étude du développement de la culture du soja ; effet du sol et de l'inoculation, rendement et caractérisation des bactéries associées. Mémoire de

- Magister en Biotechnologie à la faculté des Sciences de l'Université d'Oran Es- Sénia (Algérie), 97 p.
- Gee G.W. & Bauder J.W. (1986). Particle-size analysis. *In* : Methods of soil analysis. Part 1 : Physical and mineralogical methods (ed. A. Klute). *American society of Agronomy, Soil Science Society of America*, Madison, WI : 383-411.
- Geetanjali M. & Neera G. (2008). Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30 : 595-618.
- Gigandon C., Jouffret P., Gangnant M., Jung L. & Harel N. (2005). Les points clés de la conduite du soja. Edition CETIOM, Thiverval-Grignon, 19 p.
- Giller E.K., Witter E. & Mc Grath S.P. (1998). Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soil: a review. *Soil Biology and Biochemistry*, 30 : 1389-1414.
- Giller K.E. & Dashiell K.E. (2006). *Glycine max* (L.) Merr, Plant resources of tropical Africa: cereals and pulses. *In: Brink M, Belay, G (eds)*. PROTA Foundation, Wageningen, The Netherlands/Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands/ CTA, Wageningen, The Netherlands : 76-82.
- Giller K.E. (2001). Nitrogen fixation in tropical cropping systems. Second ed. CABI Publishing. Wallingford, UK, 448 p.
- Glenn A.R & Dilworth M.J. 1994). The life of root nodule bacteria in the acid underground. *FEMS Microbiology letters*, 123 : 1-10.
- Gnahoua G.M., Kouassi F.Y., Angui P.K.T., Balle P., Olivier R. & Peltier R. (2008). Effets des jachères à *Acacia mangium*, *Acacia auriculiformis* et *Chromolaena odorata* sur la fertilité du sol et les rendements de l'igname (*Dioscorea* spp.) en zone forestière de Côte d'Ivoire. *Agronomie Africaine*, 20 (3) : 291-301.
- Goldstein A.H. (2007). Future trends in research on microbial phosphate solubilization: one hundred years of insolubility. *In* : Velázquez, E., Rodríguez- Barrueco, C. (Eds.), First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization. Springer, Dordrecht, The Netherlands : 91-96.
- Graham P.H. & Vance C.P. (2003). Legumes : Importance and constraints to greater use. *Plant Physiology*, 131 : 872-877.
- Graham P.H. (1992). Stress tolerance in *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, and nodulation under adverse soil conditions. *Canadian Journal of Microbiology*, 38 (6) : 475-484.
- Graham P.H. (1994). Legume nodule symbiosis. *In* : Methods of soil analysis. Part 2. Microbiol and Biochemical properties book series n°5 : 199-222.

- Guignard J.L. & Dupont F. (2005). Botanique. 13<sup>ème</sup> Edition, Masson. Spret, Paris (France) : 164-179.
- Guillaumet J.-L. & Adjanohoun E. (1971). La végétation de la Côte d'Ivoire. In : Avenard J. M., Eldin E., Girard G., Sircoulon J., Touchebeuf P., Guillaumet J.-L., Adjanohoun E., Perraud A. (eds). Le milieu naturel de la Côte d'Ivoire. ORSTOM., Paris : 157-266.
- Gunnabo A.H., Geurts R., Wolde-meskel E., Degefu T., Gille K.E. & van Heerwaarden J. (2019). Genetic interaction studies reveal superior performance of *Rhizobium tropici* CIAT899 on a range of diverse East African common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. *Applied and Environmental Microbiology*, 85 (24) : 1-56.
- Gyaneshwar P., Kumar G.N. & Parekh L.J. (2002). Effect of buffering on the phosphate solubilizing ability of microorganisms. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 14 : 669-673.
- Gyogluu C., Jaiswal S.K., Kyei-Boahen S. & Dakora F.D. (2018). Identification and distribution of microsymbionts associated with soybean nodulation in Mozambican soils. *Systematic and Applied Microbiology*, 41 : 506-515.
- Habibi S., Ayubi A.G., Ohkama-Ohtsu N., Sekimoto H. & Yokoyama T. (2017). Genetic characterization of soybean rhizobia isolated from different ecological zones in North-Eastern Afghanistan. *Microbes and Environments*, 32 (1) : 71-79.
- Habtegebrial K. & Singh B.R. (2006). Wheat responses in semiarid northern Ethiopia to N<sub>2</sub> fixation by *Pisum sativum* treated with phosphorus fertilizers and inoculants. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 75 : 247-255.
- Hajjam Y. (2017). Contribution à l'évaluation des performances des rhizobia nodulant la fève (*Vicia faba* L.) Au Maroc à solubiliser le phosphate inorganique. Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences de Rabat, Université Mohamed V-Agdal, Maroc, 199 p.
- Hajjam Y., Alami I.T., Udupa S.M. & Cherkaoui S. (2016). Isolation and evaluation of phosphate solubilizing rhizobia from root nodules of faba bean (*Vicia faba* L.) in Morocco. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 7 (11) : 4000-4010.
- Hinojosa M.B., Carreira J.A., García-Ruíz R. & Dick R.P. (2005). Microbial response to heavy metal polluted soils. *Journal of Environmental Quality*, 34 : 1789-1800.
- Hopkins W.G. (2003). Physiologie végétale 2<sup>e</sup> édition. De Boeck Université, Bruxelles (Belgique), 495 p.
- Hossain A.K.M.M., Mian M.H., Hakim M.A., Islam M.M. & Ferdous J. (2012). Isolation and selection of *Bradyrhizobium* from the root nodules of indigo plants (*Indigofera tinctoria* L.). *African Journal of Biotechnology*, 11 (58) : 12183-12191.

- Hu X.F., Chen J. & Guo J. F. (2006). Two phosphate and potassium solubilizing bacterial isolated from Tiannu Mountain, Zhejiang, China. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22 : 983-990.
- Hu Y. & Schmidhalter U. (2001). Reduced cellular crosssectional area in the leaf elongation zone of wheat causes a decrease in dry weight deposition under saline conditions. *Australian Journal of Plant Physiology*, 28 : 165-170.
- Hung M.H., Bhagwath A.A., Shen F.T., Devasya R.P. & Young C.C. (2005). Indigenous rhizobia associated with native shrubby legumes in Taiwan. *Pedobiologia*, 49 (6) : 577-584.
- Hungria M. & Vargas M.A.T. (2000). Environmental factors affecting Nitrogen fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. *Field Crops Research*, 65 : 151-164.
- Hymowitz T. & Harlan J.R. (1983). Introduction of soybeans to North America by Samuel Bowen in 1765. *Economic Botany*, 37 : 371-379.
- Hymowitz T. & Shurtleff W.R. (2005). Debunking soybean myths and legends in the historical and popular literature. *Crop Science*, 45 : 473-476.
- Hymowitz T. (1970). On the domestication of the soybean. *Economic Botany*, 24 : 408-421.
- Hymowitz T. (2004). Speciation and cytogenetics. In : Boerma HR, Specht JE (eds) *Soybeans : Improvement, Production and Uses*. Agronomy Monographs, 3<sup>rd</sup> ed. No.16, ASACSSA-SSSA, Madison, WI : 97-136.
- IITA. (1986). Grain Legume improvement program. Rapport annuel 1985. International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan (Nigeria), 38 p.
- INS. (2015). Répertoire des localités: Région du Lôh-Djiboua. Recensement Général de la Population et de l'Habitat (RGPH) 2014, 33 p.
- Jadhav R.N. (2013). Isolation of rhizobia from soybean cultivated in latur area and study of its phosphate solubilization activity. *Bioscience Discovery*, 4 (1) : 100-103.
- Jarecki W., Buczek J. & Bobrecka-Jamro D. (2016). Response of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) to bacterial soil inoculants and foliar fertilization. *Plant Soil and Environment*, 62 (9) : 422-427.
- Jarvis B.D.W., Van Berkum P., Chen W.X., Nour S.M., Fernandez M.P. & Cleyet-Marel J.C. (1997). Transfer of *Rhizobium loti*, *Rhizobium huakuii*, *Rhizobium ciceri*, *Rhizobium mediterraneum* and *Rhizobium tianshanense* to *Mesorhizobium* Gen. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 47 : 895-898.
- Javaheri F. & Baudoin J.P. (2001). Le soja. In : Agriculture en Afrique tropicale. Raemaerkers R.H (ed), Brussels, (Belgique) : 860-882.

- Jiries A.G., Al Nasir F.M. & Beese F. (2002). Pesticide and heavy metals residue in wastewater, soil and plants in wastewater disposal site near Al-Lajoun Valley, Karak / Jordan. *Water, Air and Soil Pollution*, 133 : 97–107.
- Jordan D.C. (1982). Transfer of *rhizobium japonicum* Buchanan 1980 to *Bradyrhizobium* gen. nov, a genus of slow growing root nodule bacteria from leguminous plants. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 32 : 136-139.
- Jordan D.C. (1984). Genus I, Rhizobium. In : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1. ed. Holt J.G. & Kreig N. R. The Williams & Wilkins Co., Baltimore : 235-242.
- Kapembwa R., Mweetwa A.M., Ngulube M. & Yengwe J. (2016). Morphological and biochemical characterization of soybean nodulating rhizobia indigenous to Zambia. *Sustainable Agriculture Research*, 5 (3) : 84-92.
- Karaboneye F. (2013). Caractérisation de l'efficacité symbiotique des lignées africaines de soja à haute promiscuité. Mémoire de Maîtrise en Biologie. Université de Laval, Québec, Canada, 123 p.
- Kassin K.E. (2009). Etudes de conditions pédoclimatiques pour la replantation cacaoyère au centre-ouest de la Côte d'Ivoire: cas des départements de Divo et Gagnoa. Thèse de Doctorat unique, UFR STRM, Université de Cocody, Abidjan, Côte d'Ivoire, 112 p.
- Kassin K.E., Doffangui K., Kouamé B., Yoro G.R. & Assa A. (2008). Variabilité pluviométrique et perspectives pour la replantation cacaoyère dans le Centre Ouest de la Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 12 : 633-641.
- Katznelson H., Peterson E.A. & Rovatt J.W. (1962). Phosphate dissolving microorganisms on seed and in the root zone of plants. *Canadian Journal of Botany*, 40 : 1181-1186.
- Kéli Z.J., Assiri A.A., Koffi N., N'Goran J. & Kébé B.I. (2005). Evolution de l'amélioration variétale du cacaoyer et des systèmes de production de la cacaoculture en Côte d'Ivoire. *Sciences & Nature*, 2 (2) : 209-218.
- Keneni A., Assefa F. & Prabu P.C. (2010). Isolation of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of faba bean of Ethiopia and their abilities on solubilization insoluble phosphates. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 12 : 79-89.
- Khan M.A., Iqbal Z., Sarwar M., Nisa M., Khan M.S., Lee W.S., Lee H.J. & Kim H.S. (2006). Urea treated corncobs ensiled with or without additives for buffaloes: ruminal characteristics, digestibility and nitrogen metabolism. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 19 (5) : 705-712.
- Koffie-Bikpo C.Y. & Kra K.S. (2013). La région du Haut-Sassandra dans la distribution des produits vivriers agricoles en Côte d'Ivoire. *Revue de Géographie Tropicale et d'Environnement*, 2 : 95-103.

- Koko L.K., Kassin K.E., Yoro G., N’Goran K., Assiri A.A. & Yao-Kouamé A. (2009). Corrélations entre le vieillissement précoce des cacaoyers et les caractéristiques morpho-pédologiques dans le sud-ouest de la Côte d’Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 24 : 1508-1519.
- Koli B.Z. (1990). Le front pionnier et l’évaluation récente des paysages forestiers dans le Sud-Ouest ivoirien. *In* : Richard J.F. La dégradation des paysages en Afrique de l’Ouest. Paris, Coopération française ; Union Internationale pour la Protection de la Nature (UICN), ORSTOM-Endar.
- Konaté I. (2007). Diversité Phénotypique et Moléculaire du Caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) et des Bactéries Endophytes qui lui sont Associées. Thèse de Doctorat d’Etat Es-Sciences. Université Mohammed V, Rabat (Maroc), 196 p.
- Konaté I., Amani K., Koffi M., Doumbia M.L., Berraho E.B., Filali-Maltouf.A. & Kouadio Y.J. (2015c). Influence of herbicides on symbiotic bacteria survival, growth and nodulation of legume niébé (*Phaseolus vulgaris*) in Center-West of Côte d’Ivoire. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 4 (2) : 2319-1473.
- Konaté I., Amani K., Koffi M., Guei R.N.K., Ouattara A, Tonessia C.D., Abdelkarim F. M. & Akaffou D.S. (2015b). Effect of herbicides on rhizobacteria density in experimental fields and on bacterial strains survival *in-vitro*. *International Journal of Current Research*, 5 : 16361-16365.
- Konaté I., Koulibaly A., Koffi M., Sorouri A., Berraho E.B. & Filali-Maltouf A. (2014). Phenotypic variations of endophytic bacteria associated with carob tree (*Ceratonia siliqua* L.). *American Journal of Lifes Sciences*, 2 : 325-332.
- Konaté I., Ouattara A., Coulibaly B., Guei N.K.R., Amani K., Kouakou I.K., Filali-Maltouf A. & Koffi M. (2015d). Phenotypic diversity of associative bacteria isolated from roots and stems of cacao (*Theobroma cacao*) tree in Daloa, Côte d’Ivoire. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4 : 560-570.
- Konaté Z., Abobi H.D.A., Soko F.D. & Yao-Kouame A. (2018). Effets de la fertilisation des sols à l’aide des déchets ménagers solides compostés dans les décharges sur le rendement et la qualité chimique de la laitue (*Lactuca sativa* L.). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12 (4): 1611-1625.
- Konaté Z., Assiri A.A., Messoum F.G., Sékou A., Camara M. & Yao-Kouamé A. (2015a). Antécédents cultureux et identification de quelques pratiques paysannes en replantation cacaoyère en Côte d’Ivoire. *Agronomie Africaine*, 27 (3) : 301-314.
- Konaté Z., Gala Bi T.J., Messoum F.G., Sekou A., Yao-Kouamé A., Camara M. & Kéli Z.J. (2012). Alternatives à la fertilisation minérale des sols en riziculture pluviale de plateau : apports des cultures du soja et du niébé dans la fertilité d’un ferralsol hyperdystrique au Centre-Ouest de la Côte d’Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 54 : 3859-3869.

- Kondorosi E. & Kondorosi A. (2000). Control of root nodule organogenesis. *In: Prokaryotic nitrogen fixation: a model system for the analysis of a biological process*. Triplett, Horizon Scientific Press, Wymondham, UK :
- Koné M., Kouadio Y.L., Neuba D.F.R., Malan D.F. & Coulibaly L. (2014). Évolution de la couverture forestière de la Côte d'Ivoire des années 1960 au début du 21<sup>ème</sup> siècle. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 7 (2) : 782-794.
- Kouadio K.P., Yoboué K.E., Kouadio K.K.H., Bini Y.Y.P. & Yao-Kouamé A. (2019). Caractéristiques morpho-pédologiques des sols d'Ahoué dans la Sous-Préfecture de Brofodoumé, Sud-Est Côte d'Ivoire. *Afrique Science*, 15 (5) : 140-150.
- Kouamé C., N'Gbesso M., Adako M. & Tahouo O. (2007). Bien cultiver le soja en Côte d'Ivoire. Fiche technique, CNRA, 4 p.
- Kouamé N.F. & Zoro Bi I.A. (2010). Nouveau découpage de la zone de forêt dense humide de la Côte d'Ivoire. *Sciences & Nature*, 7 (2) : 177-194.
- Kouassi N.J., Tonessia D.C., Seu J.G., Soko D.F. & Ayolié K. (2016). Influence du décalage de semis du maïs (*Zea mays* L.) et du bambara groundnut (*Vigna subterranea* (L.) Verdc.) sur leur production en zone savanicole de la Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 102 : 9745-9755.
- Kovda V.A. (1983). Loss of productive land due to salinization. *Ambio*, 12 : 91-93.
- Kozieł M., Gębala B. & Martyniuk S. (2013). Response of soybean to seed inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and with mixed inoculants of *B. japonicum* and *Azotobacter chroococcum*. *Polish Journal of Microbiology*, 62 (4) : 457-460.
- Kuklinsky-Sobral J., Araujo W.L., Mendes R., Geraldi I.O., Pizzirani-Kleiner A.A. & Azevedo J.L. (2004). Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion. *Environmental Microbiology*, 6 : 1244-1251.
- Kumar N.R. & Reddy R S. (2018). Screening of *Bradyrhizobial* Isolates for plant growth promoting properties *in vitro* conditions. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*, 7 (10) : 2232-2237.
- Kumar P & Dubey R.C. (2012). Plant growth promoting rhizobacteria for biocontrol of phytopathogens and yield enhancement of phaseolus vulgaris. *Journal of Current Perspectives in Applied Microbiology*, 1 : 6-38.
- Kuykendall L.D., Saxena B., Cevine T.E. & Udell S.E. (1992). Genetic diversity in *Bradyrhizobium* Jordan 1982 and a proposal for *Bradyrhizobium elkanii* sp. nov. *Canadian Journal of Microbiology*, 38 : 501-505.
- Labalette F. & Jouffret P. (2014). Le soja, un atout pour nos territoires : Situation et avenir d'une production en pleine évolution. Colloque national Soja. Toulouse, 18 p.

- Labat E. (2013). Le soja : Influence de sa consommation sur la santé humaine et conséquences de l'expansion de sa culture au niveau mondial. Thèse de Doctorat. Faculté des Sciences Pharmaceutiques, Toulouse (France). 104 p.
- Lajudie P., Willems A., Nick G., Mohamed S.H., Torck U. & Coopman R. (1999). Characterization of *Agrobacterium* bv. strains isolated from nodules of tropical legumes. *Systematic and Applied Microbiology*, 22 : 119-132.
- Lamptey S., Ahiabor B.D.K., Yeboah S. & Asamoah C. (2014). Response of soybean (*Glycine max*) to rhizobial inoculation and phosphorus application. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 2 (1) : 72-77.
- Lee S.J., Ahn J.K., Khanh T.D., Chun S.C., Kim S.L., Ro H.M., Song H.K. & Chung I.M. (2007). Comparison of isoflavone concentrations in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) sprouts grown under two different light conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (23) : 9415-9421.
- Lemaire B., Dlodlo O., Chimphango S., Stirton C., Schrire B., Boatwright J.S., Honnay O., Smets E., Sprent J., James E.K. & Muasya A.M. (2015). Symbiotic diversity, specificity and distribution of rhizobia in native legumes of the Core Cape Subregion (South Africa). *FEMS Microbiology Ecology*, 91 (2) : 1-17.
- Léveque C & Mounolou J.C. (2001). Biodiversité: Dynamique biologique et conservation. Ed. Dunod. Paris, 248 p.
- Liu D., Lian B. & Dong H. (2012). Isolation of *Paenibacillus* sp. and assessment of its potential for enhancing mineral weathering. *Geomicrobiology Journal*, 29 : 413-421.
- Liu Y.Y. & Xiong Y. (2001). Purification and characterization of a dimethoate-degrading enzyme of *Aspergillus niger* ZHY256 isolated from sewage. *Applied and Environmental Microbiology*, 67 : 3746-3749.
- Lopez M., Herrera-Cervera J.A., Iribarne C., Tejera N.A. & Lluch C. (2008). Growth and nitrogen fixation in *Lotus japonicus* and *Medicago truncatula* under NaCl stress : Nodule carbon metabolism. *Journal of Plant Physiology*, 165 : 641-650.
- Loué A. (1993). Oligo-éléments en agriculture. Ed. Nathan : 45-177.
- Maâtallah J., Berraho E.B., Munoz S., Sanjuan J. & Lluch C. (2002). Phenotypic characterization of rhizobia isolated from chickpea (*Cicer arietinum* L.) growing in Moroccan soils. *Agronomie*, 22 : 321-329.
- Machrafi Y. (2001). Inhibition de la symbiose Rhizobium-Légumineuse par les acides phénoliques provenant des écorces de résineux. Mémoire pour l'obtention du grade de maître des sciences. Université Laval, 108 p.

- Madhaiyan M., Poonguzhali S., Hari K., Saravanan V.S. & Tongmin S. (2006). Influence of pesticides on the growth rate and plant-growth promoting traits of *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 84 : 143–154.
- Madigan M. & Martink J. (2007). *Biologie des micro-organismes*. Ed. Pearson. Paris (France), 1047 p.
- Mahamood J., Abayomi Y.A. & Aduloju M.O. (2009). Comparative growth and grain yield responses of soybean genotypes to phosphorous fertilizer application. *African Journal of Biotechnology*, 8 (6) : 1030-1036.
- Maliha R., Khalil S., Ayub N., Alam S. & Latif F. (2004). Organic acids production and phosphate solubilization by phosphate solubilizing microorganisms under in vitro conditions. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7 : 187-196.
- Maougal R.T. (2004). Techniques de production d'inoculum Rhizobial. Etude de cas pois chiche (*Cicer arietinum*. L) : Inoculation et nodulation. Mémoire de Magister, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Mentouri Constantine, Algérie, 163 p.
- Marschner H. (1995). Nutrient availability in soils. *In* : Mineral nutrition of higher plants Eds, Academic Press, London, UK : 483-507.
- McGrath S.P., Chaudri A.M. & Giller K.E. (1995). Long term effects of land application of sewage sludge: soils, microorganisms and plants. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 14 : 94-104.
- Meek B.D., Graham L.E., Donova T.J. & Mayberry K.S. (2001). Phosphorus availability in calcareous soil after high loading rates of animal manure. *Soil Science Society of America, Proceedings*, 43 : 741-744.
- Merabet C., Bekki A., Benrabah N., Baba A.B.M., Bouchentouf I. Ameziane H., Rezki M.A., Domerg O., Cleyet-Marel J.C., Avarrej.C., Bèna G., Bailly X. & De Lajudie P. (2006). Distribution of medicago species and their microsymbionts in a saline region of Algeria. *Arid Land Research and management*, 20 : 1-13.
- Meynard J.M. & Cresson C. (2011). Le conseil scientifique de l'Agriculture Biologique identifie huit priorités de recherche-développement. *Notes et Etudes Socio-Economiques*, 35 : 27-40.
- Meynard J.M. & Cresson C. (2011). Le conseil scientifique de l'Agriculture Biologique identifie huit priorités de recherche-développement. *Notes et Etudes Socio-Economiques*, 35 : 27-40.
- Mhamdi R., Mrabet M., Laguerre G., Tiwari R. & Aouani M.E. (2005). Colonisation of *Phaseolus vulgaris* nodules by Agrobacterium-like strains. *Canadian Journal of Microbiology*, 51 : 105-111.

- Michiels J., Verreth C. & Vanderleyden J. (1994). Effects of Temperature Stress on Bean-Nodulating *Rhizobium* Strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 60 : 1206-1212.
- MINAGRI. (2008). Mission de suivi de la saison agricole et de la sécurité alimentaire de l'année 2007. Rapport de mission. 65 p.
- MINAGRI. (2010). Annuaire des statistiques agricoles. Direction des statistiques, de la documentation et de l'informatique, Abidjan, 73 p.
- Moawad H., Abd El-Rahim W.M., Shawky H., Higazy A.M. & Daw Zakaria Y. (2014). Evidence of Fungicides Degradation by Rhizobia, *Agricultural Sciences*, 5 : 618-624.
- Moffett B.F., Nicholson F.A., Uwakwe N.C., Chambers B.J., Harris J.A. & Hill T.C.J. (2003). Zinc contamination decreases the bacterial diversity of agricultural soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 43 : 13-19.
- Mohamad R. & Al- naser Z. (2018). Effect of pesticides and essential oils in the growth of rhizobial isolated from nodules of some leguminous plants *in vitro*. *The Arab Journal for Arid Environments*, 1 : 111-117.
- Mouhouche B. (2007). Manuelle sur la conduite de la culture de soja (*G. max*. L.Merr). Manuelle de formation, Société Agro Industrielle, Algerie, 10 p.
- MPD. (2016). Etudes monographiques et économiques des Districts de Côte d'Ivoire (PEMED-CI) : District du Gôh-Djiboua. Note de synthèse, 67 p.
- Mpeperek S., Javaheri F., Davis P. & Giller K. E. (2000). Soybeans and sustainable agriculture : Promiscuous soybeans in southern Africa. *Field Crops Research*, 65(2) : 137-149.
- Murphy J. & Riley J.P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27 : 31-36.
- N'Gbesso M.F., N'guetta A.S.P., Kouamé N. & Foua B.K. (2010). Evaluation de l'efficience de l'inoculation des semences chez 11 génotypes de soja (*Glycine max* L. Merrill) en zone de savane de Côte d'Ivoire. *Science & Nature*, 7 (1) : 1812-0741.
- N'Gbesso M.F.D.P. (2011). Evaluation et amélioration de la productivité de lignées de soja [*Glycine max* (L.) merrill] par les techniques d'inoculation et de conservation des semences. Thèse de Doctorat, Laboratoire de Génétique, Université Félix HOUPHOUËT- BOIGNY, Côte d'Ivoire. 193 p.
- N'Gbesso M.F.D.P., Fondio L., Coulibaly N.D. & Kouame N.C. (2017). Efficacité symbiotique de cinq souches locales de rhizobiums sur les paramètres de croissance du soja. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11 (5) : 2327-2340.

- N’Goran K.E., Kassin K.E., Brou K.J., Messoum F.G., Brou K. & Brou N.D. (2018). Diagnostic de l’état de fertilité des sols sous culture cotonnière dans les principaux bassins de production de Côte d’Ivoire. *European Scientific Journal*, 14 (33) : 221-238.
- N’Goran K.E., Kassin K.E., Zohouri G.P., N’Gbesso M.F.D.P. & Yoro G.R. (2011). Performances agronomiques des associations culturales igname-légumineuses alimentaires dans le Centre-Ouest de la Côte d’Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 43 : 2915-2923.
- N’Zi J.C., Koua A.P., Kouassi K.D., Kahia J., Kouassi J.L., N’Guetta A.S.P. & Kouamé C. (2015). Effect of inoculating seeds with *Bradyrhizobium japonicum* on the agronomic performance of five varieties of soybean (*Glycine max*) in Côte d’Ivoire. *African Journal of Agricultural Research*, 10 (37) : 3671-3677.
- N’Zoué A., Kouamé C., Mondeil F. & N’Gbesso M. (2003). Analyse agromorphologique de deux lignées de soja (*Glycine max* L. Merr.). *Agronomie Africaine*, 15 (3) : 93-104.
- Nandal K., Sehrawat A.R., Yadav A.S., Vashishat R.K. & Boora K.S. (2005). High temperature-induced changes in exopolysaccharides, lipopolysaccharides and protein profile of heat-resistant mutants of *Rhizobium sp. (Cajanus)*. *Microbiological Research*, 160 : 367-373.
- Nautiyal C.S. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology letters*, 170 : 265-270.
- Ndiaye O., Diop A.T., Akpo L.E. & Diène M. (2014). Dynamique de la teneur en carbone et en azote des sols dans les systèmes d’exploitation du Ferlo : Cas du CRZ de Dahra. *Journal of Applied Biosciences*, 83 : 7554-7569.
- Nzabi A.W., Makini F. Mutai E. Gesare M. & Mgwagi G. (2000). Influence of indigenous and introduced rhizobia strains on soybean grain yield in South West Kenya. Kenya Agricultural Research Center, Kisii, 7p.
- Okogun J.A., Otuyemi B.T. & Sanginga N. (2004). Soybean yield determinants and response to rhizobial inoculation in an on-farm trial in the northern Guinea savanna of Nigeria. *West African Journal of Applied Ecology*, 6 : 30-39.
- Oldroyd G.E., Engstrom E.M. & Long S.R. (2001). Ethylene inhibits the Nod factor signal transduction pathway of *Medicago truncatula*. *Plant Cell*, 13(18) : 35-49.
- Osunde A.O., Gwam S., Bala A., Sanginga N. & Okogun J.A. (2003). Responses to rhizobial inoculation by two promiscuous soybean cultivars in soils of the southern Guinea savanna of Nigeria. *Biological Fertility of Soils*, 37 : 274-279.
- Ouattara A., Coulibaly K., Konate I., Kebe B.I., Tidou A.S. & Filali-Maltouf A. (2019). Selection of cocoa tree (*Theobroma cacao* Linn) endophytic bacteria solubilizing tri-calcium phosphate, isolated from seedlings grown on soils of six producing regions of Cote d’Ivoire. *Advances in Microbiology*, 9 : 842-852.

- Päivinen R., Pitkanen J. & Witt R. (1992). Mapping closed forest cover in West Africa, using NOAA/AVHRR-LAC data. *Silva Carelica*, 21 : 27-51.
- Pansu M. & Gautheryou J. (2003). Handbook of soil analysis mineralogical, organic and inorganic methods. Springer-Verlag, Berlin, 995 p.
- Parmar P. & Sindhu S.S. (2013). Potassium solubilization by rhizosphere bacteria : Influence of nutritional and environmental conditions. *Journal of Microbiology Research*, 3 : 25-31.
- Parsa M., Aliverdi A. & Hammami H. (2013). Effect of the recommended and optimized doses of haloxyfop-P-methyl or imazethapyr on soybean-*Bradyrhizobium japonicum* symbiosis. *Industrial Crops and Products*, 50 : 197-202.
- Patra R.K., Pant L.M. & Pradhan K. (2012). Response of soybean to inoculation with rhizobial strains : Effect on growth, yield, N uptake and soil N status. *World Journal of Agricultural Science*, 8 (1) : 51-54.
- Patriarca E.J., Tate R., Ferraioli S. & Iaccarino M. (2004). Organogenesis of legume root nodules. *International Review of Cytology*, 234 : 201-222.
- Pazdernik D.L., Vance C.P., Sadowsky M.J & Graham P.H. (1997). A host controlled, serogroup-specific, ineffective-nodulation system in the *Bradyrhizobium*-soybean (*Glycine max*) symbiosis. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 10 : 994-1001.
- Pelmont J. (2005). Biodégradations et métabolismes : Les bactéries pour les technologies de l'environnement. Ed. EDP Sciences, France, 798 p.
- Peris P.G., Parón L., Velasco C., Cuerda C., Camblor M., Bretón I., Herencia H., Verdaguer J., Navarro C. & Clave P. (2017). Long-term prevalence of oropharyngeal dysphagia in head and neck cancer patients : Impact on quality of life. *Clinical Nutrition*, 26 (6) : 710-717.
- Perraud A. (1967). Etude de reboisement et de protection des sols : Notice explicative de l'esquisse pédologique au 1/500.0000. ORSTM. Centre d'Adiopodoumé, Côte d'Ivoire, 100 p.
- Perry J.J., Staley J.J. & Lory S. (2004). Microbiologie : Cours et questions de révision. Ed. Dunod. Paris (France), 891 p.
- Pettigrew W.T. (2008). Potassium influences on yield and quality production for maize, wheat, soybean and cotton. *Physiology Plant*, 133 : 670-681.
- Pikovskaya R.I. (1948). Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Microbiological*, 17 : 362-370.
- Pratama D. & Anas S. (2016). Ability of Potassium-solubilising microbes to solubilise Feldspar and their effects on sorghum growth. *Malaysian Journal of Soil Science*, 20 : 163-175.
- PRICI. (2016). Cadre de Gestion Environnementale et Sociale (CGES), financement additionnel au projet d'urgence de renaissance des infrastructures. Rapport final. 204 p.

- Qiao W.H., Zhao X.Y., Li W., Luo Y. & Zhang X.S. (2007). Overexpression of AeNHX1, a root-specific vacuolar Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter from *Agropyron elongatum*, confers salt tolerance to *Arabidopsis* and *Festuca* plants. *Plant Cell Reports*, 26 (9) : 1663-1672.
- Qiu L.J. & Chang R.Z (2010). The origin and history of soybean. In : Singh G, The soybean : botany, production and uses. CABI international Wallingford UK : 1-23.
- Rahmani H.A., Saleh-rastin N., Khavazi K., Asgharzadeh A., Fewer D., Kiani S. & Lindström K. (2009). Selection of thermotolerant bradyrhizobial strains for nodulation of soybean (*Glycine max* L.) in semi-arid regions of Iran. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25 : 591-600.
- Rasanen L. (2002). Biotic and abiotic factors influencing the development of N<sub>2</sub>-fixing symbioses between rhizobia and the woody legumes *Acacia* and *Prosopis*. Thèse de doctorat de l'université de Helsinki. Finland Oldroyd, 220p.
- Raven P.H., Evert R.F. & Eichhorn S. (2007). Biologie végétale. 2e édition. Edition de boeck. Paris (France) : 653-660.
- Raza S., Jornsgard B., Abou-Taleb H. & Christiansen J. L. (2001). Tolerance of *Bradyrhizobium* sp. (*Lupini*) strains to salinity, pH, CaCO<sub>3</sub> and antibiotics. *Letters in applied microbiology*, 32 (6) : 379-383.
- Reva O.N., Smirnov V.V., Pettersson B. & Priest F.G. (2002). *Bacillus endophyticus* sp. nov., isolated from the inner tissues of cotton plants (*Gossypium* sp.). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52 : 101-107.
- Rfaki A., Nassiri L. & Ibjibjen J. (2014). Genetic diversity and phosphate solubilizing ability of *Triticum aestivum* rhizobacteria isolated from Meknes region, Morocco. *African Journal of Microbiology Research*, 8 : 1931-1938.
- Riadi Y., El Haddad M., Mamouni R., Ramli Y., Akssira M., Fechtali T., El Antri S. & Lazar S. (2010). Determination of kinetics of degradation and mobility of Dithiocarbamates fungicides in water and in Moroccan soil. *Chimie și Inginerie Chimică, Biotehnologii, Industrie Alimentară*, 11 (2) : 289-297.
- Richardson A.E., Hocking P.J., Simpson R.J. & George T.S. (2009). Plant mechanisms to optimize access to soil phosphorus. CSIRO Publishing. *Crop and Pasture Science*, 60 : 124-143.
- Rogers J.R., Bennett P.C. & Choi W.J. (1998). Feldspars as a source of nutrients for microorganisms. *American Mineralogy*, 83 : 1532-1540.
- Roumet P., Rooryck S., Sartre P. & Tavaud-Pirra M. (2010). La sélection du soja en France : Quel état des lieux ? *Innovations Agronomiques*, 11 : 175-186.
- Ruiz-Diez B., Fajardo S., Puertas-Mejia M.A., Felipe M.D.R. & Fernandez-Pascual M. (2009). Stress tolerance, genetic analysis and symbiotic properties of root-nodulating bacteria

- isolated from Mediterranean leguminous shrubs in Central Spain. *Archives of Microbiology*, 191 : 35-46.
- Sachs J.L., Ehinger M.O. & Simms E.L. (2010). Origins of cheating and loss of symbiosis in wild *Bradyrhizobium*. *Journal of Evolutionary Biology*, 23 : 1075-1089.
- Sadowsky M.J. (2005). Soil stress factors influencing symbiotic nitrogen fixation. In : Werner D, Newton WE (Ed) Nitrogen fixation in agriculture, forestry, ecology, and the environment. Springer. The Netherlands : 89-112.
- Saeki Y., Akagi I., Takaki H. & Nagatomo Y. (2000). Diversity of indigenous *Bradyrhizobium* strains isolated from three different *Rj*-soybean cultivars in terms of randomly amplified polymorphic DNA and intrinsic antibiotic resistance. *Soil Science & Plant Nutrition*, 46 : 917-926.
- Salehi M., Salehi F., Poustini K. & Heidari-Sharifabad H. (2008). The effect of salinity on the nitrogen fixation in four cultivars of *Medicago sativa* L. in the seedling emergence stage. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 4 : 413-415.
- Santos M.A., Nicola's M.F. & Hungria M. (2006). Identification of QTL associated with the symbiosis of *Bradyrhizobium japonicum*, *B. elkanii* and soybean. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 41 : 67-75.
- Sarnaik S.S., Kanekar P.P., Raut V.M., Taware S.P., Chavan K.S. & Bhadbhade B.J. (2006). Effect of application of different pesticides to soybean on the soil microflora. *Journal of Environmental Biology*, 27 (2) : 423-426.
- Savka M.A., Dessaux Y., Oger P. & Rossbach S. (2002). Engineering bacterial competitiveness and persistence in the phytosphere. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 15 : 866-874.
- Sawada H.L., Kuykendall D. & Young J.M. (2003). Changing concepts in the systematics of bacterial nitrogen-fixing legume symbionts. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 49 (3) : 155-179.
- Scholla M.H. & Elkan G.H. (1984). *Rhizobium fredii* sp. nov., a fast-growing species that effectively nodulates soybeans. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 34 : 484-486.
- Sebihi F.Z. (2008). Les bactéries nodulant les légumineuses (B.N.L) : caractérisation des bactéries associées aux nodules de la Légumineuse Fourragère, *Hedysarum perrauderianum*. Mémoire de Magister, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Mentouri Constantine, Algérie, 121 p.
- Shahid Q.M., Saleem M.F., Khan H.Z. & Anjum S.A. (2009). Performance of soybean (*Glycine max* L.) under different phosphorus levels and inoculation. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 46 (4) : 237-241.

- Shanware A.S., Kalkar S.A. & Trivedi M.M. (2014). Potassium solubilisers: Occurrence, mechanism and their role as competent biofertilizers. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3 (9) : 622-629.
- Sharma K. (2005). Isolation, Purification and Identification of Bacteria. *In* : Manual of Microbiology. *Ane Books Pub. New Delhi*, 41 p.
- Sharma M.P., Srivastava K. & Sharma S.K. (2010). Biochemical characterization and metabolic diversity of soybean rhizobia isolated from Malwa region of Central India. *Plant Soil & Environment*, 56 (8) : 375-383.
- Shurtlef W. & Aoyagi A. (2009). History of soy and soyfood in Africa (1857-2009) : Extensively annotated bibliography and sourcebook. Soyinfo center, Lafayette, USA, 731 p.
- Simon J-P. (2005). Les légumineuses *in* : Plantes utilisées par l'homme. Département de sciences biologiques. Université de Montréal, Canada, 18 p.
- Singh C. & Shivakumar B.G. (2010). The role of soybean in agriculture. *In* : The soybean : Botany, production and uses. CABI. London, UK, 28p.
- Slattery J. & Pearce D. (2002). The impact of background rhizobial populations on inoculant response. *In* : Inoculants and Nitrogen Fixation of Legumes in Vietnam. D. Herridge, (Ed.) : 86-94.
- Solano R.B., Barriuso J.M., Pereyra de la Iglesia M.T., Domenech J. & Gutiérrez Mañero F. J. (2008). Systemic disease protection elicited by plant growth promoting rhizobacteria strains: relationship between metabolic responses, systemic disease protection, and biotic elicitors. *Phytopathology*. 98 : 451-457.
- Solomon T., Pant M.L. & Angaw T. (2012). Effects of inoculation by *Bradyrhizobium japonicum* strains on nodulation, nitrogen fixation and yield of soybean (*Glycine max* L. Merrill) varieties on Nitisols of Bako, Western Ethiopia. *ISRN Agronomy*, 8 p.
- Somasegaran P. & Hoben H.J. (1994). Handbook for Rhizobia: Methods in Legume-Rhizobium Technology. Springer-Verlag, New York, Inc., 450.
- Tefera H., Kamara A.Y., Asafo-Adjei B. & Dashiell K.E. (2009). Improvement in grain and fodder yields of early- maturing promiscuous soybean varieties in the Guinea savanna of Nigeria. *Crop Science*, 49 : 20-37.
- Tilak K.V.B.R., Ranganayaki N., Pal K.K., Saxena De R.A.K., Nautiyal S.C., Mittal S., Tripathi A.K. & Johri B.N. (2005). Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. *Current Science*, 89 : 136-150.
- Tong Z. & Sadowsky M.J. (1994). A selective medium for the isolation and quantification of *Bradyrhizobium japonicum* and *Bradyrhizobium elkanii* strains from soils and inoculants. *Applied and Environmental Microbiology*, 60 : 581-586.

- Tortora G.J., Funke B.R. & Case C.L. (2003). Introduction à la microbiologie. Ed. Renouveau Pédagogique Inc. 945 p.
- Tu W.Y., Huang Y.C., Liu L.F., Chang L.H. & Tam M.F. (2011). Rpl12p affects the transcription of the PHO pathway high-affinity inorganic phosphate transporters and repressible phosphatases. *Yeast*, 28 (6) : 481-493.
- Vance C.P. (2001). Symbiotic nitrogen fixation and phosphorus acquisition plant nutrition in a world of declining renewable resources. *Plant Physiology*, 127 : 390-397.
- Vessey J.K. & Chemining G.N. (2006). The genetic diversity of *Rhizobium leguminosarium* bv. *Viciae* in cultivated soils of the eastern Canadian prairie. *Soil Biology & Biochemistry*, 38 : 153-163.
- Vincent J.M. (1970). A manual for the practical study of root-nodule bacteria, *In* : International Biological Programme Handbook n°. 15. Blackw Scie Publica Ltd, (Oxford) : 73-79.
- Wahiba B. (2015). Etude comparative de la valeur nutritionnelle des produits de soja vert et jaune. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention de diplôme Master en « Génie des procédés ». Faculté des sciences de la Technologie, Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana, Algérie, 94 p.
- Walkley A. & Black I.A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sciences*, 37 : 29-36.
- Wang J.Y., Wang R., Zhang Y.M., Liu H.C., Chen W.F., Wang E.T., Sui X.H. & Chen W.X. (2013). *Bradyrhizobium daqingense* sp. nov., isolated from soybean nodules. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63 : 616-624.
- Werner D. (1992). Symbiosis of plants and microbes. Edition Chapman and Hall. Germany, Burton 1985.
- Whitelaw M.A. (2000). Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. *Advances in Agronomy*, 69 : 99-144.
- Wu A. H., Lee E. & Vigen C. (2013). Soy isoflavones and breast cancer. *American Society of Clinical Oncology, ASCO EDUCATIONAL BOOK*, pp. 102-106.
- WWF. (2014). Le boum du soja : L'essor du soja, impacts et solutions. WWF International, Gland, Suisse, 82 p.
- Xu L.M., Ge C., Cui Z., Li J. & Fan H. (1995). *Bradyrhizobium liaoningense* sp. nov., isolated from the root nodules of soybean *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 45 : 706-711.
- Yan L. & Spitznagel E. L. (2009). Soy consumption and prostate cancer risk in men: a revisit of a meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition*, 89 : 1155-1163.

- Youan Bi T.B.A. (2016). Institutions de microfinance et prêteurs informels de l'agriculture familiale en Côte d'Ivoire: de la cohabitation à la fusion. *Éthique et économique*, 13 (2) : 48-63.
- Yu Q., Chen Q., Elser J. J., He N., Wu H., Zhang G., Wu J., Bai Y. & Han X. (2010). Linking stoichiometric homeostasis with ecosystem structure, functioning and stability. *Ecology Letters*, 13 : 1390–1399.
- Yusuf A.A., Iwuafor E.N.O., Olufajo O.O., Abaidoo R.C. & Sangina N. (2009). Effect of crop rotation and nitrogen fertilization on yield and nitrogen efficiency in maize in the northern Guinea Savannah of Nigeria. *African Journal of Agricultural Research*, 4 (10) : 913-921.
- Zablotowicz R.M. & Reddy K.N. (2004). Impact of Glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with Glyphosate-resistant transgenic soybean : A minireview. *Journal of Environment Quality*, 33 : 825-831.
- Zahran H.H. (1999). *Rhizobium*-legumes symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in arid climate. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63 : 968-989.
- Zakhia F. & de Lajudie P. (2006). La taxonomie bactérienne moderne : Revue des techniques-application à la caractérisation des bactéries nodulant les légumineuses (BNL). *Canadian Journal of Microbiology*, 52 : 169-181.
- Zézé A., Mutch L.A. & Youg J.P. (2001). Direct amplification of NodD from Community DNA reveals the genetic diversity of *Rhizobium leguminosarum* in soil. *Environmental Microbiology*, 3 : 363-370.
- Zhang Q., Achal V., Xiang W.N. & Wang D. (2014). Identification of heavy metal resistant bacteria isolated from Yangtze river, China. *International Journal of Agriculture & Biology*, 16 : 619-623.
- Zhang Q., Achal V., Xiang W.N. & Wang D. (2014). Identification of heavy metal resistant bacteria isolated from Yangtze River, China. *International Journal of Agriculture & Biology*, 16 : 619-623.
- Zhang S.D., Kassis J., Olde B., Mellerick D.M. & Odenwald W.F. (1996). Pollux, a novel *Drosophila* adhesion molecule, belongs to a family of proteins expressed in plants, yeast, nematodes and man. *Genes and Development*, 10 (9) : 1108-1119.
- Zhu H., Choi H.K., Cook D.R. & Shoemaker R.C. (2005). Bridging model and crop legumes through comparative genomics. *Plant Physiology*, 137 : 1189-1196.
- Zhu J.K. (2001). Plant salt tolerance : Trends in plant science. University of Arizona. Pp 66-71.
- Ziqiang W. & Danying W. (2002). Studies on the correlation between the quality traits of vegetable soybean. Annual report. Dept. of Agronomy. Zhejiang University, China, 5 p.

# **ANNEXES**

Annexe 1 : Nodules observés sur les racines de soja lors du piégeage



Annexe 2 : : Formes des colonies sur le milieu YEM gélosé



Annexe 3 : Apparitions des premières fleurs sur les cultivars de soja



Annexe 4 : Gousses de soja matures



**PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES  
ISSUES DE LA THESE**

## PUBLICATION 1

**Amani Kouadio**, Fondio Lassina., Konaté Ibrahim., N’Gbesso Mako François D. P., Beugré G. A. Maxwell., Tidou Abiba Sanogo. & Filali-Maltouf Abdelkarim. (2020). Response of indigenous rhizobia to the inoculation of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] varieties cultivated under controlled conditions in Côte d’Ivoire. *Advances in Microbiology*, 10 : 110-122.

# Response of Indigenous Rhizobia to the Inoculation of Soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] Varieties Cultivated under Controlled Conditions in Côte d'Ivoire

Kouadio Amani<sup>1</sup>, Lassina Fondio<sup>2</sup>, Konate Ibrahim<sup>1\*</sup>, Mako François D. P. N'Gbesso<sup>2</sup>, Beugre G. A. Maxwell<sup>1</sup>, Tidou Abiba Sanogo<sup>1</sup>, Abdelkarim Filali-Maltouf<sup>3</sup>

<sup>1</sup>UFR Agro-Forestry and Environment, Department of Biochemistry and Microbiology, Laboratory of Agrovalorization, Jean Lorougnon Guede University, Daloa, Côte d'Ivoire

<sup>2</sup>National Center for Agronomic Research (CNRA), Bouaké, Côte d'Ivoire

<sup>3</sup>Faculty of Sciences, Laboratory of Microbiology and Molecular Biology, University Mohammed V-Agdal, Rabat, Morocco

Email: lfondio@yahoo.fr, \*konatibrahim@yahoo.fr, konatibrahim73@gmail.com, filalimaltouf@gmail.com

**How to cite this paper:** Amani, K., Fondio, L., Ibrahim, K., N'Gbesso, M.F.D.P., Maxwell, B.G.A., Sanogo, T.A. and Filali-Maltouf, A. (2020) Response of Indigenous Rhizobia to the Inoculation of Soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] Varieties Cultivated under Controlled Conditions in Côte d'Ivoire. *Advances in Microbiology*, 10, 110-122.

<https://doi.org/10.4236/aim.2020.103010>

**Received:** January 28, 2020

**Accepted:** March 13, 2020

**Published:** March 16, 2020

Copyright © 2020 by author(s) and Scientific Research Publishing Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## Abstract

Soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] is an important crop known to improve population nutritional status and increase soil fertility and its productivity through biological nitrogen fixation. In Côte d'Ivoire, the introduced *Bradyrhizobium japonicum* used as inoculum had slight compatibility to several soybean varieties compromising their vulgarization. Therefore, the present study was conducted to examine the infectiveness and the effectiveness of indigenous rhizobial isolates on three soybean varieties (Canarana, Doko and Piramana) cultivated in Côte d'Ivoire. The experiment was conducted with potted plant filled with sterilized sand and was statistically laid in Completely Randomized Design (CRD) with sixteen (16) natives rhizobia, one (01) reference strain and uninoculated control (with or without nitrogen) with three replications. The results showed that inoculation significantly improved nodule number, nodule dry weight, plant height and total dry matter of soybean over the negative control treatment. Among the inoculated treatments, five indigenous rhizobia RSC119, RSC324, RSC502, RSC504 and RSC508 significantly ( $P < 0.05$ ) increased the nodulation and plant growth parameters than *B. japonicum* (IRAT FA3) with Doko and Piramana. RSC502 produced highest nodule number (64) on Piramana, nodule dry weight was most promoted with RSC504 (321 mg·plant<sup>-1</sup>) compared to IRAT FA3 strain (95 mg·plant<sup>-1</sup>) on Doko. The higher effectiveness was recorded with RSC119, RSC504 and RSC502 with 206.73%; 201.79% and 200.45% respectively compared to TN

---

(100%). The correlation analysis indicated significant association of nodule number and total biomass indicating the importance of symbiotic nitrogen fixation. Based on their infectiveness and their effectiveness, the isolates RSC119, RSC324, RSC502, RSC504 and RSC508 could be used as elite local rhizobia and tested in field conditions to establish their potential contribution on soybean productivity.

## Keywords

Selection, Indigenous Rhizobia, Inoculation, Soybean, Côte d'Ivoire

---

## 1. Introduction

Soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] is one of the most important grain legumes cultivated in the world for its richness in protein (40%) and oil (20%). It is the most available crop that provides a cheap and high quality source of protein comparable to meat, poultry and eggs. It is used for production of cooking oil, human food, stock feed and industrial products [1] [2]. This legume was introduced in Côte d'Ivoire for crops diversification and its contribution to improve population nutritional status. Soybean also increases soil fertility and productivity through biological nitrogen fixation (BNF) [3].

The BNF plays an essential role in crop establishment and fulfills most of plants need for nitrogen. The amount of nitrogen fixed by soybean in symbiosis with *Bradyrhizobium japonicum* is estimated yearly to 450 kg·ha<sup>-1</sup> [4]. It considerably reduces the need of synthetic nitrogen fertilizers supply of crops which continuous application could be harmful to soil fertility and accelerate environmental pollution [5] [6] [7]. Thereby, maintaining this natural significant nitrogen input should be better for economical and ecological sustainable soybean yields. However, the ability of this crop to fix the desired amount of nitrogen depends on many factors such as the effectiveness of the rhizobia strain and plant varieties [8] [9].

In Côte d'Ivoire, initiative researches have been undertook to vulgarize soybean crop in several areas of the country. Hence, researchers have evaluated in these studies the effective compatibility of soybean varieties to the introduced *B. japonicum* strain IRAT FA3 used as inoculum [10] [11] [12] [13]. Results of these studies have shown that *B. japonicum* IRAT FA3 was compatible with some soybean cultivars than others, compromising therefore their vulgarization in the country. However, recent investigations reported by N'Gbesso *et al.* [14] and Amani *et al.* [15], have revealed that indigenous rhizobia isolated in Cote d'Ivoire soil was able to improve other soybean cultivars growth and productivity. Thus, the present investigation was carried out to 1) evaluate the infectiveness and the effectiveness of indigenous rhizobia on threesoybeans [*Glycine max* (L.) Merrill] varieties under controlled conditions and to 2) select all strains that

hold potential to be included in the inoculums formulations for soybean production under Ivorian agro-climatic conditions.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Biological Materials

Soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] cultivars Canarana, Doko and Piramama provided by the National Agricultural Research Centre (CNRA) in Bouake, Côte d'Ivoire, were used as plant material in this experiment.

Sixteen (16) indigenous authentic rhizobias isolated from soybean nodules in Côte d'Ivoire and one (01) reference strain (*Bradyrhizobium japonicum* IRAT FA3) were used in this work. The origins and the sources of these bacteria are described in **Table 1**.

### 2.2. Treatments and Experiment Design for the Pot Experiment

A pot experiment was conducted under the controlled conditions at Jean Lorougnon Guede University in Daloa (Cote d'Ivoire). The pot experiment was statistically laid in Completely Randomized Design (CRD) on sterile sand with nineteen (19) treatments including sixteen (16) indigenous rhizobial isolates, one (01) reference strain and two uninoculated treatments (one (01) uninoculated and unfertilized treatment as negative control (T0) and one (01) uninoculated and fertilized treatment (TN) as positive control) in three replications [16].

### 2.3. Evaluation of Indigenous Rhizobial Isolates Infectivity and Effectiveness

Seeds of each soybean cultivars were sterilized in Mercuric chloride (0.1%) for two min and then thoroughly rinsing with six changes of sterile distilled water. Thereafter, four seeds were sown on plastic pots containing sterile sand. Seven

**Table 1.** Origins and host plants of the indigenous rhizobial isolates and reference strain used in this study.

Reference strain and local isolates	Host plants (Soybean cultivars)	Origins	Sources
<b>Reference strain:</b>			
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> IRAT FA3	-	Montpellier (France)	[14]
<b>Local rhizobia isolates:</b>			
RSC309; RSC310; RSC312; RSC323; RSC324; RSC325	Piramama	Daloa (Cote d'Ivoire)	[15]
RSC114; RSC115; RSC119 RSC207	Doko Canarana		
RSC412; RSC413	IT 235	Daloa (Cote d'Ivoire)	This study
RSC502; RSC504; RSC506; RSC508	Tracaja		

RSC: Rhizobia isolated from soybean nodules in cote d'Ivoire.

days after sowing, each plant of a pot except the controls was inoculated with 1 mL of broth culture of each isolate beforehand grown on YEM liquid medium to exponential phase. Plants were supplied with distilled water every two days and they were saturated once a week with a nitrogen-free nutrient solution. Furthermore, TN control received weekly 0.05% (w/v) KNO<sub>3</sub> as nitrogen source. For each treatment, plants were harvested 45 days after sowing (DAS) and nodule number, Plant height and matter weight were evaluated per treatment and per variety. Matter (root and shoot) of each treatment was dried three days at 70°C and was used to calculate the Relative effectiveness (RE) of isolates according to Maâtallah *et al.* [17] by the following equation:

$$RE = \frac{\text{Inoculated plant dry matter}}{\text{N-Fertilized plant dry matter}} \times 100$$

Nitrogen fixing effectiveness classified as: Ineffective (RE < 35%); Lowly-effective (35% < RE < 50%); Effective 50% < RE < 80%; and highly effective (RE > 80%). Relationship between nodule number-plant height and nodule number-total matter were examined.

## 2.4. Statistical Analysis

The data of measured parameters recorded were pooled together and subjected to statistical analysis using the STATISTICA program (7.1). Plant growth and nodulation parameters were subjected by analysis of variance. The difference between the treatments means were evaluated at 5% level of significance using Fisher's LSD test.

## 4. Results and Discussion

### 4.1. Impact of Indigenous rhizobia on Nodule Number and Nodule Dry Weight on Soybean Varieties

This study was performed in sterile sand to evaluate the infectivity of indigenous rhizobia isolates on three soybean varieties (Canarana, Doko and Piramama). The results revealed that inoculation was affected significantly ( $P < 0.05$ ) nodule number and nodule dry mass on soybean varieties (**Table 2**).

All indigenous rhizobial isolates were able to form nodules on tested varieties. In the other hand, uninoculated control did not show any nodule, demonstrated that aseptic conditions were met in the experimental set up. Results revealed that all indigenous isolates were able to form nodules on three tested varieties of soybean. In the other hand, uninoculated control did not show any nodule, demonstrated that aseptic conditions were met in the experimental set up. The same report was made by Amani *et al.* [15] and Kumar and Reddy [18] during authentication of soybean and French bean rhizobial isolates respectively, in the same conditions. Therefore, analysis of variance showed that nodulation varied significantly ( $P < 0.05$ ) between tested isolates and soybean varieties.

The nodule number per plant ranged from 0 for isolates RSC114 and RSC207 to 52 for isolate RSC504 with Doko, from 0 for isolate RSC114 to 28 for RSC119

**Table 2.** Impact of indigenous rhizobia, introduced strain and nitrogen fertilizer on nodule number and nodule dry weight on three soybean cultivars grown on sterile sand at flowering stage.

Treatments	Nodule Number (plant <sup>-1</sup> )			Nodule Dry Weight (mg·plant <sup>-1</sup> )		
	Doko	Canarana	Piramama	Doko	Canarana	Piramama
RSC114	-	-	11 ± 2.08hi	-	-	80 ± 8.56f
RSC115	39 ± 2.00c	10 ± 1.52ge	58 ± 4.51b	266.67 ± 8.77b	46.67 ± 5.77d	125 ± 8.23de
RSC119	45 ± 3.00b	28 ± 4.00a	42 ± 2.38d	263.33 ± 6.70bc	80 ± 10.00a	253.33 ± 12.28a
RSC207	-	10 ± 1.52ge	13 ± 3.05h	-	15 ± 5.00e	113.33 ± 8.79e
RSC309	40 ± 3.05c	16 ± 2.00d	42 ± 2.86d	250 ± 10.00c	53.33 ± 5.77d	133.33 ± 5.77cde
RSC310	10 ± 1.52f	13 ± 2.00ef	38 ± 3.25de	166.67 ± 4.86e	45 ± 5.00de	130 ± 10.00cde
RSC312	18 ± 2.65e	8 ± 1.73e	30 ± 2.08f	183.33 ± 5.77d	15 ± 2.50e	116.67 ± 9.27e
RSC323	1 ± 0.58h	10 ± 1.53ge	36 ± 1.53e	10 ± 2.86j	15 ± 3.00e	120 ± 9.87e
RSC324	35 ± 3.05d	18 ± 2.00d	50 ± 2.08c	110 ± 10.00f	66.67 ± 6.25b	213.33 ± 10.33b
RSC325	7 ± 1.53fg	12 ± 2.00fg	39 ± 3.57de	73.33 ± 3.05h	36.67 ± 7.63e	146.67 ± 12.55cd
RSC412	8 ± 1.53f	18 ± 2.00d	15 ± 0.58h	77.67 ± 2.52h	21.67 ± 2.89f	78 ± 5.77f
RSC413	4 ± 1.53g	13 ± 2.00ef	9 ± 1.15i	46.67 ± 2.89i	21.67 ± 2.77f	80 ± 10.00f
RSC502	46 ± 1.56b	15 ± 2.00de	64 ± 3.51a	181.33 ± 10.26d	56.67 ± 5.77cd	246.67 ± 8.31a
RSC504	52 ± 2.00a	21 ± 3.00c	36 ± 1.53e	321 ± 13.26a	69 ± 8.89c	153.33 ± 5.77c
RSC506	34 ± 1.73d	12 ± 2.00fg	26 ± 2.89g	190 ± 10.00d	36.67 ± 7.63e	146.67 ± 12.55cd
RSC508	47 ± 2.52b	24 ± 4.00b	41 ± 3.05d	273.33 ± 5.77b	73.33 ± 7.73bc	193.33 ± 11.54b
IRAT FA3	34 ± 1.73d	27 ± 5.00a	35 ± 1.53ef	95 ± 3.84g	89.67 ± 10.25a	133.33 ± 10.27cde
TN	-	-	-	-	-	-
T0	-	-	-	-	-	-
LSD 5%	3.67	2.33	5	14.66	10	26.67

TN: uninoculated and fertilized control; T0: uninoculated and unfertilized control. Means in the same column followed by the same letter are not significantly different at the 5% probability level by LSD's test.

with Canarana and from 9 for isolate RSC413 to 64 for isolate RSC502. Thus, across all tested treatments, isolate RSC502 produced the higher nodule number

(64) than other tested isolates and the reference strain on Doko.

Considering the varieties, Piramama and Doko were more receptive to inoculation with local rhizobial isolates than Canarana. Indeed, RSC115, RSC119, RSC309, RSC324, RSC502, RSC504 and RSC508 induced the formation of high nodules relative to the introduced strain IRAT FA3 with varieties except Canarana. Tested isolates RSC508, RSC502 and RSC119 induced the largest number of nodules per plant respectively 52; 47; 46 and 45 against 34 nodules for the strain IRAT FA3 on Doko. On Piramama, tested rhizobia strains RSC502, RSC115 and RSC324 were revealed more infective with 64; 58 and 50 nodules respectively against 35 to the strain IRAT FA3 (**Figure 1**). Hungria *et al.* [19] also reported that inoculation of soybean significantly increased the nodule number over the control. Attempts realized in Mozambique were also found that some indigenous rhizobia were effective than five reference strains used in the country to improve soybean production [20]. Unlike Doko and Piramama varieties, local rhizobia were unable to increase the number of nodules on Canarana compared IRAT FA3 excepted RSC119, which induced nodules production like the latter. Based on nodulation indigenous rhizobia RSC115, RSC119, RSC309, RSC324, RSC502, RSC504 and RSC508 were more infective than the introduced strain IRAT FA3. When the analysis of variance was performed separately for each cultivar, it appeared that Piramama and Doko had best response to inoculation



**Figure 1.** Nodules induced on roots of the soybean cultivars by local rhizobia. (a) Canarana cultivar without inoculation; (b) Canarana cultivar inoculated with isolate RSC119; (c) Doko cultivar inoculated with isolate RSC508; (d) Piramama cultivar inoculated with isolate RSC502.

comparing to Canarana. There were more nodules on these varieties than Canarana. The greater number of nodules due to inoculation suggested that there is better combining and symbiotic relationship between indigenous isolates and soybean cultivars Doko and Piramama. However, soybean cultivar Canarana with a fail response to inoculation may possess a particular *Rj* gene that play a role in controlling the plant's compatibility with specific rhizobial strains. In addition, indigenous tested rhizobia may show a preference for particular genotypes among the compatible genotypes [21] [22].

Such as nodule number, nodule weight of soybean varieties was significantly promoted by inoculation with local rhizobia (Table 2). However, it varied according to the treatment and the variety. In fact, with Doko variety, ten (10) local isolates increased the dry weight of the nodules compared to IRAT FA3. RSC504 induced the highest weight of nodules ( $32 \text{ mg}\cdot\text{plant}^{-1}$ ) than IRAT FA3 ( $95 \text{ mg}\cdot\text{plant}^{-1}$ ). Regarding Piramama variety, isolates RSC119, RSC324, RSC502 and RSC508 induced higher nodular dry weight compared to IRAT FA3 that was statistically similar to the weight produced by the isolates RSC115, RSC207, RSC309, RSC310, RSC312, RSC323, RSC325, RSC504 and RSC506. RSC119 promoted the highest nodule dry weight ( $253.33 \text{ mg}\cdot\text{plant}^{-1}$ ) than IRAT FA3 strain ( $113.33 \text{ mg}\cdot\text{plant}^{-1}$ ) and other isolates. Contrary to Doko and Piramama, all local tested isolates did not exhibit nodules dry weight higher than IRAT FA3 on Canarana variety except RSC 119 which favored identical nodule dry weight as this strain. Researchers such as Htwe *et al.* [23] were found the same results with other soybean cultivars. These authors exhibited that the local strains *Bradyrhizobium* spp. SHY6-1 and *B. elkanii* SAY3-4 isolated in Myanmar have given the highest nodule dry weights than the exotic *B. japonicum* USDA110.

#### 4.2. Indigenous Rhizobial Isolates Contribution on Plant Height and Matter Production

The results revealed that inoculation was affected significantly ( $P < 0.05$ ) plant height and plant dry matter of soybean varieties (Table 3).

Inoculation of soybean varieties with native rhizobia and reference strain increased plant height and influenced total dry matter compared to the uninoculated negative control (Table 3). The table shows that local isolates RSC502 and RSC508 respectively provided the most plant height with Doko and Piramama followed to the positive control and other treatments. In example, the height of Doko plant inoculated with RSC502 was 84.47 cm against 64 cm for positive control (TN). The higher height with Piramama was recorded with the isolates RSC508 (55 cm) which was statistically similar to the isolates RSC119, RSC324, RSC325, RSC502 and RSC506. These isolates promoted plant height than the uninoculated and nitrogen fertilizer control (TN). None local rhizobia did not improve Canarana cultivar growth more than the positive control. Therefore, local isolate RSC324 and the reference strain IRAT FA3 were statistically identical

**Table 3.** Impact of indigenous rhizobia, introduced strain and nitrogen fertilizer on plant height and plant matter production on three soybean cultivars at flowering stage.

Treatments	Plant Height (cm)			Plant Dry Matter (g-Plant <sup>-1</sup> )		
	Doko	Canarana	Piramama	Doko	Canarana	Piramama
RSC114	53 ± 3.61hi	29.97 ± 0.90fg	46.10 ± 1.01de	1.60 ± 0.35j	1.41 ± 0.02fg	2.57 ± 0.40cd
RSC115	73.13 ± 1.98bc	32.33 ± 2.52cdef	48.43 ± 1.25cd	4 ± 0.26b	1.17 ± 0.04gh	2.6 ± 0.10cd
RSC119	76 ± 2.00b	33.93 ± 2.30cd	51.93 ± 0.38ab	4.5 ± 0.5a	2.18 ± 0.13bc	4.17 ± 0.17a
RSC207	55.10 ± 4.71h	29.80 ± 0.72fg	44.10 ± 1.45ef	2.02 ± 0.27i	1.77 ± 0.06de	1.83 ± 0.12e
RSC309	67.40 ± 2.76cde	32.6 ± 0.53cdef	45.67 ± 0.47def	2.98 ± 0.06ef	1.98 ± 0.03cd	2.63 ± 0.21cd
RSC310	57.03 ± 0.95gh	31.67 ± 2.08cdefg	42.67 ± 1.52f	2.56 ± 0.16gh	1.66 ± 0.25gh	1.43 ± 0.12fg
RSC312	56.27 ± 1.55h	30.27 ± 0.25efg	48.17 ± 2.75cd	2.69 ± 0.11fg	1.13 ± 0.06gh	2.4 ± 0.26d
RSC323	48.23 ± 1.32i	31.20 ± 1.93defg	42.33 ± 2.31f	1.62 ± 0.06j	1.31 ± 0.02gh	2.4 ± 0.26d
RSC324	65.83 ± 0.96def	38.4 ± 0.66a	52.87 ± 2.05ab	3.52 ± 0.33cd	2.5 ± 0.43a	2.77 ± 0.40bcd
RSC325	63.40 ± 2.95efg	30 ± 0.56fg	53.50 ± 0.75ab	2.23 ± 0.25hi	1.62 ± 0.08ef	2.38 ± 0.33d
RSC412	56.93 ± 4.15gh	30.26 ± 0.25efg	44.10 ± 1.45ef	2.54 ± 0.17gh	1.14 ± 0.03gh	1.47 ± 0.19efg
RSC413	59.17 ± 1.96fgh	29.06 ± 1.21g	43.37 ± 2.51ef	2.13 ± 0.21i	1.28 ± 0.03gh	1.8 ± 0.20ef
RSC502	84.47 ± 6.70a	33.17 ± 1.61cde	54.23 ± 1.90ab	4.47 ± 0.30a	1.71 ± 0.06def	2.63 ± 0.23cd
RSC504	76.17 ± 3.62b	34.57 ± 2.50b	47.50 ± 0.50d	4.61 ± 0.14a	2.3 ± 0.10ab	2.5 ± 0.10cd
RSC506	68 ± 4.00cde	30.06 ± 1.01fg	53.67 ± 1.67ab	3.62 ± 0.15cd	1.85 ± 0.13de	2.87 ± 0.23bc
RSC508	70.67 ± 2.57bcd	32.33 ± 2.52cdef	55 ± 1.00a	3.85 ± 0.04bc	2.23 ± 0.06abc	4.16 ± 0.40a
IRAT FA3	64 ± 4.36def	38.83 ± 3.56a	48 ± 4.33cd	3.33 ± 0.23de	2.46 ± 0.19ab	3.13 ± 0.15b
TN	73.67 ± 3.78bc	37.53 ± 2.20ab	51.20 ± 3.14bc	2.23 ± 0.06hi	2.5 ± 0.43a	3.07 ± 0.15b
T0	54.77 ± 3.68hi	29.03 ± 0.84g	38.67 ± 2.08g	1.40 ± 0.20j	1.02 ± 0.14h	1.12 ± 0.10g
LSD 5%	6.87	3.23	3.4	0.41	0.31	0.44

TN: uninoculated and fertilized control; T0: uninoculated and unfertilized control. Means in the same column followed by the same letter are not significantly different at the 5% probability level by LSD's test.

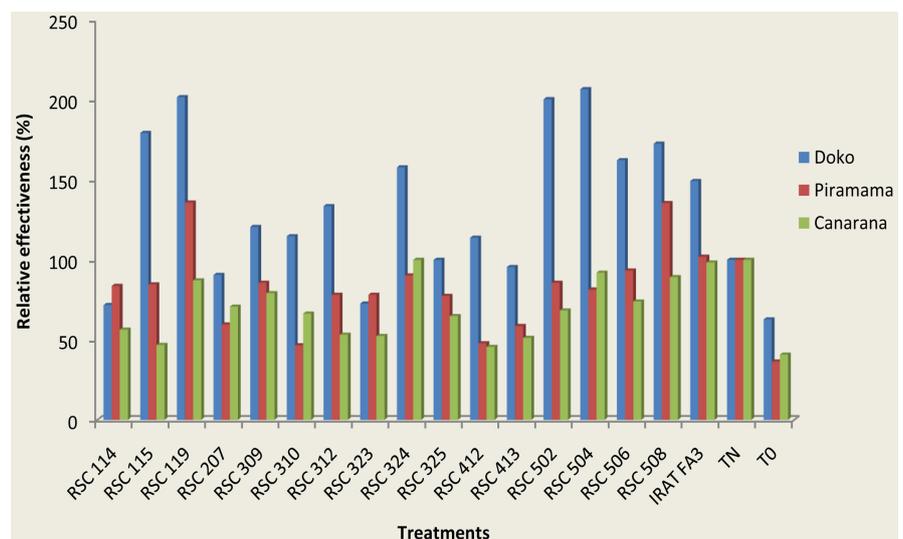
with the positive control. Thus, soybean varieties inoculated with local rhizobia and the reference strain produced greater biomass compared to the negative control. Total biomass produced on Doko with isolates RSC504 (4.61 g-plant<sup>-1</sup>), RSC119 (4.5 g-plant<sup>-1</sup>) and RSC502 (4.47 g-plant<sup>-1</sup>) were greater than positive control (2.23 g-plant<sup>-1</sup>) and the reference strain IRAT FA3 (3.33 g-plant<sup>-1</sup>). Greater biomass increasing on Piramama were obtained with isolates RSC119 (4.17 g-plant<sup>-1</sup>) and RSC508 (4.16 g-plant<sup>-1</sup>) compared to TN (3.07 g-plant<sup>-1</sup>) and the reference strain IRAT FA3 (3.13 g-plant<sup>-1</sup>). Considering Canarana variety, local tested rhizobia did not produced greater biomass compared with positive control. Nevertheless, isolates RSC324 and RSC504 had stimulated similar effect with TN and IRAT FA3 (**Table 3**).

The Results revealed that plant height and total biomass were significantly affected by inoculation on tested soybean varieties compared to uninoculated and unfertilized control. These results were similar to the findings of Tahir *et al.* [24] who reported that inoculation increase soybean growth in Pakistan. According to Sobral *et al.* [25], soybean growth promotion may be due to the capacity of

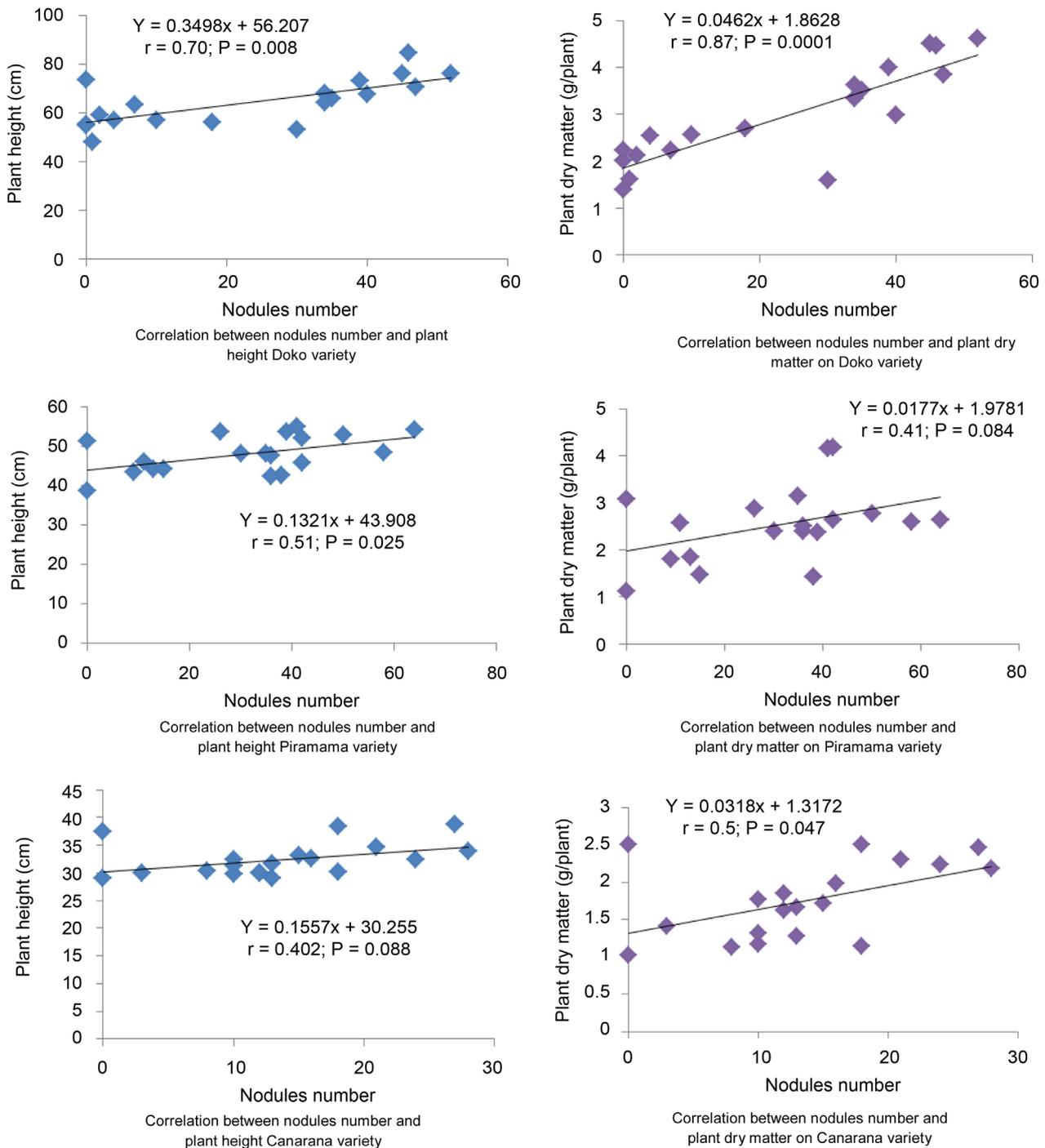
some *Bradyrhizobium* isolates to produce Indole Acid Acetic (IAA), solubilize phosphate and fix nitrogen. However, plant height and matter yield promoted by inoculation varied according to soybean cultivars. In the present study, the local rhizobia RSC115, RSC119, RSC309, RSC324, RSC502, RSC504 and RSC508 induced the higher plant height and improved total biomass than another. In addition, in comparison with the positive control (TN) representing the 100% level of plant total dry matter (biomass), most indigenous rhizobia tested showed higher biomass benefit. However, their relative effectiveness (RE) varied among soybean cultivars (**Figure 2**). Local isolates may be classed on three groups: highly effective (RE > 80%), effective (80% > RE > 50%) and slowly effective (RE < 50%). More than 88% of the isolates were found to be highly effective and 11% were effective on Doko. The higher effectiveness was recorded with RSC119, RSC504 and RSC502 with 206.73%, 201.79% and 200.45% respectively compared to TN (100%). Considering Piramama variety, 58% of local rhizobia were highly effective, 29% were effective and 11% were slowly effective. In opposite to Doko and Piramama, only 11% of local isolates were highly effective, 58% were effective and 11% were slowly effective on Canarana cultivar. Beyond soybean cultivars, isolates RSC115, RSC119, RSC324, RSC502, RSC504 and RSC508 were found to provide the best plant matter benefit on sterile sand. These results corroborated the finding of Guei *et al.* [26] who reported that nine local strains had good relative effectiveness than reference strain on Bambara groundnut cultivated in the Center West of Côte d'Ivoire.

#### 4.3. Relationship between Nodule Production-Plant Height and Nodule Production-Total Dry Matter on Tested Soybean Cultivars

Correlation between nodule number-plant height and nodule number-total biomass was recorded in **Figure 3**. The relationship between nodule number



**Figure 2.** Relative effectiveness (RE) of indigenous rhizobia on soybean varieties on sand pot. RE = (Inoculated plant dry matter/N-fertilized plant dry matter) × 100.



**Figure 3.** Correlation between nodulation and plant growth parameters of soybean cultivars grown in sterile sand.

with plant height was positively and significantly ( $P < 0.01$ ) correlated on Doko and Piramama ( $r = 0.70$  and  $r = 0.51$  respectively) whereas, these parameters were negatively correlated on Canarana. A positive correlation was also recorded between nodule number and plant biomass on Doko ( $r = 0.87$  and  $P < 0.001$ ) and Canarana ( $r = 0.5$  and  $P < 0.05$ ) but negatively correlated on Piramama ( $r = 0.41$  and  $P = 0.08$ ). From the correlation analysis, it is observed that, both plant

height and plant biomass had significant positive correlation nodule number. These results showed that nodule number is an important factor which affects soybean growth. That's have been previously reported by over authors [24] [27] [28]. Nevertheless, these results were contrary to those of Maâtllah *et al.* [17] who revealed that local rhizobia isolated in Morocco had increased matter advantage less than fertilizer application.

## 5. Conclusion and Perspectives

The results of present investigation demonstrated that the Ivorian soil contains native rhizobia capable of effectively inducing nodulation and improving the productivity of soybean varieties grown in Côte d'Ivoire. The three soybean varieties did not nodulate freely even without inoculation. Doko and Piramama nodulated better with the native rhizobia than Canarana variety. Indigenous rhizobia RSC115, RSC119, RSC324, RSC502, RSC504 and RSC508 increased nodule number (42 to 64) and nodule dry weight (213.33 to 321 mg-plant<sup>-1</sup>) than the reference strain IRAT FA3 (34 nodule per plant and 95 to 133.33 mg-plant<sup>-1</sup>) on Doko and Piramama. The higher effectiveness was recorded with isolates RSC119, RSC504 and RSC502 with 206.73%, 201.79% and 200.45% respectively compared to TN (100%) in the sterile sand. Based on the good symbiotic and agronomic performances of native rhizobia, six local isolates RSC115, RSC119, RSC324, RSC502, RSC504 and RSC508 have been selected to examine their potential performances under reel field conditions in order to select the best indigenous isolates for local inoculum production.

## Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest regarding the publication of this paper.

## References

- [1] Fekadu, G., Hussein, M. and Getinet, A. (2009) Genotype x Environment Interactions and Stability of Soybean for Grain Yield and Nutrition Quality. *African Crop Science Journal*, **17**, 87-99. <https://www.researchgate.net/publication/27792086>
- [2] Mahamood, J., Abayomi, Y.A. and Aduloju, M.O. (2009) Comparative Growth and Grain Yield Responses of Soybean Genotypes to Phosphorous Fertilizer Application. *African Journal of Biotechnology*, **8**, 1030-1036.
- [3] Chen, L.S., Figueredo, A., Villani, H., Michajluk, J. and Hungria, M. (2002) Diversity and Symbiotic Effectiveness of Rhizobia Isolated from Field Grown Soybean Nodules in Paraguay. *Biology and Fertility of Soils*, **35**, 448-457. <https://doi.org/10.1007/s00374-002-0493-1>
- [4] Zablutowicz, R.M. and Reddy, K.N. (2004) Impact of Glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* Symbiosis with Glyphosate-Resistant Transgenic Soybean: A Mini-Review. *Journal of Environment Quality*, **33**, 825-831. <https://doi.org/10.2134/jeq2004.0825>
- [5] Yusuf, A.A., Iwuafor, E.N.O., Abaidoo, R.C., Olufajo, O.O. and Sanginga, N. (2009) Effect of Crop Rotation and Nitrogen Fertilization on Yield and Nitrogen Efficiency

- in Maize in the Northern Guinea Savanna of Nigeria. *African Journal of Agricultural Research*, **4**, 913-921.
- [6] Hossain, A.K.M.M., Mian, M.H., Hakim, M.A., Islam, M.M. and Ferdous, J. (2012) Isolation and Selection of *Bradyrhizobium* from the Root Nodules of Indigo Plants (*Indigofera tinctoria* L.). *African Journal of Biotechnology*, **11**, 12183-12191. <https://doi.org/10.5897/AJB12.1288>
- [7] De Bruijn, F.J. (2016) "Biological Nitrogen Fixation" Book Summary. *Advances in Microbiology*, **6**, 407-411. <https://doi.org/10.4236/aim.2016.66040>
- [8] Bhargava, Y., Murthy, J.S.R., Kumar, T.V.R. and Rao, M.N. (2016) Phenotypic, Stress Tolerance and Plant Growth Promoting Characteristics of Rhizobial Isolates from Selected Wild Legumes of Semiarid Region, Tirupati, India. *Advances in Microbiology*, **6**, 1-12. <https://doi.org/10.4236/aim.2016.61001>
- [9] Sharma, S.R., Rao, N.K., Gokhale, T.S. and Ismail, S. (2012) Isolation and Characterization of Salt-Tolerant Rhizobia Native to the Desert Soils of United Arab Emirates. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, **25**, 102-108. <https://doi.org/10.9755/ejfa.v25i2.7590>
- [10] N'Gbesso, M.F.D.P., N'Guetta, A.S.P., Kouamé, N.C. and Foua Bi, K. (2010) Evaluation de l'efficacité de l'inoculation des semences chez 11 génotypes de soja (*Glycine max* L. Merrill) en zone de savane de Côte d'Ivoire. *Sciences & Nature*, **7**, 59-67. <https://doi.org/10.4314/scinat.v7i1.59931>
- [11] Ama-Abina, T.J., Beugre, G.F., N'Gbesso, M.F.D.P., Brou, N.D. and Yoro, G.R. (2012) Effets d'un herbicide et de l'inoculation sur les facteurs de rendement du soja cultivé sur un sol gravillonnaire de plateau. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **6**, 1970-1978. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v6i5.7>
- [12] Beugre, F.G., N'Gbesso, P.D.F.M., Ama-Abina, J.T. and Yoro, R.G. (2013) Influence d'un herbicide et de l'inoculation des semences sur la croissance du soja [*Glycine max* L. Merrill] cultivé sur un sol gravillonnaire de plateau. *Agronomie Africaine*, **25**, 221-229. <https://www.ajol.info/index.php/aga/article/view/100645>
- [13] N'Zi, J.-C., Koua, A.P., Kouassi, K.D., Kahia, J., Kouassi, J.-L., N'Guetta, A.S.-P. and Kouamé, C. (2015) Effect of Inoculating Seeds with *Bradyrhizobium japonicum* on the Agronomic Performance of Five Varieties of Soybean (*Glycine max*) in Côte d'Ivoire. *African Journal of Agricultural Research*, **10**, 3671-3677. <https://doi.org/10.5897/AJAR2015.10202>
- [14] N'Gbesso, M.F.D.P., Fondio, L., Coulibaly, N.D. and Kouame, N.C. (2017) Efficacité symbiotique de cinq souches locales de rhizobiums sur les paramètres de croissance du soja. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **11**, 2327-2340. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v11i5.30>
- [15] Amani, K., Konate, I., N'Gbesso, M.F.D.P., Attien, Y.P., Fondio, L., Filali-Maltouf, A. and Tidou, A.S. (2019) Phenotypic and Symbiotic Diversity of Rhizobia Isolated from Root Nodules of Soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] in Côte d'Ivoire. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*, **8**, 766-774. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.803.094>
- [16] Somasegaran, P. and Hoben, H.J. (1994) Handbook for Rhizobia: Methods in Legume-Rhizobium Technology. Springer-Verlag, Inc., New York, 450. <https://doi.org/10.1007/978-1-4613-8375-8>
- [17] Maâtallah, J., Berraho, E.B., Munoz, S., Sanjuan, J. and Lluch, C. (2002) Phenotypic Characterization of Rhizobia Isolated from Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Growing in Moroccan Soils. *Agronomie*, **22**, 321-329. <https://doi.org/10.1051/agro:2002013>
- [18] Kumar, N.R. and Reddy, R.S. (2018) Screening of *Bradyrhizobial* Isolates for Plant

Growth Promoting Properties *in Vitro* Conditions. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*, **7**, 2232-2237.

<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.710.256>

- [19] Hungria, M., Chueire, L.M.O., Megías, M., Lamrabet, Y., Probanza, A., Gutterrez-Mañero, F.J. and Campo, R.J. (2006) Genetic Diversity of Indigenous Tropical Fast-Growing Rhizobia Isolated from Soybean Nodules. *Plant & Soil*, **288**, 343-356. <https://doi.org/10.1007/s11104-006-9125-0>
- [20] Chibeba, A.M., Kyei-Boahen, S., Guimarães, M.F., Nogueira, M.A. and Hungria, M. (2017) Isolation, Characterization and Selection of Indigenous *Bradyrhizobium* Strains with Outstanding Symbiotic Performance to Increase Soybean Yields in Mozambique. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **246**, 291-305. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.06.017>
- [21] Saeki, Y., Akagi, I., Takaki, H. and Nagatomo, Y. (2000) Diversity of Indigenous *Bradyrhizobium* Strains Isolated from Three Different *Rj*-Soybean Cultivars in Terms of Randomly Amplified Polymorphic DNA and Intrinsic Antibiotic Resistance. *Soil Science & Plant Nutrition*, **46**, 917-926. <https://doi.org/10.1080/00380768.2000.10409157>
- [22] Saeki, Y., Kaneko, A., Hara, T., Suzuki, K., Yamakawa, T., Nguyen, M.T., Nagatomo, Y. and Akao, S. (2005) Phylogenetic Analysis of Soybean-Nodulating Rhizobia Isolated from Alkaline Soils in Vietnam. *Soil Science & Plant Nutrition*, **51**, 1043-1052. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2005.tb00143.x>
- [23] Htwe, A.Z., Yamakawa, T., Moe, K. and Dien, D.C. (2015) Symbiotic Effectiveness of Different Indigenous *Bradyrhizobium* Strains on Selected *Rj*-Genes Harboring Myanmar Soybean Cultivars. *African Journal of Microbiology Research*, **9**, 2345-2353. <https://doi.org/10.5897/AJMR2015.7751>
- [24] Tahir, M.M., Abbasi, M.K., Rahim, N., Khaliq, A. and Kazmi, M.H. (2009) Effect of *Rhizobium* Inoculation and NP Fertilization on Growth, Yield and Nodulation of Soybean (*Glycine max* L.) in the Sub-Humid Hilly Region of Rawalakot Azad Jammu and Kashmir, Pakistan. *African Journal of Biotechnology*, **8**, 6191-6200. <https://doi.org/10.5897/AJB09.1039>
- [25] Sobral, J.K., Welington, L., Araújo, W.L., Mendes, R., Geraldi, I.O., Kleiner, A.A.P. and Azevedo, J.L. (2004) Isolation and Characterization of Soybean Associated Bacteria and Their Potential for Plant Growth Promotion. *Environmental Microbiology*, **6**, 1244-1251. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2004.00658.x>
- [26] Guei, N.K.R., Konate, I., Bakayoko, S., Ouattara, A., Amani, K., Tidou, A.S. and Filali-Maltouf, A. (2019) Nodulation and Agronomic Performance of Indigenous Rhizobia Isolated from Bambara Groundnut (*Vigna Subterranea* L.) Nodules in Daloa, Côte d'Ivoire. *International Journal of Research Studies in Microbiology and Biotechnology*, **5**, 13-18. <https://doi.org/10.20431/2454-9428.0502004>
- [27] Alam, F., Bhuiyan, M.A.H., Alam, S.S., Waghmode, T.R., Kim, P.J. and Lee, Y.B. (2015) Effect of *Rhizobium* sp. BARIRGm901 Inoculation on Nodulation, Nitrogen Fixation and Yield of Soybean (*Glycine max*) Genotypes in Gray Terrace Soil. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **79**, 1660-1668. <https://doi.org/10.1080/09168451.2015.1044931>
- [28] Lamptey, S., Ahiabor, B.D.K., Yeboah, S. and Osei, D. (2014). Effect of *Rhizobium* Inoculants and Reproductive Growth Stages on Shoot Biomass and Yield of Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). *Journal of Agricultural Science*, **6**, 44-54. <https://www.researchgate.net/publication/271826327> <https://doi.org/10.5539/jas.v6n5p44>

## PUBLICATION 2

**Amani Kouadio**, Konaté Ibrahim, Mako François De Paul N'Gbesso, Attien Yao Paul, Lassina Fondio, Abdelkarim Filali-Maltouf and Tidou Abiba Sanogo. (2019). Phenotypic and symbiotic diversity of rhizobia isolated from root nodules of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] in Côte d'Ivoire. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(3) : 766-774.

## Original Research Article

<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.803.094>

## Phenotypic and Symbiotic Diversity of Rhizobia Isolated from Root Nodules of Soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] in Côte d'Ivoire

Amani Kouadio<sup>1</sup>, Konate Ibrahim<sup>1\*</sup>, Mako François De Paul N'gbesso<sup>2</sup>, Attien Yao Paul<sup>1</sup>, Lassina Fondio<sup>2</sup>, Abdelkarim Filali-Maltouf<sup>3</sup> and Tidou Abiba Sanogo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UFR Agro-forestry and Environment, Department of Biochemistry and Microbiology, Laboratory of Agrovalorization, Jean Lorougnon Guede University, B.P: 150 Daloa, Côte d'Ivoire

<sup>2</sup>National Center for Agronomic Research (CNRA), 01 BP 633 Bouaké 01, Côte d'Ivoire

<sup>3</sup>Faculty of Sciences, Laboratory of Microbiology and Molecular Biology, University Mohammed V-Agdal, Rabat, Morocco

\*Corresponding author

### ABSTRACT

Soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] is a legume known for nitrogen fixation interacting with efficient *Bradyrhizobium* strains. In Côte d'Ivoire, the *Bradyrhizobium* inoculums used in soybean production is a foreign strain, which requires the search for indigenous strains adapted to Ivorian soils. The present study aimed to isolate and select rhizobial bacteria from soybeans grown on soils sampled from six localities in the central-western region of Côte d'Ivoire. Thirty bacteria were obtained from the nodules of plants grown on soils of two localities that had previously received soybean cultivation (Gonate North and South). These isolates were coded as RSC and identified as being able to genus *Bradyrhizobium* (slow growth) and *Sinorhizobium* (intermediate growth) depending on cultural and morphological characteristics. Except for RSC 327 and RSC 330, all isolates were authenticated and were able to nodulate the host plant in controlled culture. The isolates RSC 309, RSC 310, RSC 312, RSC 323, RSC 324, RSC 325 and RSC 326 were efficient and significantly ( $P < 5\%$ ) increased the number and weight of the nodules, the height and plant biomass. Moreover, these same isolates also showed a high tolerance to salt (NaCl) added in YEM media at a concentration ranging from 4 to 5%. Based on the symbiotic and physiological characteristics, isolates RSC 309, RSC 310, RSC 312, RSC 323, RSC 324 and RSC 325 could be recommended as the native soybean inoculums under soil and climatic conditions of Côte d'Ivoire.

#### Keywords

Rhizobia, Soybean, Native strains, Selection, Côte d'Ivoire

#### Article Info

Accepted:  
07 February 2019  
Available Online:  
10 March 2019

### Introduction

Nitrogen is an essential nutrient for plant growth and development. Much of this

nitrogen is provided to cropping systems in the form of industrially produced nitrogen fertilizers. However, using of fertilizers has become detrimental for soil fertility and led to

worldwide ecological problems as well as affects the human health (Vitousek, 1997; Yusuf *et al.*, 2009). Thus, maintaining and increasing soil fertility through Biological Nitrogen Fixation (BNF) are the major agricultural priorities in many parts of countries development. BNF is the cheapest and ecologic way in which micro-organisms interacting with leguminous plants such as soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] fix aerobic nitrogen (Franche *et al.*, 2009).

Soybean is a legume cultivated for seeds which are highly rich in protein (40 %) and oil (20 %) (Nyabyenda, 2005; Cahuzac-Picaud, 2010). Many leguminous crops provide some protein, but soybean is the only available crop that provides an inexpensive and high quality source of protein comparable to meat, poultry and eggs. It also provides useful crop residues for animal feed or left in the field to decompose, thereby increasing the organic matter content of the soil (Mahamood *et al.*, 2009). On a global scale, the average yearly amount of nitrogen fixed by *Bradyrhizobium japonicum* is about 450 kg nitrogen ha<sup>-1</sup> in a soybean crop, representing about 90 % of the nitrogen requirement (Giller, 2001; Zablutowicz and Reddy, 2004). Maintaining this significant nitrogen input can be important for economically sustainable soybean yields, especially in soils containing low available soil nitrogen (Klubeck *et al.*, 1988; Zablutowicz and Reddy, 2004). This capacity of soybean to fix nitrogen reduces the need to supply crops with synthetic nitrogen fertilizers.

In Côte d'Ivoire, attempts have been made to conduct research on soybean growth and production. However, the studies have focused solely on evaluating the effective compatibility of soybean varieties with the *Bradyrhizobium japonicum* (IRAT FA3) provided by France for two decades for inoculums production (N'Gbesso *et al.*, 2010).

Recent results from these studies have shown differences in efficacy between *B. japonicum* strain IRAT FA3 and introduced soybean genotypes in the country (N'Zi *et al.*, 2015; N'Gbesso *et al.*, 2017). In addition, there is little information available on native symbionts of soybeans. Thus, to obtain highly effective symbiotic soybean bacteria, it is necessary to search for native *Bradyrhizobium* in the laboratory and in greenhouse conditions. Hence, the objective of our investigation is to isolate and evaluate the symbiotic efficacy of soybean *Bradyrhizobium* sp from Côte d'Ivoire.

## **Materials and Methods**

The study was conducted on greenhouse in Jean Lorougnon Guédé University (Daloa, Côte d'Ivoire) experimental site (6°54'27.37''N; 6°26'11.26''W) in 2017-2018. The soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] cultivar Piramama was used for the isolates trapping and authentication tests.

### **Soil sampling and Rhizobia trapping**

Soil samples were collected from six localities in Daloa area in the fields which soybean and over leguminous were previously growing in the three latest year (Table 1). Sampling was done following the procedure outlined by Barker and Pilbean (2007). Soil samples were randomly collected from several places at 0-20 cm depth from each plot and they were placed in pots (4 Kg/pot) previously disinfected by sodium hypochlorite. Pots were arranged in a completed randomly block design in greenhouse with five repetitions.

### **Isolation and morphological characterization of soybean Rhizobia**

The Rhizobia were isolated from sterile nodules and purified with the protocol using Yeast Extract Mannitol (YEM) agar supplied

with 0.02 % Congo red (Vincent, 1970). At the harvest, soybean root nodules were washed first by water and then immersed in 0.1 % acidified  $\text{HgCl}_2$  for 5 minutes. The nodules were transferred in a beaker containing 10 ml of 95 % ethanol for 2-3 minutes. The nodules were rinsed in 6 changes of sterile water and each nodule was transferred in hemolysis tube containing 1 ml sterilized distilled water. Each nodule was crushed with sterile glass rod. The aliquot of the suspension was transferred on YEM agar plate. The plates were incubated at 28 °C for 4-7 days. Some characteristics colony, morphology and gram staining properties were observed.

### **Confirmation of isolated Rhizobia through nodulation test**

The nodulation capacity of the bacteria isolated from soybean was confirmed by inoculation tests on sterile sand. Each isolate was grown on YEM liquid medium to exponential phase. Seeds of soybean cultivar Piramama were surface-sterilized as before and sown on plastic pots containing sterile sand. Seven days after sowing, each plant of a pot except the controls was inoculated by 1 ml of broth culture of each isolate. Control pots were included for an unfertilized and an uninoculated negative control (TO) and uninoculated but nitrogen fertilized (0.05 %  $\text{KNO}_3$ ) positive control (TN). Plants were supplied with distilled water every two days, and they were saturated once a week with a nitrogen-free nutrient solution. Furthermore, TN control received weekly 0.05 % (w/v)  $\text{KNO}_3$  as nitrogen source.

Plants were harvested 45 day after sowing (DAS), evaluating nodule number, nodule weight, plant height and biomass weight. The experiment was statistically laid out with three replications using randomized block design (Somasegaran and Hoben, 1994).

### **Physiological characteristic: Salt tolerance**

Salt tolerance was determined on YEM agar plates containing from 0 to 10 % (w/v) NaCl concentrations. This test was carried out on YEM agar plates. Petri dishes containing defined medium were subdivided into squares and each square was inoculated with 10  $\mu\text{l}$  of 48 h bacterial YEM broth Konate *et al.*, 2015). After 7 days of incubation at 28 °C, bacterial growth was compared to the controls.

### **Statistical analysis**

The data of measured parameters recorded were pooled together and subjected to statistical analysis using the STATISTICA program (7.1). The strains tolerance was subjected of  $\text{Chi}^2$  of Pearson test. Plant growth and nodulation parameters were subjected by analysis of variance. The difference between the treatments means were evaluated at 5 % level of significance using Fisher's LSD test.

## **Results and Discussion**

### **Soil sampling and Rhizobia trapping**

Analysis of the variance revealed a significant difference ( $P < 5\%$ ) between nodulation and soils samples provenance. Indeed, soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] cultivar Piramama was able to induce nodule formation only on soils which were previous soybean cultural. The best nodulation was obtained on Gonate SODEFOR soil with an average of 38 nodules per plant (Table 2). However, soils with a history of cowpea, green gram, groundnuts and bean cultural have been unable to promote nodules formation. These observations indicate that soybean can form nitrogen fixing nodules only in symbiosis with a very narrow range of symbionts. These results corroborate those of Karaboneye (2013), Kumar and Reddy (2018). According to those authors, there are very few native rhizobia strains that

are compatible with soybean lines in tropical soils. Thus, nodules formation on soybean roots by native rhizobia is closely related to the cultural history of soils, the cultivated variety and compatibility between a variety and the bacterial strain present in the soil (N'Gbesso *et al.*, 2017).

**Isolation and morphological characterization of soybean Rhizobia**

Thirty (30) isolates bacteria were obtained from the root nodules of soybean grown on soils from various sites of center-west of Côte d'Ivoire (Table 3). Isolates obtained in this study were coded RSC (Rhizobia isolated from Soybean in Côte d'Ivoire) and were generally circular, mucilaginous, pink or white color on YEM agar medium. Microscopic examination revealed that all isolates were rod shaped and gram negative. Similar characteristics were observed by over authors on isolates of soybean root nodules in several parts of the world (Sharma *et al.*, 2010; Jadhav, 2013; Kapembwa *et al.*, 2016). These characteristics have been described by Jordan (1982) as distinctive features of Rhizobia. In

addition, colonies diameter and generations times had varied from 1 to 7 mm and 2 to 7 days respectively. Based on these latest, isolates could belong to the genus *Bradyrhizobium* (slow growth) and *Sinorhizobium* (intermediary growth) (Sadowasky *et al.*, 1983; Hossain *et al.*, 2012).

**Confirmation and preliminary screening of soybean Rhizobia effectiveness through nodulation test**

All isolates bacteria, except RSC 327 and RSC 330 were authenticated as soybean symbiont (Table 3). Therefore, authentic isolates showed a large diversity in their capacity to infect the host plant and to improve plant growth.

Isolates influenced significantly (P <5%) number and weight of nodules. Isolates RSC 325 and RSC 309 produced the highest number of nodules (39 and 42.33 plant<sup>-1</sup> respectively) (Figure 1). Isolates RSC 323 and RSC 309 induced the highest weight of nodules 423.33 mg and 446.67 mg respectively).

**Table.1** Soils sampling origin and cultural history

Sampling area	Geographical Coordinates	Cultural history
Daloa	6°54'31.76''N ; 6°26'14.99''W	greengram
Bribouo	6°52'22.12''N ; 6°30'11.96''W	cowpea
Gbetitapea	6°47'31.35''N ; 6°27'7.84''W	groundnuts
Gonate SODEFOR	6°53'59.14''N ; 6°10'54.89''W	Soybean
Gonate North Tapeguhe	6°55'36.59''N; 6°15'31.76''W 6°57'25.48''N; 6°28'22.69''W	Soybean Common bean

**Table.2** Nodules means number according to soils origin

Soil sampling sites	Bribouo	Daloa	Gbetitapea	Gonate N	Gonate S	Tapeguhe
Nodules number	0	0	0	07±2	38±4	0

N = North; S = South

**Table.3** Effect of native soybean root nodule isolates on nodule number, nodule weight, plant height and biomass of soybean on sand pot

Treatment	Nodule number	nodule weight (mg plant <sup>-1</sup> )	plant height (cm)	Fresh biomass (g plant <sup>-1</sup> )	Dry biomass (g plant <sup>-1</sup> )
RSC 301	10.67f	83.33fg	31.33ab	5.52cde	1.07de
RSC 302	3.33g	53.33g	16.33d	5.15de	1.05e
RSC 303	4g	61g	17.8d	5.43de	1.36cde
RSC 304	5.33g	68.33g	26.67c	6.13de	1.22de
RSC 305	3.33g	46.67g	26c	4.50de	0.86e
RSC 307	3.67g	51.66g	30bc	6.70bc	1.22de
RSC 308	4g	40g	27.67c	7.06bc	1.25de
RSC 309	42.33a	446.67a	37.23a	7.82ab	2.11a
RSC 310	38b	403.33b	32.26ab	7.07bc	1.88b
RSC 312	27d	380c	27.80c	6.32cd	1.48cd
RSC 313	10f	86.67fg	28bc	5.12de	1.05e
RSC 314	7.33fg	81.67fg	29bc	6.52c	1.33cde
RSC 315	6.67fg	66.67g	29.67bc	6.77bc	1.33cde
RSC 316	3.33g	53.33g	27c	5.47de	1.21de
RSC 317	3.67g	58.33g	27.5c	5.77cd	1.35cde
RSC 318	20.33e	261.67d	32.33ab	8.2a	2.97a
RSC 319	7.33fg	96.67fg	24.33c	5.55cd	1.22de
RSC 320	6g	70g	26.67c	4.9de	0.92e
RSC 321	4.33g	51.66g	28.73bc	5.24de	1.09de
RSC 322	7.66fg	93.33fg	31ab	6.06cd	1.24de
RSC 323	38b	423.33ab	34.57ab	7.51ab	1.96b
RSC 324	31.67c	390bc	30.67ab	7.50ab	2.01b
RSC 325	39.00b	408.33b	33.67ab	7.79ab	1.94b
RSC 326	11f	140e	31.1ab	6.13cd	1.77bc
RSC 327	-	-	27.90c	6.03cd	1.35cde
RSC 328	7.33fg	83.33fg	27.80c	5.58cd	1.26de
RSC 329	5.67g	76.67g	28.67bc	6.62c	1.33cde
RSC 330	-	-	27.90c	5.92cd	1.19de
RSC 331	10.66f	113.33ef	29bc	5.72cd	1.07de
TN	-	-	30.50bc	7.07bc	1.73bc
TNN	-	-	25.33c	4.62e	0.86e
<b>LSD (5 %)</b>	<b>4.33</b>	<b>34.33</b>	<b>6.58</b>	<b>0.8</b>	<b>0.42</b>

In the column, means followed by the same letter did not differ significantly at 5 % level by the LSD test.

TN: uninoculated and fertilized control; T0: uninoculated and unfertilized control.

**Table.4** Tolerance of soybean Rhizobia to different concentrations of NaCl

Isolates	Salt tolerance									
	0 %	0.5 %	1 %	1.5 %	2%	3%	4%	5%	8%	10%
RSC 301	3+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-	-
RSC 302	3+	2+	2+	2+	1+	1+	-	-	-	-
RSC 303	3+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-
RSC 304	3+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-
RSC 305	3+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-
RSC 307	3+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-
RSC 308	3+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-
RSC 309	3+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	-	-	-
RSC 310	3+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	1+	1+	1+
RSC 312	3+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	1+	-	-
RSC 313	3+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-
RSC 314	3+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-
RSC 315	3+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-
RSC 316	3+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-
RSC 317	3+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-
RSC 318	3+	2+	2+	2+	1+	1+	-	-	-	-
RSC 319	3+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-
RSC 320	3+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-
RSC 321	3+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-
RSC 322	3+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-
RSC 323	3+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	1+	-	-
RSC 324	3+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	-	-	-
RSC 325	3+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	-	-	-
RSC 326	3+	2+	2+	2+	1+	1+	-	-	-	-
RSC 327	3+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-
RSC 328	3+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-
RSC 329	3+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-
RSC 330	3+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-
RSC 331	3+	2+	2+	2+	1+	-	-	-	-	-

3+: Very good growth; 2+: Good growth; 1+: moderate growth; -: no growth

**Fig.1** Soybean cultivar Piramama plants inoculated by the isolates RSC 309 (A) and RSC 325 (B) and the uninoculated plants (C)



**A**

**B**

**C**

Considering the growth of plants, the results revealed that all isolates produced

significantly higher biomass and plant height compared to negative control (T0). The higher

biomasses were recorded by the isolates RSC 318 (2.97 g) and RSC 309 (2.11 g). The isolates RSC 310, RSC 323, RSC 324 and RSC 326 were found statistically similar and stimulated plant growth than synthetic nitrogen (KNO<sub>3</sub>) applied on positive control (TN). The lowest was found in negative control and isolates RSC 305 and RSC 320. These observations are in agreement with previous reports by N'Gbesso *et al.*, (2017) on inoculation of over soybean cultivars with native selected *Bradyrhizobium* strains, which showed increased survival percentage in seedlings and greater biomass production in all inoculated plant. Some researchers attributed the higher nodulation and biomass yields of inoculated plants to high nitrogen fixation incorporated into nitrogen biosynthesis (Sharma *et al.*, 2000; Hossain *et al.*, 2012).

#### **Physiological characteristic: salt tolerance**

Isolates exhibited a wide tolerance to salt stress (Table 4). All isolates grew on the YEM agar medium containing up to 2 % of NaCl excepted isolate BSC 301. Beyond this concentration, the percentage of tolerant strains decreased rapidly. Only 26 % of strains supported 3 % of salt concentrations. Of these, isolates RSC 309, RSC 324 and RSC 325 tolerated 4 % NaCl while RSC 312 and RSC 323 showed tolerant to 5% NaCl. Isolate RSC 310 exhibited the highest tolerance of salt (10 %). Thus, the salt inhibitory concentrations varied among strains.

This finding corroborated previous reports which stipulated that Rhizobia could grow up to 3 % of salt concentrations (Chen *et al.*, 2000; Raza *et al.*, 2001; El Hilali, 2006). However, over work showed that Rhizobia tolerate low salt concentrations (Zerhari *et al.*, 2000; Maâtallah *et al.*, 2002).

In conclusion, this study clearly reveals that the soils of Côte d'Ivoire are very poor in rhizobia, which nodules of the soybean [*Glycine max* (L.) Merrill], a legume introduced in 1970. However, the soils that have previously received the cultivation of this legume could generate compatible rhizobia. In fact, thirty rhizobia were isolated from the nodules of the soybean Piramama cultivar in the soils of two localities in Côte d'Ivoire (center-west). More than 93 % of the isolates were authenticated, capable of nodulating the host plant and very close to *Bradyrhizobium* and *Sinorhizobium*. Symbiotic and physiological data showed that isolates RSC309, SRC310, RSC312, RSC323, RSC324 and RSC325 were particularly infectious, efficient and salt-tolerant at 4-5% of NaCl. These six isolates have promising symbiotic and agronomic traits and could be recommended as native inoculants for the biological inoculation of soybeans under soil and climatic conditions in Côte d'Ivoire.

#### **References**

- Cahuzac-Picaud M., 2010. Les huiles végétales, intérêt diététique et gastronomique. *Phytothérapie*, 8:113-117.
- Chen W. M, Lee T. M., Lam CC and Cheng CP. 2000. Characterization of halotolerant Rhizobia isolated from root nodules of *Canavalia rosea* from seaside areas. *FEMS Microb Eco.* 34, 9-16.
- El Hilali I., 2006. La symbiose Rhizobium-Lupin: Biodiversité des microsymbiotes et mise en évidence d'une multi-infection nodulaire chez *Lupinus luteus*. Thèse de Doctorat d'Etat Es Sciences. Université Mohammed V. Rabat.
- Franché C., Lindstrom K and Elmerich C., 2009. Nitrogen fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. *Plan Soil.* 321: 35-

- 59.
- Giller K.E., 2001. Nitrogen fixation in tropical cropping systems. Second ed. CABI Publishing. Wallingford, UK, 448 p.
- Hossain A. K. M. M., Mian M. H., Hakim M. A., Islam M. M. and Ferdous J., 2012. Isolation and selection of *Bradyrhizobium* from the root nodules of indigo plants (*Indigofera tinctoria* L.). *Afr. J. Biotechnol.* 11(58): 12183-12191.
- Ibrahim Konate, Adama Ouattara, Bakary Coulibaly, Raissa N.K. Guei, Kouadio Amani, Kpandji I. Kouadio, Abdelkarim Filali-Maltouf and Mathurin KOFFI. (2015). Phenotypic Diversity of Associative Bacteria Isolated from Roots and Stems of Cacao (*Theobroma cacao*) Tree in Daloa, Côte d'Ivoire. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 4(9): 560-570.
- Jadhav R N., 2013. Isolation of rhizobia from soybean cultivated in latur area and study of its phosphate solubilization activity. *Biosci. Disc.*, 4(1):100-103.
- Jordan D.C., 1982. Transfer of *Rhizobium japonicum* Buchanan 1980 to *Bradyrhizobium* gen. nov. a genus of slow-growing root nodule bacteria from leguminous plants. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 32: 136-139.
- Kapembwa R., Mweetwa A M., Ngulube M. and Yengwe J. 2016. Morphological and Biochemical Characterization of Soybean Nodulating Rhizobia Indigenous to Zambia. *Sustainable Agriculture Research.* 5(3): 84-92.
- Karaboneye F. 2013. Caractérisation de l'efficacité symbiotique des lignées africaines de soja à haute promiscuité. Mémoire de Maîtrise en Biologie. Université de Laval, Québec, Canada 123p.
- Klubeck B.P., Hendrickson L.L., Zablotowicz R.M., Skwara J.E., Varsa E.C., Smith S., Isleib T.G., Maya J., Valdes M., Dazzo F.B., Todd R.L. and Walgenback D.D., 1988. Competitiveness of selected *Bradyrhizobium japonicum* strains in midwestern USA soils. *Soil Science Society of America Journal*, 52: 662-666.
- Maâtallah J., Berraho E.B., Munoz S., Sanjuan J and Lluch C., 2002. Phenotypic characterization of rhizobia isolated from chickpea (*Cicer arietinum* L.) growing in Moroccan soils. *Agronomie.* 22, 321-329.
- Mahamood J. Abayomi, Y.A. and Aduloju, M.O. 2009. Comparative growth and grain yield responses of soybean genotypes to phosphorous fertilizer application. *African Journal of Biotechnology* 8 (6): 1030-1036.
- N'Gbesso M.F.D.P., Fondio L., Coulibaly N.D and Kouame N.C., 2017. Efficacité symbiotique de cinq souches locales de rhizobiums sur les paramètres de croissance du soja. *Inter. J. of Biol. and Chemic. Scie*, 11(5): 2327-2340.
- N'Gbesso M.F.D.P., N'guetta ASP, Kouamé NC and Foua B.K., 2010. Evaluation de l'efficience de l'inoculation des semences chez 11 génotypes de soja (*Glycine max* L. Merrill) en zone de savane de Côte d'Ivoire. *Sci. Nat.* 7(1):59-67.
- N'Zi J-C., Koua A P., Kouassi K. D., Kahia J., Kouassi J-L., N'Guetta A. S-P and Kouamé C., 2015. Effect of inoculating seeds with *Bradyrhizobium japonicum* on the agronomic performance of five varieties of soybean (*Glycine max*) in Côte d'Ivoire. *Afr. J. Agric. Res.* 10(37): 3671-3677.
- Naveen Kumar, R., Subhash and Reddy, R. 2018. Screening of *Bradyrhizobial* Isolates for Plant Growth Promoting Properties *in vitro* Conditions. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 7(10): 2232-2237.

- Nyabyenda P., 2005. Les plantes cultivées en régions tropicales d'altitude d'Afrique: généralités, légumineuses alimentaires, plantes racines et tubercules et céréales. Presses agronomiques de Gembloux. Belgique. 223 p.
- Raza S., Jornsgard B., H. Abou-Taleb and J. L. Christiansen. 2001. Tolerance of *Bradyrhizobium* sp. (*Lupini*) strains to salinity, pH, CaCO<sub>3</sub> and antibiotics. *Lett. Appl. Microbiol.* 32, 379-83.
- Sadowsky M. J., Keyser H. H and Bohlool, B. B., 1983. Biochemical Characterization of Fast- and Slow-Growing Rhizobia that Nodulate Soybeans. *Int. J. of Systematic Bacteriology*, 33(4), 716-722.
- Sharma M. P., Srivastava K and Sharma S. K., 2010. Biochemical characterization and metabolic diversity of soybean rhizobia isolated from Malwa region of Central India. *Plant Soil & Environment*, 56(8), 375-383.
- Sharma S., Upadhyay R.G. and Sharma C.R. 2000. Effect of Rhizobium inoculation and nitrogen on growth, dry matter accumulation and yield of black gram (*Vigna mungo*). *Legume Resaerch*, 23(1): 64-66.
- Somasegaran P and Hoben H. J., 1994. Handbook for Rhizobia Methods in Legume- Rhizobium Technology, springer Verlag, New York, USA. pp. 58-101.
- Vincent J.M., 1970. A manual for the practical study of root-nodule bacteria. *Blackwell Scientific, Oxford, UK*.
- Vitosh M. L., 1997. Soybean inoculation in Michigan. Soybean Facts Winter, Department of Crop and Soil Sciences, Michigan State University, USA. 4p.
- Yusuf N., Nasti T.H and Meleth S., 2009. Resveratrol enhances cell-mediated immune response to DMBA through TLR4 and prevents cutaneous carcinogenesis. In cooperation with the University of Texas MD Anderson Cancer Center 48 (8): 713-723.
- Zablotowicz, R. M. and Reddy K. N., 2004. Impact of Glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with Glyphosate-resistant transgenic soybean: a minireview. *J. Envir.Quality*. 33: 825-831.
- Zerhari K., Aurag J., Khbaya B., Kharchaf D and Filali-Maltouf A., 2000. Phenotypic characteristics of rhizobia isolates nodulating *Acacia* species in the arid and Saharan regions of Morocco. *Lett. Appl. Microbiol.* 30, 351-357.

#### **How to cite this article:**

Amani Kouadio, Konate Ibrahim, Mako François De Paul N'gbesso, Attien Yao Paul, Lassina Fondio, Abdelkarim Filali-Maltouf and Tidou Abiba Sanogo. 2019. Phenotypic and Symbiotic Diversity of Rhizobia Isolated from Root Nodules of Soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] in Côte d'Ivoire. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 8(03): 766-774.  
doi: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.803.094>

## RESUME

Le soja (*Glycine max* L. Merr) est une légumineuse cultivée pour la qualité nutritionnelle de ses graines et sa capacité à restaurer la fertilité des sols. Sa culture en Côte d'Ivoire est tributaire de la souche exotique *Bradyrhizobium japonicum* IRAT FA3 introduite depuis deux décennies. La présente étude a été entreprise pour sélectionner des rhizobia indigènes compétitifs et adaptés aux conditions environnementales locales afin d'améliorer la productivité du soja et de restaurer la fertilité des sols sur de courtes durées. Les nodules collectés sur différents cultivars de soja semés dans des sols ayant des précédents de légumineuses, ont été isolés sur le milieu YEM. Les isolats obtenus ont été authentifiés et leur spectre d'hôtes vérifié. La capacité des meilleurs isolats à solubiliser le phosphate inorganique et le potassium puis, à tolérer différents facteurs environnementaux locaux (pH, température, salinité, métaux lourds et pesticides) a été évaluée *in vitro*. Les meilleurs isolats ont été testés au champ avec les cultivars Canarana, Doko et Piramama dans trois différentes localités situées au Centre-Ouest du pays (Daloa, Divo et Hiré). Les résultats de l'étude ont montré que les nodules apparaissaient uniquement sur les sols avec un précédent soja. Environ 63 % des quatre-vingt-neuf (89) isolats bactériens a été capable de réinfecter les cultivars hôtes. Parmi ces rhizobia, RSC115, RSC119, RSC309, RSC324, RSC502, RSC504 et RSC508 ont exhibé un large spectre de cultivars de soja comme hôtes tout en étant plus infectants que la souche IRAT FA3 sur substrat stérile. Ces isolats ont été capables de solubiliser *in vitro* le phosphate tricalcique et le potassium. Ils ont aussi toléré le pH, la température, le plomb, l'Haloxypop-R-méthyle et le 2,4-D sel d'amine. Cependant, ils ont été affectés *in vitro* par des pesticides (Glyphosate, Mancozèbe, Propineb) et des métaux lourds (sulfates de zinc et cuivre). Dans les essais au champ, les rhizobia locaux ont amélioré significativement ( $P < 5\%$ ) différents paramètres agro-morphologiques mesurés (hauteur de plant, biomasses fraîche et sèche). Les isolats RSC119, RSC309, RSC504 et RSC508 ont induit plus de nodosités et de gousses sur l'ensemble des sites d'essais. Le nombre de gousses le plus élevé par plant (163) a été obtenu avec RSC309 inoculé au cultivar Canarana. Le rendement en graines le plus élevé a été obtenu avec RSC508 inoculé au cultivar Piramama (4,3 t/ha). Des teneurs du sol plus élevées en matière organique et en azote total ont été obtenues après une culture de soja inoculée avec des souches bactériennes testées. Quant à l'isolat RSC508, il a induit un relèvement du pH du sol quel que soit le cultivar de soja testé. Ces résultats montrent que l'inoculation du soja avec des souches locales de rhizobium sélectionnées permettent d'accroître significativement la productivité du soja et restaurer la fertilité des sols sur de courtes durées.

**Mots clés :** Souches indigènes, inoculation, azote organique, engrais de synthèse, soja, fertilité des sols.

## ABSTRACT

Soybean (*Glycine max* L. Merr) is a legume cultivated for its grain nutritional quality and its ability to improve soil fertility. Soybean cultivation in Côte d'Ivoire used to be dependent on the exotic strain *Bradyrhizobium japonicum* IRAT FA3 two decades ago. The present study aims to select competitive indigenous rhizobia adapted to local environmental conditions in order to improve soybean yields and restore soil fertility over short periods. Nodules collected from various soybean cultivars sown in soils with legumes as preceding crops, were isolated on YEM medium. Isolates obtained were authenticated and their host spectrum verified. The ability of best isolates to dissolve tri-calcium phosphate and potassium and tolerate various environmental hazards (pH, temperature, salinity, heavy metals and pesticides) was assessed *in vitro*. Isolates were tested in field conditions on cultivars Canarana, Doko and Piramama in three different locations in central-western of Côte d'Ivoire (Daloa, Divo and Hiré). Results showed that nodules were observed only on soils with soybean as preceding crop. About 63 % of all eighty-nine (89) isolates able to re infect host cultivars were collected as local strains of rhizobium for soybean. Among them, RSC115, RSC119, RSC309, RSC324, RSC502, RSC504 and RSC508 strains exhibited a larger host spectrum, and a more infectious ability compared to IRAT FA3 strain on sterile substrate. Isolates were able to solubilize tri-calcium phosphate and potassium *in vitro* with enough tolerance to pH, temperature, lead, Haloxypop-R-methyl and 2,4-D amine salt. However, they were affected *in vitro* by herbicides as well as heavy metals (Glyphosate, Mancozeb, Propineb, zinc and copper sulfates). Under field conditions, local rhizobia strains significantly improved ( $P < 5\%$ ) agro-morphological traits measured like plant height, fresh and dry biomass yields. Isolates RSC119, RSC309, RSC504 and RSC508 induced more nodules and pods irrespective of the location investigated. The highest number of pods per plant (163) was obtained with RSC309 inoculated to cultivar Canarana, while the isolate RSC508 induced the highest grain yield (4.3 t/ha) in cultivar Piramama. Soil organic matter and total nitrogen contents were also improved through biological nitrogen fixation resulting from bacterial activity. Moreover, the strain RSC508 increased soil pH irrespective of the tested soybean cultivar tested. Results showed that soybean inoculation with selected local rhizobium strains significantly increased not only soybean yields but also soil fertility over short periods.

**Key words :** Indigenous strain, inoculation, organic nitrogen, artificial fertilizers, soybean, soil fertility.