

Promotion au champ, de la croissance, l'absorption du phosphore et le rendement de maïs (*Zea mays*) par les souches de *Bacillus* isolées des sols du Mali et solubilisant le Phosphate Naturel de Tilemsi

Field promotion on growth, P uptake and yield of maize (*Zea mays*) by Tilemsi Phosphate Rock-dissolving *Bacillus* strains, isolated from Malian soils

Traoré L.^{1,2}, Babana H.², Sacko O.², Yattara I.I.², Antoun H.⁴, Lahbib M.^{2,3}

¹Institut d'Economie Rurale, IER/CRRA–Sotuba, BP. 262, Bamako, Mali
Tél. : (+223) 66 72 43 26 ; Courriel : ltraore68@gmail.com

²Université de Bamako, Mali

³Chaire UNESCO pour l'Environnement, Bamako, Mali

⁴Centre Sève et Centre de Recherche en Horticulture, Université Laval, Québec, Canada

Résumé

La carence de phosphore (P) est l'un des principaux facteurs limitant la production agricole au Mali. Les cultures répondent bien à la fertilisation phosphatée, mais le coût élevé des engrais chimiques importés restreint leur utilisation par les agriculteurs. Cependant, dans la vallée de Tilemsi, le Mali dispose de gisements de phosphates estimés entre 20 à 25 millions de tonnes, avec une teneur en P₂O₅ de l'ordre de 23 % à 30 %.

Dans le but d'améliorer biologiquement l'absorption de phosphore par le maïs fertilisé avec du phosphate naturel de Tilemsi (PNT), l'effet de l'inoculation de souches de *Bacillus* isolées des sols maliens a été étudié. La croissance et la teneur en P de trois variétés de maïs ont été mesurées en 2007 ; la croissance, la teneur en P et le rendement de la variété de maïs Sotubaka ont été mesurés en 2008 dans des conditions de champ au Mali. L'expérimentation a été menée au cours des saisons agricoles de 2007 et 2008 à la station de recherche agronomique de Samanko située à 15 km au Sud-Ouest du District de Bamako au Mali. Elle est à une latitude de 12° . 31.552' Nord, à une longitude de 8° .04.906' Ouest et à une altitude de 316,8 m. Le sol est de type

ferrugineux tropical peu lessivé, de texture limono sableuse avec 76% de sable, 15% de limon et 9% d'argile (Labosep, IER, 2008). Un dispositif expérimental de type split-plot à trois répétitions a été utilisé avec, en parcelles principales, la fertilisation (le PNT 300 kg/ha (insoluble), l'engrais chimique, le complexe céréale 100 kg/ha (17-17-17) et le témoin sans phosphore. Toutes les parcelles ont reçu la même quantité d'azote N équivalente à 150 kg d'urée. Les compléments N et K de l'engrais chimique ont été corrigés pour toutes les autres parcelles. Les parcelles secondaires étaient composées de trois variétés de maïs (Dembanyuman, Sotubaka, Tiémantié) et les parcelles tertiaires étaient composées de témoin non inoculé et les six inoculations avec les lignées de *Bacillus* solubilisant le PNT. Toutes les lignées appartiennent à *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* (T) ; DSM10. Nos résultats ont montré que la fertilisation phosphatée du maïs avec le PNT ou le complexe céréale (17-17-17) améliore significativement les rendements grain et de la biomasse sèche. L'inoculation avec les souches de bactéries solubilisant le PNT n'a pas influencé la taille des plants après 60 jours de croissance mais elle a significativement influencé l'absorption de P dans les grains et dans la biomasse aérienne sèche. La fertilisation du maïs avec

le PNT et l'inoculation avec ces bactéries ont occasionné une plus grande teneur en phosphore des grains et de la biomasse sèche du maïs. La mycorrhization des racines de maïs par les champignons mycorrhiziens indigènes a été déterminée en utilisant la méthode de Philips et Hyman (1970).

Mots-clés : Souches de *Bacillus* dissolvant le PNT, inoculation, l'absorption de P, variété de maïs, mycorrhization.

Abstract

Phosphorus (P) deficiency is one of the major factors limiting crop production in Mali. Crops respond well to P fertilization, but the high cost of imported chemical fertilizers restrains their use by farmers. However, Mali has in the Tilemsi valley, phosphate rock (PR) deposits estimated between 20 to 25 million tonnes with P₂O₅ content in the range of 23% to 30%.

With the aim of improving biologically P uptake by maize fertilized with Tilemsi phosphate rock (TPR), the inoculation effect of TPR-solubilizing *Bacillus* strains isolated from Malian soils was investigated. The growth and P concentration of three cultivars of maize were measured in 2007 ; growth, P concentration and yield of the cultivar Sotubaka of maize were measured in 2008 under field conditions in Mali. Experimental plots were established at the Samanko agronomic research station (latitude 12° 31' N. 8° 4' W, altitude 316.8 m) in 2007 and 2008, located at 15 km from Bamako district. The soil is ferralitic tropical washed type, sand limon texture with 76% of sand, 15% of limon and 9% of clay (Labosep, IER, 2008). A split-split-plot experimental design with three replicates was used. The three main plot treatments included P addition at 300 kg/ha TRP, 100 kg/ha of Complex cereal, the chemical fertilizer (17-17-17) and a control which did not receive any P. All plots received the same amount of N equivalent to 150 kg/ha urea. The additional N and K added with the chemical fertilizer were corrected for all other plots. The sub-plots were the three

cultivars of maize (Dembanyuman, Sotubaka and Tiemantie) and the sub-sub plots included an uninoculated control and inoculation with six TRP-solubilizing *Bacillus* strains, all belonging to the *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* (T); DSM10. Our results have shown that P-fertilization of the cultivar of maize with TPR or the chemical fertilizer (17-17-17) significantly improved grain and shoot dry matter yields. Inoculation with TPR-solubilizing bacteria did not influence plant height sixty days after planting, grain or shoot yields but it significantly influenced grain and shoot P-uptake. Maize fertilized with TPR and inoculated with these bacteria exhibited the highest grain and shoot P-content. The maize roots mycorrhization by the indigenous mycorrhizal fungals was determined using the method of Philips and Hyman (1970).

Keywords: TPR-solubilizing *Bacillus* strains, inoculation, P uptake, maize cultivars, mycorrhization.

1. Introduction

Le phosphore est un élément nutritif essentiel pour la plante. Il est ajouté au sol comme phosphates inorganiques. Une grande partie de ces phosphates utilisés comme engrais est immobilisée après l'application et devient inaccessible pour les plantes (Dey, 1988 ; Singh et Kapoor, 1994). La carence du Phosphore (P) est l'une des contraintes majeures à la production agricole en Afrique de l'Ouest, en général, et au Mali, en particulier. Les engrais importés sont très chers et les agriculteurs, en raison de leur faible pouvoir d'achat, ne peuvent pas les payer. Cependant, le Mali dispose des gisements de phosphate dans la vallée du Tilemsi. Ces gisements qui sont estimés entre 20 et 25 millions de tonnes (SONAREM, 1988), sont une source potentielle de P bon marché pour les agriculteurs (Bationo *et al.*, 1997). L'application directe de PNT pourrait être rentable en comparaison avec les engrais phosphatés importés (Bationo *et al.*, 1997). Le gouvernement du Mali, afin de réduire la dépendance des agriculteurs des engrais chimiques, a mis en place un programme de développement des ressources

locales, notamment le PNT, un des meilleurs phosphates tricalciques d'Afrique de l'Ouest, parce que ayant des propriétés chimiques et minéralogiques favorables à une application directe (Pieri, 1989). Toutefois, SAFGRAD (1985), Bagayoko et Coulibaly (1995) ont rapporté que l'usage des phosphates naturels (NP) par les plantes cultivées n'est pas toujours facile en raison de leur faible solubilité. Leurs études ont montré le faible effet annuel du PNT dans plusieurs zones agro-écologiques du Mali, à cause de sa solubilité lente. Pour améliorer sa solubilité, certaines stratégies parmi lesquelles, l'acidification partielle, l'utilisation du complexe PNT-fumure organique et la sélection des plantes acidifiant la rhizosphère, ont été utilisées ou proposées. Toutes ces tentatives n'ont pas répondu aux attentes des producteurs. Cette déception a eu pour conséquence la réduction drastique du taux d'utilisation du PNT et la fermeture temporaire de l'usine de production. Strullu (1991), Babana et Antoun (2003) ont rapporté que l'efficacité de l'utilisation possible du phosphate naturel par la plante peut être faite en les associant à certains microorganismes naturellement présents dans les sols, ce qui suppose leur rôle important dans la dissolution des phosphates pour rendre le phosphore disponible à la plante. Cela a été démontré par Rodriguez et Fraga (1999) ; Whitelaw (2000). Les résultats de recherches ont également montré que certaines espèces comme *Azospirillum sp.*, *Enterobacter sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Serratia sp.*, etc., peuvent dissoudre les phosphates naturels et rendre le phosphore disponible pour la plante (Rock *et al.*, 1996 et Komy, 2005). Selon Richardson (2001), la production et la libération de l'acide organique par des micro-organismes constituent des mécanismes importants dans la dissolution des phosphates. Babana et Antoun (2003), ont constaté que certaines bactéries rhizosphériques en plus de leur pouvoir de solubilisation du phosphate, sont aussi connues pour leur capacité à produire des produits qui favorisent la croissance de la plante et surtout quand elles sont associées à des champignons mycorhiziens à arbuscules

(AM). Selon Sylvia et Chelleni (2001), les racines de la plupart des plantes cultivées sont colonisées par des champignons mycorhiziens à arbuscules (AM). Outre l'amélioration de l'absorption des nutriments peu mobiles, la symbiose avec les AM est profitable pour la croissance des plantes par d'autres mécanismes d'action tels que l'amélioration de la tolérance à la sécheresse, la protection des plantes contre les pathogènes ou la séquestration du carbone, améliorant ainsi l'agrégation du sol. L'utilisation des microorganismes dans la dissolution des phosphates peut être considérée au Mali puisque le pays dispose d'importants gisements de PNT.

L'objectif de ce travail était de développer un bio-inoculant, basé sur les microorganismes dissolvant le PNT pour améliorer au champ la croissance du maïs, l'absorption du phosphore (P) et le rendement.

II. Matériel et Méthodes

2.1. Microorganismes

L'efficacité des microorganismes solubilisant le PNT a été mesurée sur le *National Botanical Research Institute's Phosphate growth medium* (NBRIP) de Nautiyal (1999), un milieu de culture de bactéries contenant le PNT comme la seule source de phosphore insoluble, décrit par Komy (2005). Un grand nombre d'isolats de bactéries rhizosphériques, provenant du maïs cultivé sur le sol malien, a été sélectionné. Les critères de sélection de ces microorganismes ont été basés sur leur efficacité de solubilisation sur milieu solide, d'une part et, d'autre part, sur milieu liquide, en utilisant la méthode de l'acide ascorbique de Watanabe *et al.* (1965) et la méthode colorimétrique de Tandon *et al.* (1968). Après leur identification par la méthode de biologie moléculaire, les 6 microorganismes sélectionnés étaient très similaires et ils appartenaient tous au *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* (T) ; DSM10. Ils ont été utilisés dans des essais d'inoculation au champ.

2.2. Préparation de l'inoculum et l'inoculation des graines de maïs

Les souches de *Bacillus* ont été cultivées dans 25 ml de milieu liquide NBRIP (Nautiyal, 1999) contenant 5 g/l de PNT comme source de P pendant 48 heures sur un agitateur rotatif à la température ambiante (28°C). Après l'enregistrement de la densité optique de la solution de culture, le volume d'inoculation est déterminé selon la formule de la courbe de croissance pré-établie des cellules et obtenue à partir de comptage direct : $Y = ax + b$ pour chaque bactérie où x est égale à la densité optique.

Les courbes de croissance déterminées pour les bactéries sélectionnées sont les suivantes :

- *Bacillus*.subsp 1 $Y = 2.443 x + 4.415$;
Bacillus.subsp 2 $Y = 1.299 x + 6.391$;
Bacillus.subsp 3 $Y = 1.865 x + 3.862$;
Bacillus.subsp 4 $Y = 0.748 x + 6.152$;
Bacillus.subsp 5 $Y = 1.090 x + 6.217$;
Bacillus.subsp 6 $Y = 1.331 x + 6.619$.

Les semences de maïs ont été stérilisées en surface comme décrit par Chabot *et al.* (1996). 335 g de graines ont été trempés dans 150 ml de suspension microbienne pendant 4 heures à la température ambiante. Les graines humides ont ensuite été transférées sur une feuille d'aluminium stérile et mélangées à de la poudre de talc. Les semences ainsi enrobées sont séchées pendant une nuit sous une hotte à flux laminaire à la température ambiante. Les semences témoins non inoculées ont été traitées de la même manière. Avant de semer les graines, la qualité d'inoculation a été déterminée. Chaque graine de maïs enrobée contenait en moyenne $2.5 \cdot 10^6$ CFU de *Bacillus*.subsp_{I₁} ; $3 \cdot 10^6$ CFU de *Bacillus*.subsp I₂ ; $5 \cdot 10^6$ CFU de *Bacillus*.subsp I₃ ; $2.9 \cdot 10^6$ CFU de *Bacillus*.subsp_{I₄} ; $1.5 \cdot 10^6$ CFU de *Bacillus*.subsp_{I₅} et $5 \cdot 10^6$ CFU de *Bacillus*.subsp_{I₆}.

2.3. Le phosphate naturel

Le phosphate utilisé dans notre expérimentation a été celui prélevé au nord du Mali, dans la vallée du Tilemsi, d'où l'appellation « PNT ». Le PNT contient entre 23 % et 30 % de P₂O₅. Il est soluble dans le citrate à 13,52 %, dans l'acide citrique à 38,46 %, dans l'acide formique à 61,21 % et dans l'eau à 3,87 % (Sacko, 2006). La teneur en minéraux est la suivante : P₂O₅ 30 % ; Ca 30,8 % ; CO₂ 2,3 % ; K 0,04 % ; Na 0,08 % ; Mg 0,21 % ; Fe 0,86 % ; Al 0,51 % ; S 0,24 % ; Cl 0,17 % ; F 2,6 % (Sacko, 2006).

2.4. Expérimentations au champ

Des parcelles d'expérimentation ont été installées en 2007 et 2008 à la station de recherche agronomique de Samanko, située à 15 km au sud-ouest du District de Bamako. Le sol était sablo-limoneux avec un pH 4,8, 0,19 % de matière organique et de 3,44 kg/ha de P et une pluviométrie moyenne annuelle de 800 à 900 mm. Un dispositif expérimental de type split plot à trois répétitions a été utilisé avec, en parcelles principales, la fertilisation (le PNT à 300 kg/ha insolubles, apportés au semis, le complexe céréale (engrais chimique) 100 kg/ha (17-17-17) au semis et le témoin sans phosphore. Toutes les parcelles ont reçu la même quantité d'azote N équivalente à 150 kg d'urée appliqués en doses fractionnées de 50 kg au semis et 100 kg/ha à la montaison du maïs (30 jours après le premier apport). Les compléments N et K de l'engrais chimique ont été corrigés pour toutes les autres parcelles. Les parcelles secondaires étaient composées de trois variétés de maïs (Dembanyuman, Sotubaka et Tiémantié) et les sous-sous parcelles étaient composées d'un témoin non inoculé et l'inoculation avec les six souches de *Bacillus* dissolvant le PNT. Les parcelles principales (fertilisation) étaient de 16 m de large et 16,8 m de long (268,8 m²) séparées par une allée de 1 m. Elles ont été divisées en trois sous parcelles ou parcelles secondaires pour les trois variétés de maïs. Elles étaient

de 22,4 m² (5,6 m x 4 m)/sous parcelle. Elles ont été séparées par un intervalle 50 cm. Les sous-sous parcelles ou parcelles tertiaires constituées par les 6 souches de bactéries et le témoin étaient de 3,2 m² (0,8 m x 4 m). La superficie totale de l'expérimentation était de 943,2 m² (52,4 m x 18 m). Le maïs a été semé à raison de 3 graines par poquet avec 50 cm entre les poquets et 80 cm entre les lignes. Le démariage a été fait 15 jours après le semis à raison de 2 plants/poquet, soit une densité de 50 000 plants/ha. Le semis a été fait le 8 août 2007 et la récolte le 25 octobre 2007, sur une pluviométrie annuelle de 715,4 mm.

En 2008, la même expérimentation a été répétée, mais seule la variété Sotubaka a été utilisée et le dispositif expérimental a été un split-plot. Les parcelles principales (fertilisation) ont été de 5 m de large et 21 m de long (105 m²) séparées par une allée de 1 m, et divisées en sous parcelles de sept traitements constitués par les 6 souches de bactéries rhizosphériques et le témoin sans inoculation d'une superficie de 15 m²/traitement (5 m x 3 m) ; les traitements étaient séparés par un intervalle de 0,5 m. Chaque traitement avait 5 lignes de maïs avec 2 lignes de bordure et 3 lignes centrales utilisées pour les différentes observations. La superficie totale de l'expérimentation était de 1309 m² (77 m x 17 m). L'essai a été semé le 17 juillet 2008 et récolté le 5 novembre 2008, sur une pluviométrie annuelle de 945,5 mm.

2.5. Colonisation des racines par le champignon mycorrhizien à arbuscule (AM)

Les racines des plants inoculés et non inoculés avec les bactéries en présence ou non du champignon mycorrhizien, pour tous les traitements, ont été coupées et lavées soigneusement à l'eau de robinet. Ces racines ont été colorées selon la technique du bleu de Trypan et lactophénol de Philips et Hayman

(1970) pour mesurer le pourcentage de racines mycorhizées par le champignon.

2.6. Analyse du sol et de la plante

L'analyse physico-chimique du sol de la station expérimentale de Samanko a été effectuée par le Laboratoire de Chimie de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université de Bamako en utilisant la méthode de Bray-1 (Olsen et Sommers, 1982). C'était un sol limoneux-sableux avec un pH de 4,8; C/N 3,8; OM 0,19% ; P assimilable 3,44 kg/ha ; K 147,2 kg/ha ; Ca 793,53 kg/ha et Mg 47,74 kg/ha. La teneur en phosphore des grains et de la biomasse sèche a été déterminée par le Laboratoire de Nutrition Animale de l'Institut d'Economie Rurale du Mali et par le Laboratoire de Microbiologie des Sols du Centre de Recherche en Horticulture de l'Université Laval, Canada. Les méthodologies utilisées ont été celle de l'acide ascorbique de Watanabé *et al.*, (1965) et la méthode colorimétrique de Tandon *et al.* (1968).

2.7. Collecte des données

Pour les différentes expérimentations, les données collectées étaient les suivantes, d'une part, pour les paramètres de croissance 30 et 60 jours après le semis : la taille, le nombre de feuilles, la biomasse végétale sèche, la biomasse racinaire et l'infection mycorrhizienne des racines et, d'autre part, à la récolte : le rendement grain kg/ha, le poids de 1000 grains, le volume racinaire des plants, la teneur en phosphore des grains et de la biomasse aérienne sèche.

2.8. Analyse statistique

L'analyse de variance à trois facteurs (fertilisation, variétés de maïs et micro-organismes dissolvant le phosphate) a été faite en utilisant le logiciel SAS (1990) pour dégager la différence entre les traitements.

III. Résultats

3.1. Taille de la plante

L'essai de 2007 a montré qu'après 30 jours de croissance, l'effet de l'inoculation des microorganismes dissolvant le phosphate (MDP) sur la taille était hautement significative à $P < 0,05$ (Tableau I) ; aucune différence n'a été observée entre les isolats après 60 jours de croissance (Tableau II). Le maïs inoculé en présence du PNT a été plus haut de 26,39 cm que celui fertilisé avec le complexe céréale et de 25,12 cm de plus que la condition sans phosphore pour le Sotubaka ; 11,8 cm et 12,64 cm pour Dembanyuman ; 16,26 cm et 18,60 cm pour Tiémantié. Ceci indique que, pour la taille des plants, l'activité de solubilisation du PNT peut offrir un meilleur effet comparé à celui de l'engrais chimique après 30 jours de croissance (Tableau II).

3.2. Biomasse végétale sèche et biomasse racinaire

L'effet de la fertilisation phosphatée sur le poids de la matière sèche a été hautement significatif à ($P < 0,001$), et significatif pour les variétés et l'inoculation avec les MDP à ($P < 0,05$). Après 60 jours, la fertilisation phosphatée et l'inoculation ont été hautement significatives à ($P < 0,01$), (Tableau I). Il n'y avait pas de différence statistique entre les bactéries sélectionnées. L'effet

de l'inoculation de Sotubaka en présence de PNT s'est traduit par une augmentation de la biomasse sèche (paille) de 43,35 kg/ha par rapport au complexe céréale sans inoculation, soit 48,50% et 56,77 kg/ha par rapport au traitement sans phosphore, soit 74,76% (Tableau III). Pour le poids sec de la biomasse racinaire, la fertilisation phosphatée était hautement significative à ($P < 0,01$) et significatif pour l'inoculation à ($P < 0,05$) 30 jours après le semis. L'effet de l'inoculation était hautement significative à ($P < 0,01$) et l'interaction entre la fertilisation phosphatée et l'inoculation a été importante 60 jours après le semis (Tableau I). L'effet de l'inoculation en présence de PNT a causé une augmentation de 8,98 kg/ha (73,72%) par rapport au complexe céréale et 14,91 kg/ha (238%) par rapport au sans phosphore (Tableau IV).

La même tendance a été observée avec Dembanyuman et le Tiémantié (Tableaux III et IV). Parmi les variétés, Sotubaka a été statistiquement différente des autres pour la majorité des paramètres mesurés (Tableau V) et également parmi les sources de phosphore, le PNT a fait la différence par rapport au Complexe céréale et au Sans phosphore (Tableau VI). En 2007, la sécheresse survenue au moment de la floraison des plants n'a pas permis d'obtenir de rendement grains fiable. Par conséquent, l'expérience a été répétée en 2008 avec la variété Sotubaka.

Tableau I. Analyse de variance pour la taille, les biomasses végétale et racinaire sèches des variétés de maïs fertilisées avec le PNT ou le complexe cériale et inoculées avec différents microorganismes dissolvant le phosphate (MDP), en 2007.

Source de variation	dl	Carrés moyens					
		Taille1 (cm)	Taille2 (cm)	Biomasse1 (kg/ha)	Biomasse2 (kg/ha)	Poids racinaire1 (kg/ha)	Poids racinaire2 (kg/ha)
SP (fertilisation)	2	745,63ns	409,59ns	462,55***	71,36ns	16,98***	13,82ns
Répétitions	2	2133,33ns	4478,57*	153,31**	6182,75***	4,72***	247,31**
SP erreur	4	1309,92	1343,56	3,44	584,10	0,09	10,45
Variétés	2	5572,61***	930,18ns	178,55*	1757,72ns	4,74ns	19,09ns
SP x variétés	4	349,20ns	3428,28ns	37,62ns	1611,81ns	1,98ns	56,81ns
Sous parcelles erreur	12	192,52	1540,48	41,93	709,28	2,18	36,61
MDP	6	1100,57***	1046,66ns	44,65*	1112,47***	3,53*	75,26***
Variétés x MDP	12	164,69ns	330,57ns	12,85ns	203,13ns	0,99ns	30,94ns
SP x MDP	12	87,14ns	1181,69*	12,33ns	994,06**	1,00ns	21,43ns
P x variétés x MDP	24	221,60ns	576,33ns	20,29ns	407,64ns	1,63ns	32,03*
Sous sous parcelles erreur	108	179,32	553,70	21,01	414,53	1,40	18,31
CV %		23,43	32,77	59,36	62,02	90,23	79,13

1, 2 = 30 et 60 jours respectivement ; * ** *** = significatif à $P < 0, 05$, $P < 0, 01$ et $P < 0, 001$ respectivement ; ns = non significatif ; CV = coefficient de variation ; SP = source de phosphore ; MDP = microorganismes dissolvant le phosphate ; dl = degré de liberté.

Tableau II. Effet de l'interaction inoculation-source de phosphore sur la taille des plants de maïs Sotubaka, Dembanyuman, Tiémantié, 30 jours après semis (2007)

MDP	Sotubaka			Dembanyuman			Tiémantié		
	PNT	CC	SP	PNT	CC	SP	PNT	CC	SP
<i>Bacillus.subspl</i> ₁	60,00 bc	51,67 ab	65,00	66,67 ab	56,67	53,33	55,00	48,33 ab	28,33 ab
<i>Bacillus.subspl</i> ₂	66,67 abc	53,33 a	61,67	70,00 ab	68,33	67,67	58,33	63,33 a	43,33 ab
<i>Bacillus.subspl</i> ₃	61,67 abc	60,00 a	65,00	71,67 a	63,33	65,00	46,67	38,33 b	50,00 ab
<i>Bacillus.subspl</i> ₄	83,33 a	58,33 a	55,00	65,00 ab	80,00	58,33	50,80	40,00 b	41,67 ab
<i>Bacillus.subspl</i> ₅	75,00 ab	68,33 a	46,67	61,67 ab	73,33	45,00	55,00	36,67 b	53,33 a
<i>Bacillus.subsp</i> I ₆	76,67 ab	63,33 a	65,00	63,33 ab	65,00	55,00	55,00	45,00 ab	50,00 ab
Témoin	51,67 c	3,00 b	48,33	43,33 ab	51,67	51,67	46,67	35,00 b	36,67 ab
ppds (0,05)	23,27	36,97	ns	27,46	ns	ns	ns	19,21	22,60

PNT= Phosphate Naturel de Tilemsi ; CC = Complexe céréale ; SP = sans phosphore ; ppds= plus petite différence significative ; les moyennes suivies par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes à (P<0.05) ; MDP=microorganismes dissolvant le PNT ; *Bacillus subtilis* W39 (BS. W39), *Bacillus megaterium* NBPPP68 (BM NBPPP68), *Bacillus subtilis* S64 (BS.S64), *Bacillus subtilis* FR-S7Aa (BS.FR-S7Aa), *Bacillus sp* AS-SO Ia (B.sp. AS-SO Ia), *Bacillus subtilis* L4 (BS. L4).

Tableau III. Effet de l'interaction inoculation-source de phosphore sur la biomasse aérienne sèche (kg/ha) des variétés de maïs Sotubaka, Dembanyuman, Tiémantié, 60 jours après semis (2007)

MDP	Sotubaka			Dembanyuman			Tiémantié		
	PNT	CC	SP	PNT	CC	SP	PNT	CC	SP
<i>Bacillus.subspI</i> ₁	171,8	216,25	40,62 b	44,68 bc	148,12	88,43 ab	139,06	62,25	99,69 ab
<i>Bacillus.subspI</i> ₂	115,6	101,56	187,75 a	45,00 bc	115,52	148,43 a	103,12	50,00	162,18 a
<i>Bacillus.subspI</i> ₃	118,4	235,90	150,00 ab	140,00 a	59,38	111,87 ab	151,56	84,38	86,25 ab
<i>Bacillus.subspI</i> ₄	165,7	144,06	83,55 b	66,25 bc	124,68	76,25 ab	178,12	114,06	83,75 ab
<i>Bacillus.subspI</i> ₅	94,1	141,25	54,04 b	128,75 bc	68,75	46,25 b	90,62	81,25	100,00 ab
<i>Bacillus.subspI</i> ₆	130,6	190,06	84,37 b	100,00 ab	49,38	93,75 ab	121,87	56,87	70,00 ab
Témoïn	55	89,37	75,93 b	26,43 c	81,25	92,18 ab	123,25	46,56	112,49 b
ppds (0,05)	ns	ns	142,50	62,8	ns	87,18	ns	ns	89,37

PNT= Phosphate Naturel de Tilemsi ; CC = Complexe céréale ; SP = sans phosphore ; ppds = plus petite différence significative ; les moyennes suivies par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes à (P<0.05) ; MDP = microorganismes dissolvant le PNT ; *Bacillus subtilis* W39 (BS. W39), *Bacillus megaterium* NBPP68 (BM NBPP68), *Bacillus subtilis* S64 (BS.S64), *Bacillus subtilis* FR-S7Aa (BS.FR-S7Aa), *Bacillus sp* AS-SO1a (B.sp. AS-SO1a), *Bacillus subtilis* L4 (BS. L4).

Tableau IV. Effet de l'interaction inoculation-source de phosphore sur la biomasse racinaire (kg/ha) des variétés de maïs Sotubaka, Dembanyuman, Tiémantié, 60 jours après semis (2007).

MDP	Sotubaka			Dembanyuman			Tiémantié		
	PNT	CC	WP	PNT	CC	WP	PNT	CC	WP
<i>Bacillus.subspl</i> ₁	23,12	14,68	10,62 b	6,25 b	35,62	25,31	37,50	12,50 ab	18,23 ab
<i>Bacillus.subspl</i> ₂	13,12	14,06	53,12a	5,00 b	27,50	27,18	21,88	11,25 ab	22,19 a
<i>Bacillus.subspl</i> ₃	10,00	12,81	16,87 b	10,31 ab	12,50	6,25	17,19	22,50 ab	11,56 ab
<i>Bacillus.subspl</i> ₄	20,62	17,81	20,93 b	8,12 b	12,50	10,93	23,43	31,25 a	41,87 ab
<i>Bacillus.subspl</i> ₅	25,12	12,50	6,66 b	6,56 b	14,37	13,43	11,88	14,36ab	15,94 ab
<i>Bacillus.subspl</i> ₆	35,00	19,37	29,68 ab	20,62 a	7,50	16,56	23,12	6,88 b	17,81 ab
Témoin	7,18	12,18	6,25 b	3,75 b	8,43	12,18	17,50	6,25 b	6,25 b
ppds (0,05)	ns	ns	31,56	7,81	ns	ns	ns	27,50	13,44

PNT= Phosphate Naturel de Tilemsi ; CC = Complexe céréale ; SP = sans phosphore ; ppds= plus petite différence significative ; les moyennes suivies par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes à ($P < 0,05$) ; MDP=microorganismes dissolvant le PNT ; *Bacillus subtilis* W39 (BS. W39), *Bacillus megaterium* NBPP68 (BM NBPP68), *Bacillus subtilis* S64 (BS.S64), *Bacillus subtilis* FR-S7Aa (BS.FR-S7Aa), *Bacillus sp* AS-SO1a (B.sp. AS-SO1a), *Bacillus subtilis* L4 (BS. L4).

Tableau V. Effet variété sur la taille des plants, le nombre de feuilles, les biomasses aérienne et racinaire, 30 et 60 jours après semis (2007).

Variétés	Taille 1 (cm)	Taille 2 (cm)	Nombre de feuilles1	Nombre de feuilles2	Poids racinaire1 kg/ha	Poids racinaire2 kg/ha	Rdt. biom1 kg/ha	Rdt. biom2 kg/ha
Sotubaka	60,55 a	69,71 a	6,34 a	10,22 a	45,00 a	145,00	247,50 a	950,00 a
Dembanyuman	64,36 a	69,43 b	6,46 a	9,48 b	27,5 b	117,50	177,50 b	702,50 b
Tiémantié	46,50 b	76,22 b	5,87 b	10,45 a	27,5 b	140,00	160,00 b	792,50 b
ppds (0,05)	4,93	8,75	0,33	0,72	10	ns	42,25	185

1, 2 = 30 et 60 jours respectivement ; ppds= plus petite différence significative ; les moyennes suivies par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes à (P<0.05) ; Rdt = rendement

Tableau VI. Effet de la fertilisation phosphatée sur la taille des plants, le nombre de feuilles, la biomasse sèche et le poids racinaire 30 et 60 jours après semis (2007).

Source de P	Taille1 (cm)	Taille 2 (cm)	Nombre de feuilles1	Nombre de feuilles2	Poids racinaire1 kg/ha	Poids racinaire2 kg/ha	Rdt.biom1 kg/ha	Rdt.biom2 kg/ha
PNT	61,11 a	74,68	6,37 a	10	32,25 a	130,00	215,00 a	34,03
CC	51,00 b	69,87	6,32 ab	9	45,00 a	147,50	245,00 a	31,99
SP	55,32 b	70,81	6,00 ab	10	17,50 b	147,50	115,00 b	32,45
ppds (0,05)	4,93	ns	0,33	ns	10,00	ns	42,25	ns

1, 2 = 30 et 60 jours respectivement ; ppds= plus petite différence significative ; les moyennes suivies par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes à (P<0.05) ; Rdt = rendement ; PNT= phosphate naturel de Tilemsi ; CC= complexe céréale ; SP = sans phosphate, biom=biomasse.

3.3. Volume racinaire, rendements grain et biomasse aérienne sèche

Il a été retenu de l'expérience de 2008 un effet significatif de la source de phosphore sur le volume des racines, le rendement grain (kg/ha) et le poids de 1000 grains à ($P < 0,05$). Une interaction hautement positive de la source de phosphore et l'inoculation à ($P < 0,01$) pour le rendement grain (Tableau VII). Un volume racinaire élevé a été observé dans les traitements PNT par rapport aux traitements complexe céréale et sans phosphore. Hinsinger et Gilkes, (1997) ont mentionné que le maximum d'efficacité agronomique des phosphates sur les cultures peut être expliqué par la nature de l'acidification partielle du sol et la densité des racines. Une densité élevée de racines peut faciliter l'exploitation d'un grand volume de sol pour le phosphore, en raison de la présence d'un nombre plus important de fines racines par unité de volume de sol. La fertilisation phosphatée de la variété de maïs Sotubaka avec le PNT ou avec l'engrais chimique NPK (17-17-17) a significativement amélioré les rendements grain et de la biomasse sèche. En effet, les rendements grains moyens étaient de 3378 kg/ha, 3120 kg/ha et 2448 kg/ha, et ceux de la biomasse sèche étaient de 3606 kg/ha, 3553 kg/ha et 2663 kg/ha, respectivement pour le PNT l'engrais chimique et le témoin non fertilisé (Tableau VIII). L'effet de l'inoculation en présence

du PNT a occasionné une augmentation de rendement grain de maïs de 371,5 kg/ha soit 12,33 % par rapport au complexe céréale sans inoculation et de 1012 kg/ha soit 42,72 % par rapport au traitement sans phosphore sans inoculation (Tableau IX). Le poids de 1000 grains a eu une augmentation due à l'inoculation de 12,28 g en présence du PNT par rapport au Complexe céréale. Ceci indique un effet positif de l'inoculation sur le poids des grains en présence du PNT.

Quant à la biomasse sèche, les rendements les plus élevés ont été de 4032 kg/ha et de 4154 kg/ha avec *Bacillus.subspI₅* respectivement en conditions PNT et complexe céréale. L'effet de l'inoculation en présence du PNT s'est situé à 296,93 kg/ha soit 8,46 % d'augmentation par rapport au complexe sans inoculation et à 693,83 kg/ha soit 23,51 % d'augmentation par rapport au traitement sans phosphore sans inoculation. Ceci explique que le maïs inoculé en présence du PNT peut produire des rendements grains (kg/ha) et de la biomasse sèche (kg/ha) comparables à ceux produits par l'engrais chimique importé, le complexe céréale. Les moyennes de valeurs des rapports grains/biomasse sèche des plantes inoculées avec les souches de bactéries rhizosphériques sont de 0,90, 0,85 et 0,79 respectivement pour PNT, complexe céréale et sans phosphore indiquant relativement un bon indice de productivité en condition PNT (Tableau IX).

Tableau VII. Analyse de variance pour le volume racinaire, le rendement grain, la teneur en phosphore des grains, le poids de 1000 grains, le rendement et la teneur en phosphore de la biomasse végétale, de la variété de maïs Sotubaka fertilisée avec le PNT or le complexe céréale et inoculée avec les MDP (2008)

Carrés Moyens									
Source de variation	dl	Volume racinaire (Cm ³)	Rdt. Grain (kg/ha)	P des Grains (kg/ha)	Poids de 1000 grains (g)	Rdt. biom (kg/ha)	P de la biomasse (kg/ha)		
SP (fertilisation)	2	10769,10*	4841460*	12,61**	2024,83*	1688091ns	4,56ns		
Répétitions	2	276,98ns	170690ns	0,30ns	2137,90*	384257ns	0,73ns		
Erreur SP	4	1158,21	538764	0,54	329,85	3285279ns	3,74		
MDP	6	3617,23ns	199355ns	0,39*	270,06ns	606083ns	1,63*		
SP x MDP	12	2143,87ns	440380**	0,60**	212,87ns	489279ns	0,88ns		
Erreur Sous parcelle	36	1701,64	150799	0,17	183,39	478264	0,56		
CV %		34,01	13,02	12,93	6,17	20,06	20,55		

1, 2 = 30 et 60 jours respectivement; * ** *** = significatif à $P < 0, 05, P < 0,01$ et $P < 0,001$ respectivement ; ns = non significatif ; CV = coefficient. de variation ; SP = Source de phosphore ; Rdt = rendement; dl = degré de liberté.

Tableau VIII. Effet de la fertilisation phosphatée sur le rendement, la teneur en phosphore des Grains, le poids de 1000 grains, le rendement et la teneur en phosphore de la biomasse sèche, et le volume racinaire (2008).

Source de P	Rdt. Grains (kg/ha)	P. Grains (kg/ha)	1000 grains (g)	Rdt. biomasse (kg/ha)	P. biomasse (kg/ha)	Volume racinaire (cm ³)
PNT	3378 a	3,960 a	229,13 a	3606 a	3,992 a	145,55 a
CC	3120 b	3,401 b	219,17 b	3553 a	3,859 a	117,56 b
SP	2448 c	2,428 c	209,50 b	2663 b	3,127 b	110,35 b
ppds (0.05)	254	0,620	9,27	425,55	3,52	26,36

1, 2 = 30 et 60 jours respectivement ; ppds= plus petite différence significative; les moyennes suivies par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes à ($P < 0.05$) ; Rdt = rendement. PNT = phosphate naturel de Tilemsi; CC = complexe céréale ; SP = sans phosphore ; P = phosphore.

Tableau IX. Effet de l'inoculation sur la production de matière sèche végétale et le rapport grain/biomasse (2008).

MDP	Rendement grain kg/ha			Biomasse sèche kg/ha			Rapport grain/biomasse sèche		
	PNT	Complexe	Sans P	PNT	Complexe	Sans P	PNT	Complexe	Sans P
<i>Bacillus.subsp</i> ₁	3407 ab	3200 ab	2578 ab	3949 ab	3511 a	2688 b	0,86	0,91	0,96
<i>Bacillus.subsp</i> ₂	3793 a	2726 b	2489 ab	3855 abc	2201 b	2986 ab	0,98	0,86	0,83
<i>Bacillus.subsp</i> ₃	2785 b	3052 ab	2815 a	3200 c	3863 a	4067 a	0,87	0,79	0,69
<i>Bacillus.subsp</i> ₄	2933 b	3111 ab	2822 a	3535 abc	3389 ab	3229 ab	0,83	0,91	0,87
<i>Bacillus.subsp</i> ₅	3911 a	3615 a	2222 bc	4032 a	4154 a	3499 a	0,97	0,87	0,64
<i>Bacillus.subsp</i> ₆	3466 ab	3012 ab	1837 c	3298 bc	3801 a	2418 b	0,88	0,79	0,76
Témoïn	3248 ab	3011 ab	2370 ab	3476 abc	3348 ab	2951 ab	0,94	0,92	0,80
ppds	772,5	714,18	532,99	705 55	1601,6	1227,6			

PNT = phosphate naturel de Tilemsi ; Complexe = Complexe céréale ; Sans phosphate = fertilisation sans source de phosphate ; MDP = Microorganismes dissolvant le phosphate ; ppds = plus petite différence significative, les moyennes suivies par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes à ($P < 0,05$) ; *Bacillus subtilis* W39 (BS. W39), *Bacillus megaterium* NBPP68 (BM NBPP68), *Bacillus subtilis* S64 (BS.S64), *Bacillus subtilis* FR-S7Aa (BS.FR-S7Aa), *Bacillus sp* AS-SO1a (B.sp. AS-SO1a), *Bacillus subtilis* L4 (BS. L4).

3.4. Mobilisation du phosphore dans la plante de maïs

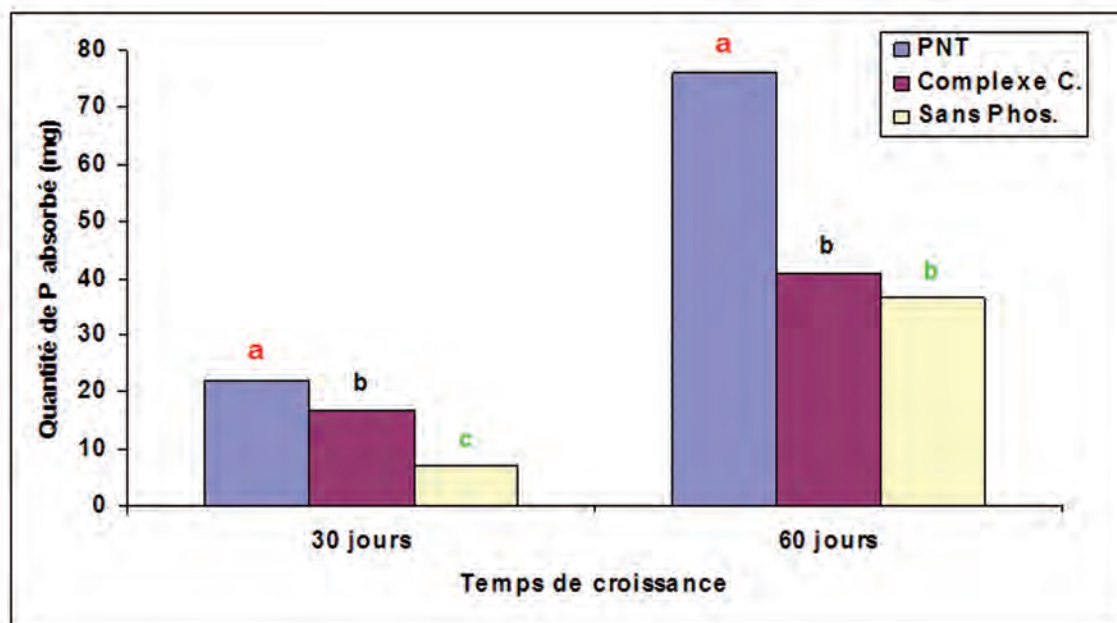
La teneur en phosphore d'une plante est la quantité de phosphore extraite de la plante par analyse chimique ou par le dosage de P et, cela, selon la méthode colorimétrique de Tandon *et al.* (1968). Cette quantité de P est celle absorbée par la plante au cours de la saison agricole.

L'effet de la source de phosphore sur la teneur en (P) des grains était hautement significatif à ($P < 0,01$) ; l'effet de l'inoculation a été significatif à ($P < 0,05$) pour le rendement de la biomasse sèche et l'effet de l'interaction source de phosphore et inoculation était significatif à ($P < 0,05$) (Tableau VII). Ceci a indiqué un effet positif de la source de phosphore et l'inoculation sur l'absorption de phosphore par la plante de maïs en conditions de champ. Après 30 et 60 jours de croissance, l'inoculation avec les bactéries dissolvant le phosphate a significativement et positivement influencé l'absorption de P par la plante de maïs. Cette absorption de P par les trois variétés de maïs testées était plus élevée lorsque le PNT était en présence des bactéries dissolvant le

phosphate. Dans les conditions expérimentales utilisées, la variété de maïs Sotubaka a bien répondu à la fertilisation phosphatée et à l'inoculation en présence des bactéries dissolvant le PNT (Figures 1, 2 et 3).

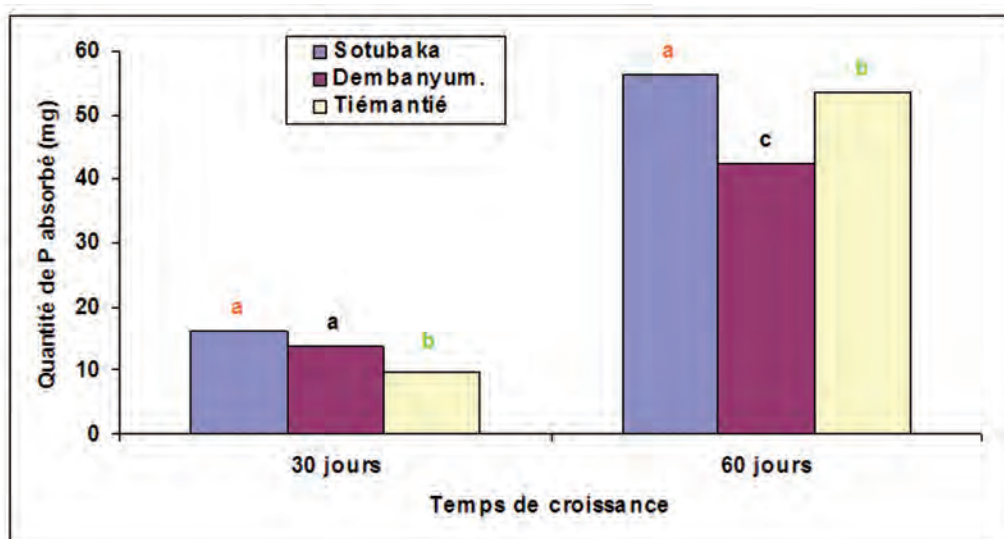
Les figures 1, 2 et 3 illustrent respectivement la performance des sources de phosphore, les variétés et l'inoculation avec les MDP sur l'absorption de P pendant les phases de la montaison (30 jours après semis) et de la floraison (60 jours après semis).

Pendant les 2 phases, l'absorption de P a été supérieure en condition PNT comparée à celles du Complexe et du Sans phosphore (Figure 1). Il en a été de même pour la variété Sotubaka comparé au Dembanyuman et Tiémantié (Figure 2). Quant aux isolats de souches de bactéries : *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* (T) ; DSM10, elles se sont montrées relativement plus performantes que le témoin pendant la première phase (30 jours après semis). Dans la deuxième phase (60 jours après semis), l'effet des bactéries avoisine plus du double du témoin. Aucune différence significative n'a été observée entre les bactéries (Figure 3).



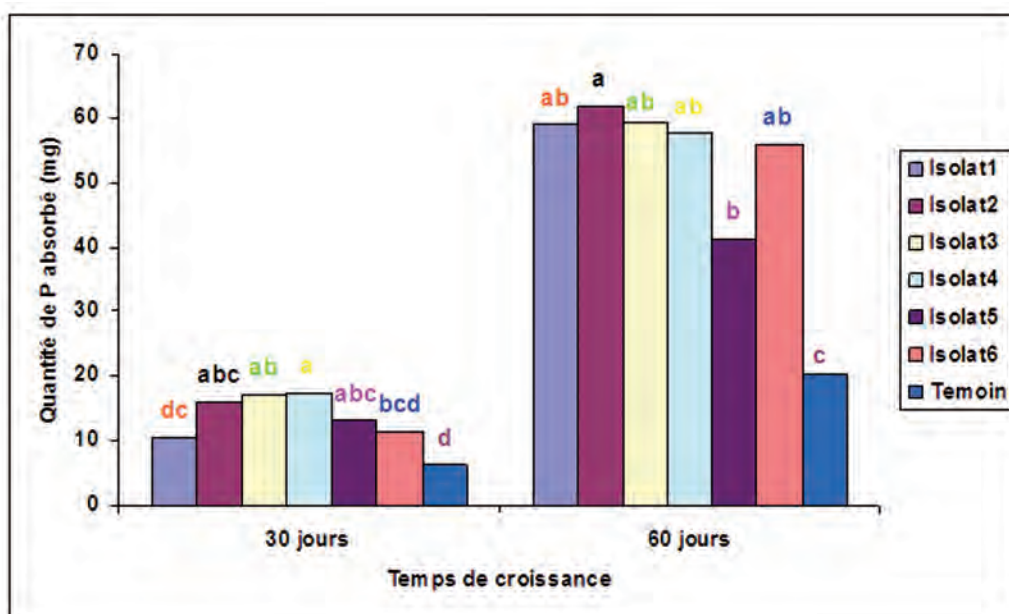
Les moyennes suivies par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes conformément au Test LSD protégé de Fisher ($P < 0,05$)

Figure 1. Effet source de phosphore et inoculation, sur l'absorption de P (en mg) par le maïs après 30 et 60 jours de croissance (2007).



Les moyennes suivies par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes conformément au Test LSD protégé de Fisher ($P < 0,05$)

Figure 2. Effet variété et inoculation, sur l'absorption de P (en mg) par le maïs après 30 et 60 jours de croissance (2007).



Les moyennes suivies par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes conformément au Test LSD protégé de Fisher ($P < 0,05$)

Figure 3. Effet de l'inoculation, sur l'absorption de P (mg) par le maïs après 30 et 60 jours de croissance (2007).

L'analyse statistique n'a pas montré de différences significatives entre les traitements PNT avec inoculation et le complexe céréale en ce qui concerne les rendements grains et de la biomasse sèche, indiquant ainsi qu'avec ces MDP l'on peut avoir des rendements

comparables à ceux obtenus avec l'engrais chimique importé à des coûts élevés. Ils ont aussi significativement influencé la teneur en phosphore des grains et de la biomasse. Le maïs fertilisé avec du PNT et inoculé avec des bactéries présentaient la plus forte teneur

en phosphore des grains et de la biomasse sèche (Tableaux X et XI). L'inoculation de la variété Sotubaka en présence de la fertilisation phosphatée a amélioré la teneur en (P) des grains de Sotubaka de 25,11 % dans les traitements avec PNT, 13,28 % avec le complexe céréale ; 55,57 % et 10,92 % pour

la biomasse sèche. L'effet de l'inoculation en condition PNT sur la teneur en P des grains a été supérieur de 25,39 % par rapport au complexe céréale et 78,88 % de plus que le traitement sans phosphore ; 13,17 % et 102,4 % pour la biomasse sèche dans le même ordre.

Tableau X. Effet source de phosphore-inoculation sur la teneur en phosphore des grains du maïs Sotubaka, kg/ha (2008).

Microorganismes	Teneur en phosphore des Grains (kg/ha)		
	PNT	CC	SP
<i>Bacillus.subspI</i> ₁	4,09 ab	3,52 ab	2,56 ab
<i>Bacillus.subspI</i> ₂	4,55 a	3,00 b	2,49 ab
<i>Bacillus.subspI</i> ₃	3,35 b	3,36 ab	2,82 a
<i>Bacillus.subspI</i> ₄	3,31 b	3,42 ab	2,82 a
<i>Bacillus.subspI</i> ₅	4,69 a	3,98 a	2,22 bc
<i>Bacillus.subspI</i> ₆	4,16 ab	3,32 ab	1,84 c
Témoin non inoculé	3,57 b	3,21 ab	2,25 bc
ppd (0.05)	0,889	0,802	0,506

Ppds = plus petite différence significative ; les moyennes suivies par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes à ($P < 0.05$) ; PNT = phosphate naturel de Tilemsi ; CC = complexe céréale ; SP = sans phosphore

Tableau XI. Effet source de phosphore-inoculation sur la teneur en phosphore de la biomasse végétale sèche du maïs Sotubaka, kg/ha (2008)

Microorganismes	Teneur en phosphore de la biomasse aérienne sèche (kg/ha)		
	PNT	CC	SP
<i>Bacillus.subspI</i> ₁	4,56 ab	3,57	2,82 bc
<i>Bacillus.subspI</i> ₂	4,45 bc	3,24	3,14 abc
<i>Bacillus.subspI</i> ₃	3,70 c	4,07	4,27 a
<i>Bacillus.subspI</i> ₄	4,08 bc	3,93	3,39 abc
<i>Bacillus.subspI</i> ₅	4,66 a	4,38	3,67 ab
<i>Bacillus.subspI</i> ₆	3,81 bc	4,03	2,53 bc
Témoin non inoculé	2,67 d	3,72	2,08 c
ppds (0,05)	0,826	1,728	1,350

Ppds = plus petite différence significative ; les moyennes suivies par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes à ($P < 0.05$) ; PNT = phosphate naturel de Tilemsi ; CC = complexe céréale ; SP = sans phosphore.

3.5. Infection des racines de maïs par les mycorrhizes indigènes après deux mois de croissance

Les résultats du Tableau XII montrent le pourcentage moyen de l'infection mycorrhizienne qui était supérieure pour les *Bacillus.subspI₂* et *Bacillus.subspI₃* en présence de PNT (respectivement 18.40% and 32.40%). Le *Bacillus.subspI₁* a montré un pourcentage d'infection relativement plus

élevé en conditions PNT qu'en conditions complexe céréale tandis que les *Bacillus.subspI₄* et *Bacillus.subspI₆* ont montré des pourcentages élevés avec le complexe céréale (respectivement 9.85% et 7.75%). *Bacillus.subspI₅* a montré un pourcentage plus élevé en condition PNT. Les résultats ont aussi révélé que la source de phosphore a une interaction positive sur l'infection mycorrhizienne. Mais cette infection est beaucoup plus basse avec le complexe céréale.

Table XII. Pourcentage moyen de l'infection racinaire du maïs par les champignons mycorrhiziens indigènes, après deux mois de croissance en présence ou absence du PNT ou du Complexe céréale.

MSP	Pourcentage of infection (%)		
	San PNT	Avec PNT	Avec Complexe céréale
<i>Bacillus.subspI₁</i>	5,85	0,30	2,10
<i>Bacillus.subspI₂</i>	1,75	18,40	1,35
<i>Bacillus.subspI₃</i>	2,72	32,40	1,15
<i>Bacillus.subspI₄</i>	2,61	1,05	9,85
<i>Bacillus.subspI₅</i>	0,62	2,50	0,74
<i>Bacillus.subspI₆</i>	1,11	1,80	7,75
Témoin	2,02	2,40	1,00

MSP = Microorganismes solubilisant le Phosphate

IV. Discussion

La sélection des microorganismes basée sur leur capacité à dissoudre le PNT et la quantité de P soluble produit a permis de retenir 6 isolats qui ont été classées suivant leur efficacité de dissolution du PNT en milieu solide qui variait de 114,29% à 300% de P dissout. En étudiant des lignées de *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus megaterium* et *Azospirillum spp.*, Komy (2005) a obtenu des valeurs de 128% à 150% portant sur la solubilisation *in vitro* du phosphate de calcium. Malaiiah *et al.* (2007) qui ont pu mettre en évidence l'efficacité de solubilisation du phosphate tricalcique sur milieu solide gélosé de 5 isolats parmi 46

rhizobiums était de l'ordre de 33% à 150%. En milieu liquide, le dosage du phosphore soluble a permis de mettre en évidence une capacité de dissolution du phosphate par les 6 souches de bactéries sélectionnées variant de 148,6 à 332,2 mg de P par gramme de PNT. Selon Babana (2003), certaines bactéries peuvent ne pas avoir une capacité de dissolution des PN en milieu solide et en avoir en milieu liquide. Nous n'avons pas observé de tels cas puisque toutes les souches ont solubilisé aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide. Il faut signaler cependant que les bactéries : *Bacillus subtilis I₅*, *I₁* et ont donné les meilleurs résultats en milieu liquide (respectivement 332,20 mg de P, 331,20 mg de P et 318,50 mg de P/g de PNT) tandis que les *Bacillus*

subtilis I₄, I₂, I₃ ont montré une capacité de solubilisation satisfaisante dans les deux types de milieu (respectivement 150 % et 115 %) comme efficacité de solubilisation du PNT en milieu solide ; 251,80 mg de P et 148,60 mg de P/g de PNT en milieu liquide. Il a été noté que le *Bacillus.subsp*I₅ a montré une forte activité de solubilisation en milieu liquide (310,60 mg de P/g de PNT). Nautiyal (1999), Babana (2003) et Komy (2005) ont suggéré qu'avant de sélectionner les microorganismes à utiliser comme inoculums, il est toujours utile de recourir aux types de milieu, solide et liquide.

De l'analyse des résultats des essais au champ des deux années 2007 et 2008, il a été retenu que la fertilisation phosphatée et l'inoculation avec certains MDP ont significativement influencé les paramètres de croissance du maïs tels que la taille après 30 jours de croissance, la biomasse sèche et le volume racinaire après 60 jours de croissance. L'effet de l'inoculation en présence du PNT a entraîné une augmentation moyenne de la taille des plants de maïs Sotubaka de 18,88 cm par rapport au témoin et de 24,16 cm en présence du Complexe au cours des 30 premiers jours de croissance. Ceci indique que la fertilisation phosphatée et l'inoculation ont un effet positif sur la taille pendant après 4 semaines de croissance. Ces résultats sont concordants avec ceux de Rock *et al.* (1996), qui ont rapporté que certains microorganismes tels que *Enterobacter* sp., *Pseudomonas* sp., et *Serratia* sp. sont efficaces dans la solubilisation des phosphates inorganiques utilisés pour la culture du maïs ; Babana et Antoun (2005), ont montré que l'inoculation avec les microorganismes en présence de la fertilisation phosphatée influence significativement la taille du blé après 8 semaines de croissance, Glick (1995), a également montré que les bactéries rhizosphériques peuvent accélérer la croissance des plantes par différents mécanismes parmi lesquels la dissolution des phosphates insolubles dans le sol.

Les espèces végétales, de même que les variétés d'une même espèce, peuvent avoir des comportements différents vis-à-vis des

microorganismes du sol. C'est ainsi que nous avons noté que la fertilisation phosphatée en présence de l'inoculation a augmenté le volume racinaire de 23 cm³ en condition PNT et 7 cm³ en condition de complexe céréale par rapport au témoin non inoculé. Hingsinger et Gilkes (1997) ont mentionné que l'efficacité agronomique maximum des phosphates sur les cultures se traduit partiellement par la nature acidifiante des sols et la grande densité racinaire. Une densité racinaire élevée facilite l'exploitation d'un volume de sol plus grand pour le phosphore à cause de la présence d'un nombre élevé de fines racines par unité de volume de sol.

Quant à la production de la matière sèche, l'inoculation en présence du PNT a occasionné un gain de rendement grain (kg/ha) de 12,33 % par rapport au complexe céréale et 42,72 % par rapport au traitement sans phosphore. De même, des gains de 8,87 % et 23,51 % ont été enregistrés pour la biomasse sèche après 60 jours de croissance ; 12,28 g et 31,55 g pour le poids de 1000 grains. Donc, il a été observé que l'inoculation en présence du PNT a amélioré le rendement grain/ha et la biomasse sèche à l'hectare par rapport au complexe céréale et sans phosphore, sans inoculation. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Hameeda *et al.*, 2006 qui ont rapporté qu'une expérimentation sur 5 lignées de bactéries ayant le pouvoir de dissoudre le phosphate ont causé l'augmentation de la production de la biomasse sèche du maïs de 20 à 40 %. Piex *et al.*, (2000) ont relevé un résultat similaire sur l'orge inoculé avec la lignée de rhizobium (*Mesorhizobium mediterraneum* PECA21) en présence du phosphate insoluble. Chung *et al.* (2005) ont formulé que l'addition du phosphate insoluble au sol inoculé avec les MDP augmente significativement la production de matière sèche des plantes cultivées de 4 à 18 % ; Khan *et al.* (2002) ont rapporté que le rendement de la tomate a significativement augmenté de 23 % lorsqu'elle a été inoculée avec *Aspergillus awamori*, un champignon solubilisateur des phosphates.

En 2007, après 30 et 60 jours de croissance des plants de maïs, l'inoculation avec les bactéries

dissolvant le PNT a significativement augmenté l'absorption du phosphore par les plants de maïs en présence du PNT. L'absorption du phosphore a été plus importante chez Sotubaka au champ. Une sécheresse survenue au moment de la formation des épis n'a pas manqué d'affecter les rendements. En année 2008, l'application de l'inoculation en présence de la fertilisation phosphatée sur la même variété Sotubaka a montré une augmentation de la teneur en phosphore des grains (kg/ha) en présence du PNT de 25,11% par rapport au témoin non inoculé et 13,28% en présence du complexe ; 54,57% et 10,92% pour la biomasse. Cette même inoculation en présence du PNT a occasionné un gain de teneur en phosphore des grains (kg/ha) de 25,39% par rapport au complexe céréale sans inoculation et 78,88% par rapport au traitement sans phosphore sans inoculation ; 13,17% et 102,40% pour la biomasse sèche à l'hectare. Ces résultats sont concordants avec ceux obtenus par Gaur (1990) ; Piex *et al.*, (2000) chez l'orge. Ceci nous a permis de dire que le maïs inoculé en présence du PNT peut produire des rendements grains (kg/ha), de biomasse sèche (kg/ha) et leur contenu en phosphore (kg/ha) comparables à ceux produits par le complexe céréale.

Il y a une bonne interaction entre les bactéries rhizosphériques et les champignons mycorrhiziens indigènes en présence de PNT. Les résultats ont aussi révélé que la source de phosphore a une interaction positive sur l'infection mycorrhizienne. Mais cette infection est beaucoup plus faible avec le complexe céréale. Selon Bolan et Robinson (1987) ; Sylvia (1992) ; Frosard *et al.* (1995) ; Lange and Vlek (2000) ; Brundrett (2002) ; la mycorrhization des racines augmente l'absorption du phosphore, comparée à celles non mycorrhisées (Bolan et Robinson, 1987) ; Manjunath *et al.* (1992) ont conclu que l'efficacité des mycorrhizes est plus élevée

en condition de faible solubilité des engrais comme le phosphate naturel.

V. Conclusion

Ce travail a montré que le PNT disponible localement peut être utilisé par les agriculteurs maliens pour la production de maïs et peut avoir un rendement grain kg/ha comparable à celui obtenu avec les engrais phosphatés du genre complexe céréale, l'engrais chimique importé à des coûts élevés (6000 FCFA le sac de 50 kg de PNT contre 18 000 FCFA le sac de 50 kg de complexe céréale). L'inoculation avec les souches de *Bacillus subtilis* dissolvant le PNT peut améliorer l'absorption de P par la plante de maïs et la colonisation des racines par les champignons mycorrhiziens indigènes. Il a été constaté que toutes les souches de *Bacillus* sélectionnées produisent des substances favorisant la croissance et la protection de la plante qui leur confère des caractéristiques PGPR ou d'agents régulateurs de la croissance et de la production de plante. Ceci leur permettra d'être utilisés dans l'agriculture comme des bio-inoculants, capables de promouvoir la croissance, la production et la protection des cultures en plus de leur capacité de dissoudre le PNT. Pour que le PNT soit économiquement rentable pour les agriculteurs, les travaux futurs doivent être orientés vers le développement des techniques de production d'inoculum et d'inoculation simples et peu coûteuses pour les agriculteurs, d'une part et, d'autre part, le développement des techniques industrielles de production et d'inoculation pour une utilisation du PNT à grande échelle. Des essais au champ dans les différentes zones agroécologiques du Mali sont nécessaires pour tester l'efficacité de dissolution du PNT par ces bactéries rhizosphériques dans différents types de sols et en présence de différentes communautés microbiennes indigènes.

VI. Remerciements

Les auteurs sont reconnaissants aux institutions suivantes qui ont aidé techniquement et financièrement dans ce travail : l'Institut d'Economie Rurale (IER) du Mali, l'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) et le Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et de Génie du Canada. Ils sont également reconnaissants aux techniciens de laboratoire et de terrain, Messieurs Bakary Samaké, Djibrilla Doumbia et Bakary Konaté qui ont contribué aux travaux de laboratoire et à la conduite des parcelles d'essais.

VII. Bibliographie

- Babana A. H., 2003. Effect of Tilemsi phosphate rock-solubilizing microorganisms on phosphorus uptake and yield of field-grown wheat (*Triticum aestivum* L) in Mali. *Plant and soil* 0 :1-8.
- Babana A. H., Antoun H., 2005. Biological system for improving the availability of Tilemsi rock for wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivated in Mali. *Nutrient cycling in agroecosystems*. 72: 147-157.
- Bagayoko M. & Coulibaly B.S., 1995. Promotion and evaluation of Tilemsi phosphate rock in Mali agriculture. In H. Gerner & A.U. Mokwunye, eds. *Use of phosphate rock for sustainable agriculture in West Africa*, pp.77-83. *Miscellaneous Fertilizer studies N° 11* Muscle Shoals, USA, IFDC
- Bationo A., Ayuk E., Ballo D. and Koné M., 1997. Agronomic and economic evaluation of Tilemsi phosphate rock in different agroecological zones of Mali. *Nutrient Cycling Agrosyst.* 48, 179-189.
- Bolan, N. S. & Robson, D., 1987. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhiza in the availability of iron phosphate to plants. *Plant Soil.* 90: 401-410.
- Brundrett M.C., 2002. Co-evaluation of roots and mycorrhiza of land plants. *New. Phyt.*, 154: 275-304.
- Chabot R., Antoun H. and Cescas M. P., 1996. Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*. *Plant and Soil* 184, 311-321.
- Chung H., Park M., Maghaiyan M., Seshadri S., Song J., Cho H., Sa T., 2005. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of crop plants of Korea. *Soil biology and biochemistry*. 37: 1970-1974.
- Dey B.K., 1988. Phosphate solubilizing microorganisms in improving fertility status of soil. In : Sen, S.P., Palit, P. (Eds). *Biofertilizers potentialities and problems*. *Plants physiology Forum*, Naya Prokash. Calcutta. pp. 237-248.
- Frossard E., Brosard M., Hedley M.J. & Metherell A., 1995. Reaction controlling the cycling of P in soils. In H. Tiessen, ed. *Phosphorus in the global environment*, pp. 104-141. New York, USA, John Wiley & sons.
- Gaur A.C., 1990. Phosphorus solubilizing microorganisms as biofertilizers. New Delhi, Omega Scientific Publ. pp. 176.
- Glick B.R., 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 41: 109-117.
- Hameeda B., Harini G., Rupela O.P., Wani S.P., Gopal Reddy, 2006. Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from compost and microfauna. *Micobiological Research* 163 : 234-242.
- Hinsinger P. & Gilkes R.J., 1997. Dissolution of phosphate rock in the rhizosphere of five plant species grown in an acid, P-fixing substrate. *Geoderma*, 75: 231-249.
- Khan M.R., Khan M.S., 2002. Effect of root-dip treatment with certain phosphate solubilizing microorganisms on the fusarial wilt of tomato. *Bioresource technology*, 35: 213-215.
- Komy H.M., 2005. Co-immobilisation of *Azospirillum lipoferum* and *Bacillus megaterium* for successful Phosphorus and nitrogen Nutrition of Wheat Plants. *Food technol. Biotechnol.* 43 (1) p. 19-27.
- Laboratoire Sol-Eau-Plante (Labosep), IER., 2008. *Analyse physico-chimique du sol de la sous-Station de Recherche Agronomique de Sotuba*.
- Lange Ness R. & Vleck, P.L.G., 2000. Mechanism of calcium and phosphate release from hydroxy-apatite by mycorrhizal hyphae. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 64: 949-955.

- Mallaiah K.V, Sridevi M., 2007. Phosphate solubilization by rhizobium strains. *Indian J. Microbiol* 49: 98-102.
- Manjunath A. & Habte M., 1992. External and internal Requirement of plant species differing in their mycorrhizal dependency. *A. Soil Res. Rehab.* 6: 271-284.
- Nautiyal C. S., 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiol. Lett.* 170 : 265-270.
- Olsen SR., and Sommers L.E., 1982. Phosphorus. pp. 403-427, in A.L. Page, R.H. Miller, and D.R. Keeney, eds. *Methods of Soil Analysis. Part 2.* 2nd ed. American Society of Agronomy. Madison. WI.
- Philips J. M. et Hayman D. S., 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal for rapid assesment of infection. *Trans.Br. mycol. Soc.* 55 : 156-161.
- Piéri C., 1989. Fertilité des terres de savanes, bilan de 30 ans de recherche et de développement agricoles au sud du Sahara. Ministère de la coopération et IRAD-IRAT, 444p
- Peix A., Rivas-Boyero A-A, Mateo P.F., Rodriguez Barrueco C., Martinez-Molinar E., Velazquez E., 2000. *Soil Biology & Biochemistry*, 33: 103-110 (2001).
- Richardson A. E., 2001. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Aust. J. Plant Physiol.* 28, 897-906.
- Rock Chabot, Hani Antoun, Joseph W. Kloepper and Chantal J. Beauchamp, 1996. Root colonization of maize and lettuce by Bioluminescent *Rhizobium leguminosarum* biovar phaseoli. *Applied and environmental. Microbiology*, 1996, pp. 2767-2772.
- Rodriguez H. and Fraga R., 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotech. Adv.* 17, 319-339.
- Sacko O., 2006. (Thèse de Doctorat) : Utilisation d'arbres à usage multiple pour la valorisation des phosphates naturels africains par les champignons endomycorhiziens.
- SAFGRAD (Semi-arid Food Grain Research And Development), 1985. Rapports annuels. Institut d'Economie Rurale (IER), Mali.
- SAS Institute Inc., 1990. SAS procedure guide version 6 edition, SAS Institute Inc, Car, NC 705 p.
- Singh S., Kapoor KK, 1994. Solubilisation of insoluble phosphates by bacteria isolated from different sources. *Env. iron. Ecol.* 12, 51-55.
- SONAREM (Société Nationale de Recherche Minière), 1988. Le phosphate de Tilemsi : Quelques informations sur sa production industrielle et son utilisation en agriculture. Rapport projet phosphates 28 p.
- Strullu D. G., Perrin R., Plenchette C. et Garbaye J., 1991. Les mycorhizes des arbres et des plantes cultivés. Lavoisier, Paris, 256p.
- Sylvia D.M., 1992. Demonstration and mechanism of improved phosphorus uptake by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In F.J. Sikora, ed. *Future direction for agricultural phosphorus research*, pp. 31 – 34. Muscle Shoals, USA. National fertilizer and environmental research centre, TVA.
- Sylvia D.M. and Chelleni DO, 2001. Interaction among root-inhabiting fungi and their application for biological control of root pathogens. *Adv. Agron.* 73: 1-33.
- Tandon H. L. S., Cescas M. P. and Tyner E. H., 1968. An acid-free vanadate-molybdate reagent for the determination of total phosphorus in soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 32: 48-51.
- Watanabe F.S. and Olsen S.R., 1965. Test of an Ascorbic Acid Method for determining phosphorus in water and NaHCO₃ Extracts from soil. *Sci. Soc. Proc.* 29: 677-678.
- Whitelaw M.A., 2000. Growth promotion of plants inoculated with phosphate-solubilizing fungi. *Adv. Agron.* 69: 99-151.