

Evaluation des effets des rhizobactéries promotrices de la croissance végétative sur la croissance du maïs en condition de serre au Sud-Bénin

A. Adjanohoun²⁰, M. Allagbé²⁰, H. Gotoechan-Hodonou²¹, K. K. Dossa²⁰, R. Aguégué²⁰, J. Adeyemi²⁰, M. Bossou²⁰, S. Babio²⁰, L. Baba-Moussa²² et R. L. Glèlè-Kakai²³

Résumé

L'objectif de l'étude est d'évaluer, en condition de serre, les effets des rhizobactéries existant naturellement dans la rhizosphère du maïs, sur les sols ferrallitiques et les vertisols du Sud-Bénin, en vue de leur utilisation pour accroître les rendements de cette spéculature. Pour ce faire, l'essai est installé dans une serre. Des pots de capacité 4,32 litres dans lesquelles sont versés 2 kg de sol ferrallitique rouge stérilisé, sont ensemencés avec des graines de maïs EVDT 97 STR C1 inoculées avec des suspensions bactériennes de 10^8 germes/ml en fonction de chaque traitement. Le dispositif expérimental est un bloc aléatoire complètement randomisé, avec 16 traitements et 4 répétitions. La levée a été globalement bonne au niveau des pots avec un taux de 96 % après 8 jours. La variation de la hauteur des plants n'était pas différente d'une rhizobactérie à une autre ni avec le témoin sans bactérie au cours des 32 premiers jours. Nous avons noté une tendance croissante de l'augmentation du nombre des feuilles des plants de maïs suivant les différentes bactéries et le témoin sans bactérie, entre les 8^{ème} et 20^{ème} jours après le semis. Après une chute du nombre de feuilles entre les 22^{ème} et 28^{ème} jours, une augmentation très accentuée du nombre de feuilles à partir du 29^{ème} jour est observée. Les rhizobactéries n'ont pas eu d'effets négatifs sur la croissance des plants de maïs en serre.

Mots-clés : Rhizobactéries, croissance, maïs, serre, Bénin.

Evaluation of rhizobacteria effects of the promoted vegetative growth on the maize growth under greenhouse conditions in Southern Benin

Abstract

The study aims to evaluate, under greenhouse conditions, the effects of naturally occurring rhizobacteria in the rhizosphere of maize, on lateritic soils and vertisols of southern Benin, for their use to increase yields this speculation. To do this, the test is installed in a greenhouse. Pots of 4.32 l capacity, which is paid in 2 kg of red lateritic soil sterilized seeds are sown with corn EVDT 97 STR C1 inoculated with bacterial suspensions of 10^8 UFC/ml according to each treatment. The experimental design was a randomized complete block randomized, with 16 treatments and 4 repetitions. The removal was generally good in pots. Thus, the rate of plant emergence, eight days after sowing was 96%. The variation in plant height was not different from a rhizobacterium to another or with the control without bacteria during the first 32 days. We noted an increasing trend of increase in leaves of maize plants according to the different bacteria and bacteria-free control, between 8th and 20th days after sowing. After a drop in the number of leaves between the 24th and 28th days, a very marked increase in the number of sheets from the 29th day is observed. The rhizobacteria had no negative effects on the growth of corn plants in a greenhouse

Key words: Rhizobacteria, growing, maize, greenhouse, Benin

INTRODUCTION

Le maïs est la première culture au Bénin, en termes de superficie. Il occupe plus de 700.000 ha, soit près de 35% des surfaces totales cultivées (Soulé *et al.*, 2008). Cette superficie représente plus de 3 fois celle occupée par le coton, qui est la principale culture de rente au Bénin. Le maïs joue un rôle

²⁰ Dr Ir. Adolphe ADJANOHOUN, MSc. Ir. Marcellin ALLAGBE, K. K. DOSSA, R. AGUEGUE, J. ADEYEMI, M. BOSSOU et S. BABIO, Centre de Recherches Agricoles Sud/Institut National des Recherches Agricoles du Bénin. BP 03 Attogon, Tél. : (+229) 90 02 98 16, E-mail : adjanohouna@yahoo.fr, République du Bénin

²¹ MSc. Ir. Henriette GOTOECHAN-HODONOU, Direction Scientifique de l'Institut National des Recherches Agricoles du Bénin. BP 884 Cotonou, Tél. : (+229) 90 96 69 89, E-mail : henriette_hodonou@yahoo.fr, République du Bénin

²² Prof. Dr Lamine BABA-MOUSSA, Laboratoire de Biologie et de Typage Moléculaire en Microbiologie/Département de Biochimie et de Biologie Cellulaire/Faculté des Sciences et Techniques/Université d'Abomey-Calavi/ 05 BP 1604 Cotonou, Tél. : (+229) 90 94 29 06, E-mail : laminesaid@yahoo.fr, République du Bénin

²³ Prof. Dr Ir. Romain Lucas GLELE-KAKAI, Faculté des Sciences Agronomiques/Université d'Abomey-Calavi. 01 BP 526 Recette Principale, Cotonou 01, Tél. : (+229) 95 84 08 00, E-mail : gleleromain@yahoo.fr, République du Bénin.

important dans l'économie du Bénin. Il tient une place prépondérante dans la stratégie de sécurité alimentaire de la population (MAEP, 2008). Malgré son importance, la production du maïs est confrontée à de nombreuses contraintes parmi lesquelles se trouve, en première place, sa faible productivité. Plusieurs causes sont à l'origine de cette contrainte. Il s'agit, notamment, des techniques culturales non performantes. Ici, la faible utilisation des engrais et des pesticides est remarquable. Cet état de chose s'explique, en grande partie, par l'incapacité des producteurs à se procurer les engrais et les pesticides chimiques (Soulé *et al.*, 2008).

La mise au point et l'introduction de l'utilisation des microorganismes du sol comme une alternative aux produits chimiques oréneux dans l'agriculture au Bénin, seraient un atout majeur pour accroître la production, tout en diminuant les quantités d'engrais chimiques et produits phytosanitaires à utiliser, sachant que l'inoculation des semences avec des rhizobactéries se traduit généralement par des accroissements de rendement d'environ 10 à 30% (Hernandez *et al.*, 1995 ; Nezarat et Gholami, 2009). Pour ce faire, il est nécessaire d'évaluer les effets des rhizobactéries potentiellement promotrices de la croissance végétative ou en anglais plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) sur la productivité du maïs.

Le présent travail vise à évaluer, en condition de serre à Niaouli, dans le Centre de Recherches Agricoles Sud de l'Institut National des Recherches Agricoles du Bénin, les effets des rhizobactéries, existant naturellement dans la rhizosphère du maïs, sur la croissance du maïs en condition de serre.

MATERIELS ET METHODES

Le substrat est un sol ferrallitique rouge issu d'une nouvelle défriche. Des pots en plastique perforés, de capacité 4,32 litres, sont placés dans une serre et utilisés pour contenir le substrat dans lequel ont poussé les plantules de maïs. De même, une règle graduée a servi à relever la hauteur des plantules de maïs. Un thermomètre et un hygroscomètre ont respectivement permis d'obtenir les valeurs moyennes de température et l'humidité relative de l'air à l'intérieur de la serre. Lesdites valeurs moyennes de température ont été de 22 °C la nuit et de 42 °C le jour. La valeur moyenne de l'humidité relative de l'air a été de 51%.

Concernant le matériel d'analyses microbiologiques, plusieurs matériels de laboratoire sont utilisés à savoir : des autoclaves, des microscopes électroniques et simples, des congélateurs, des hottes laminaires, un spectrophotomètre, des agitateurs électriques, des balances électroniques, des pH-mètre, de l'eau distillée, des boîtes de pétri, des réactifs chimiques et autres ustenciles de laboratoire. Les semences de maïs utilisées sont des semences de base de la variété EVDT 97 STR C1. C'est un composite d'un cycle de 90 à 95 jours. Les grains sont blancs et gros.

Les 15 rhizobactéries PGPR suivantes sont utilisées: 3 espèces de *Pseudomonas* (*P. putida*, *P. aeruginosa* et *P. fluorescens*) ; 3 espèces de *Streptomyces* (*S. hygroscopicus*, *S. rimosus* et *S. fasciculatus*) ; 8 espèces de *Bacillus* (*B. coagulans*, *B. thurengensis*, *B. pumilus*, *B. polymixa*, *B. lichemiformis*, *B. lentus*, *B. circulans* et *B. fimosus*) ; une (1) espèce de *Azospirillum* (*A. lipoferum*). Les inocula sont obtenus par la culture, en milieu nutritif liquide, pendant 24 h à 30 °C pour *Pseudomonas sp*, 24 h à 37 °C pour *Bacillus sp*, 24 h à 30 °C pour *Streptomyces*, et de 24 h à 37 °C pour *Azospirillum*. Les concentrations microbiennes d'environ 10⁸ UFC par millilitre sont atteintes. Pour sa stérilisation, le substrat est placé dans un autoclave, pendant 20 minutes à 120 bars. Pour l'inoculation et le semis du maïs, le substrat stérilisé est tamisé pour éliminer les résidus de végétaux. Une quantité de 2 kg du substrat est versée dans chaque pot. Les pots ainsi remplis sont introduits dans une serre à Niaouli au Centre de Recherches Agricoles Sud de l'Institut National des Recherches Agricoles du Bénin. Durant la période de l'essai, la température moyenne était de 37 °C et l'humidité relative de l'air était de 65% à l'intérieur de la serre.

Le dispositif expérimental a été un bloc aléatoire complètement randomisé avec 16 traitements et 4 répétitions. Les différents traitements étaient les suivants : T0 = sans bactérie ; T1 = *Pseudomonas putida* ; T2 = *Pseudomonas aeruginosa* ; T3 = *Pseudomonas fluorescens* ; T4 = *Streptomyces hygroscopicus* ; T5 = *Streptomyces rimosus* ; T6 = *Streptomyces fasciculatus* ; T7 = *Azospirillum lipoferum* ; T8 = *Bacillus coagulans* ; T9 = *Bacillus thurengensis* ; T10 = *Bacillus pumilus* ; T11 = *Bacillus polymixa* ; T12 = *Bacillus lichemiformis* ; T13 = *Bacillus lentus* ; T14 = *Bacillus circulans* et T15 = *Bacillus fimosus*. Ces rhizobactéries sont isolées, identifiées, caractérisées et conservées dans un ceparium (Adjanohoun *et al.*, 2011).

Après l'ouverture des poquets d'environ 5 cm de profondeur dans chaque pot, deux graines de maïs y sont déposées. Les semences sont immédiatement inoculées avec la suspension bactérienne en fonction de chaque traitement. Le démariage à un plant par poquet est fait après la levée.

Les méthodes utilisées pour la détermination des propriétés chimiques du substrat étaient les suivantes : la méthode électrométrique à l'aide d'un pH-mètre électronique, la matière organique et carbone par la méthode de Walkley et Black (1934) ; les cations échangeables par la méthode de l'acétate d'ammonium, décrite par Thomas (1982); le phosphore assimilable par la méthode de Bray et Kurtz (1945).

A 32 jours après le semis, 5 feuilles de chaque plant par traitement sont prélevées pour les analyses foliaires. Après la minéralisation de la matière végétale, les teneurs en azote sont déterminées suivant la méthode Kjeldahl et la titration. Les teneurs en phosphore sont déterminées par la colorimétrie et les teneurs en potassium sont déterminées par le spectrophotomètre d'absorption atomique.

Pour la collecte de données, les plants levés sont comptés au fur et à mesure. La hauteur de chacun des plants est mesurée tous les 4 j, à partir du 8^{ème} jour après le semis, à l'aide d'une règle graduée. Le nombre de feuilles apparues, est également compté tous les 4 j. Les valeurs de hauteur et du nombre de feuilles des plants, par période de mesures, par répétition et par traitement, sont soumises à une analyse de la variance sur mesures répétées, suivant un modèle mixte à deux facteurs (répétitions et traitement) sans interaction, afin d'évaluer les effets des rhizobactéries sur la croissance des plants de maïs. Dans ce modèle d'analyse, les 16 traitements sont considérés comme un facteur fixe alors que les répétitions ont constitué le facteur aléatoire. Les moyennes ajustées de chaque paramètre, par période de mesure, sont extraites de l'analyse pour chacun des 15 traitements (Dagnelie, 1998).

RESULTATS ET DISCUSSION

Caractéristiques chimiques du substrat et taux de levée des plants de maïs

Les valeurs moyennes des teneurs du substrat en matière organique, en phosphore assimilable, en potassium, en calcium et en magnésium, ainsi que la valeur moyenne du pH en eau, révèlent, selon Adjanohoun (2006), que le substrat utilisé est légèrement plus riche en éléments nutritifs majeurs que les sols de la localité d'étude (tableau 1). La valeur de la somme des bases (5,21 cmol/100 g de sol) et celle de la capacité d'échange cationique (5,78 cmol/100 g de sol) du substrat étaient relativement plus élevées. Les déséquilibres entre le calcium et le magnésium ($Ca/Mg = 1,16$) et entre le calcium et le potassium ($Ca/K = 3,24$) étaient nettement moins prononcés. Entre le magnésium et le potassium, un équilibre a existé avec un rapport $Mg/K = 2,50$. Ces résultats diffèrent de ceux rapportés par Adjanohoun (2006) et s'expliquent par le fait que le substrat provient d'une nouvelle défriche. La levée est globalement bonne au niveau des pots. En effet, le taux de levée des plants, 8 jours après le semis, est de 96%.

Tableau 1. Caractéristiques chimiques du substrat utilisé dans les pots de culture du maïs

pH-H ₂ O	Matière organique (%)	Phosphore assimilable (ppm)	K ₂ O (méq/100g)	CaO (méq/100g)	MgO (méq/100g)
5,8	2,987	67,00	0,74	2,40	2,07

Hauteur des plants

Les moyennes ajustées des valeurs des hauteurs des plants de maïs sous l'effet de chacune des 15 rhizobactéries n'ont pas présenté de différences significatives ($p < 0,05$) ni entre elles ni avec les valeurs moyennes ajustées des hauteurs des plants de maïs non inoculés au cours des 32 premiers jours (tableau 2).

Tableau 2. Résultats d'analyse de la variance sur mesures répétées de la hauteur du maïs

Source	Degré de liberté	Somme des carrés	Moyenne des sommes	Valeur de liberté	Pr > F
Traitement	24	656,919	27,372	1,51	0,0980
Période	5	25.780,520	5.156,104	2.317,90	<0,0001
Traitement * Période	120	228,693	1,905	0,86	0,8381

Cette tendance est illustrée par l'évolution dans le temps des hauteurs des plants de maïs non inoculés et ceux inoculés par les différentes rhizobactéries (figure 1). Ce résultat traduit l'absence d'effets des différentes rhizobactéries sur la croissance des plants de maïs dans les conditions de la serre utilisée. Hernandez *et al.* (1995) rapportent que l'inoculation des semences de maïs par des rhizobactéries *Pseudomonas cepacia*, *Pseudomonas fluorescens* et *Streptomyces aurantiacus* a un

effet stimulateur sur la croissance des plants de maïs dès les premiers jours du cycle végétatif en conditions de serre. La non concordance entre nos résultats et ceux obtenus par Hernandez *et al.* (1995) peut s'expliquer par les différences entre les conditions environnementales au sein des serres utilisées. A ce propos, Estes *et al.* (2004), ont montré que les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes sont affectées par les stress et les conditions environnementales. Mieux, le fait de stériliser le substrat dans notre étude peut avoir contribué à la différence entre nos résultats et ceux publiés par Hernandez *et al.* (1995). En effet, Nezarat et Gholami (2009) ont montré que l'effet stimulant de la croissance et le développement des plants de maïs produit par les rhizobactéries PGPR est significativement plus grand dans les sols non stériles que dans les sols stériles.

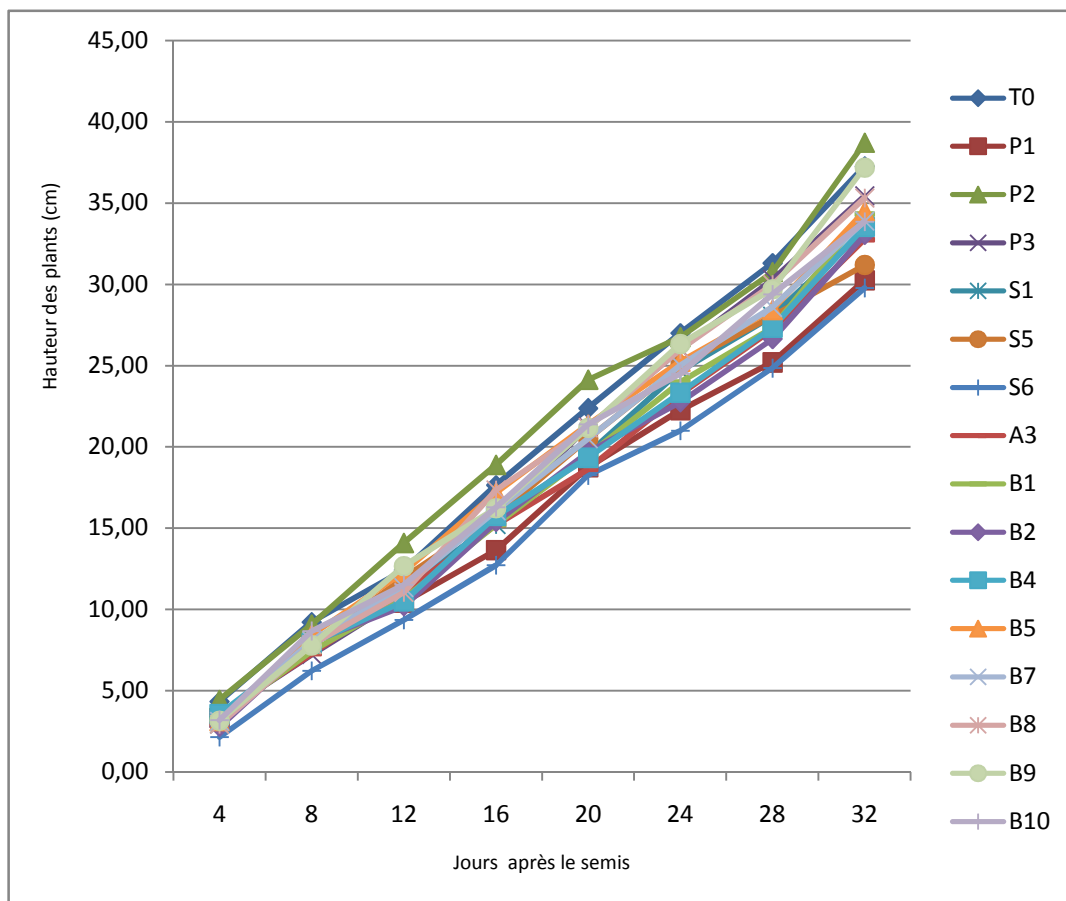


Figure1. Evolution en serre de la hauteur moyenne des plants de maïs pendant les 32 premiers jours

Nombre de feuilles

Une tendance croissante de l'augmentation du nombre des feuilles est observée au niveau des plants de maïs inoculés avec les différentes bactéries et les plants non inoculés entre les 8^{ème} et 20^{ème} jours après le semis (figure 2). Toutefois, nous avons noté une chute du nombre de feuilles entre les 22^{ème} et 28^{ème} jours. Par suite, une augmentation très accentuée du nombre de feuilles est observée à partir du 29^{ème} jour. Ces résultats ont été identiques pour toutes les rhizobactéries et le témoin sans bactérie.

Aucune différence significative ($p > 0,05$) n'existe entre les effets des rhizobactéries sur le nombre de feuilles des plants de maïs (tableau 3). Ainsi, les différentes rhizobactéries ont eu le même effet sur le nombre de feuilles des plants de maïs. Par contre, quelle que soit la rhizobactérie, un effet significatif du temps ($p < 0,05$) est noté, ce qui signifie que le nombre de feuilles des plants a évolué de la même façon dans le temps pour les 16 traitements.

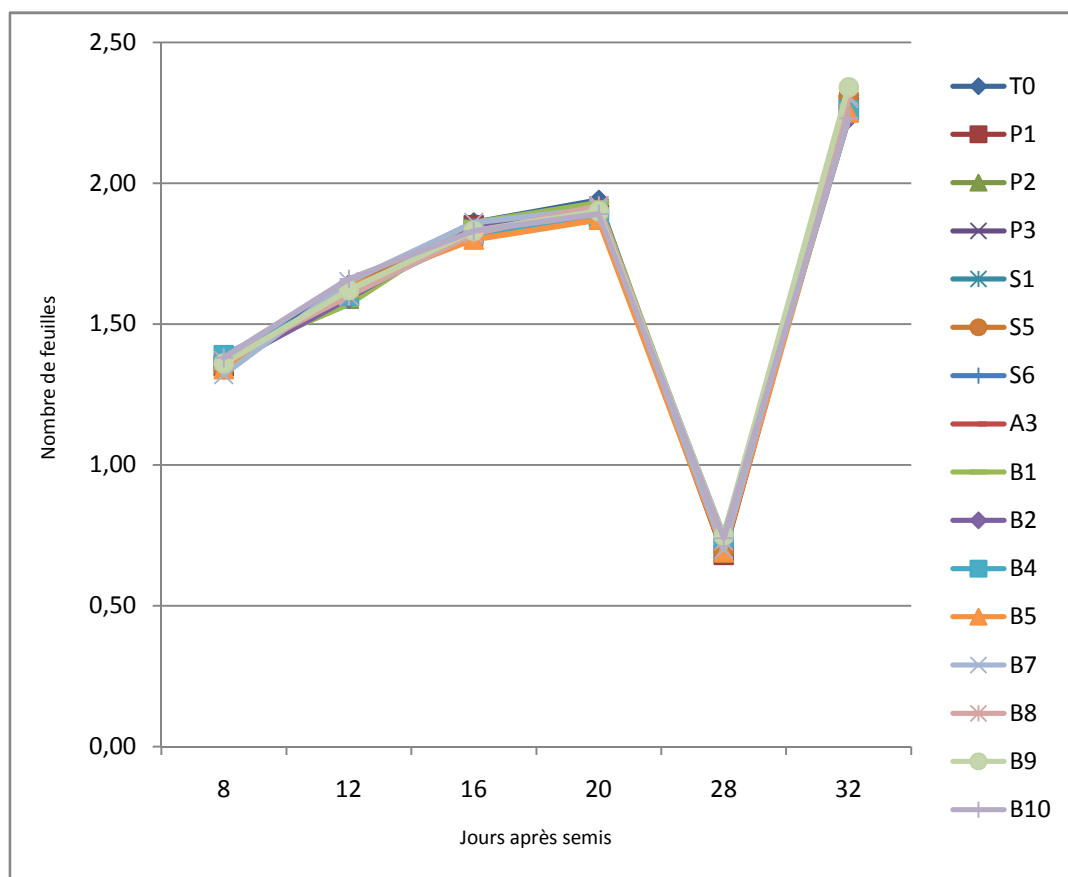


Figure 2. Tendence évolutive de la moyenne ajustée du nombre de feuilles de maïs

Tableau 3. Résultats d'analyse de la variance sur mesures répétées du nombre de feuilles des plants de maïs

Source	Degré de liberté	Somme des carrés	Moyenne des sommes	Valeur de liberté	Pr > F
Traitement	24	0,459	0,019	0,70	0,8329
Période	5	119,241	23,848	3029,35	<0,0001
Traitement * Période	120	0,885	0,007	0,94	0,6581

Etat nutritionnel des plants

A 32 jours après le semis, les valeurs en termes de pourcentage de matière sèche, de l'azote, du phosphore et du potassium, ne diffèrent pas significativement d'un traitement à un autre. Les moyennes de ces valeurs, tous traitements confondus, sont de 2,58% pour l'azote; de 1,35% pour le phosphore et de 2,22% pour le potassium (tableau 4). Ces valeurs sont inférieures à celles publiées pour le stade végétatif du maïs de 9 à 10 feuilles par Yahalom *et al.* (1984) et Hernandez *et al.* (1995) qui ont rapporté des valeurs avoisinant 4% de matière sèche (MS) pour l'azote, de 3% de matière sèche pour le phosphore et de 4% de matière sèche pour le potassium. Ces résultats, ici obtenus, peuvent s'expliquer par l'épuisement des éléments nutritifs dans le substrat et le stress au niveau des plants dû à l'absence de circulation de l'air à l'intérieur de la serre.

Tableau 4. Teneurs en N, P et K des feuilles de maïs à 32 jours après le semis

Traitement	Teneurs moyennes des feuilles (% de matière sèche) en		
	N	P	K
Sans bactérie	2,69	1,36	2,18
<i>Pseudomonas putida</i>	2,41	1,43	2,42
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,53	1,34	2,25
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	2,64	1,31	2,24
<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	2,37	1,39	2,12
<i>Streptomyces rimosus</i>	2,44	1,30	2,16
<i>Streptomyces fasciculatus</i>	2,60	1,41	2,23
<i>Azospirillum lipoferum</i>	2,57	1,33	2,26
<i>Bacillus coagulans</i>	2,52	1,30	2,23
<i>Bacillus thurengensis</i>	2,66	1,39	2,15
<i>Bacillus pumilus</i>	2,62	1,31	2,22
<i>Bacillus polymixa</i>	2,64	1,33	2,16
<i>Bacillus lichemiformis</i>	2,67	1,29	2,25
<i>Bacillus lentus</i>	2,62	1,31	2,23
<i>Bacillus circulans</i>	2,68	1,37	2,16
<i>Bacillus fimosus</i>	2,69	1,35	2,20

CONCLUSION

La stérilisation du substrat et les conditions environnementales dans la serre du Centre de Recherches Agricoles à Niaouli n'ont pas permis l'expression des potentialités des rhizobactéries *Pseudomonas putida*, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *Streptomyces hygroscopicus*, *S. rimosus*, *S. fasciculatus*, *Azospirillum lipoferum*, *Bacillus coagulans*, *B. hurengensis*, *B. pumilus*, *B. polymixa*, *B. lichemiformis*, *B. lentus*, *B. circulans* et *B. fimosus* sur la croissance des plants de maïs inoculés au cours du premier mois de leur cycle végétatif. Il est important de souligner que les différentes rhizobactéries étudiées n'ont pas eu d'effets négatifs sur la croissance des plants de maïs. Ces résultats permettent de poursuivre l'étude en améliorant les conditions de l'expérimentation. L'utilisation de microorganismes bénéfiques vivant dans le sol comme apport agricole pour améliorer des récoltes contribue à une gestion durable des agro-écosystèmes. Ceci est d'autant plus nécessaire que des millions de tonnes de terre sont touchées par l'érosion, l'acidification et la salinisation, entre autres, en raison de pratiques agricoles inadéquates.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient l'Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (INRAB) pour avoir financé ces travaux.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adjanohoun, A., 2006 : Nutrition du manioc sous différentes combinaisons de NPK au Sud du Bénin. Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin, 52 : 1-5.
- Adjanohoun, A., L. Baba-Moussa, R. L. Glèlè Kakai, M. Allagbé, B. Yèhouénu, H. Gotoéchan-Hodonou, R. Sikirou, P. Sessou, D.C.K. Sohounhloùé, 2011 : Caractérisation des rhizobactéries potentiellement promotrices de la croissance végétative du maïs dans différents agrosystèmes du Sud-Bénin. Int. J. Biol. Chem. Sci. 5(2) : 433-444.
- Bray, R. H., Kurtz, L. T., 1945 : Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soils. Soil Science. 59 : 39-45.
- Dagnelie, P., 1998 : Statistique Théorique et Appliquée (vol. 1 & 2) : In De Boeck, Larcier : Presses agronomiques de Gembloux. Paris.
- Estes, B.L., S.A. Enebak, A.H. Chappelka, 2004 : Loblolly pine seedling growth after inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria and ozone exposure. Canadian Journal of Forest Research, 34 : 1410-1416.
- Hernandez, A.N., A. Hernandez, M. Heydrich, 1995 : Selección de rizobacterias asociadas al cultivo del maíz. Cultivos tropicales 16 : 5-8.
- MAEP (Ministère de l'Agriculture, de l'Élevage et de la Pêche), 2008 : Étude diagnostic et analyse institutionnelle pour la promotion des filières agricole, 67 p.

MAEP (Ministère de l'Agriculture, de l'Elevage et de la Pêche), 2008 : Stratégie nationale de mise en œuvre du conseil agricole au Bénin (SNCA), 50 p.

Nezarat, S., Gholami, A., 2009 : Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving seed germination, seedling growth and yield of maize. *Park J. Biol. Sci*, Jan 1, 12 (1): 26-32

Soulé, B.G., B. Yérima, A. Soglo, E. Vidégla, 2008 : Rapport diagnostic du secteur agricole du Bénin : Synthèse réalisée dans le cadre de la formulation du PNIA. ECOWAP/PDDAA. 124 p.

Thomas, G.W., 1982 : Exchangeable cations. In : *Methods of soil Analysis* . (Page AL, Miller RH and Keeney DR, 2nd eds) (Madison). *Agronomy* 9 : 154-157

Walkley, A., Black, C.A., 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposal modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37: 29-38.

Yahalom, E., Y. Kapulnik, Y. Okon, 1984 : Response of *Serratia italio* to inoculation with *Azospirillum brasilense* as compared to *Azotobacter chroococcum*. *Plant and Soil*. (La Haye): 82 : 77-85.