

Mise au point d'un bio-inoculant à base d'*Azospirillum* natifs du Mali permettant d'améliorer la croissance du maïs et du riz.

Ibrahima MALLE^{1*}, Adounigna KASSOGUÉ¹, Amadou Hamadoun DICKO¹, Amadou Hamadoun BABANA¹.

¹Laboratoire de Recherche en Microbiologie et Biotechnologie Microbienne/Faculté des Sciences et Techniques, BPE3206 Bamako/Mali

*Auteur de correspondance: iba.malle@yahoo.fr, adoukass@yahoo.fr, ahdicko@laborem-biotech.com, amadou.babana@gmail.com

RESUME : Le maïs (*Zea mays L.*) et le riz (*Oryza sativa L.*), principales céréales intervenant dans l'alimentation des populations en Afrique, constituent également des cultures de rente. Ces céréales sont utilisées pour produire une grande variété de produits alimentaires et non-alimentaires. Malheureusement, nous assistons ces dernières années à des baisses importantes de rendement chez ces céréales. Les hausses rapportées sont liées à des augmentations de la surface cultivée. Plusieurs facteurs expliquent ces baisses dont la pauvreté des sols en azote, la dégradation des sols, les mauvaises pratiques culturales, les pathogènes et les insectes nuisibles. Parmi ces facteurs, la pauvreté des sols en azote et les maladies constituent les contraintes principales au Mali. L'utilisation des engrais et pesticides chimiques pour améliorer la production de ces céréales, est limitée par le coût élevé et les effets néfastes de ces produits sur la santé de l'homme et de l'environnement. L'amélioration du rendement de ces céréales étant nécessaire pour l'amélioration de la sécurité alimentaire et du revenu des petits exploitants, nous nous sommes fixés comme objectif pour ce travail de formuler un bio-inoculant efficace, peu coûteux, respectueux de l'environnement et surtout capable d'améliorer la croissance des céréales. Pour atteindre cet objectif, nous avons isolé des *Azospirillum* de différents échantillons (sols rhizosphériques, racines) de Samanko et de la parcelle d'expérimentation du LaboREM-Biotech. Dix (10) isolats ayant un aspect caractéristique des *Azospirillum* ont été isolés. Après caractérisation et identification, la capacité des isolats à favoriser la croissance des plantes a été vérifiée. Comparativement aux témoins non inoculés, les biofertilisants formulés à base des isolats testés ont tous significativement amélioré le taux de germination, la croissance végétative et racinaire du maïs et du riz dans des essais en serre.

Mots-clés : *Azospirillum*, maïs, riz, croissance des plants, Mali.

I. INTRODUCTION

Au Mali, au cours des dernières années, une baisse importante des rendements des céréales principalement le maïs (*Zea mays L.*) et le riz (*Oryza sativa L.*) occupent une place importante dans les systèmes de production agricole dans les zones agro écologiques. Ils sont deux des principales céréales intervenant dans l'alimentation des populations en Afrique. Bien qu'étant des cultures vivrières, le maïs et le riz sont également des cultures de rente. Le maïs a un haut potentiel de rendement, facilement digérable et moins cher que les autres cultures. Toutes les parties de la plante (tige, feuilles, fanes et grains) possèdent une valeur économique. Elles peuvent toutes être utilisées pour produire une grande variété de produits alimentaires et non-alimentaires (IITA, 2006).

Ils sont deux des céréales les plus cruciales et stratégiques pour l'atteinte de l'autosuffisance alimentaire au Mali. Plusieurs facteurs expliquent ses baisses de rendement comme la pauvreté des sols en azote, la dégradation des sols, les mauvaises pratiques culturales. Parmi ces facteurs, la pauvreté des sols en azote et la dégradation des sols

constituent les contraintes principales au Mali.

L'utilisation des engrais et pesticides chimiques pour améliorer la production du maïs et du riz, est limitée par le coût élevé et les effets néfastes de ces produits sur la santé de l'homme et l'environnement (Alalaoui, 2007).

De nombreux travaux ont été consacrés ces dernières années à l'utilisation des bactéries du sol pour l'amélioration de la croissance des plantes et la diminution des intrants coûteux et potentiellement polluants en agriculture. Ces bactéries promotrices de croissance PGPR (Plant growth-promoting rhizobacteria) appartiennent à différents genres tels que *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter* et *Bacillus* (Gaskins et al. 1985).

La fixation non-symbiotique de l'azote a été l'un des premiers mécanismes bactériens identifiés dans la rhizosphère des végétaux comme susceptible d'induire une augmentation de la croissance des plantes (Boddey et Döbereiner, 1988). Aussi, de nombreuses souches bactériennes fixatrices d'azote ont été isolées du sol et de la rhizosphère et utilisées pour inoculer diverses espèces végétales (Jagnow, 1987 ; Rajaramamohan et al. 1987). Cependant,

l'importance de la fixation non symbiotique d'azote comme source d'approvisionnement en azote pour les plantes non légumineuses a fait l'objet de controverses ultérieures (Michiels et al. 1989). D'autres mécanismes bactériens ont alors été proposés pour expliquer la stimulation de la croissance de ces plantes. Ils comprennent la production de phytohormones de croissance (Lesinger et Margraff, 1979 ; Lin et al. 1983). L'induction d'une augmentation de prélèvement de phosphore (Lifshitz et al. 1987) et l'antagonisme vis-à-vis de microorganismes phytopathogènes (Kloepper et al. 1989 ; Hebbar et al. 1992). En particulier, par le biais de la compétition pour le fer (Jukevitch et al. 1992 ; Lemanceau, 1992).

Pendant ce temps, il est prouvé que l'inoculation des semences de maïs et de riz avec des rhizobactéries efficaces peut augmenter significativement la croissance et le rendement des cultures (Hernandez et al. 1995 ; Subba Rao et al, 1979 ; Balasubramania and Kumar, 1987).

Parmi les rhizobactéries les plus souvent utilisées en fertilisation biologique, les *Azospirillum* ont montré un effet significatif sur la croissance du maïs, du blé, du riz, du sorgho et de la canne à sucre (Barbieri et al., 1986 ; Muthukumarasamy et al., 1999 ; Mickael Boyer, 2008 ; Isawa et al., 2010).

Malgré tout, au Mali, très peu d'études ont été entreprises jusqu'ici sur l'utilisation des *Azospirillum* pour améliorer la nutrition azotée du maïs et du riz.

L'objectif de ce travail est de, formuler un bio-inoculant efficace, peu coûteux, respectueux de l'environnement et surtout capable d'améliorer la croissance des céréales.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. Processus d'isolement

10 grammes des échantillons de sols (sols non-rhizosphériques et sols rhizosphériques) provenant du champ d'expérimentation (de Samanko et du Laborem-Biotech) ; des échantillons des racines découpées à raison de 0,8 cm de longueur puis désinfectées à 2% de choramine-T pendant 3 mn et rincées avec de l'eau distillée stérile et des racines découpées à raison de 0,8 cm de longueur non désinfectées.

Préparation du milieu d'isolement

Ce milieu NFB semi-solide est un milieu de croissance d'*Azospirillum* qui a pour composition par litre d'eau distillée : 5g d'Acide malique ; 5g de K_2HPO_4 ; 2g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 1g de NaCl ; 2g de $CaCl_2 \cdot H_2O$; 2 ml de Bleu de bromothymol 0,5% ; 1 ml de la solution de vitamine stérile ; 2 ml de la solution de micronutriments stéril ; 0,4g de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$; 4,5g de KOH ; 0,02g d'extrait de levure ; 3g d'agar, le pH a été ajusté à $6,8 \pm 0,2$. La solution de vitamine contient, dans 200 ml, 20 mg de la biotine et 40 mg du pyridoxol-HCl, dissout à

100°C dans un bain d'eau. La solution de micronutriments se compose des éléments suivants (g/l) : 40mg de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$; 1,4g de H_3BO_3 ; 0,12g de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$; 1g de $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$; 1,175g de $MnSO_4 \cdot H_2O$. Tous ces éléments ont été pesés et portés à ébullition jusqu'à dissolution complète et a été réparti dans des flacons à raison de 5ml par flacon. Ensuite les flacons ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes puis refroidi à 45°C avant d'être ensemencé avec les échantillons.

Culture en milieu NFB (Nitrogen-free broth) semi-solide

Chaque échantillon a été utilisé pour ensemencer les différents tubes contenant 5 ml du milieu de culture NFB semi-solide avec 10 répétitions. Les tubes ont été incubés à 37°C pendant 7 jours. Après incubation des flacons, de pellicules blanches de 2 à 10 mm formant en-dessous de la surface du milieu a été transféré dans des nouveaux tubes contenant le milieu NFB semi-solide (T1 : Transfert 1). Le transfert a été répété trois (3) fois pour l'inoculum formant des pellicules (Krieg NR, 1981).

Isolement et purification de l'inoculum sur le milieu NFB solide

Le milieu NFB solide a été préparé, stérilisé et refroidi à environ 45°C puis reparti aseptiquement dans des boîtes de Pétri stériles. Les pellicules blanches formées ont été utilisées pour ensemencer par striation. Les boîtes de Pétri, ainsi inoculées, ont été incubées à 37°C pendant 7 jours. Des boîtes témoins non inoculées ont été faites pour chaque inoculum afin de contrôler la stérilité.

Repiquage des colonies typiques sur milieu NFB au rouge Congo

Contrairement aux autres bactéries du sol, les souches d'*Azospirillum* sont capables d'absorber le rouge Congo et apparaître rouges. Aussi pour confirmer que les isolats obtenus sont des *Azospirillum*, les différents isolats ont été cultivés sur du milieu NFB au rouge Congo contenu dans des boîtes de Pétri. Les boîtes de Pétri ont été incubées pendant 7 jours à 37°C. Après incubation, les colonies bactériennes obtenues après repiquage sur le milieu NFB solide montrant des caractères morphologiques (les colonies qui se sont révélées d'un diamètre inférieur à 2 mm, un bord irrégulier, une surface lisse, opaques, marge écarlate, convexe, brillante, moite) Tarrand et al. (1978) sont sélectionnées.

Caractérisation des différents isolats à activité PGPR

Test de la catalase, test de l'oxydase, production de cellulase, production de chitinase, production de l'Acide Indole Acétique (AIA), production de sidérophores sur milieu solide sont réalisés.

B. Préparation de l'inoculum bactérien

Les isolats d'*Azospirillum* ont été ensemencés dans des flacons de 250 ml contenant 100 ml du milieu NFB liquide. Les flacons ont été incubés à 37°C sous agitation à 200 rpm pendant 7 jours. Après incubation, les différentes cultures ont été centrifugées à 10000 rpm pendant 15 minutes pour séparer le culot du surnageant.

Pour chaque isolat, l'inoculum a été ajusté à 1.10^8 bactéries par ml en les estimant par spectrophotométrie (soit $DO=0.1$ à 600 nm).

Inoculation des graines de maïs et de riz en pots

100 grammes de graines de maïs Dembanyuma et de riz Adny 11 ont été triées puis aseptisées avec une solution d'hypochlorite de sodium à 0,024% pendant 2 minutes et rincées abondamment avec de l'eau distillée stérile conformément à la méthode décrite par Noumavo et al. (2013).

Après traitement, les graines ont été placées dans un bécher stérile contenant 20 ml d'une solution de méthyle cellulose à 2% comme adhésif et 20 ml de l'inoculum bactérien.

2 grammes de poudre de charbon actif ont été ajoutés au mélange jusqu'à la formation d'une couche uniforme. Les graines ainsi enrobées, ont été séchées sous hotte à flux laminaire pendant cinq heures.

Dispositif expérimental

Pour déterminer l'effet des isolats (traitements) sur le maïs et de riz, le dispositif en bloc complet avec trois (3) répétitions et onze (11) traitements (T0 : témoin non inoculé ; T1 : Az112 ; T2 : Az112' ; T3 : Az116 ; T4 : Az117 ; T5 : Az122'' ; T6 : Az122''' ; T7 : Az132 ; T8 : Az135' ; T9 : Az221 et T10 : Az2210) a été mis en place. Le facteur de blocage a été la durée d'ensoleillement. Les traitements ont été distribués aléatoirement à l'intérieur de chaque bloc. Les semences de la variété de maïs Dembanyuma et de riz (var. Adny 11), provenant de l'IER de Sotuba au Mali, ont été utilisées dans cette expérimentation. Cette variété de maïs a un cycle de 110 jours et celle de riz Adny 11 a un cycle de 120 jours.

Suivi et collecte des données agronomiques

Le nombre de graines germées a été vérifié pendant 3 à 4 jours. Après germination, les jeunes plants ont été démarrés à deux par pot. Après 30 jours de culture, les plants ont été dépotés. La longueur des racines et la taille de la tige ont été mesurées, le poids de la biomasse aérienne et souterraine ont été déterminés puis enregistrés.

Après détermination du poids de la biomasse aérienne et souterraine, celle-ci a été séchée dans une étuve à 65°C pendant 72 heures conformément à la méthode de Noumavo et al. (2013) pour déterminer le poids de la matière sèche des parties aériennes et souterraines.

Analyse statistique des données

Le test de Bartlett a été utilisé pour vérifier l'homogénéité de la variance des moyennes pour les différents paramètres mesurés. Les traitements avec des moyennes non homogènes ont subi une transformation avant analyse.

L'analyse (ANOVA) pour les différents paramètres agronomiques mesurés a été effectuée pour toutes les données en utilisant les procédures du Model Linéaire Général (GLM) du Système d'Analyse Statistique (SAS). Pour tous les paramètres dont le F s'est révélé significatif, nous avons procédé à une comparaison des données en utilisant le test de la plus petite différence (LSD) protégé de Fischer (Steel and Torrie 1980).

III. RÉSULTATS

A. Processus d'isolement

Après observation macroscopique sur milieu de culture, 10 isolats ont été sélectionnés et supposés être des *Azospirillum*: 8 isolats obtenus à Samanko dont 4 isolés du sol rhizosphérique ; 2 isolés de la racine lavée avec de l'eau distillée stérile (rhizoplan) ; 2 isolats obtenus de la racine désinfectée à 2% de choramine-T (endophytes) et 2 isolats obtenus dans la parcelle d'expérimentation du Laboratoire de Recherche en Microbiologie et Biotechnologie Microbienne (LaboREM-Biotech) de la Faculté des Sciences et Techniques (FST) tous les 2 isolats ont été obtenus de la rhizoplane (Tableau 1). Aucun isolat n'a été obtenu de sols non-rhizosphériques et de la moelle (Xylème).

Tableau 1: Répartition des *Azospirillum*.

Sites	Sources				
	SNR	SR	Rhizopla n	End o	Xylème
Samanko	-	04	02	02	-
Parcelle du Laborem- Biotech	-	-	02	-	-

SNR: Sol non-rhizosphérique, SR : Sol rhizosphérique, Endo : Endophyte

Les résultats consignés dans ce tableau montrent qu'il y a plus d'*Azospirillum* dans le sol rhizosphérique et au niveau du rhizoplan du maïs à Samanko que dans la parcelle du LaboREM-Biotech. L'échantillon de racine désinfectée avec 2% de choramine-T, présente le taux élevé d'endophytes du maïs à Samanko que dans la parcelle du LaboREM-Biotech.

Caractérisation des différents isolats à activité PGPR

Tableau 4 : Production des enzymes par les isolats étudiés.

Isolats	Enzymes			
	Cata	Oxy	Cellu	Chiti
Az112	+	+	+	-
Az112'	+	+	+	-
Az116	+	+	-	+
Az117	+	+	-	-
Az122''	+	+	+++	+++
Az122'''	+	+	-	-
Az132	+	+	+	+
Az135'	+	+	-	+
Az221	+	+	+	+
Az2210	+	+	-	-

(-) : négatif, (+) : positif= produit l'enzyme, cata : catalase, Oxy : oxydase, Cellu : cellulase, Chiti : chitinase

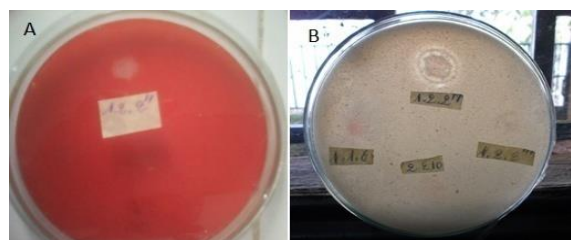


Figure 3 : Résultat du test de production de la cellulase (A) et de la chitinase (B) par Az122''.

Tableau 5 : Activité productrice de l'Acide Indole Acétique (AIA) et de sidérophores des différents isolats.

Isolats	Tests effectués	
	Production de l'AIA	Production de sidérophore
Az112	-	-
Az112'	++	-
Az116	++	-
Az117	-	-
Az122''	+	-
Az122'''	-	-
Az132	-	-
Az135'	+	++
Az221	+	-
Az2210	-	-

(-) : pas de production, (+) : production faible, (++) : production abondante.

B. Inoculation des graines en pots

L'inoculation des graines de maïs var. Dembanyuma avec les isolats d'*Azospirillum* favorisant la croissance des plantes (FCP) a significativement affecté tous les paramètres mesurés sur le maïs.

L'analyse a montré que l'effet des traitements sur : le taux de germination, taille de la partie aérienne, taille des racines, poids des feuilles fraîches, poids des racines fraîches, poids des feuilles sèches, poids des racines sèches, diamètre des tiges est très hautement significatif. Aucun effet significatif de répétition n'a été observé sur les paramètres mesurés.

Cela indique, par exemple, que le pourcentage de la germination des semences traitées ou non par les isolats d'*Azospirillum* ne seront pas affectés différemment par les répétitions.

Une importante croissance végétative a été obtenue chez l'isolat Az122''' avec 74,33 cm contre 62 cm chez le témoin non inoculé (Figure 5A). En effet, les plantes inoculées avec Az122''' étaient 2 fois plus hautes que celles non inoculées (témoins).

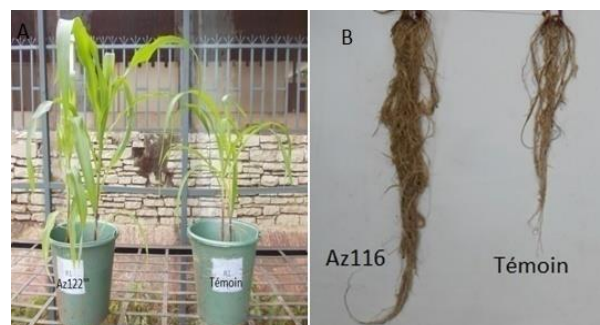


Figure 5 : Effet des isolats Az122''' et de Az116, respectivement, sur la croissance végétative (A) et racinaire (B) du maïs.

Une importante élévation des racines fraîches a été identifiée chez l'isolat Az116 avec une taille de 75 cm contre 48,5cm pour le témoin non inoculé (Figure 5B). Le poids moyen des feuilles fraîches a été plus déterminant chez Az122''' avec 79,55g comparativement au témoin avec 32,7g. La moyenne du poids des racines fraîches a été le plus élevé chez Az122'' avec 43,80g contre 17,15g pour le témoin non inoculé. Le poids des feuilles, des racines sèches a été plus important après l'analyse chez Az122''', Az135' avec (12g et 7g), (12g et 7,5g) contre 4,5g des feuilles sèches et 3,1g des racines sèches pour les témoins non inoculés. Le diamètre de la tige des plantes a été plus important chez Az221 avec 4,60 mm contre 3mm pour le témoin non inoculé avec.

Les inoculants biologiques produits avec les isolats Az122''(5), Az116(4), Az135'(3) et Az112'(2) ; ont augmenté de façon significative la croissance de la partie aérienne et racinaire du riz (figure 6). L'isolat Az122'' qui produit en même temps en quantités suffisantes la cellulase, la chitinase et l'AIA ; a montré l'effet le plus significatif sur la croissance végétative et racinaire comparée aux témoins(1) non

inoculés et aux plantes de riz inoculées avec les autres isolats testés (figure 6).



Figure 6 : Effet de l'inoculation avec les isolats Az122", Az116, Az135' et Az112' sur la croissance de la partie aérienne et racinaire du riz.

Après croissance du riz inoculé avec les isolats testés, la taille et le poids des racines et de la partie aérienne des plantes de riz ont été déterminés et les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Taille, poids frais et poids sec de la partie aérienne et racinaire des plantes de riz inoculés avec les isolats sélectionnés et des plants de riz non inoculés.

Isolats	Paramètres mesurés (Taille en cm et poids en g)					
	TF	TR	PFA	PSA	PFR	PSR
Az122"	56	48	46,18	12,58	35,3	10,6
Az116	60	40	53,15	7,16	45	4,87
Az135'	56	42	15,22	4,1	6,5	1,88
Az112'	51	32	11,02	3,3	4,07	1,48
Az221	45	29	5,3	1,9	1,25	1,01
Témoin	26	6	0,6	0,3	0,06	0,05

TF: taille des feuilles, **TR:** taille des racines, **PFA:** poids frais de la partie aérienne, **PSA:** poids sec de la partie aérienne, **PFR:** poids frais de la partie racinaire, **PSR:** poids sec de la partie racinaire.

L'analyse des résultats consignés dans ce tableau montre que tous les paramètres mesurés sont améliorés par l'inoculation comparé aux témoins non inoculés, et ce, quelque soit l'isolat utilisé. Cependant, les plantes inoculées avec l'isolat Az122" sont les plantes les plus performantes suivie de celles inoculées avec Az116 et Az135'. L'isolat Az221 a donné les résultats les plus faibles des autres isolats testés. Une forte corrélation positive ($R^2=0,98$) a été observée entre le poids frais des

racines et le poids frais des feuilles. En effet, plus le poids frais de la partie racinaire augmente, plus le poids frais de la partie aérienne des plantes de riz est élevé (figure 7).

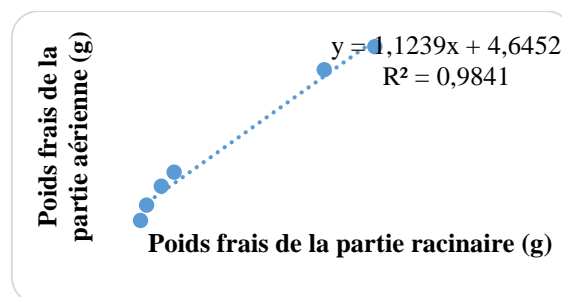


Figure 7 : Corrélation entre le poids frais de la partie racinaire du riz et le poids frais de la partie aérienne (feuilles) du riz.

IV. DISCUSSION

Dans cette étude, 10 bactéries isolées à Samanko et de la parcelle d'expérimentation du LaboREM-Biotech ont été considérées comme pouvant être des *Azospirillum*. Ces résultats suggèrent que de nombreux *Azospirillum* existent dans ces zones de cultures. Dicko et al. (2013) ont rapporté des résultats similaires obtenus au Mali. L'effet de l'inoculation des graines de maïs Dembanyum avec les isolats bactériennes a montré une croissance importante plus qu'aux témoins non inoculés.

La colonisation externe s'effectue à la surface des racines mortes ou vivantes en formant de petits agrégats (Bashan et Levanony, 1988, 1990) au niveau des zones d'élongation (Bashan et al., 1986) ou au niveau des poils racinaires (Okon et Kapulnik, 1986). La canne à sucre (*Saccharum* sp.) et le Kallar grass, inoculés avec *Azospirillum* présentent ce type de colonisation selon Reinhold et al. (1986) et Berg et al. (1979). Certains de nos isolats présentent ce type de colonisation externe.

La colonisation interne se fait dans les espaces intercellulaires des cellules corticales (*Azospirillum lipoferum*, Levanony et al., 1989). *Azospirillum* se trouve à l'intérieur des racines chez le blé (Barbieri et al., 1986). Certains de nos isolats isolés de racines désinfectées à 2% de choramine-T présentent ce type de colonisation interne.

Parmi les isolats testés sur les graines de maïs Dembanyuma au cours de nos essais en pot, les observations ont été basées en un premier lieu sur le taux de germination et les graines inoculées ont montrée une germination rapide avec un taux de 85% pour Az117, 80% pour Az112' et 80% pour Az122". Cette amélioration du taux de germination observée dans ce travail, peut être due à la synthèse des phytohormones telle que l'acide indole acétique (Gholami et al., 2009). Elle peut être due à une

dégradation de la cellulose par la bactérie. Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus par Dicko et al. (2013) qui est de 100% de taux de germination pour l'inoculation avec *Azospirillum* sp. et *Actinomyète* ssp. AHB12, qui peut être expliquée par la capacité de ces souches à solubiliser le phosphore TCP, le phosphore PNT et à produire l'ACC désaminase.

Quelques isolats, tel que Az112', Az116, Az122'' et Az135' testés dans ce travail produisent de l'acide indole acétique, de composé antifongique et de sidérophores. Cet essai dans la serre a montré que les isolats à activité PGPR ont amélioré significativement la croissance des plants de maïs et de riz. Ces résultats confirment ceux de quelques chercheurs : (Raddadi et al. 2008 ; Dicko et al. 2012 ; Kassogué et al. 2012 ; Pandey et Kumar, 1989) qui ont indiqué que la production d'AIA, de composé antifongique et de sidérophores par les microorganismes améliorent la croissance des plantes en favorisant, l'initiation de la racine et la modification de l'expression de gènes spécifique dans des conditions de stress.

Des augmentations importantes de la taille de la partie aérienne obtenues dans cette expérimentation en pot dans la serre après 1 mois de croissance de maïs et de riz ont été obtenues chez Az122'' et Az116 comparée au témoin non inoculé, les augmentations de taille des racines obtenues avec Az116 et Az122'' sont nettement supérieures à celles obtenues par certains chercheurs : (Noumavo et al. 2013 ; Dicko et al. 2015 ; Kassogué et al. 2016) qui ont inoculé respectivement le maïs avec *Azospirillum lipoferum* DSM 1691 et *Pseudomonas fluorescens* DSM 50090 ; *Pseudomonas fluorescens* sp. , *Actinomyètes* sp. H7 et *Bacillus* sp. ; BI4' et BI4''.

En plus de l'amélioration du taux de germination des semences du maïs et du riz, de l'augmentation significative de la longueur de la partie aérienne et des racines par quelques isolats, mais les isolats ont aussi permis d'augmenter la biomasse aérienne et souterraine. Ces améliorations sont similaires à celles obtenues par Bashan et Levanony, (1990) et El Zernrany et al., (2007) ; Isawa et al., (2010) qui ont observé des effets plus marqués de l'inoculation avec *Azospirillum* au niveau du taux de germination, de la taille des plantes, du système racinaire, et notamment au niveau de la longueur racinaire, du nombre de racines latérales, de la biomasse sèche, du nombre et de la densité des poils absorbants et au niveau des racinaires. Ces améliorations sont similaires à celles obtenues par certains chercheurs : (Babana et al. 2003 ; Gholami et al. 2009 ; Babana et Antoun, 2006) avec le blé, (Dicko et al. 2016 ; Kassogué et al. 2016) avec le maïs, Isawa et al., (2010) avec le riz.

Les inoculants biologiques produits par les isolats Az122'', Az116, Az135' et Az112' ; ont augmenté de façon significative la croissance végétative et racinaire du riz. Ce résultat confirme ceux de nombreux auteurs qui ont montré que l'inoculation du riz avec des bactéries PGPR (fixatrice d'azote) pouvait entraîner une augmentation significative de la hauteur des plantes, des biomasses racinaires et aériennes (Subba Rao et al. 1979 ; Balasubramania et Kumar, 1987 ; Hernandez et al. 1995 ; Isawa et al., 2010).

V. REFERENCES

- [1] Babana A. H. (2003). Mise au point d'un inoculant biologique pour le blé irrigué du Mali. Thèse de doctorat, Université Laval, Québec, Canada. 138. (French).
- [2] Babana A.H., Antoun H. (2006). Effects of Tilemsi phosphate rock solubilizing microorganisms on phosphorus uptake and yield of field grown wheat in Mali. *Plant and soil*. 287 :51-584.
- [3] Balasubramania A. and Kumar K. (1987). Performance of *Azospirillum* biofertilizer of irrigated and rainfed upland rice. *IRRN* 12, 2-43.
- Barbieri P., Zanelli T., Galli E. and Zanetti G. (1986). Wheat inoculation with *Azospirillum brasilense* Sp6 and some mutants altered in nitrogen fixation and indole-3-acetic acid production. *FEMS Microbiol. Lett.* 36: 87-90.
- [4] Bashan Y. and Levanony H. (1988). Interactions between *Azospirillum brasilense* Cd and wheat root cells during early stages of root colonization. *Azospirillum N.* Ed. Klingmüller. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany. 166-173.
- [5] Bashan Y. and Levanony H. (1990). Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. *Can. J. Microbiol.* 36:591-615.
- [6] Bashan Y., Levanony H. and Klein E. (1986). Evidence for a weak active external adsorption of *Azospirillum brasilense* to wheat roots. *Journal of General Microbiology* 132, 3069-3073.
- [7] Berg O.G. and Blomberg C. (1979). Biophys. *Chem.* 9, 415.
- [8] Boddey R.M., Döbereiner J. (1988). Nitrogen fixation associated with grasses and cereals. Recent results and perspectives for future research. *Plant Soil* 108, 53-65.
- [9] Dicko A. H. (2012). Isolement et caractérisation d'*Actinomyètes* à activité Antibactérienne et Antifongique des Sols Rhizosphériques de Kabala. Mémoire de DEA, Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako. 50 pp.
- [10] Dicko A.H., Maiga K., Traoré D., Kassogué A., Fardji F. A., Fane R. (2013). Isolation and characterization of crop rhizospheric actinomycetes with antimicrobial activity in Mali. *African Journal of Applied Microbiology Research*. 2013; 2(1) :1-8.
- [11] Gaskins M.H., Albrecht S.L., Hubbell D.H.

- (1985). Rhizosphere bacteria and their use to increase plant productivity: a review. *Agr Ecosyst Environ* 12, 99-116.
- [12] Gholami A., Shahsavani S., Nezarat A. (2009). The effect of plant grown promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of Maize. *Int j Bio Bimolecular, Agric, Food, Biotechnol. Eng.*3(1) : 9-14.
- [13] Hebbbar P., Davey A.G., Merrin J., McLoughlin T.J., Dart P.J. (1992). *Pseudomonas cepacia*, a potential suppressor of maize soil-borne diseases-seed inoculation and maize root colonization. *Soil Biol Biochem* 24, 999-1007.
- [14] IITA, (2006). Annual Report. 77 pages.
- [15] Jagnow (1987). Inoculation of cereal crops and forage grasses with nitrogen-fixing rhizosphere bacteria: Possible causes of success and failure with regard to yield response-a review. *Z Pflanzenernähr Boden* 150, 361-368.
- [16] Jukevitch E., Hadar Y., Chen Y. (1992). Differential siderophore utilization and iron uptake by soil and rhizosphere bacteria. *Appl Environ Microbiol* 58, 119-124.
- [17] Kassogué A. (2012). Isolement et caractérisation de Souches de *Bacillus thuringiensis* dans les Sols des Fosses de Drainage à Bozola et des Jardins de Laitue à Daoudabougou. Mémoire de DEA, 40 pp.
- [18] Kassogué A., Dicko A. H., Traoré D., Fané R., Valicente F. H. and Babana A. H. (2016). *Bacillus thuringiensis* Strains Isolated from Agricultural Soils in Mali Tested for Their Potentiality on Plant Growth Promoting Traits. *British Microbiology Research Journal* 14 (3): XX-XX, 2016, Article no. BMRJ. 24785.
- [19] Kloepper J.W., Lifshitz R., Zablotowicz R.M. (1989). Freelifing bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol* 7, 39-44.
- [20] Lemanceau P. (1992). Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas* spp *fluorescents*. *Agronomie* 12, 413-437.
- [21] Lesinger T., Margraff R. (1979). Secondary metabolites of the *fluorescent Pseudomonas*. *Microbiol Rev* 43, 422-442.
- [22] Lifshitz R., Kloepper J.W., Kozłowski M. et al. (1987). Growth promotion of canola (rapeseed) seedlings by a strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotic conditions. *Can J Microbiol* 33, 390-395.
- [23] Lin W., Okon Y., Hardy R.W.F. (1983). Enhanced mineral uptake by *Zea mays* and *Sorghum bicolor* roots inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Appl Environ Microbiol* 45, 1775-1779. *Microbiol.*50: 521-577.
- [24] Noumavo P.A., Eméric K., Yédéou O. D., Adolphe A., Marcellin A., Rachidatou S., Emma W.G., Simeon O. K., Lamine B.M. (2013). Eeffet of Different Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Maize Seed Germination an Seedling Development. *American*
- [25] Okon Y. and Kapulnik Y. (1986). Development and function of *Azospirillum* inoculated roots. *Plant and Soil*, 90:3-16.
- [26] Raddadi N., Cherif A., Boudabous A., Daffonchio D. (2008). Screening of plant grown promoting traits of *Bacillus thuringiensis*. *Annals of Microbiology.* 58 (1) :47-52.
- [27] Rajamamohan R.V., Jena P. K, Adhya T.K. (1987). Inoculation of rice with nitrogen-fixing bacteria- problems and perspectives. *Biol Fertil Soils* 4, 21-26.
- [28] Reinhold B., Hurek T., Niemann E.-G. and Fendrik I. (1986). Close association of *Azospirillum* and diazotrophic roods with different root zones of Kallar grss. *Appl. Environ. Microbiol.* 52: 520-526.
- [29] Subba Rao N.S., Tilak K.V.B.R., Singh C.S., Lakshmikumari M. (1979). Respoonse of a few economic species of graminaceous plants to inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Curr Sci* 48, 133-134.
- [30] Subba Rao N.S., Tilak K.V.B.R., Singh C.S., Lakshmikumari M. (1979). Respoonse of a few economic species of graminaceous plants to inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Curr Sci* 48, 133-134.