

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

ECOLE DOCTORALE: SCIENCES DE LA VIE, DE LA SANTE ET DE
L'ENVIRONNEMENT

FACULTE : SCIENCES ET TECHNIQUES

Année : 2014



N° d'ordre : 99

THESE DE DOCTORAT

Spécialité : Génétique des Populations

Présentée par : Sidy Diakhaté

Influence de l'arbuste *Piliostigma reticulatum* (D.C.) Hochst (Caesalpinioideae) sur les communautés de microorganismes et de nématodes d'un sol cultivé en mil au Sénégal (Nioro)

Soutenue le 28 Avril 2014 devant le jury composé de :

| | | | |
|--------------------|---------------------|------------------------|-----------|
| Président | Akpo Léonard Elie | Professeur titulaire | FST- UCAD |
| Rapporteurs | Diouf Diégane | Maître de Conférences | FST-UCAD |
| | Barot Sébastien | Directeur de Recherche | IRD |
| | Fall Saliou | Maître de Recherche | ISRA |
| Examineurs | Sembene Mbacké | Professeur titulaire | FST-UCAD |
| | Masse Dominique | Directeur de Recherche | IRD |
| | Chapuis-Lardy Lydie | Chargée de Recherche | IRD |

Co-directeurs de thèse

| | | |
|-----------------|------------------------|----------|
| Sembene Mbacké | Professeur titulaire | FST-UCAD |
| Masse Dominique | Directeur de Recherche | IRD |

Remerciements

Cette thèse a été pour moi une expérience scientifique, professionnelle et humaine formidable et très enrichissante. Que toutes les personnes qui ont participé, de près ou de loin, à ce travail trouvent ici une juste reconnaissance et l'expression de ma profonde gratitude.

Je remercie les membres de mon jury de thèse pour avoir accepté de juger mon travail, pour leurs apports constructifs et pertinents : Professeur Léonard Elie Akpo (Président du jury, UCAD), Dr Sébastien Barot (Directeur de Recherches IRD), Dr Diégane Diouf (Maître de Conférences UCAD) et Dr Saliou Fall (Chercheur ISRA).

Qu'il me soit permis d'exprimer ma profonde reconnaissance et mes remerciements les plus sincères au Professeur Pape M'Backé Sèmbène, mon co-directeur de thèse, pour la confiance qu'il a bien voulu m'accorder depuis mes débuts à l'Université. Ses conseils et sa rigueur scientifique m'ont été très utiles pour mener à bien ce travail. Je lui dois la qualité de ma formation de doctorant. Alors, au moment où s'achève ce travail, qu'il veuille bien trouver ici l'expression de ma plus profonde et déférente gratitude pour tout le temps qu'il m'a consacré. Ce doctorat n'aurait pu être réalisé sans l'appui et les conseils de mon autre co-directeur de thèse Dr Dominique Masse, Directeur de Recherche à l'IRD et co-directeur du Laboratoire Mixte International IESOL (LMI Intensification Ecologique des Sols cultivés d'Afrique de l'Ouest). Je remercie également Dr Yacine Badiane Ndour (ISRA), co-Directrice du LMI IESOL, qui après avoir encadré mes travaux de master m'a encouragé à poser ma candidature pour poursuivre en thèse au sein du LMI.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et reconnaissance au Dr Lydie Chapuis-Lardy, Chargée de Recherche à l'IRD et encadrante de ma thèse. Elle m'a accordé sa confiance pour développer ce travail en lien avec un projet NSF PIRE qu'elle codirige avec Prof. Richard P. Dick (Ohio State University) et Dr Yacine Badiane Ndour (ISRA). Je la remercie pour sa grande disponibilité durant ces trois années ainsi que pour l'ensemble de ses critiques pertinentes qui ont fait avancer ce travail au quotidien. Ses conseils avisés m'ont été d'un concours précieux pour la rédaction du présent manuscrit.

Je voudrais aussi remercier les membres extérieurs de mon comité de pilotage : Dr. Djibril Djigal (Nématologie), Prof. Richard P. Dick (Ecologie Microbienne des sols et Enzymologie). Les discussions que nous avons eues à mi-parcours ont nourri ma réflexion et ont contribué à la réussite de ce projet.

L'allocation de thèse octroyée par le Service de Renforcement des Capacités de la Direction des Programmes de Recherche et de la Formation au Sud (SRC-DPF) de l'IRD/AIRD m'a permis de réaliser cette thèse dans de bonnes conditions, et en alternance entre Dakar et Montpellier. J'adresse toute ma gratitude au Dr Jean-Luc Chotte, Directeur de Recherche à l'IRD et directeur de l'UMR Eco&Sols (Ecologie Fonctionnelle & Biogéochimie des Sols et Agro-Ecosystèmes) pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire à Montpellier. Je remercie Dr Tiphaine Chevallier et Josiane Abadie pour leur encadrement et leur disponibilité durant mon séjour en France. Je leur adresse toute ma gratitude pour avoir toujours été à mon écoute. Je souhaiterais également à remercier Joëlle Toucet et Didier Brunet pour leur disponibilité et pour leur contribution, ainsi que Philippe Deleporte pour son éclairage dans

les approches statistiques et Cécile Villenave (Elisol Environnement) pour son expertise dans mon premier manuscrit. Merci également à l'ensemble du personnel à Montpellier pour leur accueil, spécialement Farid Meddaci pour son aide dans les démarches administratives à l'arrivée.

Mes rapports avec l'ensemble des membres du projet NSF/PIRE ont été aussi enrichissants qu'agréables, et je tiens à remercier mes collègues étudiants : Spencer Debenport, Jennifer Tvergyak Carlson, Matthew Bright, Chelsea Delay, Owen Coffie, David Bethel, Nate Boggie, Ariel Jackson et Ashia Burns. Des remerciements tout particuliers sont également à adresser à tous ceux du projet avec qui j'ai établi des contacts privilégiés, et qui ont participé de manière significative à ma réflexion sur l'ensemble de ces travaux ainsi qu'à leur réalisation. Je pense notamment au Dr. Ibrahima Diédhiou (ENSA Thiès), Roger Bayala, Tonton Dame, Tonton Dieye, Hadji Moussa Diop, pour leur contribution manifeste lors des échantillonnages sur le terrain. Une mention spéciale est à décerner au Dr Ndéye Hélène Diallo, post-doctorante ISRA dans le projet, pour son sérieux et sa patience aussi bien sur le terrain lors des prélèvements des échantillons qu'au laboratoire ou encore pour ses conseils et son aide dans les analyses statistiques.

Mes sincères remerciements au grand sultan Alpha Omar Ba (Elisol Environnement) pour m'avoir appris à reconnaître les nématodes ...merci pour la pêche aux nématodes !! Un grand merci à Mahécor Diouf pour avoir transmis ses connaissances techniques en enzymologie. Certaines caractéristiques chimiques des sols ont été déterminées au Laboratoire des Moyens Analytiques (LAMA). Merci pour cet appui.

J'exprime mes remerciements aux chercheurs du campus IRD-ISRA de Bel Air pour leurs encouragements et les conseils précieux, les Dr. Hassna Founoune, Ndjido Kane, Jonathan Vaussières, Farma Ndiaye Cissé, Frédéric Feder, Moussa Ndiénor. Un immense merci à Mariama Gueye qui m'a assisté "pas à pas" depuis le master. Elle m'a soutenu, guidé et souvent sorti la tête de l'eau dans les moments difficiles. Merci pour tout le travail qu'elle a réalisé, merci, pour tous les moments partagés tout au long de ces années ! Merci à l'ensemble du personnel administratif et technique des laboratoires IESOL et LAMA, notamment Pourméra Gassama, Lamine Dieng, Mme Fatou Kiné Gueye, Saliou Faye, Amadou Diop dit Traoré, Lamine Sagna, Moustapha Sané, Omar Faye, Eli Joseph Diatta, Blaise Mane, Marie Pierre Tine, Aissatou Diouf pour la joie et la bonne humeur permanente qui régnaient dans les laboratoires.

Merci aux services administratifs de la Représentation de l'IRD, et à son personnel, notamment Pape Sarr pour l'appui informatique.

Merci à tous mes collègues étudiants au LMI IESOL, notamment Abdoulaye Badiane, Richard Hodomio, Tidiane Dieye, Sitor Ndour, Laurent Kodji, Daouda Ben Souleymane Diatta, Rachel Ntoma, Christian Nadieline, Céline Birnholz.

Mes remerciements vont aussi à tous mes autres amis du LCM : Amadou Dieng, Fatou kiné, Nathalie, Soumaré, Niokhor, Mamadou, Babacar, Christophe, Ahmadou Sow, Soumaré, Niokhor Nogaye Niang, A mes promotionnaires de la Génétique des populations Fatimata

Mbaye Tofféne Diom, Assane Nasserline Mansa. Mention spéciale à Mariama Ngom pour voir assurer l'arrosage de mes plantes pendant mon séjour en France.

A mon ami et frère Issa Diédhiou pour les discussions pertinentes

Et enfin, ma famille, mes amis pour leur soutien indéfectible...merci

A mon père, mes frères et sœurs (Bobo, Sylla Abdoukhadre, Assane, Bineta, N'deye), cousins et cousines (Cheikh, Waly, Papa, Astou, Amy, Mohamed, Papi, Yandé, Mamadou, Pape Samba Penda, Daouda, Ngagne, Niokhor) ;

A mes amis (Mouhamed, Kader, Léna, Mami Diouf, Idrissa Basse, Moustapha Fall, Alassane Gassama, Mansour Senghor, Sofia, Cheikh Lo Ablaye Diallo) ;

A mon frère Doudou Diakhaté, qui a bien voulu m'aider dans l'extraction des nématodes.

Yama, tu devais certainement te demander quand tu aurais ton nom dans ce manuscrit. Et bien voilà. Maintenant, place au prochain chapitre !?

Gloire à Allah qui m'a donné la force et la santé de réaliser ce travail.

Je dédie cette thèse à ma très chère mère qui a tant sacrifié pour que je mène à bien mes études.

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR
ECOLE DOCTORALE: SCIENCES DE LA VIE, DE LA SANTE ET DE L'ENVIRONNEMENT
FACULTE : SCIENCES ET TECHNIQUES
THESE DE DOCTORAT

Spécialité : Génétique des Populations

Nom et prénom du Candidat : DIAKHATE Sidy

Titre de la thèse: Influence de l'arbuste *Piliostigma reticulatum* (D.C.) Hochst sur les communautés de microorganismes et de nématodes d'un sol cultivé au Sénégal (Nioro).

Date et lieu de soutenance : 28 Avril 2014 au Campus IRD-UCAD-ISRA.

| | | | | |
|---------------|---------------------|------------------------|------|------------|
| Jury : | Leonard Elie AKPO | Professeur titulaire | UCAD | Président |
| | Dominique MASSE | Directeur de recherche | IRD | Examineur |
| | Diégane DIOUF | Maître de Conférences | UCAD | Rapporteur |
| | Mbacké SEMBENE | Professeur titulaire | UCAD | Examineur |
| | Lydie CHAPUIS-LARDY | Chargée de Recherche | IRD | Examineur |
| | Saliou FALL | Maître de Recherche | ISRA | Rapporteur |
| | Sébastien BAROT | Directeur de recherche | IRD | Rapporteur |

Résumé :

En zone soudano-sahélienne, les arbustes présents dans le paysage sont souvent utilisés par les populations locales, y compris en agriculture. En intégrant ces arbustes au sein des systèmes de culture, il est possible d'intensifier les processus écologiques pour améliorer la productivité primaire (principe d'intensification écologique). Notre hypothèse est que l'arbuste local *Piliostigma reticulatum* permet d'optimiser le biofonctionnement d'un sol cultivé en mil, en s'appuyant sur les interactions biologiques (microorganismes et nématofaune) impliquées notamment dans la fourniture de nutriments. Notre étude porte sur les communautés microbiennes (abondance-activités-diversités fonctionnelle et génétique), les communautés de nématodes (guildes fonctionnelles), et le réseau trophique développé par ces communautés au sein du sol. L'échantillonnage a été réalisé dans l'horizon superficiel du sol (0-10 cm) de quatre modalités choisies dans un dispositif expérimental existant (Nioro-du Rip, Sénégal) : i) sol nu (traitement de contrôle, noté C) ; ii) mil lorsqu'il est cultivé seul (traitement M, mil) ; iii) touffe arbustive (traitement P, *Piliostigma reticulatum*), et iv) association mil et arbuste avec une gestion des résidus de recépage de l'arbuste sous forme de mulch (traitement M+P). Par ailleurs, une expérimentation en conditions contrôlées permet d'appréhender l'impact de l'apport des résidus de *P. reticulatum* sur une population de nématode phytoparasite de l'espèce *Helicotylenchus dihystera*. Sous la canopée de l'arbuste, le sol présente de plus fortes teneurs en éléments (notamment en azote minéral) (traitement P vs. C), une augmentation significative de l'activité catabolique des microorganismes (technique MicroResp™, notamment celle liée au tréhalose connu par ailleurs pour son rôle dans la fermeture des stomates) et une modification de la structure des communautés de microorganismes et de nématodes. Dans le sol de la culture du mil associant l'arbuste et le mulch (M+P), les teneurs en azote minéral sont plus élevées ainsi que certaines activités enzymatiques (uréase, arylsulfatase et déshydrogénase) et l'activité catabolique de l'acide protocatéchique (acide phénolique). Les résultats ont également montré une modification de la structure et de la diversité de la communauté bactérienne totale alors que pour les champignons, seule la structure est impactée par la gestion de *P. reticulatum* dans le système cultivé. La structure des assemblages de nématodes est affectée à travers une augmentation significative des nématodes bactériovores et une baisse significative des nématodes phytoparasites, notamment la famille des Haplolaimidae. Notre étude en conditions contrôlées confirme l'effet nématocide des résidus de *P. reticulatum* sur *Helicotylenchus dihystera*. L'analyse des réseaux trophiques du sol basée sur la nématofaune montre pour le traitement M+P une augmentation du niveau d'enrichissement (indicateur de la disponibilité en éléments nutritifs) et de la complexité de la chaîne trophique. La gestion de *P. reticulatum* dans le système cultivé affecte le réseau trophique du sol (plus de nématodes bactériovores et moins de phytoparasites) et conduit à une intensification des processus écologiques impliqués dans le cycle de l'azote, et possiblement à une inhibition de la nitrification.

Mots clés : Agroforesterie ; *Piliostigma reticulatum* ; *Pennisetum glaucum* ; Biofonctionnement du sol ; Réseau trophique ; Nématofaune ; nématodes phytoparasites ; Communautés bactériennes ; Communautés fongiques ; Activités enzymatiques ; MicroResp™ ; PCR-DGGE.

Abstract

The influence of the local shrub *Piliostigma reticulatum* (D.C.) Hochst (Caesalpinioideae) on soil microorganisms and nematodes communities when growing millet in Senegal (Nioro).

Sahelian populations traditionally use local shrub for various purposes including in agriculture. Integrating shrub as a component of cropping systems may intensify ecological processes that sustain crop productivity (referring to the concept of Ecological Intensification). We assume that the native shrub *Piliostigma reticulatum* (DC.) Hochst intensify soil biological functioning in millet cultivation by strengthening the biological interactions involved in nutrient cycling. This work focuses on soil microbial communities (density, activity, genetic and functional diversities), soil nematofauna (taxonomy at Family level and classification in functional guilds) and the associated soil food web. Top soil (0-10 cm) was collected in four treatments from an existing experimental design at Nioro-du-Rip (Senegal): (i) bare soil (treatment serving as a control, C), (ii) millet cultivation without external inputs (M treatment), (iii) shrub canopy (noted as P for *Piliostigma reticulatum*) and (iv) millet and *P. reticulatum* association with shrub cutting at millet seedling and shrub residues kept at soil surface as a mulch. Furthermore, a mesocosm experiment was carried out under controlled conditions in order to determine how shrub residues affect an inoculum of *Helicotylenchus dihystrera*, a plant-parasitic nematode species.

Higher nutrient contents were observed under shrub canopy as well as significant changes in the structure of soil microbial communities. *Piliostigma reticulatum* also led to significant changes in soil nematode communities in comparison to the control. Catabolic profile test (MicroResp™) revealed higher ability of microorganisms to degrade trehalose under shrub canopy while this substrate is known in other plant species to control stomate closure under water stress. Urease, arylsulfatase and dehydrogenase activities were higher when shrub is considered in the millet cultivation. These shifts main dealt with nitrogen cycling. Besides, shrub integration in the millet cultivation affected the structure and diversity of soil bacterial community while only the structure varied for fungi. The millet and shrub system led to significant changes in structure and taxonomic richness of soil nematode communities while bacterial feeding nematodes were stimulated and plant-parasitic were depressed (mainly the Hoplolaimidae Family). The results from mesocosm experiment acknowledged the nematicidal effect of shrub residues on the plant-parasitic *Helicotylenchus dihystrera*. The analysis of nematode communities indicated greater values of enrichment index when millet is cultivated with shrub while higher mineral nitrogen contents were observed in topsoil of this system. The integration of *P. reticulatum* in millet cultivation provided more bacterial-feeders with indirect effect of nitrogen cycling and less plant-parasitic nematodes while better N nutrition can also come from an inhibition of the nitrification process in soil.

Keywords : Agroforestry ; *Piliostigma reticulatum* ; *Pennisetum glaucum* ; soil biofunctioning ; Soil food web ; Nematode; Plant feeders ; Bacterial communities ; Fungi ; Enzymes ; MicroResp™ ; PCR-DGGE.

Liste des abréviations

ACP: Analyse en composante principale
ADN: Acide Désoxyribonucléique
ADNr : Acide Désoxyribonucléique ribosomal
ANOVA: Analyse de variance
ATCC: American Type Culture Collection
BET: Bromure d'éthidium
BI: Basal Index
CO₂: Dioxyde de carbone
DGGE: Denaturing Gradient Gel Electrophoresis
dNTPs: Désoxyribonucléotide TriPhosphate
EDTA: Ethylène Diamine Tétra-Acétique
EI: Enrichment Index
EJSB: European Journal of Soil Biology
et al.,: *et alter*
etc. : *et caetera*
FDA: Fluoresceine diacétate
h : heure
ISA: Indicator Species Analysis
KCl :
MI: Maturity Index
MRPP: Multi Response Permutation Procedure
NCR: Nematode Channel Ratio
ITS: Internal Transcribed Spacer
NaOH : Hydroxyde de Sodium
NH₄⁺: Ammonium
NO₃⁻: Nitrate
NMS: Non metric multidimensional scaling
min: Minute
ml: Millilitre
mg L⁻¹ : Milligramme par Litre
PCR: Réaction de Polymérisation en Chaîne
PPI: Plant parasitic Index
Pb: Paire de base
pH: Potentiel Hydrogène
p/v : poids par volume
qCO₂: Quotient Métabolique
rpm : Rotation par minute
s : Seconde
SI: Structure Index
UPGMA: Unweighted Pair Group Method Algorithm
TBE: Tris-borate EDTA
THAM : TrisHydroxyméthylAminoMéthane
UV: Ultraviolet
v/v : volume par volume
µl: Microlitre
µM: Micromole
% : Pourcentage
°C: Degré Celsius

Liste des sigles

CIFOR : Centre International de Recherche sur les Forêts

CNRST: Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique

FAO: Fond des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture

FST : Faculté des Sciences Et Techniques

IMAGO : Instrumentations Moyens Analytiques Observatoires en Géophysique et Océanographie

IESOL :

IRD: Institut de Recherche pour Développement

ISRA: Institut Sénégalais de Recherches Agricoles

LMI: Laboratoire Mixte International

MEA: *Millennium Ecosystem Assessment*

LAMA : Laboratoires des Moyens Analytiques

UCAD : Université Cheikh Anta Diop

Liste des tableaux

- Tableau 1: Densité des peuplements de *Piliostigma reticulatum* en Afrique de l'Ouest.
- Tableau 2: Quelques propriétés caractéristiques entre les espèces de stratégies « r » et « K » (d'après Fischesser et Dupuis-Tate, 1996).
- Tableau 3: Les différentes enzymes étudiées et leur rôle dans sol.
- Tableau 4: Les indices nématologiques calculés à partir de la composition des communautés de nématodes (Bongers, 1990 ; Yeates et Bongers, 1999 ; Ferris, 2001).
- Tableau 5: Caractéristiques de la chaîne trophique du sol et de son environnement d'après l'analyse de la nématofaune du sol (Ferris et al., 2001).
- Tableau 6: Les différents substrats utilisés comme source de carbone pour la détermination des profils cataboliques par MicroResp™.
- Tableau 7: Les paramètres chimiques mesurés dans les sols (n = 4) pour les différents traitements (C= contrôle ; P = *P. reticulatum*; M= mil ; M+P = mil et *P. reticulatum* associés).
- Tableau 8: Biomasse microbienne et activités enzymatiques des sols des différents traitements (C= sol nu, P = *Piliostigma reticulatum* ; M+P= mil+piliostigma; M = mil ; 4 répétitions / traitement).
- Tableau 9: Indice de diversité de Shannon (H') et quotient métabolique (qCO₂) basés sur les profils cataboliques établis par MicroResp™ en fonction des différents traitements (C= sol nu, P = *Piliostigma reticulatum* ; M = mil ; M+P = mil+piliostigma).
- Tableau 10 : Richesse spécifique (Rs), indices de diversité de Shannon (H') et de dominance de Simpson (D) calculés à partir des données des profils DGGE caractérisant les communautés bactériennes (ADNr 16S) et fongiques (ITS) des sols des différents traitements (C= contrôle ; P = *Piliostigma reticulatum* ; M = mil ; M+P = mil+piliostigma).
- Tableau 11: Valeur indicatrice (VI) des bandes et probabilité associée obtenues par le test de MONTE CARLO pour les gels DGGE 16S et ITS.
- Tableau 12: Abondance (individus 100 g⁻¹ sol sec ; moyenne et erreur standard) des familles de nématodes et guildes fonctionnelles associées pour les sols des différents traitements (C= contrôle ; P = *P. reticulatum*; M= mil ; M+P = association mil et *P. reticulatum*; 4 échantillons par traitement).
- Tableau 13: Valeurs de probabilité associées à l'analyse PerMANOVA réalisée sur la densité des 64 taxons pour comparer la structure des communautés de nématodes du sol en fonction des différents traitements (C= contrôle ; P = *P. reticulatum*; M= mil ; M+P = association mil et *P. reticulatum*; 4 répétitions par traitement)
- Tableau 14: Principales caractéristiques de l'horizon superficiel du sol de Nioro-du-Rip.
- Tableau 15: Teneurs en azote minéral du sol (n=3) et biomasse aérienne du mil (poids sec) à l'issue de l'expérimentation (n=8).

Liste des Figures

Figure 1: Schéma conceptuel des relations entre les différentes thématiques développées dans cette étude

Figure 2: L'arbuste *Piliostigma reticulatum* au Sénégal, région de Nioro-du Rip

Figure 3: Transformation des gousses de *P. reticulatum* en farine par les femmes et les enfants à Budtenga (Burkina Faso) (d'après Dao, 2012)

Figure 6: Schéma représentant différents réseaux trophiques ainsi que les interactions directes (représentées par les flèches continues) et indirectes (représentées par les flèches discontinues) s'établissant entre les différents organismes qui composent les différents niveaux trophiques : producteurs primaires

Figure 7: Exemple d'un réseau trophique simple dans un sol (d'après De Ruiter et al., 1998).

Figure 8: Morphologie des pièces buccales des différents groupes de nématodes :

Figure 9: Morphologie de la partie antérieure d'un nématode phytoparasite (*Xiphinema sp* ; d'après Bonkowski et al., 2009).

Figure 10: Partie antérieure du nématode bactéricivore *Acrobeles spp.* dont l'ouverture de la cavité buccale est entourée de proboles (d'après Jeffrey et al., 2010).

Figure 11: Structure de la partie antérieure d'un nématode fongivore (D'après Jeffrey et al., 2010).

Figure 12: *Anatonchus tridentatus* (nématode prédateur) avalant un autre nématode (d'après Jeffery et al., 2010).

Figure 13: Structure de la partie antérieure d'un nématode omnivore (D'après Jeffrey et al., 2010).

Figure 14: Position des nématodes dans la microchaîne alimentaire du sol (d'après Ferris et Bongers, 2006).

Figure 15: Représentation schématique des régions ITS dans l'ADN ribosomique chez les champignons (d'après Mitchell et Zuccaro, 2006).

Figure 16: Principe de la DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) utilisée dans l'analyse de la structure génétique des communautés microbiennes (d'après Attard, 2008).

Figure 17: Les guildes fonctionnelles des nématodes du sol caractérisées par l'appartenance à un groupe trophique (Ba : Bactéricivores, Fu : Fongivores, Ca : Carnivores (Prédateurs), Om : Omnivores) et leur histoire de vie exprimée par une classe c-p (Colonisateur-Persistant selon Bongers et Bongers, 1998), d'après Ferris et al. (2001).

Figure 18: Situation géographique du site expérimental, localisé dans la station expérimentale de l'ISRA à Nioro-du Rip, région de Kaolack (Sénégal).

Figure 19: L'association mil – *Piliostigma reticulatum* dans le dispositif expérimental de Nioro-du-Rip (© N.H. Diallo, ISRA)

Figure 20: Principe de la technique MicroResp™ (crédit photo : www.MicroResp.com)

Figure 21: Analyse en Composantes Principales réalisée sur les données de biomasse microbienne (MB) et d'activités enzymatiques des sols des différents traitements (C= sol nu, P = *Piliostigma reticulatum* ; M = mil ; M+P = mil+ *P. reticulatum*) : A- Cercle de corrélation des variables ; B- Répartition des échantillons dans le plan factoriel.

Figure 22: Profil catabolique exprimé par le dégagement de CO₂ issu de la respiration microbienne après addition de substrats carbonés (Technique MicroResp™ ; Campbell et al., 2003) pour les sols des différents traitements (C= sol nu, P = *Piliostigma reticulatum* ; M = mil ; M+P = mil+ *Piliostigma reticulatum*) ; les barres d'erreur représentent les écart-types (n = 4).

Figure 23: Gel DGGE de la communauté bactérienne totale obtenu après extraction de l'ADNr 16S pour les sols des différents traitements (M+P = mil+piliostigma ; P = *Piliostigma reticulatum* M = mil ; C= contrôle).

Figure 24: Dendrogramme de similarité des profils DGGE (16S) de la communauté bactérienne totale selon les traitements (n=4). (C= contrôle ; P = *Piliostigma reticulatum* ; M = mil ; M+P = mil+piliostigma).

Figure 25: Ordination des échantillons dans l'espace définie par les 2 premiers axes de l'analyse NMDS de l'effet des traitements sur la structure de la communauté bactérienne du sol.

Figure 26: Gel DGGE de la communauté fongique après extraction de la région ITS de l'ADNr pour les sols des différents traitements (M+P = mil+piliostigma ; P = *P. reticulatum* M = mil ; C= contrôle).

Figure 27: Dendrogramme de similarité des profils DGGE de la communauté fongique en fonction la gestion du piliostigma (n=4).

Figure 28: Ordination des échantillons dans l'espace définie par les des 2 premiers axes de l'analyse NMDS de l'effet des traitements sur la structure de la communauté fongique du sol.

Figure 29: Dispositif de Seinhorst permettant l'extraction des nématodes du sol (©S.Diakhaté, IRD)

Figure 30: Abondance (individus 100 g⁻¹ sol sec ; moyenne et erreur standard) totale et des groupes trophiques de nématodes en fonction des différents traitements (C= contrôle ; P= *P. reticulatum*; M= mil ; M+P= mil *P. reticulatum*).

Figure 31: Indices nématofauniques des différents traitements (C= contrôle ; P = *P. reticulatum* ; M= Mil ; M+P= Mil et *P. reticulatum*).

Figure 32: Cartographie de la structure des assemblages de nématodes du sol (NMDS), réalisée à partir de la matrice de similarité (indices de Bray-Curtis) basée sur les données taxonomiques (64 taxons), en fonction des différents traitements (C= contrôle ; P = *P. reticulatum*; M= mil ; M+P = association mil et *P. reticulatum* ; 4 répétitions par traitement).

Figure 33: Projections sur le diagramme de Ferris et al. (2001) des valeurs d'indices d'enrichissement (EI) et de structure (SI) obtenus après analyse de la nématofaune pour les différents traitements (C= contrôle ; P = *P. reticulatum* ; M= mil ; M+P = mil et *P. reticulatum*).

Figure 34: Effet de l'apport des résidus de *Piliostigma reticulatum* sur l'abondance des *Helicotylenchus dihystera* dans les différents traitements (n=8). (C= sol +Nématodes ; F = Sol+Nématodes+ Poudre de feuille de *Piliostigma reticulatum* ; F+T = Sol+Nématodes+ poudre du mélange feuille+ tige de *Piliostigma reticulatum*)

Listes des annexes

Annexe 1. Systématique et description botanique de *Piliostigma reticulatum*.

Annexe 2. Quantification de l'ADN.

Annexe 3. Composition des solutions utilisées en biologie moléculaire

Annexe 4. Technique Microresp™

Annexe 5. Systématique de l'espèce *Helicotylenchus dihystera*.

Annexe 6. Valorisation des travaux de thèse.

Table des matières

| | |
|---|-----------|
| Introduction Générale | 1 |
| Chapitre I : Synthèse Bibliographique | 4 |
| I. L'arbuste <i>Piliostigma reticulatum</i> | 4 |
| I.1. Généralités | 4 |
| I.2. Distribution et usages traditionnels..... | 5 |
| II. Le biofonctionnement du sol | 8 |
| II.1. Les réseaux trophiques du sol..... | 8 |
| II.2. Les communautés microbiennes et la nématofaune du sol..... | 11 |
| II.2.1. Bactéries et champignons | 11 |
| II.2.2. Les nématodes | 12 |
| II.2.2.1. Généralités | 12 |
| II.2.2.2. Les différents groupes trophiques..... | 13 |
| II.2.2.3. Les nématodes, indicateurs du fonctionnement du sol | 18 |
| III. Stratégie méthodologique..... | 21 |
| III.1. Etude des communautés microbiennes..... | 21 |
| III.1.1. Biomasse microbienne | 21 |
| III.1.2. Activités des microorganismes..... | 22 |
| III.1.3. Diversité et structure des communautés microbiennes..... | 23 |
| III.1.3.1. Diversité fonctionnelle | 23 |
| III.1.3.2. Diversité génétique..... | 24 |
| III.2. Diversité et structure des communautés de nématodes..... | 27 |
| III.2.1. Les indices nématologiques..... | 27 |
| III.2.2. Le diagramme de Ferris..... | 29 |
| III.3. Analyse des données | 30 |
| III.3.1. Analyses des données de diversité | 30 |
| III.3.2. Approche statistique | 31 |
| III. 3.2.1. Comparaison des données quantitatives..... | 31 |
| III. 3.2.2. Analyse des assemblages des communautés | 32 |
| Chapitre II : Effet de l'arbuste <i>Piliostigma reticulatum</i> sur les communautés microbiennes d'un sol cultivé en mil (Sénégal) | 34 |
| I. Introduction..... | 34 |
| II. Matériel & Méthodes..... | 35 |
| II.2. Matériel..... | 35 |
| II.2.1. Site d'étude | 35 |

| | |
|---|-----------|
| II.2.2. Echantillonnage dans le dispositif expérimental | 36 |
| II.3. Méthodes | 37 |
| II.3.1. Caractérisation physico-chimique des sols | 37 |
| II.3.2. Biomasse microbienne..... | 38 |
| II.3.3. Activités enzymatiques..... | 38 |
| II.3.3.1. Principe de la mesure..... | 38 |
| II.3.3.2. Activité β Glucosidase..... | 38 |
| II.3.3.3. Activité Uréasique | 39 |
| II.3.3.4. Activité Phosphatase acide | 39 |
| II.3.3.5. Activité Arylsulfatase | 39 |
| II.3.3.6. Activité de la déshydrogénase | 40 |
| II.3.3.7. Hydrolyse du diacétate de fluoroscéine | 40 |
| II.3.4. Diversité métabolique..... | 40 |
| II. 3.5. Etude de la structure génétique des communautés microbiennes..... | 42 |
| II. 3.5.1. Extraction de l'ADN génomique et purification..... | 42 |
| II. 3.5.2. Amplification de la région V3 de l'ADN 16S ribosomique | 43 |
| II. 3.5.3. Amplification de la région ITS | 43 |
| II. 3.5.4. Electrophorèse sur gel en gradient de dénaturation (DGGE) | 44 |
| II.3.6. Analyses statistiques..... | 44 |
| III. Résultats | 45 |
| III.1. Propriétés chimiques des sols..... | 45 |
| III.2. Biomasse microbienne | 45 |
| III.3. Les activités enzymatiques..... | 46 |
| II.4.3. Profil catabolique des communautés microbiennes..... | 48 |
| III.4. Structure et diversité génétique des communautés microbiennes | 50 |
| III.4.1 Communauté bactérienne totale | 50 |
| III.4.2. Structure et diversité génétique de la communauté fongique..... | 54 |
| IV. Discussion | 56 |
| IV.1. Effets de l'arbuste sur les activités enzymatiques du sol | 56 |
| IV.2. Effet de l'arbuste sur la diversité fonctionnelle du sol..... | 57 |
| IV.3. Effets de l'arbuste sur la structure des communautés microbiennes..... | 59 |
| V. Conclusion..... | 60 |
| Chapitre III : Effet de <i>Piliostigma reticulatum</i> sur la nématofaune d'un sol cultivé en mil..... | 61 |
| I. Introduction..... | 61 |
| II. Matériel & Méthodes..... | 62 |

| | |
|---|-----------|
| II.1. Echantillonnage des sols..... | 62 |
| II.2. Analyse de la nématofaune..... | 62 |
| II.2.1. Extraction des nématodes | 62 |
| II.2.2. Dénombrement et Fixation des nématodes..... | 63 |
| II.2.3. Identification des nématodes | 64 |
| II.2.4. Analyse des réseaux trophiques du sol | 64 |
| II.2.5. Analyses statistiques..... | 65 |
| III. Résultats | 65 |
| III.1. Composition de la nématofaune | 65 |
| III.2. Abondance et distribution des groupes trophiques..... | 67 |
| III.3. Structure de la nématofaune et réseau trophique du sol. | 68 |
| IV. Discussion | 71 |
| IV. Conclusion | 74 |
| Chapitre IV : Effet nématocide de <i>Piliostigma reticulatum</i> sur l'abondance d'un nématode phytoparasite (<i>Helicotylenchus dihystera</i>)..... | 75 |
| I. Introduction..... | 75 |
| II. Matériel & Méthodes..... | 76 |
| II.1. Elevage des nématodes <i>H. dihystera</i> | 76 |
| II.2. Test préliminaire in-vitro du potentiel nématocide de <i>Piliostigma reticulatum</i> sur les nématodes de l'espèce <i>Helicotylenchus dihystera</i> | 77 |
| II.3. Effets des résidus de <i>Piliostigma reticulatum</i> sur <i>Helicotylenchus dihystera</i> | 77 |
| III. Résultats | 78 |
| III.1. Test préliminaire du potentiel nématocide de <i>P. reticulatum</i> | 78 |
| III.2. Effet de l'apport des résidus sur les teneurs en azote minéral et la biomasse du mil..... | 79 |
| III.3. Effets nématocide de <i>Piliostigma</i> sur l'abondance des <i>Helicotylenchus dihystera</i> | 79 |
| IV. Discussion | 80 |
| Discussion générale | 82 |
| Références Bibliographiques..... | 87 |

Introduction générale

Introduction Générale

Un défi scientifique majeur de l'Agriculture moderne est de concevoir des systèmes de culture à bas niveaux d'intrants à la fois productifs, durables et respectueux de l'environnement. Cet enjeu est également prégnant dans la zone soudano-sahélienne qui doit composer avec des sols souvent dégradés et un besoin de production vivrière qui s'accroît face à la pression démographique (Winterbottom et al., 2013). Dans cette approche basée sur l'intensification écologique, il devient nécessaire de redonner une place centrale aux processus écologiques fondés sur les fonctions réalisées par les organismes du sol. La conception de pratiques agronomiques capables de promouvoir les processus écologiques nécessite cependant une amélioration des connaissances actuelles du fonctionnement biologique du sol, en particulier du rôle des organismes, des interactions trophiques ou non trophiques et de la biodiversité du sol (Tittonell et al., 2012 ; Masse et al., 2013).

Le fonctionnement biologique des sols englobe l'ensemble des fonctions assurées par les organismes vivants du sol en interaction avec les composantes physiques, chimiques et biologiques du milieu. Les microorganismes (bactéries et champignons) et la microfaune (nématodes) jouent un rôle clé dans la dynamique de la matière organique (minéralisation vs stockage) et le recyclage des nutriments (indispensable à la croissance des plantes). Par ailleurs, les nématodes constituent de bons indicateurs du fonctionnement du sol, du fait de leur abondance, de leur diversité trophique et des différentes positions qu'ils occupent le long de la chaîne alimentaire du sol. Les interactions biologiques déterminent la biodisponibilité des nutriments pour les plantes et indirectement la production primaire, et plus largement les services écosystémiques rendus par les sols. Ainsi, il serait possible d'augmenter les productions agricoles en quantité et qualité en optimisant les interactions biologiques au sein des agrosystèmes, en s'appuyant sur une biodiversité plus élevée, comme c'est souvent le cas dans les écosystèmes naturels (Malézieux, 2012), et en intégrant les savoirs locaux et les pratiques traditionnelles (Doré et al., 2011).

Comme bien d'autres milieux arides ou semi-arides, la région soudano-sahélienne d'Afrique de l'Ouest est caractérisée par la présence localisée d'espèces arbustives, formant des micro-environnements considérés comme des îlots de fertilité (Wezel et al., 2000). *Piliostigma reticulatum* (D.C.) Hochst (Caesalpinioideae) et *Guiera senegalensis* J.F. Gmel (Combretaceae) sont des espèces natives, parfois observées dans les champs des paysans. Depuis une dizaine d'années, à la faveur de collaborations entre l'Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (ISRA), l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD) et des Universités Américaines, des essais expérimentaux ont été mis en place pour associer ces arbustes à des cultures vivrières et tester leur effet sur la productivité de l'agrosystème. Dans ces systèmes dérivés de l'agroforesterie, la présence et la gestion des arbustes impactent positivement la dynamique de l'eau et des nutriments, et permet une amélioration notable du rendement de la céréale associée (Kizito et al., 2006 ; Dossa et al., 2009, 2010, 2013).

Par ailleurs, l'arbuste *Piliostigma reticulatum* présente un intérêt dans la régulation des insectes floricoles du mil (Abasse et al., 2013). Les travaux menés au Sénégal mettent en valeur des différences dans les communautés de la macrofaune du sol et des microorganismes sous et en dehors de la canopée de l'arbuste (Diedhiou et al., 2009, 2013). Cependant, aucune étude n'a pris en compte les interactions biologiques du sol dans un système sol-plante associant une céréale et un arbuste local.

Le travail de recherche rapporté dans ce mémoire de thèse vise à déterminer l'impact de la présence des espèces arbustives locales sur le fonctionnement biologique d'un sol cultivé, en utilisant comme plantes modèles l'arbuste *Piliostigma reticulatum* et la céréale *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. (mil) (Figure 1).

Le premier objectif est d'appréhender les effets de l'association culturale sur les communautés de microorganismes (objectif 1).

Le second objectif est d'utiliser les données issues de l'étude de la diversité et de l'abondance des communautés de nématodes du sol comme bioindicateurs du fonctionnement biologique (objectif 2).

Un autre objectif est d'étudier spécifiquement l'effet de l'apport des résidus de *Piliostigma reticulatum* sur l'abondance d'un nématode phytoparasite, *Helicotylenchus dihystra* (objectif 3).

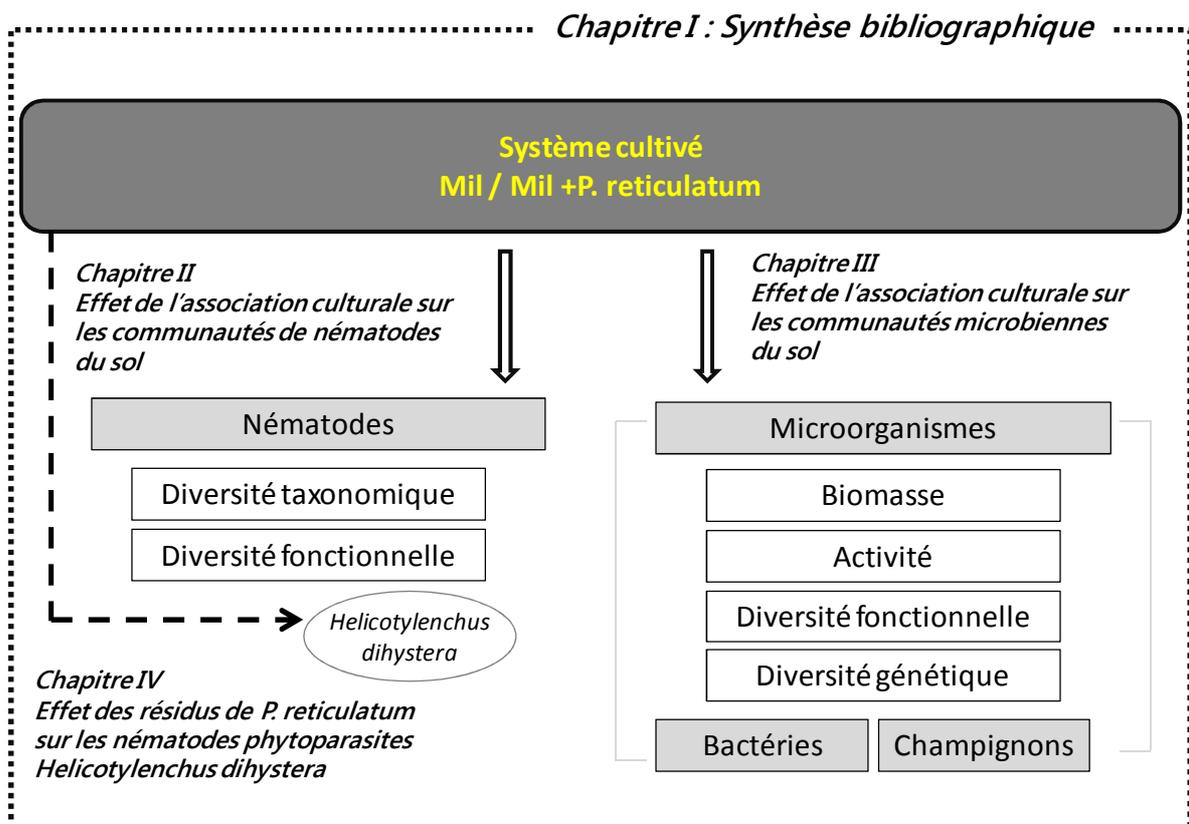


Figure 1 : Schéma conceptuel des relations entre les différentes thématiques développées dans cette étude.

Ainsi, ce manuscrit est divisé en 4 parties (Figure 1).

Le premier chapitre fait l'objet d'une recherche bibliographique sur l'importance de l'arbuste *Piliostigma reticulatum* en zone soudano-sahélienne et sur les organismes microscopiques du sol, leurs interactions au sein des réseaux trophiques, et leurs rôles dans le fonctionnement du sol. Ce chapitre détaille également la stratégie méthodologique utilisée pour caractériser les microorganismes et les nématodes.

Le deuxième chapitre s'attache à déterminer l'effet de l'association céréale-arbuste sur l'abondance, l'activité, et la diversité génétique et fonctionnelle des communautés microbiennes du sol. L'abondance est appréhendée au travers de la mesure de la biomasse microbienne. Six activités enzymatiques différentes ont été mesurées pour caractériser l'intensité du fonctionnement microbien. La capacité des microorganismes à dégrader certains substrats (méthode MicroRespTM) renseigne sur les changements dans la diversité fonctionnelle du sol cultivé dus à la présence de l'arbuste. Sur le plan moléculaire, la diversité génétique de la communauté bactérienne totale et de la communauté fongique a été étudiée en ciblant respectivement les régions V3 du gène 16S rDNA et de l'ITS (*Internal Transcribed Spacer*).

Le troisième chapitre est consacré à l'étude des assemblages des communautés de nématodes dans les réseaux trophiques du sol de la culture de mil en association ou non avec *P. reticulatum*. Le calcul d'indices nématologiques nous permettra de comprendre l'impact de l'association céréale-arbuste sur la qualité des réseaux trophiques, et plus généralement le fonctionnement biologique du sol.

Le quatrième chapitre de cette étude s'intéresse à l'effet potentiellement nématocide des résidus de *P. reticulatum* sur les nématodes phytoparasites, en utilisant comme organisme modèle l'espèce *Helicotylenchus dihystera*.

Ce document s'achève par une discussion générale sur les apports de cette thèse dans la recherche scientifique sur l'effet des arbustes locaux sur le fonctionnement biologique d'un sol cultivé dans une région soudano-sahélienne, et plus généralement sur le développement de pratiques agroforestières s'appuyant sur les processus écologiques du sol.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

I. L'arbuste *Piliostigma reticulatum*

I.1. Généralités

Piliostigma reticulatum (D.C.) Hochst est un arbuste persistant de la famille des Caesalpiniaceae (Légumineuses) naturellement présent dans les régions soudano-sahélienne et soudanienne, depuis la Mauritanie et le Sénégal à l'Ouest jusqu'au Soudan à l'Est. L'espèce, d'abord décrite sous le nom de *Bauhinia reticulata* (D.C.) en 1825, est également connue sous d'autres noms scientifiques : *Bauhinia glabra* (A. Chev.), *Bauhinia glauca* (A. Chev.). Son nom vernaculaire est « pied de chameau » en Français, « Nguiguis » en Wolof, « Barkéi » en Peul, « Ngayo » en Sérère, ou encore « Téné » en Bambara. *Piliostigma reticulatum* (dont la systématique et la description botanique sont données en annexe 1) se présente généralement comme un arbuste pouvant atteindre plusieurs mètres d'envergure, souvent buissonnant par rejet de ses souches (Figure 2) (Yelemou et al., 2007 ; Arbonnier, 2009). Le port arboré (jusqu'à 8 à 9 m de haut) est plus rare, notamment au Sénégal.



Figure 2 : L'arbuste *Piliostigma reticulatum* au Sénégal, région de Kaolack, Nioro (Crédits photo : S. Diakhaté).

I.2. Distribution et usages traditionnels

Piliostigma reticulatum se rencontre sur de nombreux types de sols, sableux, argileux ou latéritiques. Cette espèce est présente aux latitudes où la pluviométrie varie entre 400 et 1 000 mm par an (Vodouhe et al., 2010) ; elle est toutefois plus abondante dans les bas-fonds, les plaines et le long de certaines routes ou pistes. Au Burkina Faso, elle est présente dans les jachères et dans les parcs agroforestiers principalement dans les milieux humides (Arbonnier, 2009). Au Sénégal, l'espèce est caractéristique de la zone du bassin arachidier (climat soudano-sahélien ; Tableau 1), mais sa densité ne dépasse que rarement les 250 arbustes à l'hectare (Lufafa et al., 2009). La distribution spatiale et la densité varient en fonction de l'environnement (Yelemou et al., 2012) mais aussi selon les multiples usages qui sont faits de cette plante par les populations locales.

Tableau 1: Densité des peuplements de *Piliostigma reticulatum* en Afrique de l'Ouest.

| Climat | Sites d'étude (Pays) | Pluviométrie moyenne (mm an ⁻¹) | Densité d'arbustes (pieds ha ⁻¹) | Référence |
|------------------|-------------------------|---|--|----------------------|
| Soudano-Sahélien | Sénégal | 500-700 | 250 | Lufafa et al., 2009 |
| | Burkina-Faso | 600-700 | 607 | Yelemou et al., 2007 |
| Nord soudanien | Burkina-Faso | 600-900 | 269 | Yelemou et al., 2007 |
| Sud soudanien | Burkina-Faso | > 900 | 129 | Yelemou et al., 2007 |

Presque toutes les parties de cet arbuste sont utilisées, et ce, dans plusieurs domaines : alimentation, pharmacopée, construction, agriculture, etc. (Yelemou et al., 2007). Espèce polygame et dioïque, *Piliostigma reticulatum* produit des gousses que les populations collectent puis transforment en farine avant leur commercialisation sur les marchés locaux pour l'alimentation humaine (préparation du tô) ou animale, notamment en période de soudure (Dao, 2012 ; Figure 3). Un sac de 100 kg de gousses de *P. reticulatum* coûterait en moyenne 3750 francs CFA dans la région de Budtenga au Burkina Faso (CIFOR -CNRST, 2006) fournissant un revenu non négligeable pour les populations locales.

En pharmacopée, les feuilles, l'écorce et les rameaux sont utilisés pour soigner plusieurs pathologies (Yelemou et al., 2007 ; Babajide et al., 2008 ; Arbonnier, 2009). Des analyses phytochimiques réalisées sur des extraits de feuilles de *Piliostigma reticulatum* ont montré la présence de substances antimicrobiennes agissant contre des bactéries telles que *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, mais aussi des champignons tels que *Aspergillus niger* ou *Candida albicans* (Babajide et al., 2008).



Figure 3 : Transformation des gousses de *P. reticulatum* en farine par les femmes et les enfants à Budtenga (Burkina Faso) (d'après Dao, 2012).

Par ailleurs, la floraison de *P. reticulatum* dégage des essences qui semblent avoir un effet répulsif sur les insectes floricoles (Abasse et al., 2013). Si les feuilles de *Piliostigma reticulatum* présentent une faible qualité de fourrage (Yelemou et al., 2007), elles contiennent également des tanins qui limitent la digestibilité, réduisent la disponibilité des protéines, ce qui affecte la productivité animale. Ainsi les feuilles ne sont pas appréciées et *Piliostigma reticulatum* subit une faible pression des animaux en zone de pâturages. Pendant la saison sèche, l'espèce produit des rejets qui atteignent une hauteur de 50 à 75 cm et dont le diamètre de houppier varie de 100 à 150 cm (Von Maydell, 1992). Au Sénégal, cet arbuste est traditionnellement éliminé au moment de la période de défriche pour augmenter les superficies agricoles (Diack et al., 2000) et les résidus sont alors brûlés par les paysans. Cette pratique peut expliquer le nombre de pieds largement inférieur dans le bassin arachidier Sénégalais par rapport au Burkina Faso où l'arbuste est maintenu dans les exploitations agricoles (Tableau 1).

Une étude sur la perception de *P. reticulatum* par les paysans a été réalisée sur le plateau central du Burkina Faso et révèle que 98% des personnes interrogées notent que la croissance végétative des céréales est meilleure et plus rapide lorsqu'un paillage de la culture est réalisé avec des feuilles de *P. reticulatum* (Yelemou et al., 2007). Ainsi cette quantité importante de biomasse constitue une source de matière organique utilisée comme mulch dans les exploitations agricoles (Lufafa et al., 2008). Par ailleurs, les pratiques agroforestières intégrant la gestion des arbustes locaux dans les systèmes de cultures annuelles (céréales) sont traditionnellement utilisées dans certaines régions du Burkina Faso et du Niger (Lahmar et al.

2012 ; Figure 4). Cette piste intéressante pour améliorer la productivité et la durabilité des agrosystèmes de la région soudano-sahélienne a également été expérimentée dans le bassin arachidier Sénégalais (Kizito et al., 2006 ; Dossa et al., 2013).

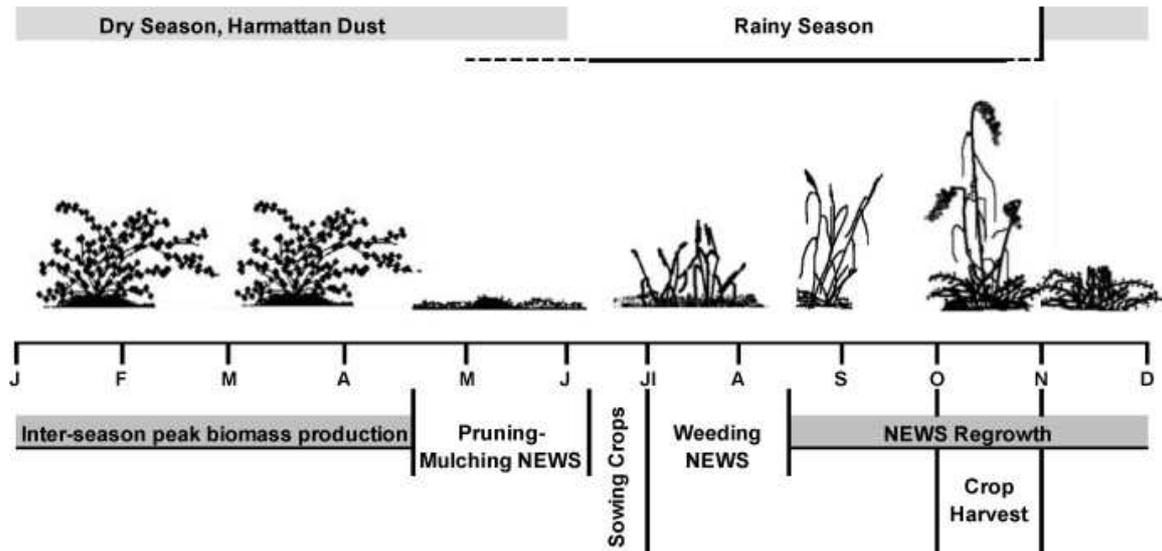


Figure 4: Modèle de gestion de *Piliostigma reticulatum* dans les agroécosystèmes, observé au Burkina Faso et au Niger (d'après Lahmar et al., 2012).

La biomasse aérienne est coupée afin de permettre l'installation de la culture au début de l'hivernage (Figure 4). La touffe arbustive rejette quelques temps après et une deuxième coupe est parfois effectuée permettant un bon développement de la culture associée.

Les travaux menés au Sénégal ont montré que le mil cultivé avec *Piliostigma reticulatum* présentait un index de surface foliaire plus élevé et un meilleur rendement que le mil cultivé sans l'arbuste (Kizito et al., 2006 ; Dossa et al., 2013). La présence d'arbustes en milieu aride constitue des « îlots de fertilité », sous et à proximité des touffes de végétation (Wezel et al., 2000 ; Housman et al., 2007). Ces zones sont ainsi caractérisées par une meilleure disponibilité en eau et une activité biologique plus intense participant à une décomposition de la matière organique, à une fourniture d'azote et autres nutriments (Berg et Steinberger, 2008, 2010 ; Kizito et al., 2006).

L'établissement de ces espèces en milieu naturel conduit à une distribution spatiale très hétérogène des ressources qui deviennent plus disponibles dans les sols sous couvert de l'arbuste que hors couvert (Housman et al., 2007). Les travaux menés au Sénégal ont permis de démontrer les effets bénéfiques des arbustes locaux sur la dynamique de l'eau (Kizito et al., 2006). L'arbuste permet le transfert d'eau des couches profondes vers les couches superficielles du sol ; ce phénomène qualifié d'« ascenseur hydrique » permet le maintien d'une certaine humidité en surface qui est profitable à la culture associée (Kizito et al., 2006). Par ailleurs, Prieto et al. (2012) ont montré que cette redistribution de l'eau agit de manière sélective sur le placement des racines dans les microzones du sol riches en nutriments. Le retour de résidus de coupe au sol (plutôt qu'un brûlis, plus traditionnel au Sénégal) contribue également au maintien d'une certaine humidité en surface tout en fournissant un apport organique pour soutenir la fertilité du sol (Dossa et al., 2009). Dans les agrosystèmes où il est maintenu, avec une gestion de ces rejets sous forme de mulch, et est associé à une culture

annuelle, l'arbuste est considéré comme un « facilitateur » dans l'acquisition des nutriments par la culture associée (Lahmar et al., 2012). Les conditions particulières d'humidité, combinée à l'exudation racinaire et à l'apport de nutriments par décomposition de la matière organique apportée, contribuent au maintien sous et à proximité des touffes arbustives d'organismes qui ne peuvent se développer dans le sol en dehors du couvert végétal, notamment en saison sèche (Diedhiou et al., 2013). Ainsi la présence d'arbustes natifs dans les agroécosystèmes arides constitue un facteur important dans le fonctionnement biologique du sol (Diedhiou et al., 2013 ; Shange et al., 2012).

II. Le biofonctionnement du sol

II.1. Les réseaux trophiques du sol

Trop souvent considéré comme un environnement minéral, le sol est pourtant un lieu de vie qui héberge de nombreux organismes de taille variée (Figure 5 ; Swift et al., 1979). Ces divers organismes interagissent entre eux et avec leur environnement pour contribuer au fonctionnement du sol et participer ainsi à la fourniture de services écosystémiques nécessaires à notre survie (production végétale, épuration des polluants, etc.) (MEA, 2005 ; Lavelle et al., 2006 ; Gessner et al., 2010; Nielsen et al., 2011).

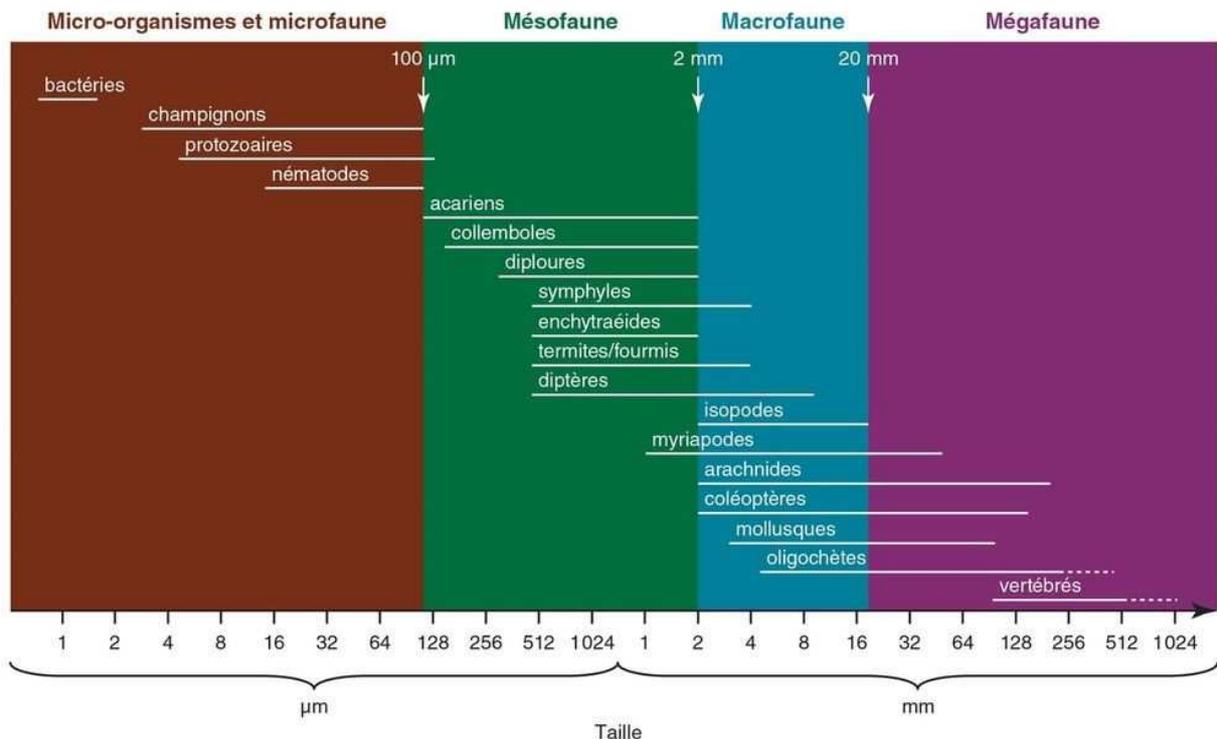


Figure 5 : Classification des principaux groupes d'organismes du sol en fonction de leur taille (Source : Decaëns, 2008, d'après Swift et al., 1979).

Le sol constitue donc un réacteur biologique très actif, siège de réactions biochimiques très diverses et de processus écologiques essentiels (notamment la décomposition de la matière organique, les cycles biogéochimiques des éléments, etc.). Ce n'est que dans les dernières décennies que des études détaillées ont été entreprises concernant le fonctionnement biologique du sol, ce qui a conduit à une meilleure compréhension des interactions entre les communautés biologiques qui y vivent et leur environnement. Les interactions biologiques peuvent être décrites par l'étude des réseaux trophiques en tenant compte de l'organisation hiérarchique des systèmes biologiques. Selon leur principale source de nourriture, les espèces présentes dans un écosystème se répartissent en niveaux trophiques et dépendent par conséquent de celui des producteurs primaires ou organismes autotrophes (Figure 6). L'ensemble de ces organismes s'organise donc en un réseau représentant les différents liens trophiques qui les unissent et mettant en évidence plusieurs types d'interactions (Figure 6). La plupart des producteurs primaires sont des organismes photosynthétiques qui, à l'aide de l'énergie lumineuse, synthétisent des glucides et d'autres composés organiques qui serviront de combustible à leur respiration cellulaire et de matériaux à leur croissance. Tous les autres organismes d'un écosystème sont des consommateurs, ou hétérotrophes, qui se nourrissent directement ou indirectement de produits issus des producteurs primaires. Un réseau trophique décrit ainsi les différentes interactions au sein du sol selon différents niveaux trophiques (Figure 7).

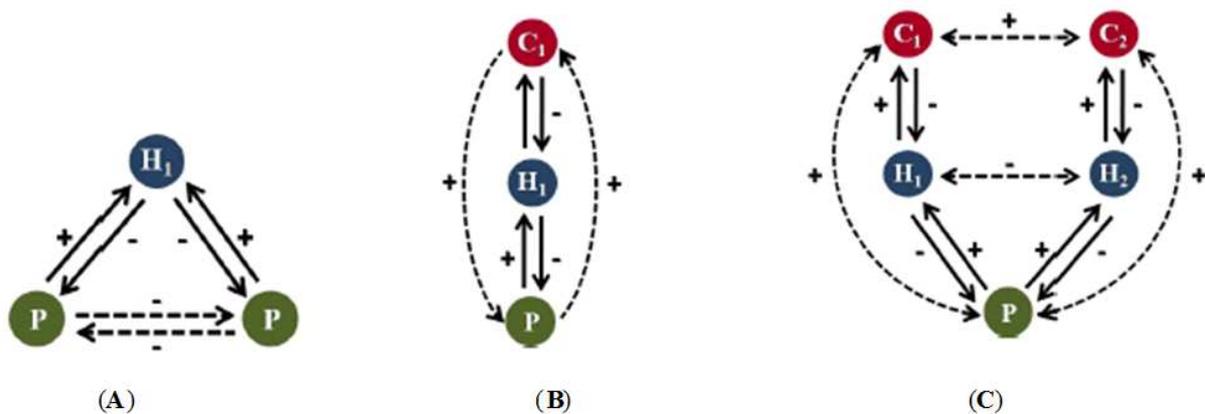


Figure 6 : Schéma représentant différents réseaux trophiques ainsi que les interactions directes (représentées par les flèches continues) et indirectes (représentées par les flèches discontinues) s'établissant entre les différents organismes qui composent les différents niveaux trophiques : producteurs primaires (P), consommateurs primaires (H) et consommateurs secondaires (C). (d'après Dumont, 2008).

A : Interactions dans un réseau trophique comprenant deux producteurs et un consommateur ; *B* : Interactions dans un réseau trophique comprenant un producteur primaire, un consommateur primaire et un consommateur secondaire ; *C* : Interactions dans un réseau trophique comprenant un producteur primaire et plusieurs consommateurs primaires et secondaires.

Les différents niveaux sont :

- Les consommateurs primaires qui se nourrissent des producteurs primaires et/ou des produits de leur métabolisme ;
- Les consommateurs secondaires qui se nourrissent des consommateurs primaires et/ou des produits de leur métabolisme.

Il est communément admis que la structure des réseaux trophiques du sol a un impact direct sur son fonctionnement (e.g., Doran et Zeiss, 2000 ; Bardgett et Wardle, 2010). Les organismes du sol contribuent aux processus fonctionnels au travers de mécanismes directs et indirects. Les mécanismes directs sont la conséquence du métabolisme des premiers niveaux du réseau trophique. Les mécanismes indirects comprennent de nombreux processus rétroactifs, essentiellement sous l'action de la macrofaune du sol (Lavelle et al., 2006). Les modèles de flux d'énergie, de carbone et de nutriments sont dominés par les liens trophiques entre les consommateurs primaires et secondaires : principalement (pour leurs effets directs), les bactéries, les champignons et les nématodes (De Ruiter et al., 1998 ; Ferris et al., 2012).

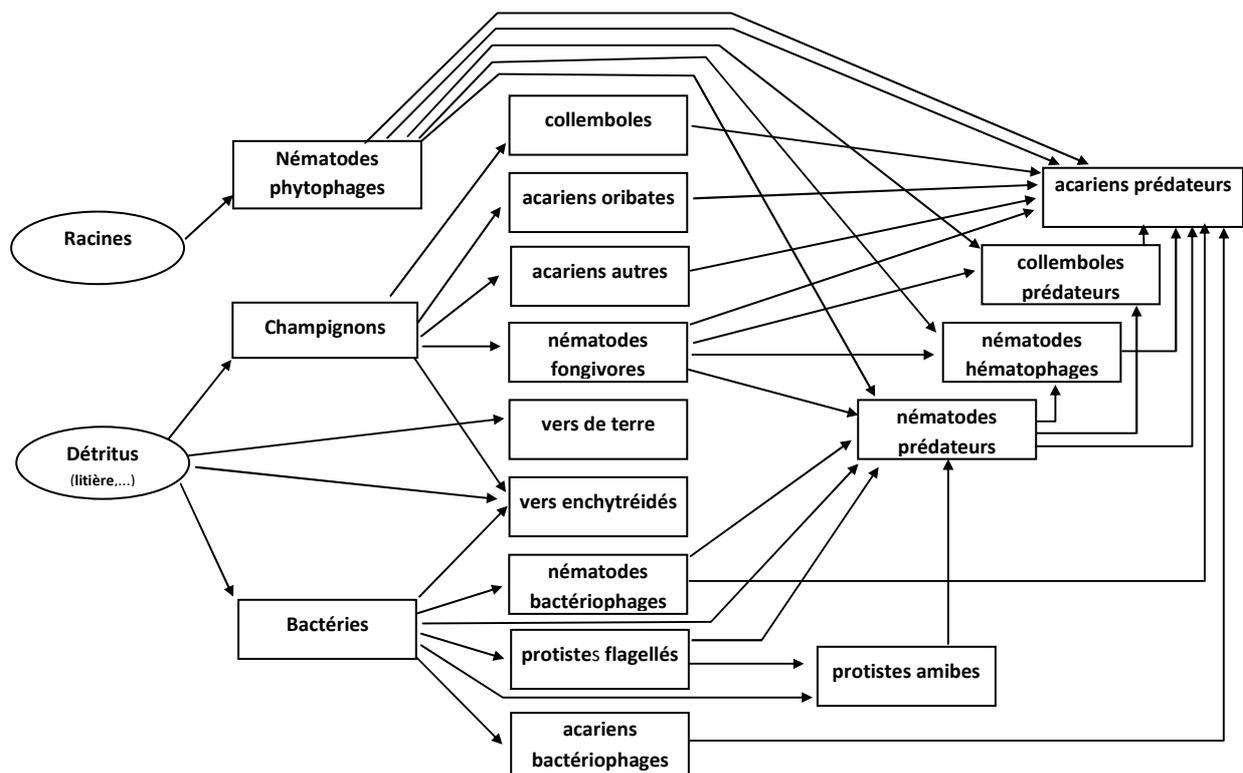


Figure 7 : Exemple d'un réseau trophique dans un sol (d'après De Ruiter et al., 1998).

Ainsi, notre analyse se focalisera sur ces organismes microscopiques constituant la microchaîne alimentaire du sol. Bien que les relations trophiques soient maintenues par les flux de carbone et d'énergie, la quantité d'énergie disponible à un niveau trophique ne se rend jamais pleinement au niveau suivant. Cette perte d'énergie le long de la chaîne alimentaire limite radicalement la biomasse totale des communautés secondaires et supérieures qui peuvent

vivre dans un écosystème, c'est pourquoi les réseaux trophiques comprennent rarement plus de 4 à 5 niveaux trophiques. Ainsi, les populations de prédateurs telles que les nématodes omnivores et carnivores qui occupent les niveaux supérieurs, sont généralement très vulnérables aux perturbations (DuPont et al., 2009). La structure d'un réseau trophique est également déterminée par les traits de vie des espèces (e.g., taille du corps pour la relation proies-prédateurs).

Les réseaux trophiques sont contrôlés de deux façons (Lévêque, 2001) : (i) contrôle ascendant (« bottom-up ») exercé par la quantité, la qualité et la disponibilité des ressources, régulés par les caractéristiques physico-chimiques du milieu, depuis les producteurs jusqu'aux prédateurs ; (ii) contrôle descendant (« top-down »), exercé en sens opposé, par la prédation pratiquée par les niveaux supérieurs sur les niveaux trophiques inférieurs. Ces deux types de régulations proposées par De Ruiter et al. (1998) contrôlent les flux et la taille des réseaux trophiques mais également sa structure. Une altération concomitante de la diversité verticale (i.e., nombre de niveaux trophiques) et horizontale (i.e., diversité au sein d'un niveau trophique) peut engendrer des modifications de la nature et de l'intensité des interactions entre les différents organismes (prédation, mais aussi compétition, facilitation...) et ainsi avoir des conséquences importantes sur les processus et le fonctionnement du sol. En s'appuyant sur l'analyse des communautés de nématodes du sol, Ferris et al. (2001) ont défini 3 types de réseaux trophiques : basal, structuré et enrichi. Un réseau trophique dit « basal » est simple, du fait de la quantité limitée des ressources caractérisant des conditions environnementales défavorables ou perturbées. Les nématodes sont alors adaptés à des conditions de stress et peuvent être qualifiés comme des généralistes opportunistes (Bongers, 1999). La notion d'enrichissement qualifie une chaîne alimentaire où les ressources sont rendues disponibles par la dynamique de la matière organique, ou suite à un changement favorable dans les conditions du milieu, tel que l'apport d'éléments fertilisants. La composante liée à la structure décrit une chaîne alimentaire dans laquelle les ressources sont plus abondantes du fait des interactions trophiques complexes entre les différents organismes qui constituent le réseau trophique du sol (Moore et De Ruiter, 2012). Les réseaux dits « structurés » se rencontrent le plus souvent dans des sols n'ayant pas subi de perturbation physique, et sont caractérisés par des interactions très complexes entre les organismes appartenant à différents niveaux trophiques de la chaîne.

II.2. Les communautés microbiennes et la nématofaune du sol

II.2.1. Bactéries et champignons

Essentiellement composés de bactéries et de champignons, les communautés microbiennes du sol assurent des fonctions essentielles comme la biodégradation de la matière organique, la production de nutriments pour les plantes, la fixation d'azote, la dégradation des polluants, etc. (Stark et al., 2008). L'oxydation du carbone organique représente la source d'énergie pour ces microorganismes hétérotrophes. Les cycles biogéochimiques comme le cycle du carbone de l'azote ou du phosphore sont sous la dépendance (à plus de 90 %) de ces microorganismes.

Les bactéries du sol représentent le groupe le plus abondant et le plus diversifié parmi les microorganismes du sol (Gans et al., 2005). Elles jouent un rôle essentiel dans la décomposition de la matière organique et le recyclage des éléments nutritifs du sol (Ruess et Ferris, 2004).

Les champignons sont plus spécialisés que les bactéries pour dégrader les composés non solubles de la matière végétale en décomposition dans la mesure où leurs hyphes peuvent pénétrer et proliférer dans les cellules végétales (Allen, 2007). Ils peuvent dégrader les éléments récalcitrants de la matière organique tel que les lignines, celluloses et hémicelluloses et peuvent explorer au travers de leurs réseaux d'hyphes de nouveaux substrats lorsque les teneurs en éléments nutritifs deviennent localement trop faibles (Ritz et Yang 2004 ; Swift, 2005). Les champignons transportent ainsi des quantités importantes d'eau et de substances (Allen, 2007 ; Smith et Smith, 2011). Malgré le rôle important que jouent les communautés microbiennes dans le sol, leur composition, leur organisation et leur distribution spatiale dans le sol ne sont pas bien étudiées (Bartram et al., 2011) alors qu'elles sont particulièrement sensibles aux dépôts de matière organique issus des résidus végétaux et de la rhizodéposition (Wardle et al., 2004). Les plantes peuvent attirer des groupes de microorganismes spécifiques via l'exsudation de composés dans la rhizosphère, leur offrant ainsi une source de carbone pour leur croissance. Les microorganismes en retour contribuent à la fourniture des éléments nutritifs indispensables pour la plante tels que l'azote et le phosphore, et parfois même une protection contre les attaques de pathogènes et parasites (Singh et al., 2004 ; Bonkowski et al., 2009). La présence de plantes conduit à une augmentation significative de l'humidité du sol, de la biomasse et de la respiration microbienne (Singh et al., 2009). Ainsi, une étude préliminaire a montré que l'environnement à proximité de *Piliostigma reticulatum* est propice au maintien des communautés microbiennes comparé au sol hors du couvert végétal de l'arbuste (Diedhiou, 2007).

II.2.2. Les nématodes

II.2.2.1. Généralités

Le mot nématode est dérivé du Grec ancien et signifie « qui a la forme d'un fil ». Les nématodes sont très peu connus au regard d'autres organismes de la biosphère. Ils suscitent pourtant beaucoup de curiosité de par leur caractère ubiquiste et leur rôle important dans le fonctionnement de divers écosystèmes. Considérés comme des organismes aquatiques, ils vivent en milieu terrestre dans les films d'eau qui entourent les particules de sol. Les nématodes sont les métazoaires les plus abondants dans le sol ; leur densité en sol cultivé atteint 1 à 10 millions d'individus par mètre carré (Jeffery et al., 2010). Actuellement 30 000 espèces de nématodes sont connues mais ce chiffre ne représente qu'environ 5% du nombre global estimé d'espèces de nématodes (Jeffery et al., 2010). Ce sont des organismes hétérothermes et, par conséquent, toutes les fonctions métaboliques (liées à leur développement et à leur stratégie de survie) sont dépendantes des conditions du milieu. Ils sont considérés comme de bons indicateurs des modifications environnementales du fait de la perméabilité de leur cuticule qui leur permet de répondre rapidement aux changements des

conditions naturelles. Ils sont cependant présents dans les sols de tous les écosystèmes même en conditions extrêmes (manque de nourriture, dessèchement du milieu) où ils résisteront pendant plusieurs années sous la forme de kystes, dans l'attente de conditions plus propices à leur développement (Neher, 2010).

Les nématodes vivant dans les sols ont une taille comprise entre 0,5 à 5 mm de long (Jeffery et al., 2010). Bien qu'ils soient surtout connus comme des organismes parasites des plantes cultivées, et donc néfastes aux rendements des cultures vivrières (e.g., Djigal et al., 2012), la plupart des nématodes vivant dans les sols sont « libres », c'est-à-dire non parasites, et ont un rôle important dans le biofonctionnement du sol. Ils peuvent être classés d'un point de vue fonctionnel en lien avec leur comportement alimentaire (Yeates et al., 1993), et l'analyse de la nématofaune du sol constitue un outil important pour évaluer l'effet des pratiques culturales sur les réseaux trophiques du sol (Zhao et Neher, 2013).

II.2.2.2. Les différents groupes trophiques

Les connaissances sur les habitudes alimentaires des nématodes ont été synthétisées par Yeates *et al.* (1993). Chaque groupe trophique est caractérisé par des pièces buccales spécifiques et renseigne ainsi de son rôle dans le réseau trophique du sol (Figure 8).

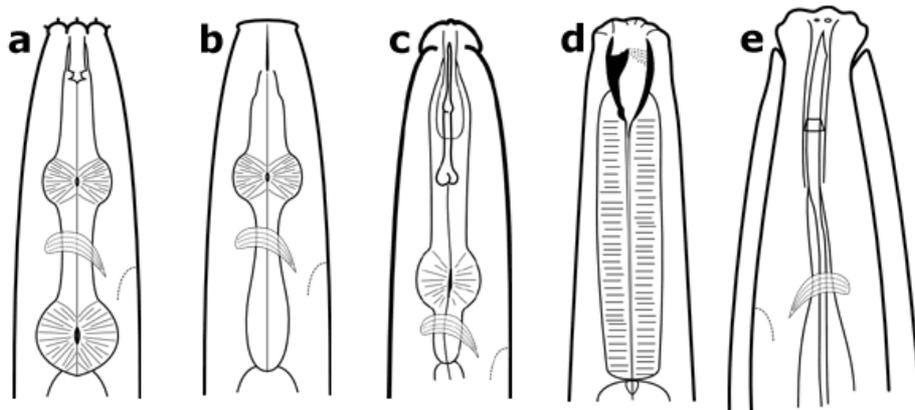


Figure 8: Morphologie des pièces buccales des différents groupes de nématodes : (a) bactérovore, (b) fongivore, (c) phytoparasite, (d) prédateur, (e) omnivore. (d'après E. Zaborski, Université de l'Illinois).

- Les nématodes phytoparasites

Les nématodes phytoparasites s'attaquent aux racines des végétaux supérieurs à l'aide de leurs pièces buccales munies d'un stylet qui leur permet de piquer les cellules de leur plante hôte, d'injecter des enzymes qui vont digérer le contenu des cellules avant qu'il ne soit absorbé (Figure 9 ; Bonkowski et al., 2009 ; Quentin et al., 2013).

Dans les régions soudano-sahéliennes, plus de 60 espèces de nématodes phytoparasites sont enregistrées (Baujard et al., 1995). Cependant, la relation parasitaire avec les plantes hôtes varie considérablement suivant les espèces. Les nématodes ectoparasites se nourrissent à

l'extérieur des tissus et seul leur stylet pénètre les tissus végétaux (Figure 9). Chez les semi-endoparasites, seule la tête pénètre à l'intérieur des tissus pour se nourrir mais le cycle de vie se déroule dans le sol. Les endoparasites pénètrent entièrement les tissus végétaux ; leur cycle de vie peut avoir une phase dans le sol ou se dérouler pleinement à l'intérieur de la racine de la plante hôte. En parasitant les plantes, les nématodes détruisent les cellules des racines, les empêchant de puiser l'eau et les éléments nutritifs nécessaires à leur croissance (Cadet, 1990). Les dégâts provoqués par les nématodes phytoparasites peuvent être considérables (Blasingame et Patel, 2011 ; Wen et al., 2013). A côté de l'effet du parasitisme direct, les nématodes phytoparasites peuvent affecter indirectement la croissance des plantes en agissant sur les interactions avec d'autres organismes du sol notamment symbiotiques ou en favorisant le parasitisme secondaire par des bactéries ou des champignons (Bonkowski et al., 2009).

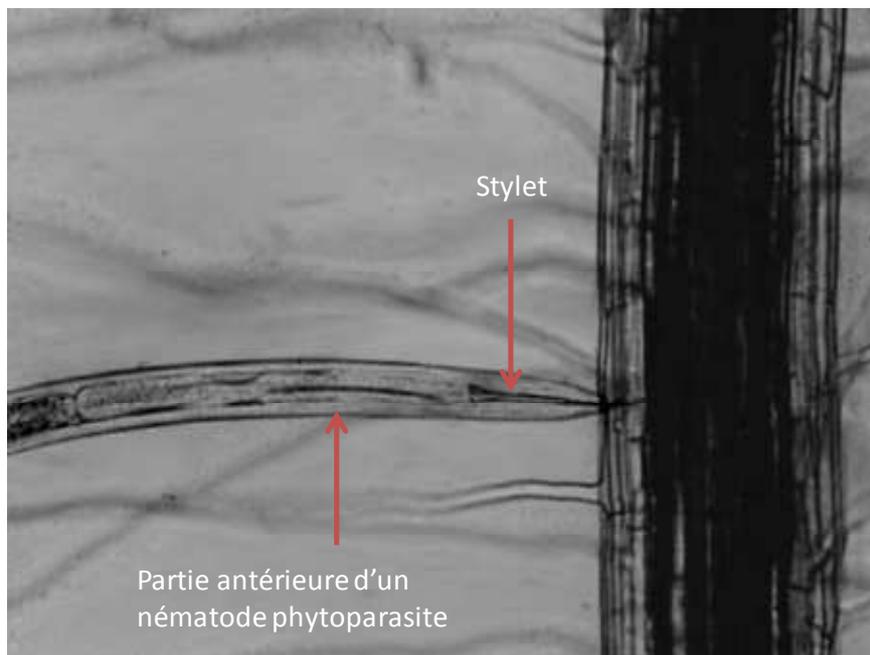


Figure 9 : Morphologie de la partie antérieure d'un nématode phytoparasite (*Xiphinema sp.* ; d'après Bonkowski et al., 2009).

Bien que les traitements nématicides issus des produits de synthèse permettent de multiplier les rendements par deux ou trois fois, ils ne permettent qu'un contrôle des populations de nématodes phytoparasites à la fois partiel et limité dans le temps, et sont nocifs pour la santé humaine et l'environnement (Moens et al., 2004). Il existe aussi des moyens de lutte biologique, notamment par l'utilisation d'amendements organiques ou d'espèces antagonistes (Oka, 2010; Stirling, 2011). Par ailleurs, certaines plantes sont utilisées de façon traditionnelle dans les systèmes cultivés tropicaux comme amendement organique nématicide (e.g., feuilles du Neem, *Azadirachta indica*, Meliaceae ; Oka, 2010). De récentes études ont révélé la présence de substances à caractère antimicrobien (polyphénols, flavonoïdes et anthocyanines) chez *Piliostigma reticulatum* (Babajide et al., 2008 ; Dossa et al., 2009).

Cependant, leurs effets sur les nématodes phytoparasites n'ont pas encore été étudiés alors même que ces substances synthétisées par d'autres plantes présentent des propriétés nématotoxiques (Chitwood, 2002).

- Les nématodes bactérivores.

Cette catégorie comprend les nématodes qui se nourrissent de bactéries, à travers une cavité buccale, appelée stoma, plus ou moins large, entourées ou non d'excroissances, appelées proboles (Figures 7 & 10).

Les nématodes bactérivores et plus particulièrement ceux de la famille des Cephalobidae constituent le groupe trophique le plus abondant dans le sol (Yeates, 2003 ; Hanel, 2010 ; Darby et al., 2011 ; Djigal et al., 2012).

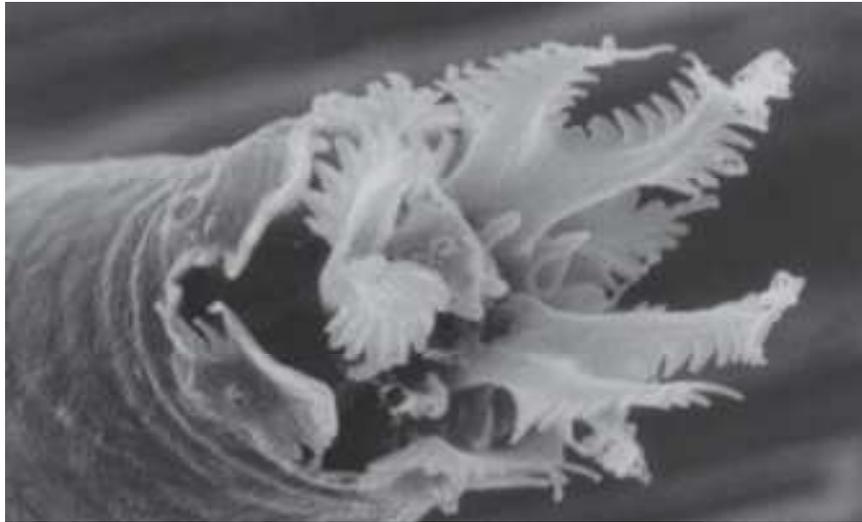


Figure 10: Partie antérieure du nématode bactérivore *Acrobeles* spp. dont l'ouverture de la cavité buccale est entourée de proboles (d'après Jeffrey et al., 2010).

Les nématodes bactérivores permettent le recyclage dans la rhizosphère des éléments immobilisés dans la biomasse bactérienne au cours de la décomposition, notamment l'azote mais aussi le phosphore (Buchan et al., 2013). Ils affectent les processus de minéralisation contribuant ainsi à la croissance des plantes (Djigal et al., 2004 ; Ferris et Bongers, 2006 ; Ferris, 2010). De part la différence de rapport C/N entre le nématode et sa proie (bactérie), l'azote, associé au carbone assimilé, est en excès par rapport au besoin du nématode et le surplus d'azote est excrété dans le milieu où il est alors disponible pour les plantes (Ferris et Bongers, 2006 ; Ferris, 2010). Par ailleurs, la forte présence de nématodes bactérivores à proximité des racines peut entraîner une plus forte concentration de signaux hormonaux de croissance des racines (e.g. auxine) (Mao et al., 2006, 2007 ; Bonkowski et al., 2009). L'effet de la pression de prédation, parfois sélective (Rønn et al., 2012), exercée par les nématodes bactérivores sur les bactéries peut entraîner une modification au sein des communautés microbiennes (Fu et al., 2005 ; Blanc et al., 2006). Quelque soit le système étudié, l'abondance des nématodes bactérivores dans le sol est étroitement liée à la disponibilité des

ressources nutritives et également à un bon développement de la plante (Ingham et al., 1985; Bjørnlund et al., 2012).

Les nématodes bactérivores sont très sensibles aux changements de leur environnement (Zhao et al., 2013). Ainsi, certaines pratiques agricoles, comme l'apport d'amendements organiques, les associations culturales, peuvent générer une augmentation des populations microbiennes (Briar et al., 2007 ; DuPont et al., 2009 ; Djigal et al., 2012), et par conséquent de la densité des proies pouvant être consommées par les nématodes bactérivores (Villenave et al., 2003). Par ailleurs, les nématodes bactérivores sont des nématodes dits « libres » (non-parasites), capables de se déplacer librement dans le sol ; ils ne sont donc pas confinés à un microsite particulier à condition que l'humidité soit suffisante pour un déplacement dans les films d'eau recouvrant les particules de sol (Briar et al., 2011). L'environnement physique conditionne donc le déplacement et l'accessibilité à la ressource (les bactéries), et est ainsi un autre déterminant de l'abondance des nématodes bactérivores dans le sol.

- Les nématodes fongivores

Les nématodes fongivores sont caractérisés par un stoma étroit muni d'un stylet (Figures 7 & 11) permettant de perforer les tissus mycéliens pour en aspirer le contenu (Tanney et Hutchinson, 2011).

Ils se nourrissent à partir de nombreux champignons et contrôlent ainsi l'activité de ces derniers (Hanel, 2010). Les nématodes fongivores peuvent affecter la croissance des plantes par la prédation des champignons mycorhiziens à arbuscules conduisant à la réduction de la disponibilité des nutriments pour la plante (Cardoso et Kuyper, 2006). Cependant, certaines espèces de nématodes fongivores peuvent être utilisées en lutte biologique pour la destruction des espèces fongiques nuisibles à la plante (Jeffery et al., 2010). Les nématodes fongivores sont généralement moins abondants que les nématodes bactérivores, en particulier dans les systèmes fortement perturbés comme les sols agricoles. Comme les nématodes bactérivores, les nématodes fongivores sont des nématodes libres qui contribuent à la libération des éléments nutritifs (à partir des tissus fongiques) et stimulent la minéralisation de l'azote (Chen et Ferris, 2000 ; Olser et Sommerkorn, 2007).

Toutefois, la contribution des nématodes fongivores au cycle de l'azote dans les systèmes agricoles est inférieure à celle apportée par les nématodes bactérivores (Jeffery et al., 2010).



Figure 11 : Structure de la partie antérieure d'un nématode fongivore (D'après Jeffrey et al., 2010).

- Les nématodes prédateurs

Les nématodes prédateurs sont caractérisés soit par une large cavité buccale généralement munie de dents puissantes et de denticules servant de véritable râpe lorsqu'une proie est avalée tout entière (Figures 7 & 12), soit par une petite cavité étroite équipée d'un stylet pouvant perforer les tissus (Jeffery et al., 2010).



Figure 12 : *Anatonchus tridentatus* (nématode prédateur) avalant un autre nématode (d'après Jeffrey et al., 2010).

Ils sont généralement peu nombreux dans le sol comparés aux autres groupes, représentant ainsi environ 5% de la nématofaune totale, mais de plus grande taille ils peuvent représenter une biomasse conséquente (Jeffery et al., 2010). Les nématodes prédateurs peuvent contrôler l'abondance des nématodes bactériovores et fongivores, empêchant ainsi une surprédation de ces groupes sur les bactéries et les champignons (De Ruiters et al., 1998; Djigal et al., 2012). Cet effet de régulation (top-down) contribue à un maintien de l'équilibre des communautés au sein des réseaux trophiques du sol. Les nématodes appartenant à ce groupe sont sensibles aux

perturbations du sol et sont considérés comme des bioindicateurs de la stabilité des réseaux trophiques (Yeates et al., 2009 ; Zhao et al., 2013).

- Les nématodes omnivores

Ce groupe présente une pièce buccale armée d'un odontostyle, un aiguillon généralement creux dérivé d'une dent de la paroi buccale (Figures 7 & 13). L'instrument est tiré en avant par une forte musculature ce qui permet aux nématodes de ce groupe de percer la paroi de sa proie pour en aspirer le contenu (Gobat et al., 2010).

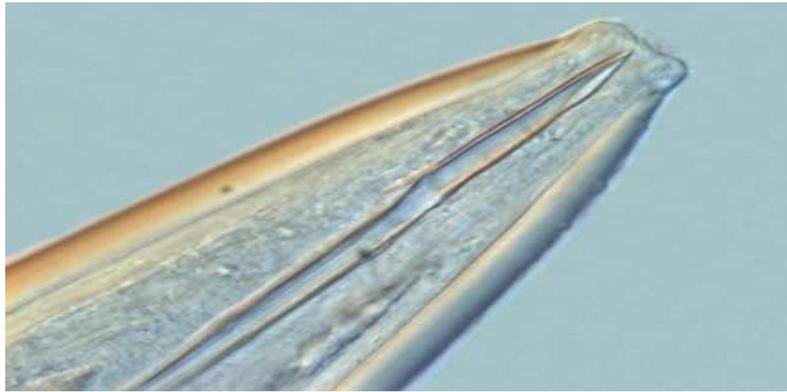


Figure 13 : Structure de la partie antérieure d'un nématode omnivore (D'après Jeffrey et al., 2010).

Beaucoup de nématodes de la famille des Dorylaimidae et des Nordiidae sont omnivores (Yeates et al., 1993). Les densités des nématodes omnivores sont habituellement faibles dans les systèmes cultivés par rapport à des milieux non perturbés tel que les forêts (DuPont et al., 2009 ; Yeates et al., 2009).

Ils sont ainsi souvent considérés comme des bioindicateurs de la stabilité au sein des réseaux trophiques du sol (Sanchez-Moreno et al., 2006 ; Zhao et al., 2013). L'alimentation des nématodes omnivores est diversifiée. Ils se nourrissent à tous les niveaux trophiques de la chaîne alimentaire : comme herbivores sur les poils absorbants des racines et les cellules d'algues, comme prédateurs d'autres nématodes, de ciliés, de rotifères et d'amibes; ou comme consommateurs de bactéries et de champignons (Yeates et al., 1993). Ils affectent le réseau trophique et interagissent avec les autres nématodes par prédation mais aussi par compétition pour l'espace et les ressources (Sanchez-Moreno et Ferris, 2007).

II.2.2.3. Les nématodes, indicateurs du fonctionnement du sol

Les nématodes influencent le biofonctionnement du sol à travers leur rôle dans les processus écologiques et sont présents à tous les niveaux de la chaîne trophique du sol (Neher, 2010 ; Figure 14).

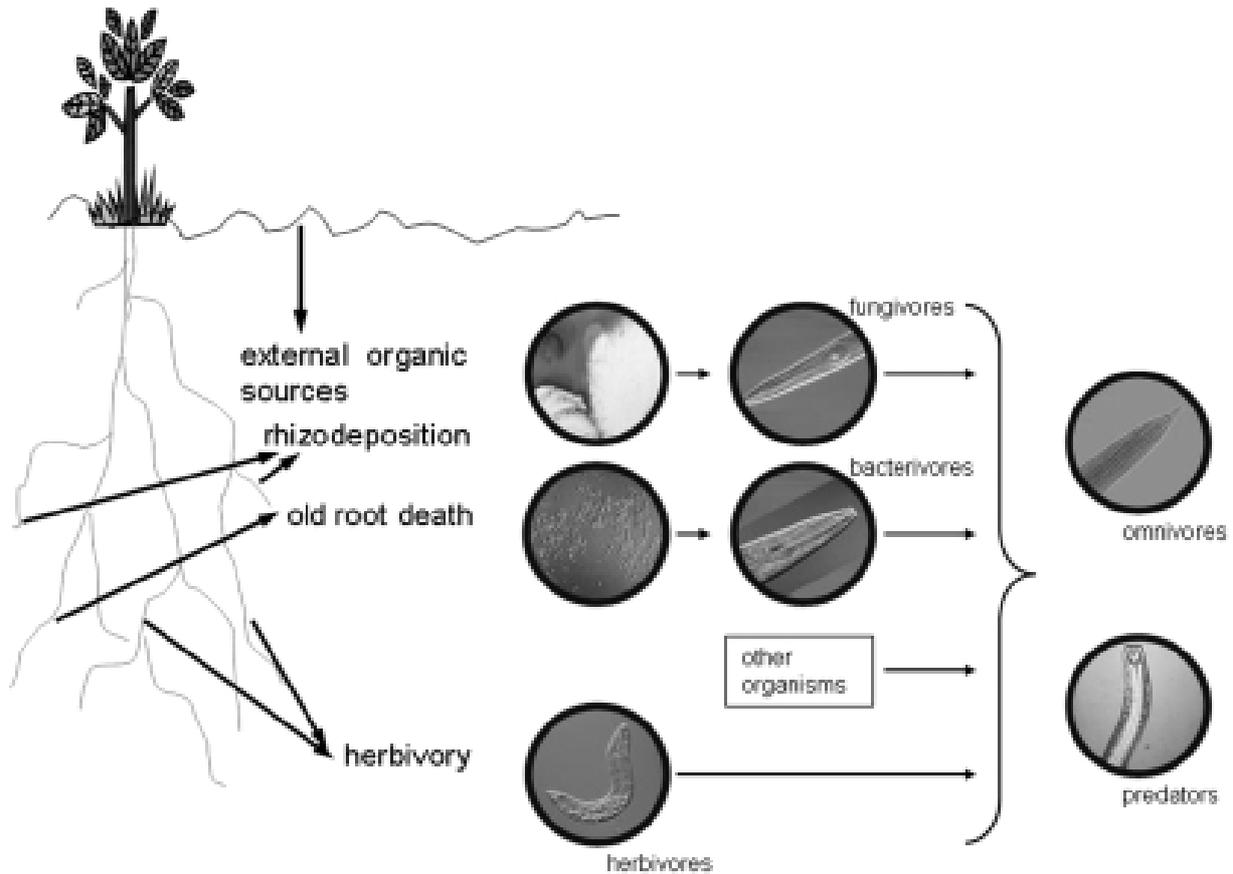


Figure 14 : Position des nématodes dans la microchaîne alimentaire du sol (d'après Ferris et Bongers, 2006).

Ils sont par ailleurs abondants, sensibles aux perturbations du milieu notamment aux pratiques agricoles (Villenave et al., 2010), ce qui permet leur utilisation comme indicateurs du biofonctionnement du sol. Leur identification repose principalement sur l'examen de leurs pièces buccales, ce qui permet de déterminer leur régime alimentaire, et donc leur position dans le réseau trophique. Aux côtés d'un regroupement basé sur les préférences alimentaires, d'autres classifications des microorganismes ont été proposées en écologie, sur la base des stratégies qu'ils développent pour assurer leur développement au sein des communautés. Les classifications les plus connues reposent sur les traits d'histoire de vie et oppose « stratégie r » et « stratégie K » d'une part (Tableau 2), et espèces « spécialistes » et « généralistes » d'autre part.

Les r stratégistes sont caractérisés par une descendance nombreuse, une reproduction précoce et une mortalité très élevée tandis que les K stratégistes sont caractérisées par une descendance réduite, une reproduction tardive, et une mortalité faible (Tableau 2 ; Ferris et al., 2001 ; Fierer et al., 2007). Les espèces dénommées « spécialistes » sont ceux qui prospèrent dans un nombre limité de milieux par opposition aux « généralistes » capables de prospérer dans de nombreux milieux (Egas et al., 2004).

Tableau 2 : Quelques propriétés caractéristiques entre les espèces de stratégies « r » et « K » (d'après Fischesser et Dupuis-Tate, 1996).

| Stratégie « r » | Stratégie « K » |
|--------------------------------------|--|
| Petite taille | Grande taille |
| Productivité forte | Productivité faible |
| Grande précocité sexuelle | Période d'immaturation longue |
| Mortalité forte | Mortalité faible |
| Espérance de vie courte | Espérance de vie longue |
| Perte énergétique considérable | Economie de l'utilisation de l'énergie |
| Espèces de type généraliste | Espèces de type spécialiste |
| Espèces pionnières et colonisatrices | Espèces inféodées au climax |
| Effectifs très fluctuants | Faibles fluctuations des effectifs |

S'agissant des nématodes, Bongers (1990) propose d'utiliser la notion d'espèces « colonisatrices » et d'espèces « persistantes » et de classer ces nématodes en 5 classes c-p (« Colonisateur - Persistant »). Le groupe c-p 1 représente les nématodes les plus colonisateurs. Ils ont un cycle de développement très rapide, une descendance nombreuse à des temps de génération très courts. Les adultes sont de petite taille et peuvent entrer en dormance (stade « *Dauer larvae* ») lorsque les conditions du milieu sont défavorables. Leur stratégie d'histoire de vie privilégie donc une croissance rapide des populations adaptée à des environnements instables et s'apparente à une stratégie « r » (Tableau 2). Ce sont essentiellement des bactérivores qui répondent favorablement à un enrichissement du milieu et peuvent donc être considérés comme des indicateurs des milieux riches en nutriments (Ferris, 2010). Les nématodes du groupe c-p 2 ont un taux de fécondité moins élevé et un développement des populations moins rapide que les nématodes de la classe c-p 1. Ces nématodes parfois qualifiés d'opportunistes généralistes sont très tolérants aux conditions environnementales difficiles (Ferris et al., 2001). Ce sont essentiellement des nématodes bactérivores et fongivores. Pour les classes c-p supérieures, les temps de génération s'allongent et la sensibilité aux conditions du milieu augmente. La classe c-p 3 regroupe essentiellement des bactérivores, des fongivores et des prédateurs ; la classe c-p 4 compte également des omnivores de petite taille (Ferris et al., 2001). La classe c-p 5 regroupe des individus de grande taille, peu nombreux et au développement lent ; ce sont généralement des prédateurs ou omnivores très sensibles aux changements du milieu (Neher, 2010 ; Zhao et al., 2013). Ces caractéristiques s'apparentent à celles des « spécialistes » ou à une stratégie de vie de type « K » (Tableau 2). L'analyse des données trophiques combinées aux traits d'histoire de vie des nématodes permettent d'établir des guildes fonctionnelles (Bongers, 1990 ; Bongers et Bongers 1998). Une guilda est un assemblage d'espèces avec des attributs biologiques similaires et répondant de la même manière aux contraintes environnementales. Ainsi une guilda fonctionnelle regroupe les nématodes au même comportement alimentaire et ayant par conséquent des fonctions analogues au sein du réseau (Ferris et al., 2001) : par exemple, les nématodes bactérivores de la classe c-p 1 seront notés Ba₁, ou les omnivores au comportement correspondant à la classe c-p 4 seront notés Om₄ (Ferris et al., 2001). La répartition en guildes

fonctionnelles permet l'élaboration d'un certain nombre d'indices permettant d'appréhender les modifications en cours dans la chaîne alimentaire et leurs impacts dans le fonctionnement des sols, notamment les cycles biogéochimiques des nutriments.

III. Stratégie méthodologique

III.1. Etude des communautés microbiennes

Les communautés microbiennes peuvent être étudiées au travers de plusieurs variables descriptives de leur abondance, de leur activité, de leurs diversités fonctionnelle et génétique.

III.1.1. Biomasse microbienne

La mesure de la biomasse microbienne quantifie la présence des microorganismes du sol. Ainsi elle est considérée comme un indicateur de l'abondance des microorganismes présents dans le sol (Araujo et al., 2010 ; Romaniuk et al., 2011) pouvant varier selon les conditions du milieu, notamment les pratiques culturales (Plassart et al., 2008). Elle peut être déterminée de manière directe par la méthode de fumigation-extraction (Amato et Ladd, 1988 ; Vance et al., 1987).

La méthode de la fumigation-extraction consiste à fumer le sol avec des vapeurs de chloroforme afin de tuer les microorganismes qui y vivent et de détruire leurs parois cellulaires. Le chloroforme ne modifiant pas la solubilité de la matière organique non-microbienne, les éléments du contenu cellulaire (carbone, azote ou phosphore) répandu dans le sol après la lyse des parois bactériennes peuvent être extraits et quantifier par comparaison d'échantillons fumigés et non fumigés. La biomasse microbienne représente un paramètre biologique important puisque les microorganismes jouent non seulement un rôle décisif dans la décomposition et la transformation de la matière organique mais représentent aussi une réserve de nutriments rapidement assimilables. Lorsque les microorganismes dégradent la matière organique du sol, ils produisent du CO₂ dont la quantité à un instant donné reflète l'activité respiratoire aérobie de la biomasse microbienne présente. Le rapport entre cette respiration dite « basale » (Campbell et al., 2008) et la biomasse microbienne, appelé quotient métabolique (qCO₂) caractérise l'état physiologique des microorganismes et renseigne sur le taux de renouvellement de cette biomasse (Anderson et Domsch, 1993, 2010). Des valeurs importantes de qCO₂ traduisent des communautés microbiennes en croissance avec des besoins énergétiques importants pour se maintenir alors que des valeurs faibles de qCO₂ indiquent des sols moins perturbés abritant des communautés plus diversifiées qui interagissent fortement entre elles (e.g., Zaller et al., 2004 ; Fliessbach et al., 2007).

III.1.2. Activités des microorganismes

Les microorganismes hétérotrophes utilisent le carbone pour assurer leur croissance et leur maintien. Cependant, ces microorganismes ne peuvent pas transporter directement des macromolécules dans leur cytoplasme (Wallenstein et Burns, 2011). Ils ont besoin d'enzymes pour transformer les composés organiques en oligomères ou monomères solubles qui sont reconnus par les récepteurs membranaires des cellules et transportés vers le cytoplasme cellulaire.

Les microorganismes sont à l'origine de la plupart des enzymes du sol soit par le biais d'une synthèse directe ou via la sécrétion de signaux induisant la production d'enzymes par d'autres microorganismes ou par des végétaux. Les activités enzymatiques témoignent ainsi de l'activité des organismes du sol ; elles sont très sensibles aux perturbations d'origines naturelles et anthropiques et reflètent rapidement les changements induits par ces modifications (Laval et al., 2009 ; Acosta-Martinez et al., 2010). Par conséquent, elles peuvent être considérées comme des indicateurs pertinents du fonctionnement du sol suite à des changements environnementaux ou des pratiques culturales (Brackin et al., 2013). Le choix des activités enzymatiques est basé sur leur implication dans la décomposition de la matière organique et le cycle des nutriments (Tableau 3).

Tableau 3 : Les différentes enzymes étudiées et leur rôle dans sol.

| Activité enzymatique | Substrat | Rôle | Fonction renseignée |
|--|---------------------|---|---|
| Beta glucosidase | Composés carbonés | Energie pour les microorganismes | Décomposition de la matière organique ; cycle du carbone |
| Uréase | Azote (urée) | Azote minéral disponible pour la plante | Cycle des nutriments |
| Phosphatase | Phosphore | Phosphates disponibles pour la plante | Cycle des nutriments |
| Arylsulphatase | Soufre | Sulfates disponibles pour la plante ; Indicateur généraliste | Cycle des nutriments |
| Hydrolyse de la Fluroscéine Di-Acétate (FDA) | Composés organiques | Energie, nutriments pour les microorganismes ; Indicateur généraliste | Décomposition de la matière organique, cycle des nutriments |
| Déshydrogénase | Composés organiques | Transfert d'énergie ; Indicateur généraliste | Décomposition de la matière organique |

La β -glucosidase a un rôle crucial dans la fourniture de composés carbonés de faible poids moléculaire qui sont une source d'énergie pour les microorganismes. L'uréase est une enzyme qui contribue à la régulation de la fourniture de l'azote après un apport d'urée ; cette activité augmente également avec les pratiques d'apports organiques (Vallejo et al., 2000). Les phosphomonoesterases, couramment appelées phosphatases, sont des enzymes qui jouent un rôle essentiel dans le cycle du phosphore (Alef et al., 1995) ; à ce titre, elle est souvent utilisée comme un indicateur de la fertilité du sol (Pascual et al., 2000 ; Sharma et al., 2011).

Ces trois activités enzymatiques sont celles les plus couramment utilisées comme indicatrices des activités de minéralisation affectant respectivement les cycles du carbone, de l'azote et du phosphore (Gil-Stores et al., 2005).

L'arylsulfatase est une enzyme importante pour le cycle du soufre, élément indispensable à la plante ; c'est aussi un indicateur indirect de l'activité des champignons pour qui la dégradation des esters de sulfate par l'arylsulfatase constitue une source majeure de soufre dans la rhizosphère. Les travaux de Ndiaye et al. (2000) ont montré que cette enzyme était sensible aux pratiques culturales. La fluorescéine diacétate est utilisée comme un marqueur des cellules vivantes car son hydrolyse libère un composé fluorogène (Diaper et Edwards, 1994). La fluorescéine diacétate (FDA) est hydrolysée par de nombreuses enzymes non spécifiques (estérases, protéases, lipases ; d'origine bactérienne ou fongique) impliquées dans la décomposition des matières organiques et le cycle des nutriments dans le sol. Bien que cette hydrolyse dépende à la fois des enzymes intra- et extracellulaires, sa mesure est considérée comme un bon indicateur global de l'activité métabolique microbienne d'un sol (Bandick et Dick, 1999).

La déshydrogénase est une oxydoréductase qui participe à l'oxydation de la matière organique par le transfert de protons et d'électrons. Cette enzyme intracellulaire est importante dans les processus métaboliques des microorganismes et constitue donc un bon indicateur généraliste de l'activité microbienne.

III.1.3. Diversité et structure des communautés microbiennes

La diversité des êtres vivants qui peuplent le sol reste certainement l'aspect le moins connu mais sans doute le plus intéressant du biofonctionnement du sol. La biodiversité est considérée comme un paramètre clé du fonctionnement du sol. Il est maintenant admis que les aptitudes fonctionnelles des individus ou populations sont tout aussi importantes que la diversité totale (taxonomique ou génétique) (Griffiths et al., 2001). Dans le sol, de nombreuses espèces peuvent assurer une même fonction, pas forcément par le même processus ni même dans les mêmes conditions (température, pH, humidité) mais cette redondance fonctionnelle apporte au sol une certaine faculté de résistance aux perturbations (Griffiths et Philippot, 2012 ; Jeffery et al., 2010).

III.1.3.1. Diversité fonctionnelle

Il est fondamental d'identifier les traits liés à des fonctions métaboliques des microorganismes, mesurables facilement à partir du sol total, et permettant de caractériser les

axes majeurs de fonctionnement des microorganismes. Les mécanismes par lesquels la diversité influence le fonctionnement de l'écosystème sont liés aux attributs des espèces plutôt qu'au nombre total d'espèces présentes (Giller et al., 2004). Les communautés microbiennes du sol sont composées d'organismes actifs, dormants ou morts mais seule la fraction active revêt un aspect fonctionnel.

La diversité fonctionnelle peut donc être définie comme le nombre de processus ou fonctions qu'une communauté est capable de réaliser (Gaston et Spicer, 1998).

L'étude des profils métaboliques est une approche basée sur les aptitudes physiologiques des communautés microbiennes du sol, leur capacité fonctionnelle à dégrader une large gamme de substrats carbonés appartenant à des groupes biochimiques différents (Degens et Harris, 1997 ; Campbell et al., 2003). Cette méthode d'approche de la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes du sol est souvent utilisée pour l'évaluation des pratiques culturales (Brackin et al., 2013) et des perturbations (Berard et al., 2012) car elle met en évidence l'activité microbienne du sol impliquée dans le cycle du carbone. Ainsi les profils cataboliques des communautés microbiennes peuvent être obtenus via la respiration induite par différents substrats carbonés. Campbell et al. (2003) ont mis au point une technique rapide de mesure de la quantité de CO₂ libérée par les microorganismes du sol suite à l'apport de plusieurs types de substrats organiques dans un système de microplaques.

III.1.3.2. Diversité génétique

Par le passé, nous n'avions accès qu'aux populations dites cultivables, qui ne représentent qu'une infime proportion de la diversité microbienne totale. Les développements récents en biologie moléculaire, notamment concernant l'extraction de l'ADN bactérien des sols, l'analyse de son polymorphisme ou le séquençage à haut débit, permettent une analyse de la diversité génétique des microorganismes du sol. Cette approche est complémentaire de l'étude de la diversité fonctionnelle. L'ADN extrait d'un sol comprend l'information génétique des cellules inactives, actives mais aussi l'ADN des cellules mortes (Pietramellara et al., 2009). Pour accéder à cette fraction active, l'approche moléculaire doit cibler l'ARN ribosomal, produit par la cellule uniquement quand celle-ci est active afin de permettre la traduction de l'ARN messager en protéine. Les séquences qui codent pour les ARNr ont la propriété d'être conservées de façon spécifique, ce qui permet la distinction entre espèces. Woese (1987) a été le premier à proposer l'utilisation du gène de l'ARN ribosomique 16S comme marqueur de phylogénie. Ce gène de 1500 paires de bases répond à plusieurs critères essentiels pour la taxonomie. En effet, il est d'une part présent chez tous les procaryotes où il remplit la même fonction, et d'autre part, du fait d'une évolution lente, il possède des domaines hautement conservés avec peu de mutations. L'amplification des zones conservées cible toutes les bactéries, tandis que l'amplification de zones variables permet de cibler un niveau taxonomique précis. La caractérisation d'une communauté bactérienne permet de mettre en évidence des caractéristiques propres à cette communauté qui vont la différencier des autres. Hebert et al. (2003) parle de « code barre ADN » (« DNA barcoding », en anglais) pour décrire ce concept. Cette approche consistant à utiliser un fragment du génome comme marqueur génétique pour la discrimination des espèces a toutefois été utilisée dès les années

1990, notamment pour les champignons avec les travaux sur l'espaceur interne transcrit (ITS *Internal Transcribed Spacer*, Figure 15) (White et al., 1990 ; Gardes et Bruns, 1993).

Ainsi, l'ITS, fragment de l'ADN ribosomal fongique, s'est rapidement imposé comme marqueur pour l'étude des communautés fongiques, permettant de caractériser les variations inter et intra-spécifiques (Schoch et al., 2012 ; Dematheis et al., 2012 ; Cordier et al., 2012) même si son utilisation comporte plusieurs limites.

Parmi ces dernières, on peut citer une faible résolution pour certains taxons. Il existe certains genres (e.g. *Cladosporium sp.*, *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.*) pour lesquels l'ITS n'est pas assez variable pour permettre une identification spécifique (Seifert, 2009), et d'autres pour lesquels il est trop variable pour séparer les espèces proches, ce qui est le cas des Glomeromycètes, endomycorhizes à arbuscules (Stockinger et al., 2009).

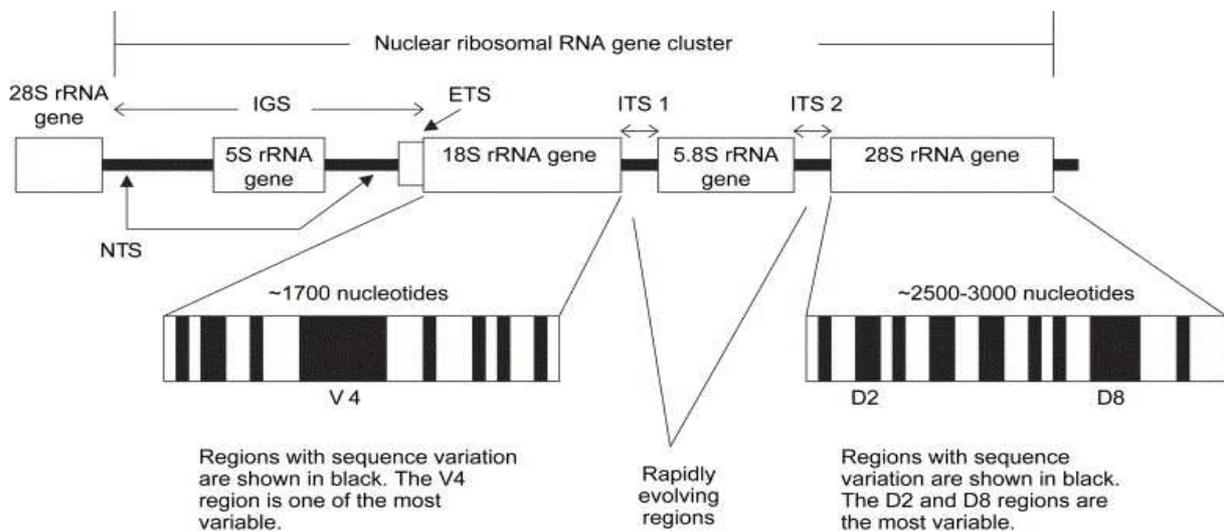


Figure 15 : Représentation schématique des régions ITS dans l'ADN ribosomal chez les champignons (d'après Mitchell et Zuccaro, 2006).

Les techniques d'empreintes moléculaires vont permettre la caractérisation des communautés microbiennes plus ou moins complexes, en obtenant des profils qui vont être dépendants des séquences d'ADN présentes dans la communauté étudiée (16S, ITS). Par exemple, s'agissant de la communauté bactérienne totale, un fragment d'ADN cible (16S) est amplifié par PCR avec des amorces spécifiques ou universelles. La réaction de polymérisation en chaîne ('PCR', *polymerase chain reaction*) permet l'amplification *in vitro* d'une séquence connue d'ADN double-brin (*ADN matrice*) par extension de deux amorces grâce à l'ADN polymérase, en présence de déoxynucléotides (dNTPs) et d'ions Mg^{2+} (Mullis et Faloona, 1987). Elle permet d'obtenir, à partir d'un échantillon d'ADN plus ou moins complexe et peu abondant, d'importantes quantités d'un fragment d'ADN spécifique et de longueur définie afin d'appliquer d'autres techniques de biologie moléculaire (DGGE, clonage et séquençage...). Il s'agit de réaliser une succession de réactions de réplication d'une matrice double brin d'ADN.

Chaque réaction met en œuvre deux amorces oligonucléotidiques dont les extrémités 3' et 5' pointent l'une vers l'autre qui définissent alors, en la bornant, la séquence à amplifier.

L'électrophorèse sur gel en gradient de dénaturation (DGGE : *Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*) est une technique d'empreinte génétique. Elle est basée sur la différence de stabilité des fragments doubles brins de l'ADN en fonction de sa composition en cytosine et guanine (% G+C) et permet théoriquement d'identifier les variations d'une seule base entre deux segments d'ADN double (Muyzer et al., 1993 ; Attard, 2008 ; Figure 16).

Les fragments d'ADN sont soumis à un gradient de concentration d'un agent dénaturant (formamide ou urée). Lorsque la concentration aboutissant à la dénaturation du fragment d'ADN est atteinte, le fragment d'ADN se dénature jusqu'au niveau d'une séquence composée de répétition de guanine et de cytosine de 35-40 paires de bases (« GC clamp »), ajoutée à la position 5' d'une amorce de PCR pour créer un domaine de grande stabilité, stopper la migration et éviter une dénaturation complète (Figure 16).

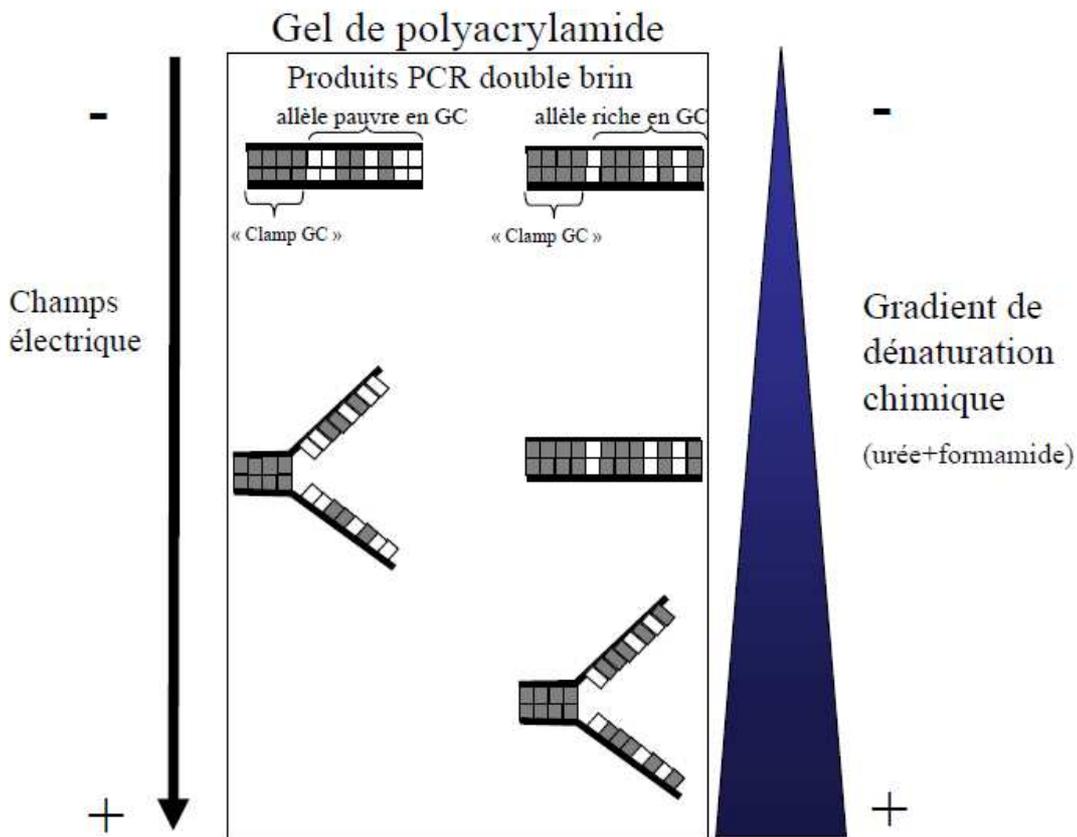


Figure 16 : Principe de la DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) utilisée dans l'analyse de la structure génétique des communautés microbiennes (d'après Attard, 2008).

La dénaturation est spécifique en fonction des séquences, les fragments vont donc migrer différemment dans le gel de polyacrylamide suivant leur séquence. Les variations de séquences entre les différents amplifiats vont influencer leur dénaturation et par conséquent leur distance de migration électrophorétique.

Les fragments dénaturés à faible concentration d'agent dénaturant (pauvres en bases G+C composées de 3 liaisons hydrogènes contre 2 pour les bases AT) verront leur migration stoppée au début du gel alors que les fragments dénaturés à forte concentration d'agent dénaturants (plus riches en bases G+C) verront leur migration se poursuivre plus longtemps. Théoriquement la DGGE peut séparer des fragments d'ADN qui sont différents par une seule paire de bases (Miller et al., 1999).

Les fragments d'ADN de différentes séquences peuvent avoir les mêmes caractéristiques de mobilité dans le gel polyacrylamide, donc une bande bien différenciée sur le gel ne représente pas forcément la présence dans la communauté d'une seule espèce bactérienne (Gelsomino et al., 1999). Ainsi, chaque bande correspondrait à une population donnée de microorganismes. Cette technique permet de détecter les modifications de la structure génétique des communautés microbiennes d'un sol donné sans passer par les étapes de culture sur milieu. La PCR-DGGE est ainsi une méthode permettant l'étude des communautés microbiennes de plusieurs échantillons de sol de manière rapide, simultanée et reproductible.

III.2. Diversité et structure des communautés de nématodes.

Le développement des indices nématologiques (Bongers, 1990 ; Ferris et al., 2001 ; Yeates, 2003) représente une avancée significative dans l'interprétation du rôle des communautés de nématodes dans les fonctions du sol (Neher et al., 2005) et l'analyse des trajectoires de réponse des communautés de nématodes en fonction des traitements appliqués au milieu (Ferris et al., 2001).

III.2.1. Les indices nématologiques

Les premiers indices nématologiques proposés par Bongers (1990) expriment la proportion des familles de nématodes selon les classes c-p. Le calcul de ces indices dits de « maturité » est donné dans le tableau 4. L'indice de maturité MI caractérise les nématodes libres du sol tandis que l'indice PPI (Plant Parasitic Index) s'applique aux nématodes phytoparasites. Une faible valeur de ces indices indique une dominance relative des nématodes colonisateurs. L'indice de maturité est donc un indicateur des conditions du sol basé sur la composition des espèces de nématodes (Ferris et al., 2001). Cet indice s'avère particulièrement utile pour appréhender l'effet des pratiques culturales sur les communautés de nématodes et discriminer les situations perturbées ou intensivement exploitées vis-à-vis de situations plus naturelles ou moins perturbées (e.g. Bongers, 1990 ; Villenave et al., 2009 ; Patrício et al., 2012). La valeur de MI varie de 1 à 5 et diminue dans les milieux perturbés (Ferris et al., 2001). La valeur du PPI varie entre 2 et 5 et est faible dans les milieux agricoles riches en nutriments (Bongers et al., 1997). Le rapport PPI/MI est considéré comme un indicateur de la teneur en éléments nutritifs au sein des agroécosystèmes (Bongers et al., 1997 ; Vonk et al., 2013).

Tableau 4 : Les indices nématologiques calculés à partir de la composition des communautés de nématodes (Bongers, 1990 ; Yeates et Bongers, 1999 ; Ferris, 2001).

| Indices | Formule | Détails |
|---|-----------------------------------|---|
| Indice de Maturité des communautés de nématodes libres (MI) | $MI = \sum v_i \times p_i$ | <p>v_i est la valeur c-p (colonisateur-persistant : valeur de 1 à 5 prédéterminée au niveau de la famille) du taxon i dans la communauté de nématodes non phytophages</p> <p>P_i est l'abondance relative du taxon i dans l'assemblage des nématodes non phytophages</p> |
| Indice de maturité des nématodes phytoparasites (PPI) | $PPI = \sum v_j \times p_j$ | <p>v_j est la valeur c-p du taxon j dans la communauté de nématodes phytophages</p> <p>p_j est l'abondance relative du taxon j dans l'assemblage des nématodes phytophages</p> |
| NCR (Nematode Channel Ratio) | $NCR = B / (B + F)$ | <p>B = abondance de nématode bactérivores</p> <p>F = Abondance de nématode fongivores</p> |
| Indice d'enrichissement (EI) | $EI = 100 \times \{e / (e + b)\}$ | <p>e est l'abondance pondérée des individus dans les guildes Ba1 et Fu2 (bactérivores de classe c-p 1 et fongivores de classe c-p 2, respectivement) représentant un réseau trophique dit « enrichi »</p> <p>b est l'abondance pondérée des individus dans les guildes Ba2 et Fu2 (bactérivores de classe c-p 2 et fongivores de classe c-p 2, respectivement) représentant un réseau trophique dit « basal »</p> |
| Indice de structure (SI) | $SI = 100 \times \{s / (s + b)\}$ | <p>s est l'abondance pondérée des individus appartenant aux guildes : Ba3, Ba4, Ba5 (bactérivores de classe c-p 3, 4 et 5, respectivement), Fu3, Fu4, Fu5 (fongivores de classe c-p 3, 4 et 5 respectivement), Ca3, Ca4, Ca5 (prédateurs c-p 3, 4 et 5 respectivement), Om4, Om5 (Omnivores de classe c-p 4 et 5 respectivement). Ces guildes de nématodes représentent un réseau trophique « structuré »</p> <p>b est l'abondance pondérée des individus dans les guildes Ba2 et Fu2 (bactérivores de classe c-p 2 et fongivores de classe c-p 2, respectivement) (réseau trophique « basal »)</p> |

Par ailleurs, la répartition des nématodes en groupes trophiques (Yeates, 1993) permet de calculer l'indice des voies de décomposition (NCR, *Nematode Channel Ratio*, en anglais) en faisant le rapport de l'abondance des bactérivores sur la somme des abondances des bactérivores et des fongivores (Yeates et Bongers, 1999 ; Yeates, 2003). Ainsi, les valeurs du NCR sont comprises entre 0 et 1, correspondant respectivement à une chaîne de décomposition dominée par la composante fongique ou par la composante bactérienne.

L'analyse de la nématofaune basée sur les mesures des abondances et des traits de vie (Bongers, 1990) combinée à celle de la diversité trophique des communautés parasites ou libres (Yeates, 1993), permet de répartir les nématodes libres en guildes fonctionnelles (Bongers, 1990 ; Bongers et Bongers, 1998) et de définir d'autres types d'indices que sont les indices d'enrichissement (EI) et de structure (SI) (Tableau 4). Les indices EI et SI renseignent sur la complexité de la micro-chaîne trophique ainsi que sur la disponibilité des nutriments (Ferris et al., 2001). L'indice EI est uniquement calculé à partir des effectifs de nématodes bactérivores et fongivores appartenant aux niveaux trophiques les plus bas du réseau (Tableau 4; Ferris et al., 2001). Cet indice fournit une information sur la réponse du réseau à la disponibilité des ressources. Les valeurs de l'indice EI varient de 0 à 100 et un EI élevé indique une disponibilité en éléments nutritifs dans la chaîne trophique. L'indice de structure SI est basé sur l'abondance relative des nématodes appartenant aux niveaux trophiques supérieurs et aux classes c-p supérieures. Ainsi, cet indice révèle la longueur et le degré de connectivité du réseau trophique du sol (Ferris et al., 2001).

III.2.2. Le diagramme de Ferris

Le diagramme de Ferris (Ferris et al., 2001 ; Figure 16) est une représentation graphique des guildes fonctionnelles des nématodes libres dans laquelle le poids de chaque guildes sur les axes de structure et d'enrichissement permet le calcul des indices de structure (SI) et d'enrichissement (EI), indicateurs de l'état du réseau trophique (basal, structuré ou enrichi) (Tableau 4). Un réseau trophique structuré est un réseau trophique peu perturbé, et un réseau trophique est dit enrichi lorsqu'une perturbation libère de nouvelles ressources. Le calcul des indices SI et EI permet de placer les sols dans l'un des quatre quadrats du diagramme de Ferris (Figure 16 et Tableau 5) : (A) perturbé, (B) en maturation, (C) structuré, (D) dégradé.

Tableau 5 : Caractéristiques de la chaîne trophique du sol et de son environnement d'après l'analyse de la nématofaune du sol (Ferris et al., 2001).

| Diagnostic | Quadrat A ^a | Quadrat B | Quadrat C | Quadrat D |
|-------------------------|------------------------|-----------------|----------------|-----------|
| Niveau de perturbation | Fort | Faible à modéré | Non perturbé | Stressé |
| Enrichissement | enrichi en N | Enrichi en N | Modéré | Appauvri |
| Chaîne de décomposition | Bactérienne | Intermédiaire | Fongique | Fongique |
| Ratio C/N | Faible | Faible | Modéré à Elevé | Elevé |
| Chaîne trophique | Perturbée | en maturation | Structurée | Dégradée |

^a Les quadrats sont ceux du diagramme de Ferris et al. (2001), indiqué en figure 17

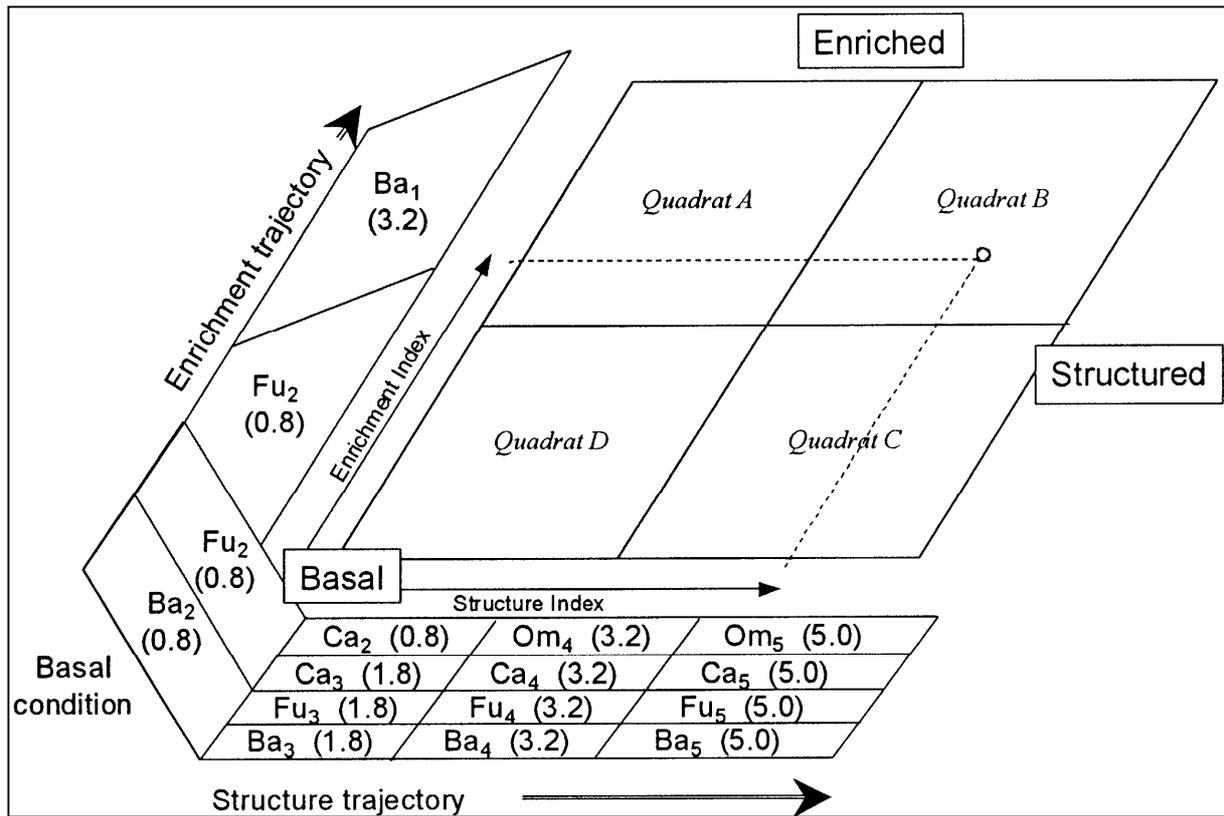


Figure 17 : Les guildes fonctionnelles des nématodes du sol caractérisées par l'appartenance à un groupe trophique (Ba : Bactérivores, Fu : Fongivores, Ca : Carnivores (Prédateurs), Om : Omnivores) et leur histoire de vie exprimée par une classe c-p (Colonisateur-Persistant selon Bongers et Bongers, 1998), d'après Ferris et al. (2001)

III.3. Analyse des données

III.3.1. Analyses des données de diversité

Une première appréciation de la biodiversité consiste en l'analyse de la richesse spécifique. Appliquée à notre étude, elle désigne soit le nombre total de taxons de nématodes qui coexistent dans un même échantillon (Magurran, 2004 ; Bulluck et al., 2002), soit le nombre de bandes d'un gel DGGE obtenu après extraction de l'ADN bactérien ou fongique d'un sol (Vivas et al., 2009).

L'indice de diversité de Shannon-Weaver est un indice de diversité couramment utilisé en écologie (Shannon et Weaver, 1962). Dans notre étude, il peut être calculé assez classiquement sur la base de la diversité des communautés de nématodes (identifiés au niveau de la famille). Il est défini ainsi :

$$H' = - \sum P_i \ln(P_i)$$

où P_i est le rapport entre n_i et N correspondant respectivement au nombre d'individus d'un taxon i rapporté au nombre total d'individus.

La valeur de l'indice H' augmente avec la diversité taxonomique. Il peut aussi être calculé pour analyser la diversité génétique des communautés microbiennes ; la présence d'une bande dans un gel DGGE est alors assimilée à une espèce et l'intensité de cette bande à son abondance (Vivas et al., 2009).

L'indice de Shannon-Weaver peut également être calculé pour la diversité fonctionnelle obtenue par la méthode MicroRespTM ; dans ce cas, ni correspond au nombre de substrats permettant un dégagement de CO₂ supérieur à celui issu de la respiration basale et N représente le nombre total de substrats (Zak et al., 1994 ; Zhou et al., 2012).

Les données obtenues par PCR-DGGE peuvent également être utilisées pour le calcul de l'indice de dominance de Simpson (Simpson, 1949 ; Magurran, 2004) :

$$D = \sum P_i^2$$

où Pi est l'intensité relative de la i^e bande (intensité de la bande ni rapporté à la somme des intensités des N bandes de l'échantillon). Elle correspond à la probabilité que deux bandes prises au hasard soient issues de la même espèce.

III.3.2. Approche statistique

Nous avons d'abord examiné l'effet de la présence de l'arbuste sur les paramètres quantitatifs (abondance des différents groupes trophiques de nématodes, biomasse microbienne, activités enzymatiques, etc.) par des analyses statistiques relativement classiques (ANOVA, ACP) puis nous avons étudié les assemblages des communautés microbiennes ou de nématodes, ce qui donne une information supplémentaire par rapport au nombre et à l'abondance des groupes ou espèces. Les analyses multivariées permettent en effet de mettre en évidence des gradients ou des classifications dans les assemblages des communautés.

III. 3.2.1. Comparaison des données quantitatives

Pour déterminer la significativité des effets de nos traitements sur les différentes variables étudiées (abondance des nématodes, biomasse microbienne, activité enzymatiques, teneurs en azote minéral ou autres paramètres liés au milieu), nous avons réalisé des analyses de variance (ANOVA) suivis du test de Fisher ($P < 0.05$) en utilisant le logiciel XLSTAT (Version 2010, AddinSoft[®]).

Une analyse en composante principale (ACP) permet de représenter les variables dans le plan factoriel ou sur un cercle de corrélation, afin de déterminer les variables qui contribuent le plus à la discrimination entre les différents traitements, et leur corrélation éventuelle.

La fiabilité de l'ACP sur le plan factoriel est d'autant plus forte que le pourcentage d'inertie expliqué par les 2 axes, ayant engendré ce plan, est élevé. L'ACP est un outil puissant pour analyser les corrélations entre plusieurs variables.

Cependant, la visualisation de la structure des corrélations n'est réalisable que sur des plans, ce qui limite la perception précise des phénomènes si les variables sont nombreuses et leurs relations complexes. La contrainte d'orthogonalité des axes rend souvent l'interprétation délicate au-delà du premier plan factoriel, car les informations délivrées sont alors résiduelles, sachant les proximités déjà observées sur les axes précédents. En comparaison, les méthodes de classification prennent en compte l'ensemble des dimensions du nuage de points, et corrigent donc les distorsions des projections factorielles, en appréhendant les individus tels qu'ils sont en réalité, et non tels qu'ils apparaissent en projection.

III. 3.2.2. Analyse des assemblages des communautés

L'analyse des communautés microbiennes ou de nématodes permettent d'établir des matrices de la composition (présence-absence) ou de l'abondance relative d'une espèce, d'un taxon, ou d'un groupe donné. L'information contenue dans ces matrices peut être extraite sous la forme d'indices de similarité (indice de Sørensen, ou son inverse l'indice de Bray-Curtis ; Sørensen 1957 ; Bray et Curtis, 1957) et représentée sous la forme de dendrogramme.

Pour les données de biologie moléculaire, le coefficient de similitude de Dice permet une comparaison deux à deux des profils DGGE, en rapportant le nombre de fragments communs au nombre total de fragments observés dans les deux profils. Après comparaison de tous les profils deux à deux, une matrice de similitude peut être construite et présentée sous la forme d'un dendrogramme en utilisant une méthode de regroupement par la distance moyenne entre les souches (UPGMA ; *Unweighted Pair Group Method Algorithm* ; Zhu et al., 2003). L'analyse des gels DGGE a été réalisée en utilisant le logiciel Phoretix 1D V10 (Nonlinear Dynamics, Newcastle upon Tyne, UK) qui fournit les caractéristiques de toutes les bandes détectables (position, intensité, aire).

Un test PerMANOVA a été réalisé sur la matrice de similarité liée aux données de structure des communautés de nématodes. Ce test permet d'évaluer statistiquement les effets des traitements sur la communauté de nématodes ainsi que les interactions éventuelles entre traitements. Le logiciel PRIMER (PRIMER-E Ltd, Plymouth, UK) a été utilisé à cet effet.

Les méthodes d'ordination permettent de représenter la structuration du jeu de données, telles que l'abondance relative des espèces, sur un nombre réduit d'axes, d'ordonner les échantillons (les objets) dans cet espace et d'étudier leur positionnement relatif et leur lien *a posteriori* avec les axes porteurs de variables écologiques. Ainsi, la méthode du cadrage multidimensionnelle non métrique (NMDS ; *Non-metric Multi-Dimensional Scaling*) permet de déceler les relations d'ordre (gradient) entre les échantillons et offre une « cartographie » basée sur la matrice de similarité respectant au mieux les rangs de similarité entre les échantillons (Kruskal et Wish, 1978).

Pour les communautés de nématodes, l'assemblage des nématodes entre échantillons a été évaluée par l'indice de Bray - Curtis (Bray et Curtis, 1957) à l'aide du logiciel PRIMER (PRIMER-E Ltd, Plymouth, UK). Les erreurs entre les matrices de similarité et la représentation NMDS sont évaluées grâce à une valeur d'un paramètre appelé « stress ». De

faibles valeurs de stress (0 à 0,2) indiquent une bonne représentation graphique de l'information contenue dans la matrice de similarité de rang. L'analyse NMDS de la structure des données issue de l'étude des communautés microbiennes a été réalisée avec le logiciel PCORD (MjM Software Design, Gleneden Beach, OR, USA ; version 6.0) en se basant sur l'indice de similarité de Sørensen. La représentation graphique est considérée comme bonne ou exploitable lorsque la valeur du stress est comprise entre 5 et 10 ou entre 10 et 15, respectivement. Par ailleurs, un test de permutation (MRPP, *Multi Response Permutation Procedure*) a été réalisé pour apprécier le regroupement obtenu sur l'ordination NMDS des profils DGGE (McGune et Grace 2002 ; Rachid et al., 2012). C'est une méthode non-paramétrique qui teste l'hypothèse d'une différence nulle entre deux ou plusieurs groupes d'objets définis *a priori*. Cela permet de pondérer les différences entre groupes par la variabilité à l'intérieur d'un groupe. Cette approche fournit ainsi une mesure d'agrément intra-groupe (A) qui témoigne de « l'effet groupe » observé et une valeur de probabilité associée. Les valeurs A varient entre -1 et 1 ; Une valeur positive indique une différence entre les groupes.

L'analyse de la structure des communautés microbiennes est également complétée par une analyse des espèces indicatrices (*Indicator Species Analysis* ou IndVal ; Dufrêne et Legendre, 1997). Cette analyse menée avec le logiciel PCORD permet de mesurer la spécificité des bandes DGGE. Avec cette méthode, une valeur indicatrice est calculée pour chaque bande, dans chaque type de traitement (McCune et Grace, 2002). La valeur indicatrice (notée VI) d'une bande est comprise entre 0 (pas d'indication) et 100 (indication parfaite). Une valeur indicatrice maximale peut être interprétée comme une mesure de la spécificité d'une bande liée à un traitement donné. Des bandes ayant des valeurs indicatrices supérieures à 25 constituent de bons indicateurs spécifiques (Dufresne et Legendre, 1997). La significativité de la valeur VI (valeur de probabilité *p*) est calculée par le test de Monte Carlo basé sur 4999 randomisations.

Chapitre II : Effet de l'arbuste *Piliostigma reticulatum* sur les communautés microbiennes d'un sol cultivé en mil (Sénégal).

Une partie de ce travail a fait l'objet d'une communication orale dont le résumé figure dans les actes du congrès :

Diakhaté S., Chevallier T., Diallo N.H., Ndour Y., Abadie J., Deleporte P., Chapuis-Lardy L., 2012. Effet des arbustes natifs sur la diversité fonctionnelle des sols de la région soudano-sahélienne (Sénégal). 11^{èmes} Journées d'Etude des Sols, 19-23 mars 2012, Versailles.

Accessible sur internet :

https://colloque4.inra.fr/journees_etude_sols_2012/content/download/1119/16845/version/1/file/Actes_JES_2012.pdf

Un article est par ailleurs en cours de rédaction et sera soumis à la revue Applied Soil Ecology.

Chapitre II : Effet de l'arbuste *Piliostigma reticulatum* sur les communautés microbiennes d'un sol cultivé en mil (Sénégal)

I. Introduction

La zone d'influence des arbustes naturellement présents en milieu semi-aride est souvent considérée comme un « îlot de fertilité » (Wezel et al., 2000). Au Sénégal, des études récentes ont montré que la présence d'arbustes natifs dans les champs pouvaient faciliter le développement d'une plante cultivée (Dossa et al., 2013 ; Kizito et al., 2006). Lorsque des plantes partagent le même environnement, les interactions qui en découlent peuvent être bénéfiques à l'une d'elles en termes de germination, de survie ou de croissance, c'est ce que l'on appelle la facilitation (Callaway et al., 2007). Ce processus écologique est souvent attribué à un effet direct d'une des plantes sur l'environnement, notamment le micro-climat, et la disponibilité des ressources (Callaway et al., 2007) mais il découle aussi indirectement des communautés microbiennes du sol (Hortal et al., 2013 ; Rodriguez-Echeverria et al., 2013). La présence d'arbustes natifs en milieu sahélien entraîne des modifications des paramètres abiotiques du sol, et notamment du cycle de l'eau, propice au maintien de l'activité microbienne y compris en saison sèche (Dossa et al., 2009, 2010 ; Lufafa et al., 2008 ; Kizito et al., 2006). La composition des espèces végétales, la qualité et la quantité des ressources organiques, notamment la fourniture en carbone dans la rhizosphère, peuvent affecter positivement les communautés microbiennes et leur capacité à remplir leur rôle dans le fonctionnement du sol, notamment dans le recyclage des nutriments (Eisenhauer et al. 2010; Ladygina et Hedlund, 2010).

Au Sahel, la présence d'arbustes dans les systèmes cultivés ainsi que la gestion de leurs résidus de coupe (Lahmar et al., 2012) permettent une meilleure disponibilité en éléments nutritifs et une amélioration des rendements de la culture associée (Dossa et al., 2013). La minéralisation des matières organiques et la disponibilité des éléments nutritifs sont régulées par les communautés microbiennes du sol (Brussaard, 1994 ; Davey, 1996 ; Diedhiou et al., 2009, 2013). Il convient donc de mieux caractériser l'effet de la présence de ces arbustes natifs sur les communautés microbiennes du sol en termes de densité, d'activité et de diversité (fonctionnelle et génétique). La densité est appréhendée au travers d'une mesure de la biomasse microbienne ; l'activité donne une image de l'aptitude dans un environnement donné des communautés présentes à être actives, donc fonctionnelles. La quantification des activités enzymatiques du sol est ainsi indicatrice de l'activité des microorganismes dans la décomposition de la matière organique et le cycle des éléments (Bending et al 2004 ; Kandeler et al., 2006). La réponse catabolique des microorganismes à l'addition de différents substrats carbonés rend compte de leur aptitude à dégrader des molécules plus ou moins complexes, et décrit ainsi la diversité fonctionnelle des micro-organismes hétérotrophes du sol (Berg et Steinberger, 2010). Les fractions labiles et récalcitrantes des matières organiques sont décomposées par des communautés

distinctes, les bactéries étant les principaux acteurs lors de la dégradation des substances labiles tandis que les champignons s'attaquent aux composés complexes. Les approches moléculaires, notamment la PCR-DGGE, permettent d'explorer plus ou moins finement la structure génétique des communautés microbiennes du sol, et de différencier bactéries et champignons (Muyzer et al., 1993 ; Kowalchuk et al., 2006).

Notre objectif dans ce chapitre est de déterminer dans quelles mesures la densité, l'activité, les diversités fonctionnelle et génétique des microorganismes du sol d'une culture de mil sont affectées lorsque l'arbuste *Piliostigma reticulatum* est maintenu dans l'agrosystème.

II. Matériel & Méthodes

II.2. Matériel

II.2.1. Site d'étude

Notre site d'étude est localisé dans le bassin arachidier du Sénégal, dans la station expérimentale de l'ISRA (Institut Sénégalais de Recherches Agricoles) à Nioro-du-Rip (13°45 N, 15°47 W), région de Kaolack (Figure 18). La région est caractérisée par une pluviométrie de 750 mm an⁻¹ répartie entre les mois de Juillet de Septembre. Les températures varient de 20°C en moyenne entre Décembre et Janvier à 37,5°C entre Avril et Juin (données ISRA).



Figure 18 : Situation géographique du site expérimental, localisé dans la station expérimentale de l'ISRA à Nioro-du Rip, région de Kaolack (Sénégal).

Dans cette région, l'arbuste *Piliostigma reticulatum* est présent avec une densité moyenne de 185 arbustes à l'hectare. Le sol de type Lixisol (FAO, 2006) est localement appelé Deck-Dior (Badiane et al., 2000).

II.2.2. Echantillonnage dans le dispositif expérimental

Le dispositif expérimental est un essai factoriel sur environ 2500 m² pour déterminer les effets de la présence de *Piliostigma reticulatum* sur la productivité du mil (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. ; variété Souna 3). Le dispositif a été mis en place en 2002 puis laissé en jachère cloturé de 2005 à 2011 et reactivé avec la même modalité qu'en 2002 à la saison culturale de 2011. Le mil est cultivé en saison des pluies, de Juin à Septembre suivant différentes modalités testées sur des parcelles de 45 m² et répétées de façon aléatoire sur 4 blocs. Notre étude porte sur 4 traitements : i) sol nu (traitement de contrôle noté C) ; ii) sol prélevé dans la rhizosphère du mil lorsqu'il est cultivé seul (traitement M, mil) ; iii) sol prélevé entre les racines de l'arbuste (traitement P, *Piliostigma reticulatum*), et enfin iv) sol prélevé au niveau de la zone de contact entre les racines du mil et de l'arbuste dans le traitement présentant l'association culturale (traitement M+P, Figure 19). Dans ces parcelles de mil cultivé en présence de *P. reticulatum* (M+P), les parties aériennes de l'arbuste sont coupées en petits morceaux (1-5 cm) et sont rapportés sous forme de mulch à la surface du sol au moment du semis de la céréale. Ce recépage permet d'éviter une compétition entre l'arbuste et le mil au début du cycle de la céréale. Dans cette pratique dérivée de l'agroforesterie, l'arbuste repousse ensuite aux côtés du mil (Lahmar *et al.*, 2012).



Figure 19 : L'association mil – *Piliostigma reticulatum* dans le dispositif expérimental de Nioro (© N.H. Diallo, ISRA).

L'échantillonnage des sols a été réalisé, au moment d'épiaison du mil, en prenant à la tarière 10 échantillons dans l'horizon de surface (0-10 cm) dans chacune des 4 parcelles d'un traitement donné, puis en les mélangeant pour former un échantillon composite par parcelle. Ainsi chaque traitement compte 4 répétitions, représentatives et individualisées ($n = 4$).

Chaque échantillon prélevé est réparti en trois lots : (i) une aliquote d'environ 100 g est séchée à l'air et tamisée avant d'être utilisée pour la caractérisation physico-chimique des sols ; (ii) une aliquote d'environ 20 g est conservée à -20°C pour les analyses de biologie moléculaire ; (iii) le reste de l'échantillon est conservé frais (à 4°C) et utilisé rapidement pour la détermination de la biomasse microbienne, des activités enzymatiques et de la diversité fonctionnelle.

II.3. Méthodes

II.3.1. Caractérisation physico-chimique des sols

La caractérisation physico-chimique des sols a été effectuée par des méthodes conventionnelles au Laboratoire des Moyens Analytiques (LAMA) de l'IRD et au Laboratoire d'Ecologie Microbienne des Sols Tropicaux (LEMSAT), entités du Laboratoire International Mixte Intensification Ecologique des Sols cultivés en Afrique de l'Ouest (LMI IESOL, Campus IRD-ISRA de Bel-Air, Dakar). La texture, analyse de la répartition des particules minérales en fonction de leur taille, a été déterminée par tamisage, sédimentation et prélèvement à la pipette de Robinson (Aubert et al., 1954). Dix grammes de sol tamisés à 2 mm sont soumis à une attaque par l'eau oxygénée (H_2O_2 ; 50 ml diluée à 30%) afin d'éliminer la matière organique. Les particules minérales sont ensuite dispersées par ajout de 25 ml d'une solution diluée de pyrophosphate de sodium 65 g L^{-1} . La solution obtenue est tamisée sous flux d'eau à 200 et à $50 \mu\text{m}$ pour obtenir les fractions les plus grossières (sables et limons grossiers) et les particules les plus fines (limons fins et argiles) sont prélevées après sédimentation dans une allonge. Les fractions obtenues sont pesées après séchage à l'étuve et la proportion relative de chaque fraction granulométrique est calculée afin de déterminer la texture des échantillons de sol.

Les teneurs en carbone et azote totaux ont été déterminées, après calcination de l'échantillon à 900°C , à l'aide d'un analyseur élémentaire CHN (EA1112 Séries, Thermo Finnigan, Italie).

Le phosphore total a été déterminé, sur une chaîne d'analyse colorimétrique par flux continu (Technicon, AutoAnalyseur III) après attaque par un mélange d'acide nitrique et d'acide chlorhydrique concentrés, suivant la méthode de Murphey et Riley (1962). Par ailleurs, le pH des échantillons de sol a été mesuré dans l'eau selon le ratio 1/2.5 (poids/volume) à l'aide du pH-mètre (Delta 320, Mettler Toledo, Suisse), et l'azote minéral dosé par colorimétrie (Technicon, AutoAnalyseur III) après extraction dans une solution KCl 1M (Bremner, 1965).

II.3.2. Biomasse microbienne

La biomasse microbienne a été déterminée par la méthode fumigation-extraction développée par Amato et Ladd (1988). Cette méthode repose sur le dosage colorimétrique de l'azote α -aminé des parois microbiennes libéré après lyse cellulaire. Le sol humide est incubé 10 jours dans une atmosphère saturée en chloroforme (fumigation). Le produit de la lyse des microorganismes du sol est extrait en fin d'incubation par une solution KCl 2M puis dosé par colorimétrie. La réaction colorimétrique est basée sur la formation d'un composé de couleur pourpre qui apparaît lorsque l'azote est mis en présence de réactif à la ninhydrine.

La lecture de la densité optique du produit est lue à 570 nm à l'aide d'un spectromètre (*SpectrAA 220FS, Varian Inc., Buc, France*). La biomasse est exprimée en équivalent carbone ($\mu\text{g C g}^{-1}$ sol) en multipliant par un facteur de 21 la différence de concentration en azote α -aminé d'un échantillon de sol avant et après les 10 jours de fumigation (Amato et Ladd, 1988).

II.3.3. Activités enzymatiques

II.3.3.1. Principe de la mesure

Le principe de mesure d'activité enzymatique est le suivant : un substrat spécifique de l'activité à caractériser est introduit dans le sol, les microorganismes capables de dégrader ce substrat entrent alors en action et la concentration en solution du produit coloré issu de sa dégradation est mesurée avec un spectromètre (*Spectronic 401, Spectronic Instruments, France*). Chaque essai est répété 3 fois par échantillon de sol frais. Pour chaque échantillon de sol, un témoin et un blanc sont également préparés pour déceler une éventuelle coloration du surnageant qui ne serait pas due à la présence du produit issu de la réaction; le témoin est réalisé en présence de sol mais le substrat est ajouté uniquement après blocage de la réaction enzymatique, ceci permet de déterminer le bruit de fond colorimétrique lié aux constituants (notamment organiques) du sol ; le blanc est constitué de tous les réactifs mais sans le sol. Les valeurs de densité optique développées par le témoin et le blanc sont retranchées à la moyenne des 3 essais afin d'avoir la densité optique due à la présence du produit de la dégradation enzymatique du substrat. Une gamme étalon est préparée à partir d'une solution de concentration connue du produit à doser et permet de renseigner la relation entre la densité optique et la concentration de produit dans les extraits.

II.3.3.2. Activité β Glucosidase

L'activité de la β -glucosidase a été dosée à partir de la méthode colorimétrique décrite par Hanayo (1973) modifiée. La réaction enzymatique produit du *para*-nitrophénol (de couleur jaune en milieu alcalin) dont la concentration en solution sera proportionnelle à l'activité de l'enzyme. Les essais sont constitués de 100 mg de sol frais, 0,1 ml de tampon citrate-phosphate à pH 5,8 et 100 μl de *para*-nitrophenyl β D-Glucopyranoside (de concentration 5 mM ; Sigma) mélangés dans des tubes puis mis en incubation sous agitation, à 37°C pendant 2 h. La réaction est ensuite stoppée par alcalinisation du milieu en ajoutant 3 ml de

carbonate de sodium (0,2 M Na_2CO_3). La suspension de sol est centrifugée à 10 000 rpm pendant 5 minutes. La densité optique du surnageant est mesurée au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 400 nm. Pour chaque échantillon de sol, la concentration moyenne en *para*-nitrophénol de trois répétitions de l'essai est soustraite à celle du témoin et du blanc. L'activité β -glucosidase est exprimée en $\mu\text{g } p\text{-NP g}^{-1} \text{ sol h}^{-1}$.

II.3.3.3. Activité Uréasique

Le dosage de son activité a été réalisé par la méthode de Kandeler et Gerber (1988). Les essais sont constitués de 1 g de sol mélangé à 1,4 ml de tampon phosphate à pH 7 et de 100 μl d'urée (de concentration 1,2 M). Les tubes sont agités pendant 2 h à 37°C. La réaction est arrêtée par alcalinisation, en ajoutant 3 ml de chlorure de potassium (2M KCl), et les tubes sont à nouveau agités pendant 30 min à la température ambiante puis centrifugés à 10 000 rpm pendant 5 min. La coloration due à la présence du produit de la réaction enzymatique est révélée en ajoutant à 1 ml du surnageant, 9 ml d'eau déminéralisée, 5 ml d'un mélange de salicylate de sodium et de nitroprussiate de sodium (1,06 M) et 2 ml d'une solution de dichloroisocyanurate de sodium (39,1 M). Après 30 min d'agitation, la densité optique est lue à 660 nm à l'aide d'un spectromètre ; les valeurs du témoin et du blanc sont retranchées. Les résultats sont exprimés en $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ sol h}^{-1}$ après étalonnage du spectromètre à partir d'une solution de concentration connue en NH_4^+ .

II.3.3.4. Activité Phosphatase acide

Le dosage de l'activité des phosphatases est adapté de la méthode décrite par Tabatabai et Bremner (1969). Il s'agit d'introduire dans des tubes en verre 100 mg de sol de sol frais, 100 μl de substrat *p*NP-P (*para*-nitro-phényl-phosphate ; 5 mM ; Sigma) et 400 μl de tampon universel à pH 6,5. Les tubes sont alors incubés à 37°C sous agitation. Au bout d'une heure, la réaction est arrêtée en alcalinisant le milieu avec 400 μl de NaOH (0,5 M) auxquels sont ajoutés 100 μl de CaCl_2 (0,5 M) afin de complexer les substances organiques. La solution est centrifugée pendant 5 min à 10 000 rpm et la densité optique du surnageant est lue au spectromètre à une longueur d'onde de 400 nm. Les valeurs du témoin et du blanc sont retranchées, et l'activité phosphatase est exprimée en $\mu\text{g } p\text{NP g}^{-1} \text{ sol h}^{-1}$, après étalonnage de l'appareil avec une gamme étalon.

II.3.3.5. Activité Arylsulfatase

La méthode est celle de Tabatabai et Bremner (1970) modifiée selon Klose et al. (2011). L'essai composé de 100 mg de sol frais, 4 ml du tampon acétate (à pH 5,8), 0,25 ml de toluène et 1 ml de sulfate de *para*-nitrophényl est incubé à l'étuve pendant une heure à 37°C. Le *para*-nitrophénol libéré par l'activité de l'arylsulfatase est extrait par centrifugation après ajout de 1 ml CaCl_2 (0,5 M) et 4 ml NaOH (0,5 M). Les densités optiques des solutions de l'essai, du témoin et du blanc sont mesurées au spectromètre à 420 nm. L'activité arylsulfatase est déterminée après étalonnage avec une solution de *p*-NP de concentration connue et exprimée en $\mu\text{g } p\text{-NP g}^{-1} \text{ sol h}^{-1}$.

II.3.3.6. Activité de la déshydrogénase

La méthode utilisée est celle de Von Mersi et Schinner (1991) modifiée par Prosser et al. (2011). Une aliquote de 100 mg de sol frais est suspendue dans un mélange contenant 3,5 ml d'une solution 2-(*p*-iodophenyl)-3-(*p*-nitrophenyl)-5-phenyltetrazolium chloride (INT) et 3,5 ml de tampon tris-hydroxyméthyl aminométhane (THAM). La suspension est homogénéisée au vortex puis incubée à l'étuve à 37°C pendant 2 heures. Après l'incubation, 10 ml d'un mélange éthanol et N,N-diméthyl formamide sont ajoutés. Au cours de la réaction, l'INT est réduit en *p*-iodonitrotetrazolium formazan (INTF). La densité optique de la solution est lue au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 464 nm. Les résultats sont exprimés en $\mu\text{g INTF g}^{-1} \text{sol h}^{-1}$.

II.3.3.7. Hydrolyse du diacétate de fluorescéine

L'hydrolyse de la Fluorescéine Di-Acétate (FDA) (3'6'-diacetyl-fluorescéine ; FDA) a été dosée selon la méthode d'Adam et Duncan (2001). Des tubes contenant 100 mg de sol, 15 ml de tampon phosphate (60 mM) à pH 7 et 200 μl de FDA (4,8 mM) sont incubés à l'étuve à 30°C pendant 1 heure. Après incubation, la réaction est stoppée par 10 ml d'acétone. La suspension de sol est ensuite centrifugée à 10 000 rpm pendant 5 minutes. La quantité de fluorescéine libérée par hydrolyse de la FDA a été mesurée par colorimétrie à une longueur d'ondes de 490 nm.

L'activité d'hydrolyse de la FDA est exprimée en $\mu\text{g Fluorescéine g}^{-1} \text{sol h}^{-1}$.

II.3.4. Diversité métabolique

L'analyse des profils cataboliques des communautés microbiennes (*Community Level Physiological Profil* (CLPP), en anglais) a été conduite avec des microplaques commerciales MicroRespTM (Campbell et al., 2003). Cette méthode rapide permet d'analyser l'utilisation de différentes sources de carbone par les microorganismes du sol et donc de déterminer la diversité métabolique d'un échantillon naturel. Des échantillons de sol frais (0.415 g) tamisés à 2 mm ont été placés dans des plaques aux puits profonds. Dans chaque puits, le sol est ramené à 60% de la capacité au champ par addition d'une solution contenant un substrat carboné différent par puits (Tableau 6) à raison de 33,6 mg de substrat par puits.

Tableau 6 : Les différents substrats utilisés comme source de carbone pour la détermination des profils cataboliques par MicroRespTM.

| Groupe Biochimique | Substrat | Formule chimique |
|----------------------|---------------------------|---|
| Carbohydrates | Glucose | $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ |
| | Saccharose | $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ |
| | Tréhalose | $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ |
| | Cellulose | $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$ |
| | Dextrine de Maïs (Amidon) | $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$ |
| Acides Carboxyliques | Acide Oxalique | $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$ |
| | Acide Malique | $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_5$ |

| | | |
|------------------|-----------------------------|----------------|
| Acide Phénolique | Acide protocatéchique | $C_7H_6O_4$ |
| Acide aminé | Alanine | $C_3H_7NO_2$ |
| Protéines | Bovine Sérum Albumine (BSA) | $C_6H_3N_4O_6$ |

La plaque est immédiatement recouverte par une seconde microplaque contenant un gel agar et un indicateur coloré (la préparation et le calcul des quantités sont donnés en annexe 4). L'étanchéité aux gaz et l'individualité des puits sont assurées par un joint placé entre les deux microplaques. Le CO_2 dégagé par l'activité catabolique des microorganismes du sol provoque un changement de couleur du gel agar proportionnelle à la quantité dégagée (Figure 20).



Figure 20 : Principe de la technique MicroResp™ (crédit photo : www.MicroResp.com)

La respiration basale du sol correspond au dégagement de CO_2 des puits dit 'témoin' dans lesquels aucun substrat n'a été ajouté au sol. Après 6 heures d'incubation des microplaques à l'étuve à $29^\circ C$, le changement de couleur du gel est mesuré au spectrophotomètre ($\lambda = 570$ nm ; 1420 Multilabel counter, Perkin Elmer, modèle Victor3) et permet, après calibration, d'estimer le taux de respiration pour chaque puits (en $\mu g C-CO_2 g^{-1} sol h^{-1}$). Quatre répétitions ont été réalisées par échantillon de sol et par substrat.

Le quotient métabolique (qCO_2), proposé par Anderson et Domsch (1990) correspond au flux de CO_2 issue de la respiration basale par unité de biomasse :

$$qCO_2 = \text{flux } C-CO_2 \text{ du sol sans substrat} / \text{Biomasse Microbienne.}$$

Cet indicateur renseigne sur l'effet des pratiques culturales sur l'efficacité des communautés microbiennes du sol (Fließbach et Mäder, 1997).

L'indice de diversité de Shannon-Weaver ($H' = - \sum P_i \ln(P_i)$; Shannon et Weaver, 1962) est calculé en assimilant P_i à l'importance relative d'un substrat (c'est-à-dire le nombre de substrat pour lequel le dégagement de CO_2 est supérieur à celui de la respiration basale rapporté au nombre total de substrats).

II. 3.5. Etude de la structure génétique des communautés microbiennes

L'impact du piliostigma et de son association avec le mil sur la structure et la diversité des communautés microbiennes du sol a été étudié par la méthode PCR-DGGE. La région V3 du gène 16S de l'ADN ribosomique (ADNr 16S) et la région de l'espaceur interne transcrit ('ITS', *Internal Transcribed Spacer*) ont ainsi été ciblées pour étudier respectivement la communauté bactérienne totale et la communauté fongique.

II. 3.5.1. Extraction de l'ADN génomique et purification

Toutes les extractions d'ADN ont été réalisées à l'aide du kit '*FastDNA SPIN for soil*' (Qbiogene, Carlsbad, USA) en suivant les recommandations du fournisseur pour leur utilisation avec un homogénéiseur FastPrep® (MP Biomedicals, Santa Ana, USA).

La technique d'extraction utilisée est une technique mise au point pour extraire de l'ADN total d'échantillons de sol (Bælum et al., 2006) rendue plus rapide par l'utilisation d'un kit commercial. Cette approche combine deux différents types de lyses cellulaires : une lyse mécanique par broyage et une lyse enzymatique. Une aliquote de 0,5 g de sol a été utilisée pour l'extraction de l'ADN total des échantillons. Les échantillons de sol sont fortement secoués dans l'homogénéiseur FastPrep® en vue de libérer l'ADN des cellules. Les microorganismes et les matières en suspension retenus sur le filtre sont élués avec un mélange de détergent (978 µl de tampon Phosphate de Sodium + 122 µl de tampon certifié MT (MP Biomedicals, Santa Ana, USA) permettant une meilleure homogénéisation et solubilisation des protéines. Le mélange est transféré dans un tube qui contient des billes de céramique et de silice ('*Lysing Matrix*' ; MP Biomedicals, Santa Ana, USA) permettant de lyser les parois des microorganismes. Les cellules sont cassées mécaniquement dans un appareil adapté ('*Bead Beater*' ; MP Biomedicals, Santa Ana, USA). Après une centrifugation (30 sec à 12 000 rpm), le surnageant, contenant l'ADN, est traité avec 250 µl de réactif 'PPS' (*Protein Precipitation Solution*), tandis que le culot contenant les débris cellulaires et les protéines sont éliminés. A la suite d'une seconde centrifugation (30 sec à 12 000 rpm), le surnageant est transféré dans un nouveau tube auquel est ajouté une matrice de silice ('*Binding Matrix*'). La fixation de l'ADN chargé négativement se fait sur la matrice, qui est ensuite transférée sur une colonne de filtration. Après plusieurs étapes de centrifugation et de purification à l'éthanol, l'ADN est élué avec de l'eau exempte de désoxyribonucléase (DNase).

Après l'extraction, les extraits d'ADN sont contrôlés sur un gel agarose (1,5% p/v) puis quantifiés à l'aide d'une gamme étalon (Annexe 2). Une aliquote de 5 µl de chaque extrait ainsi que des points de la gamme sont déposés dans une cuve d'électrophorèse pour une migration de 30 minutes à 100 volts. La quantité d'ADN dans nos échantillons est calculée à l'aide du logiciel TotalLab™ (TL 120, version 2006 ; NonLinear Dynamics Ltd, Newcastle upon Tyne, UK) par comparaison de l'intensité de la fluorescence des ADN extraits avec une gamme d'ADN de thymus de concentration connue.

L'ADN ainsi extrait de chaque échantillon de sol a servi à la comparaison de la structure et la diversité des communautés bactérienne totale (16S ADNr) et fongique (ITS) présentes dans les sols des différents traitements de l'agrosystème (C, P, M et M+P).

II. 3.5.2. Amplification de la région V3 de l'ADN 16S ribosomique

L'amplification de la région V3 de l'ADNr 16S a été effectuée en utilisant un couple d'amorces universelles 338f GC et 518r (Muyzer et al., 1993). Ces amorces génèrent des amplicons d'environ 230 paires de bases. L'amplification a été réalisée selon la méthode de PCR 'Touchdown' (la température d'hybridation diminue de 0,5°C à chaque cycle depuis 65°C jusqu'à 55°C) à l'aide d'un thermocycleur GeneAmp® PCR system 9700 (Applied Biosystems, Foster City, USA). Le mélange réactionnel de 25 µl est composé de 5 ng d'ADN, 1,25 µl (20 µM) de chacune des amorces, de l'enzyme Taq polymérase (*Taq Ready-To-Go* ; Amersham-Biosciences, USA) (Annexe 3). Le cycle thermique utilisé est le suivant : 5 min à 94°C (dénaturation), 1 min à 65°C (hybridation) et 1 min à 72°C (dénaturation) ; et ceci répété durant 30 cycles d'amplification.

La taille des fragments est contrôlée en déposant 3 µl de produit PCR mélangés à 3 µl de bleu de charge (bleu de bromophénol) dans les puits d'un gel d'agarose à 1.5 % (p/v). La migration se fait à 100 V pendant 20 minutes. Le gel est ensuite coloré dans du bromure d'éthidium (BET; 1 mg L⁻¹) pendant 30 minutes, rincé à l'eau pendant 10 minutes puis photographié sous table UV à l'aide du logiciel BIO-Capt™ (Vilbert Lourmat, Marne-la-Vallée, France).

II. 3.5.3. Amplification de la région ITS

La région ITS a été amplifiée par la méthode de PCR emboîtée (*Nested PCR*, en anglais) afin d'augmenter la sensibilité de l'amplification. Il s'agit d'une PCR réalisée en deux étapes successives avec 2 couples d'amorces différents.

Pour la première PCR, le couple d'amorces ITS1F et ITS4 (Gardes et Bruns, 1993) a été utilisé dans un mélange réactionnel de 25 µl constitué de 2,5 µl de chaque amorce (20 µM), 2,5 ng d'ADN et de la Taq polymérase. L'amplification a été réalisée à l'aide du thermocycleur GeneAmp® PCR system 9700 selon le cycle thermique suivant : une dénaturation initiale de 5 min à 95°C suivie de 30 cycles caractérisés par une dénaturation à 95°C pendant 30 sec, une hybridation à 55°C pendant 30 sec, et une élongation à 72°C pendant 1 min. L'amplification se termine par une extension finale réalisée à 72°C pendant 10 min. Les amplifiats sont contrôlés en faisant migrer 3 µl dans un gel d'agarose à 1.5% (p/v) à 100 V pendant 30 minutes. Le gel est ensuite mis à colorer dans du bromure d'éthidium (BET; 1 mg L⁻¹) pendant 30 min puis rincé dans l'eau pendant 10 min avant d'être photographié sous la table UV à l'aide du logiciel BIO-Capt™.

Cet amplifiât a servi de matrice pour la seconde PCR. Les fragments sont découpés à partir du gel puis élués dans 100 µl d'eau déminéralisée pendant une nuit à 4°C. Cette PCR a été effectuée en utilisant les couples d'amorces ITS1F-GC et ITS2 (Gardes et Bruns, 1993) dans un mélange réactionnel de 25 µl contenant 2,5 µl de chaque amorce (25 µM), 1 µl d'amplifiât et de l'eau ultra-pure. Les conditions de cette seconde PCR et du contrôle des amplifiats sur gel sont identiques à celles de la première phase d'amplification.

II. 3.5.4. Electrophorèse sur gel en gradient de dénaturation (DGGE)

Après l'amplification, 15 à 20 µl des produits issus de la PCR sont déposés avec 8 µl de bleu de charge sur un gel de polyacrylamide à 8% avec un gradient linéaire de dénaturant chimique de 45 à 70% pour l'ADNr 16S et de 22 à 58% pour l'ITS, respectivement. Le gel est constitué d'urée (7 M) et de formamide (40% ; v/v). La migration a été réalisée avec l'appareil d'électrophorèse PhorU (Ingeny, Leiden, NL) dans un tampon TAE (Tris, Acétate, EDTA ; Annexe 3) pendant 18 heures à 100 V. A la fin de la migration, le gel est coloré au bromure d'éthidium (BET ; 1 mg L⁻¹) pendant 20 min sous une légère agitation puis rincé à l'eau déminéralisée pendant 10 min. L'acquisition des profils d'ADN est obtenue à l'aide du logiciel Bio-Capt™. L'analyse avec le logiciel Phoretix 1D (version 10 ; Nonlinear Dynamics, Newcastle upon Tyne, UK).

La richesse spécifique (Rs) des communautés microbiennes a été déterminée en fonction du nombre de bandes présentes dans un profil donné (Vivas et al., 2009).

L'indice de diversité de Shannon-Weaver est fonction de la présence relative de chaque bande ($H' = - \sum P_i \ln(P_i)$; Shannon, 1949) et l'indice de dominance de Simpson de l'intensité relative des bandes ($D = \sum P_i^2$; Simpson, 1949).

II.3.6. Analyses statistiques

Les résultats issus de l'analyse des activités enzymatiques et de la diversité fonctionnelle sont soumises à une analyse de variance (ANOVA) pour déterminer les différences significatives entre les traitements avec le logiciel XLSTAT (Version 2010 Addinsoft®) en utilisant le test de Fischer (LSD) avec un degré de probabilité $P < 0,05$. Ce logiciel a également été utilisé pour une analyse en composantes principales (ACP) des données de la biomasse microbienne et des activités enzymatiques.

Le logiciel PCORD (version 6.0 ; MjM Software Design, Gleneden Beach, USA) a été utilisé pour les analyses multivariées. Une analyse NMDS (*Non metric multidimensional scaling*) a été réalisée en se basant sur la distance de Sørensen pour déterminer l'effet de l'association sur la structure des communautés microbiennes du sol. Une approche par permutation (MRPP, *Multi Response Permutation Procedure*) a été effectuée pour comparer le regroupement obtenu sur l'ordination NMDS (McGune et Grace, 2002). La méthode d'analyse des espèces indicatrices (*Indicator Species Analysis* ou IndVal) développée par Dufrêne et Legendre (1997) a été appliquée afin de mesurer la spécificité écologique des espèces (bandes). Il s'agit de déterminer les différentes bandes qui influencent la représentation. Avec cette méthode, une valeur indicatrice est calculée pour chaque espèce, dans chaque type de traitement (McCune & Grace, 2002). La valeur indicatrice (notée VI) d'une espèce (bande) est comprise entre 0 (pas d'indication) et 100 (indication parfaite). Des bandes ayant des valeurs indicatrices supérieures à 25 constituent de bons indicateurs (Dufrêne et Legendre, 1997).

III. Résultats

III.1. Propriétés chimiques des sols

D'une manière globale, l'analyse du tableau 7 ne montre aucune différence significative concernant le carbone total et le statut en azote minéral entre le sol témoin (C) et le sol prélevé autour de la rhizosphère du mil (M). Cependant, l'ensemble des paramètres mesurés, à l'exception du pH, sont significativement ($P < 0.05$) plus élevés dans les sols prélevés sous la zone d'influence des racines du *Piliostigma reticulatum* (P) en comparaison des sols prélevés en dehors de la zone d'influence de l'arbuste (C).

Tableau 7: Les paramètres chimiques mesurés dans les sols ($n = 4$) pour les différents traitements (C= contrôle ; P = *P. reticulatum* ; M= mil ; M+P = mil et *P. reticulatum* associés).

| Paramètres mesurés | Traitement | | | |
|--|------------|--------|---------|---------|
| | C | P | M | M+P |
| C total (mg C g ⁻¹) | 2,5 a* | 4,0 b | 3,0 a | 3,2 ab |
| N total (mg N g ⁻¹) | 0,22 a | 0,36b | 0,26a | 0,29ab |
| P total (µg P g ⁻¹) | 42,3 a | 59,5 b | 48,8 ab | 51,5 ab |
| NH ₄ ⁺ - N (µgN g ⁻¹) | 1,5 a | 5,6c | 3,2ab | 4,0bc |
| NO ₃ ⁻ - N (µg N g ⁻¹) | 1,0 a | 5,6 b | 1,5 a | 4,1 b |
| pH _{eau} | 5,5 a | 5,5 a | 5,2 a | 5,6 a |

* Différentes lettres dans une ligne indique un effet significatif à $P < 0,05$

L'association de *Piliostigma reticulatum* à la culture du mil (M+P) n'a pas eu de modifications significatives sur les paramètres mesurés lorsque le mil est cultivé sans arbuste (M) (Tableau 7) à l'exception de la concentration en nitrate (NO₃⁻-N) qui passe de 1,5 dans le traitement M à 4,1 µg N g⁻¹ dans le traitement M+P. Le pH des sols est acide et n'est pas affecté par le traitement.

III.2. Biomasse microbienne

La biomasse microbienne dans les sols varie entre 49 et 69 µg C g⁻¹. Bien que les valeurs les plus hautes soient observées en présence du mil (avec ou sans l'arbuste), la différence entre traitements n'est pas statistiquement significative (Tableau 8).

III.3. Les activités enzymatiques

Le tableau 8 présente les résultats des différentes activités enzymatiques étudiées.

L'activité β -glucosidase varie de 23,2 $\mu\text{g pNP g}^{-1} \text{ sol h}^{-1}$ dans le sol de contrôle (C, sans plante) à 45,6 $\mu\text{g pNP g}^{-1} \text{ sol h}^{-1}$ sous la canopée du piliostigma (P). Ces deux valeurs sont significativement différentes entre elles mais l'activité β -glucosidase n'est pas statistiquement différente entre les trois traitements avec plantes ($C \leq M = [M+P] \leq P$). L'activité uréase varie de 5,5 à 11,9 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ sol h}^{-1}$ avec plus un effet significatif des traitements (ANOVA ; $P < 0,05$) ; l'activité la plus élevée est observée pour le traitement associant mil et piliostigma, M+P (Tableau 8). L'activité de la phosphatase acide n'est pas différente entre le sol nu (C ; 49,3 $\mu\text{g pNP g}^{-1} \text{ sol h}^{-1}$) et le sol sous couvert de Piliostigma (P ; 59,3 $\mu\text{g pNP g}^{-1} \text{ sol h}^{-1}$) ; par contre, elle est significativement plus élevée dans les traitements mil (M et M+P ; 72,6 et 75,6 $\mu\text{g pNP g}^{-1} \text{ sol h}^{-1}$, respectivement), sans que l'on ait pour autant de différence significative entre les 3 traitements avec plantes (Tableau 8).

Tableau 8: Biomasse microbienne et activités enzymatiques des sols des différents traitements (C= sol nu, P = *Piliostigma reticulatum* ; M+P= mil+piliostigma; M = mil ; 4 répétitions / traitement).

| | Traitements | | | |
|--|-------------|---------|---------|---------|
| | C | P | M | M+P |
| Biomasse Microbienne ($\mu\text{g C g}^{-1}$) | 49,0 a | 51,5 a | 67,6 a | 69,1 a |
| β-glucosidase ($\mu\text{g pNPg}^{-1} \text{ sol h}^{-1}$) | 23,2 a | 45,6 b | 30,1 ab | 42,0 ab |
| Uréase ($\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ sol h}^{-1}$) | 5,46 a | 9,08 b | 7,30 ab | 11,86 c |
| Phosphatase acide ($\mu\text{g pNPg}^{-1} \text{ sol h}^{-1}$) | 49,3 a | 59,3 ab | 72,6 b | 75,6 b |
| Arylsulfatase ($\mu\text{g pNPg}^{-1} \text{ sol h}^{-1}$) | 0,3 a | 0,6 bc | 0,5 b | 0,8 c |
| Déshydrogénase ($\mu\text{g INTF g}^{-1} \text{ sol h}^{-1}$) | 0,10 a | 0,10 ab | 0,15 a | 0,16 b |
| FDA ($\mu\text{g Fluorescéine g}^{-1} \text{ sol h}^{-1}$) | 108,4 a | 193,0 b | 180,0 b | 209,7 b |

Dans une ligne des lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes ($P < 0,05$).

L'analyse du Tableau 8 montre que l'activité de l'arylsulfatase varie de 0,3 à 0,8 $\mu\text{g pNP g}^{-1} \text{ sol h}^{-1}$ avec un effet significatif des traitements (ANOVA ; $P < 0,05$). L'activité de l'arylsulfatase est significativement plus élevée dans les traitements M+P par rapport aux traitements C et M.

L'activité d'hydrolyse de la FDA est significativement plus importante dans les traitements avec plantes (M, P et M+P ; de 180 à 209 $\mu\text{g fluorescéine g}^{-1} \text{ sol h}^{-1}$) comparativement au traitement témoin sans plante (C ; 108,4 $\mu\text{g fluorescéine g}^{-1} \text{ sol h}^{-1}$). Contrairement à la FDA, l'activité de la déshydrogénase (DHA) ne montre pas de variation significative d'une manière globale ($P = 0,058$). Aucune différence significative n'a été notée entre le sol sans plante (C) et le sol sous couvert du piliostigma (Tableau 8). Cependant, une augmentation significative est notée entre le mil cultivé seul (M) et l'association culturale (M+P).

Une analyse en composantes principales a été réalisée en incluant comme variables les activités enzymatiques et la biomasse microbienne des différents traitements (Figure 21).

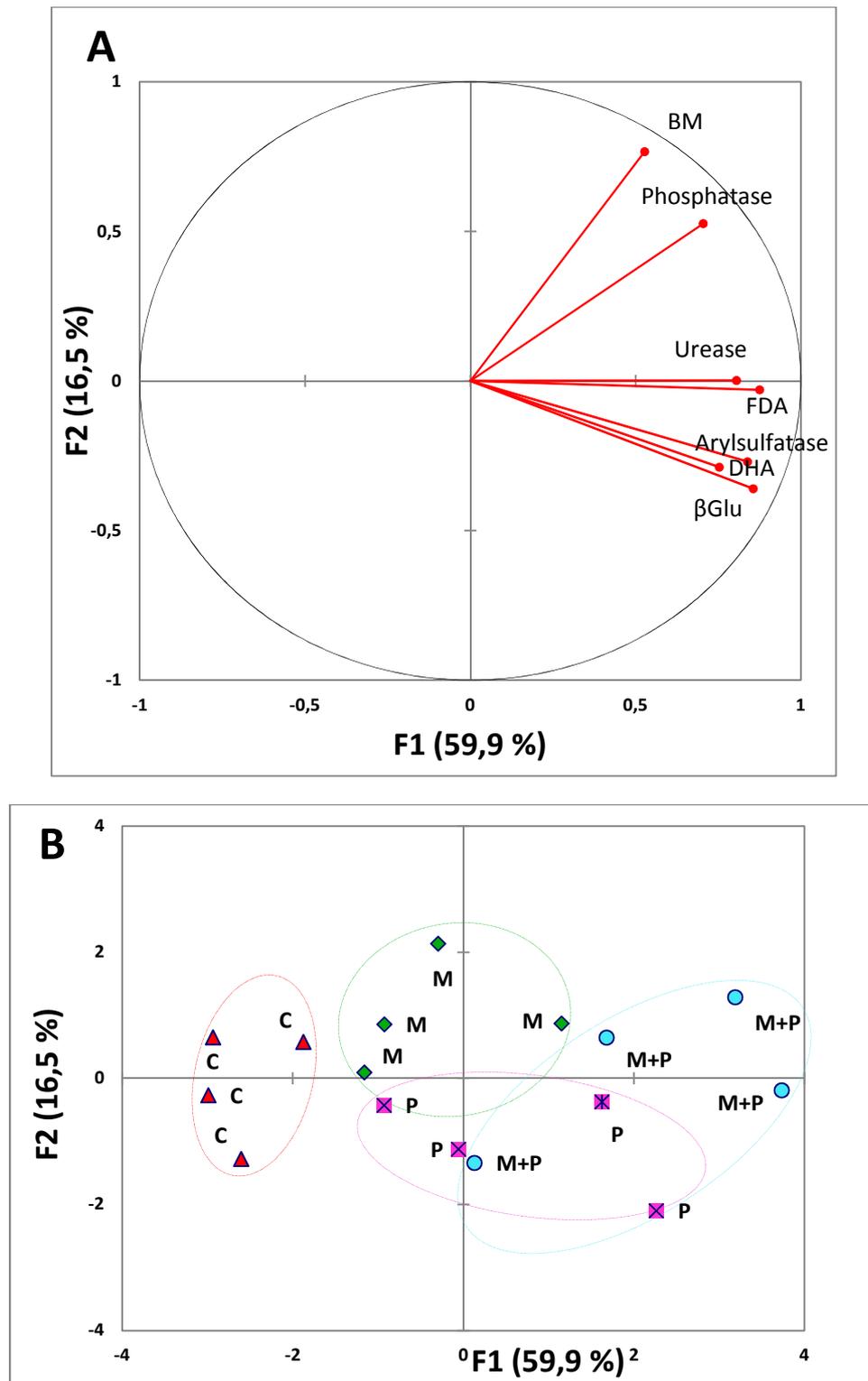


Figure 21 : Analyse en Composantes Principales réalisée sur les données de biomasse microbienne (MB) et d'activités enzymatiques des sols des différents traitements (C= sol nu, P = *Piliostigma reticulatum* ; M = mil ; M+P = mil+ *P. reticulatum*) : A- Cercle de corrélation des variables ; B- Répartition des échantillons dans le plan factoriel.

La disposition des différentes variables dans le plan factoriel explique 76% de la variance du nuage de points (Figure 21). L'axe F1 différencie les échantillons caractérisés par une activité élevée pour l'hydrolyse de la FDA et l'activité uréase. Ces deux enzymes sont fortement corrélées à l'axe F1 qui explique 59,9% de la variance. L'axe F2 qui ne représente que 16,46% de la variance est expliqué d'une part par la biomasse microbienne et dans une moindre mesure l'activité phosphatase et d'autre part par les activités β -glucosidase, arylsulfatase et déshydrogénase (Figure 21A). La projection des échantillons dans le plan factoriel montre une discrimination des traitements ($P < 0,05$) essentiellement selon l'axe F1 marquant la présence d'une plante (C versus M, P et M+P), mais aussi avec le poids de l'axe F2 combiné à celui de l'axe F1 marquant la présence ou non de l'arbuste (C et M versus P et M+P) (Figure 21B). Par ailleurs, la dispersion des échantillons des deux traitements en présence de l'arbuste est plus forte que celle des traitements C et M, montrant une plus grande hétérogénéité des variables pour ces traitements.

II.4.3. Profil catabolique des communautés microbiennes

L'Analyse des profils cataboliques des communautés microbiennes obtenus par la technique MicroResp™ est illustrée par la figure 22.

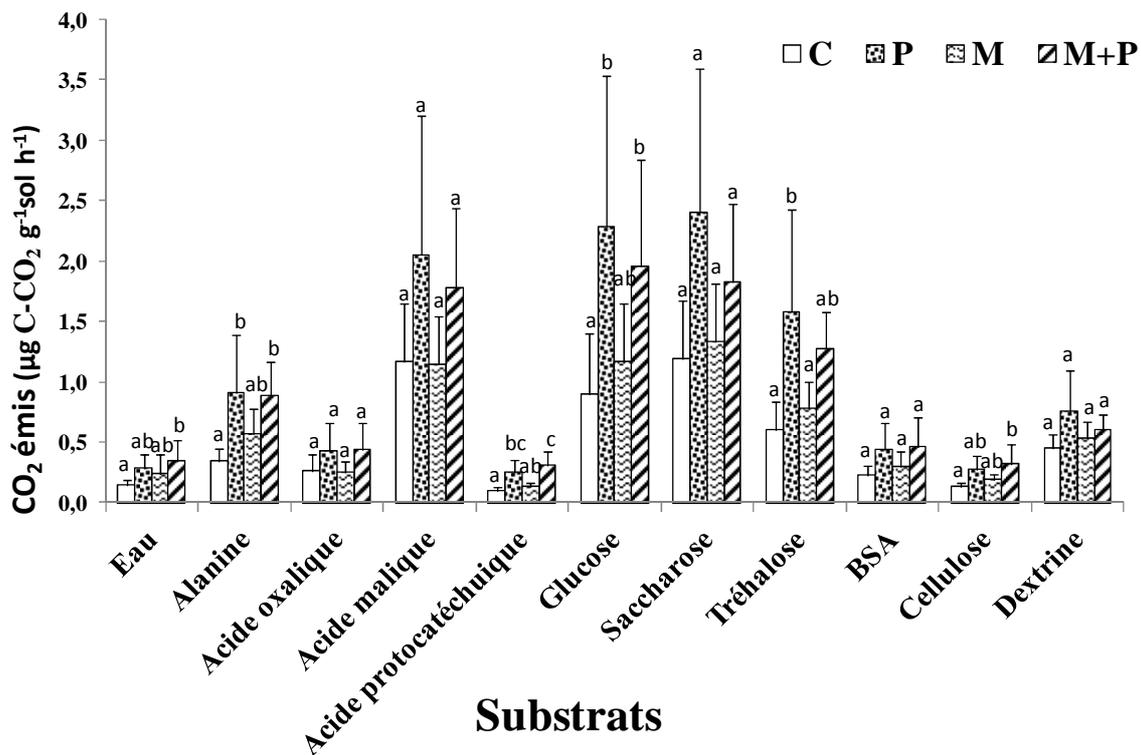


Figure 22: Profil catabolique exprimé par le dégagement de CO₂ issu de la respiration microbienne après addition de substrats carbonés (Technique MicroResp™ ; Campbell et al., 2003) pour les sols des différents traitements (C= sol nu, P = *Piliostigma reticulatum* ; M = mil ; M+P = mil+ *Piliostigma reticulatum*); les barres d'erreur représentent les écart-types (n = 4).

Lorsqu'aucun substrat n'est ajouté (eau), le CO₂ dégagé correspond à la respiration basale des microorganismes présents ; l'effet « traitement » testé par une ANOVA sur ce métabolisme basal n'est significatif ($P < 0,05$) ; toutefois, la respiration basale observée pour le traitement associant mil et piliostigma est significativement plus élevée que dans le sol témoin (M+P avec 0,34 µg C-CO₂ g⁻¹ sol h⁻¹ versus C avec 0,14 µg C-CO₂ g⁻¹ sol h⁻¹, respectivement). Par ailleurs, lorsque le métabolisme basal est apporté à la biomasse microbienne, les valeurs de qCO₂ sont plus élevées en présence du piliostigma (traitements P et M+P) comparativement aux traitements sans arbuste (traitements C et M ; Tableau 9). Toutefois, ces différences n'étant pas significative et la présence de *Piliostigma reticulatum* dans la culture du mil n'a pas d'effet significatif à proprement parlé sur le quotient métabolique (qCO₂).

Tableau 9: Indice de diversité de Shannon (H') et quotient métabolique (qCO₂) basés sur les profils cataboliques établis par MicroRespTM en fonction des différents traitements (C= sol nu, P = *Piliostigma reticulatum* ; M = mil ; M+P = mil+piliostigma).

| Traitement | H' | qCO ₂ |
|------------|--------|------------------|
| C | 2,03 a | 2,92 a |
| P | 2,03 a | 5,38 a |
| M | 2,07 a | 3,50 a |
| M+P | 2,09 a | 5,51 a |

Les valeurs moyennes d'une même colonne portant des lettres différentes sont significativement différentes ($P < 0,05$).

Les profils cataboliques obtenus montrent globalement que tous les substrats apportés induisent une respiration au dessus de la respiration basale à l'exception de la cellulose et de l'acide protocatéchique (Figure 22). Les substrats facilement dégradables (glucose, tréhalose) présentent les valeurs les plus élevées de CO₂ dégagé par rapport aux substrats complexes tels que la cellulose et BSA. L'analyse met en évidence assez peu de différences significatives entre les traitements, pour un même substrat. Le CO₂ dégagé en présence de substrat est globalement plus élevé dans les traitements en présence de piliostigma sans toutefois que l'effet des traitements ne soit significatif (ANOVA ; $P < 0,05$). Toutefois, la comparaison deux à deux des traitements révèlent une activité de dégradation de l'acide protocatéchique (acide aromatique) plus intense dans le sol cultivé en mil lorsque l'arbuste est présent (M+P avec 0,31 µg C-CO₂ g⁻¹ sol h⁻¹ versus M avec 0,10 µg C-CO₂ g⁻¹ sol h⁻¹, respectivement).

L'indice de Shannon-Weaver (H') calculé pour exprimer d'un point de vue global la diversité fonctionnelle ne varie pas selon les traitements (H' compris entre 2,03 et 2,09), indiquant que le nombre de substrats dégradés ne varie pas d'un traitement à l'autre (Tableau 9).

III.4. Structure et diversité génétique des communautés microbiennes

III.4.1 Communauté bactérienne totale

L'analyse du gel DGGE obtenu après extraction de l'ADNr 16S révèle une variation du nombre mais également de l'intensité des bandes observées (Figure 23).

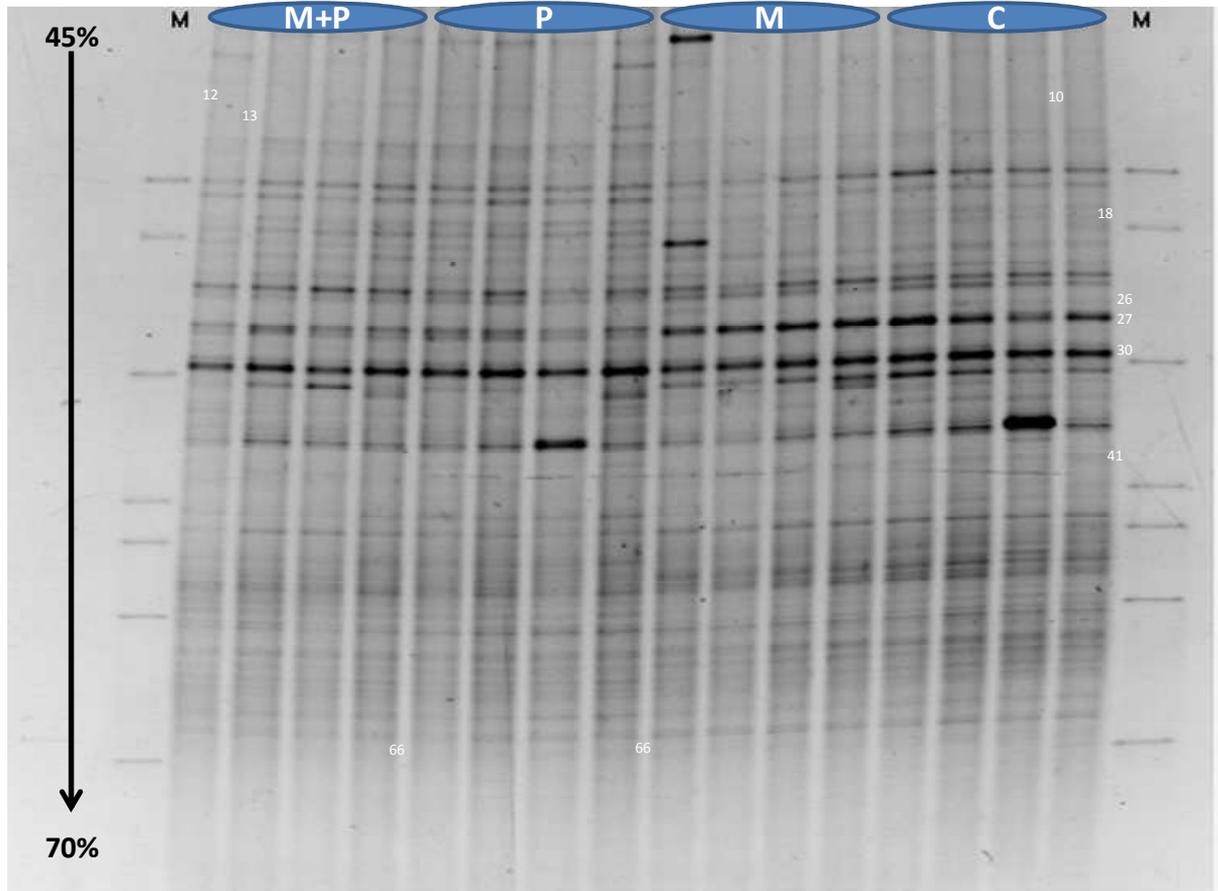


Figure 23: Gel DGGE de la communauté bactérienne totale obtenu après extraction de l'ADNr 16S pour les sols des différents traitements (M+P = mil+piliostigma ; P = *Piliostigma reticulatum* M = mil ; C= contrôle).

Sur les 66 bandes qui ont été détectées au cours de l'analyse du gel, le nombre moyen de bandes dans un profil, c'est-à-dire la richesse spécifique (R_s), est plus élevé pour les traitements C et M+P (respectivement 44,5 et 42,2 ; Tableau 10) que pour les traitements P et M (38,2 et 36,2 bandes respectivement ; Tableau 10).

Tableau 10 : Richesse spécifique (Rs), indices de diversité de Shannon (H') et de dominance de Simpson (D) calculés à partir des données des profils DGGE caractérisant les communautés bactériennes (ADNr 16S) et fongiques (ITS) des sols des différents traitements (C= contrôle ; P = *Piliostigma reticulatum* ; M = mil ; M+P = mil+piliostigma).

| Traitement | région 16S ADNr | | | région ITS | | |
|------------|-----------------|-------|---------|------------|-------|---------|
| | Rs | H' | D | Rs | H' | D |
| C | 44,5 b | 3,7 b | 0,026 a | 49,8 a | 3,7 a | 0,028 a |
| P | 38,3 a | 3,6 a | 0,030 b | 50,8 a | 3,8 a | 0,027 a |
| M | 36,3 a | 3,5 a | 0,032 b | 49,8 a | 3,8 a | 0,027 a |
| M+P | 42,3 b | 3,7 b | 0,026 a | 55,8 a | 3,9 a | 0,023 a |

Dans une colonne des lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes ($P < 0,05$).

Le tableau 10 présente également les résultats des indices de diversité de Shannon (H') et de dominance de Simpson (D). L'indice de Shannon (H'), indiquant le nombre relatif de bandes par profil par rapport à l'ensemble du gel, est significativement plus faible dans les traitements P et M (respectivement 38,3 et 36,3) que dans les traitements C et M+P (respectivement 44,5 et 42,3 ; Tableau 10). A l'opposé, l'indice de dominance de Simpson, basé sur l'intensité relative des bandes est plus élevé dans les traitements P et M que dans les traitements C et M+P (0,030 et 0,030 versus 0,026 et 0,026 respectivement ; Tableau 10).

Une simple analyse visuelle du gel permet de constater d'emblée que la communauté représentée par la bande 30 (Figure 23) est présente dans tous les traitements avec une forte intensité correspondant ainsi à une communauté dominante au sein de la communauté bactérienne totale des sols étudiés. Par ailleurs, d'autres bandes sont plus ou moins marquées selon le traitement.

Une analyse poussée des profils deux à deux (basé sur l'indice de Dice) permet de construire une matrice de similarité et de mettre en évidence sur un dendrogramme les échantillons dont les communautés bactériennes ont le plus d'éléments de leur profil DGGE en commun. Ainsi, on constate une relative homogénéité entre les quatre échantillons de chaque traitement, qui se regroupent (« cluster »), et une forte similarité entre les traitements sans arbustes (C et M) d'une part et les traitements avec arbustes (P et M+P) d'autre part ; ces deux groupes étant cependant similaires à 75% (Figure 24).

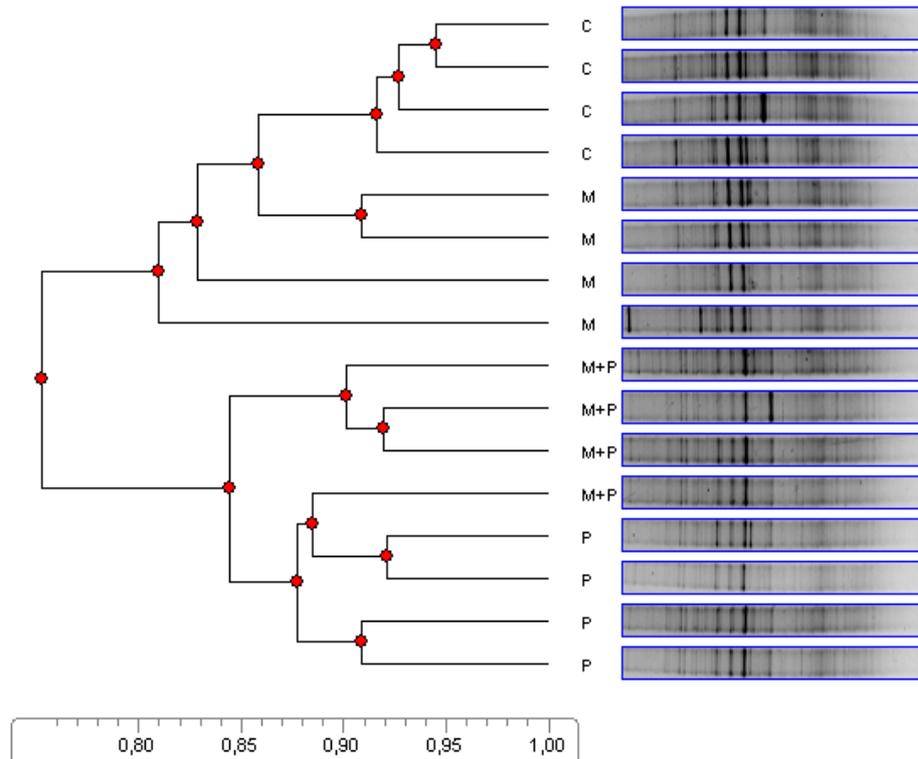


Figure 24 : Dendrogramme de similarité des profils DGGE (16S) de la communauté bactérienne totale selon les traitements (n=4). (C= contrôle ; P = *Piliostigma reticulatum* ; M = mil ; M+P = mil+piliostigma).

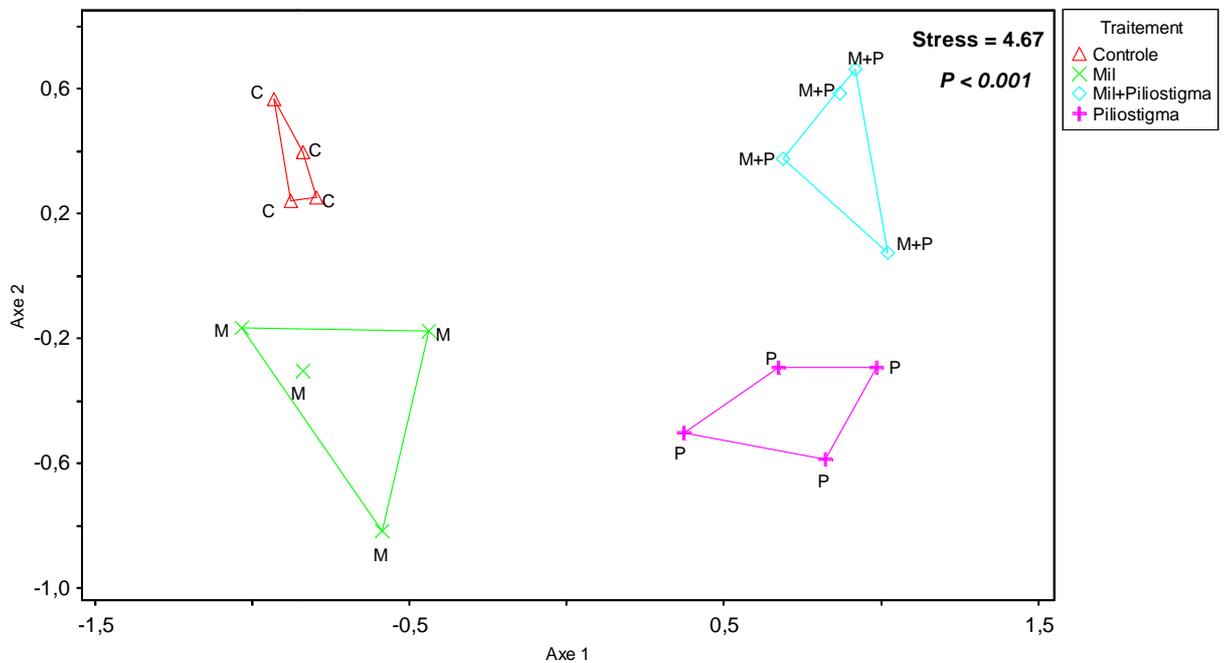


Figure 25 : Ordination des échantillons dans l'espace définie par les 2 premiers axes de l'analyse NMDS de l'effet des traitements sur la structure de la communauté bactérienne du sol.

Tout comme le dendrogramme, les méthodes d'ordination, basée sur l'indice de similarité de Sørensen, et leur représentation multidimensionnelle (NMDS ; figure 25) permettent de représenter la structuration du jeu de données, le positionnement relatif des échantillons les uns par rapport aux autres (leur similarité). Ainsi, la figure 25 confirme la discrimination entre les traitements mais elle met aussi en exergue le long de l'axe 1 une discrimination des traitements en fonction de la présence du piliostigma.

Le test de permutation (MRPP) réalisé sur le regroupement proposé par l'ordination démontre une bonne agrégation par traitement (Figure 25) et une différence entre traitements hautement significative ($P < 0,001$), notamment entre la culture du mil seul et l'association culturale mil - *P. reticulatum* ($P = 0,006$).

L'analyse des bandes discriminantes par le test de la valeur indicatrice des bandes (« Indicator Species Analysis ») permet d'affiner l'analyse et de déterminer quelles bandes discriminent les traitements et sont à l'origine de la disposition des différents échantillons dans la représentation NMDS (figure 25). Cette analyse a révélé la présence de 7 bandes (Figure 23) ayant une forte valeur indicatrice. Les bandes 10, 18, 26 et 41 (Tableau 11) ont une valeur indicatrice (VI) supérieure ou égale à 67 dans les traitements C et M, et sont ainsi caractéristiques des sols sans influence de l'arbuste ; elles disparaissent par ailleurs des profils DGGE des traitements P et M+P ; leur valeur indicatrice dans ces traitement est alors nulle ($VI = 0$). A l'opposé, les bandes 12 et 66 sont significativement plus abondantes et plus fréquentes avec les traitements en présence du piliostigma (traitements P et M+P) ; elles présentent avec une valeur indicatrice supérieure à 67 (Tableau 11). La bande 13 avec une VI de 100 doit par ailleurs être considérée comme étant caractéristique d'une communauté associée à la présence du mil car uniquement présente dans les traitements M et M+P.

Tableau 11 : Valeur indicatrice (VI) des bandes et probabilité associée obtenues par le test de MONTE CARLO pour les gels DGGE 16S et ITS.

| Région 16 S ADNr | | | Région ITS | | |
|------------------|-----|-----------------|------------|-----|-----------------|
| Bandes | VI | <i>p Values</i> | Bandes | VI | <i>p Values</i> |
| 10 | 67 | 0,036 | 53 | 100 | 0,002 |
| 12 | 67 | 0,039 | 64 | 67 | 0,031 |
| 13 | 100 | 0,002 | 68 | 67 | 0,033 |
| 18 | 100 | 0,003 | 73 | 67 | 0,033 |
| 26 | 80 | 0,013 | 80 | 67 | 0,033 |
| 41 | 80 | 0,011 | | | |
| 66 | 80 | 0,011 | | | |

III.4.2. Structure et diversité génétique de la communauté fongique

La figure 26 présente le gel DGGE issu de l'amplification de la région ITS de l'ADNr ciblant la communauté fongique des sols des différents traitements.

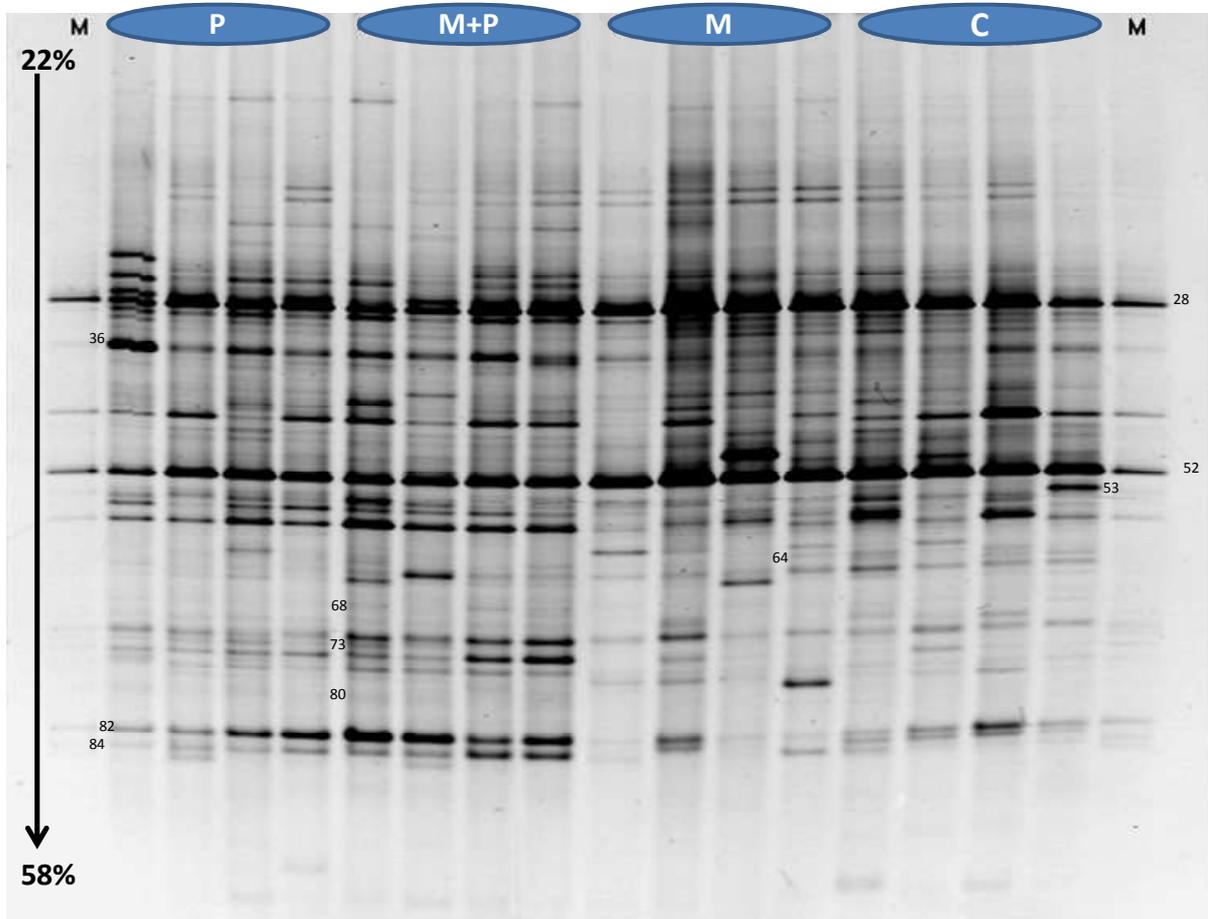


Figure 26: Gel DGGE de la communauté fongique après extraction de la région ITS de l'ADNr pour les sols des différents traitements (M+P = mil+piliostigma ; P = *P. reticulatum* M = mil ; C= contrôle).

L'analyse des profils révèle la présence de 85 bandes sur le gel (Figure 26) sans que la richesse spécifique, c'est-à-dire le nombre moyen de bandes par profil, ne soit significativement affectée par les traitements (Rs ; Tableau 10).

Les indices de diversité de Shannon et de dominance de Simpson varient peu ($H' = 3,7 - 3,9$ et $D = 0,023 - 0,028$, respectivement ; Tableau 10) sans différence significative entre les différents traitements.

L'analyse du dendrogramme de similarité met en évidence un degré de similarité entre les échantillons de 70% (Figure 27), et des différences entre échantillons permettant de les classés en deux grands groupes : d'une part, les traitements caractérisés par la présence du piliostigma (avec deux sous-groupes correspondant aux traitements P et M+P), et d'autre part les deux traitements sans arbuste (traitements C et M).

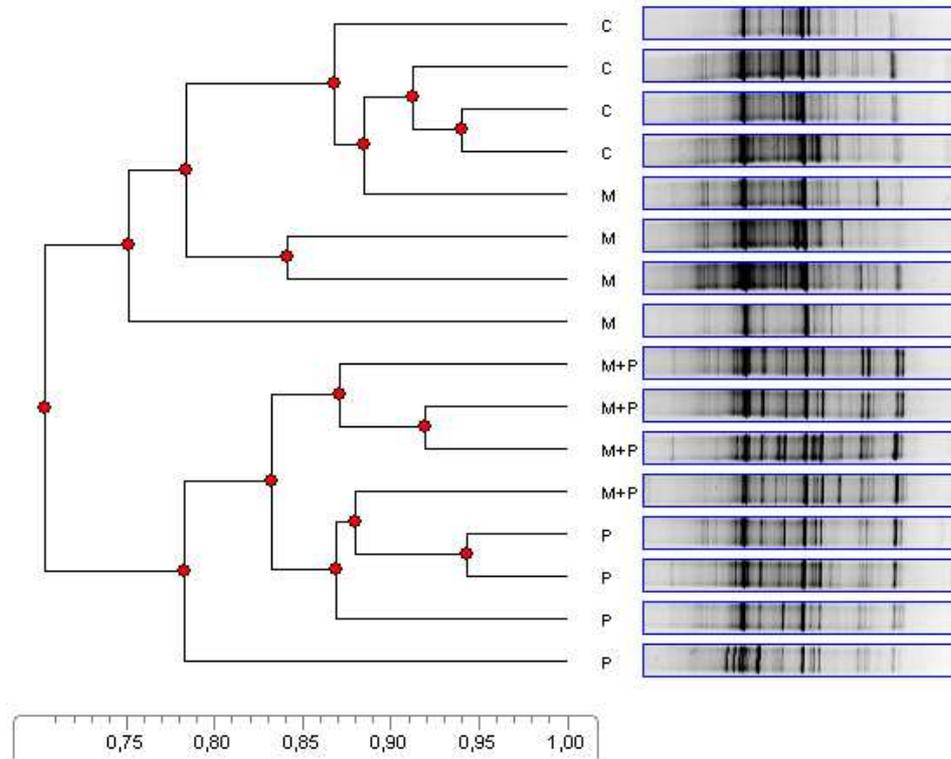


Figure 27: Dendrogramme de similarité des profils DGGE de la communauté fongique en fonction la gestion du piliostigma (n=4).

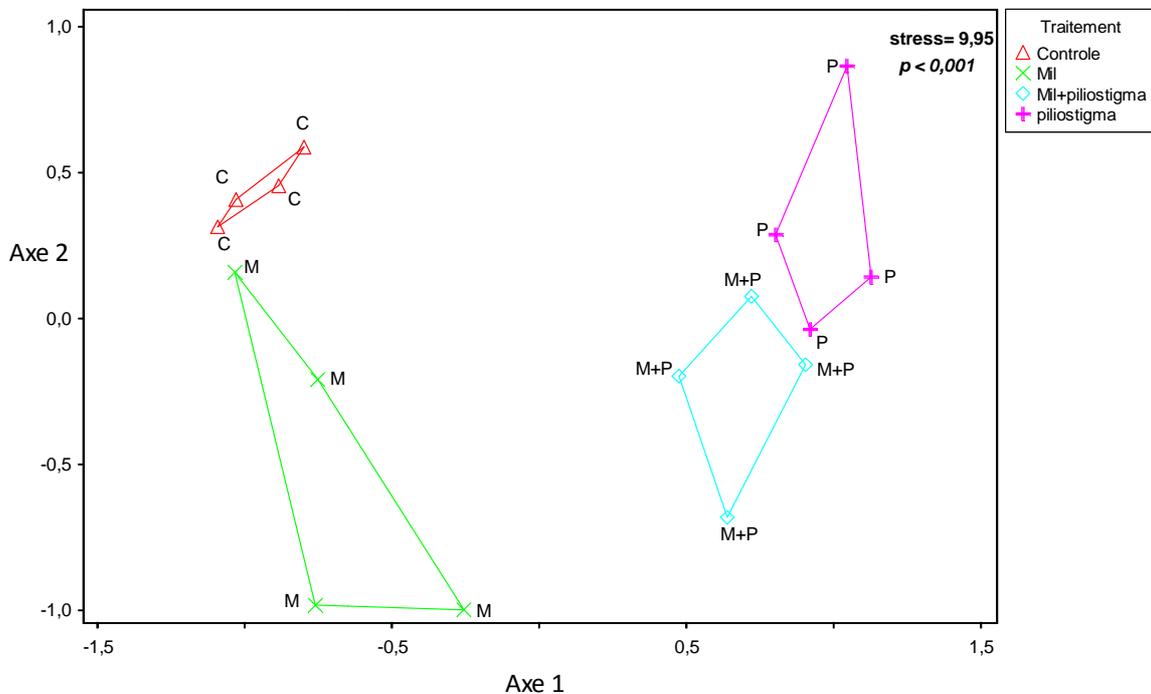


Figure 28: Ordination des échantillons dans l'espace définie par les des 2 premiers axes de l'analyse NMS de l'effet des traitements sur la structure de la communauté fongique du sol.

La représentation NMDS basée sur la matrice de similarité montre une homogénéité au sein de chaque traitement ($P < 0,001$) et discrimine parfaitement les 4 traitements (test MRPP ; $P < 0,001$; Figure 28), avec un effet de l'arbuste exprimé le long de l'axe 1.

L'analyse par permutation (MRPP) révèle aussi des différences significatives dans la comparaison deux à deux des traitements, notamment entre C et P ($P < 0,005$) d'une part, et M et M+P ($P = 0,005$) d'autre part.

L'analyse des bandes indicatrices montrent que les bandes 53, 64, 68, 73, et 80 (Figure 26) sont déterminantes ($P < 0,05$) dans la disposition multidimensionnelle (NMDS) des différents échantillons (Tableau 11). Les bandes 53 et 64 présentent des VI de 100 et 67 respectivement dans les traitements C et M, et sont ainsi indicatrices des traitements sans arbustes, tandis que les bandes 68, 73 et 80 ($VI > 67$; Tableau 11) sont caractéristiques de communautés fongiques liées à la présence de l'arbuste (traitements P et M+P).

IV. Discussion

IV.1. Effets de l'arbuste sur les activités enzymatiques du sol

Les activités enzymatiques qui sont impliquées dans les processus de décomposition et de transformation des nutriments ont été étudiées afin d'appréhender l'impact de la présence de *Piliostigma reticulatum* et de son association à la culture du mil sur les fonctions métaboliques du sol. Les résultats de cette étude montrent un effet de l'arbuste (Traitement P versus traitement C) sur les fonctions microbiennes du sol se traduisant par une augmentation significative de toutes les enzymes mesurées à l'exception de la phosphatase et de la déshydrogénase (Tableau 8). Par ailleurs, les résultats des analyses chimiques ont montré une augmentation significative de la quantité d'azote total mais également d'azote minéral sous la canopée de l'arbuste (Tableau 7). Cette stimulation de l'activité enzymatique peut être expliquée par les teneurs en matière organique et en nutriments sous la canopée de l'arbuste (Diedhiou et al., 2007 ; Balota et al., 2011 ; Vallejo et al., 2010). Ces résultats confirment d'autres travaux réalisés au Sénégal sur *piliostigma* (Diedhiou 2007 ; Diedhiou et al., 2009, 2013) montrant que la présence de la touffe arbustive contribue à améliorer la fertilité du sol (« îlot de fertilité » ; Wezel et al., 2000). D'autres études effectuées chez une autre espèce *Lavandula stoechas* ont montré une augmentation significative de l'activité de la déshydrogénase et de la FDA avec les échantillons prélevés à proximité de l'arbuste (Duponnois et al., 2011). Les apports de matières organiques dus à l'arbuste combinés à des conditions micro-environnementales favorables (Kizito et al., 2006) procurent des conditions favorables à l'activité biologique pendant toute l'année sous la canopée de l'arbuste contrairement aux sols hors couvert (Berg et Steinberger, 2010 ; Diedhiou et al., 2013). Ainsi, les activités des communautés microbiennes du sol dans la culture du mil à proximité de l'arbuste (Traitement M+P),

notamment l'uréase, l'arylsulfatase et la déshydrogénase sont significativement plus élevées (que dans la culture de mil sans arbuste, M) démontrant ainsi l'effet positif de l'arbuste sur les activités microbiennes.

La présence du piliostigma ainsi que son association ont entraîné une augmentation significative de l'activité de deux enzymes, arylsulfatase et uréase, qui sont impliqués dans le cycle des nutriments. L'arylsulfatase est souvent corrélée avec l'activité fongique puisque les champignons sont les principaux acteurs de la disponibilité de cette enzyme dans le sol (Bandick et Dick 1999). La présence de l'arbuste et de ses résidus riches en lignine et hémicellulose (Diedhiou et al., 2009) ont probablement stimulé la communauté fongique (Balota et al., 2004) d'où la sensibilité de cette enzyme aux traitements avec piliostigma. L'activité de l'uréase dans le sol conduit à la libération d'ammonium dont une meilleure disponibilité a été constatée dans le traitements M+P. Par ailleurs, du fait de la sensibilité de ces activités enzymatiques par rapport aux modifications environnementales, elles sont considérées comme des indicateurs des perturbations naturelles ou anthropiques (Schloter et al., 2003 ; Roldan et al., 2005).

En plus de l'arylsulfatase et de l'uréase, la présence de l'arbuste aux côtes du mil a également eu un effet significatif sur l'activité de la déshydrogénase (M+P versus M) bien qu'aucune variation de l'activité de la FDA n'a été notée. La FDA peut être hydrolysée par différentes enzymes qui peuvent être intra- et extra-cellulaires ; la mesure de l'intensité de son hydrolyse reste donc très généraliste. Par contre, la déshydrogénase est une enzyme intracellulaire de type " respiratoire ". C'est une oxydoréductase impliquée dans la décomposition de la matière organique servant d'indicateur de l'intensité des métabolismes microbiens dans le sol et permettant donc une estimation rapide de l'activité globale des microorganismes du sol (Quilchano et Maranon, 2002). Duponnois et al (2011) ont également observé une augmentation de l'activité déshydrogénase lorsque *Lavandula stoechas* (arbuste) était associée à *Cupressus atlantica* (plante annuelle). Cette enzyme semble adaptée à mettre en évidence les modifications engendrées par la présence d'un arbuste sur les fonctions microbiennes du sol cultivé.

Nos résultats démontrent l'importance d'associer l'arbuste à la culture pour intensifier les fonctions de décomposition et de recyclage des éléments nutritifs.

IV.2. Effet de l'arbuste sur la diversité fonctionnelle du sol.

L'analyse des profils métaboliques issus de la méthode MicroResp™ a été récemment développée pour étudier la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes du sol (Campbell et al., 2003; Chapman et al., 2007 ; Vidican et al., 2012). Toutefois les mesures dans notre étude sont fortement variables, et peu de différences sont statistiquement significatives entre les traitements. La forte variabilité de la mesure de dégagement du CO₂ dans le système MicroResp™ peut amener à questionner l'utilité de la mesure ; Cependant cela ne rend que plus intéressant les différences lorsqu'elles sont significatives. Ainsi la respiration basale (CO₂ dégagé sans addition de substrat) n'est significativement plus élevée que dans le cas du traitement M+P associant mil, piliostigma et pour lequel le sol est

couvert du mulch des résidus de coupe de l'arbuste. Le CO₂ émis par dégradation des substrats carbonés est généralement plus abondant dans les sols prélevés sous la canopée de l'arbuste (P et M+P) par rapport aux sols prélevés hors couvert du piliostigma (Traitement de contrôle, C et M), notamment pour l'alanine, l'acide protocatéchique, le tréhalose. Cette forte activité catabolique en présence du piliostigma pourrait être liée aux teneurs plus élevées en éléments chimiques (Carbone azote etc.) sous la canopée de *P. reticulatum* (Tableau 7). Des résultats similaires ont été observés pour d'autres arbustes en milieu aride (Berg et Steinberger, 2008) ; Saul-Tcherkas et Steinberger, 2009). Les microorganismes du sol ont montré une certaine préférence dans l'utilisation des molécules simples (glucose, saccharose, tréhalose, ou l'acide malique) vis-à-vis d'autres substrats plus complexes (BSA, Cellulose etc.). Cette préférence se traduit par un dégagement de CO₂, produit par la décomposition de ces substrats, plus intense. D'autres études utilisant la technique MicroResp™ ont montré qu'elle renseignait plutôt sur les aptitudes des microorganismes à croissance rapide, répondant rapidement à l'addition de substrats de faible poids moléculaire, plus que de documenter l'activité de l'ensemble des communautés (Eilers et al., 2010 ; Brackin et al., 2013). Toutefois, les résultats observés pour la dégradation du glucose en MicroResp™ sont en adéquation avec les résultats issus de la mesure de l'activité β-glucosidase. Le résultat le plus marquant est l'augmentation significative de l'activité catabolique des microorganismes lors de la décomposition du tréhalose sous la canopée de l'arbuste. Zhou et al. (2012) ont obtenu des résultats similaires en milieux arides. L'activité catabolique des microorganismes est liée à la disponibilité des substrats produits dans le milieu mais aussi à la rhizodéposition provenant des plantes (Wichern et al., 2008 ; Jiang et al., 2012). La plus forte activité catabolique liée au tréhalose, que nous observons dans notre étude en présence de *P. reticulatum*, démontre la capacité de dégradation de la molécule par des enzymes tréhalase mais suggère également une capacité de synthèse de la molécule dans le milieu (Goddijn et van Dun, 1999). Des plantes comme *Arabidopsis thaliana* possèdent la capacité à synthétiser cette molécule tout comme certains microorganismes symbiotiques des plantes (Rhizobia ou champignons mycorrhiziens) (e.g. Müller et al., 1995). *Arabidopsis thaliana* a également une forte capacité à synthétiser l'enzyme tréhalase (Müller et al., 2001 ; van Houtte et al., 2013), et pour cette espèce, le tréhalose et la tréhalase interviennent dans la régulation de la fermeture de stomates en cas de stress hydrique (van Houtte et al., 2013). Sans avoir de certitude sur l'origine de ces molécules dans notre cas particulier, leur plus forte présence dans le sol en présence de *P. reticulatum* suggérerait que l'arbuste pourrait conférer une certaine résistance à des périodes prolongées de dessiccation comme cela a été observé pour d'autres espèces (Wiemken, 1990 ; Iordachescu et Imai, 2011 ; Gaff et Oliver, 2013). Cette piste de recherche est sans doute à développer pour chercher à intensifier ce processus dans l'association culturale.

La différence significative observée entre M et M+P suite à l'apport de l'acide protocatéchique met en évidence l'influence du piliostigma et de ses résidus sur l'activité catabolique de ce substrat particulier. Ainsi les microorganismes présents dans le traitement P+M sont capables de dégrader ce polyphénol. Les substances phénoliques présentes chez piliostigma (Dossa et al 2010 ; Babajide et al., 2008) et le produit de leur dégradation

peuvent impacter le cycle de l'azote, notamment en bloquant la nitrification (Bernhard-Reversat, 1996) et conduire à des effets allélochimiques (Weir et al., 2004 ; Van der Putten et al., 2013) qu'il conviendrait d'étudier plus en détails

IV.3. Effets de l'arbuste sur la structure des communautés microbiennes

L'analyse de la structure des communautés microbiennes obtenues par PCR-DGGE et des représentations NMDS associées discriminent clairement les traitements avec l'arbuste, P et M+P, vis-à-vis des traitements sans arbuste, C et M. *Piliostigma reticulatum* modifie à la fois la structure et la diversité de la communauté bactérienne totale et affecte la structure des communautés fongiques mais sans impacter sa diversité spécifique. Diedhiou (2007) avait obtenu des résultats similaires en comparant les sols sous et hors canopée de *P. reticulatum* (mais sans considérer la culture du mil). Bachar et al. (2012) ont également rapporté une modification de l'abondance et de la structure des communautés bactériennes dans les sols sous et hors couvert d'autres arbustes en milieu aride. La présence des arbustes crée au niveau du sol une hétérogénéité spatiale dans la disponibilité des éléments nutritifs, différenciant les zones sous et hors couvert des arbustes (Housman et al., 2007 ; Hortal et al., 2013).

En présence de *P. reticulatum*, les teneurs en éléments (C, N, P) dans l'horizon de surface du sol sont plus élevées en lien avec la décomposition de la litière aérienne (ou du mulch dans M+P) et le renouvellement des racines. La composition chimique des résidus décomposés par les microorganismes pour en tirer les éléments nécessaires à leur métabolisme est un facteur clé de la composition et de l'activité des communautés microbiennes (Van der Putten et al., 2013). Les exsudats racinaires peuvent aussi contribuer aux effets observés, notamment sur les communautés bactériennes, et la différenciation dans la composition et la structure des communautés microbiennes selon l'espèce végétale présente est relativement bien documentée (Westover et al., 1997 ; Grayston et al., 1998 ; Kowalchuk et al., 2002 ; Berg et Smalla, 2009 ; Van der Putten et al., 2013). Les exsudats et l'apport des résidus de *piliostigma*, riches en composés phénoliques, en lignine conduit à l'apparition de communautés spécifiques conditionnant la structuration des communautés bactériennes et fongiques. L'analyse des bandes indicatrices montrent une la spécificité de certaines bandes (12, 66 pour les bactéries et 68,73, 80 pour les champignons, respectivement) en présence de *Piliostigma reticulatum*. Le concept des interactions et feedbacks entre le sol et la plante est l'un des processus important dans la compréhension de la composition des communautés microbiennes et des fonctionnement des écosystèmes (Griffiths et Philippot, 2012 ; Van der Putten et al., 2013).

V. Conclusion

Les résultats obtenus dans ce chapitre montrent que la présence du *Piliostigma reticulatum* affecte de manière significative la structure des communautés microbiennes du sol et leurs activités, même si la densité mesurée de façon globale (biomasse microbienne) ne varie pas significativement. Malgré le peu de différences significatives dans la mesure de la diversité fonctionnelle par la méthode MicroResp™, la culture de mil en présence de *Piliostigma reticulatum* et d'un mulch constitué de ses résidus de coupe intensifie le fonctionnement biologique du sol. Cette intensification est caractérisée par un renforcement de certaines activités enzymatiques (arylsulfatase, déshydrogénase et uréase) et par le maintien de la biodiversité du sol, responsables des flux de nutriments dont peut bénéficier la culture.

Chapitre III : Effet de *Piliostigma reticulatum* sur la nématofaune d'un sol cultivé en mil

Les résultats de ce chapitre ont fait l'objet d'un article dans une revue internationale indexée :

Diakhaté, S., Villenave, C., Diallo, N.H., Ba, A. O., Djigal, D., Masse, D., Sembene, P.M., Chapuis-Lardy, L., 2013. The influence of a shrub-based intercropping system on the soil nematofauna when growing millet in Senegal. *European Journal of Soil Biology* 57:35-41.

Chapitre III : Effet de *Piliostigma reticulatum* sur la nématofaune d'un sol cultivé en mil

I. Introduction

Les espèces arbustives natives sont caractéristiques de la zone soudano-sahélienne d'Afrique de l'Ouest. *Piliostigma reticulatum*, l'un des arbustes sahéliens les plus courants, est utilisé par les populations locales, notamment dans l'alimentation humaine, la pharmacopée traditionnelle et l'agriculture (Yelemou et al., 2007). Sa présence au sein des agroécosystèmes améliore le statut minéral des zones à proximité de l'arbuste (Dossa et al., 2008) et par conséquent sur la production primaire (Dossa et al., 2013). *Piliostigma reticulatum* constitue une barrière physique contre le vent et le rayonnement, ce qui contribue à limiter l'érosion éolienne et à améliorer l'humidité du sol à proximité de la touffe arbustive (Kizito et al., 2006). L'arbuste constitue également une source d'apport de matière organique par une production de litière, d'exsudats racinaires, et le renouvellement de ses racines. Ces substances fournissent aux communautés microbiennes et à la microfaune du sol une grande diversité de sources de carbone pour leur fonctionnement. Les communautés microbiennes, notamment les bactéries, présentent sous la canopée de l'arbuste une plus grande diversité qu'en dehors du couvert de l'arbuste (cf résultats du chapitre précédent ; Dossa et al., 2009 ; Diedhiou et al., 2009). Dans le réseau trophique du sol, les microorganismes servent de proies à certains nématodes qui en retour exercent un contrôle sur les populations microbiennes (Lévêque, 2001). Les nématodes phytoparasites se nourrissent quand à eux au détriment des plantes et peuvent causer des dégâts importants aux cultures annuelles (Luc, 2005). Les nématodes du sol jouent ainsi un rôle important dans le biofonctionnement d'un sol cultivé, notamment dans le cycle des nutriments (Ingham et al., 1985 ; Yeates et al. 1993 ; Ferris et Matute, 2003). Les nématodes constituent par ailleurs un groupe d'organismes très diversifiés au sein de la microfaune, représenté à différents niveaux trophiques de la chaîne alimentaire du sol (Neher, 2010) et organisé sous forme de communautés soumises à des interactions avec les autres composantes biotiques du milieu et sous influence des conditions abiotiques (Ferris, 2010). Ces interactions sont à l'origine de la composition des peuplements observée (Neher, 2010) qui a, par conséquent, le potentiel de fournir des indications sur le fonctionnement des sols et sa fertilité. L'évaluation des différents groupes trophiques de nématodes permet d'avoir un aperçu relativement exhaustif sur les processus biologiques des sols (Sanchez-Moreno et al., 2010). Les indices calculés à partir de la structure des peuplements de nématodes permettent d'appréhender la chaîne alimentaire du sol (Ferris et al., 2001) et fournissent des informations essentielles sur les divers processus écologiques, notamment les chaînes de décomposition de la matière organique et les voies de recyclage de nutriments (Yeates, 2003). L'étude de la nématofaune est donc un outil efficace pour évaluer les perturbations écologiques dans les agroécosystèmes (Bulluck et al., 2002 ; Ugarte et al., 2013). Les nématodes constituent un modèle biologique pour étudier l'impact des changements,

notamment des pratiques agricoles, sur le fonctionnement biologique du sol (Cluzeau et al., 2012 ; Darby et al., 2013).

Nous allons dans ce chapitre tenter de mettre en évidence l'état des réseaux trophiques du sol à partir de l'analyse des communautés de nématodes (Ferris et al., 2001 ; Ferris et Matute, 2003) et évaluer la réponse de ces communautés pour un sol cultivé en mil dans un agrosystème intégrant une gestion de l'arbuste *P. reticulatum*.

II. Matériel & Méthodes

II.1. Echantillonnage des sols

Afin de faciliter la discussion générale des résultats sur le fonctionnement biologique du sol, nous avons utilisé le même dispositif expérimental et les mêmes échantillons de sol que pour le chapitre II (communautés microbiennes).

Pour mémoire, le site d'étude se situe dans la station expérimentale ISRA à Nioro-du-Rip (Sénégal). Les 4 traitements considérés sont : (i) sol nu servant de contrôle (C), (ii) culture de mil (M), (iii) touffe de l'arbuste *Piliostigma reticulatum* (P), (iv) culture du mil en association avec l'arbuste *P. reticulatum* (M+P). Le traitement M+P intègre à la fois la présence de l'arbuste (toutefois recepé au moment du semis de la céréale) et la gestion de ses résidus de coupe restitués à la parcelle (mulch). Les sols (Lixisol ; FAO, 2006) ont été prélevés dans la couche superficielle (0-10 cm) du sol à proximité des racines, à raison d'un échantillon-composite par parcelle et de 4 parcelles par traitement. Les échantillons de sols frais ont été transférés au laboratoire dans une glacière et une aliquote réservée à l'extraction des nématodes a été gardée à l'obscurité le temps de leur extraction dans un délai de 7 jours.

II.2. Analyse de la nématofaune

L'étude des nématodes a été réalisée au LMI IESOL, avec l'appui technique de la Société ELISOL Environnement hébergée par le LMI.

II.2.1. Extraction des nématodes

Les nématodes sont extraits par élutriation du sol (Figure 29) à partir d'échantillons de 250 g de sol frais (Seinhorst, 1962). L'échantillon est d'abord préparé par homogénéisation manuelle du sol dans de l'eau et élimination des racines et graviers. La suspension est passée à travers un tamis grossier (1 mm de maille) sous l'action d'un flux d'eau pour éliminer les particules grossières, et récupérer dans un erlenmeyer de 2 L à l'aide d'un entonnoir placé sous le tamis. L'extraction est ensuite basée sur le principe de la sédimentation des particules de sol dans une colonne.

L'erenmeyer est retourné au dessus d'une colonne de verre, sous laquelle est appliqué un courant d'eau ascendant pendant 40 minutes. La fraction légère (contenant nématodes, résidus végétaux, argiles et limons) se sépare alors des particules sableuses plus lourdes, et est récupérée à travers un trop-plein situé au niveau de la partie supérieure de la colonne de verre. Les nématodes sont ensuite rassemblés par passage de la suspension à travers une superposition de tamis de 50 μm , et par un passage actif (c'est-à-dire du à leur mobilité) pendant 48 heures au travers d'une double couche de papier filtre. La suspension contenant les nématodes est ensuite placée dans des tubes de comptage gradués de 50 ml pour la détermination de la densité totale de nématodes par unité de sol.



Figure 29 : Dispositif de Seinhorst permettant l'extraction des nématodes du sol (©S.Diakhaté, IRD).

II.2.2. Dénombrement et Fixation des nématodes

Chaque tube, contenant la suspension de nématodes pour un échantillon donné, est homogénéisé, et un volume de 5 ml est prélevé puis déposé sur la plaque pour un comptage direct sous loupe binoculaire (x40). Pour chaque échantillon, deux comptages indépendants sont réalisés sur 5 ml de suspension et la moyenne de ces deux comptages est la valeur retenue pour déterminer la densité totale de nématodes dans l'échantillon. Les résultats sont

exprimés en nombre d'individus par gramme de sol sec. Au bout d'une heure, il se forme dans les tubes de 50 ml laissés au repos un surnageant et un culot contenant les nématodes. Le surnageant est éliminé par aspiration via un courant d'eau. Le culot contenant les nématodes est récupéré dans un tube à hémolyse de 10 ml et les nématodes sont fixés dans du formaldéhyde (4 %) jusqu'à leur identification.

II.2.3. Identification des nématodes

A partir des échantillons fixés, une aliquote représentative, constituée de 150 à 200 individus de nématodes, est fixée sur une lame pour observation au microscope optique (x400). Les individus sont ensuite identifiés au niveau de la famille, classés par groupe trophique (phytoparasites, bactérivores, fongivores, prédateurs et omnivores) en fonction de la morphologie de leurs pièces buccales (Yeates et al., 1993), et comptés pour déterminer les abondances spécifiques et par groupe trophique. La proportion d'un groupe trophique est égale à la somme des taxons de ce groupe. Les résultats obtenus pour l'aliquote sont ensuite rapportés à l'ensemble de l'échantillon :

$$\text{Nombre total de chaque taxon} = (n_i \text{ NT}) / \text{NL}$$

où n_i est l'effectif du taxon i dans l'aliquote déposée sur la lame ; NT le nombre total de nématodes pour 100 g de sol sec ; et NL le nombre total de nématode comptabilisés dans l'aliquote déposée sur la lame.

La richesse spécifique (R_s) de la communauté de nématodes est estimée par traitement au travers de l'indice de Margaleef (Magurran, 2004 ; Bulluck et al., 2002) et sur la base des déterminations au nom de la famille. L'indice de diversité de Shannon (H' ; Shannon et Weaver, 1962) et l'indice de Simpson (D ; Simpson, 1949) des communautés nématodes ont également été calculés pour chaque traitement.

II.2.4. Analyse des réseaux trophiques du sol

Les taxons identifiés sont ensuite classés en fonction de leurs traits d'histoire de vie (catégories colonisateurs-persistants) sur l'échelle c-p de Bongers (1990) et puis regroupés en guildes fonctionnelles selon la classification de Bongers et Bongers (1998). Les indices de maturité (MI, PPI) de Bongers (1990), le ratio PPI/MI ainsi que les indices d'enrichissement (EI) et de structure (SI) développés par Ferris et al. (2001 ; cf détails chapitre I, tableau 4) ont été calculés à partir de l'analyse de la composition des assemblages de nématodes.

II.2.5. Analyses statistiques

Les analyses de variances (ANOVA) à un facteur (traitement) ont été réalisées pour la comparaison des moyennes obtenues avec le logiciel XLSTAT-Pro (Version 2010 AddinSoft®), en utilisant le test de Fischer au seuil de 5 %.

Afin d'étudier l'effet des traitements sur la structure des assemblages de nématodes, une analyse NMDS (*Non metric Multi-Dimensional Scaling*, ; Kruskal et Wish, 1978) a été réalisée en utilisant le logiciel PRIMER (PRIMER-E Ltd, Plymouth, UK).

III. Résultats

III.1. Composition de la nématofaune

L'analyse de la nématofaune dans les 16 échantillons de sol révèle un total de 64 taxons de nématodes. Ces nématodes sont répartis dans 39 familles (Tableau 12). Les nématodes phytoparasites et bactérivores sont les plus abondants et représentent respectivement 45% et 35% de la nématofaune du sol. Parmi les phytoparasites, les nématodes de la guildes c-p3 appartenant à la famille des Hoplolaimidae sont les plus représentés (97 à 500 individus 100 g^{-1} sol sec en fonction des traitements) avec la prédominance des genres *Helicotylenchus* et *Scutellonema*. Les autres groupes de phytoparasites, à savoir les Tylenchidae, les Pratylenchidae et les Dolichodoridae, ont des abondances inférieures à 70 individus 100 g^{-1} sol sec. Les nématodes bactérivores sont répartis au sein de 16 familles (Tableau 12) avec une prédominance de la famille des Cephalobidae. La présence de l'arbuste (traitements P et M+P) favorise la prolifération des nématodes bactérivores comparativement aux traitements sans arbuste (C et M). La guildes fonctionnelle c-p2 était la plus représentée avec les genres *Acrobeles*, *Acrobloides* et *Zeldia*. Parmi les 5 familles de nématodes fongivores identifiées, les Leptonchidae, appartenant la guildes fonctionnelle c-p4, et les Belondiridae, guildes fonctionnelle c-p5, sont les plus représentés (Tableau 12). En ce qui concerne les nématodes appartenant aux niveaux trophiques supérieurs : Le groupe des nématodes omnivores est dominé par les nématodes de la guildes fonctionnelle c-p4, et notamment la famille des Qudsianematidae, et celui des prédateurs par les nématodes de la guildes fonctionnelle c-p5 appartenant à la famille des Discolaimidae.

Tableau 12 : Abondance (individus 100 g⁻¹ sol sec ; moyenne et erreur standard) des familles de nématodes et guildes fonctionnelles associées pour les sols des différents traitements (C= contrôle ; P = *P. reticulatum* ; M= mil ; M+P = association mil et *P. reticulatum*; 4 échantillons par traitement).

| Famille | Gilde Fonctionnelle ^a | Traitement | | | |
|--------------------------|----------------------------------|--------------|--------------|--------------|---------------|
| | | C | P | M | M+P |
| Tylenchidae | H2 | 47,6 (16,7) | 24,8 (10,6) | 56,4 (10,0) | 44,2 (18,6) |
| Paratylenchidae | H2 | 1,1 (0,7) | 0,0 (0,0) | 0,0 (0,0) | 0,0 (0,0) |
| Pratylenchidae | H3 | 18,9 (11,4) | 25,9 (6,6) | 16,9 (6,8) | 64,8 (25,2) |
| Criconematidae | H3 | 0,0 (0,0) | 0,0 (0,0) | 1,2 (1,2) | 2,3 (2,3) |
| Hoplolaimidae**b | H3 | 148,1 (28,7) | 97,0 (19,8) | 509,6 (80,3) | 237,6 (103,3) |
| Dolichodoridae** | H3 | 7,7 (3,3) | 7,3 (3,4) | 50,6 (15,6) | 39,3 (8,1) |
| Trichodoridae | H3 | 0,0 (0,0) | 2,1 (0,7) | 0,9 (0,9) | 1,8 (1,2) |
| Longidoridae | H5 | 1,1 (0,7) | 8,1 (4,0) | 1,2 (1,2) | 10,5 (4,7) |
| Neodiplogasteridae | Ba1 | 0,0 (0,0) | 0,8 (0,8) | 0,0 (0,0) | 0,0 (0,0) |
| Panagrolaimidae | Ba1 | 0,0 (0,0) | 4,3 (4,3) | 0,0 (0,0) | 0,0 (0,0) |
| Rhabditidae | Ba1 | 0,0 (0,0) | 24,2 (6,4) | 1,2 (1,2) | 166,8 (130,0) |
| Cephalobidae* | Ba2 | 63,9 (6,0) | 261,1 (70,5) | 179,2 (25,7) | 268,0 (53,9) |
| Leptolaimidae | Ba2 | 0,0 (0,0) | 0,8 (0,8) | 0,0 (0,0) | 0,0 (0,0) |
| Monhysteridae | Ba2 | 0,0 (0,0) | 0,6 (0,6) | 0,0 (0,0) | 3,1 (2,5) |
| Ostellidae | Ba2 | 0,0 (0,0) | 0,0 (0,0) | 0,0 (0,0) | 2,3 (2,3) |
| Plectidae | Ba2 | 1,6 (1,1) | 14,7 (1,9) | 9,2 (8,0) | 20,7 (9,0) |
| Chromadoridae | Ba3 | 0,6 (0,6) | 0,0 (0,0) | 3,0 (2,0) | 0,0 (0,0) |
| Desmodoridae | Ba3 | 0,0 (0,0) | 0,8 (0,8) | 0,0 (0,0) | 1,3 (1,3) |
| Diplopeltidae | Ba3 | 0,6 (0,6) | 0,8 (0,8) | 0,0 (0,0) | 2,6 (2,6) |
| Odontolaimidae | Ba3 | 0,0 (0,0) | 0,0 (0,0) | 0,0 (0,0) | 1,3 (1,3) |
| Prismatolaimidae | Ba3 | 2,7 (1,2) | 3,7 (2,0) | 7,0 (4,2) | 3,2 (2,1) |
| Rhabdolaimidae | Ba3 | 0,0 (0,0) | 0,6 (0,6) | 0,0 (0,0) | 0,0 (0,0) |
| Alaimidae | Ba4 | 1,8 (1,1) | 2,4 (2,4) | 2,5 (2,5) | 6,5 (6,5) |
| Bathyodontidae | Ba4 | 0,0 (0,0) | 0,0 (0,0) | 2,5 (2,5) | 0,0 (0,0) |
| Anguinidae (Ditylenchus) | Fu2 | 1,5 (0,9) | 2,8 (1,0) | 0,0 (0,0) | 2,3 (2,3) |
| Aphelenchidae | Fu2 | 0,8 (0,8) | 0,7 (0,7) | 0,9 (0,9) | 2,7 (2,7) |
| Aphelenchoididae | Fu2 | 0,0 (0,0) | 6,1 (1,7) | 4,6 (2,7) | 21,2 (12,1) |
| Leptonchidae | Fu4 | 44,6 (18,0) | 24,2 (8,3) | 53,7 (3,7) | 24,7 (6,8) |
| Belondiridae* | Fu5 | 24,8 (5,4) | 8,9 (3,7) | 79,6 (15,9) | 52,1 (22,1) |
| Tripylidae | Pr3 | 0,0 (0,0) | 2,2 (2,2) | 0,0 (0,0) | 3,2 (2,1) |
| Mononchidae | Pr4 | 0,7 (0,7) | 0,0 (0,0) | 0,0 (0,0) | 0,0 (0,0) |
| Nygolaimidae | Pr5 | 0,0 (0,0) | 0,0 (0,0) | 1,3 (1,3) | 0,5 (0,5) |
| Carcharolaimidae*** | Pr5 | 4,2 (2,3) | 3,1 (1,3) | 10,9 (1,5) | 0,0 (0,0) |
| Aporcelaimidae* | Pr5 | 0,0 (0,0) | 8,3 (3,6) | 0,0 (0,0) | 0,9 (0,9) |
| Discolaimidae* | Pr5 | 15,4 (3,7) | 25,7 (9,0) | 51,7 (18,2) | 74,8 (13,5) |
| Dorylaimidae | Om4 | 3,8 (1,2) | 0,8 (0,8) | 2,1 (2,1) | 0,0 (0,0) |
| Nordiidae | Om4 | 0,5 (0,5) | 0,0 (0,0) | 0,0 (0,0) | 2,3 (2,3) |
| Qudsianematidae | Om4 | 8,3 (3,7) | 14,1 (2,8) | 17,4 (9,6) | 30,6 (13,1) |
| Thornenematidae | Om5 | 0,0 (0,0) | 0,0 (0,0) | 1,2 (1,2) | 0,0 (0,0) |

^a Gilde fonctionnelle : H= phytoparasites, Ba= Bactérivores, Fu= Fongivores, Pr = prédateurs, Om= Omnivores et valeur c-p associée sur l'échelle de Bongers (1990) allant de 1 à 5. La présence d'astérisque à la suite du nom d'une famille indique un effet significatif du traitement sur cette famille, * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

III.2. Abondance et distribution des groupes trophiques

Compte tenu d'une forte variabilité, l'abondance totale des nématodes n'est pas affectée par les traitements de façon significative. Par contre, une analyse plus fine révèle que la présence de l'arbuste affecte significativement la densité des différents groupes trophiques étudiés à l'exception du groupe des nématodes omnivores (ANOVA, $P < 0,1$; Figure 30).

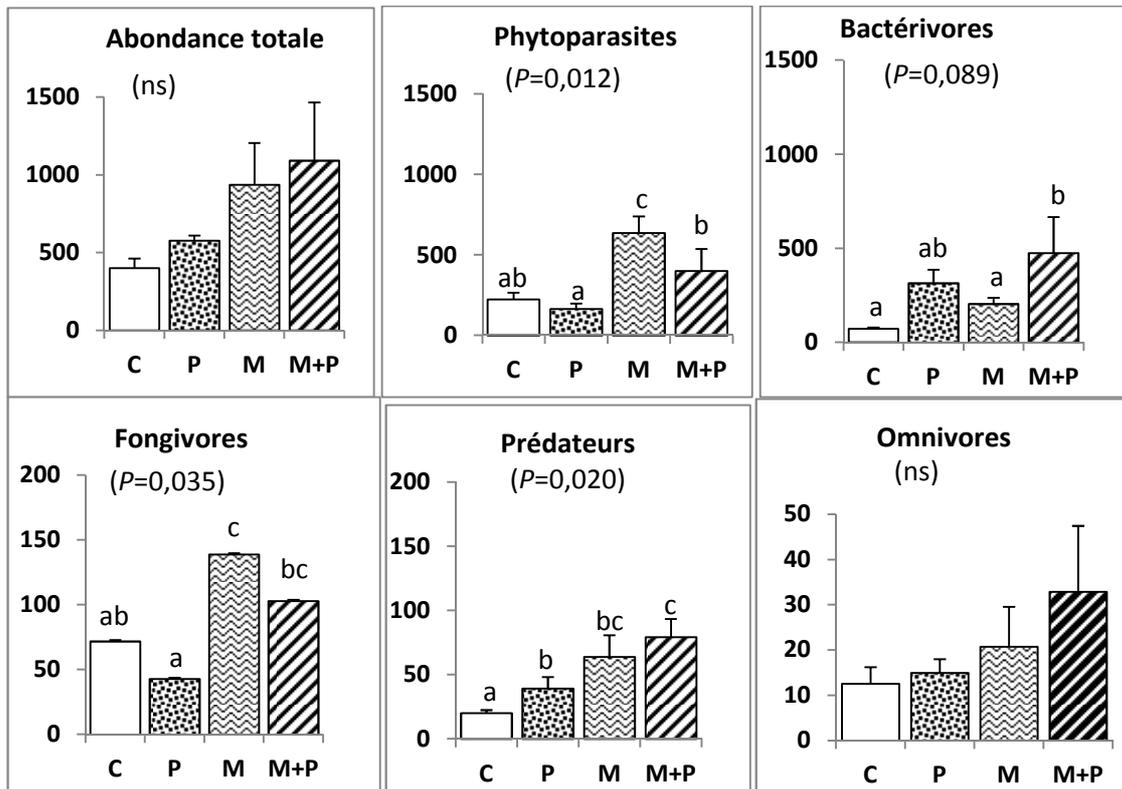


Figure 30 : Abondance (individus 100 g⁻¹ sol sec ; moyenne et erreur standard) totale et des groupes trophiques de nématodes en fonction des différents traitements (C= contrôle ; P= *P. reticulatum* ; M= mil ; M+P= mil et *P. reticulatum*).

La valeur de probabilité de l'ANOVA est donnée entre parenthèses (ns= non significative si $P > 0,1$). Des lettres différentes entre histogrammes mettent en évidence une différence significative des traitements considérés, au seuil de 5% ($P < 0,05$).

L'association de *Piliostigma reticulatum* à la culture du mil (M+P) entraîne une diminution significative ($P < 0,01$) du nombre des nématodes phytoparasites comparé au mil cultivé seul (M) (Figure 5). Cette réduction affecte plus particulièrement les nématodes appartenant à la famille des Hoplolaimidae et des Dolichodoridae de classe c-p3 (Tableau 4 ; $P < 0,01$). *Piliostigma reticulatum* favorise la prolifération des nématodes bactérovores (Figure 30) notamment les Cephalobidae (Ba2, bactérovores de classe c-p2) et les Rhabditidae (Ba1) (Tableau 12).

Cependant, du fait la forte variabilité de l'abondance des bactérivores observée pour le traitement M+P, la différence n'est significative qu'au niveau de la famille des Cephalobidae (Tableau 12 ; $P < 0,05$). Pour les nématodes fongivores, les abondances les plus élevées sont observées pour les traitements M (mil) et M+P (mil et arbuste) sans différence significative entre ces deux traitements (Figure 30). Par ailleurs, l'abondance des nématodes de la guilda fonctionnelle c-p5 appartenant à la famille des Belonidiridae est significativement affectée par la présence du mil (Tableau 12 ; $P < 0,05$). Cette même dynamique a également été notée pour les nématodes fongivores de la famille des Aphelenchoididae (Tableau 12) sans que les différences observées soient significatives. En ce qui concerne le groupe des prédateurs, les nématodes appartenant à la famille des Discolaimidae, Aporcelaimidae et Carcharolaimidae sont significativement affectés par un effet « traitement » (Tableau 12). Cette modification au niveau de l'abondance des familles se traduit par un effet significatif sur la densité de ce groupe ($P < 0,05$) (Figure 30). Les traitements M, P et M+P présentent les plus fortes densités de nématodes prédateurs et ceci quelque soit la plante considérée en comparaison au traitement sans plante (C) (Figure 30).

III.3. Structure de la nématofaune et réseau trophique du sol.

La richesse taxonomique est affectée très significativement ($P < 0,001$) par les traitements (Figure 31) alors que la diversité spécifique l'est dans une moindre mesure ($P = 0,123$). Les valeurs de richesse spécifique sont plus élevées pour les traitements en présence de *Piliostigma reticulatum* (P et M+P) comparée aux traitements sans arbuste (C et M). L'association culturale (M+P) révèle une plus grande diversité taxonomique comparée au mil cultivé seul (M). Les indices nématofauniques sont significativement différents en présence du *Piliostigma reticulatum* traduisant ainsi des réseaux trophiques différenciés. L'indice d'enrichissement (EI) est significativement plus élevé en présence de l'arbuste ($P < 0,05$; Figure 31) que pour les traitements sans arbuste (C et M). L'association culturale du mil avec *Piliostigma reticulatum* présente un réseau trophique plus enrichi par rapport à celui de la culture du mil seul (EI de 46,8 contre 6,2 respectivement ; Figure 31). Au-delà du niveau d'enrichissement, les réseaux trophiques présentent un degré de structure élevé (SI > 60 avec un effet notable du traitement ($P = 0,013$), et des valeurs de SI moins élevées en présence de *Piliostigma reticulatum* ; Figure 31).

L'indice de Maturité (MI) varie entre 2,52 et 3,40. La présence de l'arbuste conduit également à une diminution significative de cet indice ($P = 0,001$; Figure 31). L'indice lié aux nématodes phytoparasites (« Plant Parasitic Index » PPI) est compris entre 2,79 et 2,97, sans être significativement différent en fonction du traitement (Figure 31). Ainsi, le ratio PPI/MI est significativement affecté par la présence de *Piliostigma reticulatum* ($P = 0,001$) avec des valeurs plus élevées en présence de l'arbuste. En ce qui concerne l'indice NCR des voies de décomposition (« Nematode Channel Ratio »), il est compris entre 0,52 et 0,86 et est significativement ($P < 0,05$; Figure 31) augmenté en présence de *Piliostigma reticulatum*.

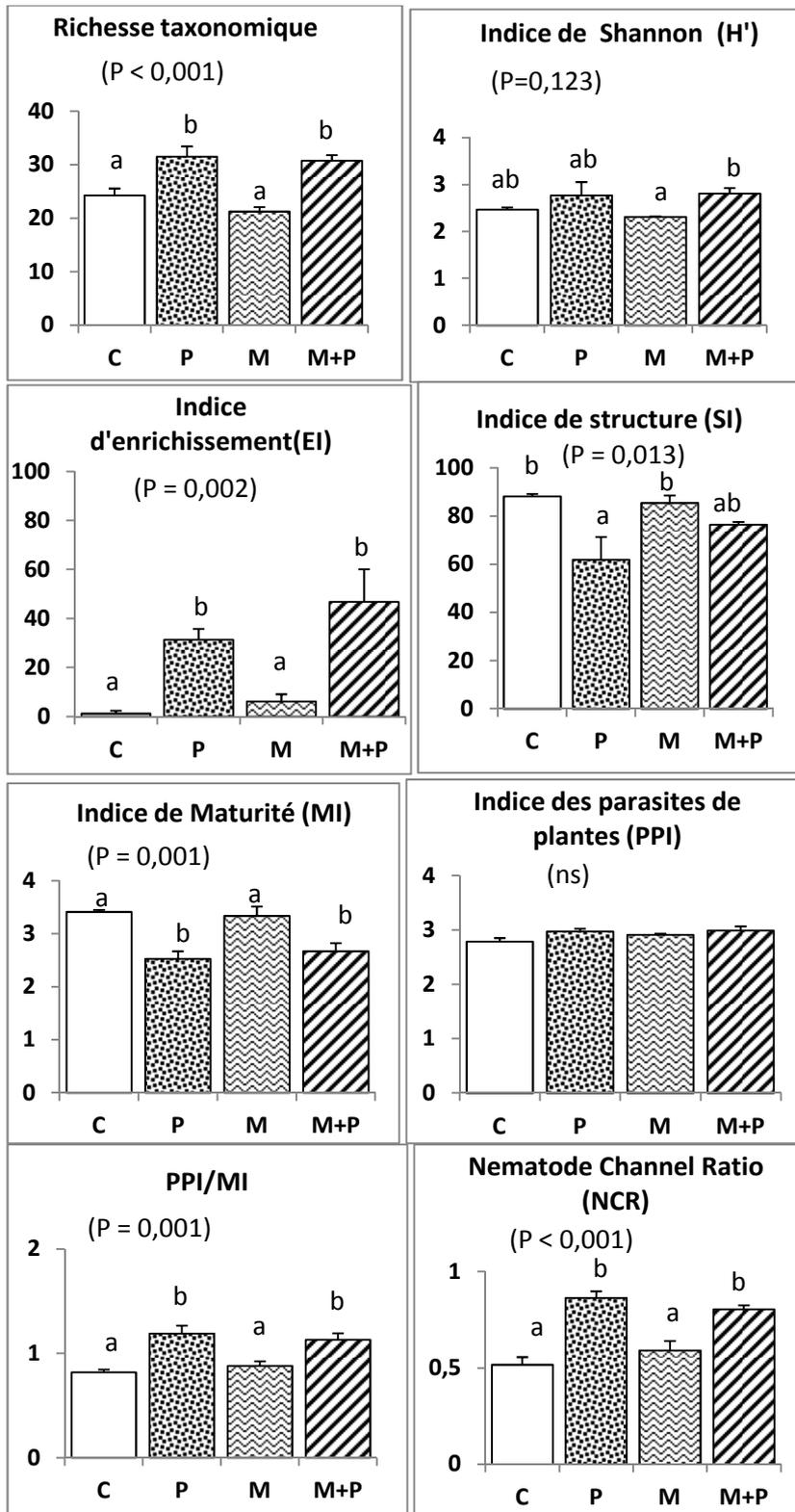


Figure 31 : Indices nématofauniques des différents traitements (C= contrôle ; P= *P. reticulatum* ; M= Mil ; M+P= Mil et piliostigma).

La valeur de probabilité de l'ANOVA est donnée entre parenthèses. Des lettres différentes entre histogrammes mettent en évidence une différence significative entre les traitements considérés, au seuil de 5% ($P < 0,05$; ns= non significative).

L'analyse PerMANOVA indique que la structure des communautés de nématodes est significativement affectée selon le traitement (Tableau 13) et la représentation graphique issue de la matrice de similarité (basée sur les données taxonomiques) montre clairement une séparation des différents traitements en fonction de la présence ou de l'absence de *Piliostigma reticulatum* dans le traitement (Figure 32).

Tableau 13 : Valeurs de probabilité associées à l'analyse PerMANOVA réalisée sur la densité des 64 taxons pour comparer la structure des communautés de nématodes du sol en fonction des différents traitements (C= contrôle ; P = *P. reticulatum* ; M= mil ; M+P = association mil et *P. reticulatum* ; 4 répétitions par traitement)

| Traitement | C | P | M | M+P |
|------------|-------|-------|-------|-----|
| C | - | | | |
| P | 0,035 | - | | |
| M | 0,081 | 0,024 | - | |
| M+P | 0,024 | 0,022 | 0,028 | - |

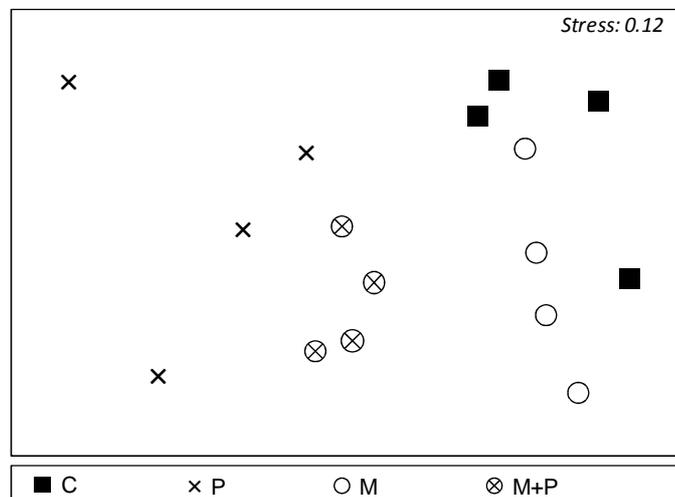


Figure 32 : Cartographie de la structure des assemblages de nématodes du sol (NMDS), réalisée à partir de la matrice de similarité (indices de Bray-Curtis) basée sur les données taxonomiques (64 taxons), en fonction des différents traitements (C= contrôle ; P = *P. reticulatum* ; M= mil ; M+P = association mil et *P. reticulatum* ; 4 répétitions par traitement).

IV. Discussion

L'abondance totale des nématodes dans le sol témoin (C) est relativement faible (400 individus 100 g⁻¹ sol sec) mais le réseau trophique est cependant bien structuré (cf. la valeur de l'indice de structure SI supérieure à 88), et dominé par les nématodes appartenant aux classes c-p3 à c-p5, relativement « spécialistes » et sensibles aux perturbations. L'analyse de la structure de la nématofaune à travers la représentation graphique de la matrice de similarité (NMDS) permet de discriminer les différents traitements en fonction de la présence de *Piliostigma reticulatum*. L'arbuste affecte à la fois la composition taxonomique et l'abondance relative des différents groupes trophiques. Ainsi, la richesse et la diversité taxonomiques sont plus élevées en présence de l'arbuste. Cette modification induite par *Piliostigma reticulatum* est liée à l'apparition de nouveaux taxons (e.g. Panagrolaimidae et Tryplidae). La monoculture du mil est dominée par les nématodes phytoparasites qui représentent 60% de l'abondance totale des nématodes. Parmi ces nématodes, les genres *Helicotylenchus* et *Scutellonema* sont les plus abondants. Ces résultats sont en phase avec ceux de Baujard et al. (1995) et Villenave et al. (2003) qui montraient que les agrosystèmes du Sénégal pouvaient héberger une proportion importante de nématodes phytoparasites. L'ectoparasite *Tylenchorhynchus sp* est par ailleurs particulièrement abondant dans les cultures de mil au Sénégal (Cadet et Floret, 1999). L'absence de différence entre les traitements dans l'indice de maturité des communautés phytoparasites (PPI) pourrait être liée au mode de calcul et à la dominance de la classe moyenne c-p3. Toutefois, l'association culturale mil + *Piliostigma reticulatum* (traitement M+P) a entraîné une baisse de 23% de l'abondance des nématodes phytoparasites observée dans la culture isolée du mil (traitement M), et plus particulièrement dans la famille des Hoplolaimidae. Cette diminution de la densité des nématodes phytoparasites pourrait être expliquée par la libération de substances nématocides liées la présence du *Piliostigma reticulatum*. Plusieurs études ont démontré l'existence de composés nématocides chez certaines plantes vis-à-vis des nématodes phytoparasites (Chitwood, 2002 ; Böhm et al., 2009 ; Orhi et Pannu, 2010). Ces composés peuvent être libérés par volatilisation, exsudation ou décomposition (Chitwood, 2002 ; Rasmann et al., 2012). Des analyses phyto-chimiques ont révélé la présence de composés anti-microbiens et anti-oxydants dans l'écorce, les racines, les gousses, les jeunes tiges ou encore les feuilles de *Piliostigma reticulatum* (Babajide et al., 2008 ; Dossa et al., 2008), traditionnellement utilisée en pharmacopée (Yelemou et al., 2007). Malgré la présence avérée de flavonoïdes, polyphénols et d'anthocyanes chez *Piliostigma reticulatum* (Babajide et al., 2008 ; 2010), leur toxicité sur les nématodes phytoparasites n'a pas encore été démontrée. Par ailleurs, toutes les familles de nématodes phytoparasites ne sont sensibles à la présence de *P. reticulatum* ; ainsi les abondances des nématodes phytoparasites de la famille des Tylenchidae ne sont pas significativement affectées par la présence de l'arbuste. Il conviendrait de poursuivre les travaux en menant des études plus ciblées afin d'appréhender les potentialités de l'arbuste dans la lutte contre les nématodes phytoparasites. La présence du *Piliostigma reticulatum* conduit également à des modifications au sein des communautés de nématodes libres du sol.

Les valeurs de l'indice de maturation (MI), plus faibles en présence de l'arbuste (traitements P et M+P) comparativement aux valeurs obtenues pour les traitements sans arbuste (C et M), témoignent d'une modification des conditions environnementales liée à la présence de l'arbuste. La valeur élevée de l'indice de structure (SI) indique des réseaux trophiques complexes intégrant prédateurs et omnivores. La présence de l'arbuste dans la culture de mil n'a pas d'effet sur l'indice de structure (SI) révélant une chaîne trophique de longueur équivalente entre les deux traitements avec mil, que l'arbuste soit présent ou pas. Cependant, la présence plus importante de prédateurs de classe c-p5 (notamment le taxon *Discolaimidae*) dans les systèmes intégrant l'arbuste peut indiquer une régulation des niveaux inférieurs du réseau trophique, notamment celle de nématodes phytoparasites, par les niveaux supérieurs (« top-down » ; Djigal et al., 2012 ; Sánchez-Moreno et Ferris, 2007). L'arbuste favorise l'abondance des nématodes colonisateurs (ou opportunistes) notamment les familles *Cephalobidae* (Ba2) et *Rhabditidae* (Ba1) et conduit à une augmentation de la valeur de l'indice d'enrichissement (EI). Cet indice EI fournit des informations sur la disponibilité en ressources dans le sol et la réponse des décomposeurs primaires, notamment les espèces opportunistes (Ba1 et Fu2) par rapport l'évolution de cette ressource (Ferris et al., 2001). Les faibles valeurs de EI obtenues pour les traitements témoin (C) et la culture de mil (M) peuvent être corrélées avec le statut minéral du sol lors du prélèvement des échantillons (Tableau 7). Les indices (EI et SI) peuvent être projetés sur le diagramme de Ferris (Ferris et al., 2001 ; Figure 33).

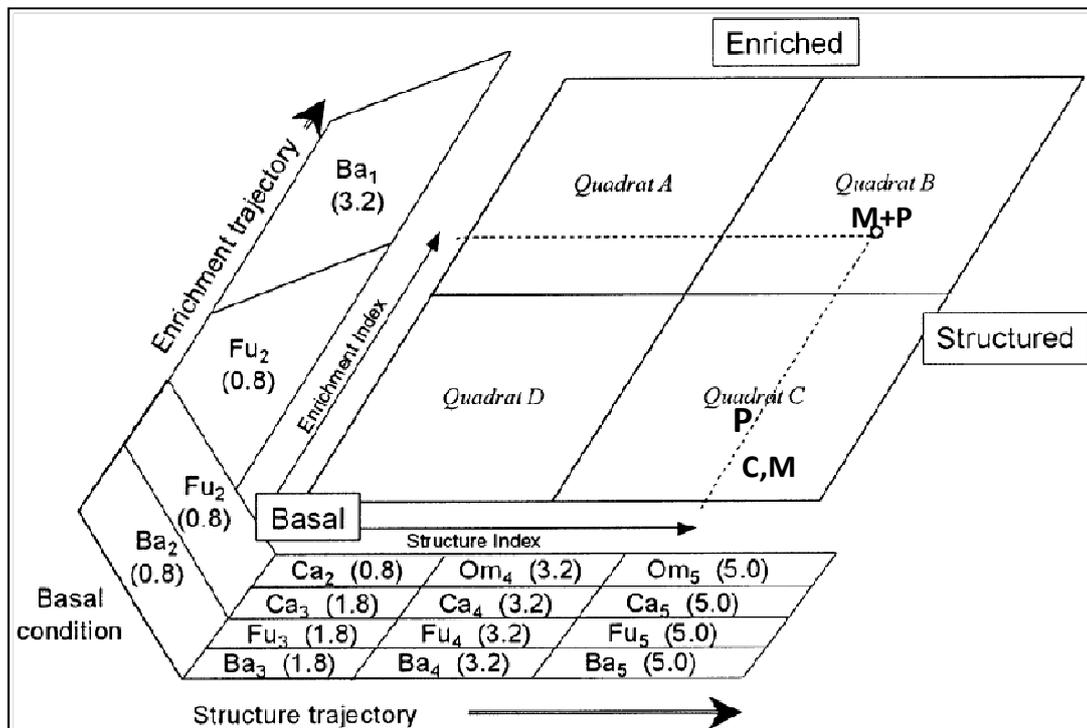


Figure 33 : Projections sur le diagramme de Ferris et al. (2001) des valeurs d'indices d'enrichissement (EI) et de structure (SI) obtenus après analyse de la nématofaune pour les différents traitements ((C= contrôle ; P = *P. reticulatum* ; M= mil ; M+P = mil et *P. reticulatum*)).

Le diagramme de Ferris met ainsi en évidence un réseau trophique structuré mais évoluant dans un milieu modérément riche en nutriments (Tableau 5 ; quadrat C) pour le sol nu (C), les traitements mil (M) ou arbuste (P) (Figure 33). Dans le traitement associant mil et *piliostigma* (M+P), la chaîne trophique reste bien que relativement structurée est en maturation et le milieu s'est enrichi notamment en azote (Figure 33 et Tableau 5; quadrat B). Lorsque le mil est cultivé avec *P. reticulatum*, les résidus de coupe de l'arbuste sont rapportés sous forme de mulch à la surface de la parcelle au moment du semis générant notamment des teneurs en N minéral sont plus élevées. Diverses études ont mis en valeur la réponse rapide des nématodes bactériovores, notamment les individus de la guildes fonctionnelle Ba1, à une amélioration de la ressource et à l'augmentation associée de la biomasse microbienne à même de la décomposer (Ferris et Matute, 2003 ; Chen et Ferris, 2000 ; Bongers et Ferris, 1999). Par ailleurs, la prolifération des bactériovores opportunistes, notamment les Rhabditidae, indique clairement un effet de prédation sur les microorganismes (Bongers et Ferris, 1999). Le processus de décomposition de la matière organique et de l'acheminement de l'énergie vers les niveaux trophiques supérieurs à travers des chaînes de décomposition est principalement contrôlé par les bactéries et les champignons du sol, suivant différents processus (Ferris et al., 2004). L'accumulation des résidus à la surface d'un sol entraîne une décomposition lente du fait de la prédominance des champignons dans les processus de dégradation (Sanchez-Moreno et al., 2006), spécialement lorsque le matériel végétal présente un rapport C/N élevé, et des teneurs en lignine et cellulose relativement importantes (Ferris et al., 2001 ; Ruess et Ferris, 2004). Cependant, dans notre étude, l'abondance des nématodes bactériovores et les valeurs de l'indice des voies de décomposition (NCR) tendent à démontrer que la prédominance des bactéries dans les processus de décomposition en présence d'arbuste, sans doute en lien avec un rapport C/N modéré (respectivement, 20 et 27 pour les feuilles et le mélange tiges et feuilles ; Dossa et al., 2009). La voie de décomposition bactérienne est considérée comme rapide par rapport à la chaîne fongique qualifiée de lente ; elle est par ailleurs la voie de décomposition la plus fréquente dans les agrosystèmes (Ruess et Ferris, 2004) et associée à une forte minéralisation de l'azote (Ingham et al., 1985).

Les nématodes colonisateurs bactériovores et fongivores conduisent au recyclage (« turnover ») de l'azote immobilisé par les microorganismes mais également à une forte activité microbienne au sein des réseaux trophiques du sol (Djigal et al., 2004) accélérant ainsi la décomposition de la matière organique et la fourniture de nutriments pour la croissance des plantes (Neher, 2010 ; Djigal et al., 2004). Cette libération de nutriments dans le sol est sans doute à relier au meilleur statut minéral du sol dans le traitement associant *P. reticulatum* au mil (Tableau 7), d'autant plus qu'une autre étude dans la région a montré que l'apport des résidus de l'arbuste à la surface du sol fournissait un supplément d'azote pour la plante cultivée (Dossa et al., 2009). Par ailleurs, l'apport de ces résidus sous forme de mulch modifie les conditions micro-climatiques du sol (Kizito et al., 2006) alors que certaines familles de nématodes comme les Rhabditidae sont sensibles au stress thermique (Venette et Ferris, 1997). La présence du mulch maintient une certaine humidité et limite la température dans l'horizon de surface mais il génère également plus d'hétérogénéité dans l'horizon superficiel (Kizito et al., 2006) ce qui pourrait expliquer la

plus forte abondance des Rhabditidae mais aussi la plus grande variabilité de la densité de ces nématodes observées dans le traitement M+P. La présence de l'arbuste génère également de meilleures conditions de température et d'humidité sous sa canopée, sans doute parce que cet arbuste est capable de générer une remontée passive d'eau des horizons profonds du sol vers les horizons de surface (phénomène d'ascenseur hydrique ; Kizito et al., 2006). Ces conditions micro-climatiques, comparées à celle de la zone hors du couvert de l'arbuste, permettent le maintien de l'activité microbienne pendant toute l'année (Diedhiou et al., 2009), favorisant ainsi la présence des nématodes bactérivores en présence de *Piliostigma reticulatum*. A l'opposé, certains nématodes, notamment les Cephalobidae, développent une forme de résistance à la dessiccation (Ettema et Bongers, 1993) qui peut expliquer le maintien d'une abondance relativement élevée dans le traitement mil de notre étude, ou dans d'autres champs de mil de la région (Villenave et al., 2003). Les relations entre organismes changent en fonction des conditions du milieu (Ferris et al., 2001). L'importance des facteurs pédoclimatiques sur l'abondance relative des taxons ou des guildes fonctionnelles, ou sur la structuration du réseau trophique, la compétition entre espèces reste à explorer plus en détail dans le contexte de notre modèle d'association culturale.

IV. Conclusion

Notre étude basée sur l'analyse de la nématofaune du sol, prenant en compte l'abondance des différents groupes trophiques, la répartition en guildes fonctionnelles, le calcul d'indices, permet de discriminer l'effet de la présence de *P. reticulatum* pour le sol cultivé étudié, et documente l'impact de la présence de l'arbuste sur le fonctionnement de la chaîne trophique du sol. L'association de l'arbuste dans la culture du mil permet un contrôle biologique sur les nématodes phytoparasites du mil d'une part, et favorise d'autre part le développement des nématodes bactérivores plus particulièrement les nématodes de la guildes d'enrichissement (Bactérivores c-p1). La chaîne trophique en présence de *Piliostigma reticulatum* présente un niveau d'enrichissement et de structure élevé et est caractérisée par une chaîne de décomposition à dominante bactérienne. Par conséquent, bien que cela mérite d'être étudié plus précisément, les effets de la présence de l'arbuste (et de la gestion de ses résidus de coupe sous la forme de mulch) conduisent potentiellement à une meilleure disponibilité en éléments nutritifs pour la céréale associée.

**Chapitre IV : Effet nématicide de
Piliostigma reticulatum sur l'abondance
d'un nématode phytoparasite
(*Helicotylenchus dihystera*)**

Un article est en cours de rédaction et sera soumis à la revue Crop Protection.

Chapitre IV : Effet nématicide de *Piliostigma reticulatum* sur l'abondance d'un nématode phytoparasite (*Helicotylenchus dihystera*)

I. Introduction

Dans les systèmes de culture Soudano-sahéliens destinés aux productions vivrières, comme le mil, le sorgho ou l'arachide, l'impact des nématodes phytoparasites est parfois occulté par de nombreux facteurs tels que la sécheresse, les attaques des insectes et la mauvaise qualité des semences (Cadet, 1998). Pourtant, les nématodes phytoparasites occasionnent des dégâts qui se manifestent, à l'examen microscopique, par l'apparition de cellules nécrosées dans les tissus racinaires (Quentin et al., 2013). Ces tissus nécrosés provoquent un dysfonctionnement du système racinaire qui se traduit par une réduction de sa capacité d'assimilation des éléments nutritifs et de l'eau, et donc un mauvais développement de la plante et une perte de rendements (Cadet, 1990 ; Blasingame et Patel, 2011 ; Wen et al., 2013). Diminuer le nombre de nématodes phytoparasites dans le sol conduit à réduire le nombre de cellules nécrosées et à restaurer la fonction assimilatrice du système racinaire. Avec l'émergence des problèmes sanitaires et écologiques posés par l'utilisation des pesticides dans les pays développés, l'application de produits nématicides de synthèse n'est plus envisageable dans les pays en développement, d'autant plus que le coût est trop élevé pour la plupart des petits agriculteurs. Les recherches se sont naturellement orientées vers la mise au point de méthodes de lutte biologique reposant sur le même principe de réduction du nombre de parasites, mais en se basant sur la relation des nématodes avec leur environnement (relations mésologiques), les relations interspécifiques, ou encore l'apport de matières organiques ou de résidus aux propriétés nématicides (e.g. Cadet, 1998 ; Stirling et al., 2011 ; Tabarant et al., 2011). Au Sénégal, l'association d'une céréale, le mil, avec un arbuste natif, *Piliostigma reticulatum*, combinée à la gestion des résidus de coupe de cet arbuste, permet une réduction du nombre de nématodes phytoparasites (Diakhate et al., 2013, publié d'après les résultats du chapitre II de ce mémoire). Au champ, l'arbuste *P. reticulatum* dégage en période de floraison des essences qui ont également un effet répulsif sur les insectes floricoles ravageurs du mil (Abasse et al., 2013). De nombreuses plantes ont été étudiées pour leur potentiel comme pesticide naturel, notamment contre les nématodes phytoparasites (e.g., Akhtar, 2000, Sharma et Trivedi, 2002 ; Oka et al., 2010). *Piliostigma reticulatum* est couramment utilisé en pharmacopée traditionnelle (Yelemou et al., 2007) parce qu'il contient des substances antimicrobiennes (polyphénols, flavonoïdes et anthocyanines ; Babajide et al., 2008; Dossa et al 2009). Bien que ces substances soient également connues, chez d'autres espèces, pour leurs propriétés nématotoxiques (Chitwood, 2002 ; Orhi et Pannu, 2010), aucune étude n'a porté sur le potentiel nématicide de l'arbuste *P. reticulatum*.

La plupart des tests du potentiel nématicide des plantes concerne les nématodes phytoparasites du genre *Meloidogyne* (Oka et al., 2007, Böhm et al., 2009 ; D'Addabbo et

al., 2011; Oka, 2012) parce que ces endoparasites sédentaires peuvent causer des dommages extrêmement importants aux cultures vivrières (Swarup et Sosa-Moss, 1990 ; Oka et al., 2012). *Meloidogyne spp.* n'a cependant pas été observé dans les sols de l'étude menée au Sénégal sur une culture de mil en présence ou absence de l'arbuste *Piliostigma reticulatum* (cf. chapitre précédent ; Diakhaté et al., 2013). Dans notre étude, le groupe des nématodes phytoparasites est dominé par la famille des Haplolaimidae, notamment le genre *Helicotylenchus spp.*, et la densité de ces nématodes diminue dans le système cultivé où mil et arbuste sont associés et où les résidus de coupe de l'arbuste sont restitués au sol sous forme de mulch. Villenave et Cadet (1998) ont également rapporté la relative abondance de *Helicotylenchus dihystra* (Cobb, 1893) dans d'autres sols cultivés au Sénégal. *Helicotylenchus dihystra* (système en annexe 5) est l'un des nématodes phytoparasites les plus polyphages et ubiquistes pouvant créer des dommages importants aux plantes cultivées lorsqu'il domine le peuplement ou sur des sols pauvres cultivés depuis des années (Baujard et al., 1995 ; Villenave et al., 1997). Un autre intérêt de cette espèce réside dans la modération des autres nématodes phytoparasites dans le peuplement qu'elle peut exercer à condition qu'elle soit présente à de faibles densités (Villenave et Cadet, 2000). Par ailleurs, *Helicotylenchus dihystra* est facilement reconnaissable à son aspect spiralé ce qui facilite le tri avant mise en élevage, et il réalise une partie de son cycle de vie dans le sol, ce qui le rend théoriquement plus sensible aux produits nématotoxiques. Cette étude a pour but de tester l'effet nématocide des résidus de l'arbuste *Piliostigma reticulatum* sur la densité des nématodes phytoparasites *Helicotylenchus dihystra* dans une culture de mil en milieu contrôlé.

II. Matériel & Méthodes

II.1. Elevage des nématodes *H. dihystra*

Des échantillons de l'horizon superficiel du sol ont été prélevés dans des parcelles cultivées avec du mil du dispositif expérimental de l'ISRA localisé à Nioro-du Rip (Sénégal ; Tableau 14).

Tableau 14 : Principales caractéristiques de l'horizon superficiel du sol de Nioro-du-Rip.

| Propriétés | | |
|-------------------|--------------------------|------|
| Sables | (g 100 g ⁻¹) | 86,4 |
| Limons + Argiles | (g 100 g ⁻¹) | 12,9 |
| Carbone total | (mg C g ⁻¹) | 2,5 |
| Azote total | (mg N g ⁻¹) | 0,2 |
| Phosphore total | (µg P g ⁻¹) | 42,3 |
| pH _{eau} | | 5,5 |

Les échantillons de sol ont été tamisés à 2 mm et mélangés pour constituer un échantillon composite qui a été stérilisé à l'autoclave (120°C, 20 min). Des pots contenant chacun 300 g de sol stérile ont été préparés pour une mise en culture de mil (*Pennisetum glaucum*, variété souna 3) propice à l'élevage des nématodes phytoparasites. Les pots sont conservés en phytotron, arrosés régulièrement, en attendant un développement du mil suffisamment important pour recevoir les nématodes phytoparasites (15 jours après semis). Un second échantillonnage de sol est alors effectué dans les parcelles de la station de Nioro pour en extraire l'ensemble des nématodes selon la méthode de Seinhorst (Seinhorst, 1962 ; détails dans le chapitre III). Après extraction, les nématodes de l'espèce *Helicotylenchus dihystra* ont été identifiés, isolés et inoculés dans les pots contenant le mil à raison de 250 à 300 individus matures par pot. Au bout d'un mois, un pot est sacrifié pour en extraire les nématodes, les compter, s'assurer de la pureté de l'élevage, et apprécier le taux de croissance de la population. Les nématodes sont extraits des pots pour renouveler la mise en culture sur d'autres plans de mil à raison de 1 000 individus par nouveau pot (multiplication de l'élevage). L'opération est renouvelée jusqu'à l'obtention d'une population pure d'environ 50 000 individus matures de *H. dihystra* nécessaire à la réalisation de l'expérience.

II.2. Test préliminaire in-vitro du potentiel nématicide de *Piliostigma reticulatum* sur les nématodes de l'espèce *Helicotylenchus dihystra*

Un extrait aqueux a été obtenu après macération de feuilles fraîches hachées (1:3 p/v ; 72h), centrifugation et filtration. Une population pure *H. dihystra* a été introduite dans des tubes eppendorf de 1 ml contenant 500 µl de l'extrait aqueux de feuilles de *Piliostigma reticulatum* (140 nématodes / tube ; n = 4). Un tube contenant de l'eau déminéralisée (et non l'extrait aqueux des feuilles de l'arbuste) a servi de contrôle pour ce test. Après 24 h, les nématodes encore vivants dans les tubes sont comptés à l'aide d'une loupe binoculaire.

II.3. Effets des résidus de *Piliostigma reticulatum* sur *Helicotylenchus dihystra*

Dans nos essais agroforestiers au champ, le mil est associé à *Piliostigma reticulatum* mais ce dernier est recepé au moment du semis de la céréale et l'ensemble des résidus de coupe de l'arbuste sont rapportés à la parcelle sous forme de mulch (environ 2 tonne ha⁻¹) ; ce mulch se compose approximativement d'un poids équivalent en tige (T) et feuilles (F). Cependant, les populations locales utilisent souvent les tiges du piliostigma comme bois de chauffe ne laissant ainsi que les feuilles pour un autre usage potentiel. Notre expérimentation en conditions contrôlées comprendra donc trois modalités : (i) aucun apport de résidus de piliostigma (contrôle, C), (ii) un mélange de feuilles et de tiges (F+T) ; environ 1:1 p/p), (iii) un apport de feuilles uniquement (F).

Des rameaux de *Piliostigma reticulatum* ont été prélevés puis séchés à 60°C pendant 48 h à l'étuve. Ces résidus ont été passés dans un broyeur à végétaux (CZ13, IKA®-Werke GmbH

& Co. KG, Staufen, Allemagne) entièrement pour obtenir le mélange de feuilles et de tiges (F+T), ou après séparation des tiges une poudre de feuilles (F). La quantité de résidus apportée dans notre essai en conditions contrôlées correspond à un doublement de la quantité apportée au champ afin que ce test de l'effet nématocide ne soit pas limité par une concentration insuffisante. Ainsi, prenant en considération la densité apparente du sol dans l'horizon superficiel, la quantité apportée est de 2 % (p/p). Les pots utilisés dans l'essai sont des cylindres PVC (diamètre 5 cm) obturés à leur base par une toile métallique de 100 μm de maille empêchant le passage des nématodes. Chaque pot est rempli avec 350 g de sol préalablement stérilisé à l'autoclave et le mil est semé pour servir de plante-hôte. Les pots sont arrosés jusqu'au développement suffisant du mil (2 semaines après semis), puis les nématodes sont introduits à raison de 840 ± 30 nématodes du genre *Helicotylenchus dihystra* par pot. Après 4 jours, 4 pots sont sacrifiés pour vérifier le maintien de la population pure de *H. dihystra*. Puis les 3 traitements C, F et F+T ($n = 8$) sont mis en place pour une durée de 45 jours durant lesquels les pots conservés en phytotron (27°C) et les plans de mil arrosés régulièrement:

- C, traitement de contrôle : Aucun apport de résidus de *P. reticulatum* ;
- F, traitement avec un apport de 7 g de poudre de feuilles par pot ;
- F+T, traitement avec un apport de 7 g d'un mélange finement broyé de feuilles et de tiges (1:1 p/p) par pot.

Au bout des 45 jours, le mil a été dépoté. Les parties aériennes de la plante ont été prélevées puis séchées à l'étuve (65°C ; 72 h) afin de déterminer les éventuels écarts de biomasse entre les 3 traitements. Les nématodes ont été extraits avec la même méthode que précédemment (Seinhorst, 1962) et comptés sous loupe binoculaire.

Les teneurs en azote minéral dans les sols à l'issue des 45 jours d'expérimentation ont été déterminées par colorimétrie (Technicon, AutoAnalyseur III) après extraction dans une solution KCl 1M (Bremner, 1965).

Le taux de reproduction moyen de la population de nématode pour la période de 45 jours a été calculé (Villeneuve et Cadet 1998) en faisant le rapport des abondances en fin et début d'expérimentation dans le traitement de contrôle. La réduction de la population de *H. dihystra* est calculée en comparant les abondances en fin d'expérimentation dans les traitements avec apport de résidus (F et F+T) et dans le traitement de contrôle (C, sans résidus). L'analyse statistique est réalisée à l'aide du logiciel XLSTAT (v2010, AddinSoft, France) et les différences sont considérées comme significatives au seuil de 5 %.

III. Résultats

III.1. Test préliminaire du potentiel nématocide de *P. reticulatum*

Le potentiel nématocide de *P. reticulatum* vis-à-vis des nématodes phytoparasites du genre *H. dihysetra* a été testé *in vitro* par la mise en présence de ces nématodes avec une décoction de feuilles de l'arbuste. Après 24h d'immersion, 86 % des nématodes ont survécu

dans les tubes témoin contenant de l'eau déminéralisée alors qu'aucun nématode n'a survécu dans les extraits aqueux de feuilles de *Piliostigma* (résultats non présentés) révélant ainsi un potentiel nématocide.

III.2. Effet de l'apport des résidus sur les teneurs en azote minéral et la biomasse du mil.

Les résultats de l'analyse de l'impact des apports des résidus de l'arbuste sur les teneurs en azote minéral dans le sol et sur la biomasse aérienne du mil sont consignés dans le tableau 15.

Tableau 15 : Teneurs en azote minéral du sol (n=3) et biomasse aérienne du mil (poids sec) à l'issue de l'expérimentation (n=8).

| Traitement | Mil - Biomasse aérienne | Sol – Azote minéral | |
|------------|-------------------------|---|---|
| | g | $\mu\text{g N-NO}_3^- \text{ g}^{-1} \text{ sol}$ | $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ sol}$ |
| C | 0,26 b | 0,54 a | 1,67 a |
| F | 0,16 ab | 3,30 c | 1,95 b |
| F+T | 0,05 a | 2,94 b | 2,33 c |

Pour une même colonne, une lettre différente indique une différence significative au seuil de 5%

Les teneurs en ammonium et en nitrate (N minéral) dans nos différents échantillons ont montré une augmentation significative ($P < 0,001$). Le traitement F présente la teneur en nitrates la plus élevée dans le sol alors que le traitement F+T bénéficie de plus d'ammonium (Tableau 15). Les résultats montrent également une prédominance de la forme NO_3^- lors de la décomposition des résidus de l'arbuste. Les résultats de la biomasse aérienne sèche du mil après dépotage ont montré une diminution significative ($P < 0,05$) de la biomasse aérienne sèche du mil dans les pots avec apport de résidus par rapport au contrôle.

III.3. Effets nématocide de *Piliostigma* sur l'abondance des *Helicotylenchus dihystera*

Les nématodes ont été introduits dans les pots à raison de 840 ± 30 nématodes (population inoculée) ; une extraction a été réalisée 4 jours après l'inoculation pour contrôler la stabilité de ces populations dans les pots. L'abondance est en moyenne de 844 nématodes (population initiale) par pot.

A l'issue des 45 jours d'expérimentation, l'abondance des nématodes phytoparasites varie en fonction des traitements (Figure 34).

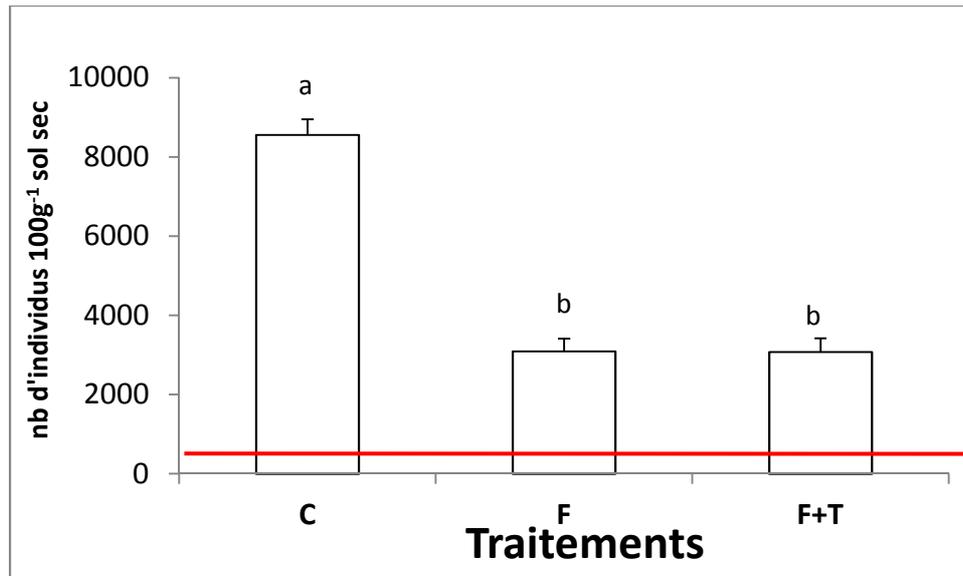


Figure 34 : Effet de l'apport des résidus de *Piliostigma reticulatum* sur l'abondance des *Helicotylenchus dihystera* dans les différents traitements (n=8). (C= sol +Nématodes ; F = Sol+Nématodes+ Poudre de feuille de *Piliostigma reticulatum* ; F+T = Sol+Nématodes+ poudre du mélange feuille+ tige de *Piliostigma reticulatum*). Les barres d'erreur représentent les écart-types (n = 4). Le trait horizontal représente la population initiale en début d'expérimentation.

La densité des nématodes dans le traitement témoin (C) augmente significativement ($P < 0,005$) au bout des 45 jours de l'étude pour atteindre en moyenne 8555 individus par pot soit environ 10 fois plus que la quantité initiale inoculée. L'incorporation des résidus de feuilles (traitement F) et du mélange feuilles + tiges (traitement F+T) dans les pots réduit significativement ($P < 0.0001$) le développement de *Helicotylenchus dihystera* avec une population d'environ 3080 individus sans différence significative entre les traitements F et F+T. L'apport des résidus de *P. reticulatum* limite le développement de *H. dihystera* d'environ 64%.

IV. Discussion

Cette expérience réalisée pour évaluer l'effet suppressif des résidus de *Piliostigma reticulatum* contre *Helicotylenchus dihystera* est sans doute l'une des premières études de l'effet nématocide de cet arbuste. Dans notre étude, les populations de nématodes *H. dihystera* diminuent de 64% en présence des résidus sans différence significative entre les traitements F et F+T. Plusieurs travaux ont mis en évidence que de la décomposition des résidus organiques au cours du temps libèrent des composés dans le sol qui sont directement responsables de la diminution notée dans l'abondance des nématodes phytoparasites (e.g. Ismail et al., 2009 ; Maistrello et al., 2010 ; Oka, 2010 ; Oka et al.,

2012). A titre d'exemple, Oka et al. (2012) ont ainsi obtenu une baisse importante d'une population de *Meloidogyne javanica* en utilisant de la poudre de feuille de *Myrtus communis*. Plusieurs mécanismes pourraient être impliqués dans la suppression des nématodes, notamment la production et la libération de composés nématocides lors de la dégradation des résidus de plante et / ou une modification des conditions mésologiques qui ne conviennent plus au développement des nématodes (Oka, 2010 ; Noweer et Dawood, 2009). Un effet antimicrobien de *P. reticulatum* a déjà été mis en évidence sur plusieurs espèces bactériennes et de champignons (Babajide et al., 2008). La présence de polyphénols (Dossa et al., 2009), de flavonols et d'oxychromones (Babajide et al., 2008) chez *P. reticulatum* pourrait également être à l'origine de l'effet nématocide (Orhi et Punna, 2010). Ces composés phénoliques sont souvent associés à la résistance des plantes contre à une variété d'organismes nuisibles et d'agents pathogènes (Abasse et al., 2013 ; Lattanzio et al., 2006 ; Aissani et al., 2013). Pour d'autres espèces de plantes, des études ont mis en évidence une corrélation entre des concentrations élevées en composés phénoliques et la résistance aux nématodes phytoparasites (Chitwood et al., 2002 ; Orhi et Punna, 2010).

Par ailleurs, l'apport de résidus conduit à une augmentation des quantités d'azote minéral disponibles dans le sol. Malgré cet apport de nutriments, la biomasse sèche du mil diminue dans les traitements avec résidus. Le traitement F+T présentent plus d'ammonium dans le sol mais moins de nitrates que le traitement F alors que c'est l'inverse pour la quantité de nitrates dans le sol ; elle est inférieure dans le traitement F+T par rapport au traitement F. Le mélange de feuilles et de tiges contient plus de polyphénols (Dossa et al., 2009) qui peuvent avoir un effet allélopathique (Li et al., 2010), néfaste sur la croissance de la plante notamment en début de cycle et qui sont connus chez d'autres espèces pour bloquer le processus de nitrification (transformation de l'ammonium en nitrate) (Bernhard-Reversat, 1996). Le blocage de la nitrification et l'accumulation d'ammonium qui en découle est aussi responsable d'une baisse des population de nématodes phytoparasites (Oka et al., 2007 ; Noweer et Dawood, 2009).

Les résidus ont été apportés à un taux équivalent à 4 t ha^{-1} , ce qui semble raisonnable au regard de certaines études qui utilisent des quantités de résidus bien plus importantes (équivalent à 10 t ha^{-1} pour Stirling et al., 2005 ou Tabarant et al., 2011). Toutefois, ce taux d'apport correspond au double des quantités apportées au champ dans nos essais expérimentaux ce qui est supérieur aux quantités des résidus de coupe disponibles dans notre zone d'étude. L'effet de suppression des phytoparasites étant lié à la dose de résidus apportée (D'Addabbo et al., 2011 ; Ismail et al., 2012), il est possible que l'effet nématocide des résidus de *P. reticulatum* soit moins important à une dose d'apport moins élevée.

Il serait intéressant d'essayer d'identifier dans d'autres études complémentaires :

- Tester cet effet nématocide sur d'autres nématodes phytoparasites notamment des endoparasites pouvant provoqués des dégâts plus importants aux cultures
- Tester dans le cadre d'un peuplement complexe de plusieurs nématodes phytoparasites voir une population plus globale constituée de nématodes phytoparasites associés à des nématodes libres.

Discussion générale

Discussion générale

L'objectif de ce travail était d'étudier l'effet de la présence de l'arbuste local *Piliostigma reticulatum* sur le fonctionnement biologique d'un sol cultivé en mil en zone Soudano-sahélienne. Cette étude a été menée par l'analyse des communautés microscopiques (microorganismes et nématodes) de l'horizon superficiel du sol échantillonné dans 4 traitements d'un dispositif expérimental situé à Nioro-du-Rip (Sénégal), respectivement : (i) un traitement de contrôle (C), sans mil ni arbuste ; (ii) une culture de mil (M) sans apport d'intrant organique ou inorganique ; (iii) les touffes arbustives de *P. reticulatum* (P) ; et une culture de mil sans fertilisation minérale mais dans laquelle l'arbuste est associé (M+P) bien qu'il soit recepé au moment du semis de la céréale ; ces résidus de coupe étant ensuite maintenus sur la parcelle sous la forme d'un mulch (2 t.ha⁻¹).

La comparaison des traitements témoin (C) et mil (M) permet d'appréhender les changements induits par la culture de mil. Les teneurs totales en éléments (carbone, azote, phosphore) sont les mêmes dans les deux sols ; de même, les teneurs en azote minéral (ammonium et nitrates) ne sont pas significativement différentes (Tableau 7). Les substrats utilisés dans la méthode MicroResp™ ne mettent pas en évidence de différence significative dans les aptitudes cataboliques entre ces deux traitements (Figure 23). L'analyse de l'abondance et des guildes fonctionnelles des nématodes libres révèle une forte similarité ($P = 0.08$) de la structure des communautés de nématode dans le sol du traitement de contrôle (C) et dans celui de la culture du mil (M) ; ces deux traitements partagent ainsi le même quadrat sur le diagramme de Ferris (Ferris et al., 2001 ; Figure 33) indiquant un réseau trophique structuré évoluant dans un milieu modérément riche en ressources. Le sol de la culture du mil présente toutefois une abondance des nématodes phytoparasites plus élevée (Figure 30). L'analyse en composantes principales basée sur les résultats des activités enzymatiques et la biomasse microbienne met en évidence une discrimination de ces deux traitements le long de l'axe F1 qui exprime 60% de l'inertie totale (Figure 21B) ; cette discrimination s'appuie essentiellement sur les différences constatées pour les activités phosphatase, arylsulfatase et pour l'hydrolyse de la FDA, indicatrice de l'activité métabolique globale des microorganismes. Bien que l'analyse multivariée pratiquée sur les données décrivant les communautés microbiennes mette elle-aussi en évidence des différences significatives dans la structure de la communauté bactérienne totale ($P = 0,006$; Figure 25) et des communautés fongiques ($P = 0,02$; Figure 28), le sol témoin (C, sans plante) et le sol de la culture du mil (M) présentent des communautés relativement similaires et forment ainsi deux groupes proches dans les dendrogrammes de similarité (Figures 24 et 27). Les traitements C et M présentent finalement peu de différences dans les paramètres microbiologiques étudiés mais notre étude permet toutefois de les discriminer. Ces traitements permettent de comparer un sol sans plante (C) à un sol avec une plante, en l'occurrence le mil (M) mais cultivé sans apports d'intrants organiques ou inorganiques. De nombreuses études ont montré les effets

des intrants sur le stockage de la matière organique, les paramètres biologiques et les fonctions associées impliquées dans le cycle du carbone et des éléments (e.g. Blanchart et al., 2005 ; Diedhiou et al., 2009 ; Dossa et al., 2009).

Pour les sols sableux, le potentiel de stockage de la matière organique est limité (Feller et Beare, 1997) et les apports sous forme de débris organiques constituent un moyen d'augmenter les teneurs en matière organique (Blanchart et al., 2005). Ces apports permettent également d'influencer les activités des organismes, notamment les premiers niveaux de la chaîne trophique (e.g., De Ruiter et al., 1998). Ainsi, sous la canopée de l'arbuste *Piliostigma reticulatum* où la litière naturelle a pu s'accumuler durant plusieurs années, les teneurs totales en carbone et azote mais aussi les concentrations en azote minéral sont plus élevées que dans le sol nu (C) ou dans le sol cultivé en mil (M) (Tableau 7). Notre étude met en évidence une augmentation significative des activités enzymatiques du sol (β -glucosidase, uréase, arylsulfatase et hydrolyse de la FDA) sous la canopée de l'arbuste par rapport au sol témoin mais aucune de ces activités n'est toutefois significativement différente de celles observées dans la culture de mil. Bien que la structure des communautés bactériennes et fongiques soient relativement semblables entre les traitements (similitude d'au moins 70% ; Figures 24 et 27), l'analyse de la représentation NMDS (Non-metric MultiDimensional Scaling) réalisée à partir des données PCR-DGGE (présence/absence ; intensité des bandes) montrent une différenciation nette entre le traitement de contrôle (C) et le mil (M) d'une part et *P. reticulatum* (P) d'autre part. Un tel effet des arbustes sur le statut organique et les composantes biologiques du sol a été mis en évidence dans d'autres travaux en milieu aride (Diedhiou, 2007 ; Housman et al., 2007 ; Berg et Steinberger, 2010). Les microorganismes du sol sous *P. reticulatum* dégradent de façon plus intense un certain nombre de substrats (Figure 22 ; P vs C : alanine, glucose, tréhalose, acide protocatéchique). Cette activité catabolique se traduit par les différences significatives (dans le dégagement de CO₂ associé à ces activités de respiration induite par le substrat) qui n'avaient pas été observées entre le sol témoin et le sol sous mil (C vs. M, respectivement). Ces modifications peuvent être expliquées par la qualité et la quantité des ressources disponibles (exsudats racinaires et litière) pour les communautés microbiennes du sol (Eisenhauer et al. 2010; Ladygina et Hedlund, 2010). L'acide protocatéchique est ainsi un acide phénolique, aux propriétés anti-oxydantes et allélopathiques, couramment répandu chez les plantes. Lorsque l'on compare les profils cataboliques des sols sous la canopée de l'arbuste (P) et dans la culture de mil (M), seule la capacité de dégradation du tréhalose différencie les deux traitements. L'effet significatif du *P. reticulatum* sur l'intensité de l'activité catabolique du tréhalose pourrait s'expliquer par certains phénomènes écophysiologicals liés à l'arbuste uniquement. Le tréhalose et la tréhalase (enzyme à même de le dégrader) interviennent chez certaines espèces dans la régulation de la fermeture de stomates en cas de stress hydrique (van Houtte et al., 2013) suggérant la possibilité d'un mécanisme similaire chez *P. reticulatum* pour mieux résister aux conditions sèches en zone sahélienne. *Piliostigma reticulatum* est aussi connu pour sa capacité à prélever et à redistribuer de l'eau du sol des horizons profonds vers les horizons superficiels (phénomène d'ascenseur hydrique ; Kizito et al., 2006), générant ainsi un milieu de vie plus favorable pour les organismes. L'analyse de la structure des communautés de nématodes

(64 taxons identifiés) met en évidence une modification significative de la structure de cette communauté ($P = 0,035$; Figure 32) discriminant clairement le sol sous *P. reticulatum* (P). L'abondance des phytoparasites dans le sol sous la canopée de l'arbuste est inférieure à celle observée dans la rhizosphère du mil. La richesse taxonomique de la communauté de nématodes est plus élevée dans le sol sous *Piliostigma* que dans le sol nu ou sous la culture de mil ($P < 0,001$; Figure 31). La chaîne trophique se révèle être moins mature (indice MI) et moins structurée (SI) sans que cela ne change toutefois le positionnement dans le diagramme de Ferris ; le traitement *Piliostigma reticulatum* est dans le même quadrat que le sol nu ou le sol sous culture de mil (Figure 33).

Par contre, l'analyse des mêmes indicateurs de structure et d'enrichissement basés sur le nématofaune place le traitement M+P dans un autre quadrat du diagramme de Ferris (Figure 33). Ainsi, l'association du mil avec *P. reticulatum* et la présence à la surface du sol du mulch issu des résidus de l'arbuste constitue un milieu « enrichi en azote » par rapport à celui observé dans la culture du mil sans arbuste. Ce milieu enrichi semble propice à la céréale puisque sur le terrain, cela se traduit par une augmentation sensible du rendement en grain ($887 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ contre $500 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ dans la culture de mil sans arbuste ni mulch, traitement M). Bien que les teneurs totales en carbone, azote et phosphore ne soient pas plus importantes dans le sol de la culture du mil en présence de l'arbuste (M vs M+P), le traitement associant mil et arbuste présente en effet des teneurs en azote minéral (notamment nitrates) plus élevées. Les communautés microbiennes et fongiques du sol associant mil et arbuste (et mulch) sont différenciées mais assez proche de celles observées sous la canopée de l'arbuste (traitement P). Les valeurs élevées du Nematode Channel Ratio (NRC) mettent en évidence une prédominance de la chaîne de décomposition bactérienne dans le réseau trophique du traitement associant mil et arbuste alors même que ce traitement reçoit un mulch qui pourrait théoriquement offrir des ressources aux champignons (notamment saprophytiques). Les nématodes bactérivores sont plus abondants dans la culture de mil associant l'arbuste que dans la culture de mil sans arbuste (M+P vs M) et peuvent donc contribuer au recyclage des nutriments notamment l'azote (Buchan et al., 2013). Ce recyclage peut également être favorisé par la présence plus importante de prédateurs dans les systèmes intégrant l'arbuste au travers d'une régulation des niveaux inférieurs du réseau trophique (Sanchez-Moreno et Ferris, 2007 ; Djigal et al., 2012). Les plus fortes activités arylsulfatase et déshydrogénase observées dans le traitement M+P comparativement au traitement M sont indicatrices d'une activité microbienne plus soutenue alors que l'activité uréase plus élevée témoigne d'un effet sur le cycle de l'azote. Les profils de diversité fonctionnelle mettent en valeur une meilleure capacité des microorganismes du sol à dégrader l'acide protocatéchique dans la culture de mil lorsque l'arbuste est inclus dans le système cultivé (M+P vs M) alors que les composés phénoliques peuvent interférer dans la minéralisation de l'azote, et sont relativement résistants à la dégradation par les champignons (Bernhart-Reversat, 1996).

L'expérimentation en conditions contrôlées, étudiant l'effet des résidus de l'arbuste (feuilles versus un mélange de feuilles et de tiges) sur les nématodes du genre *H. dihystra*,

permet elle aussi de montrer l'effet sur la minéralisation de l'azote. Les teneurs en ammonium dans les sols en présence des résidus sont plus élevées (et celles en nitrates inversement moins élevées) témoignant d'une possibilité d'inhibition de la nitrification. En milieu naturel, ce mécanisme permet de limiter des pertes en azote par lessivage des nitrates et de maintenir dans l'horizon superficiel une teneur en azote propice à la croissance des plantes (Subbarao et al., 2013).

Notre étude en conditions contrôlées a par ailleurs permis de montrer que les résidus de *Piliostigma reticulatum* ont un effet nématocide contre une population introduite de nématodes ectoparasites de l'espèce *Helicotylenchus dihystera*. Cet effet nématocide, que d'autres études attribuent à des molécules qui peuvent être présentes chez *piliostigma* (Chitwood, 2002 ; Babajide et al., 2008), pourrait expliquer la diminution d'abondance des nématodes phytoparasites, tout du moins celle des *Helicotylenchus dihystera*, observées dans les échantillons issus du terrain. Cette diminution des nématodes phytoparasites du mil dans le traitement associant l'arbuste peut elle aussi contribuer à la hausse des rendements observés dans les parcelles expérimentales. Ce potentiel nématocide de *P. reticulatum* est d'autant plus intéressant que l'effet suppressif est avéré par l'utilisation des feuilles seules, sans avoir recours aux tiges qui sont souvent utilisées par les populations locales pour d'autres usages (bois de chauffe, construction des cases). La ressource en feuilles de *P. reticulatum* sur le terrain serait ainsi suffisante pour envisager d'utiliser ce matériel végétal comme un nématocide naturel. Cette étude en pot nous a aussi montré que même si les résidus présentent un effet suppressif contre les nématodes phytoparasites, un excès d'apport de ses résidus pouvait impacter négativement la croissance des jeunes plans de mil. Il conviendrait donc de mieux étudier la dose adéquate à apporter.

Les approches combinées qui ont été mises en œuvre dans le cadre de ce travail de thèse nous ont permis de mettre en exergue que la présence du *Piliostigma reticulatum* (et la gestion des résidus de coupe de l'arbuste) affecte essentiellement la structure des communautés de microorganismes et de nématodes, le réseau trophique, et dans une moindre mesure les activités des microorganismes, mais ces changements dans le fonctionnement biologique du sol cultivé en mil sont suffisants pour intensifier le cycle de l'azote et de diminuer la pression des nématodes phytoparasites au profit de la céréale, dans un système cultivé sans fertilisation minérale.

En perspective, afin de mieux préciser les mécanismes mis en jeu, des travaux complémentaires nous paraissent essentiels à réaliser :

- La quantification des flux d'énergie et de nutriments qui circulent dans les réseaux trophiques (prédation et recyclage de l'azote) ;
- La caractérisation du processus de nitrification, et son inhibition si elle est avérée, ainsi que son suivi au cours du cycle cultural ;
- L'implication des composés phénoliques issus de la litière ou accessoirement d'exsudats racinaires, dans ces mécanismes ;

- Une analyse métagénomique de communautés microbiennes liées à la rhizosphère de *Piliostigma reticulatum* pouvant être impliquées dans les mécanismes d'intensification des processus liés cycle de l'azote ;
- Un test de l'effet nématocide du *P. reticulatum* sur d'autres espèces virulentes comme *Scutellonema cavenessi* pour le mil ou le genre *Meloidogyne* pour d'autres cultures dans la zone tropicale.

Il ressort de cette étude quelques recommandations sur l'utilisation et la gestion du *P. reticulatum* dans les agroécosystèmes :

- La promotion du maintien et la gestion des arbustes dans les agroécosystèmes ;
- La culture de la céréale à proximité de l'arbuste ;
- L'apport privilégié des feuilles de l'arbuste dans les agroécosystèmes pour à la fois améliorer le statut organique du sol mais aussi pour le contrôle biologique des nématodes phytoparasites.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

- Abasse, T., Yaye, A., Zakari, A.H., Assoumane, I.A., Toudou, A.** 2013. Influence des Parcs agro-forestiers à *Piliostigma reticulatum* sur l'infestation des plants de mil par les insectes floricoles et *Coniesta ignefusalis* (Hmps) (Lépidoptère : Pyralidae) dans la zone d'Aguié au Niger. *J. appl. Biosci.* 66:5140-5146.
- Acosta-Martinez, V., Dowd, S.E., Sun, Y., Wester, D., Allen, V.G.,** 2010. Pyrosequencing analysis for characterization of soil bacterial populations as affected by an integrated livestock-cotton production system. *Appl. Soil Ecol.* 45:13-25.
- Adam, G., Duncan, H.** 2001. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biol. Biochem.* 33:943-951.
- Aissani, N., Tedeschi, P., Maietti, A., Brandolini, V., Garau V.L., Caboni, P.,** 2013. Nematicidal Activity of Allylisothiocyanate from Horseradish (*Armoracia rusticana*) Roots against *Meloidogyne incognita*. *J. Agric. Food Chem.* 61:4723-4727
- Alef, K., Nannipieri, P., Trasar-Cepeda, C.** 1995. Phosphatase activity. In: K. Alef, P. Nannipieri (eds). *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, London, pp. 335-336.
- Allen, M.F.,** 2007. Mycorrhizal fungi: highways for water and nutrients in arid soils. *Vadose Zone J.* 6:291-297.
- Amato, M., Ladd, J. N.,** 1988. Assay for microbial biomass based on ninhydrin-reactive nitrogen in extracts of fumigated soils. *Soil Biol. Biochem.* 20:107-114.
- Anderson, T.H., Domsch, K.H.,** 1990. Application of eco-physiological quotients (qCO₂ and qD) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. *Soil Biol. Biochem.* 22:251-255.
- Anderson, T.H., Domsch, K.H.,** 1993. The metabolic quotient for CO₂ (qCO₂) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. *Soil Biol. Biochem.* 25:393-395.
- Anderson, T.H., Domsch, K.H.,** 2010. Soil microbial biomass: the eco-physiological approach. *Soil Biol. Biochem.* 42:2039-2043.
- Araujo, A. S. F., Silva, E. F. L., Nunes, L. A. P. L. and Carneiro, R. F. V.** 2010. Effect of converting native savanna to *Eucalyptus grandis* forest on soil microbial biomass in tropics. *Land Degrad. Develop.* 21:540-545
- Arbonnier, M.** 2009. Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest. MNHN-QUAE, France, 576 pp.
- Attard, E.** 2008. Etude de la réponse des communautés bactériennes du sol aux changements des modes de gestion dans les agrosystèmes. Thèse de doctorat. Université de Poitiers. 359p.
- Aubert, G., Ollat, C., Pinta, M.,** 1954. Méthodes d'analyses utilisées actuellement aux laboratoires des sols de l'IDERT. In : 2^{ème} Conférence Interafricaine des Sols. Léopoldville (ZR), 9-14 Août, : Document n° 101, Ministère des Colonies, Bruxelles. pp. 1267-1276.
- Babajide, J. O., Babajide, O. O., Daramola, A. O., Mabusela, W. T.,** 2008. Flavonols and an oxychromonol from *Piliostigma reticulatum*. *Phytochem.* 69:2245-2250.

- Babajide**, O.J., Mabusela, W.T., Green, I.R., Ameer, F., Weitz, F., Iwuoha, E.I., 2010. Phytochemical screening and biological activity studies of five South African indigenous medicinal plants. *J.Med. Plant. Res.* 2:1924–1932.
- Bachar** , A. , Soares , M. I. M., Gillor, O. 2012. The effect of resource islands on abundance and diversity of bacteria in arid soils. *Microbial Ecol.* 3:694 - 700.
- Badiane**, A.N., Khouma, M., Sene, M., 2000. Région de Diourbel: Gestion des sols. Drylands Research Working Paper 15, Drylands Research, Somerset, England. 25 p.
- Bælum**, J., Henriksen, T., Hansen, H.C.B., Jacobsen, C.S., 2006. Degradation of 4- chloro-2-methylphenoxyacetic acid in top and subsoil is quantitatively linked to the class III tfdA gene. *Appl. Environ. Microbiol.* 72:1476-1486.
- Balota**, E. L., Kanashiro, M., Filho, A.C., Andrade, D.S., Dick, R.P., 2004. Soil enzyme activities under long-term tillage and crop rotation systems in subtropical agroecosystems. *Braz. J. Microbiol.* 35:300-306.
- Balota**, E.L., Machineski, O., Truber, P.V., Auler, P.A.M., 2011. Effect of tillage systems and permanent groundcover intercropped with orange trees on soil enzyme activities. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 54:221–228.
- Bandick**, A.K. , Dick, R.P., 1999. Field management effects on enzyme activities. *Soil Biol. Biochem.* 31:1471-1479.
- Bardgett**, R. D., Wardle, D.A., 2010. Aboveground-Belowground Linkages: Biotic Interactions, Ecosystem Processes and Global Change. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Bartram**, A.K., Lynch, M.D., Stearns, J.C., Moreno-Hagelsieb, G., Neufeld, J.D., 2011. Generation of multimillion-sequence 16S rRNA gene libraries from complex microbial communities by assembling paired-end illumina reads. *Appl. Environ. Microbiol.* 77:3846–3852.
- Baujard**, P., Bour, E., Martiny, B., 1995. Incidence des nématodes phytoparasites sur la culture du sorgho dans la zone sahélienne du Sénégal, Afrique de l'Ouest. *Afro-As. J.Nematol.* 5:1-10.
- Berard**, A., Ben Sassi, M., Renault, P., Gros, R., 2012. Severe drought-induced community tolerance to heat wave. An experimental study on soil microbial processes. *J. Soils Sci.* 12:513-518.
- Berg**, N., Steinberger, Y., 2008. Role of perennial plants in determining the activity of the microbial community in the Negev Desert ecosystem. *Soil Biol. Biochem.* 40:2686-2695.
- Berg**, G., Smalla, K., 2009. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS Microbiol. Ecol.* 68:1-13.
- Berg**, N., Steinberger, Y. 2010. Are biological effects of desert shrubs more important than physical effects on soil microorganisms? *Microb. Ecol.* 59:121-129.
- Berhaut**, J. 1975. *Flore illustrée du Sénégal. Dicotylédones. Tome III. Connaracées à Euphorbiacées.* Dakar, Sénégal: Gouvernement du Sénégal, Ministère du Développement rural et de l'Hydraulique, Direction des Eaux et Forêts, 634 p.
- Bernhard-Reversat**, F. 1996. Nitrogen cycling in tree plantations grown on poor savanna soil in Congo. *Appl. Soil Ecol.* 4:161-172.

- Bending**, G.D., Turner, M.K., Rayns, F., Marx, M.C., Wood, M., 2004. Microbial and biochemical soil quality indicators and their potential for differentiating areas under contrasting agricultural management regimes. *Soil Biol. Biochem.* 36:1785-1792.
- Bjørnlund**, L., Liu, M., Ronn, R., Christensen, S., Ekelund, F. 2012. Nematodes and protozoa affect plants differently; depending on soil nutrient status. *Eur. J. Soil Biol.* 50:28-31
- Blanc**, C., Sy, M., Djigal, D., Brauman, A., Normand, P., Villenave, C., 2006. Nutrition on bacteria by bacterial-feeding nematodes and consequences on the structure of soil bacterial community. *Eur. J. Soil Biol.* 42:70-78.
- Blanchart**, E., A. Albrecht, A., Bernoux, M., Brauman, A., Chotte, J.L., Feller, C., Ganry F., Hien, E., Manlay, R., Masse, D., Sall, S., Villenave, C., 2005. Organic matter and biofunctioning in tropical sandy soils and implications for its management. In: Conference proceedings, Management of Tropical Sandy Soils for Sustainable Agriculture. 27 november-2 December 2005, Khon Kaen, Thaïlande. Accessible en ligne : <http://www.fao.org/docrep/010/ag125e/AG125E19.htm>
- Blasingame**, D., Patel, M. V., 2011. Cotton disease loss estimate committee report. In: Proceedings of the 2011 Beltwide Cotton Conferences, Atlanta, GA, 4-7 January. pp. 306–308.
- Böhm**, L., Arismendi, N., Ciampi, L., 2009. Nematicidal activity of leaves of common shrub and tree species from Southern Chile against *Meloidogyne hapla*. *Cienc. Investig. Agrar.* 36:249-258.
- Bongers**, T. 1990. The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia* 83:14-19.
- Bongers**, T., van der Meulen, H., Korthals, G., 1997. Inverse relationship between the nematode maturity index and plant parasite index under enriched nutrient conditions. *Appl. Soil Ecol.* 6:195-199.
- Bongers**, T., Bongers, M., 1998. Functional diversity of nematodes. *Appl. Soil Ecol.* 10:239-251.
- Bongers**, T., 1999. The Maturity Index, the evolution of nematode life history traits, adaptive radiation and cp-scaling. *Plant Soil* 212:13-22.
- Bonkowski**, M., Villenave, C., Griffiths, B., 2009. Rhizosphere fauna: functional and structural diversity of intimate interactions of soil fauna with plant roots. *Plant Soil* 321:213–232.
- Brackin**, R., Robinson, N., Lakshmanan P., Schmidt, S., 2013. Microbial function in adjacent subtropical forest and agricultural soil. *Soil Biol. Biochem.* 57:68-77.
- Bray**, J.R., Curtis, J.T., 1957. An ordination of the upland forest communities of Southern Wisconsin. *Ecol. Monogr.* 27:325–349.
- Bremner**, J. M., 1965. Organic forms of nitrogen. *Methods of Soil Analysis.* Am. Soc. Agron. 9:1148-1178.
- Briar**, S.S., Grewal, P.S., Somasekhar, N., Stinner, D., Miller, S.A., 2007. Soil nematode community, organic matter, microbial biomass and nitrogen dynamics in field plots transitioning from conventional to organic management. *Appl. Soil Ecol.* 37:256-266.

- Briar**, S.S., Fonte, S.J., Park, I., Six, J., Scow, K., Ferris, H., 2011. The distribution of nematodes and soil microbial communities across soil aggregate fractions and farm management systems. *Soil Biol. Biochem.* 43:905-914.
- Brussaard**, L. 1994. Interrelationships between biological activities, soil properties and soil management. In: D.J. Greenland & I. Szabolcs(eds), *Soil Resilience and Sustainable Land Use* CAB International, Wallingford, UK, pp. 309-329.
- Buchan**, D., Gebremikael, M.T., Ameloot, N., Sleutel, S., Neve, S.D., 2013. The effect of free-living nematodes on nitrogen mineralisation in undisturbed and disturbed soil cores. *Soil Biol. Biochem.* 60:142-155.
- Bulluck**, L.R. III, Barker, K.R., Ristaino, J.B., 2002. Influences of organic and synthetic soil fertility amendments on nematode trophic groups and community dynamics under tomatoes. *Appl. Soil Ecol.* 21: 233-250.
- Cadet**, P.1990. Les nématodes et la fatigue des sols sous culture sucrière au Burkina Faso. *Nematologica*, 35 :355-365.
- Cadet**, P. 1998. Gestion écologique des nématodes phytoparasites tropicaux. *Cah. Agric.*7:187-194.
- Cadet**, P., Floret, C., 1999. Effect of plant parasitic nematodes on the sustainability of a natural fallow cultural system in the Sudano-Sahelian area in Senegal, *Eur. J. Soil Biol.* 35:91-97.
- Callaway**, R.M. 2007. *Positive Interactions and Interdependence in Plant Communities.* Springer, Dordrecht. 415p.
- Campbell**, C.D., Chapman, S.J., Cameron, C.M., Davidson, M.S., Potts, J.M., 2003. A rapid microtiter plate method to measure carbon dioxide evolved from carbon substrate amendments so as to determine the physiological profiles of soil microbial communities by using whole soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:2593-3599.
- Campbell**, C.D., Cameron, C.M., Bastias, B.A., Chen, C.R., Cairney, J.W.G., 2008. Long term repeated burning in a wet sclerophyll forest reduces fungal and bacterial biomass and responses to carbon substrates. *Soil Biol. Biochem.* 40 :2246-2252.
- Cardoso**, I.M., Kuyper, T.W., 2006. Mycorrhizas and tropical soil fertility. *Agric. Ecosyst. Environ.* 116:72-84.
- Chapman**, S.J., Campbell, C.D., Artz, R.R.E., 2007. Assessing CLPPs using MicroResp^(TM) a comparison with Biolog and multi-SIR. *J. Soils Sediments* 7:406-410.
- Chen**, J., Ferris, H., 2000. Growth and nitrogen mineralization of selected fungi and fungal-feeding nematodes on sand amended with organic matter. *Plant Soil* 218:91-101
- Chitwood**, D.J., 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40:221-249.
- CIFOR - CNRST.** 2006. Les gousses de *Piliostigma* sp. Documentaire CIFOR-CNRST Ouagadougou, Burkina Faso.
- Cluzeau**, D., Guernion, M., Chaussod, R., Martin-Laurent, F., Villenave, C., Cortet, J.Ruiz-Camacho, N., Pernin, C., Mateille, T., Philippot, L., Bellido, A., Rouge, L., Arrouays, D., Bispo, A., Peres, G., 2012. Integration of biodiversity in soil quality monitoring: baselines for microbial and soil fauna parameters for different land use types. *European Journal of Soil Biology* 49: 63-72.

- Cobb**, N.A. 1893. Nematode mostly Australian and Finijian, Linn.Soc.N.S.Wales, Macleay Memorial Volume, pp 242-308.
- Cordier**, T., Robin, C., Capdevielle, X., Desprez-Loustau, M-L., Vacher, C. 2012. Spatial variability of phyllosphere fungal assemblages: genetic distance predominates over geographic distance in a European beech stand (*Fagus sylvatica*). Fungal Ecol. 5:509–520.
- D’Addabbo**, T., Papajova, I., Sasanelli, N., Radicci, V., Renčo, M., 2011: Suppression of root-knot nematodes in potting mixes amended with different composted biowastes. Helminthologia, 48:278-287.
- Daglia**, M. 2012. Polyphenols as antimicrobial agents. Curr. Opin. Biotechnol. 23: 174-181.
- Darby**, B.J., Neher, D.A., Housman, D.C., Belnap, J., 2011. Few apparent short-term effects of elevated soil temperature and increased frequency of summer precipitation on the abundance and taxonomic diversity of desert soil micro- and meso-fauna. Soil Biol. Biochem. 43:1474-1481.
- Darby**, B.J., Todd, T.C., Herman, M.A., 2013. High-throughput amplicon sequencing of rRNA genes requires a copy number correction to accurately reflect the effects of management practices on soil nematode community structure. Molec. Ecol. 22:5456-5471.
- Dao**, M.C.E., 2012. Biologie et écologie de la reproduction sexuée d’une Caesalpinioideae (Leguminosae): *Piliostigma reticulatum* (D.C.) Hochst. Thèse de Doctorat. Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. Accessible en ligne : www.beep.ird.fr/collect/upb1/index/assoc/.../IDR-2012-DAO-BIO.pdf
- Davey**, P., 1996. Vie Microbienne du Sol et Production Végétale. Editions Quae, Paris, 383 p.
- Decaëns**, T., 2008. Connaitre et gérer la faune du sol. RST Gestion des Sols et Services Ecosystémiques. Académie des Sciences / Institut de France, Paris.
- Degens**, B.P., Harris, J.A., 1997. Development of a physiological approach to measuring the catabolic diversity of soil microbial communities. Soil Biol. Biochem. 29:1309-1320.
- Dematheis**, F., Kurtz, B., Vidal, S, Smalla, K., 2012. Microbial communities associated with the larval gut and eggs of the western corn rootworm. PLoS ONE 7(10): e44685.
- De Ruiter**, P.C., Neutel, A.M., Moore, J.C., 1998. Biodiversity in soil ecosystems, the role of energy flow and community stability. Appl. Soil Ecol. 10:217-228.
- Diack**, M., Sene, M., Badiane, A.N., Diatta, M., Dick, R.P. 2000. Decomposition of a native shrub, *Piliostigma reticulatum*, litter in soils of semi-arid Senegal. Arid Soil Res. Rehabil. 14: 205–218.
- Diakhaté**, S., Villenave, C., Diallo, N. H., Ba, A. O., Djigal, D., Masse, D., Sembene, P.M., Chapuis-Lardy, L. 2013. The influence of a shrub-based intercropping system on the soil nematofauna when growing millet in Senegal. Eur. J. Soil Biol. 57:37-41.
- Diaper**, J.P., Edwards, C., 1994. Survival of *Staphylococcus aureus* in lakewater monitored by flow cytometry. Microbiology 140 : 35-42.

- Diedhiou, S.**, 2007. Activity, composition and structure of soil microbial communities in savannah shrubs of agroecosystems in Semi-arid Senegal. PhD thesis. Oregon State University. 178 p
- Diedhiou, S.**, Dossa, E.L., Badiane, A.N., Diedhiou, I., Sene, M., Dick, R.P., 2009. Decomposition and spatial microbial heterogeneity associated with native shrubs in soils of agroecosystems in semi-arid Senegal. *Pedobiologia* 52:273–286.
- Diedhiou, S.**, Dossa, E. L., Diedhiou, I., Badiane, A. N., Assigbetse, K. B., Samba, S.A.N., Khouma, M., Sene, M. Dick, R.P. 2013. Microbiology and macrofaunal activity in soil beneath shrub canopies during residue decomposition in agroecosystems of the Sahel. *Soil Science Society of America* 77: 501-511.
- Djigal, D.**, Brauman, A., Diop, T.A., Chotte, J.L., Villenave, C., 2004. Influence of bacterial-feeding nematodes (Cephalobidae) on soil microbial communities during maize growth. *Soil Biol. Biochem.* 36:323-331.
- Djigal, D.**, Chabrier, C., Duyck, P.F., Achard, R., Quénéhervé, P., Tixier, P., 2012. Cover crops alter the soil nematode food web in banana agroecosystems. *Soil Biol. Biochem.* 48:142-150.
- Doran, J.W.**, Zeiss, M.R., 2000. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Appl. Soil Ecol.*15:3-11.
- Doré, T.**, Makowski, D., Malézieux, E., Munier-Jolain, N., Tchamitchianv M., Tiftonell, P., 2011. Facing up to the paradigm of ecological intensification in agronomy: revisiting methods, concepts and knowledge. *Eur J Agron.* 34:191-210.
- Dossa, E.L.**, Khouma, M., Diedhiou, I., Sene, M., Kizito, F., Badiane, A.N., Samba, S.A.N., Dick, R.P. 2009. Carbon, nitrogen and phosphorus mineralization potential of semiarid Sahelian soils amended with native shrub residues. *Geoderma* 148:251–260.
- Dossa, E.L.**, Diedhiou, S., Compton, J.E., Assigbetse, K.B., Dick, R.P., 2010. Spatial patterns of P fractions and chemical properties in soils of two native shrubs communities in Senegal. *Plant Soil* 327:185–198.
- Dossa, E. L.**, Diedhiou, I., Khouma M., Sene, M, Badiane, A. N., Samba. Ndiaye S. A., Assigbetse, K. B., Sall, S., Lufafa, A., Kizito, F., Dick, R. P., Saxena, J. 2013. Crop productivity and nutrient dynamics in a shrub-based farming system of the Sahel. *Agron. J.* 105:1237-1246.
- Dumont, M.**, 2008. Apports de la modélisation des interactions pour une compréhension fonctionnelle d'un écosystème. Application à des bactéries nitrifiantes en chémostat. Thèse de doctorat. Université Montpellier II. 228p.
- Dufrêne M.** and Legendre P. 1997. Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach. *Ecol. Monogr.* 67:345-366.
- DuPont, S.T.**, Ferris, H., Van Horn, M., 2009. Effects of cover crop quality and quantity on nematode-based soil food webs and nutrient cycling. *Appl. Soil Ecol.* 41:157-167.
- Duponnois, R.**, Ouahmane, L., Kane, A., Thioulouse, J., Hafidi, M., Boumezzough, A., Prin, Y., Baudoin, E., Galiana, A., Dreyfus, B., 2011. Nurse shrubs increased the early growth of *Cupressus seedlings* by enhancing belowground mutualism and microbial soil functionalities. *Soil Biol. Biochem.* 43:2160-2168.
- Egas, M.**, Dieckmann, U., Sabelis, M.W. 2004. Evolution restricts the coexistence of specialists and generalists: the role of trade-off structure. *Am. Nat.* 163:518-53.

- Eilers**, K.G., Lauber, C.L., Knight, R., Fierer, N., 2010. Shifts in bacterial community structure associated with inputs of low molecular weight carbon compounds to soil. *Soil Biol. Biochem.* 42:896-903.
- Eisenhauer**, N., Bebler, H., Engels, C., Gleixner, G., Habekost, M., Milcu, A., Partsch, S., Sabais, A., Scherber, C., Steinbeiß, S., Weigelt, A., Weisser, W.W., Scheu, S., 2010. Plant diversity effects on soil microorganisms support the singular hypothesis. *Ecology* 91:485-496.
- Ettema**, C.H., Bongers, T., 1993. Characterization of nematode colonisation and succession in disturbed soils using the maturity index, *Biol. Fertil. Soils* 16:79-95.
- FAO** (Food and Agriculture Organization). 2006. World reference base for soil resources: A framework for international classification, correlation and communication. *World Soil Resources Reports* 103, Fao. Rome, Italy.
- Feller**, C., Beare, M.H., 1997. Physical control of soil organic matter dynamics in the tropics. *Geoderma* 79:69-116.
- Ferris**, H., Bongers, T., de Goede, R.G.M., 2001. A framework for soil food web diagnostics: extension of the nematode faunal analysis concept. *Appl. Soil Ecol.* 18:13-29.
- Ferris**, H., Matute, M.M., 2003. Structural and functional succession in the nematode fauna of a soil food web. *Appl. Soil Ecol.* 23:93-110.
- Ferris**, H., Bongers, T., 2006. Nematode indicators of organic enrichment. *J. Nematol.* 38:3-12.
- Ferris**, H., 2010. Contribution of nematodes to the structure and function of the soil food web. *J. Nematol.* 42: 63–67.
- Ferris**, H., Sánchez-Moreno, S., Brennan, E.B., 2012. Structure, functions and interguild relationships of the soil nematode assemblage in organic vegetable production. *Applied Soil Ecology* 61 : 16- 25.
- Fierer**, N., Bradford, M.A., Jackson, R.B., 2007. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecol.* 88:1354–1364.
- Fischesser**, B., Dupuis-Tate, M., 1996. *Le guide illustré de l'Ecologie* Editions de La Martinière. 319 p.
- Fliessbach**, A. Mäder, P. 1997. Carbon source utilization by microbial communities in soils under organic and conventional farming practice. In: Insam, H., Rangger, A. (eds.), *Microbial Communities - Functional versus Structural Approaches*. Springer-Verlag, Berlin, Germany, pp. 109-120.
- Fliessbach**, A., Oberholzer, H.R., Gunst, L., Mäder, P., 2007. Soil organic matter and biological soil quality indicators after 21 years of organic and conventional farming. *Agric. Ecosyst. Environ.* 118:273–284.
- Frontier**, S., Pichod-Viale, D., 1998. *Ecosystèmes : Structures, Fonctionnement, Evolution*. Dunod Press, Paris. 558p.
- Fu**, S.L., Ferris, H., Brown, D., Plant, R., 2005. Does the positive feedback effect of nematodes on the biomass and activity of their bacteria prey vary with nematode species and population size? *Soil Biol. Biochem.* 37:1979–1987.

- Gaff**, D.F., Oliver, M. 2013. The evolution of desiccation tolerance in angiosperm plants: a rare yet common phenomenon. *Funct. Plant Biol.* 40:315-328.
- Gans**, J., Wolinsky, M., Dunbar, J., 2005. Computational improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil. *Science* 309:1387-1390.
- Gaston**, K.J., Spicer, J.I., 1998: Biodiversity: an introduction. Blackwell Science, Oxford, UK. 208p.
- Gobat**, J.M., Aragno, M., Matthey, W., 2010. Le sol vivant : bases de pédologie, biologie des sols. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne. 289p
- Goddijn**, O.J.M., van Dun, K., 1999. Trehalose metabolism in plants. *Trend. Plant Sci.* 4, 315-319.
- Gallardo**, A., Schlesinger, W.H., 1995. Factors determining soil microbial biomass and nutrient immobilization in desert soils. *Biogeochemistry* 28, 55–68.
- Gardes**, M., Bruns, T.D., 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molec. Ecol.* 2:113-118.
- Gelsomino**, A., Keijzer-Wolters, A., Cacco, G., van Elsas, J.D., 1999. Assessment of bacterial community structure in soil by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis. *J. Microbiol. Meth.* 38:1-15.
- Gessner**, M.O., Swan, C.M., Dang, C.K., McKie, B.G., Bardgett, R.D., Wall, D.H., Hattenschwiler, S., 2010. Diversity meets decomposition. *Trends Ecol. Evol.* 25:372-380.
- Giller**, P. S., Hillebrand, H., Berninger, U.-G., Gessner, M. O., Hawkins, S. Inchausti, P. Inglis, C. Leslie, H., Malmqvist, B., Monaghan, M.T., Morin, P. J. O'Mullan, G., 2004. Biodiversity effects on ecosystem functioning: emerging issues and their experimental test in aquatic environments. *Oikos* 104:423-436.
- Gil-Sotres**, F., Trasar-Cepeda, C., Leiros, M.C., Seoane, S., 2005. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. *Soil Biol. Biochem.* 37:877-887.
- Grayston**, S. J., S. Wang, C. D. Campbell, Edwards, A. C.. 1998. Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biol. Biochem.* 30:369-378.
- Griffiths**, B.S., Bonkowski, M., Roy, J., Ritz, K., 2001. Functional stability, substrate utilisation and biological indicators of soils following environmental impacts. *Appl. Soil Ecol.* 16:49–61.
- Griffiths**, B.S., Philippot, L. 2012. Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community. *FEMS Microbiol. Rev.* 37:112-129.
- Hanel**, L., 2010. An outline of soil nematode succession on abandoned fields in South Bohemia. *App. Soil Ecol.* 46:355–371.
- Hayano**, K., 1973. A method for determination of β -glucosidase activity in soil. *Soil Sci. Plant Nutr.* 19:103-108.
- Hebert**, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., de Waard, J. R., 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. London* 270:313-321.
- Hortal**, S., Bastida, F., Armas, C., Lozano, Y.M., Moreno, J.L., García, C., Pugnaire F.I., 2013. Soil microbial community under a nurse-plant species changes in composition, biomass and activity as the nurse grows. *Soil Biol. Biochem.* 64:139-146.

- Housman**, D.C., Yeager, C.M., Darby, B.J., Sanford, R.L., Kuske, C.R., Neher, D.A., Belnap, J., 2007. Heterogeneity of soil nutrients and subsurface biota in a dryland ecosystem. *Soil Biol. Biochem.* 39:2138–2149.
- Ismail**, A.E., Mona, G.D., El-Nagdi, W.A. 2012. Role of organic soil amendments with some nonconventional plant additives on the growth of eggplant and their role against *Meloidogyne incognita* infection. *Arch Phytopathol Plant Prot.* 45:2155–2164.
- Ismail**, A.E., Mohamed, M.M., Mahfouz, S.A., 2009. Effect of waste residues from black seed and jojoba seed oil extraction as organic amendments on *Meloidogyne incognita*, growth and oil of chamomile. *Pak. J. Nematol.* 27:297-307.
- Ingham**, R. E., Trofymow, J. A., Ingham, E. R. and Coleman, D. C., 1985. Interactions of bacteria, fungi and their nematode grazers: Effects on nutrient cycling and plant growth. *Ecol. Monogr.* 55:119-140.
- Iordachescu**, M., Imai, R. 2011. Trehalose and biotic stress in biological systems. In: Shanker, A.K., Venkateswarlu, B. (eds) *Abiotic Stress in Plants: Mecanisms and Adaptations*. InTech, Croatia, pp 215-234.
- Jeffery**, S., Gardi, C.A. Jones, L.Montanarella, L. Marmo, L. Miko,K., Ritz,G., Peres, J., Rombke, Van der Putten, W.H. (eds). 2010. *European Atlas of Soil Biodiversity*. European Commission, Publications office of the European Union, Luxembourg.
- Jiang**, Y., Chen, C., Xu, Z., Liu, Y., 2012. Effects of single and mixed species forest ecosystems on diversity and function of soil microbial community in subtropical China. *Journal of Soils and Sediments* 12: 228-240.
- Kandeler**, E., Gerber, H. 1988. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biol. Fertil. Soils* 16:249-254.
- Kandeler**, E., Mosier, A.R., Morgan, J.A., Milchunas, D.G., King, J.Y., Rudolph, S., Tscherko, D. 2006. Response of soil microbial biomass and enzyme activities to the transient elevation of carbon dioxide in a semi-arid grassland. *Soil Biol. Biochem.* 38:2448-2460.
- Kizito**, F., Draglia, M., Sene, M., Lufafa, A., Diedhiou, I., Dick, R.P., Selker, J.S., Diack, M., Dossa, E. Khouma, M., Badiane, A.N., Ndiaye, S., 2006. Seasonal soil water variation and root patters between two semi-arid shrubs co-existing with pearl millet in Senegal, West Africa. *J. Arid. Environ.* 67:436–455.
- Klose**, S., Bilen, S., Tabatabai, M.A., Dick, W.A., 2011. Sulfur cycle enzymes. In: R.P. Dick (ed), *Methods of Soil Enzymology*. Soil Science Society of America, Madison, WI, USA, pp. 125-159.
- Kowalchuk**, G. A., Buma, D. S., de Boer, W., Klinkhamer, P.G.L. van Veen, J.A., 2002. Effects of above-ground plant species composition and diversity on the diversity of soil-borne microorganisms. *Anton. Leeuw.* 81:509–520.
- Kowalchuk**, G.A.. Hol, W.H.G., Van Veen, J.A., 2006. Rhizosphere fungal communities are influenced by *Senecio jacobaea* pyrrolizidine alkaloid content and composition. *Soil Biol. Biochem.* 38:2852-2859.
- Kruskal**, K.B., Wish, M., 1978. *Multidimensional scaling*. University paper 07-01/1. Sage Publications. Beverly Hills, CA.
- Ladygina**, N., Hedlund, K., 2010. Plant species influence microbial diversity and carbon allocation in the rhizosphere. *Soil Biol. Biochem.* 42:162-168.

- Lahmar**, R., Batonio, B.A., Lamso, N.D., Guero, Y., Tittoneil, P. 2012. Tailoring conservation agriculture technologies to West Africa semi-arid zones: Building on traditional local practices for soil restoration. *Field Crops Res.* 132:158–167.
- Lattanzio**, V., Lattanzio, V.M.T. Cardinali, A. 2006. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. In: Imperato, F. (ed.), *Phytochemistry Advances in Research*. Research Signpost, India, pp. 23–67
- Laval**, K., Mougin, C., Akpa, M., Barry, S., Dur, J-C., Gangneux, C., Lebrun, J., Legras, M., Lepelletier, P., Plassart, P., Taibi, S., Trinsoutrot-Gattin, I. 2009. Un premier pas vers la compréhension des données biologiques. *Etud. Gest. Sols*16:275-287.
- Lavelle**, P., Decaëns, T., Aubert, M., Barot, S., Blouin, M., Bureau, F., Margerie, P., Mora, P., Rossi, J-P. 2006. Soil invertebrates and ecosystem services. *Eur. J. Soil Biol.*, 42:S3-S15.
- Lévêque**, C., 2001. *Ecologie – De l’Ecosystème à la Biosphère*. Dunod, Paris, 502p.
- Li**, Z.H., Wang Q., Ruan X., Pan C.D., Jiang D.A., 2010. Phenolics and Plant Allelopathy. *Molecules* 15:8933-8952.
- Luc**, M., 2005. *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. CAB International Publishing, Wallingford, UK.
- Lufafa**, A., Bolte, J., Wright, D., Khouma, M., Diedhiou, I., Dick, R.P., Kizito, F., Dossa, E., Noller, J.S., 2008. Regional carbon stocks and dynamics in native woody shrub communities of Senegal’s Peanut Basin. *Agric. Ecosyst. Environ.* 128:1–11.
- Lufafa**, A., Diedhiou, I., Ndiaye, N.A.S., Sene, M., Kizito, F., Dick, R.P., Noller, J.S., 2009. Allometric relationships and peak season community biomass stocks of native shrubs in Senegal’s Peanut Basin. *J. Arid Environ.* 73, 260–266.
- Magurran**, A.E., 2004. *Measuring Biological Diversity*. Blackwell Publishing, London. 264p.
- Maistrello**, L., Vaccari, G., Sasanelli, N., 2010. Effect of chestnut tannins on the root knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Helminthologia* 47:48-57.
- Malézieux**, E., 2012. Designing cropping systems from nature. *Agr Sust Dev* 32:15–29.
- Mao**, X., Hu, F., Griffiths, B., Li, H., 2006. Bacterial-feeding nematodes enhance root growth of tomato seedlings. *Soil Biol. Biochem.* 38:1615-1622.
- Mao**, X., Hu, F., Griffiths, B., Chen, X., Liu, M., Li, H., 2007. Do bacterial-feeding nematodes stimulate root proliferation through hormonal effects? *Soil Biol. Biochem.* 39:1816-1819.
- Masse**, D., Ndour-Badiane, Y., Hien, E., Akpo, L.E., Assigbetse, K., Bilgo, A., Diedhiou, I., Hien, V., Chapuis-Lardy, L. 2013. L’agriculture africaine face aux changements globaux : recherches et innovations basées sur les sciences de l’écologie. *C. R. Biologies* 336:289–294.
- McCune**, B., Grace, J.B., 2002. *Analysis of Ecological Communities*. MjM Software Design, Gleneden Beach, Oregon, 300 p.
- MEA**, Millennium Ecosystem Assessment, 2005. *Ecosystems and Human Well-being Synthesis*. Island Press, Washington, DC.
- Mitchell**, J.I., Zuccaro, A., 2006. Sequences, the environment and fungi. *Mycologist* 20:62-74.

- Miller**, K.M., Ming, T.J., Schulze, A.D., Withler, R.E., 1999. Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE): a rapid and sensitive technique to screen nucleotide sequence variation in populations. *Biotechniques* 27:10-16
- Moens**, T., Yeates, G.W., De Ley, P., 2004. Use of Carbon and energy sources by nematodes. *Nematol. Monogr. Persp.* 2:529-545.
- Moore**, J.C., De Ruiter, P.C., 2012. *Energetic Food Webs: an Analysis of Real and Model Ecosystems*. Oxford University Press, Oxford, UK. 344p.
- Müller**, J., Boller, T. and Wiemken, A., 1995. Trehalose and trehalase in plants: recent developments, *Plant Sci.* 112:1-9.
- Müller**, J., Aeschbacher, R. A., Wingler, A., Boller, T., Wiemken, A., 2001. Trehalose and Trehalase in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 125:1086-1093.
- Mullis**, K.B., Faloona, F.A., 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalysed chain reaction. *Method. Enzymol.* 155:335-350.
- Murphy**, J., Riley, J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters, *Anal. Chim. Acta* 27: 31-36
- Muyzer**, G., de Waal, E.C. Uitterlinden, A.G., 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:695-700.
- Ndiaye**, E.L., Sandeno, J.M., McGrath, D., Dick, R.P., 2000. Integrative biological indicators for detecting change in soil quality. *Am. J. Altern. Agric.* 15:26-36.
- Neher**, D.A., Wu, J., Barbercheck, M.E., Anas, O., 2005. Ecosystem type affects interpretation of soil nematode community measures. *Appl. Soil Ecol.* 30:47-64.
- Neher**, D.A., 2010. Ecology of plant and free-living nematodes in natural and agricultural soil. *Annu. Rev. Phytopathol.* 48:371-394.
- Nielsen**, U.N., Ayres, E., Wall, D.H., Bardgett, R.D., 2011. Soil biodiversity and carbon cycling: a review and synthesis of studies examining diversity –function relationships. *Eur. J. Soil Sci.* 62:105 – 116
- Noweer**, E.M.A., Dawood Mona, G. 2009. Efficiency of propolis extract on faba bean plants and its role against nematode infection. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* 74:593-603.
- Ohri**, P., Pannu S.K., 2010. Effect of phenolic compounds on nematodes- A review. *J. Appl. Nat. Sci.* 2:344-350.
- Oka**, Y., Tkachi, N., Shuker, S., Yerumiyahu U., 2007. Enhanced nematicidal activity of organic and inorganic ammonia-releasing amendments by *Azadirachta indica* extracts. *J. Nematol.* 39:9-16.
- Oka**, Y., 2010. Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments. *Appl. Soil Ecol.* 44:101-115.
- Oka**, Y., 2012. Nematicidal activity of *Verbesina encelioides* against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* and effects on plant growth. *Plant Soil.* 355:311–322.

- Oka**, Y, Ben-Daniel, B., Cohen, Y., 2012. Nematicidal activity of the leaf powder and extracts of *Myrtus communis* to the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Plant Pathol.* 61:1012-1020.
- Osler**, G.H.R., Sommerkorn, M., 2007. Toward a complete soil C and N cycle: incorporating the soil fauna. *Ecology* 88:1611-1621
- Pascual**, J.A., Garcia, C., Hernandez, T., Moreno, J.L., Ros, M., 2000. Soil microbial activity as a biomarker of degradation and remediation processes. *Soil Biol. Biochem.* 32:1877-1883.
- Patrício**, J., Adao, H., Neto, J. M., Alves, A. S., Traunspurger, W. J., Marques, C. 2012. Do nematode and macrofauna assemblages provide similar ecological assessment information? *Ecol. Indic.* 14:124-137.
- Pietramellara**, G., Ascher, J., Borgogni, F., Ceccherini, M.T., Guerri, G., Nannipieri, P., 2009. Extracellular DNA in soil and sediment: fate and ecological relevance. *Biol. Fertil. Soils* 45:219-235.
- Plassart**, P., Akpa, Vincelas, M., Gangneux, C., Mercier, A., Barray, S., Laval, K., 2008. Molecular and functional responses of soil microbial communities under grassland restoration. *Agric. Ecosyst. Environ.* 127:286-293
- Prieto**, I., Armas, C., Pugnaire, F.I., 2012. Hydraulic lift promotes selective root foraging in nutrient rich soil patches. *Funct. Plant Biol.* 39:804-812.
- Prosser**, J.A., Speir, T.W., Stott, D.E. 201. Soil Oxidoreductases and FDA Hydrolysis. In R.P. Dick (Ed), *Methods of Soil Enzymology*. SSSA Book Series, no. 6, 103- 125. Doi :10.2136/sssabookser9.c7
- Quentin**, M., Abad, P., Favery, B. 2013. Plant parasitic nematode effectors target host defense and nuclear functions to establish feeding cells. *Front. Plant Sci.* 4:53.
- Quilchano**, C., Marañón, T. 2002. Dehydrogenase activity in Mediterranean forest soils. *Biol. Fertil. Soils* 35:102-107.
- Rachid**, C.T., Piccolo, M.C., Leite, D.C., Balieiro, F.C., Coutinho, H.L.C., van Elsas, J.D., Peixoto, R.S., Rosado, A.S., 2012. Physical-chemical and microbiological changes in Cerrado Soil under differing sugarcane harvest management systems. *BMC Microbiol.* 12:170.
- Rasmann**, S. Hiltbold, I., Ali, J. The role of root-produced Volatile secondary metabolites in mediating soil Interactions. In: G. Montanaro, B. Cichio (Eds.), *Advances in Selected Plant Physiology Aspects*, InTech Open Access Publisher, Croatia, 2012, pp. 269-290.
- Ritz**, K., Young, I.M., 2004. Interactions between soil structure and fungi. *Mycologist* 18:52–59.
- Rodríguez-Echeverría**, S., Armas, C, Piston, N., Hortal, S., Pugnaire, F.I. 2013. A role for below-ground biota in plant–plant facilitation. *J. Ecol.* 101:1420-1428.
- Roldan**, A., Salinas-García, J.R., Alguacil, M.M., Díaz, E., Caravaca, F., 2005. Changes in soil enzyme activity, fertility, aggregation and C sequestration mediated by conservation tillage practices and water regime in a maize field. *Appl. Soil Ecol.* 30:11-20.

- Romaniuk, R.,** Giuffre, L., Costantini, A., Nannipieri, P., 2011. Assessment of soil microbial diversity measurements as indicators of soil functioning in organic and conventional horticulture systems. *Ecol. Indic.* 11:1345-1353.
- Rønn, R.,** Vestergard, M., Ekelund, F., 2012. Interactions between bacteria, protozoa and nematodes in soil. *Acta Protozool.* 51:223-235.
- Ruess, L.,** Ferris, H., 2004. Decomposition pathways and successional changes. *Nematol. Monogr. Persp.* 2:547-556.
- Sanchez-Moreno, S.,** Minoshima, H., Ferris, H., Jackson, L.E., 2006. Linking soil properties and nematode community composition: effects of soil management on soil food webs. *Nematology* 8:703-715.
- Sanchez-Moreno, S.,** Ferris, H., 2007. Suppressive service of the soil food web: effects of environmental management. *Agric. Ecosyst. Environ.* 119:75–87.
- Saul-Tcherkas, V.,** Steinberger, Y., 2009. Substrate utilization patterns of desert soil microbial communities in response to xeric and mesic conditions. *Soil Biol. Biochem.* 41:1882-1893.
- Schlöter, M.,** Dilly, O., Munch, J.C., 2003. Indicators for evaluating soil quality. *Agric. Ecosyst. Environ.* 98 : 255-262.
- Schoch, C.L.,** Seifert, K.A., Huhndorf, S. Robert, V., Spouge, J.L., Levesque C.A., Chen, W., Fungal Barcoding Consortium, 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *P Natl Acad. Sci. USA*, doi: 10.1073/pnas.1117018109
- Seinhorst, J.W.** 1962. Extraction methods for nematodes inhabiting soil. In: *Progress in Soil Zoology*, P.W. Murphy, (ed.). Butterworths, London, UK. pp. 243-256.
- Seifert, K.A.** 2009. Progress towards DNA barcoding of fungi. *Molec. Ecol. Resour.* 9:83–89.
- Shannon, C.E.,** Weaver, W., 1962. *The Mathematical Theory of Communication.* University of Illinois Press, Urbana, IL, USA.
- Shange, R.S.,** Ankumah, R.O., Ibekwe, A.M., Zabawa, R., Dowd, S.E., 2012. Distinct soil bacterial communities revealed under a diversely managed agroecosystem. *PLoS One* 7(7): e40338. doi:10.1371/journal.pone.0040338.
- Sharma, N.,** Trivedi, P.C., 2002. Screening of leaf extracts of some plants for their nematicidal and fungicidal properties against *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum*. *Asian J. Exp. Sci.* 16:21-28.
- Sharma, S.K.,** Ramesh, A., Sharma, M.P., Joshi, O.P., Govaerts, B., Steenwerth, K.L., Karlen, D.L., 2010. Microbial community structure and diversity as indicators for evaluating soil quality. In: Lichtfouse, E. (ed), *Biodiversity, Biofuels, Agroforestry and Conservation Agriculture*, Sustainable Agriculture Reviews 5, Springer (NL). pp 317–358.
- Simpson, E.H.,** 1949. Measurement of diversity. *Nature* 163:688.
- Singh, B.K.,** Millard, P., Whiteley, A.S., Murrell, J.C., 2004. Unravelling rhizosphere-microbial interactions: opportunities and limitations. *Trends Microbiol.* 12: 386-393.

- Singh**, B.K., Dawson, L.A., Macdonald, C.A., Buckland, S.M., 2009. Impact of biotic and abiotic interaction on soil microbial communities and functions: a field study. *Appl. Soil Ecol.* 41:239-248.
- Smith**, S.E., Smith, F.A., 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. *Annu. Rev. Plant Biol.* 62:227–250.
- Sørensen**, T., 1957. A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species and its application to analyses of the vegetation on Danish commons. *Kong. Dansk. Vidensk.* 5:1–34.
- Stark**, C.H., Condon, L.M., O'Callaghan, M., Stewart, A., Di, H.J. 2008. Differences in soil enzyme activities, microbial community structure and short-term nitrogen mineralisation resulting from farm management history and organic matter amendments. *Soil Biol. Biochem.* 40:1352-1363.
- Stirling**, G.R., 2011. Biological control of plant-parasitic nematodes: An ecological perspective, a review of progress and opportunities for further research. In: K. Davies and Y. Spiegel (eds.), *Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes: Building Coherence between Microbial Ecology and Molecular Mechanisms*. Progress in Biological Control 11. Springer Netherlands, pp.1-38.
- Stirling**, G.R., Wilson, E.J., Stirling, A.M., Bell, M.J., Garside, A.L. 2005 Amendments of sugarcane trash induce suppressiveness to plant-parasitic nematodes in sugarcane soil. *Australas Plant Pathol.* 34:203-211.
- Stockinger**, H., Walker, C., Schußler, A., 2009 *Glomus intraradices* 'DAOM197198', a model fungus in arbuscular mycorrhiza research, is not *Glomus intraradices*. *New Phytol.* 183:1176-1187.
- Subbarao**, G.V., Sahrawat, K.L., Nakahara, K., Rao, I.M., Ishitani, M., Hash, C.T., Kishii, M., Bonnett, D.G., Berry, W.L., Lata, J.C. 2013. A paradigm shift towards low-nitrifying production systems: the role of biological nitrification inhibition (BNI). *Annals of Botany* 112: 297–316.
- Swarup**, G., Sosa-Moss, C., 1990. Nematode parasites of cereals. In: M. Luc, R.A. Sikora & J. Bridge(eds). *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. CAB International, Wallingford, UK. pp. 109-136.
- Swift**, M.J., Heal, O.W., Anderson, J.M., 1979. *Decomposition in Terrestrial Environments*. Blackwell Scientific, Oxford, UK. 372 p.
- Swift**, M. 2005 Human impacts on biodiversity and ecosystem services: an overview. In: *The Fungal Community, its Organization and Role in the Ecosystem* (eds J. Dighton, J. White, P. Oudemans), Taylor & Francis, Boca Raton, FL: . pp. 526–549.
- Tanney**, J. B., Hutchison, L. J., 2011. Encapsulation and immobilization of a mycophagous nematode by two *Sphaerobolus* species. *Botanique* 89:745-751
- Tabarant**, P., Villenave, C., Risède, J.M., Roger-Estrade, J., Dorel, M., 2011. Effects of organic amendments on plant-parasitic nematode populations, root damage, and banana plant growth. *Biol.Fertil. Soils.* 47:341-347
- Tabatabai** MA, Bremner JM (1969) Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.* 1:301–307.

- Tabatabai**, M.A., Bremner, J.M. 1970. Arylsulfatase in soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 34:225-229.
- Tittonell**, P., Scopel, E., Andrieu, N., Posthumus, H., Mapfumo, P., Corbeels, M., van Halsema, G.E., Lahmar, R., Lugandu, S., Rakotoarisoa, J., Mtambanengwe, F., Pound, B., Chikowo, R., Naudin, K., Triomphe, B., Mkomwa, S., 2012. Agroecologybased aggradation-conservation agriculture (ABACO): Targeting innovations to combat soil degradation and food insecurity in semi-arid Africa. *Field Crop Res.* 132:168–174.
- Ugarte**, C. M., Zaborski, E. R., Wander, M. M., 2013. Nematode indicators as integrative measures of soil condition in organic cropping systems. *Soil Biol. Biochem.* 64: 103-113.
- Vallejo**, V.D., Roldan, F., Dick, R.P., 2010. Soil enzymatic activities and microbial biomass in an integrated agroforestry biosequence compared to monoculture and a native forest of Colombia. *Biol. Fertil. Soils* 46:577-587.
- Vance**, E.D., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1987 - An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.* 19:703-707.
- van der Putten**, W.H., Bardgett, R.D., Bever, J.D., Bezemer, T.M., Casper, B.B., Fukami, T., Kardol, P., Klironomos, J.N., Kulmatiski, A., Schweitzer, J.A., Suding, K.N., Van de Voorde, T.F.J., Wardle, D.A., 2013. Plant-soil feedback: the past, the present and future challenges. *J. Ecol.* 101:265-276.
- Van Houtte**, H., Vandesteene, L., López-Galvis, L., Lemmens, L., Kissel, E., Carpentier, S., Feil, R., Avonce, N., Beeckman, T., Lunn, J.E., Van Dijck, P., 2013. Overexpression of the trehalase gene *AtTRE1* leads to increased drought stress tolerance in *Arabidopsis* and is involved in abscisic acid-induced stomatal closure. *Plant Physiol.* 161:1158-71.
- Venette**, R. C., Ferris H., 1997. Thermal constraints to population growth of bacterial feeding nematodes. *Soil Biol. Biochem.* 29:63-74.
- Vidican**, R., Albus, A., Sandor, M., 2012. Community level physiological profiles: A tool to assess microbial functional diversity in soil. *ProEnviron. ProMed.* 5: 231-233.
- Villenave**, C., Cadet, P., Pate, E., Ndiaye, N., 1997. Microcosm experiments on the development of different plant parasitic nematode fauna in two soils from the Soudanese-Sahelian zone of West Africa. *Biol. Fert. Soils* 24:288-293.
- Villenave**, C., Cadet, P., 1998. Interactions of *Helicotylenchus dihystera*, *Pratylenchus sefaensis* and *Tylenchorhynchus gladiolatus* on two plants from the Soudano-Sahelian zone of West Africa. *Nematropica* 28:31-39.
- Villenave**, C., Bongers, T., Ekschmitt, K., Fernandes, P., Oliver, R., 2003. Changes in nematode communities after manuring in millet fields in Senegal. *Nematol.* 5:351-358.
- Villenave**, C., Cadet, P., 2000. Rôle particulier de *Helicotylenchus dihystera* au sein des peuplements de nématodes phytoparasites (Sénégal). In : Floret Ch & Pontarlier R (eds), *La jachère en Afrique Tropicale*. John Libbey Eurotext, Paris, p.291-299.
- Villenave** C., Ba A.O., Rabary B., 2009 - Diagnostic du fonctionnement biologique du sol par l'analyse de la nématofaune: semis direct versus labour sur les hautes terres près d'Antsirabé (Madagascar). *EGS V16/3-4*. pp. 369-378

- Vivas, A., Moreno, B., Garcia-Rodriguez, S., Benitez, E., 2009.** As assessing the impact of composting and vermicomposting on structural diversity of bacterial communities and enzyme activities of an olive-mill waste. *Bioresour. Technol.* 100:1319–1326.
- Vonk, J.A., Breure, A.M., Mulder, C. 2013.** Environmentally-driven dissimilarity of trait-based indices of nematodes under different agricultural management and soil types. *Agric. Ecosyst. Environ.* 179:133-138.
- Von Maydell, H. J. 1992.** Arbres et arbustes du Sahel. Leurs caractéristiques et leurs utilisations. Verlag Joseph Margraf, Weikersheim, Allemagne, 536 p.
- Von Mersi, W., Schinner, F., 1991.** An improved and accurate method for determining the dehydrogenase activity of soils with idonitrotetrazolium chloride. *Biol. Fertil. Soils* 11:216-220.
- Vodouhe, F.G., N'danikou, S. & Achigan-Dako, E.G., 2010.** *Piliostigma reticulatum* (D.C.) Hochst. In: Brink, M. & Achigan-Dako, E.G. (Editors). *Prota 16: Fibres/Plantes à fibres*. [CD-Rom]. PROTA, Wageningen, Netherlands.
- Wallenstein, M.D., Burns, R.G., 2011.** Ecology of extracellular enzyme activities and organic matter degradation in soil: a complex community-driven process. In: Dick, R.P. (Ed.), *Methods of Soil Enzymology*. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA, pp. 35-55.
- Wardle, D.A., Bardgett, R.D., Klironomos, J.N., Setälä, H., Van der Putten, W.H., Wall, D.H., 2004.** Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science* 304:1625-1633.
- Weir, T.L., Park, S.W., Vivanco, J.M. 2004.** Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. *Curr. Opin. Plant Biol.* 7:472–479.
- Wen, Y.H., Meyer, S.L.F., Masler, E.P., Zhang, F.X., Liao, J.L., Wei, X.Y., Chitwood, D.J., 2013.** Nematotoxicity of drupacine and a Cephalotaxus alkaloid preparation against the plant parasitic nematodes *Meloidogyne incognita* and *Bursaphelenchus xylophilus*. *Pest Manag. Sci.* 69:1026-1033.
- Westover, K. M., Kennedy, A. C., Kelley, S. E., 1997.** Patterns of rhizosphere microbial community structure associated with co-occurring plant species. *J. Ecol.* 85:863-873.
- Wezel, A., Rajot, J.L., Herbig, C., 2000.** Influence of shrubs on soil characteristics and their function in Sahelian agro-ecosystems in semi-arid Niger. *J. Arid Environ.* 44:383–398.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J.W. 1990.** Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J. (eds), *PCR Protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, Inc., New York, pp. 315-322.)
- Wiemken, A., 1990.** Trehalose in yeast, stress protectant rather than reserve carbohydrate. *Anton. Leeuw. Int. J. G.* 58:209–217.
- Wichern, F., Eberhardt, E., Mayer, J., Joergensen, R.G., Müller, T., 2008.** Nitrogen rhizodepositions in agricultural crops: methods, estimates and future prospects. *Soil Biol. Biochem.* 40: 30-48.
- Winterbottom, R., Reij, C., Garrity, D., Glover, J., Hellums, D., Mcgahuey, M., Scherr, S., 2013.** Improving land and water management. Installment 4 of “Creating a

- Sustainable Food Future”. Working Paper. World Resources Institute, Washington, DC.
- Woese, C. R.**, 1987. Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.* 51:221-271.
- Yelemou, B.**, Bationo, B.A., Yameogo, G., Millogo-Rasolodimby, J., 2007. Gestion traditionnelle et usages de *Piliostigma reticulatum* sur le Plateau central du Burkina Faso. *Bois et Forêts des Tropiques* 291 :55–66.
- Yelemou, B.**, Yameogo, G., Bationo, B., Millogo, R. J., Hien, V., 2012. Les formations à *Piliostigma* en zone sahélo-soudanienne du Burkina Faso: Etat des peuplements, dynamique de la régénération sexuée et pression anthropique. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 6:2083-2096.
- Yeates, G.W.**, Bongers, T., de Goede, R.G.M., Freckman, D.W., Georgieva, S.S., 1993. Feeding habits in nematode families and genera - an outline for soil ecologists. *J. Nemat.* 25:315-331.
- Yeates, G.W.**, Bongers, T., 1999. Nematode diversity in agroecosystems. *Agric. Ecosyst. Environ.* 74:113-135.
- Yeates, G. W.**, 2003. Nematodes as soil indicators: functional and biodiversity aspects. *Biol. Fertil. Soils* 37:199-210.
- Yeates, G.W.**, Ferris, H., Moens, T., Van der Putten, W.H., 2009. The role of nematodes in ecosystems. In: Wilson, M.J., Kakouli-Duarte, T. (Eds.), *Nematodes as Environmental Indicators*. CAB International, pp. 1–45.
- Zak, J.C.**, Willig, M.R., Moorhead, D.L., Wildman, H.G., 1994. Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. *Soil Biol. Biochem.* 26:1101-1108.
- Zaller, J.G.**, Köpke, U., 2004. Effects of traditional and biodynamic farmyard manure amendment on yields, soil chemical, biochemical and biological properties in a long-term field experiment. *Biol. Fertil. Soils* 40:222–229.
- Zhao, J.**, Shao, Y., Wang, X., Neher, D.A., Xu, G., Li, Zh., Fu, S., 2013. Sentinel soil invertebrate taxa as bioindicators for forest management practices. *Ecol. Indic.* 24: 236-239.
- Zhao, J.**, Neher, D.A., 2013. Soil nematode genera that predict specific types of disturbance. *Appl. Soil Ecol.* 64:135-141.
- Zhou, X.Q.**, Wu, H.W., Koetz, E., Xu, Z.H., Chen, C.R., 2012. Soil labile carbon and nitrogen pools and microbial metabolic diversity under winter crops in an arid environment. *Appl. Soil Ecol.* 53:49-55.
- Zhu, W.Y.**, Williams, B.A., Konstantinov, S.R., Tamminga, S., De Vos, W.M., Akkermans, A.D.L. 2003. Analysis of 16S rRNA reveals bacterial shift during in vitro fermentation of fermentable carbohydrate using piglet faeces as inoculum. *Anaerobe* 9:175–180.

Annexes

Annexe 1

Systématique et description botanique de *Piliostigma reticulatum*

Selon la systématique, *Piliostigma reticulatum* peut être classé comme suit:

- Embranchement: Spermaphytes
- Sous-embranchement: Angiospermes
- Classe: Dicotylédones
- Sous-classe: Rosidae
- Ordre: Rosales
- Famille: Caesalpiniaceae
- Sous-famille: Caesalpinioideae
- Genre: *Piliostigma*
- Espèce: *Piliostigma reticulatum* (D.C.) Hochst.

Les feuilles de cette essence sont simples, alternes, distiques et persistantes, glabres et coriaces. Longues de 6 à 12 cm sur 4 à 8 cm de large, elles comprennent 2 lobes obtus tronqués à la base avec 9 nervures principales palmées (Figure A1-1 ; Von Maydell, 1992). Chaque côté de la nervure médiane présente quatre nervures latérales prenant naissance au sommet du pétiole. Sous le limbe, entre les nervures, se dresse un réseau très détaillé de nervilles (Berhaut, 1975). L'angle de l'échancrure des lobes est supérieur à 90°. Le pétiole est dilaté aux deux extrémités avec une longueur de 1 à 3,5 cm (Arbonnier, 2009). L'inflorescence est en panicule axillaire ou terminale de 5 à 15 cm de long, courtement pubescente ou pelliculée (Arbonnier, 2009). Les fleurs sont dioïques en racèmes tomenteux, axillaires de 4 à 5 cm avec une corolle de 2,53 cm à 5 pétales abovales blancs, striés de rose. Le calice long de 1,5 à 2 cm, en cône renversé a 5 dents triangulaires au sommet (Von Maydell, 1992). Les fleurs mâles contiennent seulement 10 étamines, les fleurs femelles contiennent un pistil épais coiffé d'un stigmaté en forme de calotte (Berhaut, 1975). Les pièces florales sont parfumées et de couleur blanche. Les fruits sont de longues gousses dures, droites, souvent en spirale, glabres ou très légèrement tomenteuses, coriaces, persistantes. Ils contiennent beaucoup de graines, 11000 à 14500 graines par kg de gousses (Von Maydell, 1992). Les fruits de couleur verte au départ virent au marron à la maturité. Les gousses sont ligneuses, indéhiscentes longues de 15 à 25 cm et larges de 2,5 à 5 cm (Arbonnier, 2009).



Figure A1-1 : Feuilles, fleurs (1) et fruit (2) de *Piliostigma reticulatum* (D'après Vodouhe et al., 2010)

Annexe 2

Quantification de l'ADN

Il s'agit de connaître la concentration en ADN dans chaque échantillon, afin de déterminer la même quantité à apporter pour l'amplification par PCR.

Sur un gel d'agarose 2%, on fait migrer 5 μ l d'échantillon mélangés avec 3 μ l de bleu de charge ainsi 10 μ l de chacun des gammes-étalons. Les gammes-étalons sont des ADN dont les concentrations sont connues:

G1 : 6,25 ng d'ADN dans 10 μ l

G2 : 12,5 ng d'ADN dans 10 μ l

G3 : 25 ng d'ADN dans 10 μ l

G4 : 50 ng d'ADN dans 10 μ l

G5 : 100 ng d'ADN dans 10 μ l

G6 : 200 ng d'ADN dans 10 μ l

Après coloration au bromure d'éthidium (BET 1 mg L⁻¹), la concentration en ADN de nos extraits est ensuite déterminée grâce au logiciel TotalLab (TL 120, version 2006 ; NonLinear Dynamics Ltd, Newcastle upon Tyne, UK).

Annexe 3

Composition des solutions utilisées en biologie moléculaire

Bleu de charge 10 X

Bleu de bromophénol : 0,25% (p/v)

Glycérol : 30%

EDTA : 10 Mm

H₂O : qsq

Le bleu de charge s'utilise après une dilution au 1/10

Tampon TBE (Tris-borate) 10 X

Tris-base : 215,62 g

Na₂EDTA, H₂O : 14,88 g

Acide borique : 110,08 g

H₂O : qsp 2 litres

La solution est ensuite filtrée et stérilisée à l'autoclave

Tampon TAE 50 X

Tris-base : 484 g

Na₂EDTA·H₂O (pH 8) : 37 g

Acide acétique glacial : 114,2 ml

H₂O : qsp 2 litres

Pour obtenir du TAE 1X, on ajoute à 49 ml d'eau minéralisée, 1 ml de TAE 50X

BET (Bromure d'éthidium)

Solution à utiliser à une concentration de 1 mg L⁻¹ (à protéger de la lumière).

Le BET est un agent chimique qui s'intercale entre les brins de l'ADN, puis par exposition aux UV, ces derniers excitent le colorant qui émet alors une fluorescence.

Composition de la Taq ready-to-go Amersham-Biosciences, USA)

Pour un volume final de 25 μ l

Taq DNA polymérase : 2,5 U

dNTP : 200 μ M

Tris-HCl : 10 mM, pH 9

KCl : 50 mM

MgCl₂ : 1,5 mM

Composition de la solution utilisée en DGGE

| | Région ciblée | | | |
|---|---------------|------|-----|------|
| | 16S ADNr | | ITS | |
| Gradient (%) | 45 | 70 | 22 | 58 |
| Acrylamide/bisacrylamide 40% (37,5 :1) (ml) | 20 | 20 | 20 | 20 |
| TAE 50X (ml) | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Formamide (ml) | 18 | 28 | 9,2 | 23,2 |
| Urée (g) | 18,9 | 29,4 | 9,7 | 24,4 |
| H ₂ O (ml) qsp | 100 | 100 | 100 | 100 |

Annexe 4

Technique Microresp™

Préparation des microplaques sols

Chaque plaque à puits profonds est remplie avec deux types de sol et les sols d'une même colonne reçoivent le même substrat. Chaque puits (1,2 ml) contient entre 0,4 et 0,5 g de sol. Au total 22 plaques de sol ont été préparées pour cette étude. Ces microplaques sont recouvertes avec du parafilm et conservées à 4°C.

Préparation des microplaques de détection

Les microplaques de détection sont constituées d'un gel dont la couleur change selon la quantité de CO₂ dégagé par les puits contenant les sols et les substrats. La détection est basée sur une méthode colorimétrique.

Pour la préparation de 20 plaques de gélose, les solutions suivantes sont préparées : 3,5g d'agar sont versés dans 100 ml d'eau distillée puis dissous à température de 200°C. Une solution d'indicateur colorée d'un volume de 200 ml est préparée. Cette solution est constituée d'un mélange de 16,77g de KCl, 0,315g de bicarbonate de Sodium (NaHCO₃) et 18,75 mg de Rouge Crésol dissous dans un volume de 1 L d'eau distillée. Une fois que la température de chaque solution a été équilibrée, les deux solutions sont transférées dans un bécher et homogénéisées en maintenant la température entre 60 et 65° sous une agitation constante. Puis 150 µl de solution sont déposés dans chaque puits grâce à une multipipette. Les microplaques ainsi préparées sont recouvertes de parafilm et conservées jusqu'à deux semaines dans un dessiccateur contenant de la chaux et de l'eau afin, respectivement, d'éliminer toute traces de CO₂ de l'atmosphère et d'éviter l'assèchement du gel.

Remplissage des microplaques de sol

Les solutions de substrats sont préparées dans de l'eau déminéralisée (6,72 g L⁻¹, équivalent à 0,85 mg substrat g⁻¹ sol), puis conservées à 4° C jusqu'à leur utilisation.

L'absorbance des plaques de gélose est lue une première fois au spectrophotomètre (calibration à T0). Une fois les substrats apportés au sol les plaques de gélose (viennent couvrir la plaque de puits profonds contenant les sols. Le dispositif est scellé grâce à un joint permettant toutefois le passage du CO₂ vers la plaque de gélose et incubé à l'étuve pendant 6 heures à 30°C. Au bout des 6 heures d'incubation l'absorbance de la plaque de gélose est lue à nouveau (T6) et la différence entre le T6 et le T0 est convertie en % de CO₂ puis en µg C-CO₂/g sol / h.

Annexe 5

Systematique de l'espèce *Helicotylenchus dihystera*

| | |
|---------------|--|
| Règne: | Animal |
| Phylum: | Nematoda |
| Classe: | Secernentea |
| Sous-classe: | Diplogasteridea |
| Ordre: | Tylenchida |
| Superfamille: | Tylenchoidea |
| Famille: | Hoplolaimidae |
| Sous-famille: | Hoplolaiminae |
| Genre: | <i>Helicotylenchus</i> |
| Espèce: | <i>Helicotylenchus dihystera</i> (Cobb, 1893 ; Sher, 1961) |

Annexe 6

Valorisation des travaux de thèse

- **Article dans une revue internationale**

[Annexe 6.1] **Diakhaté, S.**, Villenave, C., Diallo, N.H., Ba, A. O., Djigal, D., Masse, D., Sembene, P.M., Chapuis-Lardy, L., 2013. The influence of a shrub-based intercropping system on the soil nematofauna when growing millet in Senegal. *European Journal of Soil Biology* 57:35-41.

- **Article en préparation**

Diakhaté, S., Assigbetse, K., Dick, R.P., Chevallier T., Gueye, M., Masse, D., Sembene, P.M., Chapuis-Lardy, L., 2014. *Piliostigma reticulatum* management affects soil microbial communities when growing millet in soudano-sahélian agroecosystem. *Applied Soil Ecology*.

Diakhaté, S., Djigal, D., Ba, A.O., Masse, D., Sembene, P.M., Chapuis-Lardy, L., 2014. Nematicidal effect of *Piliostigma reticulatum* against plant parasitic nematode *Helicotylenchus dihystera*. *Crop Protection*.

- **Communications**

[Annexe 6.2] **Diakhaté S.**, Chevallier T., Diallo N.H., Ndour Y., Abadie J., Deleporte P., Chapuis-Lardy L., 2012. Effet des arbustes natifs sur la diversité fonctionnelle des sols de la région soudano-sahélienne (Sénégal). 11èmes Journées d'Etude des Sols, 19-23 mars 2012, Versailles. Communication orale.

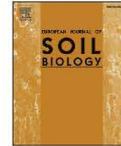
[Annexe 6.3] **Diakhaté S.**, Masse, D., Sembene, P.M., Chapuis-Lardy, L. 2011. Influence de la présence d'arbustes sur le bio-fonctionnement d'un sol agricole Sénégalais. Journées des Doctorants de l'IRD, Montpellier. Poster primé.

[Annexe 6.4] **Diakhaté S.**, Masse, D., Sembene, P.M., Chapuis-Lardy, L. 2013. Structure génétique et activité catabolique des microorganismes du sol sous *Piliostigma reticulatum* Doctoriales de ED SEV, UCAD.



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

European Journal of Soil Biology

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/ejsobi>

Original article

The influence of a shrub-based intercropping system on the soil nematofauna when growing millet in Senegal



S. Diakhaté^{a,b}, C. Villenave^c, N.H. Diallo^d, A.O. Ba^e, D. Djigal^f, D. Masse^a, P.M. Sembène^b, L. Chapuis-Lardy^{a,*}

^aIRD, UMR EcoSols, LMI IESOL, Centre IRD-ISRA, BP 1386, Dakar CP18524, Senegal

^bUCAD, Laboratoire de Biologie et Gestion des Populations, BP 5005, Dakar, Senegal

^cELISOL Environnement, Campus SupAgro Montpellier, Bat 12, 2 place Viala, 34 060 Montpellier Cedex 2, France

^dISRA, LMI IESOL, Centre IRD-ISRA, BP 1386, Dakar CP18524, Senegal

^eLMI IESOL & ELISOL Environnement, Centre IRD-ISRA, BP 1386, Dakar CP18524, Senegal

^fLMI IESOL, Centre IRD-ISRA, BP1386, Dakar CP18524, Senegal

ARTICLE INFO

Article history:

Received 4 February 2013

Received in revised form

8 April 2013

Accepted 18 April 2013

Available online 7 May 2013

Handling editor: Bryan Griffiths

Keywords:

Ptilostigma reticulatum

Pennisetum glaucum

Sahelian shrub

Soil nematodes

Trophic groups

Ecological indices

ABSTRACT

Woody shrubs commonly co-exist with annual food crops in farmers' fields throughout the Sahel. Management strategies that deliberately include the native shrub *Ptilostigma reticulatum* in Senegalese cropping systems result in soil functioning enhancement that benefits to the associated cereal. The objective of this work was to evaluate shrub effect on soil nematode communities. Soil samples were collected from an experimental design where pearl millet (*Pennisetum glaucum*) was cultivated alone or with *P. reticulatum* stands and mulch. Soil nematofauna characteristics were determined and compared with results from soil under pure shrub stands and from bare soil. The analysis of soil nematofauna, characterized by the abundance of different trophic groups and related indices (MI, maturity index; EI and SI, enrichment and structure indices), allowed discrimination between treatments with or without shrub presence. The soil nematode community in millet cultivation was dominated by plant feeding nematodes, mainly from the Hoplolaimidae family, but their abundance decreased when *P. reticulatum* was associated to the cereal. The shrub also impacted other nematode trophic groups. The abundance of opportunistic bacterial feeders (mainly Cephalobidae) was increased in shrub treatments. Further research should explore consequences on cereal nutrition and nematicidal properties of *P. reticulatum*.

© 2013 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

1. Introduction

In Sub-Saharan Africa, food security remains a major concern [1,2]. West African soils exhibit a poor inherent fertility [3] while agriculture is based on small-scale farming with very low external inputs. Moreover agricultural systems in this semi-arid region are mainly rain fed and thus highly vulnerable to climate variability and drought. Such constraints encouraged the development of alternative cropping systems tailored to social and environmental local conditions.

Native perennial woody shrubs are dominant in the West Africa landscape. *Ptilostigma reticulatum*, one of the most common Sahelian shrubs, provides rural people with fuel, materials for construction, fodder for livestock and traditional medicine [4]. Native shrubs co-exist with staple food crops in farmers' fields. The

accumulation of fertile soil particles beneath the shrub canopies resulting from a landscape-scale redistribution of resources generates nutrient-rich soil plots known as "fertility islands" [5,6]. Shrubs also confer improved microclimatic regimes within the vicinity of their canopy due to their deep rooting systems and associated hydraulic lift [7–9]. In semi-arid Senegal, traditional management of native perennial woody shrubs involves coppicing and burning aboveground residues in the spring, prior to the planting of row crops, to clear fields. Alternative systems in which annual crops and shrubs are intercropped while shrub residues return to soil as mulch are receiving increasing attention all over Sub-Saharan Africa [10]. Such a shrub management resulted in both nutrient and moisture-related benefits to pearl millet (*Pennisetum glaucum*) when associated with common shrubs in the Senegalese peanut basin [8,11]. Better carbon storage and nutrient cycling, and higher soil moisture improved cereal yields [8,9,11,12]. Microbial communities beneath shrubs are more diverse, more active, and different from soil outside the influence of the shrub [11,13].

* Corresponding author. Tel.: +221 33 849 3645.

E-mail address: lydie.lardy@ird.fr (L. Chapuis-Lardy).

[Annexe 6.2]

Effet des arbustes natifs sur la diversité fonctionnelle des sols en région soudano-sahélienne (Sénégal)

DIAKHATE Sidy^{1,2}, CHEVALLIER Tiphaine³, DIALLO Ndèye Hélène⁴, NDOUR Yacine⁴, ABADIE Josiane³, DELEPORTE Philippe³, CHAPUIS-LARDY Lydie¹

¹ : UMR Eco&Sols, IRD, LEMSAT, Centre IRD-ISRA Bel Air, BP1386, Dakar CP 18524, Sénégal, s.diakhate@yahoo.fr

² : Ecole doctorale SEV, Faculté des Sciences, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal

³ : UMR Eco&Sols, Cirad-INRA-IRD-Montpellier SupAgro, 2 place Viala, Bat. 12, 34060 Montpellier Cedex 2, France, tiphaine.chevallier@ird.fr

⁴ : ISRA, LEMSAT, Centre IRD-ISRA Bel Air, BP 1386, Dakar CP 18524, Sénégal

Mots-clés : Afrique sub-saharienne, Intensification Ecologique, *Piliostigma reticulatum*, *Guiera senegalensis*, mil, profil catabolique, MicroRespTM.

Introduction

Piliostigma reticulatum (D.C.) Hochst (Caesalpinioideae) and *Guiera senegalensis* J.F. Gmel (Combretaceae) sont les deux espèces arbustives natives les plus répandues dans le Sahel. Des travaux menés au Sénégal ont permis de démontrer les effets bénéfiques de ces deux espèces sur la dynamique de l'eau (Kizito *et al.* 2006) et l'intérêt d'utiliser leurs résidus (au lieu de les brûler) pour augmenter la fertilité du sol (Dossa *et al.*, 2008). Dans une démarche d'intensification écologique, associer ces espèces arbustives à une culture vivrière, telle que le mil, apparait comme une piste intéressante pour la productivité et la durabilité des agrosystèmes de la région soudano-sahélienne. L'objectif de cette étude est de déterminer l'impact de la présence des espèces arbustives natives sur le fonctionnement biologique d'un sol cultivé, et notamment sur la diversité fonctionnelle des microorganismes.

Matériels et méthodes

Les sols ont été prélevés au Sénégal dans deux dispositifs expérimentaux de l'ISRA (Institut Sénégalais de Recherches Agricoles). Les espèces arbustives étudiées sont *P. reticulatum* à Bambey et *G. senegalensis* à Nioro. L'horizon superficiel du sol a été prélevé (3 échantillons composite / traitement) dans la rhizosphère dans 1) une culture de mil (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) seul, 2) des touffes d'arbustes isolées, 3) une culture où le mil est associé à l'arbuste (recépage des touffes et apport des résidus des arbustes à la surface du sol). Les parcelles ne reçoivent aucun fertilisant minéral. Le sol non cultivé prélevé à proximité du dispositif sert de témoin.

L'impact de la présence des arbustes sur la diversité fonctionnelle des microorganismes hétérotrophes a été apprécié au travers l'analyse des profils cataboliques réalisés par la méthode MicroRespTM adaptée de Campbell *et al.* (2003) et Berg & Steinberger (2010). Les 10 substrats (fig. 1) sont apportés au sol à une concentration de 0,85 mg/g sol. La respiration basale est estimée à partir de l'essai avec ajout d'eau et la biomasse microbienne à partir de

l'essai glucose (méthode SIR, Substrate Induced Respiration). La diversité microbienne fonctionnelle est estimée par le calcul de l'indice de Shannon-Weaver (Zak *et al.*, 1994).

Résultats

La présence d'arbustes n'affecte pas significativement la respiration basale du sol (ex pour Nioro, fig. 1). L'indice de Shannon-Weaver varie peu selon les traitements, 2,1 - 2,2 à Nioro (*P. reticulatum*), et 2,16 - 2,26 à Bambey (*G. senegalensis*). Ces valeurs témoignent d'une bonne capacité des micro-organismes à dégrader les substrats testés (Jiang *et al.*, 2011).

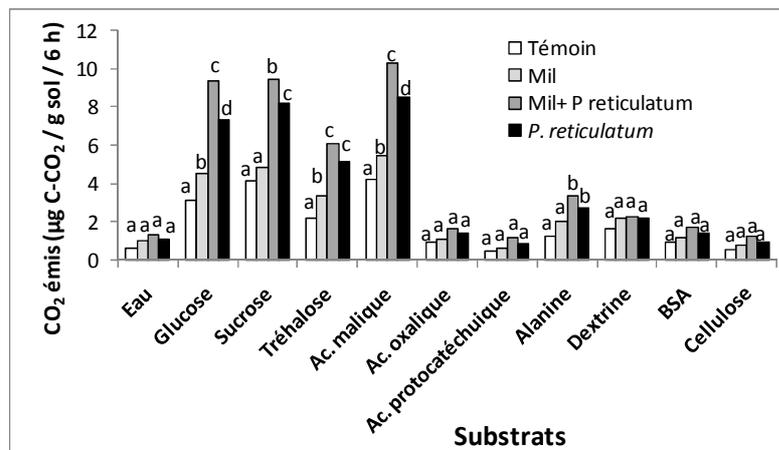


Figure 1

Profil de la diversité catabolique des microorganismes dans les sols de Nioro (dispositif *P. reticulatum*)

Pour un même substrat, des lettres différentes indiquent une différence significative à $P < 0,05$)

A Nioro, le profil catabolique obtenu montre la variabilité des réponses des micro-organismes aux différents substrats apportés (fig. 1). Les quantités de CO₂ sont significativement plus élevées dans le traitement mil+*P. reticulatum* comparativement au traitement mil seul pour le glucose, l'acide malique, le tréhalose et le sucrose (fig.1). Parallèlement, on constate une augmentation de la biomasse microbienne et une diminution du quotient métabolique (qCO₂) dans la rhizosphère du mil en présence de *P. reticulatum*.

A Bambey, les quantités de CO₂ sont aussi significativement plus élevées en présence de *G. senegalensis* comparativement au mil seul mais uniquement pour deux substrats, tréhalose et acide malique ; ceci témoigne d'un effet moins important de cet arbuste sur la diversité fonctionnelle du sol comparativement à *P. reticulatum*. Berg et Steinberger (2010) ont également montré l'impact d'un arbuste natif (*Hammada scoparia*) sur la diversité fonctionnelle d'un sol en milieu aride.

Conclusion

Le mil bénéficie de son association avec *P. reticulatum* par le biais d'une diversité catabolique plus importante due à la présence de l'arbuste. Ce bénéfice est moins important avec *G. senegalensis*. Les recherches doivent maintenant porter sur les implications en termes de cycles des nutriments.

[Annexe 6.3]



Influence de la présence d'arbustes sur le bio-fonctionnement d'un sol agricole sénégalais

Sidy Diakhaté

IRD UMR 210 EcoSols – LEMSAT – Campus IBRA-IRD Bel Air –
BP 1386, Dakar CP 18524, Sénégal
Contact : sidy.diakhaté@ird.fr



Directeurs de thèse: M. Sérébène (UCAD, Sénégal) & D. Masse (IRD, Sénégal)

Encadrants: L. Lardy (IRD Sénégal) & T. Chevalier (IRD Montpellier)



Comment améliorer la fertilité et la productivité des agro-écosystèmes sous le climat sub-aride du Sénégal ?

En développant des systèmes de cultures basés sur l'intensification écologique utilisant les arbustes natifs pour leur impact positif sur la croissance d'une culture associée



L'intensification écologique consiste à piloter des processus biologiques des agroécosystèmes, et notamment les interactions biotiques, pour en optimiser l'exploitation et ainsi limiter l'usage des intrants

Les arbustes natifs

Crotalaria anagyroides (J.F.) Gaertl Pisonia verticillata (D.C.) Hooker

- ✓ créent des îlots de fertilité sous leur canopée
- ✓ fournissent des résidus qui une fois apportés au sol favorisent la dynamique de l'eau et représentent un apport de MO
- ✓ abritent, y compris en saison sèche, un ensemble de microorganismes plus importants que dans le sol environnant

Les micro-organismes du sol

- ✓ décomposent la Matière Organique
- ✓ Jouent un rôle important dans la disponibilité des éléments nutritifs.

Les nématodes

La place des nématodes dans la chaîne alimentaire du sol (Figure Parke, 1984) (modifié d'après les données de l'écologie des sols)

- ✓ Interviennent à tous les niveaux trophiques de la chaîne alimentaire dans le sol
- ✓ sont utilisés comme indicateurs de la qualité et de la fertilité des sols
- ✓ sont très diversifiés sur le plan taxonomique et fonctionnel

Risque biocontrol d'un nématode bactéricivore



La présence d'espèces arbustives natives affecte-t-elle la communauté des nématodes et des microorganismes d'une manière significative qui bénéficie directement ou indirectement à la fourniture de nutriments pour la culture associée ?

→ Une étude comparative entre différents blocs



Ce qui sera étudié

- ✓ Etude de l'effet de la présence des arbustes sur l'abondance et la diversité des assemblages de nématodes
- ✓ Etude de la diversité génétique (PCR-DGGE) et fonctionnelle (MicroResp®) des micro-organismes
- ✓ Impact des Interactions nématodes - micro-organismes observées dans la rhizosphère de l'arbuste sur la disponibilité en nutriments disponibles pour la culture associée

Ce qui est attendu

- ✓ Appréhender les Interactions nématodes / micro-organismes dans ces sols
- ✓ Mieux connaître le fonctionnement biologique des sols pour des systèmes associant arbustes et culture
- ✓ Développer un système de culture basé sur l'intensification écologique et utilisant les ressources de la région

Remerciements
Projet NSF/PRE Hydrologic Redistribution and Rhizosphere Biology of Resource Islands in Degraded Agroecosystems of the Sahel – Coordonneur: R. Dick (OSU, USA)
Appel de la D99 (IRD) par l'octroi d'une bourse doctorale

Poster présenté lors des Journées des Doctorants de l'IRD France sud à Montpellier 11 et 12 octobre 2011



Comment améliorer la fertilité et la productivité des agro-écosystèmes sous le climat sub-aride du Sénégal ?

En développant des systèmes de cultures basés sur l'intensification écologique utilisant les arbustes natifs pour leur impact positif sur la croissance d'une culture associée



L'intensification écologique consiste à piloter des processus biologiques des agroécosystèmes, et notamment les interactions biotiques, pour en optimiser l'exploitation et ainsi limiter l'usage des intrants

Les arbustes natifs

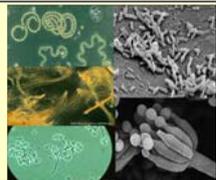


Guiera senegalensis (J.F.) Gmel *Piliostigma reticulatum* (D.C.) Hochst

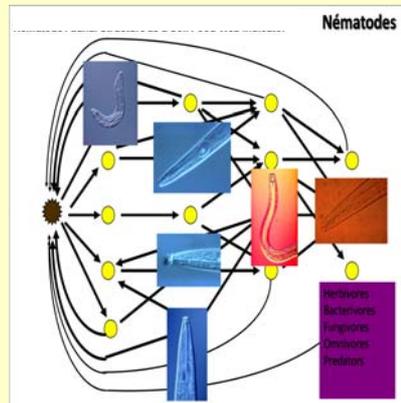
- ✓ créent des îlots de fertilité sous leur canopée
- ✓ fournissent des résidus qui une fois apportés au sol favorisent la dynamique de l'eau et représentent un apport de MO
- ✓ Abritent, y compris en saison sèche, un ensemble de microorganismes plus importants que dans le sol environnant

Les micro-organismes du sol

- ✓ décomposent la Matière Organique
- ✓ Jouent un rôle important dans la disponibilité des éléments nutritifs.

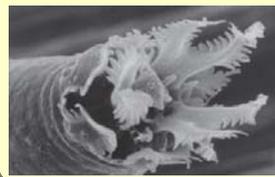


Les nématodes



La place des nématodes dans la chaîne alimentaire du sol (d'après Ferris, <http://plipnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/nemaplex.htm>)

- ✓ interviennent à tous les niveaux trophiques de la chaîne alimentaire dans le sol
- ✓ sont utilisés comme indicateurs de la qualité et de la fertilité des sols
- ✓ sont très diversifiés sur le plan taxonomique et fonctionnel



- ✓ Les nématodes bactérivores peuvent exercer un contrôle indirect sur la dynamique de la matière organique et la disponibilité des nutriments

Pièces buccales d'un nématode bactérivores



La présence d'espèces arbustives natives affecte-elle la communauté des nématodes et des microorganismes d'une manière significative qui bénéficie directement ou indirectement à la fourniture de nutriments pour la culture associée ?

→ Une étude comparative entre différents blocs

| | |
|--------------|---------------------------------|
| Arbuste seul | Arbuste + Mil |
| Mil seul | Témoin (sans arbuste ni mil) |

X 4 parcelles x 2 sites



Ce qui sera étudié

- ✓ Etude de l'effet de la présence des arbustes sur l'abondance et la diversité des assemblages de nématodes
- ✓ Etude de la diversité génétique (PCR-DGGE) et fonctionnelle (MicroResp®) des micro-organismes
- ✓ Impact des interactions nématodes - micro-organismes observées dans la rhizosphère de l'arbuste sur la disponibilité en nutriments disponibles pour la culture associée

Ce qui est attendu

- ✓ Appréhender les interactions nématodes / micro-organismes dans ces sols
- ✓ Mieux connaître le fonctionnement biologique des sols pour des systèmes associant arbustes et culture
- ✓ Développer un système de culture basé sur l'intensification écologique et utilisant les ressources de la région

Remerciements

Projet NSF/PIRE Hydrologic Redistribution and Rhizosphere Biology of Resource Islands in Degraded Agroecosystems of the Sahel – Coordinateur : R. Dick (OSU, USA)
 Appui de la DPF (IRD) par l'octroi d'une bourse doctorale



Structure génétique et activité catabolique des microorganismes du sol sous *Piliostigma reticulatum*

UER 203

Génétique des
populations

Sidy DIAKHATE

Masse Dominique, Directeur de thèse

Sembène Mbacké, Codirecteur

Lardy Lydie, Encadrant

Sidy.diakhate@ird.fr

UMR 210

Eco&Sols

LEMSAT IRD

Piliostigma reticulatum est un arbuste natif très répandu dans la zone soudano sahélienne. Sa présence dans les champs cultivés aurait un impact sur la croissance des céréales tel que le mil (*Pennisetum Glaucum L.*). Les effets positifs sur les plantes annuelles pourraient être associés aux activités et à la diversité des micro-organismes se développant dans la rhizosphère de ces arbustes. Ces micro-organismes sont déterminants dans la transformation de la matière organique et la disponibilité des nutriments dans le sol. Notre objectif est de comprendre l'effet de la présence de cet arbuste sur l'aptitude catabolique et la structure génétique des communautés microbiennes du sol.

Un dispositif expérimental au champ a été mis en place à Nioro, situé dans la région de Kaolack (Sénégal). Cet essai, constitué de 4 blocs randomisés comportent 4 types de traitements : 1) sans plante (sol nu servant de contrôle, noté C) ; 2) culture de mil (M) ; 3) touffe arbustive de *P. reticulatum* (P) et 4) Mil associé au *Piliostigma* (M+P). Les échantillons de sol sont prélevés au contact des racines au stade d'épiaison du mil dans le traitement M. La diversité catabolique a été étudiée par la méthode MicroRespTM en mesurant le CO₂ issu de la dégradation par les micro-organismes d'un lot de substrats carbonés. La structure génétique des bactéries et des champignons a été étudiée par PCR-DGGE en ciblant respectivement les régions 16S rDNA et l'ITS.

Piliostigma reticulatum entraîne une augmentation de la diversité catabolique des micro-organismes. Sa présence est corrélée avec une décomposition plus importante du glucose, du sucrose, du tréhalose et de l'acide malique. La structure génétique des communautés fongiques a été modifiée par la présence de cet arbuste sans modification de la structure des bactéries du sol.

Piliostigma reticulatum ne modifie pas la structuration des communautés bactériennes du sol mais impacte cependant le fonctionnement microbien pouvant favoriser un recyclage rapide des éléments nutritifs dans le sol.

Retombées scientifiques

Biodiversité des sols & Compréhension du fonctionnement biologique du sol dans les associations culturales

Impacts socio-économiques

Amélioration de la productivité du mil à travers les associations culturales.

Influence de l'arbuste *Piliostigma reticulatum* (D.C.) Hochst (Caesalpinioideae) sur les communautés de microorganismes et de nématodes d'un sol cultivé en mil au Sénégal (Nioro).

Résumé

En zone soudano-sahélienne, les arbustes présents dans le paysage sont souvent utilisés par les populations locales, y compris en agriculture. En intégrant ces arbustes au sein des systèmes de culture, il est possible d'intensifier les processus écologiques pour améliorer la productivité primaire (principe d'intensification écologique). Notre hypothèse est que l'arbuste local *Piliostigma reticulatum* permet d'optimiser le biofonctionnement d'un sol cultivé en mil, en s'appuyant sur les interactions biologiques (microorganismes et nématofaune) impliquées notamment dans la fourniture de nutriments.

Notre étude porte sur les communautés microbiennes (abondance-activités-diversités fonctionnelle et génétique), les communautés de nématodes (guildes fonctionnelles), et le réseau trophique développé par ces communautés au sein du sol. L'échantillonnage a été réalisé dans l'horizon superficiel du sol (0-10 cm) de quatre modalités choisies dans un dispositif expérimental existant (Nioro-du Rip, Sénégal) : i) sol nu (traitement de contrôle, noté C) ; ii) mil lorsqu'il est cultivé seul (traitement M, mil) ; iii) touffe arbustive (traitement P, *Piliostigma reticulatum*), et iv) association mil et arbuste avec une gestion des résidus de recépage de l'arbuste sous forme de mulch (traitement M+P). Par ailleurs, une expérimentation en conditions contrôlées permet d'appréhender l'impact de l'apport des résidus de *P. reticulatum* sur une population de nématode phytoparasite de l'espèce *Helicotylenchus dihystra*.

Sous la canopée de l'arbuste, le sol présente de plus fortes teneurs en éléments (notamment en azote minéral) (traitement P vs. C), une augmentation significative de l'activité catabolique des microorganismes (technique MicroResp™, notamment celle liée au tréhalose connu par ailleurs pour son rôle dans la fermeture des stomates) et une modification de la structure des communautés de microorganismes et de nématodes. Dans le sol de la culture du mil associant l'arbuste et le mulch (M+P), les teneurs en azote minéral sont plus élevées ainsi que certaines activités enzymatiques (uréase, arylsulfatase et déshydrogénase) et l'activité catabolique de l'acide protocatéchique (acide phénolique). Les résultats ont également montré une modification de la structure et de la diversité de la communauté bactérienne totale alors que pour les champignons, seule la structure est impactée par la gestion de *P. reticulatum* dans le système cultivé. La structure des assemblages de nématodes est affectée à travers une augmentation significative des nématodes bactérivores et une baisse significative des nématodes phytoparasites, notamment la famille des Hoplolaimidae. Notre étude en conditions contrôlées confirme l'effet nématicide des résidus de *P. reticulatum* sur *Helicotylenchus dihystra*. L'analyse des réseaux trophiques du sol basée sur la nématofaune montre pour le traitement M+P une augmentation du niveau d'enrichissement (indicateur de la disponibilité en éléments nutritifs) et de la complexité de la chaîne trophique. La gestion de *P. reticulatum* dans le système cultivé affecte le réseau trophique du sol (plus de nématodes bactérivores et moins de phytoparasites) et conduit à une intensification des processus écologiques impliqués dans le cycle de l'azote, et possiblement à une inhibition de la nitrification.

Mots clés : Agroforesterie ; *Piliostigma reticulatum* ; *Pennisetum glaucum* ; Biofonctionnement du sol ; Réseau trophique ; Nématofaune ; nématodes phytoparasites ; Communautés bactériennes ; Communautés fongiques ; Activités enzymatiques ; MicroResp™ ; PCR-DGGE.

The influence of the local shrub *Piliostigma reticulatum* (D.C.) Hochst (Caesalpinioideae) on soil microorganisms and nematodes when growing millet in Senegal (Nioro).

Abstract

Sahelian populations traditionally use local shrub for various purposes including in agriculture. Integrating shrub as a component of cropping systems may intensify ecological processes that sustain crop productivity (referring to the concept of Ecological Intensification). We assume that the native shrub *Piliostigma reticulatum* (DC.) Hochst intensify soil biological functioning in millet cultivation by strengthening the biological interactions involved in nutrient cycling. This work focuses on soil microbial communities (density, activity, genetic and functional diversities), soil nematofauna (taxonomy at Family level and classification in functional guilds) and the associated soil food web. Top soil (0-10 cm) was collected in four treatments from an existing experimental design at Nioro-du-Rip (Senegal): (i) bare soil (treatment serving as a control, C), (ii) millet cultivation without external inputs (M treatment), (iii) shrub canopy (noted as P for *Piliostigma reticulatum*) and (iv) millet and *P. reticulatum* association with shrub cutting at millet seedling and shrub residues kept at soil surface as a mulch. Furthermore, a mesocosm experiment was carried out under controlled conditions in order to determine how shrub residues affect an inoculum of *Helicotylenchus dihystra*, a plant-parasitic nematode species.

Higher nutrient contents were observed under shrub canopy as well as significant changes in the structure of soil microbial communities. *Piliostigma reticulatum* also led to significant changes in soil nematode communities in comparison to the control. Catabolic profile test (MicroResp™) revealed higher ability of microorganisms to degrade trehalose under shrub canopy while this substrate is known in other plant species to control stomate closure under water stress. Urease, arylsulfatase and dehydrogenase activities were higher when shrub is considered in the millet cultivation. These shifts mainly dealt with nitrogen cycling. Besides, shrub integration in the millet cultivation affected the structure and diversity of soil bacterial community while only the structure varied for fungi. The millet and shrub system led to significant changes in structure and taxonomic richness of soil nematode communities while bacterial feeding nematodes were stimulated and plant-parasitic were depressed (mainly the Hoplolaimidae Family). The results from mesocosm experiment acknowledged the nematicidal effect of shrub residues on the plant-parasitic *Helicotylenchus dihystra*. The analysis of nematode communities indicated greater values of enrichment index when millet is cultivated with shrub while higher mineral nitrogen contents were observed in topsoil of this system. The integration of *P. reticulatum* in millet cultivation provided more bacterial-feeders with indirect effect of nitrogen cycling and less plant-parasitic nematodes while better N nutrition can also come from an inhibition of the nitrification process in soil.

Keywords : Agroforestry ; *Piliostigma reticulatum* ; *Pennisetum glaucum* ; soil biofunctioning ; Soil food web ; Nematode ; Plant feeders ; Bacterial communities ; Fungi ; Enzymes ; MicroResp™ ; PCR-DGGE.
