

## Table des matières

Remerciements.....	v
Sigles et Abréviations .....	viii
Liste des Figures .....	ix
Liste des tableaux.....	xii
RÉSUMÉ.....	xv
ABSTRACT .....	xvi
INTRODUCTION GÉNÉRALE .....	1
Contexte de l'étude .....	1
Objectifs.....	4
Hypothèses.....	4
Démarche .....	5
GÉNÉRALITÉS .....	7
Application des méthodes isotopiques dans l'étude des flux de nutriments dans les agroécosystèmes .....	7
Atome et Isotope .....	7
Mesure de la fixation symbiotique de N <sub>2</sub> des légumineuses par la méthode de l'abondance naturelle en <sup>15</sup> N.....	8
Méthodes de marquage isotopique appliquées à la mesure des flux et les transformations de N et de P dans le sol et leur prélèvement dans les plantes .....	9
Les microorganismes du sol et leurs rôles dans la nutrition des plantes .....	11
CHAPITRE I : Déterminants de la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique en monoculture de niébé ( <i>Vigna unguiculata</i> ) dans le Centre-Ouest du Burkina Faso. ....	14
Résumé.....	15
I.1 Introduction.....	16
I.2 Matériels et Méthodes.....	18
I.2.1 Description du site d'étude .....	18

I.2.2	Choix des champs paysans .....	19
I.2.3	L'essai de longue durée de Saria .....	20
I.2.4	Mesure de la fixation symbiotique de N <sub>2</sub> .....	21
I.2.5	Echantillonnage des plantes.....	22
I.2.6	Détermination de la discrimination spécifique du <sup>15</sup> N dans le niébé (valeur B) .....	23
I.2.7	Prélèvement des échantillons de sol .....	23
I.2.8	Analyses de sols et de plantes.....	24
I.2.9	Calculs et analyses statistiques .....	24
I.3	Résultats.....	28
I.3.1	Champs paysans .....	28
I.3.2	Essai entretien de la fertilité de Saria .....	44
I.3.3	Comparaison entre les champs paysans et l'essai de Saria .....	48
I.4	Discussion partielle.....	50
I.4.1	Fertilisation, caractéristiques chimiques du sol et production du niébé .....	50
I.4.2	Méthode de l'abondance naturelle et fixation symbiotique de N <sub>2</sub> du niébé.....	52
I.4.3	Bilan N de la monoculture du niébé .....	55
I.5	Conclusion partielle .....	57
CHAPITRE II : Influence à long-terme des pratiques de fertilisation sur les limitations en nutriments des microorganismes dans un Acrisol ferrique .....		58
Résumé.....		59
II.1	Introduction.....	60
II.2	Matériels et méthodes .....	63
II.2.1	Essai de longue durée .....	63
II.2.2	Echantillonnage et caractéristiques générales des sols.....	64
II.2.3	Dispositif expérimental et configuration des additions de substrats .....	67
II.2.4	Evaluation et mesure de la respiration du sol .....	69
II.2.5	Détermination du N du P disponibles et microbiens .....	70

II.2.6	Extraction et analyses des AGPL .....	71
II.2.7	Analyses statistiques.....	72
II.3	Résultats.....	73
II.3.1	Effet à long-terme des pratiques de fertilisation sur le N et le P disponibles et microbiens .....	73
II.3.2	Effets des pratiques de fertilisation sur les cinétiques de respiration .....	74
II.3.3	Biomasse microbienne et structure des communautés microbiennes après l'ajout des substrats.....	78
II.4	Discussion partielle.....	82
II.4.1	Effet à long-terme des pratiques de fertilisation sur le N et le P disponibles et microbiens .....	82
II.4.2	Indications des limitations microbiennes en nutriments durant l'incubation de sol .....	83
II.5	Conclusion partielle .....	87
CHAPITRE III : Effets de différents amendements organiques sur les prélèvements de N et de P par le sorgho et sur la biomasse microbienne du sol par les méthodes de marquage isotopique .....		88
Résumé.....		89
III.1	Introduction.....	90
III.2	Matériels et méthodes .....	92
III.2.1	Justification de l'approche méthodologique.....	92
III.2.2	Echantillonnage du sol .....	93
III.2.3	Préparation et marquage du sol .....	93
III.2.4	Préparation et description des amendements organiques et des fertilisants minéraux.....	94
III.2.4	Expérience d'incubation .....	99
III.2.5	Expérimentation en pot.....	104
III.2.6	Analyses statistiques.....	108
III.3	Résultats.....	109

III.3.1	Expérience d'incubation .....	109
III.3.2	Expérience en pot .....	116
III.4	Discussion partielle.....	121
III.4.1	La minéralisation du carbone .....	121
III.4.2	Effet des amendements sur la biomasse microbienne et la disponibilité du N et du P .....	122
III.4.3	Production et prélèvements de N et de P et par le sorgho .....	125
III.5	Conclusion partielle .....	128
DISCUSSION GÉNÉRALE .....		129
CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PERSPECTIVES.....		132
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....		135
ANNEXES .....		i

## Remerciements

Cette thèse n'aurait pas abouti sans les aides précieuses et multiformes de plusieurs institutions et de plusieurs personnes auxquelles je voudrais témoigner ma profonde reconnaissance.

J'exprime les sincères remerciements à l'endroit:

de l'Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles (INERA) qui est ma structure d'accueil depuis ma formation d'ingénieur agronome. J'ai toujours bénéficié de la bienveillance des chercheurs, des techniciens et du personnel administratif de cet institut ;

de l'INERA m'a également fait confiance en me recrutant avant même la fin de ma formation doctorale, puis a aménagé mes obligations professionnelles pendant la phase de rédaction de cette thèse ;

de l'Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso (UPB) et particulièrement son Institut du Développement Rural (IDR) dans lequel j'ai commencé ma formation en sciences agronomiques. J'ai eu la chance de bénéficier des enseignements de qualité des professeurs talentueux et expérimentés de cet institut. Je suis fier d'aspirer au titre de Docteur de cette école ;

du groupe de nutrition des plantes de l'Ecole Polytechnique Fédérale de Zurich (ETH-Z) en Suisse. J'ai effectué toutes les analyses de laboratoire rentrant dans le cadre de ma formation doctorale dans ce groupe qui m'a accueilli de Novembre 2011 à Octobre 2014. J'ai bénéficié d'un cadre exceptionnel de travail, et de l'encadrement des professeurs hautement qualifiés de ce groupe. J'y ai découvert le monde des isotopes et leurs applications dans les sciences agronomiques ;

de la Confédération Suisse qui a financé tous mes séjours en Suisse. Je n'aurai pas pu financer ces séjours par mes propres moyens ;

de mon pays le Burkina Faso qui m'a offert une bourse d'étude de ma première année d'université jusqu'à mon DEA. Cela m'a évité d'arrêter précocement mes études. J'exhorte les dirigeants du Burkina Faso à donner cette chance à plus de jeunes étudiants, car de nombreux talents n'éclosent pas dans ce pays faute de soutien.

J'adresse également mes remerciements aux personnes suivantes :

Pr François Lompo, Directeur de Recherche à l'INERA, qui a accepté d'encadrer cette thèse malgré son programme très chargé ;

Pr Hassan Bismarck Nacro de l'IDR, qui a accepté d'encadrer cette thèse et a prodigué des critiques et suggestions qui ont permis son aboutissement. Il m'a également enseigné durant ma formation d'ingénieur agronome et mon DEA. Je me souviens encore de ce matin de 2009 où il m'a appelé dans son bureau pour me proposer le stage d'étude qui a amorcé ma collaboration avec l'INERA et le groupe de nutrition des plantes de l'ETH-Z. Encore merci de m'avoir donné cette formidable chance qui m'a ouvert les portes d'une formation doctorale de qualité ;

Pr Michel P. Sédogo Directeur de Recherche à l'INERA et responsable scientifique du doctorat en sciences du sol à l'UPB. Sa bienveillance et ses encouragements m'ont permis de mener à bien toute ma formation dans son laboratoire (Labo-SEP). Son engagement dans la formation des jeunes chercheurs est toujours resté intact même quand nous le « harcelions » quelques fois pour des signatures ou des lettres de recommandation ;

Pr Emmanuel Frossard, responsable du groupe de nutrition des plantes de l'ETH-Z en Suisse. J'ai fait sa connaissance au Burkina Faso en 2009 alors que je faisais mon stage d'ingénieur agronome. Il a cru en mes capacités de faire une thèse dans son groupe, et m'a recommandé pour la bourse de la Confédération Suisse. Sa tolérance et sa gentillesse ont facilité mon intégration dans son groupe. Sa rigueur scientifique, son exigence du travail abouti, et son engagement à la formation des étudiants africains sont pour moi un modèle à suivre ;

Dr Delwendé Innocent Kiba, Chargé de Recherche à l'INERA. Il m'a précédé dans la collaboration scientifique avec le professeur Frossard et m'a encadré en 2009 lorsque je faisais mon stage d'ingénieur agronome dans son projet de thèse. Depuis lors il n'a jamais cessé de me prodiguer des conseils utiles. Il a contribué activement à la construction de cette thèse par ses critiques, ses suggestions et ses encouragements. Plus qu'un aîné, le Dr Kiba est devenu un ami avec lequel il m'est très agréable de collaborer ;

Dr Astrid Oberson et Dr Else K. Bünemann, pour m'avoir encadré de près lors de la construction des différents chapitres de cette thèse. Elles ont donné une touche scientifique très importante à cette thèse, par leur expertise dans l'étude de la dynamique des nutriments et de la microbiologie du sol ;

Dr Frederica Tamburini, Dr Laurie Paule Mauclaire Schönholzer, Monika Mascia et Dr Bahar Aciksoz pour avoir facilité les expérimentations et les analyses de laboratoire dans le groupe de nutrition des plantes de l'ETH-Z. J'ai appris avec elles, la rigueur et la minutie dans l'organisation et la planification des analyses et des expérimentations de laboratoire ;

Christiane Gujan, secrétaire du groupe de nutrition des plantes qui a toujours bien œuvré pour l'organisation de mes voyages et mon hébergement à Zurich ;

Mirjam C. Arnold et Moritz Hofstetter étudiants de l'ETH-Zurich. Leurs travaux de Bachelor respectivement sur les aspects de limitation en nutriments des microorganismes du sol (Chapitre 2) et sur la dynamique du N et du P dans un Lixisol amendé par différents types de fertilisants organiques (Chapitre 3) ont été d'un apport considérable pour la réalisation de cette thèse ;

Thilo Dürr-Auster, Lalajoana Randiamanantsoa, Samuel Mathu, Michel Ouyabe, Gregor Meyer, Verena Pfahler, Simone Nanzer, Sabine Ragot, Stéphanie Cheesman, Oliver Zemek, Benjamin Costerousse, Klaus Jarosch, Christian von Sperber, Matthias Wigganhauser, et tous les autres amis et camarades étudiants du groupe de nutrition des plantes avec qui j'ai passé des moments inoubliables pendant mes séjours en Suisse ;

Tous mes collègues et amis de l'INERA, notamment, Dr Serme Idriss, Dr Mariam Soma Kiba, Dr Sawadogo Jacques, Zongo Nongma, Sanon Bashirou, Ouandaogo Noufou, Moyenga Momini, Sanon Martin, pour leurs contributions multiformes à cette thèse et pour la cordiale atmosphère de travail ;

Kaboré Souleymane, Kabre Abdoulaye, et tous les vaillants paysans de Saria qui ont accepté participer aux travaux aux champs et aux prélèvements d'échantillons ;

Mes parents (Ali Traoré, Djénéba Traoré, Cheick Omar Traoré et Gnélé K. Yasmine Traoré) qui m'ont toujours soutenu pendant mes « si longues études », et ma compagne Mirjam, pour son amour et ses tendres encouragements qui me motivent tous les jours à aller de l'avant. C'est avec plaisir que je leur dédie cette thèse.

***AW BÈ NI TCHIE, MERCI À TOUS, THANK YOU ALL, VIELEN DANK AN ALLE!!!***

## Sigles et Abréviations

<b><math>^{15}\text{N}</math></b>	Isotope de l'Azote de masse atomique égal à 15
<b><math>^{33}\text{P}</math></b>	Radio-isotope de phosphore, de masse atomique égale à 33
<b>ACP</b>	Analyse en composantes principales
<b>AGPL</b>	Acide gras phospholipide
<b>ANOVA</b>	Analyse de variance
<b>C</b>	Carbone
<b>CAC</b>	Capacité au champ
<b>CNRST</b>	Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique
<b>CUN</b>	Coefficient d'utilisation de l'azote
<b>CUP</b>	Coefficient d'utilisation du phosphore
<b>ETH-Z</b>	Ecole Polytechnique Fédérale de Zurich
<b>IDR</b>	Institut du Développement Rural
<b>INERA</b>	Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles
<b>Labo-SEP</b>	Laboratoire Sol-Eau-Plante
<b>N</b>	Azote
<b>N<sub>2</sub></b>	Azote atmosphérique
<b>Ndfa</b>	Azote dérivant de l'atmosphère
<b>N<sub>dff</sub></b>	Azote dérivant du fertilisant
<b>N<sub>mic</sub></b>	Azote microbien
<b>N<sub>soluble</sub></b>	Azote soluble
<b>P</b>	Phosphore
<b>P<sub>dff</sub></b>	Phosphore dérivant du fertilisant
<b>P<sub>mic</sub></b>	Phosphore microbien
<b>P<sub>résine</sub></b>	P disponible mesuré par la méthode des résines échangeuses d'anions
<b>RIS</b>	Respiration induite par le substrat
<b>RMA</b>	Respiration microbienne additionnelle
<b>UPB</b>	Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso



# Liste des Figures

## Introduction

Figure 1 : Aperçu schématique du système étudié ainsi que des liens entre les chapitres (I ; II et III). Les flèches pleines représentent les processus mesurés tandis que les flèches en pointillés montrent les influences des apports sur les processus mesurés.  $P_{mic}$ = P microbien ; AGPL= Acide gras phospholipide.....6

## Chapitre I

Figure I- 1 : Carte du Burkina Faso et localisation de la zone d'étude dans la région du Centre-Ouest du Burkina Faso ..... 18

Figure I- 2 : Pluviosité mensuelle et nombre de jours de pluies par mois mesurés dans la station de recherche de Saria (centre ouest du Burkina Faso) en 2002 (a) et en 2010 (b) ..... 19

Figure I- 3 : Teneurs en C total (a), N total (b) P résine (c) et pH mesurés sur des sols prélevés dans 33 champs paysans de monoculture de niébé en 2010 sur l'horizon 0-10 cm de profondeur dans le Centre-Ouest du Burkina Faso. La ligne continue représente la médiane et celle discontinue représente la moyenne ..... 29

Figure I- 4 : Quantités de N (a) et de P (b) apportées sous forme d'engrais minéraux solubles à l'eau dans 33 champs paysans de niébé du Centre-Ouest du Burkina Faso en 2010. La ligne continue représente la médiane et celle discontinue représente la moyenne..... 32

Figure I- 5 : Rendements grains (a), rendements fanes (b), concentrations en N dans les graines (c) et dans les fanes (d) de niébé récolté et indice de récolte du N dans les graines de niébé (e) dans 33 champs paysans en 2010 dans le Centre-Ouest du Burkina Faso. La ligne continue représente la médiane et celle discontinue représente la moyenne..... 34

Figure I- 6 : Composition isotopique du N ( $\delta^{15}N$  en ‰) du niébé et des plantes de références échantillonnées dans 33 champs de niébé paysans en 2010 à la période de floraison initiation des gousses du niébé dans le Centre-Ouest du Burkina Faso..... 36

Figure I- 7 : Proportions de N provenant de l'atmosphère (a) et quantité de N fixée (b) dans la biomasse aérienne du niébé mesurés dans 33 champs de niébé paysans en 2010 dans le Centre-Ouest du Burkina Faso. La ligne continue représente la médiane et celle discontinue représente la moyenne. .... 37

Figure I- 8 : Analyse en Composantes Principales montrant la distribution des champs paysans en monoculture de niébé (n=33), et des traitements de l'essai de longue durée de

Saria (Te, fmo, fm, FMO et FM ; n=6) dans le Centre-Ouest du Burkina Faso, et des variables sélectionnés potentiellement explicatifs de la fixation symbiotique de N<sub>2</sub>. .....49

## Chapitre II

Figure II- 1 : Vue d'ensemble du calendrier expérimental.....	67
Figure II- 2 : Diagramme schématique montrant les principes de la cinétique de respiration après l'ajout de substrats. SIR : Respiration induite par le substrat ; Max RMA : Respiration microbienne additionnelle maximale ; □ : croissance exponentielle. ....	69
Figure II- 3 : Respiration du sol durant les premiers 138 heures après l'ajout des substrats (H <sub>2</sub> O, C, CN, CP, CNP). Courbes de respiration horaire (a-c) et cumul de respiration (d-f). Les barres d'erreur montrent écarts types standards dérivés des trois répétitions au champ de chaque pratique de fertilisation.....	75
Figure II- 4 : P microbien (Pmic) (a) et résine extractible (disponible) (Présine) (b) mesurés au pic de respiration après l'ajout des substrats (moyenne et écarts types standards des trois répétitions au champ). Dans chaque pratique de fertilisation, les histogrammes indexés des mêmes lettres ne sont pas statistiquement différents au seuil de de probabilité p de 0,05. Fert. = pratiques de fertilisation (Te, fmo, fm) ; Substrat = substrat ajouté (H <sub>2</sub> O, CN, CP, CNP)..	79
Figure II- 5 : AGLP total mesuré au pic de respiration (moyennes et écarts types standards des trois répétitions au champ). Dans chaque pratique de fertilisation, les histogrammes indexés des mêmes lettres ne sont pas statistiquement différents au seuil de de probabilité p de 0,05. Fert. = pratiques de fertilisation (Te, fmo, fm) ; Substrat = substrat ajouté (H <sub>2</sub> O, CN, CP, CNP) .....	80
Figure II- 6 : ACP sur l'abondance relative des AGPL dans les sols au pic de respiration. Les moyennes et les écarts types standards bidirectionnels basés sur les trois répétitions au champ. ....	81

## Chapitre III

Figure III- 1 : Calendrier des interventions lors de la pré-incubation du sol, avant le début de l'essai en pot et de l'expérience d'incubation .....	94
Figure III- 2 : Evolution de la minéralisation journalière (a) et cumulative (b) de C durant 52 jours d'incubation après l'apport de fanes de niébé paysans (Residu), de résidus de niébé non marqué (Nieb-ILT), de fumier (Fum) de N et de P minéral non marqué (1N1P-ILT) et le témoin non amendé (0N0P) dans un Lixisol du Centre-Ouest du Burkina Faso. Les données présentées sont la moyenne et la déviation standard, n= 4.....	109

Figure III- 3 : Evolution du P microbien (Pmic) (a) et du P disponible (Présine) durant 52 jours d'incubation de sol après apport de fânes de niébé paysans (Residu), de résidus de niébé non marqué (Nieb-ILT), de fumier (Fum) de N et de P minéral non marqué (1N1P-ILT), et le témoin non amendé (0N0P) dans un Lixisol du Centre-Ouest du Burkina Faso. † ESM = erreur standard de la moyenne, n=4. .... 111

## Liste des tableaux

### Chapitre I

Tableau I- 1 : Variétés de niébé et pratiques culturales recensées dans 33 champs paysans du Centre-Ouest du Burkina Faso en 2010.....	31
Tableau I- 2 : $\delta^{15}\text{N}$ (Valeur B) de la biomasse aérienne variétés de niébé rencontrées dans les champs paysans (moyenne (déviatoin standard), n=3).....	35
Tableau I- 3 : Modèle de régression explicatif de la quantité de N-fixé dans la biomasse aérienne par les facteurs liés aux caractéristiques chimiques des sols dans les champs paysans en monoculture de niébé dans le Centre-Ouest du Burkina Faso (n=33).....	38
Tableau I- 4 : Modèle de régression explicatif du %Ndfa du niébé par les facteurs liés aux choix des producteurs dans les champs paysans de monoculture de niébé dans le Centre-Ouest du Burkina Faso (n=32).....	39
Tableau I- 5 : Modèle de régression explicatif de la quantité de N-fixé dans la biomasse aérienne du niébé par les facteurs liés aux choix des producteurs dans les champs paysans de monoculture de niébé dans le Centre-Ouest du Burkina Faso (n=32).....	40
Tableau I- 6 : Bilan partiel de N des champs paysans en monoculture de niébé sans amendement organique dans le Centre-Ouest du Burkina Faso.....	42
Tableau I- 7 : Bilan partiel de N des champs paysans en monoculture de niébé ayant reçu des amendements organiques dans le Centre-Ouest du Burkina Faso.....	43
Tableau I- 8 : Les teneurs en C total, N total, P disponible (Présine) et le pH mesurés sur des échantillons de sols de l'essai de Saria prélevés en 2009 sur l'horizon 0-10 cm de profondeur, dans les parcelles de rotation sorgho-niébé .....	45
Tableau I- 9 : Rendements grains et fanes et concentration de N dans les graines et dans les fanes de niébé récoltés en 2009 dans l'essai Entretien de la fertilité de Saria (n=6).....	46
Tableau I- 10 : Composition isotopique du N ( $\delta^{15}\text{N}$ ) du niébé et des plantes de référence, proportions et quantités de N fixées dans la biomasse aérienne du niébé mesurées à la période de floraison initiation des gousses du niébé mesurés en 2009 dans les traitements de l'essai de Saria (n=6).....	47
Tableau I- 11 : Bilan N de surface de la culture du niébé calculé en 2009 dans l'essai de Saria (n=6). Entrées = N apporté par les engrais minéraux, N total fixé et N des semences ; Exportations= N récolté par les graines et les fanes.....	48

## Chapitre II

Tableau II- 1 : Rendements grains et quantités d'azote et de phosphore exportés par le niébé en 2009 et par le sorgho en 2010 dans les traitements Te, fm, et fmo de l'essai de longue durée de Saria (moyennes de trois répétitions au champ) .....	65
Tableau II- 2 : Caractéristiques chimiques du sol dans l'essai de Saria à 0-10 cm de profondeur (moyenne de trois répétitions au champ).....	66
Tableau II- 3 : N minéral (Nmin) P résine extractible (Présine) N microbien (Nmic) P microbien (Pmic) et respiration de base dans les échantillons de sol prélevés en 2013 dans trois répétitions au champ de l'essai de Saria à 0-10 cm de profondeur. ....	73
Tableau II- 4 : Respiration microbienne additionnelle (RMA), émission cumulative de C durant 138 h, croissance exponentielle ( $\mu$ ) et rapports fongique/bactérien après l'ajout des substrats aux échantillons prélevés en 2013 dans trois répétitions au champ de l'essai de Saria à 0-10 cm de profondeur. Fert.= pratiques de fertilisation (Te, fmo, fm), Substrat= Substrats ajoutés (H <sub>2</sub> O, C, CN, CNP) .....	77

## Chapitre III

Tableau III- 1 : Quantités d'éléments nutritifs apportées sous forme de solution nutritive pour la production hydroponique de niébés ( <i>Vigna unguiculata</i> ) en culture hydroponique.....	95
Tableau III- 2 : Caractéristiques des fertilisants utilisés dans l'expérimentation en pot et doses de C de N et de P apportés au sol durant les expérimentations en pot et d'incubation de sol..	98
Tableau III- 3 : Traitements et techniques de marquages utilisés dans l'expérience d'incubation de sol .....	99
Tableau III- 4 : Traitements et techniques de marquages utilisés dans l'essai en pot.....	105
Tableau III- 5 : Evolution du P disponible (Presine) et microbien (Pmic) du sol, des proportions de P provenant des fertilisants marqués dans le Présine et le Pmic (%Présine dff et %Pmic dff) et du coefficient d'utilisation P apporté dans le Présine et le Pmic (CUPrésine et CUPmic) dans les traitements 1N1P-DLT et Nieb-DLT pendant l'incubation de sol. ....	113
Tableau III- 6 : Teneurs en N soluble du sol (Nsoluble), C et N microbien (Cmic et Nmic), proportions du N soluble et N microbien provenant des fertilisants marqués (%Nsoluble dff et %Nmic dff) et coefficients d'utilisation du N apporté dans le N soluble et le N microbien (CUNsoluble et CUNmic) au 46ième jour de l'incubation de sol.....	115
Tableau III- 7 : Production de biomasse, concentration en N et en P et quantités de N et de P prélevées dans la partie aérienne du sorgho après l'apport de fanes de niébé paysans (Resisu),	

de résidus de niébé non marqué et marqué (Nieb-ILT et Nieb-DLT), de fumier (Fum) de N et de P minéral non marqué et marqué (1N1P-ILT et 1N1P-DLT) des contrôles 0N1P, 1N0P et le témoin non amendé (0N0P). .....	117
Tableau III- 8 : Pourcentage d'excès d'atomes $^{15}\text{N}$ , proportions et quantités de N provenant des fertilisants ( $\text{Ndff}$ ), quantité de N dérivé du sol ( $\text{Ndfs}$ ) et coefficient d'utilisation du N apporté par les fertilisants (CUN) dans le dans la biomasse aérienne de sorgho. ....	119
Tableau III- 9 : Activité spécifique du P dans les échantillons de plantes, proportions et quantités de P provenant des fertilisants ( $\text{Pdff}$ ), quantités de P dérivé du sol ( $\text{Pdfs}$ ) et coefficient d'utilisation du P apporté par les fertilisants (CUP) dans la biomasse aérienne de sorgho. ....	120

## RÉSUMÉ

Les sols de la région du Centre-Ouest du Burkina Faso sont connus pour leur état d'épuisement avancé en matière organique, en azote (N) et en phosphore (P). Dans ce contexte il faut pouvoir exploiter au mieux les rares sources de nutriments. Les facteurs déterminant la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique (N<sub>2</sub>) par le niébé (*Vigna unguiculata*), ont été étudiés dans la région de Saria (Centre-Ouest du Burkina Faso), en milieu paysan et dans un essai agronomique implanté depuis 1960, offrant plusieurs options de gestion de la fertilité des sols. Ensuite, les limitations en N et en P des microorganismes des sols provenant de trois pratiques de fertilisation de l'essai de Saria, dont la fertilisation minérale exclusive (fm), la fertilisation minérale combinée au fumier (fmo) et le témoin non fertilisé (Te) ont été étudiés, pour évaluer la capacité des microorganismes du sol à recycler les nutriments dans ces sols. Enfin, les conséquences de ces limitations sur la dynamique du N et du P dans les compartiments microbien et disponible du sol après l'apport de différents amendements, et leurs prélèvements par le sorgho ont été étudiées. Les pourcentages de N dérivant de l'atmosphère (%Nd<sub>fa</sub>) du niébé étaient plus élevés en milieu paysans que dans l'essai de Saria. Le %Nd<sub>fa</sub> des variétés locales de niébé était supérieur à celui des variétés introduites (78% contre 62%). Les différents indicateurs ont montré une co-limitation en N et en P pour les microorganismes du sol dans le traitement Te. Ces limitations sont atténuées par l'application des fertilisants dans fm et fmo. Une forte activité microbienne accompagnée d'une immobilisation de nutriments dans la biomasse microbienne a été observées après l'ajout au sol de résidus de niébé. En conséquence, la production de biomasse de sorgho dans ces traitements était faible et comparable au témoin sans amendements. Les pratiques agricoles sans /ou avec de faibles apports de nutriments ne sont pas durables et limitent la fixation symbiotique de N<sub>2</sub> par le niébé. A long terme elles entraînent des limitations en N et en P plus ou moins sévèrement pour les microorganismes du sol. L'amélioration de la nutrition en P du niébé et une meilleure gestion des résidus de récolte permet d'accroître les entrées en N. Une attention doit être accordée aux concurrences entre la biomasse microbienne du sol et les plantes pour une bonne utilisation des amendements organiques dans les sols épuisés en nutriments.

**Mots clés :** Isotopes, Azote, Phosphore, Fixation symbiotique, Nutriments, Microorganismes du sol, Niébé, Sorgho, Burkina Faso

## ABSTRACT

The soils of Central-West, Burkina Faso are known to be strongly depleted in organic matter, in nitrogen (N) and phosphorus (P). An efficient use of the scarce nutrient sources is especially important in such a context. The factors governing the symbiotic fixation of atmospheric nitrogen ( $N_2$ ) of cowpea (*Vigna unguiculata*) have been studied in Saria (Central-West of Burkina Faso), in farmer's fields and in a field trial implemented since 1960, with different options of soil fertility management. Then, the limitations in N and P for soil microorganisms in three fertilisation practices of the field trial of Saria, including exclusive mineral fertilisation (fm), mineral fertilisation combined with manure (fmo), and a non-fertilized control (Te) were studied to assess the ability of microorganisms to recycle the nutrients of these soils. Finally, the consequences of these limitations on N and P dynamics in soil microbial and available compartments after the addition of different amendments into the soil, and their uptakes by sorghum were studied. The percentages of N derived from atmosphere (%Nd<sub>fa</sub>) of cowpea were higher in the farmer's fields than in the field trial of Saria. The %Nd<sub>fa</sub> of local cowpea varieties was higher than that of introduced varieties (78% vs. 62%). The different indicators showed N and P co-limitation for soil microorganisms in the Te treatment. These limitations were alleviated by the application of fertilizers in fm and fmo. A strong microbial activity coupled with nutrient immobilizations in microbial biomass was observed after addition of cowpea residues to the soil. In consequence, sorghum biomass production in these treatments was low and similar to the control without amendment. Agricultural practices without / or with low nutrient inputs are not sustainable and limit symbiotic  $N_2$  fixation of cowpea. In the long term, they lead to more or less severe N and P limitations for soil microorganisms. The improvement of cowpea P nutrition and a better management of crop residues increase N inputs. The concurrence between soil microbial biomass and plants for soil nutrients after addition of organic amendments must be looked carefully in the nutrients depleted soils.

**Key words:** Isotopes, Nitrogen, Phosphorus, Symbiotic Fixation, Nutrients, Soil microorganisms, Cowpea, Sorghum, Burkina Faso



## INTRODUCTION GÉNÉRALE

### Contexte de l'étude

Les sols en Afrique Sub-saharienne sont connus pour leurs caractéristiques physiques et chimiques généralement limitantes pour la productivité des cultures (Bationo *et al.*, 2007). Les sols dominants dans ces régions sont fortement altérés, avec des teneurs généralement faibles en matière organique (souvent moins de 1%), et en éléments nutritifs majeurs comme l'azote (N) et le phosphore (P). Les Lixisols de la zone nord soudanienne du Burkina Faso par exemple, ont des teneurs en carbone (C) d'environ  $10 \text{ g kg}^{-1}$ , et moins de  $1 \text{ g kg}^{-1}$  de N total (Pallo *et al.*, 2009a; Pallo *et al.*, 2009b). Les teneurs en P total y sont d'environ  $200 \text{ mg kg}^{-1}$  tandis que celles en P disponible (Bray I) sont souvent inférieures à  $5 \text{ mg kg}^{-1}$  (Compaoré *et al.*, 2003). Ces sols ont également des textures généralement fragiles, avec une prédominance des limons fins entraînant une sensibilité à l'encroûtement et à l'érosion (Pallo et Thiombiano, 1989). L'argile est généralement de type kaolinique avec une faible capacité d'échange cationique. Lorsque ces sols sont mis en culture, une forte dégradation avec une baisse rapide de leurs teneurs en matière organique et en éléments nutritifs se produit, sauf si des mesures adéquates d'entretien de la fertilité des sols sont appliquées (Bationo *et al.*, 2007).

Une production agricole durable sur ces sols ne peut être envisagée sans un apport conséquent de nutriments sous forme organique et minérale. Les effets des amendements organiques et des engrais minéraux sur les propriétés physiques, chimiques et biologiques des sols et sur les rendements des cultures, ont ainsi été étudiées en vue de développer des options de fertilisations durables pour entretenir la fertilité des sols. Dans la partie nord soudanienne du Burkina Faso, l'application de fumier permet de maintenir ou d'accroître la teneur en C total du sol, et d'accroître les rendements du sorgho comparativement à un sol sans application de fumier (Mando *et al.*, 2005). Ouédraogo *et al.*, (2001) ont montré que l'application de compost permettait d'augmenter les rendements grains du sorgho et d'atténuer les effets négatifs d'un semi tardif sur les rendements du sorgho. La dose conseillée d'amendements organiques pour maintenir le stock de C total du sol pour la région nord soudanienne du Burkina Faso a été évaluée à  $5 \text{ t ha}^{-1}$  tous les deux ans ou  $2,5 \text{ t ha}^{-1}$  par an (Sedogo, 1993). Cette dose de fumier combinée à un apport d'engrais minéral permet un accroissement de

17% du P disponible (Bray I) du sol comparativement à l'application d'engrais minéral uniquement (Lompo, 2009).

Malgré leurs effets positifs reconnus, l'application des amendements organiques et des engrais minéraux dans les champs en milieu réel reste limitée. Les résidus de récoltes qui, pourraient servir à fabriquer du compost ou à couvrir les sols, sont souvent indisponibles du fait de leur usage à d'autres fins. En effet, après les récoltes des graines, les résidus de récolte sont ramassés et stockés pour l'alimentation du bétail en saison sèche, la confection des toits des maisons ou des hangars, des haies mortes, la cuisson (comme source d'énergie), ou sont vendus aux éleveurs pendant la période de soudure (Bationo *et al.*, 2012). Une enquête effectuée auprès de 167 ménages agricoles dans le Centre-Ouest du Burkina Faso a montré que 70% des producteurs de sorgho n'ont pas appliqué du fumier ou du compost dans leurs champs. Ceux qui en ont appliqué l'ont fait à une dose moyenne de  $1 \text{ t ha}^{-1}$ , largement inférieure à la dose recommandée (Kiba, 2012). En outre, lorsqu'ils sont disponibles, l'utilisation des amendements organiques est très souvent limitée aux champs qui sont proches des habitations (champs de case) à cause des difficultés liées à leur transport vers les champs éloignés appelés champs de brousse (Bonzi, 2002; Tittonell et Giller, 2013).

Bien que l'utilisation appropriée des engrais minéraux solubles à l'eau soit une composante importante pour intensifier la production agricole et entretenir la fertilité des sols (Vanlauwe *et al.*, 2014), leur utilisation en Afrique subsaharienne est limitée à cause de leurs coûts élevés par rapport aux revenus des petits producteurs (Sanchez *et al.*, 1997). Les quantités moyennes d'engrais minéraux apportées dans les champs en Afrique subsaharienne seraient d'environ  $8 \text{ kg ha}^{-1}$ , avec une application préférentielle sur les cultures de rente telles que le coton dans le cas d'un pays comme le Burkina Faso (Maatman *et al.*, 2007).

La conséquence visible de ces faibles apports d'intrants est une faiblesse de la production agricole. Par exemple, le rendement moyen des céréales en Afrique subsaharienne serait d'environ  $1 \text{ t ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$  contre 6 à  $7 \text{ t ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$  en Europe et aux Etats Unis (Tittonell et Giller, 2013). Un rendement grain moyen du sorgho d'environ  $0,5 \text{ t ha}^{-1}$  a même été mesuré dans des champs paysans cultivés sur des Lixisols dans le Centre-Ouest du Burkina Faso (Kiba 2012). D'autre part, des bilans négatifs en éléments nutritifs sont très souvent observés en Afrique subsaharienne du fait des pratiques agricoles à faibles apports de nutriments (Smaling *et al.*, 1993; Lesschen *et al.*, 2007). Dans ce contexte, il faut pouvoir exploiter efficacement et durablement les rares sources de nutriments disponibles.

Spécifiquement pour l'azote, la présence d'une légumineuse comme le niébé dans les systèmes de culture pourrait permettre d'augmenter les entrées de N grâce à sa capacité de fixation symbiotique d'azote atmosphérique ( $N_2$ ). Une meilleure compréhension des déterminants de la fixation symbiotique de  $N_2$  dans le niébé dans les conditions de faibles apports de nutriment est donc nécessaire et permettrait d'augmenter les entrées de N via ce processus. Les travaux antérieurs ont montré que le niébé peut fixer des quantités importantes de N pouvant atteindre  $200 \text{ kg N ha}^{-1}$  selon Dakora *et al.* (1987). Des études plus récentes ont donné des proportions et des quantités de N fixées par le niébé qui varient en fonction des variétés cultivées de niébé (Belane et Dakora, 2009; Belane et Dakora, 2010; Belane *et al.*, 2011), et des stratégies de fertilisation pratiquées dans les champs (Bado *et al.*, 2006). En outre, les quantités de N fixées qui reste réellement dans les systèmes de cultures dépendent également des modes de gestion des résidus de récolte. Cependant, les facteurs déterminants les apports de N par cette légumineuse dans les systèmes à faible apports d'intrants restent peu connus. Il est donc important de bien comprendre ces déterminants, et d'identifier les pratiques culturales qui améliorent la fixation de  $N_2$  par le niébé pour mieux en profiter.

Les microorganismes du sol gouvernent la plupart des processus biogéochimiques qui s'y déroulent (Kuzyakov et Blagodatskaya, 2015). Les processus tels que la minéralisation et la libération des nutriments contenus dans les composés organiques du sol ou la solubilisation et la désorption des nutriments fixés aux particules minérales du sol, améliorent la nutrition des plantes en augmentant la disponibilité des nutriments dans le sol. Ces processus sont spécialement plus d'importants dans les systèmes de culture à faible apports d'intrants où les nutriments contenus dans le sol doivent être mobilisés efficacement.

Dans le sol, il y a aussi des pertes de nutriments par volatilisation ou par lessivage. Par exemple, les pertes de N par lessivage ont été estimées à  $10 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$  par Lesschen *et al.*, (2007). L'immobilisation des nutriments dans la biomasse microbienne du sol peut être bénéfique en empêchant ou en réduisant ces pertes, mais peut aussi s'avérer non bénéfique en limitant les prélèvements par les plantes. Il est également connu que les stratégies de fertilisation peuvent induire des limitations en nutriments pour les microorganismes du sol, en modifiant non seulement la taille et l'activité de la biomasse microbienne, mais aussi la structure des communautés microbiennes du sol (Chakraborty *et al.*, 2011; Hu *et al.*, 2011).

Une limitation en un nutriment pour les microorganismes du sol peut affecter la décomposition et la minéralisation de la matière organique du sol, en influençant négativement la formation de biomasse microbienne (Cleveland *et al.*, 2006). De même, une

limitation en nutriments pour le développement de certains groupes de microorganismes spécialisés dans la minéralisation de la matière organique fraîche dans le sol, pourrait compromettre ce processus (Fontaine *et al.*, 2003) qui est important pour l'utilisation par les plantes des nutriments apportés au sol par des amendements organiques.

L'influence des modes de gestion de la fertilité des sols sur les différents aspects des limitations en nutriments pour les microorganismes du sol doit donc être mieux comprise, notamment dans les systèmes à faibles apports de nutriments où les nutriments du sol doivent être mobilisés efficacement. En outre, il est important d'utiliser efficacement les éléments nutritifs, spécialement le N et le P, apportés par divers amendements organiques et minéraux. Pour ce faire, il est nécessaire d'étudier leur devenir dans divers compartiments dans le sol, notamment les compartiments disponibles et microbiens, et leur prélèvement par les plantes. Cela est spécialement important dans un sol où les pratiques agricoles à faibles apports de nutriments auraient entraîné des limitations pour les microorganismes du sol, et certainement influencé la distribution des nutriments dans les différents compartiments du sol.

### Objectifs

L'objectif général est de contribuer à une meilleure compréhension des flux de N et de P dans les systèmes agraires à faibles apports de nutriments, afin de proposer des pistes d'amélioration de l'approvisionnement en éléments nutritifs aux cultures (*via* des sols fertiles et biologiquement actifs). Un aperçu schématique du système étudié ainsi que les liens entre les chapitres est présenté dans la Figure 1. Plus spécifiquement, il s'agit : (i) d'étudier les facteurs déterminant la fixation de N<sub>2</sub> par le niébé (Chapitre I); (ii) d'étudier la limitation en nutriments des microorganismes sur un Lixisol soumis à différents modes de gestion de la fertilité du sol (Chapitre II), et (iii) d'étudier la dynamique des flux de N et P apportés sous forme minérale et organique dans les différents compartiments dans ce Lixisol (Chapitre III).

### Hypothèses

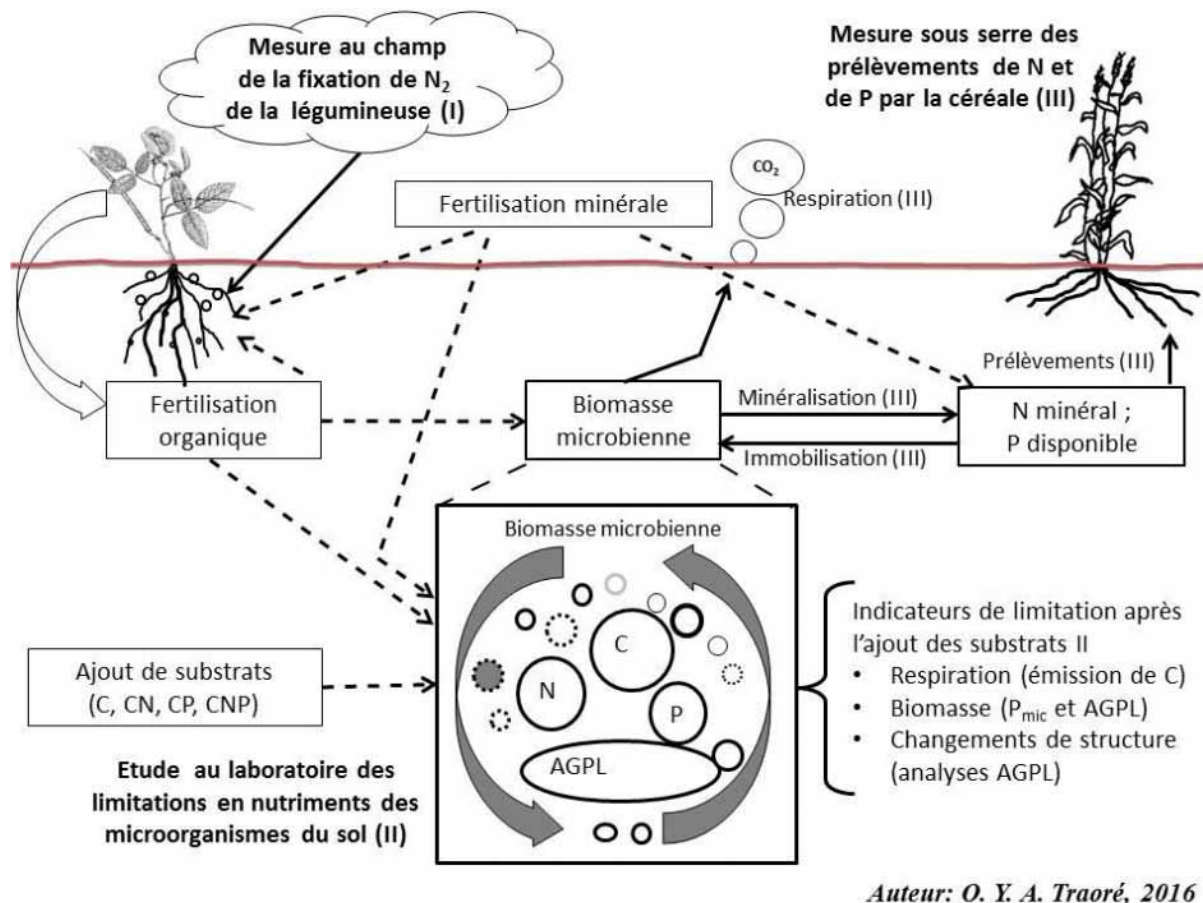
Les principales hypothèses que nous cherchons à vérifier dans cette étude sont les suivantes :

- il existe des facteurs clés sur lesquels on pourrait agir pour augmenter les entrées de N par la fixation symbiotique de N par le niébé, dans les systèmes de culture où cette légumineuse est présente (Chapitre I) ;

- les différentes stratégies de gestion de fertilité des sols incluant l'utilisation des fertilisants minéraux et/ou du fumier, entraînent des limitations en nutriments différentes et plus ou moins sévères pour les microorganismes (Chapitre II) ;
- il y a concurrence entre les plantes et les microorganismes du sol pour le prélèvement des nutriments apportés sous formes diverses (organique ou minérale) et cette concurrence est accrue en conditions de très faibles apports en nutriments (Chapitre III).

### **Démarche**

Notre étude a pour objet principal les sols fortement épuisés en nutriments situés dans la région du Centre-Ouest du Burkina Faso. Nous cherchons premièrement à identifier sur ces sols, les déterminants de la fixation de  $N_2$  par le niébé. Nous évaluons ainsi la fixation de  $N_2$  par cette plante en milieu paysan et en milieu contrôlé, sous différents modes de gestion de la fertilité des sols (Chapitre I). Ensuite, nous étudions les limitations en nutriments pour les microorganismes dans un sol soumis à diverses stratégies de gestions de la fertilité, incluant des apports modérés d'engrais minéraux et / ou de fumier (Chapitre II). Puis, nous étudions le prélèvement par le sorgho du N et du P apportés par divers amendements organiques à un sol ayant de très faibles teneurs en nutriments totaux et disponibles, et le rôle joué par les microorganismes du sol dans ces prélèvements (Chapitre III).



**Figure 1** : Aperçu schématique du système étudié ainsi que des liens entre les chapitres (I ; II et III). Les flèches pleines représentent les processus mesurés tandis que les flèches en pointillées montrent les influences des apports sur les processus mesurés.  $P_{mic}$  = P microbien ; AGPL = Acide gras phospholipide.

## GÉNÉRALITÉS

### Application des méthodes isotopiques dans l'étude des flux de nutriments dans les agroécosystèmes

#### Atome et Isotope

Un atome est la particule élémentaire d'un élément chimique. Il est constitué d'un noyau, autour duquel gravitent des électrons. Le noyau est constitué de protons et de neutrons. Pour un élément chimique donné, le noyau atomique se caractérise par son numéro atomique spécifique désignant le nombre de protons. Un élément chimique donné peut avoir plusieurs isotopes. Selon le dictionnaire Larousse, (<http://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/>) consulté le 08 août 2016, l'isotope désigne « chacun des différents types de noyaux atomiques d'un même élément, différant par leur nombre de neutrons mais ayant le même nombre de protons et d'électrons, et possédant donc les mêmes propriétés chimiques ». Un élément chimique peut avoir un ou plusieurs isotopes stables qui ne subissent pas de désintégration radioactive, et des isotopes radioactifs (instables).

Par exemple l'azote (N) comporte deux isotopes stables dans la nature, dont le  $^{14}\text{N}$  qui est dominant, et le  $^{15}\text{N}$  qui représente 0,36637 % de l'azote total dans l'atmosphère (Hardarson et Danso, 1993). Le phosphore (P) quant à lui comprend un isotope stable (le  $^{31}\text{P}$ ), et deux isotopes instables et radioactifs ( $^{32}\text{P}$  et le  $^{33}\text{P}$ ) qui peuvent être utilisés dans l'étude des systèmes sol-eau-plante, grâce à leurs demi-vies radioactives qui sont de 14,3 jours pour le  $^{32}\text{P}$  et 25,3 jours pour le  $^{33}\text{P}$  (Frossard *et al.*, 2011).

L'émergence des instruments de mesure adaptés ont permis d'appliquer la mesure des isotopes dans de nombreux domaines dont la médecine, l'archéologie, les sciences agronomiques, etc. Le principe de base est le suivi de la composition isotopique d'un élément chimique donné dans différents compartiments du système étudié, pour comprendre ou mesurer des processus impliquant cet élément chimique. L'application des méthodes isotopiques N et P dans les sciences agronomiques permet d'étudier des processus tels que la fixation de N atmosphérique (Unkovich *et al.*, 2008), la minéralisation des nutriments dans le sol (Di *et al.*, 2000), le prélèvement des éléments nutritifs par les plantes et les

microorganismes du sol (Bünemann *et al.*, 2004b; Oberson *et al.*, 2010; Douxchamps *et al.*, 2011), etc.

## Mesure de la fixation symbiotique de N<sub>2</sub> des légumineuses par la méthode de l'abondance naturelle en <sup>15</sup>N

La méthode de l'abondance naturelle en <sup>15</sup>N pour mesurer la fixation symbiotique de l'azote chez les légumineuses se base sur les légères variations de l'abondance naturelle en <sup>15</sup>N qui peuvent se produire dans les fractions d'azote de la biosphère. Ces faibles variations sont exprimées en fonction de l'abondance naturelle en atomes <sup>15</sup>N dans l'azote atmosphérique ( $\delta^{15}\text{N}$ ) comme l'indique l'Equation 1 ci-dessous.

$$\delta^{15}\text{N} = \frac{\% \text{ } ^{15}\text{N}_{\text{échantillon}} - \% \text{ } ^{15}\text{N}_{\text{atmosphère}}}{\% \text{ } ^{15}\text{N}_{\text{atmosphère}}} \times 1000 \quad (1)$$

Par définition, l'atmosphère a un  $\delta^{15}\text{N}$  égal à zéro (0). Le sol a un  $\delta^{15}\text{N}$  positif car enrichi en <sup>15</sup>N par les processus de fractionnement isotopique d'origine biochimique et biologique qui ont lieu dans le sol (Högberg, 1997). De ce fait, sur un même sol, le  $\delta^{15}\text{N}$  d'une plante fixatrice d'azote atmosphérique est inférieur à celui d'une plante non fixatrice. En effet, une partie du N de la plante fixatrice provient de l'atmosphère qui a un  $\delta^{15}\text{N}$  inférieur à celui du sol qui est la seule source de N pour la plante non fixatrice. Le pourcentage d'azote dérivé de l'atmosphère dans la légumineuse (%Nd<sub>fa</sub> pour % *Nitrogen derived from atmosphere*) peut ainsi être calculé en utilisant le  $\delta^{15}\text{N}$  de la légumineuse et celui d'une plante de référence non-fixatrice poussant en même temps dans les mêmes conditions édaphiques (Equation 2) (Unkovich *et al.*, 2008).

$$\% \text{Nd}_{\text{fa}} = \frac{\delta^{15}\text{N}_{\text{plante de référence}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{légumineuse}}}{\delta^{15}\text{N}_{\text{plante de référence}} - B} \times 100 \quad (2)$$

La valeur B représente le  $\delta^{15}\text{N}$  d'une plante de la légumineuse ayant poussé dans les conditions contrôlées en absence totale de toute autre source de N que le N atmosphérique, afin de tenir compte du fractionnement isotopique interne spécifique à la légumineuse.

La méthode de l'abondance naturelle en <sup>15</sup>N a un certain nombre d'avantages. Elle est applicable aussi bien en milieu contrôlé sous serre, qu'en champ expérimental. Elle permet également une mesure de la fixation symbiotique de N<sub>2</sub> dans toutes les situations où la plante fixatrice et la plante non fixatrice poussent simultanément. Elle peut donc être appliquée dans



les champs en milieu paysan (Unkovich *et al.*, 2008). Cependant, elle doit tenir compte de certaines exigences telles que le choix adéquat de la plante non-fixatrice de référence et de la valeur B.

### **Méthodes de marquage isotopique appliquées à la mesure des flux et les transformations de N et de P dans le sol et leur prélèvement dans les plantes**

Les méthodes de marquage isotopique sont des outils importants pour mesurer les taux de transformations de différents éléments nutritifs dans le sol. Ces méthodes permettent de mesurer la libération ou le prélèvement d'un élément nutritif donné dans différents compartiments du sol, et son prélèvement par les plantes (Barracough, 1995; Di *et al.*, 2000). La méthode de dilution isotopique implique le marquage d'un compartiment de nutriment concerné avec un marqueur isotopique, puis la mesure des changements, avec le temps, des quantités du nutriment marqué et de leurs compositions isotopiques dans les différents compartiments du sol. Les flux entrant et sortant du compartiment de nutriment marqué sont alors calculés en utilisant des équations formulées sur la base de la cinétique des marqueurs (Di *et al.*, 2000).

La méthode de traceur

Le niveau de marquage d'un compartiment représente le rapport marqueur (ou traceur) sur élément marqué (ou tracé). Pour les radio-isotopes, ce rapport est exprimé en activité spécifique (AS), qui est la radioactivité par unité de masse du nutriment (en becquerel par microgramme de P ( $\text{Bq } \mu\text{g}^{-1} \text{ P}$ ) pour le P par exemple). Pour les isotopes stables comme le  $^{15}\text{N}$ , le niveau de marquage est exprimé en % d'atomes  $^{15}\text{N}$  en excès par rapport au % d'atomes  $^{15}\text{N}$  du N de l'atmosphère qui est de 0,3663% (Equation 3), ou un autre échantillon non marqué de référence.

$$\% \text{ excès } ^{15}\text{N}_{\text{échantillon}} = \% \text{ atomes } ^{15}\text{N}_{\text{échantillon}} - \% \text{ atomes } ^{15}\text{N}_{\text{air}} \quad (3)$$

Les conditions qui doivent être remplies pour l'application des méthodes de dilution isotopiques ont été énumérées par Di *et al.*, (2000):

1. les isotopes du nutriment étudié se comportent de manière identique lors des processus de transformation dans le sol ;

2. le flux du nutriment entrant dans le compartiment marqué n'est pas lui-même artificiellement marqué, c'est-à-dire n'a pas un niveau de marquage similaire au compartiment marqué ;
3. le niveau de marquage du flux sortant du compartiment marqué est proportionnel à celui du compartiment marqué ;
4. les flux entrant et sortant du compartiment marqué sont constants durant la période pour laquelle ils sont mesurés.

Les techniques de marquage permettent de mesurer les proportions de N et ou de P provenant d'un fertilisant donné, et qui se retrouvent dans différents compartiments du sol. Ces compartiments peuvent être le compartiment disponible (minéral), microbien, la plante, etc. La technique de marquage directe consiste à produire un fertilisant dans lequel l'élément qu'on veut suivre est marqué par son isotope ( $^{15}\text{N}$  pour le N et  $^{32}\text{P}$  ou  $^{33}\text{P}$  pour le P) avec un niveau de marquage connu (% d'atomes  $^{15}\text{N}$  en excès pour le N et Activité Spécifique pour le P), sur un sol qui n'est pas lui-même marqué. Le transfert de nutriment provenant du fertilisant marqué vers d'autres compartiments du sol par les processus de minéralisation et/ou prélèvement, adsorption, s'accompagne également d'un transfert de marquage qui peut alors être quantifié.

La technique de marquage indirect consiste à marquer les compartiments disponibles d'un nutriment dans le sol, et à y apporter un fertilisant non-marqué. La dilution de marquage provoquée par l'application du fertilisant non marqué, permet de calculer les proportions du nutriment dérivées du fertilisant.

De façon générique, le pourcentage de nutriment dérivé du fertilisant dans un compartiment (%Nutriment<sub>dff</sub>), s'exprime comme suit par les équations 1 et 2:

- **Pour la technique de marquage direct**

$$\% \text{ Nutriment}_{\text{dff}} = \frac{\text{Marquage}_{\text{compartiment}}}{\text{Marquage}_{\text{fertilisant}}} \times 100 \quad (4)$$

Où le terme **Marquage** désigne le niveau de marquage, c'est-à-dire le rapport marqueur (ou traceur) sur élément marqué (ou tracé).

- **Pour la technique de marquage indirect**

$$\% \text{ Nutriment}_{\text{dff}} = 1 - \frac{\text{Marquage}_{+F}}{\text{Marquage}_{0F}} \times 100 \quad (5)$$

Où le terme **Marquage**<sub>+F</sub> désigne le niveau de marquage du nutriment étudié dans le sol ayant reçu le fertilisant non marqué, et **Marquage**<sub>0F</sub> le niveau de marquage du nutriment dans un sol témoin n'ayant pas reçu le fertilisant. Le Marquage s'exprimera en % excès <sup>15</sup>N dans le cas où c'est le N qui est marqué au <sup>15</sup>N, et en activité spécifique (AS) lorsque le P est le nutriment marqué avec de la radioactivité provenant du <sup>33</sup>P ou du <sup>32</sup>P.

## Les microorganismes du sol et leurs rôles dans la nutrition des plantes

Le sol est un milieu vivant et complexe, renfermant une multitude d'organismes macroscopiques et microscopiques. Les microorganismes du sol sont composés de bactéries, d'actinomycètes, de champignons, d'algues et de protozoaires. Ils représentent moins de 0,5% du volume total du sol, mais sont responsables de l'essentiel de l'activité biologique du sol (Nielsen *et al.*, 2002). Dans le sol, les microorganismes sont essentiellement concentrés dans les horizons de surface où se trouve la matière organique du sol. Les microorganismes se retrouvent généralement en plus grand nombre près des racines des plantes, où ils trouvent des teneurs élevées de composés organiques exsudés (Massenssini *et al.*, 2014). Les microorganismes du sol sont responsables de nombreux processus clés dans le sol. Ils décomposent et minéralisent la matière organique fraîche (Kuziyakov *et al.*, 2000), contribuent à la structuration des micro-agrégats du sol (Nielsen *et al.*, 2002), et améliorent la nutrition des plantes avec lesquelles ils entretiennent plusieurs types de relations symbiotiques (Unkovich *et al.*, 2008; Miransari, 2010).

Les microorganismes du sol peuvent accroître la disponibilité des nutriments tels que le P et le N pour les plantes à travers la décomposition et la minéralisation de la matière organique (Kuziyakov et Blagodatskaya, 2015), et la solubilisation ou la désorption des éléments minéraux contenus dans les particules minérales du sol (Frossard *et al.*, 2000; Marschner *et al.*, 2011). En retour, les microorganismes prélèvent le carbone (C) et les éléments nutritifs dont ils ont besoin pour leur croissance et pour effectuer ces processus. Une croissance microbienne accompagnée d'une immobilisation de nutriments dans la biomasse microbienne peut se produire en présence de substrats organiques faciles à utiliser par les microorganismes

du sol. Pendant cette phase, les microorganismes sont en concurrence avec les plantes pour le prélèvement des nutriments disponibles du sol. L'immobilisation des nutriments dans la biomasse microbienne du sol a tout de même pour avantage d'éviter les pertes de nutriments par lessivage pour le N (Stockdale *et al.*, 2002), et par fixation physico-chimique sur les particules minérales du sol pour le P (Wu *et al.*, 2007). En outre, les nutriments contenus dans la biomasse microbienne peuvent être ultérieurement disponibles aux plantes après la mort et le recyclage de la biomasse des microorganismes du sol (Marschner *et al.*, 2011).

En plus de la minéralisation de la matière organique, les microorganismes du sol contribuent directement à la nutrition des plantes grâce à des relations symbiotiques avec les plantes. La plus connue de ces relations est la fixation symbiotique d'azote atmosphérique qui est réalisée grâce à la symbiose entre des bactéries appartenant à la famille des rhizobiacées et des légumineuses (Unkovich *et al.*, 2008). Mondialement, la fixation symbiotique d'azote atmosphérique par les légumineuses est estimée à  $21,45 \cdot 10^9$  kg de N par ans (Herridge *et al.*, 2008). La symbiose entre les champignons vésiculaires mycorhiziens permet également aux plantes d'améliorer leur nutrition en certains nutriments peu mobiles dans le sol tels que le P (Marschner *et al.*, 2011) et le zinc (Cavagnaro, 2008), en prolongeant l'exploration du sol par les racines. En retour, les plantes fournissent du carbone aux champignons. Les effets bénéfiques de cette symbiose pour les plantes sont plus importantes dans les sols où la disponibilité des nutriments est plus faible (Aghili *et al.*, 2014). Les champignons vésiculaires mycorhiziens contribuent aussi à la stabilisation des micro-agrégats du sol grâce à leurs hyphes qui produisent des polysaccharides extracellulaires autour desquels s'attachent les microparticules de sol (Tisdall, 1994).

Les modes de gestion de la fertilité des sols influencent la biomasse, l'activité et la structure des communautés de microorganismes du sol, en influençant la disponibilité du carbone et d'autres éléments nutritifs. Dans différents types de sols, l'application d'amendements organiques tels que le fumier ou le compost, augmentent la biomasse microbienne et l'activité enzymatique et respiratoire du sol comparativement à l'application exclusive d'engrais minéraux solubles à l'eau (Ge *et al.*, 2011; Hu *et al.*, 2011). , et résulte aussi en des structures différentes de communautés microbiennes (Zhong *et al.*, 2010). Les stratégies de gestion de la fertilité des sols peuvent entraîner des différences dans la composition des communautés microbiennes du sol, en déterminant la transition réversible entre les états actifs et dormants des différents types de microorganismes de sol (Welbaum *et al.*, 2004).

Le niveau de fertilité des sols et leurs régimes de fertilisations peuvent également entraîner des limitations en C et en nutriments tels que le N et/ou le P pour les microorganismes du sol. La disponibilité d'une source de C facile à utiliser constitue généralement la première limitation pour les microorganismes du sol. Griffiths *et al.*, (2012) ont montré que les microorganismes d'un Gleysol humique étaient plus limités en P dans les parcelles non fertilisées que dans celles recevant du P sur un essai de longue durée en Ireland, et que les différentes doses de P appliquées entraînaient des changements dans la structure des communautés microbiennes. Sur un Ferralsol au Kenya, Ehlers *et al.*, (2010) ont montré que la respiration microbienne était co-limitée par la disponibilité de N et P, mais que la formation de biomasse microbienne était uniquement limitée par le N.

## **CHAPITRE I : Déterminants de la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique en monoculture de niébé (*Vigna unguiculata*) dans le Centre-Ouest du Burkina Faso.**

La partie de ce chapitre relative à la fixation de l'azote atmosphérique du niébé dans l'essai de longue durée Saria, a servi dans la publication suivante :

Frossard E, Buchmann N, Bünemann E K, Kiba D I, Lompo F, Oberson A, Tamburini F, Traoré O Y A (2016) Soil properties and not inputs control carbon : nitrogen : phosphorus ratios in cropped soils in the long term. SOIL 2:83-99 doi:10.5194/soil-2-83-2016

## Résumé

Le niébé (*Vigna unguiculata* L. Walp) est l'une des principales cultures de rente pour les producteurs d'Afrique de l'Ouest. La capacité de cette légumineuse à fixer l'azote atmosphérique ( $N_2$ ) serait une opportunité pour accroître les apports en N à condition de bien comprendre les déterminants de cette fixation dans ces systèmes. Plusieurs facteurs peuvent influencer la fixation d'azote notamment l'aspect variétal, les teneurs en nutriments et les modes de gestion de la fertilité des sols. Cette étude a été conduite dans 33 champs paysans autour de la station de recherche expérimentale de Saria (Centre-Ouest du Burkina Faso) et dans un essai de gestion de la fertilité du sol implanté depuis 1960. Notre objectif principal était d'étudier les facteurs déterminant la fixation de  $N_2$  par le niébé en milieu paysan soumis à la diversité des pratiques, tout en utilisant l'essai de Saria comme modèle offrant plusieurs options de gestion de la fertilité du sol en milieu contrôlé. La méthode de l'abondance naturelle en  $^{15}N$  a été utilisée pour mesurer le pourcentage de N dérivant de l'atmosphère (%Ndfa) dans le niébé. Des enquêtes auprès des paysans ont fourni des informations sur leurs pratiques culturales. Des échantillons de sol ont été prélevés sur l'horizon 0-10 cm dans l'essai de Saria et dans les champs paysans, pour une caractérisation chimique. Dans les champs paysans, les apports modérés de N minéral ont eu un effet « starter » sur le %Ndfa mesuré dans la biomasse aérienne du niébé qui a varié de 21 à 98% et qui était significativement influencé par le type de variété cultivé. Les quantités de N fixées étaient déterminées par le P disponible du sol, et les quantités de N et de P apportées par les engrais minéraux. Les bilans Sol-Surface (bilan partiel) de N sous culture du niébé ont été légèrement positifs dans la plupart des champs paysans, et sont très influencés par la gestion des résidus de récolte du niébé qui constituent en moyenne 70% des exportations de N. Une amélioration de la nutrition en P du niébé par l'application d'engrais minéraux et une bonne gestion des résidus de récoltes permettent d'accroître les entrées de N par la fixation de  $N_2$  du niébé dans les sols épuisés en nutriments du Centre-Ouest du Burkina Faso.

**Mots clés :** Niébé ; Abondance naturelle en  $^{15}N$  ; Fixation d'azote ; Pratiques paysannes, Gestion de la fertilité du sol.

## I.1 Introduction

La baisse de la fertilité des terres est la contrainte majeure de la production d'aliment par habitant en Afrique subsaharienne (Sanchez *et al.*, 1997). Le plateau central du Burkina Faso est typique des régions semi-arides d'Afrique de l'Ouest, où les paysans font face à la baisse continue de la fertilité des sols à cause de l'inaccessibilité économique des fertilisants minéraux, la rareté des amendements organiques, et l'exploitation continue des terres. Cette baisse de fertilité des sols se caractérise par des bilans négatifs des nutriments majeurs tels que l'azote (N) et le phosphore (P) dans les systèmes agricoles à base de céréales (Lesschen *et al.*, 2007). Les Acrisols ferriques de cette région contiennent environ 10 g kg<sup>-1</sup> de C total, et moins de 1 g kg<sup>-1</sup> de N total (Pallo *et al.*, 2009b), environ 200 mg kg<sup>-1</sup> de P total et moins de 5 mg kg<sup>-1</sup> de P Bray I (Compaoré *et al.*, 2003). La présence des légumineuses dans les systèmes agricoles dans cette région pourrait être une opportunité pour augmenter les entrées de N dans les systèmes de cultures à faible apport de nutriments, grâce à la capacité de ces plantes à fixer l'azote atmosphérique en symbiose avec les *Rhizobiaceae* du sol (Vance, 2001).

Le niébé est l'une des principales légumineuses d'importance nutritionnelle et économique pour les populations des régions semi-arides d'Afrique subsaharienne. Selon la FAO, (2015), en 2014 environ 80% de la production mondiale de niébé était réalisée en Afrique de l'Ouest où il est très présent dans les systèmes de cultures en association et/ou en rotation avec les céréales telles que le sorgho ou le mil. Le niébé joue un rôle essentiel dans la vie de millions de personnes en Afrique subsaharienne où il est une source majeure de protéines pour les hommes et le bétail. Les fanes de niébés qui constituent également un fourrage de qualité pour les animaux (Singh et Usha, 2003), sont généralement exportées des champs et utilisées pour nourrir le bétail. Le niébé est ainsi une culture de rente dont les revenus dérivés de la vente permet aux petites exploitations d'acheter les céréales pendant la période de soudure (Zoundi *et al.*, 2007).

Sur le plan agronomique, en plus de sa bonne adaptation aux conditions de sécheresse (Sinclair *et al.*, 2015) et de sa tolérance aux faibles niveaux de fertilité du sol (Snapp et Silim, 2002), la capacité de fixation de N<sub>2</sub> du niébé en fait une légumineuse idéale pour les systèmes de culture des régions semi-arides comme le plateau central du Burkina Faso, où les apports de fertilisants sont limités.

La majorité des études portant sur la fixation de N<sub>2</sub> du niébé s'est focalisée soit sur les aspects variétaux, ou au mieux sur la combinaison de l'aspect variétal et l'effet d'un élément nutritif



spécifique en vue d'une sélection adaptative, essentiellement effectuée en milieu contrôlé (Singh et Usha, 2003; Jemo *et al.*, 2006; Alkama *et al.*, 2009; Belane *et al.*, 2011; Egbe et Egbo, 2011; Sinclair *et al.*, 2015). Pourtant, cette fixation résulte de la combinaison de plusieurs facteurs dont la disponibilité en nutriments et du sol et du niveau de fertilisation (Maistry *et al.*, 2013; Ahamefule *et al.*, 2014), variété (Alkama *et al.*, 2009; Belane et Dakora, 2009; Naab *et al.*, 2009), la densité de semis (Makoi *et al.*, 2009), etc. qui peuvent s'avérer très divers en milieu paysan. Une bonne compréhension des déterminants de la fixation de  $N_2$  du niébé en milieu paysan est donc nécessaire pour améliorer la contribution de cette légumineuse aux apports de N dans ces systèmes agraires à faible niveau de nutriment. En outre, la méthode de l'abondance naturelle en  $^{15}N$  (Shearer et Kohl, 1986) est facile à appliquer en plein champ et permet une estimation précise des proportions de  $N_2$  fixées par les légumineuses (Unkovich *et al.*, 2008).

Une approche consisterait à étudier la fixation symbiotique de  $N_2$  par le niébé dans des champs paysans soumis à une diversité de pratiques culturales et de comparer cette fixation à celle mesurée dans des conditions de gestion de sol et de pratiques de fertilisation contrôlées pour identifier les potentialités et les contraintes liées à cette fixation.

Dans ce chapitre, notre objectif principal est d'étudier les facteurs déterminant la fixation de  $N_2$  par le niébé en milieu paysan soumis à une diversité de pratiques culturales. Afin de mieux identifier l'importance de la gestion de la fertilité des sols, la rotation sorgho-niébé de l'essai de Saria est utilisé comme modèle car quelques options de gestion de la fertilité des sols y sont testées de manière contrôlée depuis sa mise en place en 1960 (Pieri, 1989).

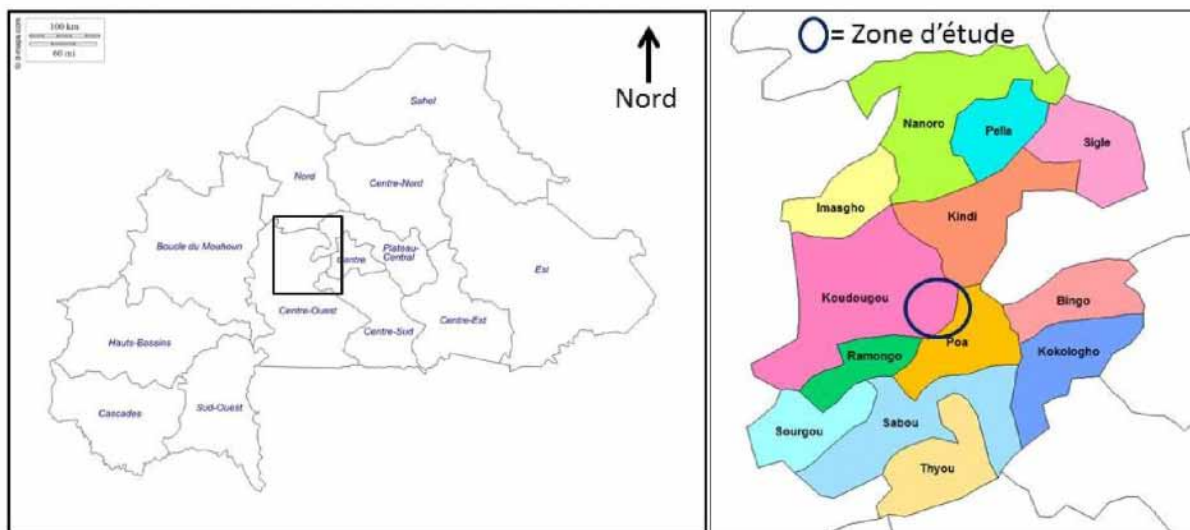
Il s'agit spécifiquement de i) mesurer et comparer les proportions et les quantités de N fixées par le niébé en milieu paysan à celles obtenues sous différents régimes de fertilisation dans l'essai de Saria ; ii) identifier les facteurs déterminants la fixation de  $N_2$  en milieu paysan et iii) mesurer la contribution du niébé dans les apports en N en calculant les bilans de surface du N sous culture de niébé.

Nous faisons l'hypothèse que 1) les facteurs liés à la fertilité du sol seront plus déterminants que la variété sur le %Ndfa du niébé en milieu paysan à cause de la faible disponibilité en nutriments N et P des sols; 2) les quantités de N fixées ( $kg\ ha^{-1}$ ) seront hautement dépendantes des apports en nutriments, notamment en P qui est une contrainte majeure de la production de biomasse dans ces sols.

## I.2 Matériels et Méthodes

### I.2.1 Description du site d'étude

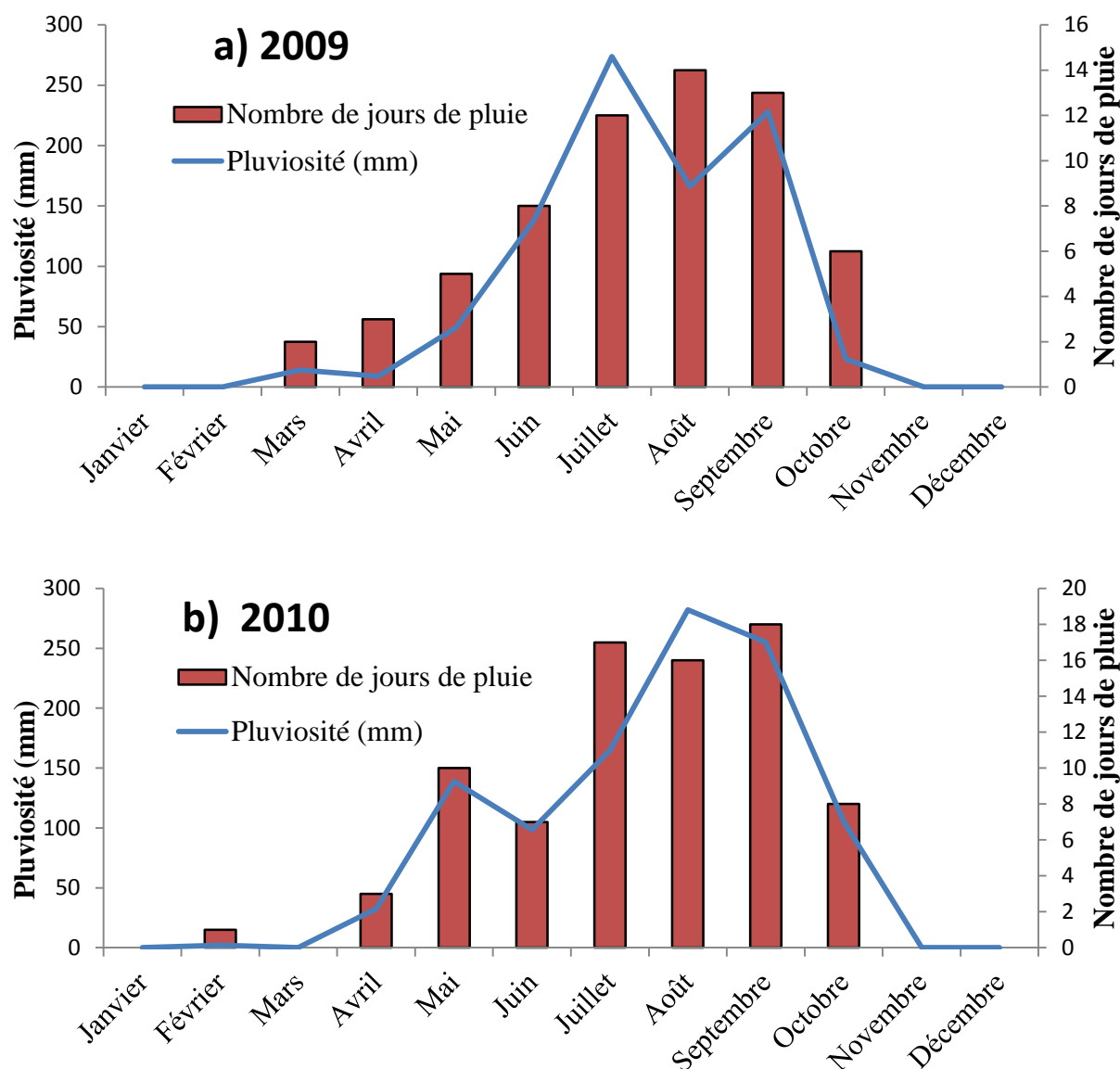
L'étude a été conduite dans 33 champs paysans repartis dans un rayon de 5 km de la station de recherche de l'Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles basée à Saria, (INREA-Saria) dans le Centre-Ouest du Burkina Faso (altitude : 300m, latitude : 12°16N, longitude : 2°9W), et dans l'essai entretient de la fertilité des sols localisé à l'intérieur de la station de recherche de Saria (Figure I-1).



**Figure I- 1 :** Carte du Burkina Faso et localisation de la zone d'étude dans la région du Centre-Ouest du Burkina Faso

Les sols dominants de cette région sont des Lixisols ferriques (FAO, 2006) caractérisés par une texture sableuse et une structure fragile. Ces sols sont fortement altérés avec des faibles teneurs en matière organique, et en nutriments disponibles. Sous jachère de longue durée, ces sols contiennent environ 9 g kg<sup>-1</sup> de C total, 200 mg kg<sup>-1</sup> et 4 mg kg<sup>-1</sup> de P Bray-1 (extrait avec du 0,05 M HCl + du 0,03M NH<sub>4</sub>F (Bray et Kurtz, 1945), et 4 cmol kg<sup>-1</sup> de capacité d'échange cationique (Compaoré *et al.*, 2003). Le climat dans la région est semi-aride selon la classification Köppen-Geiger (Peel *et al.*, 2007). La température minimale dans cette région est d'environ 18°C en décembre, et la maximale atteint 45°C en avril. Les précipitations annuelles mesurées à Saria sont d'environ 800 mm (moyenne de 1971 à 2000) avec une distribution monomodale de mai à octobre (Figure I-2). Les mois les plus pluvieux sont juillet et août, mais les précipitations sont souvent irrégulièrement distribuées dans le temps et dans l'espace. Les travaux se sont déroulés dans l'essai de Saria en 2009 et dans les champs

paysans en 2010. La pluviosité relevée entre Mai et Octobre dans la station de Saria, était de 879 mm en 2009 et de 1045 mm en 2010.



**Figure I- 2 :** Pluviosité mensuelle et nombre de jours de pluies par mois mesurés dans la station de recherche de Saria (centre ouest du Burkina Faso) en 2002 (a) et en 2010 (b)

### I.2.2 Choix des champs paysans

Nous avons sélectionné en 2010, trente-trois (33) champs de niébé en monoculture appartenant chacun à un ménage agricole parmi un échantillon de 167 ménages dont la diversité des conditions socioéconomiques et des pratiques agricoles avaient été étudiées en 2009 par Kiba, (2012). Ces champs correspondent à peu près aux 20% de monoculture de niébé observés dans l'échantillon de Kiba (2012).

Les informations sur la superficie du champ, la variété de niébé cultivée, les quantités et les types de fertilisants apportés, le type de travail du sol, la protection des cultures, etc. ont été obtenues auprès de l'exploitant. Les doses de N et P (en  $\text{kg ha}^{-1}$ ) apportées dans les champs par les engrais minéraux solubles dans l'eau ont été calculées en rapportant les quantités déclarées par les paysans à la superficie du champ, en tenant compte de la proportion des nutriments (N et/ou P) contenu dans le type de fertilisant apporté (urée à 46% de N; complexe N-P-K à 14% de N, 23% de  $\text{P}_2\text{O}_5$  et 14% de  $\text{K}_2\text{O}$ ). La variété de niébé cultivée dans les champs a aussi été vérifiée avec l'aide des sélectionneurs de la station de recherche de Saria.

### I.2.3 L'essai de longue durée de Saria

L'essai entretien de la fertilité de Saria (photos en annexe 1), a été implanté en 1960 afin de tester l'impact de différents modes de fertilisation et de rotations culturales sur l'évolution à long-terme de la fertilité des sols et des rendements des cultures (Pieri, 1989). Cet essai a été décrit par plusieurs auteurs (Sedogo, 1993; Hien, 2004; Kiba, 2012; Frossard *et al.*, 2016). L'essai a été établi sur un sol à pente faible, et développé sur un matériau parental granitique du Précambrien (Frossard *et al.*, 2016). Le sol de l'essai a été classifié comme étant un Acrisol Ferrique par Hien (2004). Les 10 premiers cm du profil du sol contiennent 12% d'argile, 26% de limons et 62% de sable, avec la fraction argileuse dominée par la kaolinite, tandis que la minéralogie totale est dominée par du quartz (Hien, 2004). Le dispositif de l'essai est un block complètement randomisé avec six pratiques de fertilisation du sol en six répétitions (Sedogo, 1993; Hien, 2004; Lompo, 2009). Les rotations testées sont la monoculture continue de sorgho, la rotation sorgho-coton dans laquelle une monoculture de sorgho est suivie d'une monoculture de coton l'année d'après, et la rotation sorgho-niébé dans laquelle la monoculture de sorgho est alternée par celle du niébé l'année qui suit. Aucune inoculation de rhizobium n'est effectuée pendant la culture du niébé. La rotation sorgho-niébé a été utilisée pour notre étude avec le niébé qui était cultivée en 2009 sur les traitements de fertilisation suivants.

- **Témoin (Te)** : ne recevant aucune application de fertilisants ;
- **fmo** : faible dose de fertilisants minéraux (en  $\text{kg ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$ : 37 N, 10 P, 11.6 K) + application de fumier à la dose de  $5 \text{ t ha}^{-1} \text{ 2 an}^{-1}$ .
- **fm** : faible dose de fertilisants minéraux (en  $\text{kg ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$ : 37 N, 10 P, 11.6 K)

- **FMO** : forte dose de fertilisants minéraux (en kg ha<sup>-1</sup> an<sup>-1</sup>: 60 N, 10P, 36.5 K) + application de fumier à la dose de 40 t ha<sup>-1</sup> 2 an<sup>-1</sup>.
- **FM** : forte dose de fertilisants minéraux (en kg ha<sup>-1</sup> an<sup>-1</sup>: 60 N, 10 P, 36.5 K)

Le fumier est appliqué tous les deux ans correspondant à l'année de culture de sorgho sur l'essai. Ce fumier est produit dans l'étable de la station à partir de la bouse de vache collectée et stockée dans une fosse fumièr. Un échantillon du fumier produit dans la station en 2010 contenait (en g kg<sup>-1</sup> ± déviation standard) 191±2 C, 16,4±0,1 N et 3,9±0,1 P. Il est à noter que les doses de la fréquence des apports de fumier dans les traitements fmo et FMO ont été maintenues constantes depuis 1976, mais ont varié avant (de 1960 à 1976 fmo recevait 5 t ha<sup>-1</sup> an<sup>-1</sup> de fumier ; FMO recevait 5 t ha<sup>-1</sup> an<sup>-1</sup> de fumier de 1960 à 1963, puis 40 t ha<sup>-1</sup> an<sup>-1</sup> de fumier jusqu'en 1976). De même, la rotation sorgho niébé a débuté en 1976 et était précédée avant cette date, par une rotation sorgho-arachide.

Chaque année au début de la saison pluvieuse, les parcelles de tous les traitements de l'essai sont labourées à environ 15-20 cm de profondeur. Lorsque le fumier est apporté dans les traitements concernés, le labour est effectué après l'application du fumier pour l'enfouir au sol. Les fertilisants minéraux sont appliquées au semis dans les traitements concernés sous forme d'engrais composé N-P-K (14, 23, 14% de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, K<sub>2</sub>O, respectivement) et de chlorure de potassium (KCl), et recouverts à l'aide de la charrue. La dose de N est complétée avec l'application d'urée (à 46% de N) à la période montaison / floraison, en couplant cette application avec l'opération de sarclage pour permettre l'enfouissement de l'urée. La variété de niébé K VX 396 4 5 2-D est cultivée à la densité de 62500 plantes par hectare (0,8 m entre lignes de semis, 0,4 m entre poquets et 2 plantes par poquets). Si nécessaire, des traitements insecticides (2 au maximum) sont effectués sur le niébé à la période de floraison initiation des gousses pour lutter contre les attaques des insectes piqueurs suceurs.

#### **I.2.4 Mesure de la fixation symbiotique de N<sub>2</sub>**

Les proportions de N provenant de l'atmosphère (%Ndfa) dans le niébé ont été mesurées en utilisant la méthode de l'abondance naturelle en <sup>15</sup>N (Shearer et Kohl, 1986) qui est basée sur la légère différence naturelle entre l'abondance en <sup>15</sup>N du sol et de l'atmosphère. Cette méthode requière la présence d'une plante non fixatrice de N<sub>2</sub> utilisée comme plante de référence, poussant au même moment dans le même sol que la légumineuse dont on mesure la fixation de N<sub>2</sub>.

Dans les champs paysans, une parcelle de 4m x 8m correspondant à la superficie élémentaire des parcelles de l'essai de Saria a été implantée avant la première opération de sarclage. Une surface d'environ 0.1 m<sup>2</sup> a été délimitée dans chacun des quatre coins de la parcelle délimitée et les mauvaises herbes non fixatrices de N<sub>2</sub> appartenant à la famille des poacées (*Cynodone dactylone*, *Rottboellia cochinchinensis* ou *Setaria pallide-fuscas*) ont été préservées par les paysans pendant les sarclages pour servir de plantes de référence. Le rendement graines et fanes ainsi que la densité de plantes dans les champs paysans ont été évaluées dans ces placettes.

Dans l'essai de Saria, quatre graines de sorgho ont été semées, une dans chaque coin de chaque parcelle élémentaire. En plus, une monocotylédone herbacée (*Cynodon dactylon*), présente dans les parcelles étudiées a été identifiée à côté du sorgho semé dans chaque coin des parcelles élémentaires. Ces plantes non fixatrices ont été étiquetées pour éviter qu'elles ne soient pas enlevées pendant les opérations de sarclage.

### **I.2.5 Echantillonnage des plantes**

Au stade de floraison initiation des gousses, la partie aérienne d'une plante de niébé a été échantillonnée à moins de 50 cm de chacun des quatre coins de la placette mise dans chaque champ paysan, et de chaque parcelle élémentaire de l'essai de Saria.

Dans les champs paysans, la partie aérienne d'une plante de référence sauvegardée dans le coin de la placette a également été échantillonnée pour former un couple niébé-plante de référence dans les quatre angles de chaque placette.

Dans l'essai de Saria, il est parfois arrivé que le sorgho et la mauvaise herbe épargnée ne survivent pas tous ensemble dans les quatre coins de chaque parcelle élémentaire. Cependant, il était possible d'échantillonner soit la plante de sorgho, soit la mauvaise herbe, ou parfois séparément les deux dans chaque coin.

A la maturité du niébé, les graines et la biomasse aérienne ont été récoltées et échantillonnées aussi bien dans les champs paysans que dans l'essai de Saria. Toutes les plantes échantillonnées ont été séchées à l'air libre et à température ambiante (environ 28-30 °C) pendant trois semaines dans la station de recherche de Saria, puis conditionnées dans des sacs en plastique et envoyées en Suisse pour les analyses chimiques.

### **I.2.6 Détermination de la discrimination spécifique du $^{15}\text{N}$ dans le niébé (valeur B)**

Les valeurs B, c'est -à-dire le fractionnement du  $^{15}\text{N}$  pendant la fixation de  $\text{N}_2$  dans les variétés de niébé rencontrées dans l'étude, ont été déterminées dans une expérience en pot en conditions contrôlées sous serre à l'ETH Zurich, Suisse (25-28 °C de température jour-nuit, 70% d'humidité relative de l'air et 12 heures de lumière par jour) en appliquant la méthode décrite par Unkovich *et al.*, (2008). Les graines de niébé ont été stérilisées en surface par une première immersion pendant 4 minutes dans une solution d'éthanol à 70%, suivi de rinçage à l'eau ultra-pure, et d'une seconde immersion pendant une minute dans une solution de 1%  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Les graines ont été ensuite rincées plusieurs fois avec de l'eau ultra-pure et séchées délicatement dans du papier buvard. Les graines ont ensuite été mises à germer en serre dans des pots contenant du sable (0,7-1,2 mm de taille) qui a été préalablement lavé avec de l'eau osmosée et inoculé avec 5 ml d'une suspension 1:10 (w:w) de sol : eau filtrée à 20  $\mu\text{m}$  par un filtre (Retsch, Germany). On avait six (6) pots pour chaque variété de niébé. La suspension de sol utilisée comme inoculant avait été obtenue d'un mélange de sols prélevés dans plusieurs champs paysans.

Après la germination, deux plantes vigoureuses au stade deux-feuilles bien développées ont été transplantées dans un pot de deux litres contenant du sable (0,7-1,2 mm de taille) lavé à l'eau osmosée. Le pot a ensuite subi une inoculation additionnelle avec 1 ml de suspension de sol filtrée. Les plantes ont poussé pendant 8 semaines et ont été arrosées quotidiennement avec une solution nutritive sans N. Cette solution nutritive a été préparée selon Unkovich *et al.*, (1994). La biomasse aérienne des plantes a été récoltée après huit semaines, à l'initiation de la floraison.

### **I.2.7 Prélèvement des échantillons de sol**

Les échantillons de sol ont été prélevés pendant la période de croissance du niébé dans les champs, sur l'horizon 0-10 cm en 10 points des parcelles aussi bien dans l'essai de Saria qu'en milieu paysan. Les échantillons de sol ont également été séchés à température ambiante pendant trois semaines, tamisés à 2 mm puis conditionnés et envoyés en Suisse pour les analyses chimiques.

### I.2.8 Analyses de sols et de plantes

Les échantillons de plantes séchées ont été broyés en poudre fine à l'aide d'un broyeur ultra-centrifuge (ZM 200, Retsch, Germany), et mis dans ces capsules en étain pour les analyses de  $\delta^{15}\text{N}$ . Le  $\delta^{15}\text{N}$  des échantillons de plantes prélevés au stade de floraison initiation des gousses ont été déterminés à l'aide d'un analyseur CNS Thermo Electron FlashEA 1112 series couplé en flot continu avec spectromètre de masse Thermo-Fisher MAT 253, Germany. Les échantillons de sol ont été pulvérisés à l'aide d'un broyeur rotatif à bille (Fritsch, Germany) puis encapsulés comme les échantillons de plantes pour les analyses de C et N total. La teneur en N total des végétaux (graines, biomasse aérienne...) et le C et N total des sols ont tous été déterminés à l'aide d'un analyseur CNS Thermo Electron FlashEA 1112 series. Le principe de ces analyses est que les échantillons encapsulés subissent une combustion à sec qui permet la transformation du carbone en  $\text{CO}_2$  et de l'azote en  $\text{N}_2$  à l'issue de laquelle les gaz émis ( $\text{CO}_2$  et  $\text{N}_2$ ) par les échantillons sont détectés dans le spectromètre de masse, et leurs comparaison à un échantillon de référence permet de déterminer les teneurs en C et en N. Le  $\delta^{15}\text{N}$  quant à lui est mesuré dans le spectromètre de masse en utilisant aussi des échantillons de référence.

Le P disponible du sol a été déterminé en utilisant la méthode des résines échangeuses d'anions saturées avec ions  $\text{HCO}_3^{2-}$  ( $\text{P}_{\text{résine}}$ ) sur 2 g de sol sec tamisé à 2 mm. Cette méthode donne des valeurs de P disponible très bien corrélées avec le prélèvement de P par les cultures (Qian *et al.*, 1992). Le pH eau du sol a été mesuré sur des échantillons de sols sec tamisé à 2 mm, en utilisant un pH mètre ORION modèle 720, sur une suspension de sol de rapport sol : eau de 1 :2,5 après agitation à 160 vas-et-viens par minute durant 16 heures.

### I.2.9 Calculs et analyses statistiques

#### I.2.9.1 Calcul des valeurs B

La valeur B de la biomasse aérienne a été calculée en corrigeant le N total et le  $\delta^{15}\text{N}$  avec le N et le  $\delta^{15}\text{N}$  des graines selon Okito *et al.*, (2004) suivant l'équation I-1:

$$B = \frac{(N_{\text{plante}} \times \delta^{15}\text{N}_{\text{plante}}) - (N_{\text{semence}} \times 0,5 \delta^{15}\text{N}_{\text{semence}})}{(N_{\text{plante}} - 0,5 \times N_{\text{semence}})} \quad (\text{I-1})$$

Où  $N_{\text{plante}}$  et  $\delta^{15}\text{N}_{\text{plante}}$  sont respectivement la quantité totale de N et le  $\delta^{15}\text{N}$  du N retrouvés dans la biomasse aérienne (tige et feuilles) de la plante et  $N_{\text{semence}}$  et  $\delta^{15}\text{N}_{\text{semence}}$  représentent



respectivement la quantité de N et le  $\delta^{15}\text{N}$  du N des semences des différentes variétés de niébé. Le facteur 0,5 correspond à la proportion de N de la semence qui est supposée avoir été incorporée dans la biomasse aérienne du niébé. Cependant, sur les six répétitions par variété, seulement les trois pots ayant présenté la plus grande quantité de N total trouvé dans la biomasse aérienne ont été retenus pour les calculs de  $^{15}\text{N}$ , car c'est seulement des légumineuses les mieux développées que nous pouvons attendre une fixation active de  $\text{N}_2$  (Unkovich et Pate, 2000).

### ***1.2.9.2 Calcul des %Ndfa, et des quantités de N fixées par le niébé***

Dans notre étude, le %Ndfa a été calculé sur la plante de niébé prélevée dans chacun des quatre coins des parcelles de l'essai et des placettes des champs paysans, en utilisant le couple de niébé-plante de référence selon Shearer et Kohl, (1986) (Equation I-2).

$$\% \text{Ndfa} = \frac{\delta^{15}\text{N}_{\text{plante de référence}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{niébé}}}{\delta^{15}\text{N}_{\text{plante de référence}} - \text{B}} \times 100 \quad (\text{I-2})$$

Où B est la discrimination isotopique spécifique à la variété de niébé durant la fixation de  $\text{N}_2$ .

Dans l'essai de Saria, le  $\delta^{15}\text{N}$  de la plante de référence ( $\delta^{15}\text{N}_{\text{plante de référence}}$ ) a été calculé pour chacun des quatre coins des parcelles en faisant la moyenne du  $\delta^{15}\text{N}$  du sorgho et de la mauvaise herbe ou en prenant le  $\delta^{15}\text{N}$  de l'une des deux plantes non fixatrices présentes lorsque les deux n'étaient présentes à la fois. Les  $\delta^{15}\text{N}$  des plantes de référence, du niébé, et le %Ndfa de chaque champ paysan et de chaque parcelle de l'essai de Saria, ont été obtenus en faisant la moyenne des valeurs obtenues dans les quatre coins des parcelles ou des placettes. Les valeurs de  $\delta^{15}\text{N}$  et de %Ndfa présentées pour chaque traitement de l'essai de Saria ont été calculées comme étant la moyenne des valeurs calculées sur les six répétitions de chaque traitement.

La quantité de N fixée dans la biomasse aérienne (graine + fanes) (N-fixé en  $\text{kg N ha}^{-1}$ ) dans chaque parcelle a été calculée en multipliant le %Ndfa par la quantité totale de N mesurée dans la biomasse aérienne ( $\text{N}_{\text{graines}} + \text{N}_{\text{fanés}}$ ) (en  $\text{kg N ha}^{-1}$ ) à la récolte (Equation I-3).

$$\text{N-fixé (kg N ha}^{-1}\text{)} = \frac{\% \text{Ndfa} \times (\text{N}_{\text{graines}} + \text{N}_{\text{fanés}})}{100} \quad (\text{I-3})$$

### 1.2.9.3 Calcul du bilan en N

Le bilan de surface en N a été calculé à l'échelle de l'hectare de monoculture de niébé sur une saison de culture, suivant l'approche définie par Oenema *et al.*, (2003). L'estimation du N apporté par le fumier a été faite en utilisant la teneur en N de l'échantillon de fumier prélevé dans la station de recherche en 2010. Nous n'avons pas tenu compte des entrées de N par les dépôts par les poussières provenant de l'harmattan ou des pluies, et des pertes de N par volatilisation ou par lixiviation. Le bilan se calcule ainsi en suivant l'Equation I-4:

$$\text{Bilan N (kg ha}^{-1}\text{)} = N_{\text{apporté}} - N_{\text{exporté}} = (N_{\text{total fixé}} + N_{\text{fert}} + N_{\text{semence}}) - (N_{\text{graine}} + N_{\text{fanes}}) \quad (\text{I-4})$$

Où  $N_{\text{total fixé}}$  représente la quantité totale de N fixée dans la biomasse aérienne et racinaire. Le N total fixé a été calculé en assumant que le N de la partie aérienne de la légumineuse (graines et fanes) représente 70% du N total de la légumineuse (Herridge *et al.*, 2008), c'est-à-dire que le N de la partie souterraine de la légumineuse représente 43% du N de la partie aérienne. Nous avons également supposé que le % de Ndfa dans la biomasse souterraine est similaire à celui mesuré dans la biomasse aérienne. Le  $N_{\text{fert}}$  est la quantité de N apportée (en  $\text{kg ha}^{-1}$ ) par le fumier et les engrais minéraux solubles à l'eau. Le N apporté par les semences ( $N_{\text{semence}}$ ) a été calculé comme le produit de la teneur moyenne en N des graines de niébé par la densité de semis en considérant que la densité de semis équivaut à celle des plantes (Frossard *et al.*, 2016). La quantité totale de N exportée représente la quantité totale de N récoltée dans la biomasse aérienne ( $N_{\text{graines}} + N_{\text{fanes}}$ ) car les graines et les fanes sont tous exportés du champ à la récolte.

### 1.2.9.4 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel SPSS Statistics 17.0. Les données de l'essai de Saria qui n'étaient pas distribuées selon la loi normale ont été transformées. Ensuite, des analyses de variance (ANOVA) suivies de comparaisons avec le test de haute différence de Tukey ont été effectuées. Les valeurs de %Ndfa ont subi une transformation Arc-sin et les rendements (en  $\text{t ha}^{-1}$ ) une transformation ln avant les ANOVA. Les données des champs paysans n'étant pas appariés, et ne suivant pas les exigences de l'application d'une ANOVA ont subi une analyse non-paramétrique, et l'effet du type de variété (Introduites versus Locales) a été mesuré par le test de Kruskal-Wallis au seuil de probabilité de  $p < 0,05$ . Ces données ont été présentées en utilisant des box-plots qui montrent des valeurs statistiques repères tels que les 10<sup>ème</sup> et 90<sup>ème</sup> percentiles, les 1<sup>ier</sup> et 3<sup>ème</sup> quartiles, la médiane et la moyenne.

Des régressions linéaires multiples ont été effectuées pour identifier les facteurs déterminant premièrement le %Ndfa et deuxièmement la quantité de N fixée dans la biomasse aérienne du niébé (N-fixé) dans les champs paysans, en utilisant deux catégories de variables explicatives. La première catégorie regroupe les variables explicatives relevant des caractéristiques chimiques de sol qui sont indicatives sur la disponibilité des nutriments du sol (N total, P résine et pH du sol). La seconde catégorie de variables explicatives regroupe les variables relevant des choix des producteurs. Cette catégorie comporte des variables quantitatives (quantités de N et de P apportées sous forme d'engrais minéraux, la densité de semis, le nombre de traitements insecticide, le nombre de sarclages), et des variables qualitatives (le précédent cultural, le type de travail du sol effectué, et le type de variété de niébé semé). Les variables qualitatives liées au travail du sol, au précédent cultural et au type de variété cultivé ont été codées. Le type de travail du sol a été codé en fonction de son intensité comme suit : 0 pour le semi-direct, 1 pour le grattage superficiel du sol, 2 pour le billonnage et 3 pour le labour. Le type de précédent cultural a été codé 1 pour précédent légumineuse, 2 pour précédent céréale et 3 pour précédent jachère en fonction de l'effet attendu sur le %Ndfa. Le type de variété de niébé cultivé ont été codés 1 pour les variétés locales, et 2 pour les variétés introduites.

Les résultats des modèles de régression ont été présentés sous forme de tableaux indiquant le coefficient de régression spécifique à chaque variable (noté  $b$ ), le coefficient de régression standardisé spécifique à chaque variable (noté  $\beta$ ) ainsi que le coefficient de corrélation de Pearson entre chaque variable explicative et la variable expliquée dans le modèle (le %Ndfa ou le N-fixé). Ainsi pour les deux catégories de variables explicatives, les variables expliquées s'expriment comme suit :

$$\text{Variable expliquée} = b_1 \times v_1 + b_2 \times v_2 + \dots + b_n \times v_n + \text{constante.}$$

Où  $b$  représente le coefficient de régression de la variable explicative.

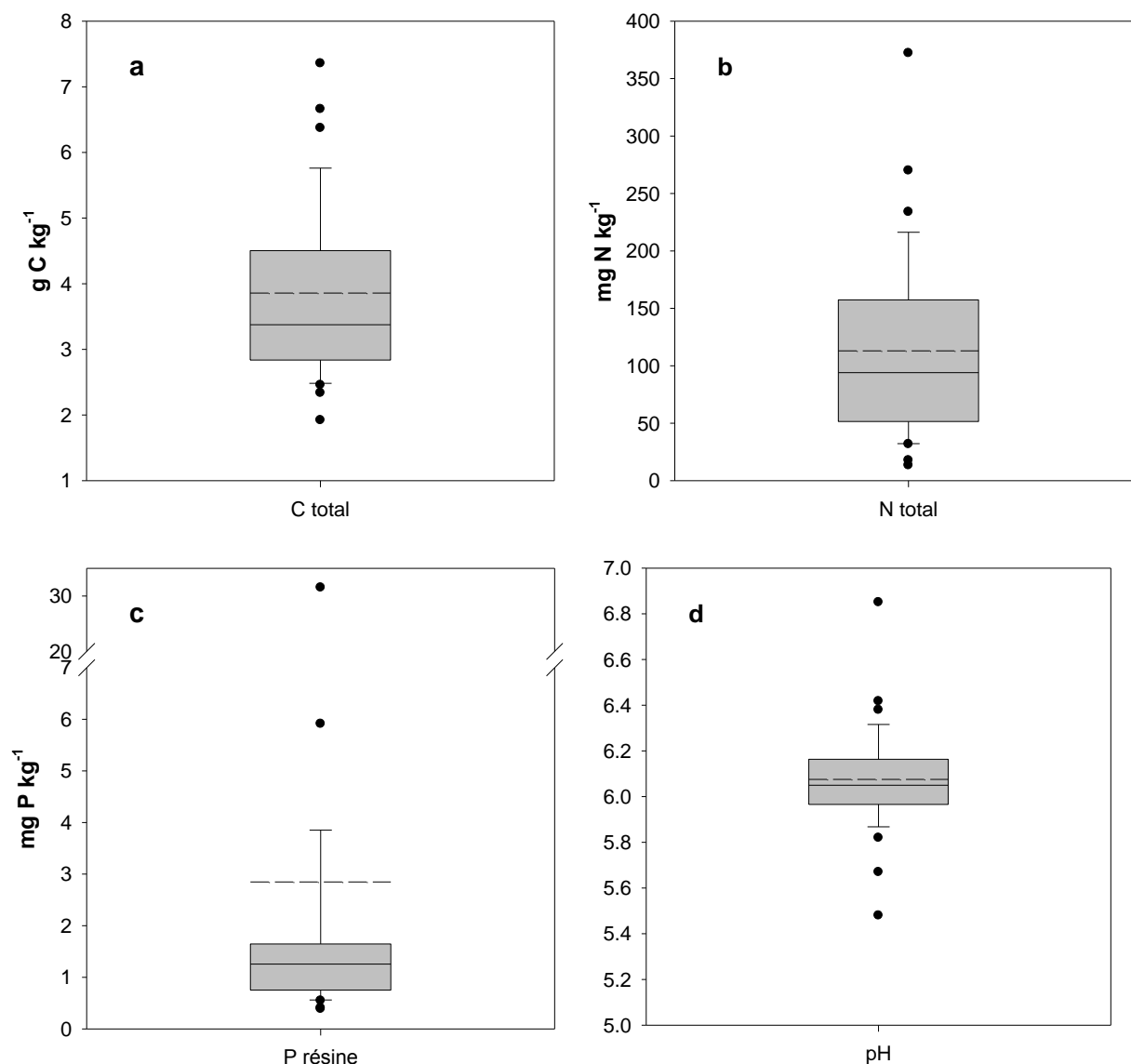
Enfin, une analyse en composantes principales (ACP) a été effectuée avec toutes les données (essai de Saria et champs paysans) pour observer la distribution des champs et des traitements de l'essai de Saria en fonction des variables potentiellement explicatives du rendement et du %Ndfa.

## I.3 Résultats

### I.3.1 Champs paysans

#### *I.3.1.1 Propriétés du sol*

Les caractéristiques chimiques des sols dans les champs paysans ont montré des teneurs généralement faibles en C total, N total et P disponible du sol (Figure I-3). Les teneurs en C total ont varié de 1,9 à 7,4 g C kg<sup>-1</sup>. Les teneurs en N total du sol ont varié de 13 à 372 mg N kg<sup>-1</sup>, avec les trois-quarts des champs paysans présentant des teneurs en N total du sol inférieures à 160 mg N kg<sup>-1</sup>. Les teneurs en P résine-extractibles (disponible) (P<sub>résine</sub>) du sol ont varié entre 0,4 et 31,5 mg P kg<sup>-1</sup>. Plus des 75% des champs paysans avaient des teneurs en P<sub>résine</sub> du sol inférieures à 2 mg P kg<sup>-1</sup>. Le pH des sols a varié entre 5,5 à 6,9.



**Figure I- 3 :** Teneurs en C total (a), N total (b) P résine (c) et pH mesurés sur des sols prélevés dans 33 champs paysans de monoculture de niébé en 2010 sur l'horizon 0-10 cm de profondeur dans le Centre-Ouest du Burkina Faso. La ligne continue représente la médiane et celle discontinue représente la moyenne

### ***1.3.1.2 Pratiques culturales dans les champs de niébé en milieu paysan***

Un précédent céréale, le plus souvent du sorgho, a été cultivé dans 45% (15 champs) des champs de niébé tandis que 42% (14 champs) étaient cultivés en légumineuses (niébé, arachide ou voandzou) comme précédent cultural. La préparation du sol dans les champs paysans a consisté le plus souvent à un grattage superficiel du sol qui a été effectué dans 11 champs (33% des champs), ou des travaux plus intenses du sol tels que le billonnage et le labour effectués respectivement dans 11 et 10 champs (Tableau I- 1).

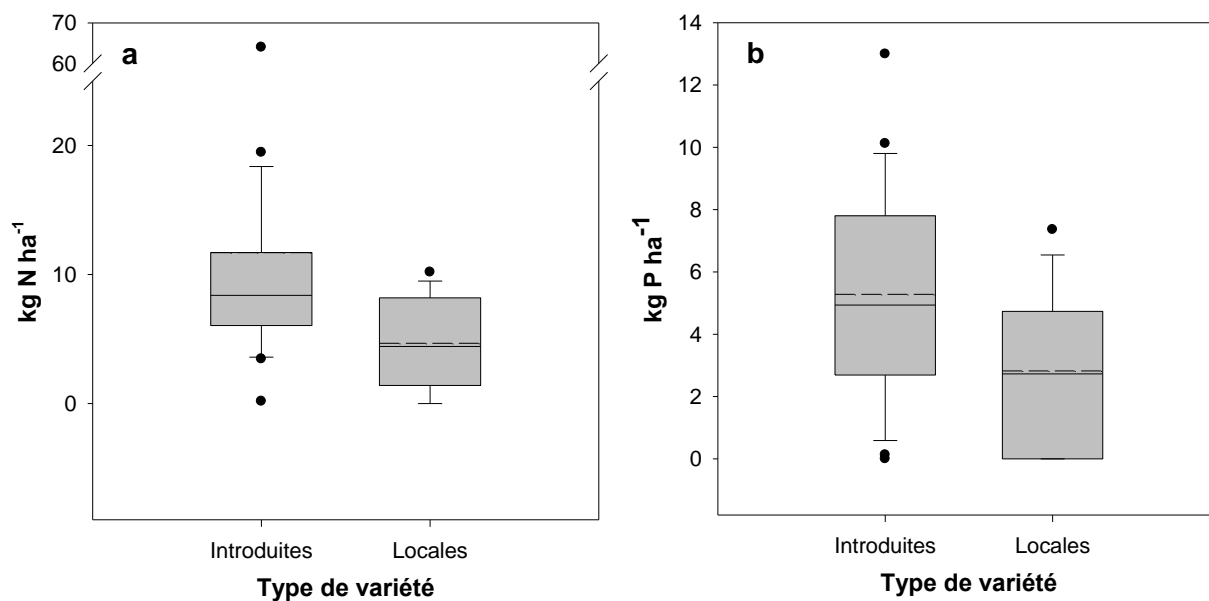
Les densités de semis dans les champs paysans étaient comprises entre 16000 et 99000 plantes ha<sup>-1</sup> avec une densité moyenne de 58600 plantes ha<sup>-1</sup>. Un à trois sarclages manuels et zéro à cinq traitements insecticides ont été effectués dans les champs. Deux opérations de sarclage ont été effectuées dans 70% des champs et un ou deux traitements pesticides ont été effectuées dans 30% des champs.

Plusieurs variétés de niébé ont été rencontrées dans les champs paysans. Les variétés sélectionnées par la recherche et vulgarisées (variétés introduites) ont été retrouvées dans 19 champs, tandis que les variétés locales ont été retrouvées dans 14 champs. Les variétés les plus fréquemment rencontrées étaient la variété locale nommée *Moussa local* et la variété introduite nommée *KVX 61-1* (Tableau I- 1).

Le principal type de fertilisation pratiqué dans les champs de niébé paysan a été l'application d'engrais minéraux qui a été effectuée dans 76% des champs. Seulement quatre champs ont reçu des amendements organiques dont deux sous forme de fumier, un sous forme de déchets de ménages et un autre champ a reçu des feuilles de neem (*Azadirachta indica*). Ces feuilles proviennent des arbres présents dans le champ, qui ont été élagués et les feuilles enfouies. Les doses de N et de P appliqués sous forme d'engrais minéral dans les champs paysans étaient généralement faibles, et ont varié de 0 à 64 kg N ha<sup>-1</sup> et de 0 à 13 kg P ha<sup>-1</sup> (Figure I- 4). Les variétés introduites de niébé ont reçu significativement plus d'engrais minéral que les variétés locales ( $p=0,037$  pour le P et  $p=0,018$  pour le N).

**Tableau I- 1 :** Variétés de niébé et pratiques culturales recensées dans 33 champs paysans du Centre-Ouest du Burkina Faso en 2010

	Nombre de champs
<b>Variétés de niébé</b>	<i>KVX 61-1</i>
	<i>KVX 745-11P</i>
	<i>KVX 396 4-5-2D</i>
	<i>KVX 396 4X4</i>
	<i>Moussa Local</i>
	<i>Bazoulakoi</i>
<b>Préparation du sol</b>	Semi-direct
	Grattage superficiel
	Billonnage
	Labour
<b>Précédant cultural</b>	céréale
	légumineuse
	Jachère de 1 à 3 ans
<b>Source fertilisation</b>	Engrais minéraux
	Fumier
	Feuilles de neem et engrais minéral
	Déchets ménagers
	Pas de fertilisants



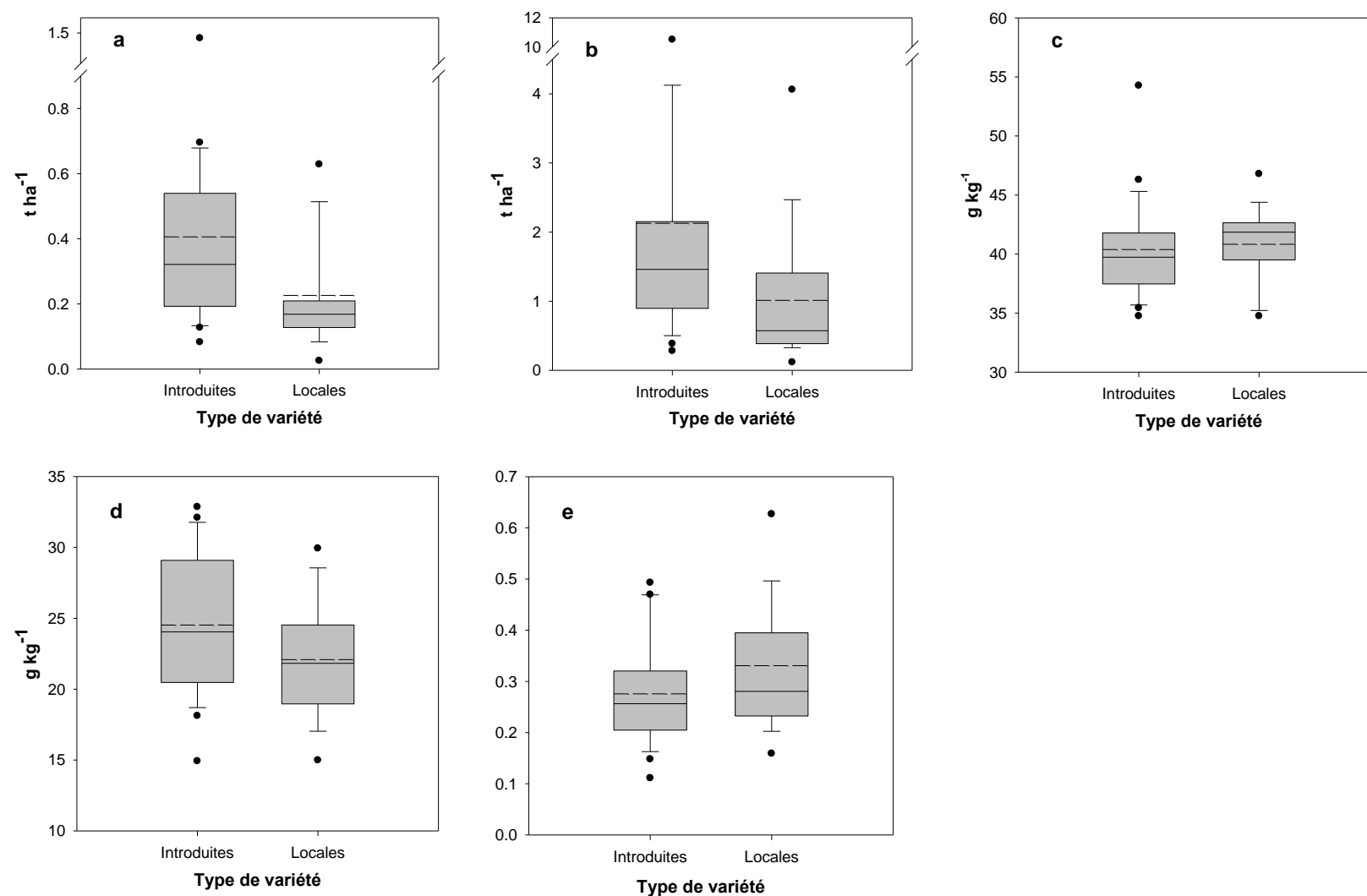
**Figure I- 4 :** Quantités de N (a) et de P (b) apportées sous forme d’engrais minéraux solubles à l’eau dans 33 champs paysans de niébé du Centre-Ouest du Burkina Faso en 2010. La ligne continue représente la médiane et celle discontinue représente la moyenne



### ***1.3.1.3 Rendements du niébé et concentrations en N dans les graines et les fanes***

Dans les champs paysans, le rendement grain du niébé était situé entre 0,03 à 1,17 t ha<sup>-1</sup> et le rendement fanes entre 0,12 et 10,5 t ha<sup>-1</sup> (Figure I- 5 a et b), avec des rendements significativement plus élevés pour les variétés introduites que pour les variétés locales (p= 0,033 pour le rendement grain et p= 0,024 pour le rendement fane). Les concentrations de N ont varié de 34,8 à 54,3 g N kg<sup>-1</sup> pour les graines et de 4,9 à 32,9 g N kg<sup>-1</sup> pour les fanes (Figure I-5 c), et n'ont pas significativement différencié en fonction du type de variété.

L'indice de récolte du N dans les graines de niébé était en moyenne de 0,3 dans l'ensemble des champs paysans, et n'étaient pas statistiquement différents entre les variétés introduites et les variétés locales (p=0,20). On note qu'un seul champ a présenté un indice de récolte du N supérieur à 0,5 (Figure I- 5 e).



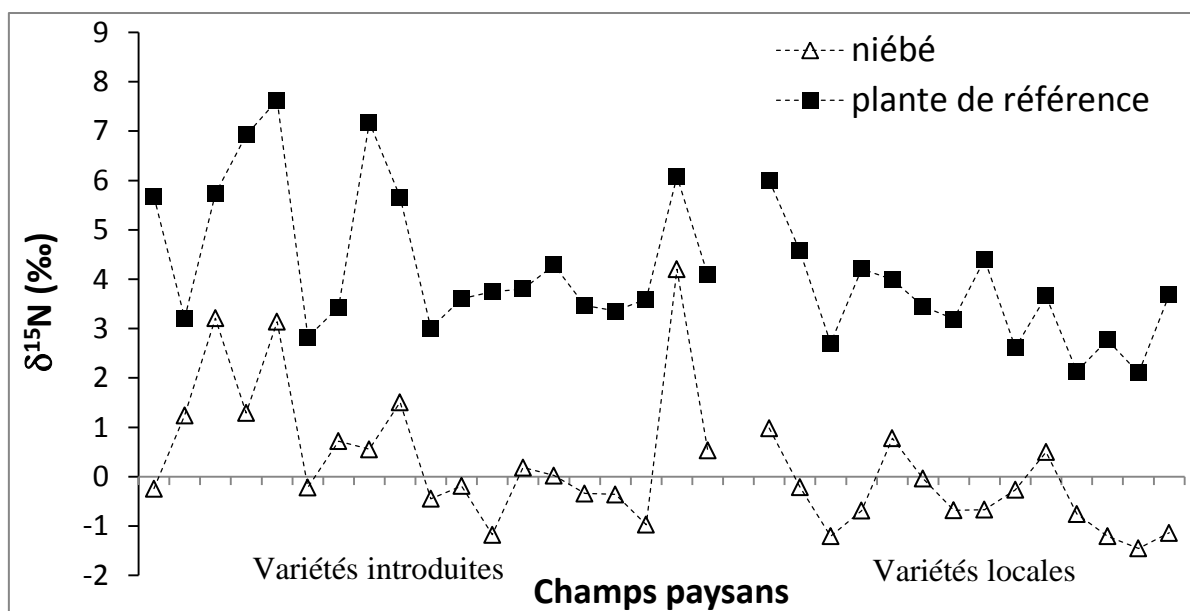
**Figure I- 5 :** Rendements grains (a), rendements fanes (b), concentrations en N dans les graines (c) et dans les fanes (d) de niébé récolté et indice de récolte du N dans les graines de niébé (e) dans 33 champs paysans en 2010 dans le Centre-Ouest du Burkina Faso. La ligne continue représente la médiane et celle discontinue représente la moyenne

### 1.3.1.4 Fixation symbiotique de $N_2$ du niébé

Les valeurs B spécifiques à la partie aérienne de chaque variété de niébé ont varié de -3,17‰ pour la variété *KVX 396 4-5-2D* à -1,36‰ pour la variété locale *Bazoulakoi* (Tableau I- 2). Dans les champs paysans, le  $\delta^{15}N$  du niébé était compris entre -1,5 et 4,2‰ (Figure I- 6), et était significativement plus faible dans les variétés locales de niébé comparativement aux variétés introduites, d'après le test de Kruskal Wallis ( $p= 0,013$ ). Le  $\delta^{15}N_{\text{plante de référence}}$  (mauvaises herbes) allant de 2,1 à 7,6‰ était significativement plus élevé que celui du niébé, avec une différence moyenne de 4‰ ( $p<0,000$ ), suggérant que l'on peut appliquer la méthode du  $\delta^{15}N$  pour la mesure de la fixation de  $N_2$  dans les champs paysans.

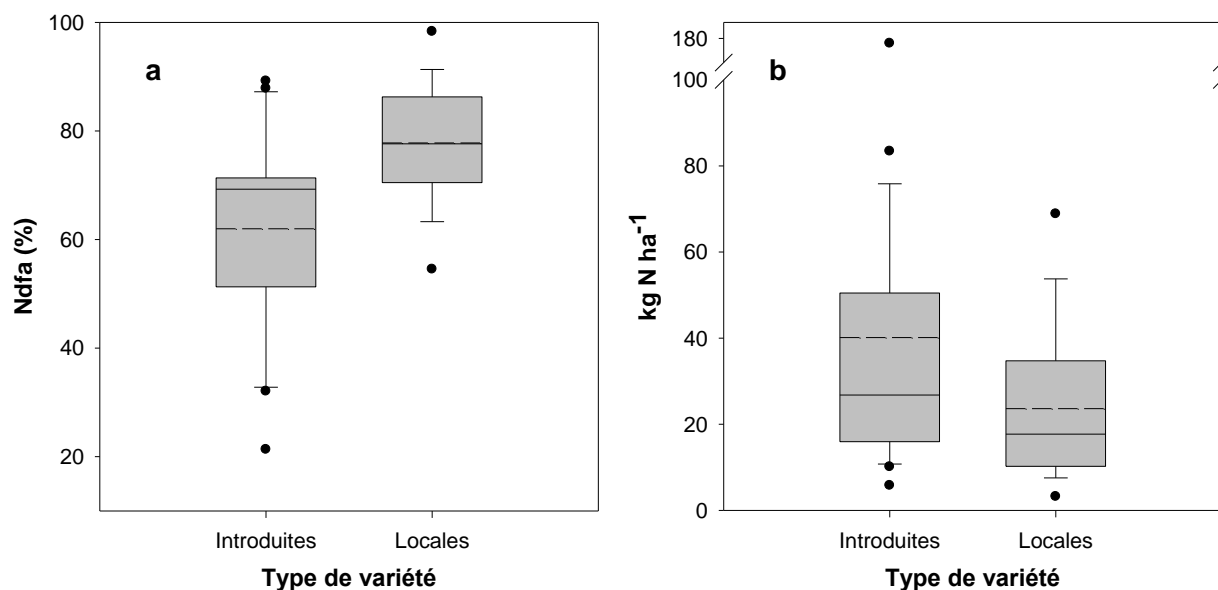
**Tableau I- 2 :**  $\delta^{15}N$  (Valeur B) de la biomasse aérienne variétés de niébé rencontrées dans les champs paysans (moyenne (déviation standard),  $n=3$ ).

Type de Variété	Variété de niébé	Valeur B (‰)
<b>Variétés introduites</b>	<i>KVX 61-1</i>	-1,86 (0,13)
	<i>KVX 745-11P</i>	-1,75 (0,22)
	<i>KVX 396 4-5-2D</i>	-3,17 (0,74)
	<i>KVX 396 4X4</i>	-1,02 (0,16)
<b>Variétés locales</b>	<i>Moussa Local</i>	-1,81 (0,64)
	<i>Bazoulakoi</i>	-1,36 (0,28)



**Figure I- 6 :** Composition isotopique du N ( $\delta^{15}\text{N}$  en ‰) du niébé et des plantes de références échantillonnées dans 33 champs de niébé paysans en 2010 à la période de floraison initiation des gousses du niébé dans le Centre-Ouest du Burkina Faso

Le %Ndfa ainsi calculé dans les champs paysans a varié entre 21 et 98%, et était significativement plus élevé dans les variétés locales comparativement aux variétés introduites ( $p=0,01$ ) (Figure I- 7 a). Le %Ndfa moyen était de 78% dans les variétés locales contre 62% dans les variétés introduites de niébé. La quantité totale de N fixée dans la biomasse aérienne du niébé a varié de 3 à 174 kg N ha<sup>-1</sup>, sans différence significative entre les variétés introduites et les variétés locales (Figure I- 7 b).



**Figure I- 7 :** Proportions de N provenant de l'atmosphère (a) et quantité de N fixée (b) dans la biomasse aérienne du niébé mesurés dans 33 champs de niébé paysans en 2010 dans le Centre-Ouest du Burkina Faso. La ligne continue représente la médiane et celle discontinue représente la moyenne.

### *1.3.1.5 Déterminants de la fixation de N<sub>2</sub> du niébé dans les champs paysans*

Les régressions multiples ont été faites dans le but de déceler l'influence des caractéristiques chimiques du sol impliqués dans la nutrition des plantes, et des facteurs liés aux choix des paysans dans la gestion de leurs champs de niébé, sur le %Ndfa et la quantité de N fixée par le niébé.

Les régressions multiples ont montré que dans les champs paysans, les teneurs du sol en N total, en  $P_{résine}$  et le pH du sol ne se sont pas révélées comme étant des facteurs déterminants du %Ndfa ( $R^2 = 0,04$  ;  $p = 0,77$ ). Par contre, ces caractéristiques chimiques du sol ont permis d'expliquer significativement 24% de la variabilité de la quantité de N fixée par le niébé dans les champs paysans ( $R^2 = 0,24$  ;  $p = 0,041$ ) (Tableau I- 3). En outre, le  $P_{résine}$  du sol a présenté un coefficient de régression positif et significatif dans la construction du modèle de régression ( $b = 1,81$  ;  $p = 0,042$ ).

Les facteurs relevant des choix des paysans ont permis d'expliquer 61% de la variabilité du %Ndfa dans les champs paysans ( $p = 0,002$ ). La quantité de N apportée sous forme d'engrais minéral soluble dans l'eau a présenté un coefficient de régression positif et significatif dans l'élaboration du modèle de régression ( $b = 2,13$  ;  $p = 0,003$ ), tandis que le nombre de traitements insecticides et le type de (codé 1 pour les variétés locales et 2 pour les

variétés introduites) ont présenté des coefficients de régression négatifs et significatifs (Tableau I- 4).

Les mêmes facteurs relevant du choix des paysans ont permis d'expliquer 55% de la variabilité de la quantité de N fixée dans les champs de niébé en milieu paysan ( $p=0,009$ ). Parmi ces facteurs, seule la quantité de P apportée sous forme d'engrais minéral soluble à l'eau a présenté un coefficient de régression positif et significatif ( $b= 6,7$  ;  $p<0,05$ ) dans la l'élaboration du modèle explicatif du N-fixé (Tableau I- 5).

**Tableau I- 3 :** Modèle de régression explicatif de la quantité de N-fixé dans la biomasse aérienne par les facteurs liés aux caractéristiques chimiques des sols dans les champs paysans en monoculture de niébé dans le Centre-Ouest du Burkina Faso ( $n=33$ )

Modèle †	Paramètres de la régression du N-fixé			Coefficient de corrélation avec le N-fixé ‡
	b (Erreur standard) ††	$\beta$ ¥	p	
<b>Constante</b>	280 (138)	-	0,052	-
<b>N total</b>	-0,07 (0,07)	-0,18	0,274	-0,244
<b>P<sub>résine</sub></b>	1,81 (0,85)	0,35	0,042	0,327*
<b>pH</b>	-40,2 (23)	-0,29	0,091	-0,301*

† Modèle :  $R^2=0,24$   $p=0.041$

†† b : coefficients de régressions du modèle

¥  $\beta$  : coefficients de régressions standardisés du modèle

‡ coefficients de corrélation de Pearson entre la variable expliquée par le modèle et les différentes variables explicatives, seuils de signification : \*  $p < 0,05$

**Tableau I- 4 :** Modèle de régression explicatif du %Ndfa du niébé par les facteurs liés aux choix des producteurs dans les champs paysans de monoculture de niébé dans le Centre-Ouest du Burkina Faso (n=32)

Modèle †	Paramètres de la régression du %Ndfa			Coefficient de corrélation avec le %Ndfa ‡
	b (Erreur standard) ††	$\beta$ ¥	p	
<b>Constante</b>	75,8 (16,4)			-
<b>Quantité d’engrais P apportée</b>	-0,36 (1,15)	-0,063	0,759	-0,282
<b>Quantité d’engrais N apportée</b>	2,13 (0,64)	0,597	0,003	0,038
<b>Densité de culture</b>	$3,9 \cdot 10^{-5}$ (0,00)	0,041	0,781	0,16
<b>Nombre de sarclage</b>	6,34 (6,1)	0,184	0,306	-0,11
<b>Nombre de traitements insecticide</b>	-8,88 (2,84)	-0,681	0,005	-0,454**
<b>Intensité du travail du sol</b>	-2,67 (3,22)	-0,138	0,415	-0,363*
<b>Type de précédent cultural</b>	6,03 (3,57)	0,233	0,105	0,161
<b>Type de variété de niébé cultivé</b>	-15,0 (5,07)	-0,448	0,007	-0,423**

† Modèle :  $R^2=0,61$   $p=0,002$ . ; Le champ dans lequel  $64 \text{ kg N ha}^{-1}$  ont été apportés sous forme d’engrais minéral a été retiré car il constituait un outlier qui influençait sur la significativité du modèle qui explique entre autre l’influence d’apports modérés de fertilisants. Les apports de d’amendements organiques n’ont pas été pris en compte

†† b : coefficients de régressions du modèle

¥  $\beta$  : coefficients de régressions standardisés du modèle

‡ coefficients de corrélation de Pearson entre la variable expliquée par le modèle et les différentes variables explicatives, seuils de signification : \*  $p < 0,05$  ; \*\*  $p < 0,01$  ;

**Tableau I- 5 :** Modèle de régression explicatif de la quantité de N-fixé dans la biomasse aérienne du niébé par les facteurs liés aux choix des producteurs dans les champs paysans de monoculture de niébé dans le Centre-Ouest du Burkina Faso (n=32)

Modèle †	Paramètres de la régression du N-fixé			Coefficient de corrélation avec la quantité de N fixé ‡
	b (Erreur standard) ††	$\beta$ ¥	p	
Constante	-50,3 (34,3)			-
Quantité d'engrais P apportée	6,7 (2,4)	0,618	0,010	0,600 ***
Quantité d'engrais N apportée	0,62 (1,3)	0,090	0,649	0,426 **
Densité de culture	0,00 (0,00)	0,244	0,139	0,342 *
Nombre de sarclage	13,8 (12,7)	0,208	0,286	0,109
Nombre de traitements insecticide	-12,1 (5,9)	-0,480	0,053	0,234
Intensité du travail du sol	10,4 (6,7)	0,279	0,134	0,457 **
Type de précédent cultural	-1,71 (7,46)	-0,034	0,821	0,112
Type de variété de niébé cultivé	4,36 (10,6)	0,068	0,684	0,281

† Modèle :  $R^2=0,55$   $p=0,009$ . ; Le champ dans lequel  $64 \text{ kg N ha}^{-1}$  ont été apportés sous forme d'engrais minéral a été retiré car il constituait un outlier qui influençait sur la significativité du modèle qui explique entre autre l'influence d'apports modérés de fertilisants. Les apports de d'amendements organiques n'ont pas été pris en compte

†† b : coefficients de régressions du modèle

¥  $\beta$  : coefficients de régressions standardisés du modèle

‡ coefficients de corrélation de Pearson entre la variable expliquée par le modèle et les différentes variables explicatives, seuils de signification : \*  $p < 0,05$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; \*\*\*  $p < 0,001$



### ***I.3.1.6 Bilan partiel de N de la monoculture de niébé***

Nous présentons d'abord les résultats des champs n'ayant pas bénéficié d'amendements organiques (Tableau I- 6), puis ceux des quatre champs où des apports d'amendements organiques ont été effectués (Tableau I- 7). Dans les champs sans amendements organiques, les exportations de N par le niébé ont varié de 1 à 56 kg N ha<sup>-1</sup> dans les graines et de 3 à 190 kg N ha<sup>-1</sup> dans les fanes. En relation avec la production de biomasse, les exportations de N des variétés améliorées ont été plus importantes que celles des variétés locales. Le bilan en N dans les champs paysans sans amendement organiques a varié de -39 à +47 kg N ha<sup>-1</sup>. Une majorité de champs a présenté un bilan positif. Il s'agit particulièrement des champs de variétés locales parmi lesquelles seulement un champ a eu un bilan négatif de -3 kg N ha<sup>-1</sup>. Cinq champs de variétés introduites ont eu des bilans en N négatifs et inférieurs à -15 kg N ha<sup>-1</sup> (Tableau I- 6). L'apport de fumier dans les champs de niébé a systématiquement entraîné des bilans en N positifs (Tableau I- 7).

**Tableau I- 6 :** Bilan partiel de N des champs paysans en monoculture de niébé sans amendement organique dans le Centre-Ouest du Burkina Faso

Champs et type de variété	Entrées de N (kg N ha <sup>-1</sup> )			Exportations de N (kg N ha <sup>-1</sup> )		Bilan partiel de N (kg N ha <sup>-1</sup> )
	Engrais	Semences	N total fixé	Graines	Fanes	
<b>Introduite</b>	19,5	0,3	20,0	7,4	8,3	24,0
<b>Introduite</b>	0,2	0,3	37,2	24,5	52,4	-39,2
<b>Introduite</b>	64,0	0,4	14,4	10,4	21,2	47,3
<b>Introduite</b>	10,5	0,3	92,1	10,2	81,4	11,4
<b>Introduite</b>	14,0	0,3	76,5	23,1	90,5	-22,8
<b>Introduite</b>	9,3	0,1	8,3	5,6	5,7	6,4
<b>Introduite</b>	6,7	0,3	45,8	8,8	33,1	10,9
<b>Introduite</b>	7,5	0,2	72,2	18,3	61,9	-0,2
<b>Introduite</b>	11,7	0,3	38,3	15,6	33,0	1,8
<b>Introduite</b>	11,8	0,5	248,5	55,6	190,2	14,9
<b>Introduite</b>	8,4	0,2	119,2	24,2	96,2	7,4
<b>Introduite</b>	4,1	0,3	60,3	16,9	64,3	-16,5
<b>Introduite</b>	6,8	0,2	71,7	18,5	53,8	6,5
<b>Introduite</b>	4,2	0,3	34,2	6,2	27,4	5,1
<b>Introduite</b>	7,9	0,4	31,1	7,8	22,7	8,8
<b>Introduite</b>	8,9	0,3	38,1	9,2	21,7	16,3
<b>Introduite</b>	3,5	0,4	16,8	25,8	29,3	-34,4
<b>Moyenne</b>	<b>11,7</b>	<b>0,3</b>	<b>60,3</b>	<b>16,9</b>	<b>52,5</b>	<b>2,8</b>
<b>Locale</b>	2,8	0,2	12,5	6,1	7,5	1,9
<b>Locale</b>	10,2	0,5	74,4	20,4	53,5	11,2
<b>Locale</b>	9,2	0,5	29,2	8,0	12,8	18,1
<b>Locale</b>	7,8	0,3	63,8	8,8	46,4	16,7
<b>Locale</b>	5,3	0,3	30,3	8,1	30,8	-3,1
<b>Locale</b>	0,0	0,1	4,6	1,0	3,3	0,3
<b>Locale</b>	0,0	0,3	21,7	5,1	12,8	4,0
<b>Locale</b>	4,2	0,3	49,6	26,7	15,9	11,6
<b>Locale</b>	8,6	0,3	98,4	22,1	77,0	8,1
<b>Locale</b>	4,7	0,2	11,5	5,2	5,6	5,5
<b>Locale</b>	0,0	0,3	28,9	8,7	14,7	5,7
<b>Locale</b>	3,4	0,4	16,0	4,9	7,5	7,4
<b>Moyenne</b>	<b>4,7</b>	<b>0,3</b>	<b>36,7</b>	<b>10,4</b>	<b>24,0</b>	<b>7,3</b>

**Tableau I- 7 :** Bilan partiel de N des champs paysans en monoculture de niébé ayant reçu des amendements organiques dans le Centre-Ouest du Burkina Faso

Champ et type de variété <sup>o</sup>	Type d'amendement organique	Dose estimée de matière sèche par amendements organiques (t ha <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	Entrées de N (kg N ha <sup>-1</sup> )				Exportations de (kg N ha <sup>-1</sup> )		Bilan de surface N (kg N ha <sup>-1</sup> )
			amendements organiques <sup>b</sup>	Engrais	Semences	N total fixé	Graines	Fanes	
Introduite	Déchets de ménage	ND	ND	0	0,3	17,7	3,1	17,8	ND
Introduite	Feuilles de neem	ND	ND	3,5	0,4	47,2	11,6	26,0	ND
Locale	Fumier	0,64	11,8	0	0,3	14,6	3,9	10,2	12,5
Locale	Fumier	2,31	41,8	0	0,3	16,9	3,5	10,1	45,4

a : La quantité des amendements organiques appliqué a été estimé en utilisant l'étalonnage de Zougmore *et al.*, (2000) en fonction du nombre de charretées appliqué dans les champs et de la superficie du champ. Une charretée de fumier (bouse de vache) est estimée à 97 kg de matière sèche. Nous n'avons pas estimé les quantités de feuilles de neem ou de déchets de ménage apportés faute d'étalon.

b : La quantité de N apportée par le fumier dans les champs paysans a été calculée en utilisant la teneur en N total du fumier de la station de recherche de Saria.

### I.3.2 Essai entretien de la fertilité de Saria

#### I.3.2.1 *Propriétés du sol*

Les caractéristiques chimiques des sols prélevés dans les six répétitions des différents traitements sont présentées dans le (Tableau I- 8). Le traitement Te a présenté une teneur en C total de  $1,7 \text{ g C kg}^{-1}$ , qui était significativement inférieure à celles mesurées dans fmo ( $2,9 \text{ g C kg}^{-1}$ ) et dans FMO ( $5,1 \text{ g C kg}^{-1}$ ). Les teneurs en C total mesurées dans les traitements fm et FM n'étaient pas significativement différentes de celle mesurée dans Te. Le N total du sol a varié dans les mêmes tendances que le C total du sol, avec la plus faible teneur ( $213 \text{ mg N kg}^{-1}$ ) mesurée dans Te, et la plus forte mesurée dans FMO ( $546 \text{ mg N kg}^{-1}$ ). Le traitement Te a présenté la plus faible teneur en  $P_{\text{résine}}$  du sol ( $1,7 \text{ mg P kg}^{-1}$ ), significativement inférieure à celle des autres traitements. La plus forte teneur en  $P_{\text{résine}}$  ( $32 \text{ mg P kg}^{-1}$ ) a été mesurée dans FMO. Les traitements fmo, fm et FM ont présenté des  $P_{\text{résine}}$  statistiquement similaires, variant entre  $9,8 \text{ mg P kg}^{-1}$  dans FM et  $16,1 \text{ mg P kg}^{-1}$  dans fmo. Le pH des sols a varié entre 5,3 dans FM et 6,5 dans FOM, avec une tendance à l'acidification dans les traitements fm et FM.

**Tableau I- 8 :** Les teneurs en C total, N total, P disponible ( $P_{\text{résine}}$ ) et le pH mesurés sur des échantillons de sols de l'essai de Saria prélevés en 2009 sur l'horizon 0-10 cm de profondeur, dans les parcelles de rotation sorgho-niébé

Traitements	C total	N total	$P_{\text{résine}}$	pH-eau
	(g kg <sup>-1</sup> )	(mg kg <sup>-1</sup> )	(mg kg <sup>-1</sup> )	
<b>Te</b>	1,74 c	213 c	1,72 c	5,9 b
<b>fmo</b>	2,94 b	329 b	16,1 b	5,7 b
<b>fm</b>	1,98 c	238 c	12,0 b	5,2 c
<b>FMO</b>	5,07 a	546 a	32,0 a	6,5 a
<b>FM</b>	2,36 bc	299 bc	9,75 b	5,3 c
<b>ESM<sup>†</sup></b>	0,29	30	2,25	0,14
<b>Signification<sup>††</sup></b>	***	***	***	***

<sup>†</sup> : ESM: Erreur Standard de la Moyenne

<sup>††</sup> : Seuils de probabilité Signification statistique : \*\*\*<0,001. Dans chaque colonne les nombres suivis de lettres différents sont statistiquement différents au seuil de probabilité  $p < 0,05$ .

### ***1.3.2.2 Rendements et teneurs en N du niébé dans l'essai de Saria***

Dans l'essai de Saria, le plus faible rendement grain du niébé (0,45 t ha<sup>-1</sup>) mesuré dans Te, était significativement inférieur au plus haut rendement grain (0,86 t ha<sup>-1</sup>) mesuré dans FMO (Tableau I- 9). Les rendements grains étaient similaires dans les autres traitements. La quantité de N retrouvée dans les fanes de niébé était significativement plus élevée dans FMO par rapport aux autres traitements de l'essai. La teneur en N des graines de niébé d'environ 40 g kg<sup>-1</sup> était similaire dans tous les traitements de l'essai, à l'exception de FMO qui a présenté une teneur en N des fanes de niébé significativement plus élevée (Tableau I- 9).

**Tableau I- 9 :** Rendements grains et fanes et concentration de N dans les graines et dans les fanes de niébé récoltés en 2009 dans l'essai Entretien de la fertilité de Saria (n=6)

Traitements	Rendements (t ha <sup>-1</sup> )		Concentration de N (g kg <sup>-1</sup> )		Concentration de P (g kg <sup>-1</sup> ) ‡	
	Grains	Fanes	Grains	Fanes	Grains	Fanes
<b>Te</b>	0,45 b	0,84 b	41,0	20,5 b	3,70 a	1,2 a
<b>fmo</b>	0,71 ab	2,09 b	39,0	20,1 b	4,6 b	2,0 b
<b>fm</b>	0,69 ab	1,91 b	39,9	19,5 b	4,6 b	1,6 ab
<b>FMO</b>	0,86 a	4,54 a	41,6	25,3 a	5,1 b	2,9 c
<b>FM</b>	0,74 ab	2,24 b	37,8	20,6 b	4,6 b	1,8 ab
<b>ESM<sup>†</sup></b>	0,11	0,66	2,0	1,3	0,2	0,2
<b>Signification<sup>††</sup></b>	*	***	NS	**	***	***

† ESM : Erreur Standard de la Moyenne, n=6

†† Seuils de signification : \*p<0,05 ; \*\*p<0,01 ; \*\*\*p<0,001

‡ Concentration en P déterminée sur les cendres des échantillons incinérés à 550°C pendant 5 heures suivi d'une dilution des cendres dans du HNO<sub>3</sub> fumant, et une détermination de la concentration de P dans les extraits au vert de Malachite

### ***1.3.2.3 Fixation symbiotique de N<sub>2</sub> et bilan partiel de N en monoculture de niébé***

Dans l'essai de Saria, le  $\delta^{15}\text{N}$  du niébé a varié de 2,12 ‰ dans le traitement Te à 5,74 ‰ dans FMO (Tableau I- 10). Les  $\delta^{15}\text{N}$  du sorgho et des mauvaises herbes échantillonnés comme plantes de référence, étaient similaires d'après un test de Student (p= 0,085), et le  $\delta^{15}\text{N}_{\text{plante de référence}}$  a varié de 5,83 ‰ dans Te, à 8,26 ‰ dans FMO. Le %Ndfa du niébé calculé dans l'essai n'a pas été significativement différent entre les traitements, et a varié de 42,6% pour Te à 25% pour FMO.

**Tableau I- 10 :** Composition isotopique du N ( $\delta^{15}\text{N}$ ) du niébé et des plantes de référence, proportions et quantités de N fixées dans la biomasse aérienne du niébé mesurées à la période de floraison initiation des gousses du niébé mesurés en 2009 dans les traitements de l'essai de Saria (n=6)

Traitements	$\delta^{15}\text{N}$ niébé	$\delta^{15}\text{N}$ C. <i>dactylon</i>	$\delta^{15}\text{N}$ sorgho	$\delta^{15}\text{N}$ plante de référence <sup>‡</sup>	%Ndfa	N-fixé
	‰	‰	‰	‰	%	kg N ha <sup>-1</sup>
<b>Te</b>	2,12 c	6,00 <sup>b</sup>	5,42 b	5,83 b	42,6	15,3 b
<b>fmo</b>	4,41 ab	7,64 <sup>ab</sup>	7,16 ab	7,49 ab	30,1	22,8 ab
<b>fm</b>	3,53 bc	7,00 <sup>ab</sup>	5,61 ab	6,78 ab	34,4	20,0 ab
<b>FMO</b>	5,74 a	8,26 <sup>a</sup>	8,06 a	8,26 a	25,0	36,5 a
<b>FM</b>	3,71 abc	6,05 <sup>b</sup>	5,38 b	6,04 b	29,6	21,1 ab
<b>ESM<sup>†</sup></b>	0,71	0,70	1,11	0,67	7,19	5,8
<b>Signification<sup>††</sup></b>	**	**	*	**	NS	*

<sup>†</sup> : ESM : Erreur Standard de la Moyenne, n=6

<sup>††</sup> Seuils de signification : NS non significatif \*p<0,05 ; \*\*p<0,01 ; \*\*\*p<0,001

<sup>‡</sup> Le  $\delta^{15}\text{N}$  plante de référence représente la moyenne pour chaque parcelle entre le  $\delta^{15}\text{N}$  C. *dactylon* et le  $\delta^{15}\text{N}$  sorgho ou le  $\delta^{15}\text{N}$  de la plante non fixatrice existante dans les corners de chaque parcelle.

#### I.3.2.4 Bilan partiel de N de la monoculture de niébé

La quantité totale de N fixée (dans la biomasse aérienne et souterraine) par le niébé et les exportations de N à travers les graines et les fanes de niébé ont suivi la même tendance, avec les plus faibles valeurs toujours observées dans Te et les plus élevées toujours observées dans FMO (Tableau I- 11). La quantité totale de N fixée a varié de 25 kg N ha<sup>-1</sup> dans Te, à 49 kg N ha<sup>-1</sup> dans FMO sans différence significative entre les traitements. La quantité de N exportée par les graines était de 19 kg N ha<sup>-1</sup> dans Te et de 36 kg N ha<sup>-1</sup> dans FMO tandis que celle exportée par les fanes a varié de 18 kg N ha<sup>-1</sup> dans Te à 114 kg N ha<sup>-1</sup> dans FMO. Le plus faible bilan de N de -39 kg N ha<sup>-1</sup> a été calculé pour FMO, et le plus élevé de 20 kg N ha<sup>-1</sup> pour FM. Les bilans N des traitements fm et fmo étaient relativement proches de zéro.

**Tableau I- 11 :** Bilan N de surface de la culture du niébé calculé en 2009 dans l'essai de Saria (n=6). Entrées = N apporté par les engrais minéraux, N total fixé et N des semences ; Exportations= N récolté par les graines et les fanes.

Traitements	Entrées de N (kg N ha <sup>-1</sup> )			Exportations de N (kg N ha <sup>-1</sup> )		Bilan N de surface (kg N ha <sup>-1</sup> )
	Engrais	Semences	N total fixé	Grains	Fanes	
<b>Te</b>	0	0,81	25,1	18,5 a	17,5 a	-10,1 ab
<b>fmo</b>	37	0,81	34,2	27,5 ab	43,8 a	0,7 ab
<b>fm</b>	37	0,81	32,2	27,6 ab	37,2 a	5,2 b
<b>FMO</b>	60	0,81	49,5	35,9 b	113,8 b	-39,4 a
<b>FM</b>	60	0,81	34,0	28,1 ab	46,5 a	20,2 b
<b>ESM<sup>†</sup></b>	-	-	11,4	4,6	15,2	14,5
<b>Signification<sup>††</sup></b>	-	-	NS	*	***	**

<sup>†</sup> : ESM : Erreur Standard de la Moyenne, n=6

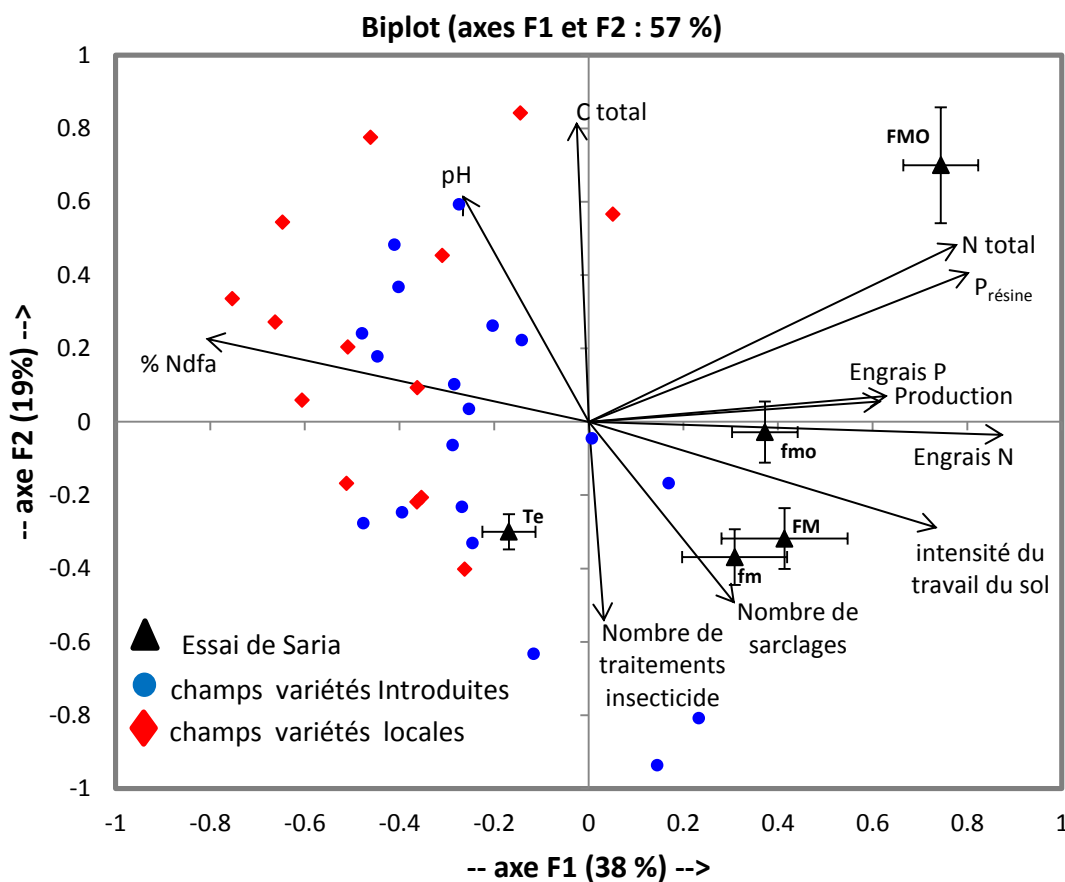
<sup>††</sup> : seuils de signification : NS non significatif \*p<0,05 ; \*\*p<0,01 ; \*\*\*p<0,001

### I.3.3 Comparaison entre les champs paysans et l'essai de Saria

L'ensemble des variables sélectionnées ont représenté 57% de la variabilité totale expliquée par l'ACP (Figure I-8). Le premier axe présentant 38% de la variabilité totale est déterminé par les quantités de N et de P apportées sous forme d'engrais minéral, la production totale, puis dans une moindre mesure par le N total et le P<sub>résine</sub> du sol, et le %Nd<sub>fa</sub> du niébé qui va dans le sens opposé des variables précitées. La seconde composante présentant 19% de la variabilité est déterminée par le pH et le C total du sol ainsi que le nombre de traitements insecticides appliqués. La distribution des champs paysans et des traitements de l'essai de Saria montre une séparation nette entre les champs et les traitements de l'essai le long de la première composante. Les champs paysans se retrouvent très majoritairement dans la partie négative du premier axe, déterminée par le %Nd<sub>fa</sub>. Le traitement Te se rapproche un peu des champs paysans, alors que les traitements fmo, fm et FM sont assez similaires le long de cet axe. Le traitement FMO est celui qui s'éloigne le plus des champs paysans et des autres traitements avec de fortes corrélations positives et significatives avec les caractéristiques



chimiques du sol. En outre, les champs paysans de variétés locales sont plus éloignés des traitements de l'essai de Saria, comparativement aux champs de variétés introduites.



**Figure I- 8 :** Analyse en Composantes Principales montrant la distribution des champs paysans en monoculture de niébé (n=33), et des traitements de l'essai de longue durée de Saria (Te, fmo, fm, FMO et FM ; n=6) dans le Centre-Ouest du Burkina Faso, et des variables sélectionnés potentiellement explicatifs de la fixation symbiotique de  $N_2$ .

## I.4 Discussion partielle

### I.4.1 Fertilisation, caractéristiques chimiques du sol et production du niébé

L'utilisation des amendements organiques n'est pas fréquente dans les monocultures de niébé en milieu paysan. Nos résultats sur les types et les quantités de fertilisants apportées dans les champs de niébé paysans en 2010 (Tableau I- 1 et Figure I- 4), confirment ceux observés en 2009 par Kiba, (2012) dans des champs de niébé d'un groupe de ménages agricoles auxquels appartenaient notre échantillon de producteurs. Les allocations en intrants des paysans dépendent de leurs objectifs de production. Le recours aux variétés introduites, aux traitements insecticides et aux engrais minéraux particulièrement plus appliqués sur les variétés introduites (Figure I- 4), témoignent de l'importance économique de cette culture pour les ménages.

La majorité des champs paysans ont des teneurs en C total plus élevées que les traitements de l'essai de Saria qui ne bénéficient pas d'amendement organiques (Tableau I- 1). Les teneurs en C total dans ces champs sont même comparables à celle mesurée dans fmo malgré la rareté et les petites quantités d'amendements organiques appliqués en milieu paysan (Kiba 2012). Cela pourrait s'expliquer par le labour systématique et très souvent effectué au tracteur dans l'essai de Saria, qui entrainerait une minéralisation plus rapide de la matière organique du sol, comparativement aux champs paysans où un travail manuel et moins intensif du sol est souvent pratiqué. Les teneurs comparables en  $P_{résine}$  du sol entre les champs paysans et le traitement Te de l'essai de Saria, s'expliquent par la pauvreté intrinsèque de ces sols en P et en matière organique (Compaoré et al. 2003), et par les apports limités en nutriments dans les fertilisants organiques et minéraux dans les champs paysans.

La teneur en N total dans le traitement Te de l'essai, plus élevée que dans la plupart des champs paysans s'explique par la rotation entre le sorgho et niébé pratiquée depuis très longtemps dans l'essai. Les rotations céréale légumineuses ont déjà montré des effets positifs sur les teneurs en N total du sol comparativement à la culture continue des céréales (Yusuf *et al.*, 2009; Okpara et Igwe, 2014). En effet, la teneur moyenne de  $113 (\pm 81) \text{ mg kg}^{-1}$  de N total des sols des champs paysans est beaucoup plus proche des  $180 \text{ mg N kg}^{-1}$  de N total mesurés par Lompo et al (2008) dans le traitement témoin des parcelles en sorgho continu de l'essai de Saria. La rotation céréale /légumineuse n'est pas systématique dans les champs paysans. Dans

ces champs de notre zone d'étude, les céréales (le sorgho essentiellement) peuvent être cultivées pendant plusieurs années dans le même champ avant ou après une monoculture de légumineuse.

Les rendements grains et fanes mesurés dans les champs paysans (Figure I- 5 a et b) sont similaires à ceux mesurés dans des champs paysans de la même région en 2009 par Kiba, (2012). Ces rendements sont en moyenne plus faibles que ceux mesurés dans l'ensemble des traitements de l'essai de Saria, y compris le Te (Tableau I- 9). Cela pourrait être lié au fort potentiel de rendement de la variété de niébé *KWX 396 4 5 2D* cultivée sur l'essai, comparativement aux autres variétés cultivées dans les champs paysans. En effet, l'évaluation de plusieurs lignées de niébé pour leur adaptation aux conditions semi-arides a montré que les lignées *KWX 396-4* avaient les meilleurs rendements, et la meilleure capacité d'adaptation à divers zones agro écologiques (Muleba *et al.*, 1997). Cependant, l'examen des trois champs paysans où cette variété a été cultivée, révèle que deux d'entre eux ont eu des rendements grains comparables au témoin de l'essai alors que le troisième a eu un rendement inférieur. Il semble donc que d'autres facteurs relevant des pratiques paysannes (fertilisation, entretien des cultures etc.) contribuent à expliquer les faibles rendements dans les champs paysans.

Les rendements grains et fanes plus élevés des variétés introduites comparativement aux variétés locales s'expliquent par les quantités plus élevées d'engrais minéraux apportées sur les variétés introduites, et probablement aussi leur caractéristiques de résistances et/ou tolérance aux parasites, et de forts potentiels de rendements pour lesquelles elles ont été sélectionnées (Muleba *et al.*, 1997). Dans l'essai de Saria par contre, les rendements du niébé ont peu réagi aux différents modes de fertilisation. Seulement les deux traitements extrêmes (Te et FMO) ont conduit à des rendements significativement différents. Les rendements du niébé seraient plus dépendants de la disponibilité du sol en P qu'en N, au vu de l'autosuffisance partielle de la légumineuse en N. Dans l'essai de Saria, la différence de  $P_{résine}$  entre les traitements a plutôt entraîné une baisse des concentrations en P dans les graines et les fanes sur le traitement Te (Tableau I- 9) qu'une baisse de rendement. Cela témoigne de la bonne adaptation de la variété de niébé cultivé dans cet essai aux conditions de sols pauvres en P disponible.

### I.4.2 Méthode de l'abondance naturelle et fixation symbiotique de N<sub>2</sub> du niébé

Les valeurs B obtenues dans quatre des variétés de niébé (Tableau I- 2) sont dans le même ordre de grandeur que la valeur B de -1,8‰ utilisé par Belane et Dakora, (2009) et Belane *et al.*, (2011). D'autres valeurs B, allant de -2,2‰ (Nyemba et Dakora, 2010) à -1,5‰ (Nguluu *et al.*, 2002) ont déjà été obtenues pour le niébé. Deux valeurs extrêmes de -1,02‰ et -3,17‰ calculées respectivement pour les variétés introduites K VX 396-4X4 et K VX 396 4-5-2D sont cependant au-delà des valeurs jusqu'à présent rapportées pour le niébé. L'utilisation des valeurs B provenant de la littérature ne permet pas toujours de faire des mesures très précises de la fixation symbiotique de N<sub>2</sub>, car ces valeurs ne prennent pas en compte la diversité variétale de la légumineuse étudiée, et la diversité des inocula de *Rhizobium* présents dans les sols. Nos valeurs B qui ont été déterminées pour les variétés de niébé spécifiques à notre étude en utilisant les micro-symbiontes présents dans nos champs paysans, augmentent la précision des calculs de %Ndfa (Unkovich *et al.*, 1994; Boddey *et al.*, 2000)

La différence minimale de  $\delta^{15}\text{N}$  de 2‰ entre la plante de référence et la légumineuse requise pour une bonne estimation de la fixation de N<sub>2</sub> par la méthode de l'abondance naturelle (Unkovich *et al.*, 1994), a été observée aussi bien dans les champs paysans (Figure I- 6) que dans l'ensemble des traitements de l'essai de Saria (Tableau I- 10). L'application régulière des 40 t ha<sup>-1</sup> 2 ans<sup>-1</sup> de fumier a entraîné un  $\delta^{15}\text{N}$  plus élevé avec FMO qu'avec FM qui reçoit uniquement des fertilisants minéraux. Cela s'explique par le fait que les engrais minéraux ont un  $\delta^{15}\text{N}$  proche de zéro (Bateman et Kelly, 2007), tandis que le fumier est enrichi en <sup>15</sup>N par rapport à l'atmosphère (exemples des  $\delta^{15}\text{N}$  entre 4 et 15‰ mesurés dans différents fumier par Oberson *et al.*, (2013)). Des mesures récentes ont montré également que le  $\delta^{15}\text{N}$  du sol dans les différents traitements de l'essai suit les mêmes tendances que le  $\delta^{15}\text{N}$  de nos plantes de références (données non encore publiées). Des résultats similaires ont été trouvés par Oberson *et al.*, (2007) dans un essai de fertilisation de longue durée en Suisse, incluant une fertilisation exclusivement minérale et une fertilisation organique (fumier et purin) et minérale.

Le fait que le  $\delta^{15}\text{N}$  des plantes de référence ( $\delta^{15}\text{N}_{\text{plante de référence}}$ ) n'était pas différent entre les champs de variétés locales et introduites est en accord avec le fait que les caractéristiques chimiques des sols sont similaires entre ces deux types de champs paysans. Le  $\delta^{15}\text{N}$  plus faible des échantillons de niébé des variétés locales comparativement aux variétés introduites

malgré le fait que ces dernières ont reçu plus de N minéral (de faible  $\delta^{15}\text{N}$ ), suggère une plus forte fixation de  $\text{N}_2$  dans les variétés locales de niébé par rapport aux variétés introduites.

Le %Ndfa mesuré dans les différents traitements de l'essai de Saria est du même ordre que les valeurs obtenues par Bado *et al.*, (2006) en utilisant la méthode de dilution isotopique sous différents régimes de fertilisation minérale et organique à Farako-ba, dans l'Ouest du Burkina Faso. Les quantités de N fixées variant entre 26 et 46 kg N ha<sup>-1</sup> dans l'expérimentation de Bado *et al.*, (2006) étaient cependant légèrement supérieures à celles mesurées dans l'essai de Saria, du fait de leurs rendements plus élevés. Dans l'essai de Saria, les quantités de N fixées dans la biomasse aérienne du niébé suivent à peu près les mêmes tendances que la production de biomasse. Contrairement à nos attentes, le %Ndfa du niébé était similaire dans tous les traitements de l'essai de Saria (Tableau I- 10). Et cela, même dans les traitements qui ont présenté des teneurs différentes en N total du sol (Tableau I- 8), et en dépit de la corrélation significative et négative observée entre le N total du sol et les %Ndfa dans l'essai de Saria ( $R=-0,41$  ;  $p=0,025$ ). Deux phénomènes concourraient à expliquer cela : premièrement, il y avait une grande variabilité à l'intérieur d'un même traitement, car certains blocs de l'essai de Saria étaient sensibles à l'engorgement en eau après de fortes pluies. Deuxièmement, il semble que la variété de niébé cultivée dans l'essai n'ait pas un fort potentiel de fixation d'azote. La moyenne du %Ndfa dans les trois champs paysans cultivés avec la variété K VX 396 4 5 2D (de 55%) était inférieure à la moyenne %Ndfa de l'ensemble des variétés introduites (62%).

Les niveaux de %Ndfa mesurés dans nos champs paysans (de 21 à 98%) sont du même ordre que ceux mesurés par Naab *et al.*, (2009) qui ont trouvé des %Ndfa (entre 12 et 100%) dans 63 champs de niébé en culture pure en milieu paysan sur des Lixisol et Luvisols du nord du Ghana, aussi en utilisant la méthode de l'abondance naturelle. Dans l'ensemble, les %Ndfa mesurés dans les champs paysans sont supérieurs à ceux de l'essai de Saria. Cela pourrait être lié aux teneurs en N total des sols qui sont généralement plus faibles dans les champs paysans comparativement aux traitements de l'essai de Saria, rendant les plantes plus dépendantes du  $\text{N}_2$ . Cela se traduit par une corrélation négative et significative entre le %Ndfa et le N total des sols dans l'ensemble des données (champs paysan et essai de Saria) ( $R= -0,6$  ;  $p<0,001$ ). Cette corrélation reste significative lorsqu'on retire de l'analyse les valeurs extrêmes telles que les répétitions du traitement FMO qui a les teneurs les élevées en N total du sol et les plus faibles. Les légumineuses deviennent moins dépendantes du N atmosphérique lorsque la disponibilité de N dans le sol augmentent, spécialement après l'application de grandes quantités de N

minéral (Salvagiotti *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2009) comme dans les traitements fertilisés de l'essai.

Les régressions multiples n'ont montré aucune relation significative entre les teneurs en nutriments (N total et  $P_{résine}$ ) du sol, le pH du sol, et le %Ndfa des champs en milieu paysan. Les faibles teneurs en N total dans les champs paysans font que les plantes sont de toute façon obligées de prélever de l'atmosphère, le maximum du N dont elles ont besoin. Le %Ndfa n'est pas non plus affecté par les teneurs en  $P_{résine}$  généralement faibles dans ces champs. Le phénomène similaire a été mis en évidence par Oberson *et al.*, (2013) sur le %Ndfa du trèfle, dans un essai de longue durée en Suisse. Cela pourrait s'expliquer par la bonne adaptation de cette légumineuse aux conditions de faible disponibilité en P, en allouant prioritairement le P dont il dispose à la formation de nodules et à l'activité de fixation de  $N_2$  (Alkama *et al.*, 2009). Par contre, cet élément constitue un facteur limitant les quantités de N fixé par le niébé (Tableau I- 3), en limitant la production de biomasse dans ces champs.

Les facteurs relevant du choix des paysans (quantités de N et P minéral apportées, variété cultivée, entretien de la culture, etc.) se sont montrés plus déterminant dans l'explication du %Ndfa du niébé dans les champs, par rapport aux caractéristiques chimiques du sol (C total, N total,  $P_{résine}$  et pH). Contrairement à nos attentes, l'apport de quantités modérées de N dans les champs paysans a un effet positif et significatif sur le %Ndfa comme le montre la régression multiple (Tableau I- 4). L'application de petites quantités de N minéral auraient un effet *starter* sur la fixation symbiotique des légumineuses (Jansa *et al.*, 2011). Une étude récente sur le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) a montré un accroissement du nombre et du poids sec des nodules de cette légumineuse après l'application de 20 kg N ha<sup>-1</sup> comparativement au témoin sans application de N dans des sols Ethiopiens ayant des teneurs en N total plus élevées que nos champs paysans (Anteneh et Ayele, 2015).

Le type de variété de niébé cultivé est également un facteur déterminant du %Ndfa, comme le suggèrent le coefficient de régression négatif et significatif ( $b=-15$  ;  $p=0,007$ ) du type de variété (codé 1 pour les locales et 2 pour les introduites) (Tableau I- 4) et les %Ndfa significativement plus bas dans les variétés introduites de niébé comparativement aux variétés locales (Figure I- 7). Une explication serait la meilleure adaptation des variétés locales de niébé aux souches de rhizobium des sols comparativement aux variétés introduites. Cependant, les rendements plus élevés de ces variétés introduites compensent leurs %Ndfa plus bas, entraînant ainsi des quantités de N fixées similaires entre les variétés locales et celles

introduites. Les quantités de P apportées sous forme d'engrais minéral jouent également un rôle déterminant sur les quantités de N fixées par le niébé dans les champs paysans, en contribuant à corriger la limitation en P pour la production de biomasse du niébé.

### **I.4.3 Bilan N de la monoculture du niébé**

Les quantités totales de N fixées par le niébé dans les champs paysans constituent une composante importante du bilan en N dans ces champs, car les quantités de N apportées par les engrais minéraux y sont assez faibles. Ces quantités dépendent du %Ndfa et de la production de biomasse. Dans les champs paysans, les rendements plus faibles des variétés locales étaient compensés par leurs plus forts %Ndfa, conduisant à des quantités de N fixées similaires à celles des variétés introduites. Comme nous l'avons déjà montré, la teneur en  $P_{résine}$  du sol et les quantités de P apportées par les engrais minéraux jouent un rôle positif et significatif sur les quantités de N fixées par le niébé dans les champs paysans. Vu les %Ndfa assez élevés spécialement dans ces champs, une meilleure nutrition en P des plantes permettrait de lever la principale limitation de la production de biomasse (Oberson *et al.*, 2013) et d'augmenter les entrées de N à travers la fixation de  $N_2$ . Le N fixé dans la partie souterraine (racines + rhizodépôts) a une grande importance dans le bilan en N du niébé, parce que seule cette partie de la plante reste dans le champ après la récolte. Cette partie correspond également à 30% du N-fixé dans la biomasse aérienne selon nos postulats de calculs (30% du N total de la légumineuse dans la biomasse racinaire, et %Ndfa similaire dans les racines et dans la biomasse aérienne), soit en moyenne  $14 \text{ kg N ha}^{-1}$ . La contribution de la partie souterraine du niébé peut s'avérer encore plus importante vu que cette partie peut contenir jusqu'à 50% du N total de la plante tel que montré par Laberge *et al.*, (2011) sur un sol sableux du Niger.

Les quantités totales de N exportées par les graines et les fanes de niébé dépendent de la production de biomasse. Une partie importante du N de la biomasse aérienne du niébé (variant dans l'essai de Saria entre 50% avec Te et 75% avec FMO, et en moyenne de 70% dans les champs paysans) a été exportées avec les fanes plutôt que les graines. Une gestion intégrée des résidus de niébé avec une restitution des résidus ou du fumier produit à partir des résidus permettrait d'augmenter le bilan N des parcelles (Allen et Schlesinger, 2004; Douxchamps *et al.*, 2010). La faible productivité des champs de niébé semble être la principale explication du bilan de N relativement positif, que nous avons calculé. Dans l'essai de Saria, le bilan partiel de N le plus négatif a été trouvé avec FMO, où les plantes bénéficient de l'effet résiduel des

40 t ha<sup>-1</sup> de fumier apportés en année de culture de sorgho. Cet apport de fumier a entraîné à long-terme une augmentation des teneurs en N total et P disponible du sol par rapport aux autres traitements de l'essai de Saria, et une plus grande exportation de N *via* les rendements par rapport aux autres traitements. Par contre, les champs paysans qui ont reçu des amendements organiques tels que le fumier, ont un bilan N positif (Tableau I- 7) qui s'explique par leurs faibles rendements comparé aux quantités de N apportées par ces amendements. Contrairement au traitement FMO où les exportations élevées résultent de l'effet à long terme de l'application régulière de fumier, ces apports de fumier dans les champs paysans sont rares et n'ont pas permis d'accroître significativement la production de biomasse et les exportations de N *via* cette biomasse. Il faut aussi noter que les bilans calculés en tenant compte des apports de fumier sont uniquement indicatifs du fait de la variabilité des teneurs en N et du taux d'humidité de ces fumiers. Des réponses similairement faibles aux amendements organiques du niébé ont déjà été relevées par Adeoye *et al.*, (2011) au Nigeria. Les bilans obtenus dans les champs paysans sont généralement proches de zéro, surtout dans les champs de variétés introduites de niébé. En incluant par exemple les pertes de N par lessivage qui seraient de l'ordre de 10 kg N ha<sup>-1</sup> (Lesschen *et al.*, 2007) et celles par volatilisation, les calculs donneraient probablement des bilans négatifs en accords avec ceux calculés par Frossard *et al.*, (2016). Ce bilan démontre tout de même l'importance d'une bonne gestion des résidus de récoltes dans l'augmentation des apports en N dans les systèmes de culture à base de niébé, car une grande partie des exportations de N du système sont faites par cette partie de la production.



## I.5 Conclusion partielle

Dans ce chapitre nous avons montré que le %Ndfa du niébé dans les champs paysans n'était pas limité par les faibles teneurs en nutriments du sol. Cependant, les quantités de N fixées y étaient limitées par la production de biomasse qui est contrainte par la disponibilité du P dans le sol. Certains facteurs dépendant des choix des paysans tels que le type de variété de niébé, et les quantités de N et de P apportées sous forme d'engrais minéral, ont plus influencé le %Ndfa et le N-fixé par le niébé, que les caractéristiques chimiques des sols dont les teneurs en N total et en  $P_{résine}$  qui sont faibles. Dans l'essai de Saria, les différents modes de gestion de la fertilité du sol n'ont pas influencé significativement le %Ndfa du niébé, à cause des teneurs relativement élevées en N total du sol. Par contre, dans les champs paysans les apports modérés de N sous forme d'engrais minéral ont un effet positif *starter* sur le %Ndfa dans les champs paysans. Les variétés introduites ont aussi montré une capacité de fixation de  $N_2$  plus faible que les variétés locales de niébé, indépendamment des apports de N sous forme d'engrais minéral. Le N-fixé dans les champs paysans a été influencé par les apports de N et de P, par l'accroissement des rendements qui a résulté de ces apports. Les bilans en N de surface ont été légèrement positifs dans la plupart des champs paysans. Cependant, l'exportation de toute la biomasse aérienne (graines et fanes) induit un bilan N négatif lorsque la fertilité du sol n'est pas une limite pour cette production de biomasse.

## **CHAPITRE II : Influence à long-terme des pratiques de fertilisation sur les limitations en nutriments des microorganismes dans un Acrisol ferrique**

Ce chapitre a été publié comme suit :

Traoré O Y A, Kiba D I, Arnold M C, Fliessbach A, Oberholzer H R, Nacro H B, Lompo F, Oberson A, Frossard E, Bünemann E K (2016) Fertilization practices alter microbial nutrient limitations after alleviation of carbon limitation in a Ferric Acrisol. *Biol Fert Soils* 52:177-189  
doi:10.1007/s00374-015-1061-9

## Résumé

Un recyclage efficient des nutriments du sol est nécessaire pour améliorer la nutrition des plantes dans les sols qui en sont faiblement pourvus. Ce recyclage gouverné par les microorganismes du sol, peut être compromis lorsque les pratiques de fertilisation limitent leur activité, leur croissance ou leur développement. Les limitations microbiennes en nutriments du sol ont été étudiées dans un essai de longue durée (53 ans) situé à Saria dans la région du Centre-Ouest du Burkina Faso, sous une rotation sorgho-niébé, et comparant trois pratiques de fertilisation : l'application de fertilisants minéraux solubles à l'eau (fm) ; celle des fertilisants minéraux combinée au fumier de ferme (fmo) et un témoin non fertilisé (Te). Nous avons évalué les limitations en N et en P des microorganismes i) en déterminant le N et le P microbien ; ii) en mesurant la cinétique de respiration sur les échantillons de sol incubés après l'ajout de C facilement disponible (glucose), seul ou en combinaison avec du N et/ou du P, ou sans ajout ; et iii) en évaluant les changements dans la biomasse, et dans la structure des communautés microbiennes au pic de respiration par les analyses de P microbien et d'acides gras phospholipide (AGLP). Le N et le P microbiens étaient très faibles dans toutes les pratiques de fertilisation, mais plus élevés avec fmo qu'avec Te. Le C facilement disponible était le premier facteur limitant la respiration des microorganismes dans toutes les pratiques de fertilisation. Après la correction de la limitation en C, la plupart des indicateurs tendent à montrer une co-limitation en N et en P dans Te. En revanche, les cinétiques de respiration avec fmo et fm étaient uniquement limitées par le N, tandis que la formation de biomasse microbienne avec fmo était également limitée en P. Les analyses d'AGPL ont indiqué une croissance préférentielle des fongiques après l'ajout de C, et une limitation en P pour les changements dans la structure des communautés microbiennes dans fm. L'application à long terme des fertilisants a le plus souvent corrigé la limitation des microorganismes en P mais pas en N. La culture sans apports de fertilisants conduit à long terme à des limitations N et en P pour les microorganismes du sol. Ces limitations sont plus ou moins atténuées par une fertilisation exclusivement minérale ou combinée avec l'apport de fumier.

**Mots-clés :** Nutriments, Microorganismes, Respiration Induite par les Substrats, Acides gras phospholipide, Azote, Phosphore, Burkina Faso

## II.1 Introduction

Dans les régions semi-arides d'Afrique sub-saharienne, la faible teneur en nutriments disponibles dans les sols, notamment l'azote (N) et le phosphore (P), constitue le deuxième facteur limitant la croissance des plantes après la pluviosité (Bationo et Buerkert 2001). Les sols dominants dans cette région sont des Lixisols ou sol ferrugineux tropicaux lessivés, caractérisés par une structure instable et une faible capacité d'échange cationique due à une faible teneur en argiles qui sont prédominées par le type 1 :1 (kaolinites). Ces sols fortement altérés ont des teneurs en carbone (C) total d'environ  $10 \text{ g kg}^{-1}$ , et de moins de  $1 \text{ g kg}^{-1}$  de N total (Pallo *et al.*, 2009b), et contiennent de très petites quantités de P total et disponible (Compaoré *et al.*, 2003). En plus de ces contraintes intrinsèques, une baisse supplémentaire des teneurs en matière organique et en nutriments est généralement observée dans ces sols après quelques années de mise en culture, à moins que des actions adéquates de gestion de la fertilité du sol telles que l'utilisation de fertilisants, d'amendements organiques et de techniques de conservation du sol ne soient adoptées (Roose et Barthès, 2001; Bationo *et al.*, 2007). Les études dans les essais de longue durée ont montré que l'utilisation combinée de fertilisants minéraux solubles à l'eau et de fumier, est la stratégie de fertilisation la plus appropriée pour maintenir la productivité et la fertilité de ces sols comparativement à l'utilisation exclusive des fertilisants minéraux solubles à l'eau (Mando *et al.*, 2005; Bationo *et al.*, 2007).

En assurant le recyclage de la matière organique du sol, les microorganismes du sol jouent un rôle clé dans la fourniture de nutriments aux cultures (Whalen, 2014). Ce rôle serait particulièrement plus important dans des sols ayant de petites réserves en nutriments disponibles. Les processus importants tels que la minéralisation du N organique et la nitrification sont gouvernés par les microorganismes du sol (McNeill et Unkovich, 2007). Les microorganismes du sol influencent également la disponibilité du P pour les plantes, par exemple en gouvernant la minéralisation du P organique du sol (Bünemann, 2015). L'ampleur de ces fonctions microbiennes est contrôlée par la biomasse et l'activité microbienne du sol, qui dépendent de la disponibilité en sources d'énergie et de nutriments. La biomasse, l'activité et la structure des communautés microbiennes du sol, sont influencées par le statut en nutriments et la fertilisation du sol (Zhong *et al.*, 2010; Chakraborty *et al.*, 2011; Berthrong *et al.*, 2013), et les limitations en nutriments pourraient affecter le rôle des microorganismes dans le recyclage des éléments nutritifs du sol.

La limitation microbienne en nutriments du sol peut être étudiée en mesurant l'effet de l'addition d'un substrat (composés carbonés uniquement ou en combinaison avec des nutriments) sur les cinétiques de respiration microbienne, avec pour principe que la respiration microbienne est plus élevée lorsque le substrat limitant est apporté (Demoling *et al.*, 2007). Les différences de respiration microbienne additionnelle (RMA) entre des sols amendés ou pas avec un substrat donné peuvent ainsi indiquer les limitations microbiennes en nutriments.

L'approche de la RIS ne permet pas à elle seule de mettre en évidence toutes les formes de limitation en nutriments des microorganismes du sol. Par exemple, dans un Ferralsol Kenyan, Ehlers *et al.*, (2010) ont montré que la respiration microbienne était limitée par la faible teneur en P disponible du sol. Cependant, la teneur relativement élevée en P total ( $636 \text{ mg kg}^{-1}$ ) de ce sol permettait aux microorganismes de mobiliser suffisamment de P pour leur croissance lorsque leurs limitations en C et N étaient levées. En revanche dans un sol avec des petites réserves de P, les microorganismes pourraient être incapables de mobiliser le P dont ils ont besoin pour leur croissance lorsque le C et le N sont disponibles en excès. Les conclusions sur la limitation en nutriments pour les microorganismes du sol, basées sur les cinétiques de respirations, devraient donc être vérifiées en utilisant d'autres indicateurs. Ces indicateurs peuvent être par exemple, la croissance microbienne évaluée par l'incorporation de leucine (Göransson *et al.*, 2011; Kamble et Bååth, 2014) ou les changements de la structure des communautés microbiennes indiqués par l'analyse des acides gras phospholipides (AGPL) (Bünemann *et al.*, 2004a). L'utilisation des analyses d'AGPL permet d'évaluer la biomasse microbienne et les modifications de la structure des communautés microbiennes induites par l'addition de substrats (Frostegård *et al.*, 2011).

Les objectifs de cette étude étaient d'évaluer les effets de différentes pratiques de fertilisation appliqués pendant 53 ans à un Acrisol du Centre-Ouest du Burkina Faso ayant un pauvre statut de nutriment, sur (1) la biomasse microbienne (à travers des analyses de N et P microbien) et (2) les potentielles limitations en nutriments des microorganismes (à travers une expérience d'incubation avec différents apports de substrats et la détermination de l'émission de  $\text{CO}_2$  ainsi que les extractions de de P microbien et de AGPL au pic de respiration). Nous faisons les hypothèses que (1) l'application à long-terme de fumier et d'engrais minéraux solubles dans l'eau augmente la biomasse et l'activité microbienne du sol, et modifie la structure des communautés microbiennes par comparaison à l'application exclusive d'engrais minéraux solubles dans l'eau ou à l'absence totale de fertilisation, du fait de l'apport

additionnel de C ; et (2) indépendamment de la pratique de fertilisation, les cinétiques de respiration et la formation de biomasse microbienne sont tous deux limités en N et en P lorsqu'une quantité suffisante de C labile est donnée sous forme de glucose à cause des faibles teneurs en nutriments (N et P) dans l'Acrisol étudié.

## II.2 Matériels et méthodes

### II.2.1 Essai de longue durée

Nous avons pris des échantillons de sol dans l'essai entretien de la fertilité des sols localisé à Saria (altitude: 300 m, latitude: 12°16' 46" N, longitude: 2°9' 24"O) dans le Centre-Ouest du Burkina Faso, et dont les caractéristiques ont été données dans le chapitre I. Différentes pratiques de fertilisation et leurs effets à long terme sur les rendements des cultures et la fertilité des sols, sont comparés dans cet essai. Il a un design en block Fisher complètement randomisé avec 6 répétitions et 6 pratiques de fertilisation comme traitements principaux, et différentes rotations comme traitements secondaires (Pieri, 1989; Sedogo, 1993; Lompo *et al.*, 2009).

Les pratiques de fertilisations suivantes ont été sélectionnées dans le cadre de cette étude :

- **Témoin (Te)** : ne recevant aucune application de fertilisants ;
- **fmo** : faible dose de fertilisants minéraux (en kg ha<sup>-1</sup> an<sup>-1</sup>: 37 N, 10 P, 11.6 K) + application de fumier à la dose de 5 t ha<sup>-1</sup> 2 an<sup>-1</sup>. Les fertilisants minéraux solubles dans l'eau sont l'urée contenant 46% de N, le complexe NPK contenant 14% de N, 10% de P et 12% de K, et le KCl contenant 50% de K ;
- **fm** : faible dose de fertilisants minéraux (en kg ha<sup>-1</sup> an<sup>-1</sup>: 37 N, 10 P, 11.6 K).

Dans les traitements fertilisés, l'apport de N est fractionné à 14 kg N ha<sup>-1</sup> apporté avec le complexe NPK au semis, et les 23 kg N ha<sup>-1</sup> restant sont apportés avec l'urée au stade de montaison.

Pour chaque pratique de fertilisation, nous avons choisi la rotation sorgho (*Sorghum bicolor*) et niébé (*Vigna unguiculata*) dans laquelle une année de culture de sorgho est alternée avec la culture de niébé l'année suivante. Cette rotation a été établie en 1975, succédant une rotation Sorgho/ arachide (*Arachis hypogea*) qui avait commencé avec le début de l'essai en 1960. Les résidus des cultures produites dans les traitements étudiés sont exportés des parcelles et utilisées comme fourrage pour le bétail.

Le fumier est apporté dans les années paires, juste avant les semis, lorsque le sorgho est cultivé sur l'essai. Ce fumier est composé de bouse de vache collectée dans l'étable de la station de recherche, puis stockée dans une fosse durant la saison sèche. Un échantillon de

fumier sec collecté dans la station de recherche en 2010 contenait (en g kg<sup>-1</sup>, moyenne  $\pm$  écart type standard) 191  $\pm$  2 C, 16,4  $\pm$  0,1 N et 3,9  $\pm$  0,1 P. A la dose de 5 t ha<sup>-1</sup> matière sèche, l'application de fumier résulte en l'addition (en kg ha<sup>-1</sup>) de 955 C, 82 N et 19,5 P.

Les effets à long terme des trois pratiques de fertilisation étudiés sur les rendements des cultures ont été reportés par Pieri, (1989) et Sedogo, (1993). Bien que très dépendants de la pluviosité, les rendements typiques des uniques années 2009 et 2010 sont présentés dans le Tableau II- 1. Le plus haut rendement grains de sorgho d'environ 2,3 t ha<sup>-1</sup> a été obtenu avec fmo et le plus bas (0,3 t ha<sup>-1</sup>) avec Te. Le rendement grains du niébé a varié seulement entre 0,5 et 0,8 t ha<sup>-1</sup> et était significativement plus élevé avec fmo. En général, de plus grandes quantités de N et de P sont exportées par les deux cultures avec fmo que qu'avec fm et Te.

## **II.2.2 Echantillonnage et caractéristiques générales des sols**

Les échantillons de sol ont été collectés à l'aide d'une daba en Janvier 2013, dans la profondeur 0-10 cm des parcelles Te, fmo et fm de la rotation sorgho niébé. Dans chaque parcelle, les prélèvements ont été effectués dans cinq points dans la parcelle utile, puis combinés pour donner un échantillon composite par parcelle élémentaire. Seulement trois répétitions ont été échantillonnées car les autres blocs de l'essai ont tendance à être engorgés d'eau après de fortes pluies. L'échantillonnage a été effectué en condition de sol sec (en absence des cultures) et la teneur moyenne en eau des sols étaient à ce moment-là de 6  $\pm$  2 g d'eau kg<sup>-1</sup> de sol. Les sols ont été tamisés à 2 mm, conditionnés dans des sacs plastiques et envoyés dans le laboratoire de nutrition des plantes de l'ETH-Zürich (en Suisse) où ils ont été stockés à température ambiante pendant deux mois avant utilisation. Le pH eau du sol est rangé dans l'ordre Te > fmo > fm ; Te était le traitement le plus appauvri en nutriments, spécialement en P total et en P inorganique extractible (Tableau II- 2).



**Tableau II- 1** : Rendements grains et quantités d'azote et de phosphore exportés par le niébé en 2009 et par le sorgho en 2010 dans les traitements Te, fm, et fmo de l'essai de longue durée de Saria (moyennes de trois répétitions au champ)

Pratiques de fertilisation	Niébé (2009)			Sorgho (2010)		
	Rendement grain	Exportation de nutriments		Rendement grain	Exportation de nutriments	
	(t ha <sup>-1</sup> )	(kg ha <sup>-1</sup> )		(t ha <sup>-1</sup> )	(kg ha <sup>-1</sup> )	
		N	P		N	P
<b>Te</b>	0,50 b	43,6 a	3,5 a	0,30 b	12,6 b	1,6 b
<b>fmo</b>	0,81 a	93,6 a	10,6 b	2,27 a	69,6 a	13,6 a
<b>fm</b>	0,60 ab	51,6 a	5,1 a	0,60 b	21,6 b	3,5 b
<b>ESM<sup>†</sup></b>	0,71	12,6	1,2	0,17	8,0	1,4
<b>Signification<sup>††</sup></b>	*	NS	*	***	**	**

<sup>†</sup> ESM : Erreur Standard de la moyenne

<sup>††</sup> Seuil de probabilité de signification : \*<0.05; \*\*<0.01; \*\*\*<0.001, NS: not significatif

Dans chaque colonne, des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les pratiques de fertilisation au seuil de probabilité de 0,05

**Tableau II- 2 :** Caractéristiques chimiques du sol dans l'essai de Saria à 0-10 cm de profondeur (moyenne de trois répétitions au champ).

Pratiques de Fertilisation	pH <sub>H2O</sub> <sup>α</sup>	C Total <sup>α</sup>	N Total <sup>α</sup>	P total <sup>β</sup>	NaOH- EDTA-P <sub>i</sub> <sup>β</sup>	NaOH- EDTA-P <sub>o</sub> <sup>β</sup>
		g kg <sup>-1</sup>	g kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>
Te	5,9 a	1,6 b	0,19 b	71 b	18,3 b	12,6 b
fmo	5,7 b	3,0 a	0,32 a	136 a	79,3 a	18,9 ab
fm	5,3 c	2,0 ab	0,23 b	132 ab	67,5 a	27,3 a
ESM†	0,03	0,2	0,19	21	9,1	2,9
Signification††	***	*	**	*	***	**

<sup>α</sup> Mesurés sur des échantillons prélevés en 2010 ; pH mesuré dans une suspension sol : eau et rapport 1 :2,5 ; C et N total déterminés sur des échantillons écrasés et encapsulés à l'aide d'un analyseur CNS (ThermoFisher Flash EA 1112 series)

<sup>β</sup> Mesurés sur des échantillons prélevés en 2013 ; P total déterminé par colorimétrie après digestion avec du H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré et de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Anderson and Ingram 1993); NaOH-Pi et -Po extrait sur des échantillons écrasés, avec du 0,25 M NaOH-0,05 EDTA puis déterminé par colorimétrie respectivement avant et après une digestion des extraits au persulfate (Bowman and Moir 1993)

† ESM : Erreur Standard de la moyenne

†† Seuil de probabilité de signification : \*<0,05; \*\*<0,01; \*\*\*<0,001, NS: non significatif

Dans chaque colonne, des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les pratiques de fertilisation au seuil de probabilité de 0,05

### II.2.3 Dispositif expérimental et configuration des additions de substrats

Pour étudier les limitations microbiennes en nutriments, nous avons i) analysé les sols provenant directement de l'essai de longue durée et ii) mis en place une expérience d'incubation de sol avec addition de substrats. Une vision d'ensemble du calendrier expérimental est présentée dans la Figure II- 1. Dans chaque partie, les sols des trois répétitions de chaque pratique de fertilisation ont été analysés séparément.

Temps (jours)		Pré-incubation	Incubation
		-14-----0	0-----7
Analyse des sols provenant de l'essai	Teneur en eau su sol (%CAC)	60%	
	N <sub>min</sub> , N <sub>mic</sub> , P <sub>mic</sub>	X	
Expériences d'ajout de substrats	Teneur en eau su sol (%CAC)	40%	60%
	Ajout de substrats		X
	Mesures horaires de la respiration du sol		XXXXXXXXXXXXX
	P <sub>résine</sub> , P <sub>mic</sub> , AGPL total		X (au pic de respiration)

CAC : Capacité Au Champ ; N<sub>mic</sub> : N microbien ; P<sub>mic</sub> : P microbien N<sub>min</sub> : N minéral ; P<sub>résine</sub> : P disponible extrait par la méthode des résines ; AGPL= Acide Gras PhosphoLipide

**Figure II- 1 :** Vue d'ensemble du calendrier expérimental

Avant de procéder à l'analyse des sols provenant directement de l'essai, les sols ont été pré-incubés pendant deux semaines à 25 °C et à 60% de leur capacité au champ (CAC) équivalant à 87 g d'eau kg<sup>-1</sup> sol sec, pour imiter le démarrage de l'activité microbienne au début de la saison pluvieuse. Après cette pré incubation, le N et le P disponible et microbien ont été déterminés en utilisant les méthodes décrites plus loin.

L'expérience d'incubation avec addition de substrats a été faite pour identifier les limitations en C, N et P des microorganismes du sol. Elle consiste à suivre des paramètres comme la respiration, la croissance de la biomasse microbienne, etc., après l'ajout au sol de substrats

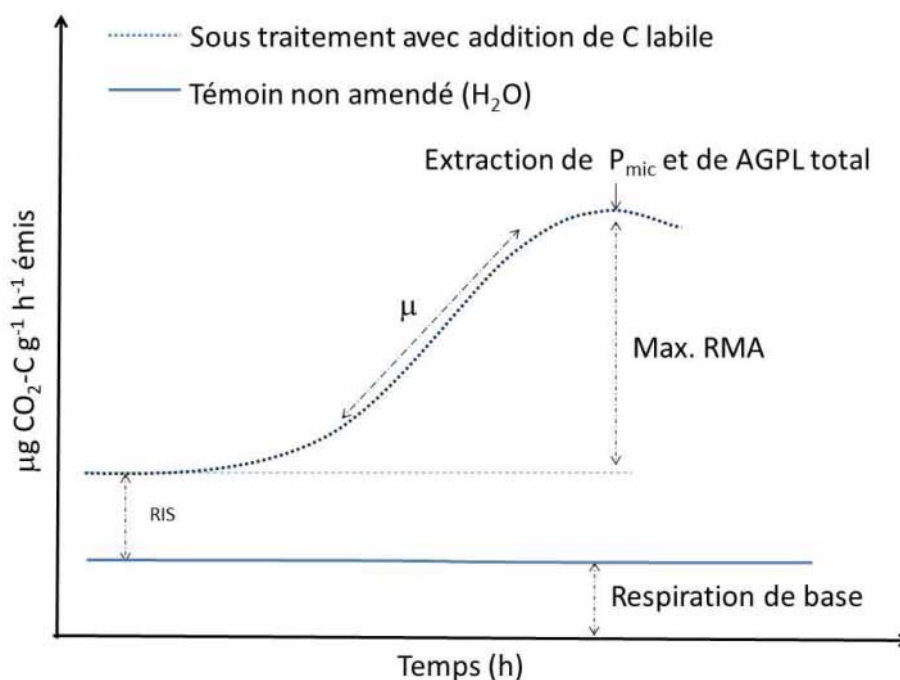
contenant ou pas, les nutriments dont on cherche à mettre en évidence le caractère limitant pour les microorganismes du sol.

A température et humidité constantes, et en absence de substrats récemment ajoutés, les sols présentent un niveau stable de respiration de base (Figure II- 2). Après l'addition d'un substrat contenant du C labile, le dégagement de  $\text{CO}_2$  augmente instantanément à un niveau appelé respiration induite par le substrat (RIS) qui est corrélé avec la biomasse vivante et active du sol (Anderson et Domsch, 1978). Après quelques heures, cette RIS est suivie par une augmentation exponentielle de la respiration microbienne, reflétant la croissance exponentielle ( $\mu$ ) de la biomasse microbienne liée au substrat ajouté (Nordgren *et al.*, 1988; Scheu, 1993). La différence entre la RIS et la respiration durant cette phase de croissance de la respiration est appelée respiration microbienne additionnelle (RMA). La biomasse microbienne et les changements dans la structure des communautés microbiennes après l'ajout des différents substrats peuvent également être évalués au pic de respiration (Max RMA) pour servir d'indicateurs de limitation en nutriments pour les microorganismes du sol.

Pour l'expérience d'incubation de sol avec addition de substrats, les sols ont d'abord été pré-incubés à 40% CAC (équivalant à  $58 \text{ g d'eau kg}^{-1} \text{ sol sec}$ ) pendant deux semaines. Puis, il s'en est suivi l'addition de C, de C plus N (CN), de C plus P (CP) ou de C plus N plus P (CNP) en solutions aqueuse, ou l'addition d'eau distillée dans le control non amendé ( $\text{H}_2\text{O}$ ). La teneur en eau était ainsi relevée à 60% CAC dans chaque sous traitements. Dans les sous traitements avec addition de C,  $2 \text{ mg C g}^{-1} \text{ sol sec}$  ont été ajoutés avec une solution de glucose similairement à Demoling *et al.*, (2007). Dans les sous traitements CN, CP et CNP,  $0,4 \text{ mg N g}^{-1} \text{ sol sec}$  ou  $0,13 \text{ mg P g}^{-1} \text{ sol sec}$  ou les deux, ont été fournis en plus du C, sous forme de nitrates d'ammonium ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) pour le N et de phosphate dihydrogène potassium ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) pour le P. Les quantités de N et de P ont été déterminées pour lever toute limitation potentielle de l'élément apporté pour les microorganismes du sol. Un effet du K apporté aux microorganismes du sol avec le P ne peut pas être exclu. La respiration du sol a été mesurée toute les heures durant six jours d'incubation à  $25^\circ\text{C}$ . Les incubations de sol avec l'addition de N ou de P uniquement n'ont pas été incluses, car une expérimentation préparatoire avait montré que la respiration de sol n'était pas affectée par l'apport des nutriments en l'absence d'apport de C labile.

La même expérimentation a été répétée avec les sous traitements  $\text{H}_2\text{O}$ , CN, CP, et CNP, mais arrêtée au pic de respiration pour les sous traitements CN, CP et CNP et à une période

arbitraire durant l'incubation pour H<sub>2</sub>O vu que la respiration de sol demeure stable dans ce sous traitement (Figure II-2). Le P microbien du sol a été déterminé immédiatement sur les sols humides tandis que le sol restant a été immédiatement congelé à -20 °C jusqu'à l'extraction des AGPL. L'incubation avec l'addition de C uniquement n'a pas été répétée, parce que la respiration du sol dans le sous traitement était relativement similaire avec celle de CP.



**Figure II- 2 :** Diagramme schématisant les principes de la cinétique de respiration après l'ajout de substrats. RIS : Respiration induite par le substrat ; Max RMA : Respiration microbienne additionnelle maximale ;  $\mu$  : croissance exponentielle.

## II.2.4 Evaluation et mesure de la respiration du sol

La respiration du sol après l'ajout des substrats a été évaluée en utilisant un appareil Heinemeyer qui mesure chaque heure, l'émission de CO<sub>2</sub> (Heinemeyer *et al.*, 1989). Plusieurs paramètres ont été calculés à partir des mesures de respiration (Figure II- 2). Les respirations moyennes durant la période entière de l'incubation (6 jours) avec le sous traitement H<sub>2</sub>O, ont été considérées comme étant la respiration de base pour chaque pratique de fertilisation. La RIS a été calculée pour tous les autres sous traitements en soustrayant la respiration de base de la respiration moyenne mesurée avant l'augmentation exponentielle qui a commencé entre

8 h et 22 h après l'addition des substrats, en fonction des sous traitements et des pratiques de fertilisation. La RMA maximale a été calculée en faisant la différence entre le pic de respiration et la RIS. La croissance exponentielle ( $\mu$ ) a été calculée comme étant la pente de la courbe en fonction du temps de respiration log-transformé durant la phase de croissance exponentielle.

## II.2.5 Détermination du N du P disponibles et microbiens

Le N microbien ( $N_{mic}$ ) a été déterminé durant l'analyse des sols provenant directement de l'essai par la méthode de fumigation au chloroforme suivie de l'extraction dans 40 ml de 0,5 M  $K_2SO_4$  (Vance *et al.*, 1987), en utilisant l'équivalent de 10 g de sol sec, et 2 répétitions analytiques. La concentration de N total dans les extraits a été déterminée à l'aide d'un Total Organic Carbon and Nitrogen analyzer (TONC) (Formacs SERIES, Skalar, The Netherlands). Le N labile provenant de la fumigation a été calculé en faisant la différence entre le N total extrait des échantillons fumigés et non fumigés, et a été utilisé comme un indicateur du  $N_{mic}$  sans l'utilisation d'un facteur de conversion. Les concentrations d'ammonium et de nitrates dans les extraits des échantillons non-fumigés ont été mesurées dans un analyseur à injection de flux (San++ System, Skalar, The Netherlands), et additionnés pour obtenir le N minéral ( $N_{min}$ ) du sol.

Le P microbien a été déterminé aussi bien sur les sols provenant directement de l'essai, que sur les sols incubés après l'ajout des substrats, par la méthode de fumigation-extraction avec des membranes de résine échangeuses d'anion d'après Kouno *et al.*, (1995). L'équivalent de 4g de sol sec dans 40 ml d'eau distillée, deux membranes de résine (6 cm x 2 cm BDH #55164) saturées de  $CO_3^{2-}$  et 3 répétitions analytiques de chacun des sous-traitements (non-fumigé, fumigé avec de l'hexanol, et deux quantités connues de P inorganique ajoutées à des échantillons non-fumigés) ont été utilisés. Le P inorganique adsorbé sur les membranes de résine a été élué dans 30 ml d'une solution de 0,1 M NaCl et 0,1 M HCl dont la concentration a été déterminée par colorimétrie au vert de Malachite (Ohno et Zibilske, 1991). Le P extrait par les résines dans les échantillons non-fumigés ( $P_{résine}$ ) a été utilisé comme un indicateur du P disponible du sol. Le P labile à l'hexanol a été calculé en faisant la différence entre le P extrait des échantillons fumigés ( $P_{fum}$ ) et non-fumigés, corrigée par la proportion de récupération du P inorganique ( $P_{rec}$ ). Le  $P_{rec}$  a été calculée en mesurant le P récupéré des échantillons ayant subi les additions de quantité connues (5 et 10 mg P  $kg^{-1}$  sol) de P

inorganique (Equation II-1). Le P labile à l'hexanol ainsi calculé a été utilisé comme un indicateur du P microbien ( $P_{mic}$ ) sans l'utilisation d'un facteur de conversion.

$$P_{mic} (\text{mg kg}^{-1} \text{ sol}) = \frac{P_{fum} - P_{résine}}{P_{rec}} \quad (\text{II-1})$$

## II.2.6 Extraction et analyses des AGPL

Les AGPL ont été extraits des échantillons de sols congelés sur l'équivalent de 6 g de sol sec suivant la méthode de Frostegård *et al.*, (1991). Premièrement, les lipides ont été extraits en utilisant 15 ml d'un mélange de  $\text{CHCl}_3$ , MeOH et d'un tampon de citrate (1:2:0.8) dont le ratio a été réduit à 0,67 pour tenir compte de l'eau contenue dans les sols humides (60% CAC). Des colonnes d'acide silicique ont ensuite été utilisées pour fractionner les lipides en lipides neutres, glycolipides et phospholipides par une élution successive avec du  $\text{CHCl}_3$ , de l'acétone et du MeOH. Les phospholipides ont été estérifiés par une méthanolyse moyennement alcaline, puis les AGPL ainsi obtenus ont été séchés sous un flow de  $\text{N}_2$  avant d'être gardés à  $-20^\circ\text{C}$  jusqu'à leur analyse. Pour les mesures d'AGPL, les échantillons séchés ont été dilués dans 100  $\mu\text{l}$  d'une solution d'isooctane contenant 0,35  $\text{nmol } \mu\text{l}^{-1}$  d'acide nonadecanoïque méthyl-ester utilisé comme standard interne permettant le calcul de la concentration molaire des AGPL. Le mélange dilué a été injecté dans un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse MSD 5973 (AGILENT Technologies, Wilmington, USA) pour être analysé.

Vingt différents AGPL compris entre *i15:0* et *cy19:0* ont été identifiés et quantifiés. Les AGPL *i15:0*, *16:1 $\omega$ 9*, *i17:0*, *a17:0*, *cy17:0*, *n17:0*, *cy19:0*, ont été choisis comme étant les biomarqueurs spécifiquement bactériens tandis que l'AGPL *18:2 $\omega$ 6* a été utilisé comme biomarqueur fongique (Frostegård et Bååth, 1996; Zelles, 1997). Tous les autres AGPL ont été considérés comme étant non-spécifiques et combinés aux biomarqueurs spécifiques pour donner la quantité totale de d'AGPL utilisée comme un indicateur de la biomasse microbienne. Le ratio fongique/bactérien (rapport f/b) a été calculé en divisant la concentration de l'AGPL fongique-spécifique *18:2 $\omega$ 6* par la somme des AGPL spécifiques aux bactéries.

### **II.2.7      Analyses statistiques**

Des analyses de variance (ANOVA) ont été effectuées après avoir vérifié l'homogénéité des variances et la distribution normale des données, en utilisant le modèle linéaire général avec le logiciel SPSS statistics 17.0. Les effets des pratiques de fertilisation ont été testés avec une ANOVA à un facteur suivi du test de comparaison de Tukey, tandis que les effets combinés des pratiques de fertilisation et de l'addition des substrats ont été testés par une ANOVA à deux facteurs. Les changements dans la structure des communautés microbiennes ont été analysés par une analyse en composantes principales (ACP) sur l'abondance relative des AGPL individuels (données standardisées des valeurs en pourcentage des AGPL individuels) en utilisant le logiciel CANOCO pour Windows 4.5. Des coefficients de corrélation de Pearson des divers indicateurs de la limitation des microorganismes du sol en nutriments ont également été calculés en utilisant SPSS statistics 17.0.



## II.3 Résultats

### II.3.1 Effet à long-terme des pratiques de fertilisation sur le N et le P disponibles et microbiens

En général, de très faibles niveaux de biomasse microbienne indiqués par le  $N_{mic}$  et le  $P_{mic}$  ont été trouvés dans toutes les pratiques de fertilisation (Tableau II- 3). Les plus faibles valeurs de  $N_{mic}$  et de  $P_{mic}$  ont été observées avec Te, tandis que fmo et fm ont eu des teneurs en  $N_{mic}$  et en  $P_{mic}$  plus élevées. De même, les teneurs en  $N_{min}$  et en  $P_{résine}$  étaient plus faibles dans Te que dans fmo et fm. Les différences entre les pratiques de fertilisation étaient particulièrement plus importantes pour le  $P_{résine}$  a augmenté d'un facteur de 7 à 9 avec fm et fmo comparativement à Te.

**Tableau II- 3 :** N minéral ( $N_{min}$ ) P résine extractible ( $P_{résine}$ ) N microbien ( $N_{mic}$ ) P microbien ( $P_{mic}$ ) et respiration de base dans les échantillons de sol prélevés en 2013 dans trois répétitions au champ de l'essai de Saria à 0-10 cm de profondeur.

Pratiques de fertilisation	$N_{min}$	$P_{résine}$	$N_{mic}$	$P_{mic}$	Respiration de base
	mg kg <sup>-1</sup> 1	mg kg <sup>-1</sup> 1	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	µg CO <sub>2</sub> -C g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>
Te	5,5 b	0,9 b	2,1 b	0,4 b	0,30 a
fmo	11,7 a	9,1 a	3,7a	1,5 a	0,33 a
fm	15,3 a	7,2 a	2,9 ab	1,8 a	0,24 a
ESM <sup>†</sup>	1,5	1,1	0,6	0,4	0,12
Signification <sup>††</sup>	**	**	NS	*	NS

<sup>†</sup> ESM : Erreur standard de la moyenne

<sup>††</sup> Seuil de probabilité de signification : \*<0,05; \*\*<0,01; \*\*\*<0,001, NS: non significatif

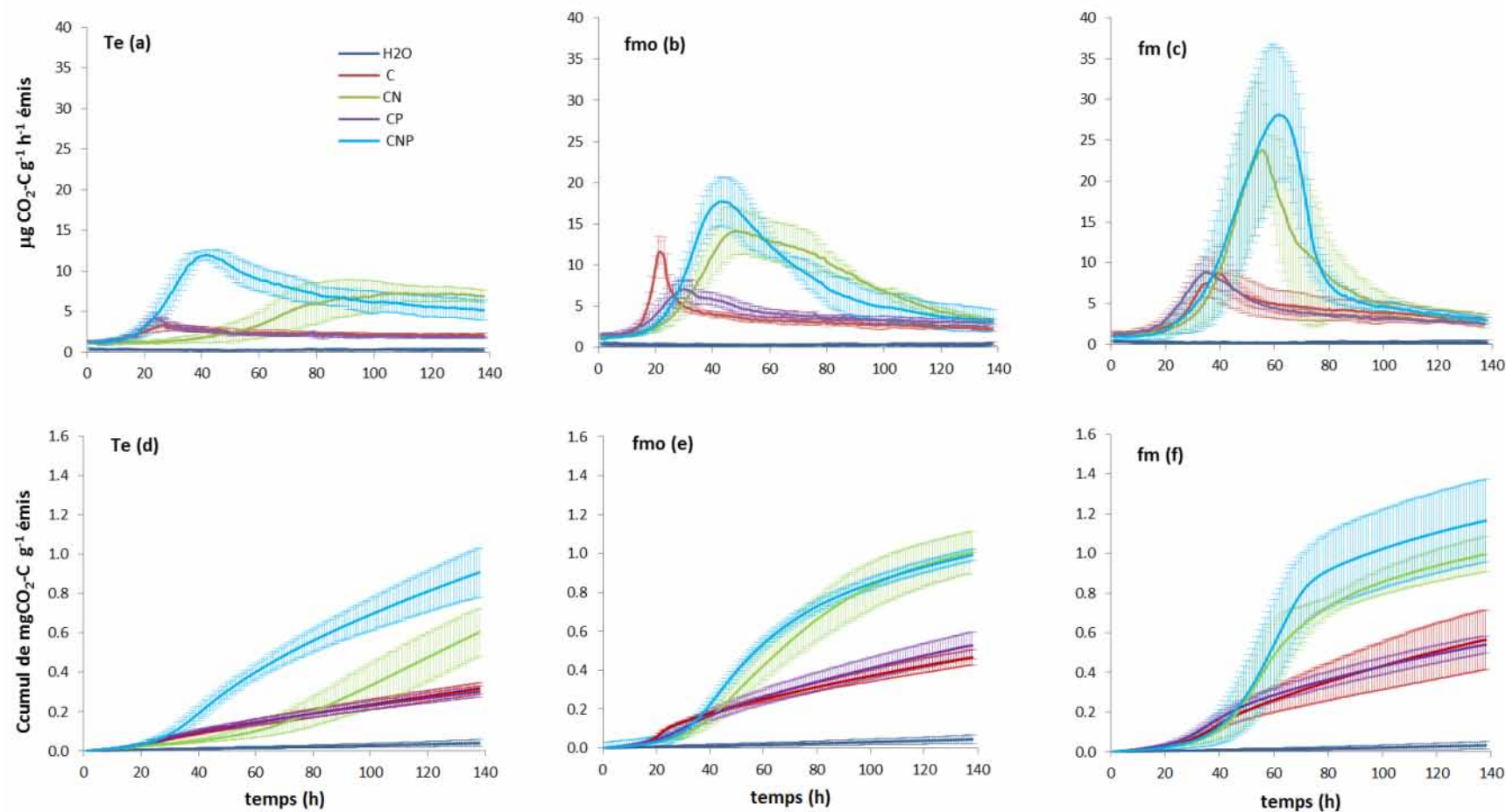
Dans chaque colonne, des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les pratiques de fertilisation au seuil de probabilité de 0,05

### II.3.2 Effets des pratiques de fertilisation sur les cinétiques de respiration

Les respirations de base mesurées dans les sous traitements H<sub>2</sub>O étaient similaires dans toutes les pratiques de fertilisation, et rangées entre 0,2 et 0,3  $\mu\text{g CO}_2\text{-C g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (Tableau II- 3). La RIS a varié entre 0,8 et 1,2  $\mu\text{g CO}_2\text{-C g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , sans différence significative entre les pratiques de fertilisation.

Avec Te et fm, l'ajout de C avec P (CP) a résulté en une courbe de respiration horaire similaire à l'addition de C uniquement (Figure II- 3 a, c). Avec fmo, l'addition de C uniquement a causé une augmentation rapide, mais brève, de la respiration qui n'a pas été observée après l'ajout de CP (Figure II- 3 b). Les courbes cumulatives de respiration après l'ajout de C ou de CP étaient similaires avec chaque pratique de fertilisation (Figure 3d-f). A la fin de l'incubation, l'émission cumulative de C dans les sous traitements C et CP a atteint approximativement 0,3 ; 0,5 et 0,5  $\text{mg CO}_2\text{-C g}^{-1}$  respectivement avec Te, fmo et fm (Tableau II- 4).

Le plus grand pic d'émission horaire de CO<sub>2</sub>-C était toujours observé après l'ajout de CNP, mais la différence entre les courbes de respiration horaire dans les sous traitements CN et CNP était plus grande avec Te qu'avec fmo et fm (Figure II- 3 a-c). Les courbes cumulatives d'émission de CO<sub>2</sub>-C étaient alors similaires après l'ajout de CN et CNP aussi bien dans fmo que dans fm, atteignant une émission de CO<sub>2</sub>-C de 1,0 à 1,2  $\text{mg g}^{-1}$ . Toutefois, elles ont différé avec Te où l'émission de CO<sub>2</sub> était retardée après l'ajout de CN (Figure II- 3 d-f ; Tableau II- 4). En conséquence, l'émission cumulée de C avec Te à la fin de l'incubation, a atteint seulement 0,6  $\text{mg CO}_2\text{-C g}^{-1}$  avec le sous traitement CN, contre 0,9  $\text{mg CO}_2\text{-C g}^{-1}$  avec le sous traitement CNP.



**Figure II- 3 :** Respiration du sol durant les premiers 138 heures après l’ajout des substrats (H<sub>2</sub>O, C, CN, CP, CNP). Courbes de respiration horaire (a-c) et cumul de respiration (d-f). Les barres d’erreur montrent écarts types standards dérivés des trois répétitions au champ de chaque pratique de fertilisation

Les respirations microbiennes additionnelles (RMA) maximums ont varié de  $2,5 \pm 0,5 \mu\text{g CO}_2\text{-C g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  avec Te après l'ajout de C uniquement, à  $31,2 \pm 6,5 \mu\text{g CO}_2\text{-C g}^{-1} \text{ h}^{-1}$  avec fm après l'ajout de CNP (Tableau II- 4). Les RMA maximums enregistrées après les ajouts de CN, CP et CNP étaient toujours rangés dans l'ordre  $\text{Te} < \text{fmo} < \text{fm}$ . Dans chaque pratique de fertilisation, la RMA mesurée après l'ajout de CP était similaire à celle après l'ajout de C uniquement. Finalement, la plus grande RMA était toujours trouvée après l'ajout de CNP, suivie de l'ajout de CN.

Les croissances exponentielles après ajout de C uniquement ont varié de  $0,02 \text{ h}^{-1}$  dans Te, à  $0,087 \text{ h}^{-1}$  dans fmo (Tableau II- 4). Avec fm, des valeurs similaires de  $\mu$  ont été observées après les additions de C, CN, CP et CNP tandis qu'avec fmo elles étaient inférieures pour l'ajout de CN, CP et CNP comparativement à l'ajout de C uniquement. Avec Te, la valeur de  $\mu$  était plus faible après l'ajout de C et CN qu'après l'ajout de CP et CNP.

**Tableau II- 4 :** Respiration microbienne additionnelle (RMA), émission cumulative de C durant 138 h, croissance exponentielle ( $\mu$ ) et rapports fongique/bactérien après l'ajout des substrats aux échantillons prélevés en 2013 dans trois répétitions au champ de l'essai de Saria à 0-10 cm de profondeur. Fert.= pratiques de fertilisation (Te, fmo, fm), Substrat= Substrats ajoutés (H<sub>2</sub>O, C, CN, CNP)

Pratiques de fertilisation	Substrat ajouté	Max. RMA	Cumul de C	$\mu$	rapport
		$\mu\text{g CO}_2\text{-C g}^{-1} \text{ h}^{-1}$	émis $\text{mg CO}_2\text{-C g}^{-1}$	$\text{h}^{-1}$	f/b
<b>Te</b>	H <sub>2</sub> O	N/A	0,04 ab	N/A	0,01 a
	C	2,5 a	0,32 bc	0,020 ab	ND
	CN	7,0 ab	0,60 d	0,016 a	0,39 abc
	CP	3,5 a	0,30 abc	0,039 c	0,23 ab
	CNP	11,2 bc	0,91 e	0,040 c	2,35 e
<b>fmo</b>	H <sub>2</sub> O	N/A	0,04 ab	N/A	0,06 ab
	C	12,0 bc	0,47 cd	0,087 d	ND
	CN	13,6 bc	1,01 e	0,032 abc	1,11 cd
	CP	6,2 ab	0,53 cd	0,036 bc	0,27 abc
	CNP	16,8 c	0,99 e	0,047 c	1,43 de
<b>fm</b>	H <sub>2</sub> O	N/A	0,03 a	N/A	0,06 ab
	C	8,9 ab	0,57 cd	0,040 c	ND
	CN	26,4 d	1,00 e	0,038 c	0,95 bcd
	CP	8,2 ab	0,54 cd	0,039 c	0,83 abcd
	CNP	31,2 d	1,16 e	0,044 c	1,74 de
<b>ESM (Fert, x Substrat)<sup>a</sup></b>		1,5	0,05	0,003	0,18
<b>sources de variation de l'ANOVA<sup>b</sup></b>	Fert.	***	***	***	NS
	Substrat	***	***	***	***
	Fert. x Substrat	***	*	***	**

N/A: not applicable; ND: non déterminé

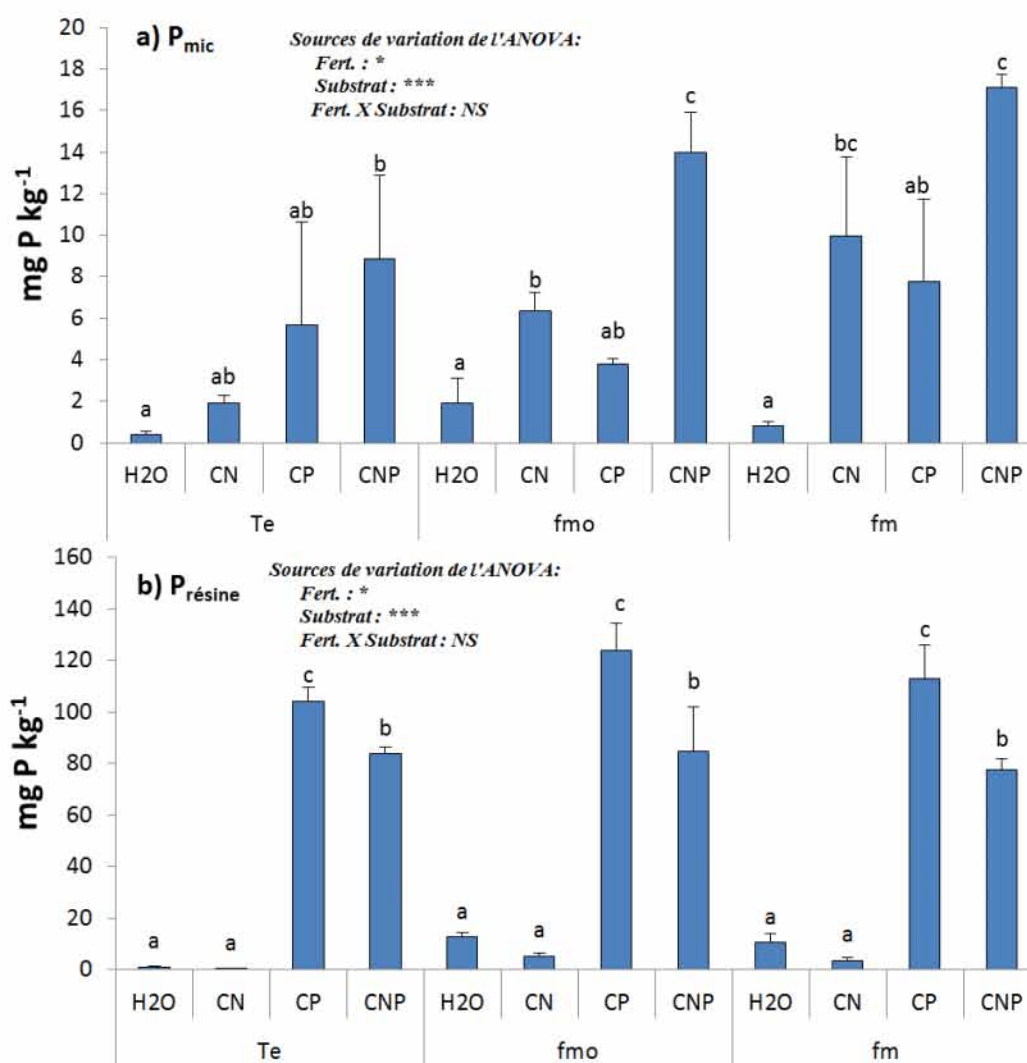
† ESM : Erreur standard de la moyenne

†† Seuil de probabilité de signification : \*<0,05; \*\*<0,01; \*\*\*<0,001, NS: non significatif

Dans chaque colonne, des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les pratiques de fertilisation au seuil de probabilité de 0,05

### **II.3.3 Biomasse microbienne et structure des communautés microbiennes après l'ajout des substrats**

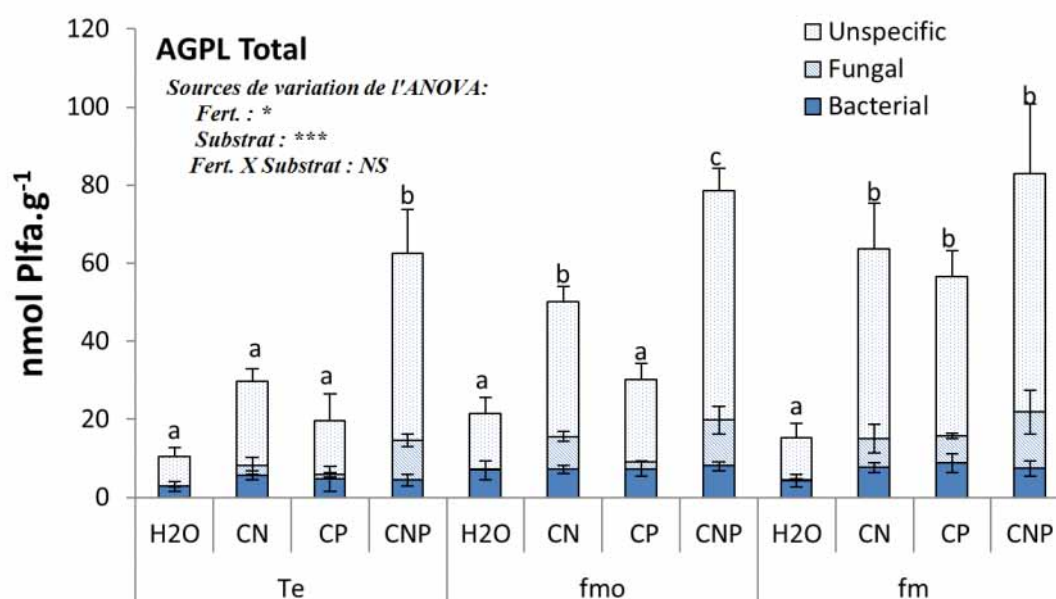
Comparativement aux sous traitements H<sub>2</sub>O, l'addition de CN a augmenté le  $P_{mic}$  par un facteur de 5 dans Te, 4 avec fmo et 12 avec fm (Figure II- 4a). Les mesures de  $P_{mic}$  étaient plus difficiles après l'ajout de quantité relativement élevée de P (0,13 mg P g<sup>-1</sup> sol sec) dans les sous traitements CP et CNP, à cause du  $P_{résine}$  très élevé et variable dans les échantillons non-fumigés (Figure II- 4b). Néanmoins, le plus élevé  $P_{mic}$ , toujours obtenu après l'ajout de CNP, était rangé entre 8,9 et 17,1 mg P kg<sup>-1</sup>. En conséquence du prélèvement microbien de P, le  $P_{résine}$  au pic de respiration était toujours plus faible après l'ajout de CNP qu'après celui de CP.



**Figure II- 4 :** P microbien ( $P_{mic}$ ) (a) et résine extractible (disponible) ( $P_{résine}$ ) (b) mesurés au pic de respiration après l'ajout des substrats (moyenne et écarts types standards des trois répétitions au champ). Dans chaque pratique de fertilisation, les histogrammes indexés des mêmes lettres ne sont pas statistiquement différents au seuil de de probabilité p de 0,05. Fert. = pratiques de fertilisation (Te, fmo, fm) ; Substrat = substrat ajouté (H2O, CN, CP, CNP)

Les concentrations totales d'AGPL dans le sol (Figure II- 5) ont présenté des tendances similaires au  $P_{mic}$ , et les deux mesures étaient positivement corrélées ( $R=0,69$  ;  $p<0,001$ ). Pour chaque pratique de fertilisation, les concentrations totales d'AGPL étaient rangées dans l'ordre  $H_2O < CP < CN < CNP$ , bien que les différences entre les traitements ne fussent pas toujours significatives. Comparativement à l'ajout de l'eau seule, celui de CNP a augmenté la teneur totale en AGPL par des facteurs de 6 ; 4 et 6 avec Te, fmo et fm, respectivement. Les ajouts de substrats ont particulièrement entraîné l'augmentation de la concentration de

l'AGPL fongique-spécifique  $18:2\omega6$  qui, comparativement au sous traitement  $H_2O$ , a augmenté des facteurs 213 ; 33 et 56 dans Te, fmo et fm, respectivement, tandis que la somme des AGPL spécifiques aux bactéries ont tout au plus doublé en concentration. En conséquence, le ratio fongique/bactérie (f/b) a augmenté de  $<0,1$  dans les sous traitements  $H_2O$ , à 0,23 et 2,35 dans tous les autres sous traitements (Tableau II- 4). Alors que cette augmentation était significative après l'ajout de CN et de CNP dans fmo, dans Te et dans fm, seul l'ajout de CNP a induit une augmentation significative du ratio f/b.

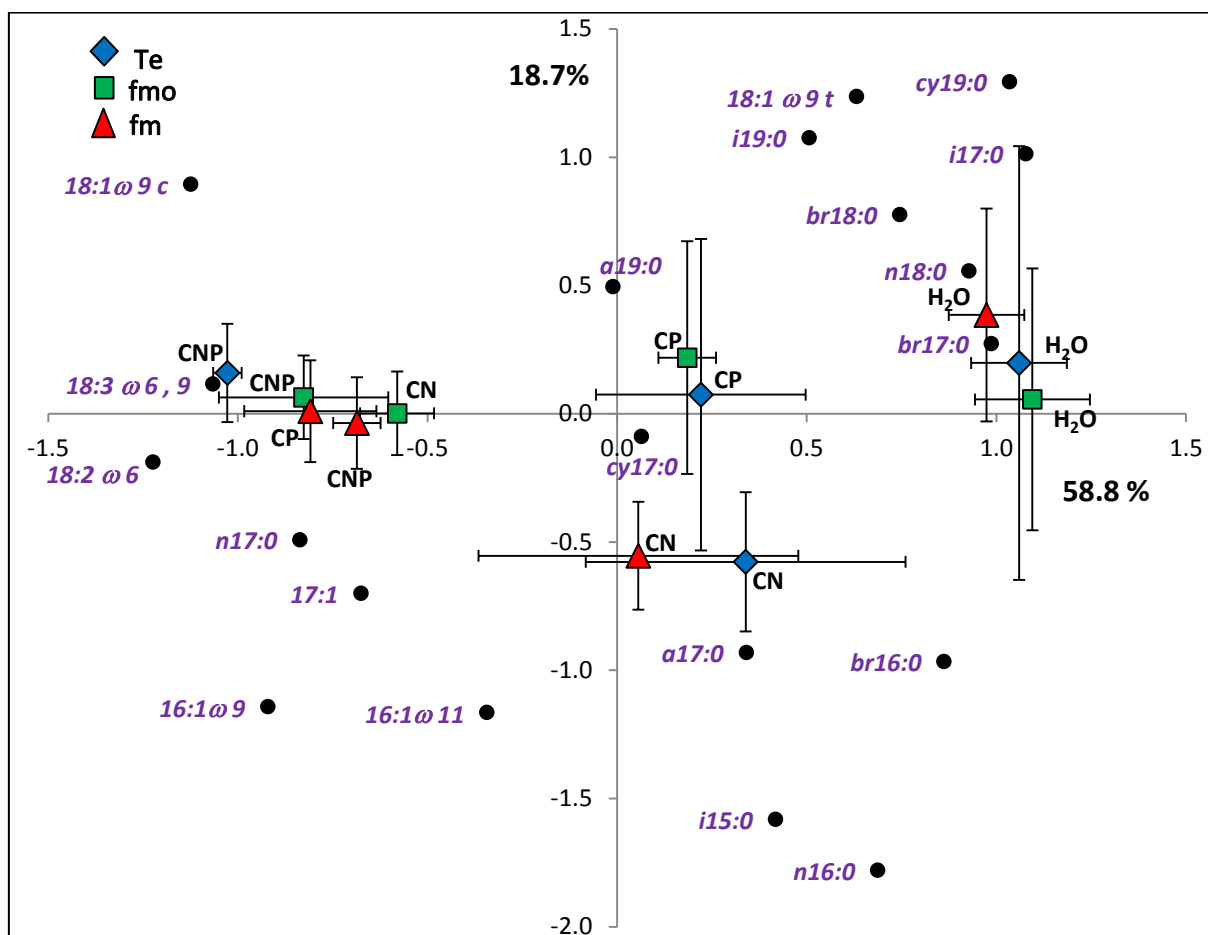


**Figure II- 5 :** AGLP total mesuré au pic de respiration (moyennes et écarts types standards des trois répétitions au champ). Dans chaque pratique de fertilisation, les histogrammes indexés des mêmes lettres ne sont pas statistiquement différents au seuil de de probabilité p de 0,05. Fert. = pratiques de fertilisation (Te, fmo, fm) ; Substrat = substrat ajouté ( $H_2O$ , CN, CP, CNP)

L'ACP sur l'abondance relative de tous les AGPL individuels mesurés au pic de respiration (Figure II- 6), a séparé les échantillons de sol en trois groupes de structures similaires des communautés microbiennes le long du premier axe, qui a expliqué 58,8 % de la variabilité totale. Les sous traitements CNP de toutes les pratiques de fertilisation, l'ajout de CN dans fmo et l'ajout de CP dans fm ont formé un groupe de structure d'AGPL similaire et positivement corrélée aux AGPL spécifiques aux fongiques (spécialement le  $18:2\omega6$ ). Le second groupe comprenait l'ajout de CP dans Te et fmo, et l'ajout CN dans Te et fm. Ce



groupe était en plus subdivisé le long du second axe qui a séparé les sous traitements CN des sous traitements CP, et qui a expliqué 18,7% de la variabilité totale. Le troisième groupe comprenait les sous traitements H<sub>2</sub>O de toutes les pratiques de fertilisation, et était inversement relié à l'AGPL fongique-spécifique *18:2 $\omega$ 6*.



**Figure II- 6 :** ACP sur l'abondance relative des AGPL dans les sols au pic de respiration. Les moyennes et les écarts types standards bidirectionnels basés sur les trois répétitions au champ.

## II.4 Discussion partielle

### II.4.1 Effet à long-terme des pratiques de fertilisation sur le N et le P disponibles et microbiens

Après 53 ans de pratiques de fertilisation contrastées dans l'essai de Saria, les teneurs en nutriments disponibles et microbiens étaient plus faibles le traitement Te que dans les traitements recevant la fertilisation exclusivement minérale (fm) et la fertilisation minérale combinée avec un apport 5 t de fumier tous les deux ans (fmo). Cependant, il n'y a pas eu de différence significative entre fm et fmo (Tableau II- 3), même si les teneurs en C total et en N total du sol tendent à être plus élevées avec fmo (Tableau II- 2). Ainsi, l'addition de fumier chaque deux ans dans les parcelles fmo a augmenté les rendements grains et les exportations de N et de P comparativement à fm (Tableau II- 1), mais n'a pas amélioré significativement les caractéristiques microbiologiques du sol, comparativement à l'application exclusive des engrais minéraux solubles à l'eau. En particulier, la respiration de base (Tableau II- 3) et la structure des communautés microbiennes (Figure II- 6) étaient similaires dans les trois pratiques de fertilisation, contredisant ainsi notre première hypothèse.

Les teneurs totales en C, N et P dans les 0-10 cm de profondeur du sol (Tableau II- 2) étaient 2 à 4 fois plus faibles que celles reportées dans des sols non cultivés et dans la jachère de longue durée adjacente à l'essai de Saria (Compaoré *et al.*, 2003). Les très faibles teneurs en  $P_{résine}$  et en  $N_{min}$  dans le traitement Te démontrent également l'appauvrissement des sols lié à des exportations de nutriments non compensées, tel que rapporté par Smaling *et al.*, (1997) et Lesschen *et al.*, (2007) pour des terres arables similaires d'Afrique sub-saharienne.

Du fait de la faible proportion en limons et en argiles dans l'Acrisol étudié ici, les concentrations en C organique étaient d'environ seulement 7 à 14% de celles dans le Ferralsol du Kenya étudié par Ehlers *et al.*, (2010). De même, les concentrations en P total étaient beaucoup plus faibles (entre 71 et 139 mg P  $ka^{-1}$ ) dans notre étude par comparaison à la valeur de 636 mg P  $kg^{-1}$  obtenue par Ehlers *et al.*, (2010) dans un Ferralsol. Aussi, le N et le P microbiens étaient faibles comparativement à ceux des Ferralsols cultivés au Kenya (Bünemann *et al.*, 2004a), particulièrement dans les parcelles Te. Néanmoins, les respirations de base (Tableau II- 3) étaient similaires à celles observées par Ehlers *et al.*, (2010). Etant donné les faibles concentrations en N et en P total et disponible dans Te, et également dans les sols fertilisés, les microorganismes du sol pourraient ne pas être en mesure de mobiliser

suffisamment de N et de P pour la formation de biomasse lorsque du C disponible leur est fourni en excès, comme dans le Ferralsol étudié par Ehlers *et al.*, (2010).

## **II.4.2 Indications des limitations microbiennes en nutriments durant l'incubation de sol**

### **II.4.2.1 Les cinétiques de respiration**

La tendance à une émission de CO<sub>2</sub> et à une RAM maximale plus faibles avec Te qu'avec fm et fmo spécialement après l'ajout de C uniquement (Figure II- 3, Tableau II- 4), indique des limitations en nutriments plus prononcées dans ce traitement qui est le plus appauvri. La RMA maximale et l'émission cumulée de CO<sub>2</sub> toutes plus élevées après l'addition de CN que de CP dans toutes les pratiques de fertilisation (bien que pas toujours significatif), suggèrent que le N est le premier nutriment limitant la respiration du sol après le C. Cela est en accord avec les résultats obtenus par Ehlers *et al.*, (2010) sur un Ferralsol tropical du Kenya. Les RMA et les émissions cumulées de C similaires (Tableau II- 4, Figure II- 3 d-f) observées après l'ajout de CN et CNP dans fm et fmo, indiquent que la disponibilité de P ne limite pas la respiration du sol dans ces pratiques de fertilisation. En revanche, lorsque du C labile est ajouté dans Te, la respiration dans ce traitement est limitée par la disponibilité de P comme l'indique spécialement la plus grande émission cumulée de C après l'ajout de CNP que de CN (Tableau 4). En d'autres termes, les teneurs en P<sub>résine</sub> 8 à 10 fois plus élevées que celles en P total deux fois plus élevées dans fmo et dans fm comparativement à Te, suffisent apparemment à lever la limitation en P observée avec Te pour la cinétique de respiration.

La croissance exponentielle indique uniquement une limitation en P dans Te, alors qu'elle suggère l'absence de limitation en N ou en P dans fm (Tableau II- 4). Le pic respiration très pointu observé dans fmo après l'addition de C uniquement (Figure II- 3), se traduit par une valeur élevée de  $\mu$  dans fmo qui est difficile à expliquer étant donné que la RAM et l'émission cumulative de CO<sub>2</sub> ne sont pas élevées comparativement aux autres sous traitements. En conséquence, une mesure de la croissance microbienne indépendante de la cinétique de respiration est nécessaire pour comprendre plus globalement les limitations en nutriments pour la formation de biomasse microbienne.

### II.4.2.2 *Formation de la biomasse microbienne*

Les plus grandes concentrations d'AGPL total mesurées dans le sol non fertilisé (Te) après l'ajout de CNP comparativement à l'ajout de CN ou de CN (Figure II- 5), suggèrent que le N et le P co-limitent la formation de biomasse microbienne dans ce traitement, en conséquence de l'appauvrissement à long terme du sol en nutriments. Une tendance similaire peut être observée pour le  $P_{mic}$ , même si la différence n'est pas significative (Figure II- 4). Cette co-limitation en N et en P pour la formation de biomasse microbienne contraste avec les résultats d'Ehlers *et al.*, (2010) dans un Ferralsol non fertilisé avec du P et avec de faibles teneurs en P disponible, mais contenant de grandes quantités de P total. Dans leur étude, la respiration du sol était plus lente après l'ajout de CN que de CNP, tandis que la formation de biomasse aux pics de respiration était similaire, suggérant qu'indépendamment de l'ajout de P, les microorganismes du sol étaient capables de mobiliser suffisamment de P pour leur croissance. Cela n'était pas le cas dans le traitement Te de notre essai, du fait de l'appauvrissement du sol en nutriments par la culture à long terme sans apports de fertilisants.

La formation de biomasse microbienne était limitée différemment dans les sols fertilisés. Dans fmo, l'augmentation significative en AGPL total après l'ajout de CN que de CP, indique le N comme étant le premier nutriment limitant la formation de biomasse microbienne. De même, la quantité totale d'AGPL plus élevée après l'ajout de CNP que de CN, montre qu'après l'ajout de N, le P limite secondairement la formation de biomasse microbienne dans fmo (Figure II- 5). Les analyses de  $P_{mic}$  suggèrent même une co-limitation en N et en P, vu que les concentrations dans CNP étaient plus grandes que dans CN ou CP (Figure II- 4 a). En revanche, dans fm, aucune limitation en N ou en P n'a été trouvée en se basant sur les quantités totales d'AGPL. Seulement une limitation en N pouvait être déduite des valeurs de  $P_{mic}$ . Ainsi, la mesure directe de la biomasse microbienne au pic de respiration a révélé une limitation en P dans fmo, mais pas dans fm. Les mesures des compartiments de P du sol (Tableau II- 2, Tableau II- 3) ne suggèrent pas de différence significative dans le statut de P entre fmo et fm. Cependant, l'addition des substrats pourrait stimuler la croissance de différents groupes de microorganismes dans fmo comparativement à fm. Les teneurs contrastées en  $P_{mic}$  observés dans les sols des deux traitements fertilisés après l'ajout des substrats pourraient s'expliquer par une différence dans la composition des commutés microbiennes entre ces deux traitements. En effet les besoins en P peuvent s'avérer différentes entre les espèces de microorganismes (Bünemann *et al.*, 2008).

### II.4.2.3 *Changements dans la structure des communautés microbiennes*

L'ACP basée sur l'abondance relative des AGPL (Figure II- 6) et les ratios fongiques/bactéries similaires (Tableau II- 4), montrent que la structure des communautés microbiennes dans les sous traitements H<sub>2</sub>O était similaire entre les différentes pratiques de fertilisation. Cela était inattendu, puisque des changements dans la structure des communautés microbiennes liés aux pratiques de fertilisation ont été rapportés dans d'autres études. Dans l'Ouest du Kenya, Bünemann *et al.*, (2004a) en procédant à des analyses d'AGPL, ont trouvé des changements dans la structure des communautés microbiennes du sol entre un sol fertilisé et un sol non fertilisé avec du P, après seulement cinq années de culture continue de maïs. Des changements dans la structure des communautés microbiennes après 21 ans d'une fertilisation organo-minérale comparée à une fertilisation exclusivement minérale, ont aussi été observés par Zhong *et al.*, (2010) en utilisant le profilage d'AGPL sur un sol rouge argileux de Chine sous climat subtropical de mousson. En faisant une caractérisation basée sur l'ADN dans un essai de longue durée (31 ans) au Kenya, Kamaa *et al.*, (2011) ont montré que les structures des communautés bactériennes et fongiques étaient significativement modifiées par les apports de fertilisants minéraux et organiques. Il est possible que nous n'ayons pas vu de différences entre les pratiques de fertilisation à cause de l'utilisation des AGPLs spécifiques qui est un pauvre indicateur de la diversité microbienne du sol comparativement aux méthodes génétiques (Frostegård *et al.*, 2011). Néanmoins, cette méthode aide à comprendre des changements dans la structure des communautés qui résultent de l'apport de substrats.

La levée des limitations en C, N et P par l'ajout de CNP, entraîne des structures de communautés microbiennes similaires dans toutes les pratiques de fertilisation (Figure II- 6), avec des proportions croissantes de l'AGPL fongique-spécifique 18:2ω6 et d'autres acides gras (18:3ω6,9 et 18:1ω9) connus pour être communs dans les fongiques. De plus, la forte augmentation du ratio fongique/bactérien comparativement aux sous traitements H<sub>2</sub>O (Tableau II- 4), confirme que la levée premièrement de la limitation en C, puis secondairement des limitations en N et en P, favorise le développement des fongiques (Treseder et Allen, 2002; Ehlers *et al.*, 2010). L'ajout de CN dans fmo et de CP dans fm conduit à une structure de communautés microbiennes similaire à celle des sous traitements CNP, suggérant que les microbes et en particulier la formation de la biomasse fongique était limitée seulement par le N dans fmo et par le P dans fm.

Un changement intermédiaire dans la structure des communautés microbiennes entre les sous traitements H<sub>2</sub>O (les plus limités) et CNP (sans limitations), a été trouvé dans le cas de l'addition de CN et de CP dans Te, de CN dans fm et de CP dans fmo (Figure II- 6). Ces sous traitements ont pour la plupart un rapport fongique/ bactérien intermédiaire (Tableau II- 4), et la structure de leurs communautés microbiennes était liée aux acides gras (*i15:0* et *a17:0*) qui sont spécifiques aux bactéries Gram-positifs (Piotrowska-Seget et Mrozik, 2003). Plus important encore, la différence induite dans la structure des communautés microbiennes par l'ajout de CNP comparativement aux ajouts de CN et de CP dans Te, suggère également que le N et le P co-limitent la formation de biomasse microbienne dans ce traitement.

#### ***II.4.2.4      Evaluation d'ensemble des indicateurs de limitations en nutriments des microorganismes***

Dans Te, la plupart des indicateurs ont suggéré une co-limitation en N et en P après la levée de la limitation en C, exception faite (i) des courbes de respiration qui suggèrent premièrement une limitation en N et secondairement, une limitation en P, et (ii) de la croissance exponentielle qui indique uniquement une limitation en P (Annexe 5). Les limitations étaient moins claires dans fmo et fm. Une limitation microbienne en N était plus fréquemment indiquée dans ces deux pratiques de fertilisation, mais l'absence de limitation en N ou P, ou une limitation primaire ou secondaire en P étaient également parfois observée. Les corrélations entre les indicateurs listés dans l'Annexe 5 (excepté l'ACP) étaient également significatives ( $p < 0,007$ ), exceptée la corrélation entre la RAM et la croissance exponentielle ( $p = 0,145$ ). Dans l'ensemble, il semble que la cinétique de respiration, la formation de biomasse et la structure des communautés microbiennes tendent à montrer une co-limitation en N et en P dans Te. Dans fmo et fm, les cinétiques de respiration étaient le plus souvent limitées par le N mais jamais par le P, tandis que la mesure directe de la formation de biomasse microbienne a indiqué une limitation en P de la croissance microbienne dans fmo, et des changements dans la structure des communautés microbiennes dans fm.

## II.5 Conclusion partielle

Notre hypothèse de co-limitation en N et en P (ou d'une limitation primaire en N et secondaire en P) pour les microorganismes du sol après la levée de la limitation en C, a été confirmée par la plupart des mesures (RAM, émission cumulée de C, AGPL totaux, structures des communautés microbiennes et rapport fongique/bactérien) dans le sol non fertilisé. Ces limitations microbiennes en nutriments résultent clairement de l'appauvrissement du sol en nutriments, dû à la culture à long terme sans apports extérieurs d'éléments nutritifs. La limitation en P a été levée avec l'application de fertilisants exclusivement minéraux ou combinée avec le fumier. Les autres indicateurs ont présenté des situations plus complexes, avec une limitation microbienne en N très souvent persistante malgré la fertilisation sur une longue durée, et une limitation en P occasionnellement trouvée (pour la formation de la biomasse microbienne dans fmo, et pour la structure des communautés microbiennes dans fm).

Cette étude montre que la capacité des microorganismes du sol à mobiliser les nutriments du sol ne peut être exploitée lorsque les teneurs en des nutriments du sol baissent en deçà d'un certain seuil. L'application exclusive des fertilisants minéraux ou en combinaison avec le fumier, peut permettre de prévenir une telle situation. Les conclusions sur les limitations en nutriments des microorganismes du sol différeront légèrement en fonction des options de fertilisation choisies. Les conséquences des limitations en nutriments sur le recyclage des amendements organiques dans les sols méritent des investigations plus poussées.

**CHAPITRE III : Effets de différents amendements organiques sur les prélèvements de N et de P par le sorgho et sur la biomasse microbienne du sol par les méthodes de marquage isotopique**



## Résumé

Dans les Lixisols du Centre-Ouest du Burkina Faso, une connaissance approfondie de la dynamique dans les différents compartiments du sol de l'azote (N), du phosphore (P) et de leur prélèvement par les plantes, est indispensable pour accroître leur utilisation efficace et augmenter les rendements des cultures. Dans ce chapitre, les flux de N et de P dans le sol et leur prélèvement par le sorgho ont été étudiés après l'application au sol, de divers amendements organiques apportant chacun  $75 \text{ mg kg}^{-1}$  sol de N et entre 5,2 et  $48 \text{ mg P kg}^{-1}$  sol. Les techniques de marquage isotopique direct (DLT) ou indirecte (ILT) en  $^{15}\text{N}$  et  $^{33}\text{P}$  ont été utilisées. La respiration du sol, le P disponible ( $P_{\text{résine}}$ ) et microbien ( $P_{\text{mic}}$ ), le carbone et le N microbien ( $C_{\text{mic}}$  et  $N_{\text{mic}}$ ), le N soluble ( $N_{\text{soluble}}$ ) du sol ont été analysés sur les sols mis en incubation pendant 52 jours. En outre, les proportions de N et de P provenant des fertilisants ( $\%N_{\text{dff}}$  et  $\%P_{\text{dff}}$ ) ainsi que les coefficients d'utilisation du N et du P apportés par ces fertilisants (CUN et CUP en %) dans les compartiments du sol ont été calculés. Un  $P_{\text{mic}}$  élevé couplé à un  $P_{\text{résine}}$  similaire au témoin sans amendement (0N0P) a été observé après l'application de divers résidus de niébé (Residu, Nieb-ILT et Nieb-DLT), traduisant une forte immobilisation de P dans ces traitements au cours de l'incubation de sol. Les coefficients d'utilisation du N et du P dans la biomasse microbienne étaient plus faibles dans les traitements minéraux que dans ceux à base de résidus de niébé. Le fumier a montré une meilleure efficacité dans la nutrition en P plutôt qu'en N du sorgho, avec un  $\%P_{\text{dff}}$  de 83% et un  $\%N_{\text{dff}}$  de 19%. Dans les plantes, les CUP et CUN calculés dans les traitements à base de résidus de niébé étaient faibles (<2% pour le P et <4% pour le N) en raison de la faible production de biomasse dans ces traitements. Cette étude a mis en évidence de manière quantifiée la concurrence pour les nutriments entre les microorganismes du sol et les plantes après l'application des résidus organiques sur un sol limité en nutriments disponibles.

**Mots-clés :** Marquages isotopiques, Amendements organiques, Compartiments de N et P sol, Coefficient d'utilisation de N et P.

### III.1 Introduction

L'apport d'engrais minéraux et d'amendements organiques est impératif pour une gestion durable de la fertilité de terres agricoles, et un accroissement des rendements dans les sols fortement altérés du Centre-Ouest du Burkina Faso. La nutrition des cultures est limitée dans ces sols par de faibles teneurs en matière organique, en azote et en phosphore total et disponible (Bationo *et al.*, 2007). L'utilisation des engrais minéraux reste cependant très limitée à cause de leurs coûts élevés (Sanchez *et al.*, 1997). Les estimations des quantités d'engrais minéraux solubles dans l'eau apportées chez 167 ménages agricoles autour de la station de recherche de Saria (Centre-Ouest du Burkina Faso) ont montré que les champs de sorgho reçoivent en moyenne de 6 ; 2 et 3 kg ha<sup>-1</sup> de N, P et K, respectivement, sous forme d'engrais minéraux solubles dans l'eau (Kiba, 2012). Les quantités de fumure organique (fumier et compost) apportées dans les champs éloignés des habitations, sont de loin inférieures à la dose recommandée de 5 t ha<sup>-1</sup> tous les deux ans (Kiba, 2012).

Une connaissance approfondie du flux des nutriments (N et P) appliqués dans les différents compartiments du sol et de leurs prélèvements par les plantes suite à des applications de fertilisants permettrait de proposer des modes d'apports et des types de fertilisants pouvant accroître l'utilisation efficace des nutriments et améliorer la productivité des sols. Les microorganismes jouent un rôle primordial dans la minéralisation et le recyclage des éléments nutritifs contenus dans les amendements organiques (Azcon-Aguilar et Barea, 2015; Zechmeister-Boltenstern *et al.*, 2015). Contrairement aux engrais minéraux dont la solubilisation après application entraîne une augmentation rapide des teneurs en nutriments disponibles pour les plantes, les processus et la dynamique des différents compartiments de nutriments du sol après l'application des amendements organiques sont complexes et fortement dépendants de l'activité des microorganismes du sol (Frossard *et al.*, 2011; Traoré *et al.*, 2016). Les amendements organiques contiennent du C et des nutriments (N et P) sous formes inorganique et organique en des proportions variables (Bünemann *et al.*, 2004a; Bosshard *et al.*, 2009).

Une fois ces amendements appliqués, les formes organiques doivent être minéralisées par les microorganismes du sol pour être disponibles aux plantes. La dégradation d'origine microbienne des résidus de plantes dépend de leur état de maturité (Ha *et al.*, 2007), des rapports C :N (Janssen, 1996), C :P (Umrit et Friesen, 1994) etc. En fonction des caractéristiques des amendements organiques, de la biomasse et l'activité microbienne du sol,

et de la disponibilité en nutriments, la décomposition et la minéralisation des amendements organiques peuvent passer par une période d'immobilisation plus ou moins longue et forte. Pendant cette période, les microorganismes prélèvent du sol les nutriments disponibles dont ils ont besoin pour dégrader les composés organiques complexes qui sont apportés au sol (Bünemann *et al.*, 2004a). Les plantes peuvent ainsi être en concurrence avec les microorganismes pour la disponibilité des nutriments du sol lors de cette période d'immobilisation (Douxchamps *et al.*, 2011). L'immobilisation du P dans la biomasse microbienne peut même aller au-delà de  $P_{\text{résine}}$  du sol (qui, selon Tiessen et Moir, (1993), est un indicateur du P disponible du sol) comme l'ont montré Bünemann *et al.*, (2004b) après l'ajout de résidus de *Crotalaria* sur un Ferralsol du Kenya.

Dans ce chapitre, notre objectif principal est de mieux comprendre la dynamique des flux de N et P apportés sous forme minéral et organique à travers un double marquage isotopique  $^{15}\text{N}$  et  $^{33}\text{P}$ , sur un Lixisol ferrique typique de ceux rencontrés dans le Centre-Ouest du Burkina Faso, où la culture continue et le manque de fertilisation ont entraîné un appauvrissement des sols. Il s'agit plus spécifiquement: (i) d'étudier la contribution des amendements organiques et des fertilisants minéraux dans la dynamique du N et du P dans les compartiments disponible et microbien du sol; (ii) de comparer DLT et ILT dans la mesure des proportions et des quantités de N et de P provenant des amendements organiques et des fertilisants minéraux dans le sorgho et (iii) d'étudier le prélèvement par le sorgho de N et de P provenant des différents amendements organiques et des fertilisants minéraux. Nous faisons l'hypothèse que: 1) l'application de N et de P sous formes engrais minéraux solubles à l'eau augmentera la disponibilité de ces éléments dans le sol et les coefficients d'utilisation du N et du P dans le sorgho, comparativement aux amendements organiques, qui doivent être minéralisés pour libérer une partie des nutriments qu'ils contiennent; 2) l'application des amendements organiques entraînera une immobilisation plus ou moins forte de N et de P dans la biomasse microbienne du sol et une faible disponibilité de ces nutriments dans le sol surtout aux premiers jours, du fait de l'origine microbienne du processus de minéralisation, et des limitations en nutriments des microorganismes après l'application de sources de carbone dans ces sols appauvris (Traoré *et al.*, 2016); 3) les résidus jeunes de niébé (Nieb-ILT et Nieb-DLT) qui sont moins matures seront plus rapidement minéralisés que les résidus de niébé matures prélevés dans les champs paysans (Residu) qui contiennent plus de C sous formes complexes difficiles à minéraliser ; et 4) les techniques de marquage directe et indirecte donneront des résultats similaires.

## III.2 Matériels et méthodes

### III.2.1 Justification de l'approche méthodologique

La méthode classique où on compare un témoin non fertilisé avec un traitement qui a reçu l'engrais ne permet pas de différencier avec précision le flux des nutriments provenant du sol et des fertilisants appliqués dans les différents compartiments du sol (Oberson *et al.*, 2010). En effet, l'hypothèse d'une égale disponibilité des nutriments provenant du sol entre le témoin et le traitement fertilisé, ne permet pas de mettre en évidence les mécanismes d'immobilisation ou de minéralisation de nutriments du sol connus sous le nom de (*priming-effects* négatifs ou positifs), qui peuvent être induits par l'application d'un type de fertilisant donné.

Nous avons donc opté pour les techniques de marquage isotopique utilisant le  $^{15}\text{N}$  (stable) et le  $^{33}\text{P}$  (radioactif). Ces méthodes permettent de déterminer dans un compartiment donné, les proportions de nutriment provenant du sol et des fertilisants appliqués (Barraclough, 1995; Vanlauwe *et al.*, 1998; Di *et al.*, 2000; Oberson *et al.*, 2010; Frossard *et al.*, 2011). La technique de marquage directe (DLT pour *Direct Labelling Technique*) consiste à marquer directement dans le fertilisant, l'élément dont on veut suivre le devenir dans le système sol-plante. Dans le cas de certains fertilisants complexes tels que le fumier, les résidus de culture ou les roches phosphatées, le marquage direct des nutriments est soit difficile à faire de manière homogène, ou pour des raisons de demi-vie radioactive limitée pour les radio-isotopes, soit coûteux ou déconseillé pour des raisons de radioprotection. Pour ces cas, la technique de marquage indirecte (ILT pour *Indirect Labelling Technique*) est alors préconisée. Dans l'ILT, les différents compartiments de nutriments disponibles aux plantes dans le sol sont marqués, et un fertilisant non-marqué est appliqué. Le devenir des nutriments dans le sol est alors suivi sur la base du principe de la dilution isotopique (Morel et Fardeau, 1989b; Douxchamps *et al.*, 2011). La technique de marquage indirecte suppose que les différents compartiments disponibles pour la plante dans le sol du nutriment à suivre sont marqués de façon homogène, de sorte que la dilution du marquage observée dans le sol fertilisé provienne uniquement du fertilisant appliqué (Fardeau *et al.*, 1996; Hood-Nowotny, 2008). Un autre préalable à l'application de l'ILT est de s'assurer qu'elle donne un résultat comparable au DLT dans le sol concerné en suivant le prélèvement du nutriment apporté par deux fertilisants qui ne diffèrent que par le fait que l'un soit marqué et l'autre pas (Di *et al.*, 1997; Hood *et al.*, 2000).

### III.2.2 Echantillonnage du sol

Le sol utilisé pour cette étude a été prélevé dans le champ d'un paysan du Centre-Ouest du Burkina Faso. Il s'agit d'un Lixisol Ferrique (FAO, 2006), ou sols ferrugineux tropical lessivé selon la classification française. L'historique du champ dans lequel le sol a été prélevé révèle qu'il a été continuellement cultivé depuis plus de trente ans. Au cours des cinq dernières années avant l'échantillonnage le champ a été cultivé en sorgho (*Sorghum bicolor*) en association avec du niébé (*Vigna unguiculata*) sans apport de fertilisants aussi bien minéral qu'organique. Le sol a été prélevé en Janvier 2013 et avait une teneur en eau de  $5 \pm 1$  g kg<sup>-1</sup> sol sur la profondeur de 0 - 15 cm, puis tamisé à 5 mm pour retirer les cailloux et les débris végétaux. Après tamisage le sol a été conditionné dans des sacs et envoyé au laboratoire de nutrition des plantes de l'ETH-Zurich (Suisse) où il a été stocké à température ambiante (environ 20°C) pendant six mois avant le début des expériences. Les caractéristiques chimiques montrent que ce sol contient 5,2 g kg<sup>-1</sup> de C total, 295 mg kg<sup>-1</sup> de N total, 136 mg kg<sup>-1</sup> de P total et 0,18 mg kg<sup>-1</sup> de disponible mesuré par la méthode des résines échangeuses d'ion (P<sub>résine</sub>).

### III.2.3 Préparation et marquage du sol

La préparation du sol a consisté en une série d'opérations selon le calendrier présenté dans la Figure III- 1. Cette préparation a consisté à une pré-incubation d'un mois au cours de laquelle une humidification progressive du sol a été effectuée pour simuler la reprise de l'activité microbienne du sol en début de saison pluvieuse. Cette pré-incubation a été accompagnée de l'ajout d'une très faible quantité de N et de C labile dans le sol en vue de son marquage.

La teneur en eau du sol a été portée à 97 g d'eau kg<sup>-1</sup> sol, équivalant à 45% de sa capacité au champ (CAC), par l'addition d'eau distillée, puis incubée pendant 12 jours à température ambiante et à l'obscurité. Après cette première période d'incubation, le sol a été séparé en deux parties selon qu'il soit destiné à être marqué ou non-marqué.

Le marquage a consisté à ajouter au sol une petite quantité de N (0,25 mg kg<sup>-1</sup> de sol) sous forme de sulfate d'ammonium marqué à 60% d'abondance atomique <sup>15</sup>N (Sigma-Aldrich). La même quantité de N non-marqué a été apportée sous la même forme au sol non-marqué. Cet apport de N a été accompagné de l'ajout de 6 mg kg<sup>-1</sup> de C labile représentant environ 0,1% du C total du sol, sous forme de glucose, pour faciliter l'intégration de l'azote apporté dans le compartiment microbien du sol. Ces apports ont été faits sous forme aqueuse, portant le sol de

45 à 50% de sa capacité au champ ( $108 \text{ g d'eau kg}^{-1} \text{ sol}$ ) ; puis le sol a été remis en incubation pour une seconde période de 12 jours.

Après cette seconde période d'incubation, un dernier ajout de  $0,25 \text{ mg kg}^{-1}$  de N marqué ou non-marqué correspondant aux deux échantillons de sol a été fait portant l'ajout total de N à environ 0,2% de la quantité de N total du sol. Le sol destiné à être doublement marqué a également reçu à la même date, un apport de  $3,3 \text{ MBq kg}^{-1} \text{ sol}$  de  $^{33}\text{P}$  (Hartmann Analytics, Germany) sans entraîneur. L'ensemble de ces apports ont porté le sol à 55% de sa capacité au champ ( $119 \text{ g d'eau kg}^{-1} \text{ sol}$ ). Le sol a encore été incubé pendant 8 jours avant le début de l'expérimentation en pot et du suivi des flux de N et P.

	Jours de pré-incubation			
	-33	-21	-9	0
Ajout d'eau	x	x	x	x
Teneur en eau du sol (% CAC)	40	45	55	60
Ajout de glucose (C labile)		x		
Marquage au $^{15}\text{N}$		x	x	
Marquage au $^{33}\text{P}$			x	
Ajout des amendements				x

CAC : Capacité au champ

**Figure III- 1** : Calendrier des interventions lors de la pré-incubation du sol, avant le début de l'essai en pot et de l'expérience d'incubation

### III.2.4 Préparation et description des amendements organiques et des fertilisants minéraux

#### III.2.4.1 Production du niébé marqué et non-marqué

Nous avons utilisé la variété de niébé *KVX 396 4-5-2D*. Pour éviter l'apparition de maladies à la germination et pendant la production des plantes, la surface des graines de niébé a été stérilisée par immersion pendant 4 minutes dans une solution d'hypochlorite de sodium à 1,25%, puis elles ont été rincées et trempées dans une solution d'alcool éthylique à 70% pendant 2 minutes (Kremer *et al.*, 2005). Du niébé marqué et non marqué ont ensuite été produits sous serre avec une température comprise entre  $22^{\circ}\text{C}$  la nuit et  $25^{\circ}\text{C}$  le jour. Les graines ont été mises en germination dans un bac contenant du sable ( $0,7 - 1,2 \text{ mm}$ )

préalablement stérilisé à l'autoclave. Au stade de 2 feuilles bien développées, les plantules de niébé ont été transplantées dans deux systèmes de culture hydroponique séparés, comportant chacun un box contenant 22 litres d'une solution nutritive adaptée de la solution Hoagland (Tableau III- 1) sans N et sans P. Un apport unique de 149 mg P sous forme de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a été effectué dans chaque box au début de la production hydroponique. Une quantité totale de 1518 mg de N a également été ajoutée sous forme de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  dans chaque box, la moitié au commencement de la production hydroponique et l'autre moitié 10 jours après. Du  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  marqué de 10% d'excès atomique  $^{15}\text{N}$  ainsi que 2,3 mCi de  $^{33}\text{P}$  sans entraîneur ont été utilisés dans un box pour la production du niébé doublement marqué. Le niveau d'eau dans les box était ajusté quotidiennement avec de l'eau osmotique pour corriger les pertes par évapotranspiration.

**Tableau III- 1 :** Quantités d'éléments nutritifs apportées sous forme de solution nutritive pour la production hydroponique de niébés (*Vigna unguiculata*) en culture hydroponique

Nutriment	Quantité ajouté par box de 22 litres
	(en mg)
<b>N *</b>	1519
<b>P *</b>	149
<b>K</b>	4290
<b>Ca</b>	2200
<b>Mg</b>	1056
<b>Fe</b>	123
<b>S</b>	1411
<b>B</b>	6,1
<b>Mn</b>	2,4
<b>Zn</b>	2,9
<b>Cu</b>	0,7
<b>Mo</b>	1,1

\* Les quantités de N et de P ont été délibérément déterminées et apportées suite à l'application de fertilisants en fonction de la production de biomasse et des prélèvements de N et de P attendus.

Le pH de la solution nutritive dans les box qui était contrôlé deux fois par semaine à l'aide du papier pH, était resté constant à environ 7 pendant les 4 semaines qu'a duré la production hydroponique.

A la récolte, les plantes ont été coupées au collet et séchées à 55°C pendant 5 jours, pour éviter toute perte de N par volatilisation. Elles ont ensuite été écrasées en petits morceaux (volume maximal par morceau : 1 mm x 1 mm x 2 mm) pour faciliter son mélange au sol lors de l'utilisation, puis stockées avant utilisation. Les niébés marqués et non-marqués ont été manipulés séparément pour éviter toute contamination croisée. La biomasse produite par le niébé marqué a été inférieure à celle du niébé non-marqué. Cela est très probablement dû à une perte de solution nutritive qui avait été constatée dans la première semaine de culture hydroponique dans le box marqué. Cette perte estimée à environ 1,5 L de la solution nutritive initiale avait été immédiatement corrigée en rajoutant progressivement ce volume de solution nutritive initiale. De même, la concentration en P total du niébé marqué était légèrement supérieure à celle du niébé non-marqué, tandis que leurs concentrations en N total étaient similaires. L'enrichissement du niébé marqué ainsi produit était d'un excès d'atomes  $^{15}\text{N}$  (% d'atomes  $^{15}\text{N}_{\text{échantillon}} - \% \text{ d'atomes } ^{15}\text{N}_{\text{air}}$ , avec  $^{15}\text{N}_{\text{air}}$  équivalant à 0,36637 %) de 9,11 % (Tableau III- 2). L'activité spécifique du P du niébé marqué, mesurée deux jours avant le début de l'expérimentation en pot et l'incubation de sol, était de 201,8 kBq mg<sup>-1</sup> P (Tableau III- 2).

#### **III.2.4.2      *Les fanes de niébé paysan***

Des fanes de niébé mature ont également été utilisées comme amendement dans cette étude, pour vérifier si l'âge des résidus de niébé produits en condition hydroponique influencerait les résultats obtenus. Ces résidus constitués uniquement de la biomasse aérienne ont été collectés dans un champ paysan aux alentours de la station de recherche agronomique de Saria. Habituellement, ces résidus sont collectés par les paysans après la récolte des grains de niébé, puis séchés et stockés pour nourrir les animaux. Ils ont également été broyés comme les niébés produits en condition hydroponique, et analysés pour leurs caractéristiques chimiques.

#### **III.2.4.3      *Le fumier de Saria***

Le fumier utilisé dans cette expérimentation est un échantillon du fumier produit dans la station de Saria en 2010 avec les caractéristiques indiquées dans le Tableau III- 2. Ce fumier est produit pendant la saison sèche en collectant et en stockant la bouse de vaches de l'étable de la station de recherche dans une fosse fumièr. Une fois échantillonné, le fumier a été séché à l'air libre, conditionné dans un sac plastique et envoyé en Suisse où il a été stocké à température ambiante en attendant d'être utilisé. L'échantillon de fumier sec a été tamisé à 2 mm avant utilisation pour faciliter son mélange dans le sol.



#### **III.2.4.4      Préparation des fertilisants minéraux**

Plusieurs traitements de fertilisation minérale (N et/ou P) ont aussi été utilisés dans les expérimentations, en ajoutant au sol des volumes différents de deux solutions aqueuses de 75 mg N ml<sup>-1</sup> et de 9,05 mg P ml<sup>-1</sup> préparées respectivement sous forme de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pour le N, et de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pour le P. La solution de N minéral marqué a été préparée avec pour objectif d'atteindre un excès d'atome <sup>15</sup>N de 2%. Pour ce faire, l'enrichissement d'une solution de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> d'une abondance d'atome <sup>15</sup>N de 10% a été diluée 5 fois avec une solution (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> non enrichie en <sup>15</sup>N de concentration similaire. La solution de N minéral marquée ainsi obtenue avait un excès d'atome <sup>15</sup>N de 2,13 %. Le jour de la mise en place des expérimentations, une partie de la solution de P (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) préparée a été marquée en y ajoutant du <sup>33</sup>P sans entraîneur, pour atteindre une activité spécifique de 245,7 kBq mg<sup>-1</sup> P (Tableau III- 2). Cette solution marquée a servi pour l'application du P minéral marqué.

**Tableau III- 2 :** Caractéristiques des fertilisants utilisés dans l'expérimentation en pot et doses de C de N et de P apportés au sol durant les expérimentations en pot et d'incubation de sol

	Niébé marqué	Niébé non-marqué	Résidus de niébé paysan	Fumier	1N1P-DLT	1N1P-ILT
	(Nieb-DLT)	(Nieb-ILT)	(Residu)	(Fum)		
<b>Caractéristiques totaux</b>						
C total (mg g <sup>-1</sup> ) †	414,0	415,4	417,0	191,2	-	-
N total (mg g <sup>-1</sup> ) †	17,5	17,5	18,5	16,4	-	-
P total (mg g <sup>-1</sup> ) ‡	2,11	1,63	1,28	3,93	-	-
Rapport (massique) C:N	23,7	23,7	22,6	11,7	-	-
Rapport (massique) C:P	196	255	326	49	-	-
P <sub>resin</sub> (% de P total)	69	55	36	50	100	-
Excès d'atomes <sup>15</sup> N (%) <sup>α</sup>	9,11	-	-	-	2,13	-
Activité spécifique (kBq mg P <sup>-1</sup> )	201,8	-	-	-	245,7	-
<b>Doses de nutriment ajouté</b>						
Matière sèche totale (g kg <sup>-1</sup> sol)	4,3	4,3	4,1	4,6	-	-
C (g kg <sup>-1</sup> sol)	1,78	1,78	1,70	0,88	-	-
N (mg kg <sup>-1</sup> sol)	75	75	75	75	75	75
P (mg kg <sup>-1</sup> sol)	9,1	7,0	5,2	18,0	9,1	9,1

† : C total et N total déterminés à l'aide d'un analyseur d'éléments chimiques Vario PYRO cube, Elementar, Hanau, (Germany) sur des échantillons écrasés et encapsulés.

‡ : P total déterminé sur les cendres des échantillons incinérés à 550°C pendant 5 heures suivi d'une dilution des centres dans du HNO<sub>3</sub> fumant, et une détermination de la concentration de P dans les extraits au vert de Malachite

α: Le <sup>15</sup>N a été mesuré à l'aide d'un analyseur d'éléments chimiques Vario PYRO cube, Elementar, Hanau, (Germany) couplé à un spectromètre de masse IsoPrime100, Manchester, UK.

### III.2.4 Expérience d'incubation

#### III.2.4.1 Description et mise en place

Les incubations ont toutes été faites sur du sol non marqué du fait des contraintes strictes de radioprotection qui limitaient la manipulation de grandes quantités de sol radioactif dans le laboratoire. Les différents amendements testés comprenaient les niébés marqué et non-marqué (Nieb-DLT et Nieb-ILT) produits sous serre, les résidus de niébé prélevés dans un champ paysan (Residu), le fumier (Fum), et les engrais solubles de N et P marqués et non-marqués (1N1P-DLT et 1N1P-ILT). Un témoin sans apport de fertilisant (0N0P) a également été testé (Tableau III- 3). La technique de marquage indirecte n'a pas été utilisée dans l'expérience d'incubation de sol. Seule la technique de marquage directe a pu être appliquée avec les traitements Nieb-DLT et 1N1P-DLT.

**Tableau III- 3 :** Traitements et techniques de marquages utilisés dans l'expérience d'incubation de sol

<b>Technique de marquage direct (DLT):</b> <i>Les fertilisants marqués sur sol non-marqué.</i>	<b>Pas de marquage:</b> <i>Fertilisants non-marqués sur sol non-marqué.</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Niébé (Nieb-DLT)</b></li> <li>• <b>1N1P-DLT</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Témoin (0N0P) :</b></li> <li>• <b>Niébé (Nieb-ILT)</b></li> <li>• <b>Fumier (Fum)</b></li> <li>• <b>Résidus de niébé (Residu)</b></li> <li>• <b>1N1P-ILT</b></li> </ul>

La dose de 1N à apporter a été fixée pour tous les traitements à  $75 \text{ mg N kg}^{-1}$  de sol pour que la quantité de N apportée ne soit pas une limite pour une bonne croissance des plantes. En considérant une densité du sol de 1,5 et la profondeur de 15 cm qui correspond à profondeur à laquelle le sol utilisé dans l'expérience a été prélevé, cette dose correspond à un apport de  $169 \text{ kg N ha}^{-1}$ . Pour les amendements organiques, la quantité de N apportée équivaut à environ  $10 \text{ t ha}^{-1}$  de matière sèche.

Une quantité totale de 600 g de sol par traitement a été incubée. Après l'ajout et le mélange des fertilisants au sol,  $11,4 \text{ ml kg sol}^{-1}$  de la solution nutritive ne comportant ni N ni P ont été

apportés dans chaque pot pour corriger toute carence éventuelle autre que celle du N ou du P, puis le sol été porté à 60% de sa capacité au champ (CAC) par ajout d'eau distillée.

Après l'addition des fertilisants, une quantité équivalant à 100 g de sols sec a été prélevée et mise dans des bocaux en verre munis d'un dispositif pour mesurer l'émission de CO<sub>2</sub>, puis les 500 g de sol restant ont été mis dans des sacs plastiques. L'ensemble des bocaux et des sacs ont été incubés à l'obscurité dans des incubateurs à 25°C compte tenu de l'origine tropicale du sol. Les mesures de respiration et les extractions de C, N et P microbien ont été faites périodiquement jusqu'à la récolte du sorgho en pot.

#### **III.2.4.2      *Mesure de la respiration du sol***

La respiration a été mesurée sur l'équivalent de 100 g de sol sec. Le CO<sub>2</sub> émis a été capturé dans 20 ml de 0,2 M de NaOH, puis mesuré par titration du NaOH avec 0,2 M de HCl et quelques gouttes de chlorure de baryum utilisé comme indicateur coloré (Alef, 1995). Cependant, la première mesure effectuée 3 jours après le début de l'incubation a été répétée pour le niébé non-marqué en utilisant 0,5 M de NaOH et 0,5 M de HCl car l'émission de CO<sub>2</sub> avait saturé la solution de 0,2 M de NaOH. La respiration a été mesurée au 3<sup>ème</sup>, 5<sup>ème</sup> et 10<sup>ème</sup> jour d'incubation, puis une fois hebdomadairement jusqu'au 52<sup>ème</sup> jour. Les données des mesures de respiration effectuées au jour 24 ont été perdues par suite d'un problème informatique. Les émissions de CO<sub>2</sub> de cette date ont donc été calculées pour tous les traitements. L'émission de CO<sub>2</sub> du jour 24 a été calculée comme étant la moyenne des émissions de CO<sub>2</sub> mesurées la semaine avant (jour 17) et celle après (jour 31), en supposant une diminution linéaire de l'émission de CO<sub>2</sub> entre ces trois dates de mesure.

#### **III.2.4.3      *Mesure de P microbien***

Le P microbien du sol a été déterminé aux 4, 25, 46 et 52<sup>ème</sup> jours après le début de l'incubation par la méthode de fumigation-extraction avec des membranes de résine échangeuses d'anion selon la méthode de Kouno *et al.*, (1995), en utilisant de l'hexanol comme fumigeant (Bünemann *et al.*, 2007), sur l'équivalent de 4 g de sol sec. Les extractions ont été faites en ajoutant au sol 40 ml d'eau distillée et deux membranes de résine (6 cm x 2 cm) saturées de CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>. Trois répétitions analytiques ont été mises en place pour chaque sous-traitement (non-fumigé, fumigé avec de l'hexanol, et deux quantités connues de P inorganique ajoutées à des échantillons non-fumigés). Le P inorganique adsorbé sur les membranes de résine a été élué dans 30 ml d'une solution de 0,1 M NaCl et 0,1 M HCl dont la concentration

a été déterminée par colorimétrie au vert de Malachite (Ohno et Zibilske, 1991). Le P extrait par les résines dans les échantillons non-fumigés ( $P_{\text{resin}}$ ) a été utilisé comme un indicateur du P disponible du sol. Le P labile à l'hexanol a été calculé en faisant la différence entre le P extrait des échantillons fumigés ( $P_{\text{fum}}$ ) et non-fumigés, corrigée par la proportion de récupération du P inorganique ( $P_{\text{rec}}$ ). Le  $P_{\text{rec}}$  a été calculée en mesurant le P récupéré des échantillons ayant subi les additions de quantité connues (5 et 10 mg P kg<sup>-1</sup> sol) de P inorganique (Equation III-1), et a été utilisé comme un indicateur du P microbien ( $P_{\text{mic}}$ ). Aucun facteur de conversion n'a été utilisé lors de la mesure du P microbien (Bünemann *et al.*, 2004b) pour tenir compte d'une destruction probablement incomplète des cellules microbiennes lors de l'extraction.

$$P_{\text{mic}} (\text{mg kg}^{-1} \text{ sol}) = \frac{P_{\text{fum}} - P_{\text{resin}}}{P_{\text{rec}}} \quad (\text{III-1})$$

Où  $P_{\text{rec}}$  correspond au rapport entre le P récupéré et la quantité de P inorganique apportée dans les sous traitements ayant reçu les quantités connues de P inorganique.

#### **III.2.4.4      Mesure des proportions de P provenant des fertilisants dans le P résine et P microbien**

Ces mesures ont concerné uniquement les traitements Nieb-DLT et 1N1P-DLT où les fertilisants marqués ont été ajoutés au sol non marqué, et incubé. Dans ces traitements, la radioactivité du <sup>33</sup>P élué des résines a été mesurée par scintillation liquide à l'aide d'un compteur de scintillation liquide (Packard 2500 TR) après l'ajout d'un liquide de scintillation Ultima Gold AB (Packard Instrument Co), à raison de 5 ml pour 1 ml d'extrait.

La proportion de P microbien provenant des fertilisants marqués ne peut pas être calculée seulement en corrigeant la différence entre la radioactivité mesurée dans  $P_{\text{fum}}$  et  $P_{\text{resin}}$  par une courbe de récupération d'une quantité connue de radioactivité ajoutée suivant le principe appliqué dans la détermination du  $P_{\text{mic}}$ . En effet le <sup>31</sup>P libéré par la fumigation affecte la récupération du <sup>33</sup>P à cause des réactions de sorption/désorption et d'échanges isotopiques (McLaughlin *et al.*, 1988). Cependant, pour une large gamme d'activité spécifique, la proportion de récupération du <sup>33</sup>P ( $^{33}P_{\text{rec}}$ ) est similaire pour une même quantité de <sup>31</sup>P ajoutée (Oehl *et al.*, 2001). Le marquage au <sup>33</sup>P de la biomasse microbienne a donc été calculé en corrigeant la libération de radioactivité liée au P libéré par la fumigation, par la proportion de <sup>33</sup>P récupérée dans un sous traitement où 10 mg kg<sup>-1</sup> de P marqué apportant environ 245 Bq

g<sup>-1</sup> de sol ont été ajoutés. La proportion du P provenant des fertilisants dans les compartiments de P microbien (P<sub>mic dff</sub>) et P résine (P<sub>résine dff</sub>) a alors été calculée suivant l'Equation III-2 :

$$P_{dff \text{ compartiment}} (\%) = \frac{SA_{compartiment}}{SA_{fert}} \quad (III-2)$$

SA<sub>compartiment</sub> est l'activité spécifique du P (en kBq mg P<sup>-1</sup>) dans le compartiment pouvant être le P<sub>mic</sub> ou le P<sub>résine</sub>, et SA<sub>fert</sub> est l'activité spécifique du fertilisant (Tableau III- 2).

La quantité de P en mg kg<sup>-1</sup> sol provenant des fertilisants dans chaque compartiment (P<sub>mic dff</sub>) et P résine (P<sub>résine dff</sub>) a été calculée comme suit (Equation III-3):

$$P_{dff \text{ compartiment}} (\text{mg kg}^{-1}) = P_{dff \text{ compartiment}} (\%) \times P_{compartiment} (\text{mg kg}^{-1}) \quad (III-3)$$

Où P<sub>compartiment</sub> représente soit le P<sub>mic</sub>, soit le P<sub>résine</sub> (mg kg<sup>-1</sup>)

Le coefficient d'utilisation du P dans les compartiments de P microbien (CUP<sub>mic</sub>) et P résine (CUP<sub>résine</sub>), défini comme la proportion du P apportée par le fertilisant retrouvé dans les différents compartiments du sol, a été calculé en utilisant l'Equation III-4 ;

$$CUP_{compartiment \text{ dff}} (\%) = \frac{P_{compartiment \text{ dff}} (\text{mg kg}^{-1})}{P_{fert} (\text{mg kg}^{-1})} \times 100 \quad (III-4)$$

Où P<sub>fert</sub> est la quantité de P total apportée par le fertilisant.

#### III.2.4.5 Mesures du C et N microbiens

Ces mesures ont été faites également à 4, 25, 46 et 52 jours d'incubation. Le C et le N microbiens ont été déterminés par la méthode de fumigation-extraction au chloroforme de Vance *et al.*, (1987), en utilisant l'équivalent de 10 g de sol sec, 40 ml de 0,5 M K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, et deux répétitions analytiques. Les extraits ainsi obtenus ont été stockés à -20 °C, pour éviter toute évolution ou processus microbien en attendant de les mesurer. Les concentrations totales de C organique et de N dans les extraits ont été mesurées dans un Total Organic Carbon and Total Nitrogen analyzer (TOCTN) (Formacs SERIES, Skalar, The Netherlands). Le C labile au chloroforme a été calculé en faisant la différence entre le C total mesuré dans les échantillons fumigés et non-fumigés, et considéré comme le C microbien C<sub>mic</sub> (Equation III-5). Sur le même principe que le calcul du C<sub>mic</sub>, le N labile au chloroforme a été considéré comme le N microbien du sol (Equation III-6).

$$C_{mic} (\text{mg C kg}^{-1}) = C_{fum} - C_{non-fum} \quad (III-5)$$

$$N_{mic} (\text{mg N kg}^{-1}) = N_{fum} - N_{non-fum} \quad (\text{III-6})$$

où  $C_{fum}$  et  $N_{fum}$  sont les quantités de C et de N mesurées dans les échantillons fumigés au chloroforme, et  $C_{non-fum}$  et  $N_{non-fum}$ , les quantités de C et de N mesurées dans les échantillons non-fumigés. Aucun facteur de conversion n'a été utilisé lors du calcul du C et du N microbiens. Le N soluble mesuré dans les échantillons non fumigés a été considéré comme une estimation du N disponible du sol. Ce N soluble comprend, dans des proportions inconnues, du N minéral et du N organique soluble

#### III.2.4.6 Mesure de l'excès isotopique $^{15}\text{N}$ dans les extraits liquides

L'excès isotopique  $^{15}\text{N}$  des extraits de sol fumigés et non-fumigés a été déterminé suivant la méthode de l'oxydation-diffusion. Le N total des extraits a été oxydé en  $\text{NO}_3^-$  suivant la méthode modifiée de Koroleff, (1983) et de Cabrera et Beare, (1993). Le réactif d'oxydation se compose d'un mélange de 30 g de  $\text{H}_3\text{BO}_4$ , 100 ml d'une solution de 3,75 M NaOH, et 50 g de  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ , dans 1 litre d'eau distillée. Un volume d'extrait correspondant à 40  $\mu\text{g}$  de N a été échantillonné dans des tubes en verre et mélangé au réactif d'oxydation selon un ratio de 1 :1,25 (extrait : réactif d'oxydation). Le mélange a été passé à l'autoclave pendant 30 min à 120°C.

Le processus de diffusion a été entrepris après refroidissement des tubes suivant la méthode de Goerges et Dittert, (1998) modifiée par Mayer *et al.*, (2003). Le principe de la diffusion consiste à convertir le  $\text{NO}_3^-$  en  $\text{NH}_3$ , puis à piéger le  $\text{NH}_3$  produit dans un filtre en fibre de verre acidifié de  $\text{KHSO}_4$ . Le volume d'extrait oxydé a été transféré dans des boîtes en polyéthylène (PE), puis une solution de 5 M NaCl y a été ajoutée à raison de 4 ml pour 10 ml d'extrait. Une solution de 5 M NaOH à raison de 0,75 ml pour 10 ml d'extrait, et 200 mg d'alliage de Devarda ont également été rajoutés dans les boîtes. Puis deux membranes de polytétrafluoroéthylène (PTFE) ont été disposées de manière croisée sur l'ouverture des boîtes. Un filtre en fibre de verre de 5 mm de diamètre, préalablement lavé dans du 1 M HCl, rincé deux fois à l'eau distillé et séché à 550 °C a été placé sur les 2 membranes PTFE. Ensuite, 10  $\mu\text{l}$  de 2,5 M  $\text{KH}_2\text{SO}_4$  ont été mis sur le filtre en fibre de verre, avant d'être recouvert par une troisième membrane PTFE. Le tout a été fermé par le couvercle de la boîte et mis à agiter horizontalement à 150 tours  $\text{min}^{-1}$  pendant 72 heures. Après agitation, les filtres en fibre de verre ont été récupérés et mis à sécher dans un dessiccateur en compagnie d'un bécher contenant environ 50 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  fumant, puis ils ont été encapsulés dans des

capsules en étain pour mesurer leurs N total et leurs compositions isotopiques. L'excès d'atome  $^{15}\text{N}$  dans la biomasse microbienne (% excès  $^{15}\text{N}_{\text{mic}}$ ) a été calculé selon l'Equation III-7:

$$\% \text{ excès } ^{15}\text{N}_{\text{mic}} = \frac{(N_{\text{fum}} \times \% \text{ excès } ^{15}\text{N}_{\text{fum}} - N_{\text{non-fum}} \times \% \text{ excès } ^{15}\text{N}_{\text{non-fum}})}{(N_{\text{fum}} - N_{\text{non-fum}})} \times 100 \quad (\text{III-7})$$

où  $N_{\text{fum}}$  et  $N_{\text{non-fum}}$  représentent les quantités de N dans l'échantillon fumigés et non-fumigés respectivement, et % excès  $^{15}\text{N}_{\text{fum}}$  et % excès  $^{15}\text{N}_{\text{non-fum}}$  les excès isotopiques  $^{15}\text{N}$  mesurés dans les échantillons fumigés et non-fumigés.

La proportion de N microbien provenant des fertilisants marqués (% $N_{\text{mic dff}}$ ) a ensuite été calculé comme suit (Equation III-8):

$$\%N_{\text{mic dff}} = \frac{\% \text{ excès } ^{15}\text{N}_{\text{mic}}}{\% \text{ excès } ^{15}\text{N}_{\text{fert}}} \times 100 \quad (\text{III-8})$$

### III.2.5 Expérimentation en pot

Les traitements utilisés dans l'expérimentation en pot sont présentés dans le Tableau III- 4. Les résidus de niébé marqué et non-marqué ainsi que les traitements minéraux 1N1P marqué et non-marqué ont servi pour comparer les techniques de marquage direct et indirect. La technique ILT a été appliquée sur les autres traitements organiques (fumier et résidus de niébé paysan). Les traitements 1N0P et 0N1P ont servi de référence respectivement pour les mesures du  $P_{\text{dff}}$  et du  $N_{\text{dff}}$  par la technique ILT.



**Tableau III- 4 :** Traitements et techniques de marquages utilisés dans l'essai en pot

<b>Technique de marquage direct (DLT):</b> <i>Les fertilisants marqués sur sol non-marqué.</i>	<b>Technique de marquage indirect (ILT) :</b> <i>Fertilisants non-marqués sur sol marqué.</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Niébé marqué (Nieb-DLT)</b></li> <li>• <b>1N1P-DLT</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Témoin (0N0P) :</b></li> <li>• <b>Niébé non-marqué (Nieb-ILT)</b></li> <li>• <b>Fumier (Fum)</b></li> <li>• <b>Résidus de niébé (Residu)</b></li> <li>• <b>1N1P-ILT</b></li> <li>• <b>1N0P</b></li> <li>• <b>0N1P</b></li> </ul>

L'application des fertilisants a été faite telle que décrit pour l'expérience d'incubation avec les mêmes doses indiquées dans le Tableau III- 2. La variété de sorgho, *Sariasso 14* a été utilisé, sur 2 kg de sol avec deux plantes par pots. Les plantes en pot ont poussé sous serre avec une température comprise entre 22°C la nuit et 25°C le jour, 12 heures de photopériode et 70% d'hygrométrie.

L'expérimentation en pot a duré 52 jours, au stade où les plantes de sorgho avaient en moyenne sept feuilles bien développées. La biomasse aérienne des plantes de sorgho a été récoltée et séchée à 55°C pendant 5 jours. La biomasse sèche a été ensuite pesée à l'aide d'une balance, puis les teneurs en N et P, l'excès isotopique  $^{15}\text{N}$  et l'activité spécifique du P total des plantes ont été calculés sur des échantillons broyés très finement (<0,1 mm) à l'aide d'un broyeur ultra centrifugeur type ZM 200, Retsch.

#### **III.2.5.1      Analyse de C et N total et d'excès atomique $^{15}\text{N}$**

Ces analyses ont été effectuées dans le laboratoire de nutrition des plantes de l'ETH-Zürich, sur des échantillons finement broyés et mises dans des capsules en étain. Ces analyses ont porté sur l'ensemble des échantillons de plantes aussi bien que sur les amendements organiques séchés et broyés.

Le C et le N total des échantillons de plantes et du fumier ont été déterminés sur des échantillons finement broyés à l'aide d'un analyseur CNS FlashEA 1112 / MAS200 package (Thermo-Finnigan).

Les excès atomiques  $^{15}\text{N}$  dans les échantillons de plantes, de fumier et dans les filtres en fibre de verre ont été mesurés à l'aide d'un analyseur d'éléments chimiques (Vario PYRO cube, Elementar, Hanau, Germany), couplé à un spectromètre de masse (IsoPrime100, Manchester, UK). L'excès atomique  $^{15}\text{N}$  de la solution de N minéral marquée utilisée comme fertilisant a également été déterminé sur le même appareil. Un volume d'environ 50  $\mu\text{l}$  de l'échantillon liquide, contenant 30  $\mu\text{g}$  de N a été introduit dans les capsules qui ont ensuite été fermées hermétiquement avant d'être introduites dans l'analyseur.

Le P total des échantillons de plantes et celui du fumier ont été déterminés après combustion à 550°C de 200 mg d'échantillon de plante broyée et dissolution des cendres dans 2 ml d'acide nitrique fumant (à 69%), le tout ramené à 50 ml par l'ajout d'eau distillée. La concentration en P de cet extrait a été mesurée par colorimétrie au vert de Malachite (Ohno et Zibilske, 1991). La radioactivité du  $^{33}\text{P}$  a été mesurée par scintillation liquide avec un compteur de scintillation liquide (TRI CARB 2500 TR, Packard) après l'ajout de 5 ml d'un liquide de scintillation Ultima Gold AB Packard par 1 ml de d'extrait. Les valeurs obtenues ont été corrigées à la date de début de l'expérience pour tenir compte de la décroissance radioactive.

### **III.2.5.2      *Calcul des proportions de N et de P provenant des fertilisants***

Le N et le P total prélevés par la biomasse sèche de la partie aérienne des plantes ( $N_{\text{prélevé}}$  et  $P_{\text{prélevé}}$ ) ont été calculés en multipliant la biomasse sèche produite par leurs concentrations en N en P obtenues après les analyses. Les proportions de N et de P provenant des différents amendements ont ensuite été calculées en fonction des techniques de marquage utilisées.

- ***Par la méthode de marquage directe (DLT)***

Cette méthode a été utilisée dans les traitements où les fertilisants doublements marqués (Nieb-DLT et 1N1P-DLT) ont été apportés au sol non-marqué. La proportion de P provenant des fertilisants marqués ( $\%P_{\text{dff}}$ ) se calcule suivant l'Equation III-9 proposée par (Barraclough, 1995). Les principes et les calculs aboutissant à cette formule ont déjà été présentés par Morel et Fardeau, (1989a).

$$\%P_{\text{dff}} = \frac{AS_{+P}}{AS_F} \times 100 \quad (\text{III-9})$$

où %P<sub>dff</sub> est le pourcentage de P provenant du fertilisant marqué avec du <sup>33</sup>P dans la plante, AS<sub>+P</sub> est l'activité spécifique du P dans la biomasse de la plante ayant reçu le fertilisant marqué, et AS<sub>F</sub> est l'activité spécifique du P dans le fertilisant marqué.

De même, la proportion de N provenant des fertilisants marqués se calcule suivant l'Equation III-10 (Barraclough, 1995).

$$\%N_{dff} = \frac{\% \text{ excès } ^{15}N_{+N}}{\% \text{ excès } ^{15}N_F} \times 100 \quad (\text{III-10})$$

où %N<sub>dff</sub> est le pourcentage de N provenant du fertilisant marqué avec du <sup>15</sup>N dans la plante, % excès <sup>15</sup>N<sub>+N</sub> représente l'excès d'atomes <sup>15</sup>N dans la biomasse de la plante ayant reçu le fertilisant marqué et % excès <sup>15</sup>N<sub>F</sub> est l'excès d'atomes <sup>15</sup>N dans le fertilisant marqué.

- **Par la méthode de marquage indirecte (ILT)**

Cette méthode a été utilisée pour les traitements où des fertilisants non-marqués (Nieb-ILT, 1N1P-ILT, Résidu, Fum) ont été appliqués sur le sol marqué.

Dans la méthode ILT, le %P<sub>dff</sub> est calculé en appliquant l'Equation III-11 (Morel et Fardeau, 1989a) :

$$\% P_{dff} = 1 - \frac{AS_{+P}}{AS_{0P}} \times 100 \quad (\text{III-11})$$

où AS<sub>0P</sub> est l'activité spécifique du P dans la biomasse d'une plante témoin cultivée sans apport de P. Le traitement 1N0P a été utilisé pour la détermination de l'AS<sub>0P</sub>.

De même, le %N<sub>dff</sub> est calculé dans ILT en appliquant l'Equation III-12 (Hood *et al.*, 1999):

$$\%N_{dff} = 1 - \frac{\% \text{ excès } ^{15}N_{+N}}{\% \text{ excès } ^{15}N_{0N}} \times 100 \quad (\text{III-12})$$

où % excès <sup>15</sup>N<sub>0N</sub> est l'excès d'atomes <sup>15</sup>N dans la biomasse d'une plante contrôle cultivée sans apport de N. Le traitement 0N1P a été utilisé pour la détermination de % excès <sup>15</sup>N<sub>0N</sub>.

Pour l'ensemble des méthodes DLT et ILT, les quantités de N et de P provenant des fertilisants (N<sub>dff</sub> et P<sub>dff</sub>) ainsi que le coefficient d'utilisation par les plantes du N et du P des fertilisants (CUN et CUP), ont été calculés respectivement suivant les Equations III-13, III-14, III-15 et III-16.

$$P_{\text{dff}} (\text{mg}) = \%P_{\text{dff}} \times P_{\text{prélevé}} / 100 \quad (\text{III-13})$$

$$N_{\text{dff}} (\text{mg}) = \%N_{\text{dff}} \times N_{\text{prélevé}} / 100 \quad (\text{III-14})$$

$$\text{CUP} (\%) = P_{\text{dff}} / P_{\text{apporté}} \times 100 \quad (\text{III-15})$$

$$\text{CUN} (\%) = N_{\text{dff}} / N_{\text{apporté}} \times 100 \quad (\text{III-16})$$

où  $P_{\text{prélevé}}$  et  $N_{\text{prélevé}}$  sont les quantités totales de N et de P prélevées par la biomasse aérienne des plantes durant l'expérimentation en pot, et  $N_{\text{apporté}}$  et  $P_{\text{apporté}}$  (en  $\text{mg kg}^{-1}$  de sol) sont les quantités respectives de N et de P qui ont été apportées dans les pots.

### III.2.6 Analyses statistiques

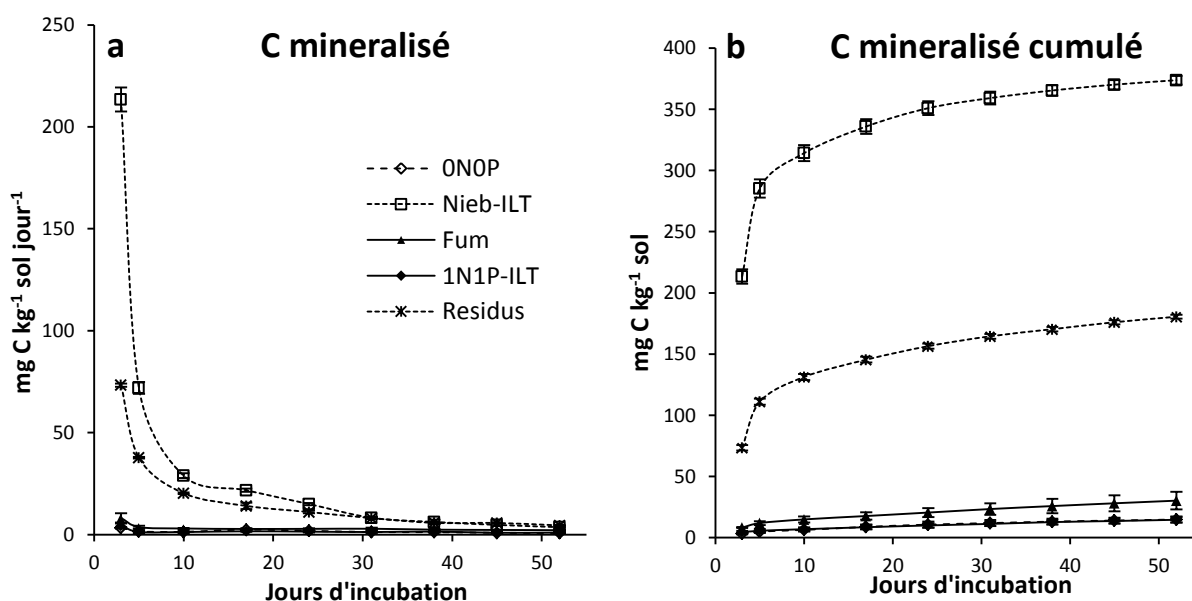
Des analyses de variance (ANOVA) simples ont été faites sur l'ensemble des paramètres mesurés après vérification de l'homogénéité des variances et de la distribution des données suivant la loi normale. Une ANOVA à deux facteurs a été utilisée pour l'analyse des données sur la dynamique des teneurs en P disponible et microbien avec les facteurs Traitement et Jour de mesure. Une vérification des différences entre les méthodes DLT et ILT a également été faite sur les traitements concernés de l'expérimentation en pot, à l'aide d'une ANOVA à deux facteurs avec les facteurs Traitement et technique de mesure (ILT ou DLT). Les différences significatives entre les traitements et entre les interactions entre traitements et jours de mesure ou entre traitements et techniques de mesures, ont été déterminées à l'aide du test de haute différence significative de Tukey à  $p < 0,05$ . Toutes ces analyses ont été effectuées à l'aide du logiciel SPSS Statistics 17.0.

### III.3 Résultats

#### III.3.1 Expérience d'incubation

##### III.3.1.1 Minéralisation du carbone

Dans tous les traitements, la plus forte émission de C lors de la respiration ( $\text{CO}_2\text{-C}$ ) a été mesurée au troisième jour d'incubation, suivie d'une baisse plus ou moins drastique et régulière des émissions (Figure III- 2). Les plus fortes émissions de C ont été particulièrement observées sur Nieb-ILT et Residu, avec respectivement une émission de 213 et 73  $\text{mg C kg}^{-1}$  jour<sup>-1</sup> au troisième jour d'incubation. A la fin de l'incubation, une émission totale cumulée de 374 et 180  $\text{mg C kg}^{-1}$  représentant respectivement 21 et 11% des quantités totales de C apportées, ont été mesurées dans Nieb-ILT et Residu (Tableau (III- 2)). Bien que beaucoup plus faible que dans Nieb-ILT et Residu, la quantité cumulée de C minéralisé pendant l'incubation avec Fum était également supérieure à celles mesurées avec 0N0P et 1N1P, avec une quantité totale de 30  $\text{mg C kg}^{-1}$ , représentant 3% du C ajouté dans ce traitement.

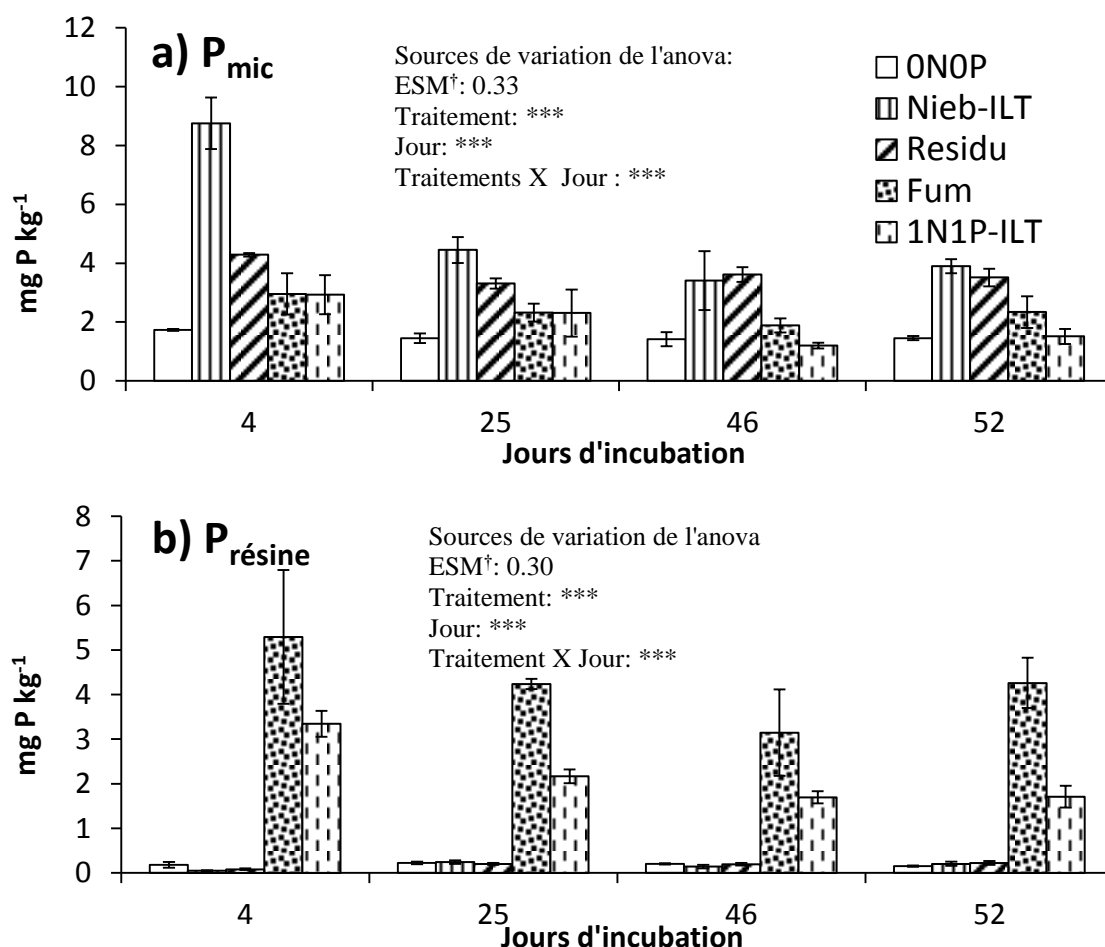


**Figure III- 2 :** Evolution de la minéralisation journalière (a) et cumulative (b) de C durant 52 jours d'incubation après l'apport de fanes de niébé paysans (Residu), de résidus de niébé non marqué (Nieb-ILT), de fumier (Fum) de N et de P minéral non marqué (1N1P-ILT) et le témoin non amendé (0N0P) dans un Lixisol du Centre-Ouest du Burkina Faso. Les données présentées sont la moyenne et la déviation standard, n= 4.

### III.3.1.2 *Effet des amendements sur le P microbien et le P disponible*

Au quatrième jour d'incubation des sols amendés avec les fertilisants non-marqués, les plus hauts  $P_{mic}$  (10,6 et 8,8 mg P kg<sup>-1</sup>) ont été observés dans Nieb-DLT et Nieb-ILT, suivi d'un  $P_{mic}$  de 4,3 mg P kg<sup>-1</sup> obtenu avec le traitement Residu. Au 25<sup>ième</sup> jour, le  $P_{mic}$  a chuté à 4,4 et à 3,3 mg P kg<sup>-1</sup> avec le traitement Nieb-ILT et Residu, respectivement (Figure III- 3 a). Avec 0N0P, le  $P_{mic}$  est resté relativement stable entre 1,7 et 1,4 mg P kg<sup>-1</sup> tout au long de l'incubation. Les traitements 1N1P-ILT et Fum ont eu des valeurs similaires de  $P_{mic}$  au quatrième et 25<sup>ième</sup> jour d'incubation, passant de 3 à 2,3 mg P kg<sup>-1</sup>. Au 45<sup>ième</sup> jour d'incubation, le  $P_{mic}$  de 1N1P était similaire à 0N0P.

Le plus haut niveau de  $P_{résine}$  situé entre 5,3 au quatrième jour et 3,1 mg P kg<sup>-1</sup> au 45<sup>ième</sup> jour d'incubation, a été mesuré dans le traitement Fum tout au long de l'incubation. Dans 1N1P-ILT, le P disponible a subi une baisse régulière, passant de 3,3 à 1,7 mg P kg<sup>-1</sup> entre le quatrième et le 52<sup>ième</sup> jour d'incubation (Figure III- 3 b). Les plus faibles niveaux ont été mesurés dans les traitements 0N0P, Nieb-ILT et Residu où le  $P_{résine}$  est resté relativement stable à environ 0,2 mg P kg<sup>-1</sup>.



**Figure III- 3** : Evolution du P microbien ( $P_{mic}$ ) (a) et du P disponible ( $P_{résine}$ ) durant 52 jours d'incubation de sol après apport de fanes de niébé paysans (Residu), de résidus de niébé non marqué (Nieb-ILT), de fumier (Fum) de N et de P minéral non marqué (1N1P-ILT), et le témoin non amendé (ONOP) dans un Lixisol du Centre-Ouest du Burkina Faso.  $^{\dagger}$  ESM = erreur standard de la moyenne,  $n=4$ .

Avec les traitements Nieb-DLT et 1N1P-DLT, le  $P_{mic}$  et le  $P_{résine}$  ont suivi les mêmes tendances que dans leurs correspondants non-marqués. Au cours de l'incubation, le  $P_{résine}$  était d'environ 2 mg P kg<sup>-1</sup> dans 1N1P-DLT, et était inférieur à 0,5 mg P kg<sup>-1</sup> dans Nieb-DLT (Tableau III- 5). Dans 1N1P-DLT, le % $P_{résine}$  dff a varié de 93% au 4<sup>ème</sup> jour d'incubation, à 65% au 53<sup>ème</sup> jour d'incubation. Dans Nieb-DLT le % $P_{résine}$  dff a évolué entre 55 et 67 % sans différence significative entre les jours d'incubation. Le coefficient d'utilisation du P dans le  $P_{résine}$  ( $CUP_{résine}$ ) était plus élevé dans 1N1P-DLT (de 22% du 4<sup>ème</sup> jour à et 13% au 53<sup>ème</sup> jour) que dans Nieb-DLT où il était compris entre 0,2 et 3% du P apporté. Dans 1N1P-DLT, le  $P_{mic}$  a varié de 4,3 au 4<sup>ème</sup> jour d'incubation à 1,4 mg P kg<sup>-1</sup> au 52<sup>ème</sup> jour, tandis qu'il a varié de 11,1 à 3,6 mg P kg<sup>-1</sup> entre le 4<sup>ème</sup> et le 52<sup>ème</sup> jour d'incubation dans Nieb-DLT. Le % $P_{mic}$  dff et  $CUP_{mic}$  a été plus élevé dans Nieb-DLT comparativement à 1N1P-DLT. Dans Nieb-DLT, le % $P_{mic}$  dff a varié de 63% au 4<sup>ème</sup> jour à 40% au 5<sup>ème</sup> jour d'incubation

comparativement à 1N1P-DLT où le  $\%P_{mic\ dff}$  a varié de 27 à 18% sans différence significative entre les jours d'incubation. De-même, le  $CUP_{mic}$  dans Nieb-DLT a varié de 77,5 à 16% du P apporté dans Nieb-DLT et de 13 à 4% du P apporté dans 1N1P-DLT.



**Tableau III- 5** : Evolution du P disponible ( $P_{\text{résine}}$ ) et microbien ( $P_{\text{mic}}$ ) du sol, des proportions de P provenant des fertilisants marqués dans le  $P_{\text{résine}}$  et le  $P_{\text{mic}}$  (% $P_{\text{résine dff}}$  et % $P_{\text{mic dff}}$ ) et du coefficient d'utilisation P apporté dans le  $P_{\text{résine}}$  et le  $P_{\text{mic}}$  ( $CUP_{\text{résine}}$  et  $CUP_{\text{mic}}$ ) dans les traitements 1N1P-DLT et Nieb-DLT pendant l'incubation de sol.

Traitement	Jour d'incubation	$P_{\text{résine}}$	% $P_{\text{résine dff}}$	$CUP_{\text{résine}}$	$P_{\text{mic}}$	% $P_{\text{mic dff}}$	$CUP_{\text{mic}}$
		mg kg <sup>-1</sup>	% $P_{\text{résine}}$	% P apporté	mg kg <sup>-1</sup>	% $P_{\text{mic}}$	% P apporté
1N1P-DLT	4	2,09 c	93,4 b	21,5 c	4,3 b	26,7 ab	13,0 c
	25	1,91 bc	66,5 a	14,0 b	2,6 bc	34,2 ab	10,1 abc
	46	1,54 b	58,4 a	9,9 b	1,6 a	35,6 ab	6,4 ab
	52	1,84 bc	64,5 a	13,2 b	1,4 a	18,0 a	3,5 a
Nieb-DLT	4	0,03 a	56,9 a	0,2 a	11,1 d	63,3 d	77,5 e
	25	0,21 a	67,4 a	1,5 a	3,5 bc	47,5 abc	18,2 cd
	46	0,28 a	54,3 a	1,7 a	3,8 bc	42,1 abc	17,6 cd
	52	0,43 a	60,8 a	2,9 a	3,6 bc	39,5 abc	15,8 bc
ESM <sup>†</sup> (traitement X jour d'incubation)		0,16	6,5	1,3	0,4	5,1	2,7
Sources de	Traitement	***	***	***	***	***	***
variations de	Jour d'incubation	NS	**	***	***	***	***
l'anova <sup>††</sup>	Traitement X jour d'incubation	**	**	***	***	NS	***

<sup>†</sup> ESM: Erreur Standard de la moyenne n=4

<sup>††</sup> seuils de probabilités de significations : \*\*\*<0,001; \*\* <0,01, NS non significatif;

### III.3.1.3 *Effet des amendements sur le N microbien et le N soluble*

Les extractions de N soluble, de C et N microbien, ont été faites aux mêmes dates que le P disponible et microbien. Malheureusement, des difficultés de mesure liées à un fonctionnement non optimal de l'analyseur TOCTN ont conduit à une perte de tout ou d'une partie des extraits des 4<sup>ème</sup>, 25<sup>ème</sup> et 52<sup>ème</sup> jours d'incubation. Nous ne présenterons donc que les résultats obtenus sur les extraits du 46<sup>ème</sup> jour d'incubation (Tableau III- 6) qui ont pu être analysés en totalité.

Le  $N_{\text{soluble}}$  le plus élevé a été mesuré dans les traitements minéraux avec 76 et 78 mg N kg<sup>-1</sup> dans 1N1P-ILT et 1N1P-DLT, respectivement (Tableau III- 6). Les teneurs en  $N_{\text{soluble}}$  des autres traitements, rangées entre 19 mg N kg<sup>-1</sup> avec Nieb-DLT, et 26 mg N kg<sup>-1</sup> avec Fum étaient significativement inférieures à celles des traitements 1N1P, et similaires entre elles. Le pourcentage de N soluble provenant des fertilisants marqués ( $\%N_{\text{soluble dff}}$ ) et le coefficient d'utilisation du N apporté par les fertilisants marqués dans le N soluble du sol ( $CUN_{\text{soluble}}$ ), étaient tous plus élevés dans le traitement 1N1P-DLT que dans Nieb-DLT. Le  $\%N_{\text{soluble dff}}$  était de 89% pour 1N1P-DLT et de 48% pour Nieb-DLT, tandis que le  $CUN_{\text{soluble}}$  était de 92% dans 1N1P-DLT et de 12 % dans Nieb-DLT.

Les traitements avec amendements organiques ont présenté des niveaux de  $C_{\text{mic}}$  similaires rangés entre 76 mg C kg<sup>-1</sup> dans Nieb-DLT et 67 mg C kg<sup>-1</sup> dans Residu (Tableau III- 6). Le plus faible  $C_{\text{mic}}$  a été observé dans 1N1P-DLT. Le plus élevé  $N_{\text{mic}}$  (12,6 mg N kg<sup>-1</sup>) a été observé dans Nieb-DLT. Dans les traitements non marqués, le  $N_{\text{mic}}$  était situé entre 3,5 mg N kg<sup>-1</sup> dans Fum et 7,6 mg N kg<sup>-1</sup> dans Nieb-ILT. Le  $N_{\text{mic}}$  des traitements 1N1P était similaire à celui de 0N0P, à environ 5 mg N kg<sup>-1</sup>. Le  $\%N_{\text{mic dff}}$  était de 30% pour 1N1P-DLT, et de 47% pour Nieb-DLT. En revanche, le  $CUN_{\text{mic}}$  était de 8% dans 1N1P-DLT et de 2% Nieb-DLT.

**Tableau III- 6 :** Teneurs en N soluble du sol ( $N_{\text{soluble}}$ ), C et N microbien ( $C_{\text{mic}}$  et  $N_{\text{mic}}$ ), proportions du N soluble et N microbien provenant des fertilisants marqués ( $\%N_{\text{soluble dff}}$  et  $\%N_{\text{mic dff}}$ ) et coefficients d'utilisation du N apporté dans le N soluble et le N microbien ( $CUN_{\text{soluble}}$  et  $CUN_{\text{mic}}$ ) au 46ième jour de l'incubation de sol

Traitements	$N_{\text{soluble}}$	$\% N_{\text{soluble dff}}$	$CUN_{\text{soluble}}$	$C_{\text{mic}}$	$N_{\text{mic}}$	$\% N_{\text{mic dff}}$	$CUN_{\text{mic}}$
	mg kg <sup>-1</sup>	$\% N_{\text{soluble}}$	$\% N$ apporté	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	$\% N_{\text{mic}}$	$\% N$ apporté
<b>0N0P</b>	19,4 a	-		45,4 bc	5,1 ab		-
<b>1N1P-ILT</b>	75,8 b	-		23,2 ab	4,8 ab		-
<b>1N1P-DLT</b>	78,1 b	89 a	92 a	14,7 a	4,7 ab	30 a	8 a
<b>Nieb-ILT</b>	21,3 a	-		73,1 d	7,6 b		-
<b>Nieb-DLT</b>	18,9 a	48 b	12 b	75,9 d	12,6 c	47 b	2 b
<b>Fum</b>	26,0 a	-		68,2 cd	3,5 a		-
<b>Residu</b>	25,1 a	-		66,8 cd	6,1 a		-
<b>ESM<sup>†</sup></b>	2,6	22	43	7,9	1,2	10	3
<b>Signification<sup>††</sup></b>	***	***	***	***	***	**	***

<sup>†</sup> ESM: Erreur Standard de la moyenne n=4

<sup>††</sup> seuil de probabilités de significations : \*\*\*<0,001; \* <0,05 ; NS : non significatif

### III.3.2 Expérience en pot

#### III.3.2.1 *Production de matière sèche et prélèvement de N et de P par le sorgho*

La production de biomasse aérienne était rangée dans l'ordre suivant :  $\text{Residu} \leq \text{Nieb-ILT} \leq 0\text{N0P} \leq 1\text{N0P} \leq \text{Nieb-DLT} \leq 0\text{N1P} \leq \text{Fum} \leq 1\text{N1P-DLT} \leq 1\text{N1P-ILT}$ . Cette production a varié de  $0,13 \text{ g kg}^{-1}$  sol avec le traitement Residu, à  $2,27 \text{ g kg}^{-1}$  sol avec 1N1P-DLT (Tableau III- 7). La production des traitements Fum, 1N1P-DLT et 1N1P-ILT était statistiquement similaire, de même que celle des traitements Nieb-DLT, Nieb-ILT, 0N0P et Residu. Les plus grands prélèvements de N ont été observés dans les traitements 1N1P-ILT et 1N1P-DLT avec  $49,1$  et  $41,5 \text{ mg N kg}^{-1}$  de sol, respectivement. Les quantités de N prélevées dans les traitements Nieb-DLT, Nieb-ILT, et Residu étaient similaires, et comprises entre  $2,7 \text{ mg N kg}^{-1}$  dans Résidu et  $5,3 \text{ mg N kg}^{-1}$  dans Nieb-DLT. Les plus grandes quantités de P prélevées, d'environ  $2 \text{ mg P kg}^{-1}$  ont été observées dans les traitements 1N1P et Fum, tandis que les plus faibles prélèvements de P compris entre  $0,1$  et  $0,25 \text{ mg P kg}^{-1}$  ont été observés dans les traitements Résidus, Nieb, 0N0P et 1N0P.

**Tableau III- 7 :** Production de biomasse, concentration en N et en P et quantités de N et de P prélevées dans la partie aérienne du sorgho après l'apport de fanes de niébé paysans (Resisu), de résidus de niébé non marqué et marqué (Nieb-ILT et Nieb-DLT), de fumier (Fum) de N et de P minéral non marqué et marqué (1N1P-ILT et 1N1P-DLT) des contrôles 0N1P, 1N0P et le témoin non amendé (0N0P).

Traitements	Biomasse	Concentration de	Concentration de	N prélevé	P prélevé
		N	P		
	g kg <sup>-1</sup> sol	g kg <sup>-1</sup> MS	g kg <sup>-1</sup> MS	mg kg <sup>-1</sup> sol	mg kg <sup>-1</sup> sol
<b>0N0P</b>	0,19 ab	18,5 b	0,62 a	3,5 ab	0,11 a
<b>1N0P</b>	0,20 ab	35,6 c	0,74 a	7,1 ab	0,15 a
<b>0N1P</b>	1,08 bc	8,0 a	0,88 ab	8,6 ab	0,94 b
<b>Fum</b>	1,79 cd	6,3 a	1,07 bc	11,4 b	1,91 c
<b>Residu</b>	0,13 a	20,4 b	0,7 a	2,7 a	0,10 a
<b>Nieb-ILT</b>	0,14 ab	24,0 b	1,12 c	3,3 ab	0,15 a
<b>Nieb-DLT</b>	0,22 ab	24,0 b	1,13 c	5,3 ab	0,25 a
<b>1N1P-ILT</b>	2,54 d	20,4 b	0,82 ab	49,1 c	2,00 c
<b>1N1P-DLT</b>	2,27 d	19,3 b	0,72 ab	41,5 c	1,59 c
<b>SEM<sup>†</sup></b>	0,28	1,72	0,08	2,46	0,13
<b>Signification<sup>††</sup></b>	***	***	***	***	***
<b>ILT vs DLT</b>	NS	NS	NS	NS	NS

<sup>†</sup> ESM: Erreur Standard de la moyenne n=4

<sup>††</sup> seuils de probabilités de significations : \*\*\*<0,001; NS non significatif

### **III.3.2.2      *Pourcentages et quantités de N dérivés des fertilisants dans le sorgho***

Le %N<sub>dff</sub> calculé a varié de 19% avec Fum, à 83% avec Nieb-ILT (Tableau III- 8). Les méthodes ILT et DLT ont donné des %N<sub>dff</sub> similaires avec les traitements 1N1P, alors que le %N<sub>dff</sub> mesuré avec Nieb-ILT (83%) était significativement plus élevé que le %N<sub>dff</sub> mesuré avec Nieb-DLT qui était de 52%. À l'inverse, les quantités de N<sub>dff</sub> ont varié de 1,7 mg N kg<sup>-1</sup> avec Residu à 38,1 mg N kg<sup>-1</sup> avec 1N1P-ILT, et étaient statistiquement similaires entre Nieb-DLT et Nieb-ILT, mais différentes entre 1N1P-DLT et 1N1P-ILT. Des quantités similaires de N dérivé du sol (Ndfs) ont été mesurées entre 1N1P-DLT et 1N1P-ILT, et entre Nieb-DLT et Nieb-ILT. Le Ndfs dans les traitements 1N1P (environ 11 mg N kg<sup>-1</sup>) était supérieur à celui des traitements Nieb qui était compris entre 0,6 et 2,5 mg N kg<sup>-1</sup>. Le CUN a également suivi les mêmes tendances que le %N<sub>dff</sub>, avec les plus grandes valeurs de 40 et 50% observées respectivement dans 1N1P-ILT et 1N1P-DLT. Les CUN des autres traitements étaient compris entre 2,2% dans Residu et 7,6% dans 1N0P, et étaient statistiquement similaires. La méthode de marquage a uniquement influencé le % N<sub>dff</sub>, alors qu'elle n'a pas eu d'effet significatif sur les autres paramètres mesurés.

**Tableau III- 8 :** Pourcentage d'excès d'atomes  $^{15}\text{N}$ , proportions et quantités de N provenant des fertilisants ( $\text{N}_{\text{dff}}$ ), quantité de N dérivé du sol ( $\text{N}_{\text{dfs}}$ ) et coefficient d'utilisation du N apporté par les fertilisants (CUN) dans le dans la biomasse aérienne de sorgho.

Traitements	% $^{15}\text{N}$ atom excès		$\text{N}_{\text{dff}}$	$\text{N}_{\text{dfs}}$	CUN
	%	%	mg kg <sup>-1</sup> sol	mg kg <sup>-1</sup> sol	%
1N0P	0,15	81,1 c	5,72 a	1,34 ab	7,6 a
0N1P	0,78	-	-	5,58 c	-
Fum	0,63	19,2 a	2,14 a	9,00 c	2,9 a
Residu	0,31	60,9 b	1,67 a	1,0 ab	2,2 a
Nieb-ILT	0,13	82,9 c	2,70 a	0,56 a	3,6 a
Nieb-DLT	4,76	52,3 b	2,79 a	2,53 ab	3,7 a
1N1P-ILT	0,18	77,5 c	38,10 c	11,04 c	50,1 c
1N1P-DLT	1,58	74,0 c	30,68 b	10,85 c	40,1 b
<b>SEM<sup>†</sup></b>	-	4,0	1,98	0,82	2,6
<b>Traitement<sup>††</sup></b>	-	***	***	***	***
<b>DLT vs ILT<sup>††</sup></b>	-	***	NS	NS	NS

<sup>†</sup> ESM: Erreur Standard de la moyenne

<sup>††</sup> seuil de probabilités de significations : \*\*\*<0,001; NS non significatif;

Rappel : le % d'excès d'atomes  $^{15}\text{N}$  dans les fertilisants marqués et les doses de N apportées sont présentés dans le Tableau III- 2

### III.3.2.3 Pourcentages et quantités de P dérivés des fertilisants dans le sorgho

Les % $\text{P}_{\text{dff}}$  ont varié de 56% dans Nieb-DLT à 83% dans Fum (Tableau III- 9). Le % $\text{P}_{\text{dff}}$  de Nieb-DLT était inférieur à celui de Nieb-ILT qui était de 68%. Le % $\text{P}_{\text{dff}}$  de 70% calculé dans 1N1P-DLT n'était pas significativement différent de celui de 1N1P-ILT. La plus grande quantité de  $\text{P}_{\text{dff}}$  (1,59 mg P kg<sup>-1</sup>) a été mesurée dans Fum, tandis que le traitement Residu a montré la plus faible quantité de  $\text{P}_{\text{dff}}$  (0,07 mg P kg<sup>-1</sup>). Les traitements Nieb-DLT, Nieb-ILT et Residu ont présenté des quantités de  $\text{P}_{\text{dff}}$  statistiquement similaires, de-même que 1N1P-DLT et 1N1P-ILT. Les CUP les plus élevés étaient de 15% dans 1N1P-DLT et de 14 % dans

1N1P-ILT sans différence significative entre ces deux traitements. Excepté le traitement Fum qui a présenté un CUP de près de 9%, les autres traitements à base d'amendements organiques ont eu des CUP inférieurs à 2%.

**Tableau III- 9 :** Activité spécifique du P dans les échantillons de plantes, proportions et quantités de P provenant des fertilisants ( $P_{dff}$ ), quantités de P dérivé du sol ( $P_{dfs}$ ) et coefficient d'utilisation du P apporté par les fertilisants (CUP) dans la biomasse aérienne de sorgho.

Traitements	Activité spécifique		$P_{dff}$		$P_{dfs}$	CUP
	kBq mg P <sup>-1</sup>	%	mg P kg <sup>-1</sup> sol	mg P kg <sup>-1</sup> sol	%	
1N0P	253	-	-	0,15ab	-	
0N1P	71	71,8 bc	0,68 b	0,27 bc	7,5 b	
Fum	43	82,9 d	1,59 d	0,33 c	8,8 b	
Residu	68	73,0 bc	0,07 a	0,03 a	1,3 a	
<i>Nieb-ILT</i>	81	68,0 b	0,10 a	0,05 a	1,5 a	
<i>Nieb-DLT</i>	105	56,3 a	0,14 a	0,11 ab	1,6 a	
<i>1N1P-ILT</i>	77	69,6 b	1,39 cd	0,61 d	15,3 c	
<i>1N1P-DLT</i>	190	78,3 cd	1,23 c	0,35 c	13,6 c	
<b>SEM<sup>†</sup></b>	-	2,5	0,1	0,05	1,0	
<b>Traitement<sup>††</sup></b>	-	***	***	***	***	
<b><i>DLT vs ILT</i><sup>††</sup></b>	-	NS	NS	NS	NS	

<sup>†</sup> ESM: Erreur Standard de la moyenne

<sup>††</sup>: seuils de probabilités de significations : \*\*\*<0,001; \* <0,05, NS : non significatif;

Rappel : l'activité spécifique des fertilisants marqués et les doses de P apportées sont présentés dans le Tableau III- 2



### III.4 Discussion partielle

#### III.4.1 La minéralisation du carbone

La plus forte minéralisation de C observée dans les traitements Nieb-ILT et Residu par rapport aux traitements 0N0P et 1N1P (Figure III- 2), concorde avec le fait que le C est le premier nutriment limitant pour les microorganismes dans notre sol (Traoré *et al.*, 2016). Cela confirme également le rôle stimulant des amendements organiques sur l'activité microbiologique des sols (Abera *et al.*, 2012). Les différences significatives sur la minéralisation du C dans les traitements avec amendements organiques, s'expliquent par la quantité et la qualité des composés organiques apportés par ces différents amendements. Les quantités de C apportées par Nieb-ILT et Residu représentent près du double de celle apportée par le fumier (Tableau III- 2). La matière organique fraîche de Residu et de Nieb-ILT sont des sources de C et d'énergie plus facilement accessibles pour les microorganismes que le fumier, qui a une dégradation déjà avancée après avoir traversé le tube digestif des animaux (Janssen, 1996). Cela explique la plus forte minéralisation de C aussi bien en quantité qu'en proportion dans Nieb-ILT et Residu par rapport à Fum. Une importante quantité de C (a été assimilée dans la biomasse microbienne durant les premiers jours d'incubation, spécialement dans les traitements Nieb-ILT et Residu, si l'on considère que la quantité de C émise par la respiration représente 40% de la quantité totale de C minéralisée (Van Veen *et al.*, 1985). Cette forte incorporation de C s'accompagnerait certainement d'une immobilisation de nutriments (N et P) dans la biomasse microbienne.

Une plus grande minéralisation de C a été observée dans Nieb-ILT que dans Residu surtout dans les premiers jours d'incubation. Cela indique que les composés organiques apportés par les résidus matures de niébé ne sont pas aussi bien dégradables par les microorganismes du sol que ceux apportés par les résidus de niébé jeune (Nieb-ILT), malgré la quantité presque égale de C apportée et un rapport C:N similaire. Des informations supplémentaires sur les caractéristiques biochimiques des différents amendements organiques seraient nécessaires pour expliquer la différence de minéralisation du C dans les traitements Nieb-ILT, Residu. Le niébé non-marqué produit sous serre du fait de son jeune âge (seulement 4 semaines de développement) contiendrait beaucoup plus de C facile à dégrader (Palm *et al.*, 2001a) tandis que les résidus de niébé paysan arrivés à maturité contiendraient plus de lignines et d'hollocellulose (Bidlack et Buxton, 1992) qui sont difficiles à minéraliser par les microorganismes du sol (Jensen *et al.*, 2005). Nos résultats sont similaires à ceux de Ha *et al.*,

(2007) qui ont observé une plus grande minéralisation de C suite à l'application au sol de résidus de pois (*Pisum sativum*) jeunes qui contiennent plus de C sous formes labile par rapport à l'application de résidus matures qui sont plus riches en lignine.

La minéralisation du C apporté par les substrats organiques surtout dans les premiers jours de l'incubation indique un accroissement de la biomasse et de l'activité microbienne du sol. Une plus grande immobilisation du N et du P disponible par les microorganismes du sol est donc attendue dans les traitements Nieb-ILT, Nieb-DLT et Residu, comparativement aux traitements Fum, et 1N1P.

#### **III.4.2 Effet des amendements sur la biomasse microbienne et la disponibilité du N et du P**

Au quatrième jour d'incubation, les traitements Nieb-DLT, Nieb-ILT et Residu ont entraîné un accroissement du  $P_{mic}$  par un facteur de 6 ; 5 et 2,5 respectivement, par rapport à 0N0P (Figure III- 3). L'accroissement plus faible du  $P_{mic}$  avec le traitement Résidu (comparativement à Nieb-DLT et Nieb-ILT) est lié à l'état de maturité plus avancé des résidus de niébé paysan comparativement aux niébés marqué et non marqué produits sous serre (Ha *et al.*, 2007). Les augmentations de  $P_{mic}$  couplées avec des niveaux de  $P_{résine}$  similaires voire inférieurs à ceux mesurés dans le traitement 0N0P, indiquent qu'une immobilisation de P s'est produite pendant l'incubation de sol dans les traitements Nieb-DLT, Nieb-ILT et Residu. En effet le faible pouvoir de fixation de P de notre sol devrait entraîner une hausse significative du  $P_{résine}$  aux premiers jours d'incubation après l'application des amendements organiques qui contiennent des proportions de P total résine-extractibles comprises entre 69% dans Nieb-DLT et 36% dans Résidu (Tableau III- 2), si aucun prélèvement d'origine microbien n'avait eu lieu. Des résultats similaires ont été obtenus par Kwabiah *et al.*, (2003b) qui n'ont observé aucune augmentation significative du  $P_{résine}$  du sol après l'application de plusieurs résidus de légumineuses sur un sol à faible pouvoir de fixation de P durant une incubation de 56 jours. La quantité importante de P apportée par le fumier (18 mg P kg<sup>-1</sup> dont 50% sont résine-extractibles) explique le  $P_{résine}$  nettement supérieur dans Fum par rapport à 1N1P, avec une différence de  $P_{résine}$  variant entre 1.5 et 4 mg P kg<sup>-1</sup> durant l'incubation. Le  $P_{mic}$  similaire au 4<sup>ème</sup> et au 25<sup>ème</sup> jour d'incubation dans ces deux traitements s'explique davantage par la faible disponibilité du C dans le fumier qui limite la croissance microbienne et l'immobilisation de P dans la biomasse microbienne dans Fum.

La dynamique du P dans les différents compartiments du sol après l'application des amendements organiques dépend de la disponibilité en P du sol et des caractéristiques de ces amendements organiques. Des seuils critiques de rapport C:P des substrats organiques au-delà desquels une immobilisation du P apporté a lieu, ont été proposés par plusieurs auteurs. Pour Tate, (1985), ces seuils varient de 100 pour les sols bien pourvus en P disponible, à 200 pour les sols déficients en P disponible. Sur un sol à faible teneur en P disponible et à faible pouvoir fixateur, Kwabiah *et al.*, (2003a) ont déterminé des seuils critiques de rapport massique C:P variant de 252 à 194 pour une durée d'incubation allant de 1 à plus de 28 jours. Après l'addition de résidus de légumineuses de teneurs et de rapport C:P variables, Alamgir *et al.*, (2012) ont trouvé que les résidus de faibles teneurs de P et de ratios C:P élevés (entre 206 et 640) entraînaient une immobilisation de P dans la biomasse microbienne, au détriment des compartiments P inorganique facilement disponibles ( $P_{\text{résine}}$  et  $\text{NaHCO}_3\text{-Pi}$ ) ; par contre, les résidus ayant des rapports C:P plus bas (entre 47 et 144) ont entraîné une minéralisation plus ou moins rapide du P apporté. Ces valeurs critiques sont inférieures ou dans le même ordre de grandeur que les rapports massique C:P de nos amendements à base de niébé, et confirment la forte immobilisation de P dans Nieb-DLT, Nieb-ILT et Residu. Par contre, l'application du fumier (de rapport C:P =94) a entraîné une augmentation significative du  $P_{\text{résine}}$  du sol grâce à la quantité élevée de P minéral qu'il contient, et à la faible immobilisation microbienne que ce substrat a induit. Des résultats similaires ont été trouvés par Gichangi *et al.*, (2009) suite à l'application de  $10 \text{ g kg}^{-1}$  sol de fumier au cours d'une incubation.

La technique de marquage a permis de mettre en évidence l'immobilisation de P dans le sol après l'apport de substrats organiques. Comparativement à l'engrais minéral soluble dans l'eau (1N1P-DLT), l'application de résidus de niébé marqué (Nieb-DLT) a entraîné un fort accroissement du  $P_{\text{mic}}$  dont une quantité importante provient du P apporté par l'amendement, au détriment du P disponible du sol surtout aux premiers jours d'incubation. Les  $\text{CUP}_{\text{mic}}$  mesurés dans Nieb-DLT au cours de l'incubation, sont supérieurs à ceux observés par (Bünemann *et al.*, 2004b) après l'ajout de résidus de *Crotalaria* sur un Ferralsol du Kenya. Le  $\text{CUP}_{\text{mic}}$  de près de 78% au 4<sup>ième</sup> jour (Tableau III- 5) est même plus important que les 69% de P résine-extractibles du niébé marqué, alors que seulement entre 0,2 et 3% du P apporté par le niébé marqué s'est retrouvé dans le  $P_{\text{résine}}$  pendant l'incubation, suggérant une incorporation dans la biomasse microbienne, de P organique provenant de ce substrat. Dans 1N1P-DLT, le P minéral appliqué s'est retrouvé beaucoup plus dans le  $P_{\text{résine}}$  que dans le compartiment microbien à cause de l'absence d'immobilisation. L'accroissement de la biomasse

microbienne après l'application du niébé marqué et le %P<sub>mic dff</sub> dans ce traitement montre également que la quantité de P<sub>mic</sub> dérivée du sol (entre 4 et 2 mg P kg<sup>-1</sup> sol) est plus élevée que le compartiment de P disponible du sol qui est d'environ 0,2 mg P kg<sup>-1</sup>. Cela suggère que les microorganismes du sol ont prélevé ce P dans d'autres compartiments du sol. Un résultat similaire a été trouvé par Bünemann *et al.*, (2004b) tandis que dans Alamgir *et al.*, (2012), l'immobilisation de P dans la biomasse microbienne suite à l'apport de substrats organiques s'est faite au détriment des compartiments de P inorganique facilement disponibles tels que le P<sub>résine</sub> et le P extractible au NaHCO<sub>3</sub>. L'indisponibilité du P dans les traitements Nieb-DLT, Nieb-ILT et Residu est cependant temporaire, car le P immobilisé dans la biomasse microbienne sera rendu disponible à la mort et la destruction des microorganismes du sol (Oberson *et al.*, 2011). Dans notre expérimentation, cela s'est traduit par une baisse au cours du temps du compartiment de P microbien (Figure III- 3 a) spécialement dans les traitements Nieb. Cependant, seulement une faible partie du P libéré dans la biomasse microbienne a été retrouvé dans le pool de P disponible du sol (Figure III- 3 b).

Bien que le C et le N microbien ne soient disponibles que pour le 46<sup>ième</sup> jour d'incubation, ces mesures présentent un aperçu de la biomasse microbienne compatible avec les valeurs de P<sub>mic</sub> de cette date. Des corrélations positives et significatives ont été mesurées à cette date entre le N<sub>mic</sub> et le P<sub>mic</sub> (R=0,62 ; p<0,001) d'une part, et entre le C<sub>mic</sub> et le P<sub>mic</sub> d'autre part (R=0,78 ; p<0,001), d'autre part. Les différents traitements n'ont pas grandement impacté le N<sub>mic</sub> au 46<sup>ième</sup> jour d'incubation, exception faite des traitements Nieb-DLT et Nieb-ILT où un accroissement significatif par rapport au 0N0P a été observé. La perte des échantillons des autres jours d'extraction ne permet pas de faire une analyse de l'évolution du C<sub>mic</sub>, du N<sub>mic</sub> et du N<sub>soluble</sub>. Cependant, les niveaux similaires de N soluble entre 0N0P et l'ensemble des traitements avec addition de substrats organiques, de même que le C<sub>mic</sub> et le N<sub>mic</sub> élevé dans les traitements Nieb-ILT et Nieb-DLT (Tableau III- 6) indiquent qu'une immobilisation de N s'est produite dans ces derniers traitements, malgré les rapports C:N relativement bas des niébés apportés. Cela est confirmé par la forte proportion de N<sub>mic</sub> provenant de notre niébé marqué (47%). Cette proportion de N<sub>mic dff</sub> est nettement supérieure aux 20 à 25% de N<sub>mic dff</sub> mesurés par Mayer *et al.*, (2004) sur trois résidus de légumineuses ayant des rapports C:N supérieurs à notre niébé marqué, mais incubés à 15°C sur un sol tempéré avec des concentrations plus élevées de N total. Etant donné la quantité égale de N apportée (75 mg N kg<sup>-1</sup>) et les rapports C:N presque similaires entre les traitements à base de niébé (rapport C:N entre 23,7 et 22,6, Tableau III- 2), le N<sub>mic</sub> plus bas de Residu s'expliquerait plutôt par la

maturité des résidus de niébé paysan, qui réduirait la disponibilité du C qu'ils contiennent comparativement aux niébés marqué et non-marqué (Ha *et al.*, 2007). En effet, une plus faible disponibilité des autres nutriments tels que le C ou le P, influence également le prélèvement du N car les microorganismes cherchent à maintenir une certaine stœchiométrie interne. Les rapports molaires N:P dans la biomasse microbienne de nos différents traitements sont similaires et sont dans le même ordre de grandeur que ceux mesurés par Frossard *et al.*, (2016) sur différents traitements de la rotation sorgho niébé de l'essai de Saria. Les faibles niveaux de  $P_{résine}$  et de  $N_{soluble}$  dans les traitements à base de niébé, laissent prédire des limitations en ces éléments pour les plantes de sorgho qui ont poussé dans ces traitements.

### III.4.3 Production et prélèvements de N et de P et par le sorgho

Les traitements à base de niébé n'ont pas amélioré significativement la production de biomasse et les prélèvements de N et de P du sorgho par rapport à 0N0P (Tableau III- 7). Cela en raison de la forte immobilisation de nutriments dans la biomasse microbienne, qui a conduit à une faible disponibilité en N et en P dans ces traitements durant la période de croissance des plantes. Bien que le  $P_{mic}$  des traitements Nieb et Residu ait baissé au cours de l'incubation, cela s'est traduit par un faible accroissement du P disponible du sol. L'effet dépressif que pourrait avoir les résidus de légumineuses qui contiennent des métabolites secondaires ayant une activité allélopathique (Caamal-Maldonado *et al.*, 2001), contribuerait aussi à expliquer la faible production de biomasse dans les traitements Nieb-ILT, Nieb-DLT et Residu, spécialement dans les expérimentations en pot où le volume de sol est limité.

Les méthodes DLT et ILT ont donné des  $\%N_{dff}$  et  $\%P_{dff}$  similaires avec les traitements 1N1P, suggérant une mesure fiable par la méthode ILT sur les traitements minéraux (Tableaux III-8 et III- 9). Par contre, les  $\%N_{dff}$  et  $\%P_{dff}$  de Nieb-ILT significativement supérieurs à ceux de Nieb-DLT, s'expliquent par une dilution supplémentaire du marquage du sol après l'apport du niébé non-marqué (ILT) liée à une substitution de compartiment (ou *pool substitution* en anglais) (Hood *et al.*, 1999). En d'autres termes, la forte demande en nutriments des microorganismes du sol après l'application du niébé non-marqué a conduit à la mobilisation et la minéralisation d'autres compartiments de N et de P non marqué du sol, puis à une dilution de marquage supérieure à celle causée par l'application du N et du P apportés par le niébé non-marqué uniquement. Bien que la semence de sorgho ne soit pas volumineuse (approximativement 20 g pour 1000 grains et 160  $\mu g$  P par graine de sorgho), la faible disponibilité des nutriments dans les traitements à base de niébé ainsi que leur faible

production et prélèvement de N et de P, ont certainement accru l'influence du N et de P (non-marqués) provenant des grains sur la dilution du marquage comparativement aux traitements 1N1P (Hood *et al.*, 2000; Pypers *et al.*, 2006). Tout cela amène à penser que la méthode de marquage indirecte aurait également entraîné une surestimation du  $\%N_{\text{dff}}$  et du  $\%P_{\text{dff}}$  dans le traitement Residu, qui a également entraîné une forte immobilisation microbienne et une très faible production de biomasse du sorgho. Les résultats du traitement Fum pourraient cependant être moins surestimés que ceux de Residu vu : (i) les rapport C :N et C :P assez faibles ainsi que la teneur élevée en P résine-extractible du fumier qui ont certainement réduit l'immobilisation de N et de P après l'application de fumier ; (ii) la faible hausse de l'activité microbienne (respiration) et de la biomasse microbienne ( $P_{\text{mic}}$ ) après l'application du fumier et (iii) la production de biomasse et les prélèvements relativement importants de N et de P dans le traitement Fum qui réduiraient l'influence du N et du P provenant des semences.

Dans les traitements 1N1P-DLT et Nieb-DLT, les  $\%P_{\text{dff}}$  des plantes sont assez proches de la moyenne du  $\% P_{\text{résine dff}}$  obtenu dans les différents jours d'incubation, suggérant que les plantes prélèvent directement leur P du pool de  $P_{\text{résine}}$  du sol. Il en est de même pour le  $\%N_{\text{soluble dff}}$  des sols en incubation qui sont assez proches du  $N_{\text{dff}}$  des plantes. Les  $\%N_{\text{dff}}$  et  $\%P_{\text{dff}}$  élevés des traitements Nieb-DLT, Nieb-ILT et Residu s'expliquent par la pauvreté en N et P disponible du sol, qui oblige les plantes à être dépendantes du N et du P apporté par ces substrats organiques malgré la forte immobilisation de nutriment durant la période de croissance des plantes de sorgho.

Les traitements à base de niébé ont montré des CUN et des CUP plus faibles que les valeurs observées dans d'autres études où des résidus de légumineuses ont été apportés au sol (Douxchamps *et al.*, 2010; Randriamanantsoa, 2013), du fait de la faible production de biomasse avec ces traitements. Des CUN de 12% chez le maïs ont été observés par Douxchamps *et al.*, (2011) suite à l'application de résidus de *Canavalia* sur un Ultic Tropudalf limono-sableux dans un champ au Nicaragua. L'application de résidus de *Stylosanthes* sur un Feralsol à Madagascar, a entraîné chez le riz un CUP de 8% (Randriamanantsoa, 2013). Une application précoce des résidus de niébé (plusieurs semaines avant de semer le sorgho) aurait probablement augmenté leurs CUN et CUP, en évitant de la période de forte immobilisation microbienne des nutriments et leurs effets alléopathiques (Baggie *et al.*, 2004).

Les faibles proportions et quantités de  $N_{dff}$  (19% et 2,14 mg N kg<sup>-1</sup> de sol) et le CUN de 3% dans le traitement Fum, malgré une production de biomasse comparable aux traitements 1N1P pourraient s'expliquer par la prédominance de formes récalcitrantes de N, difficiles à minéraliser N dans le fumier (Bosshard *et al.*, 2009). Des proportions encore plus faibles de N provenant du fumier ont également été mesurées par Douchamps *et al.*, (2011) sur le maïs, et ont été attribuées à la teneur élevée en N du sol et à la possibilité du maïs d'explorer de larges volumes de sol. Dans notre expérimentation, l'application de grandes quantités de P par le fumier (18 mg P kg<sup>-1</sup> dont 50% était résine-extractible) a entraîné une bonne croissance racinaire qui a permis aux plantes de prélever plus de N du sol comparativement aux autres traitements organiques (Tableau III- 8), même si la plus faible concentration en N a été observée sur les plantes dans ce traitement (Tableau III- 7). L'augmentation significative du  $P_{résine}$  du sol après l'application de cette grande quantité de P par le fumier, explique également le  $P_{dff}$  similaire voire supérieur de ce traitement comparativement aux traitements minéraux 1N1P et 0N1P.

Comme on pouvait s'y attendre, les traitements minéraux sont ceux qui ont le mieux assuré une nutrition en N et en P des plantes de sorgho, avec les plus grandes quantités de  $N_{dff}$  et de  $P_{dff}$ , et les CUN et CUP les plus élevés comparativement aux amendements organiques. Cela s'explique par la grande disponibilité du N et du P apportés sous forme minérale et soluble dans l'eau, et par la faible immobilisation microbienne dans ces traitements. La proportion et la quantité de  $P_{dff}$  mesurées dans notre expérimentation sont supérieures à celles trouvées par Randriamanantsoa, (2013) après l'application de P minéral sur un Ferralsol ayant une forte capacité de fixation de P. Le  $\%P_{dff}$  est également plus élevé dans notre sol comparativement à ceux observés sur d'autres sols tropicaux (Baggie *et al.*, 2004) ou tempérés (Oberson *et al.*, 2010) où les fortes teneurs en P disponible ou la valeur résiduelle des précédents amendements réduisent la dépendance des plantes au P minéral appliqué. Il en est de même pour le  $\%N_{dff}$  qui est plus élevé, comparativement à d'autres études menées sur des sols mieux pourvus en N (Douchamps *et al.*, 2011).

### III.5 Conclusion partielle

L'application des amendements organiques a entraîné une plus grande activité microbienne et une plus forte immobilisation de nutriments, notamment le P dans la biomasse microbienne du sol comparativement aux traitements minéraux. Cet accroissement était plus important avec les amendements à base de niébé qui ont apporté plus de C aux microorganismes du sol que le fumier qui était dans un état de dégradation avancée. En conséquence, ces amendements n'ont pas permis d'améliorer la disponibilité du P et du N aux plantes durant la période de l'expérimentation, entraînant une production du sorgho et des coefficients d'utilisation de N et de P assez faibles, comparativement aux traitements minéraux. Dans les traitements à base de niébé, la méthode ILT n'a pas permis d'obtenir des résultats aussi précis que la méthode DLT, et a conduit à une surestimation des proportions de  $N_{dff}$  et de  $P_{dff}$ . Par contre, la méthode ILT peut s'appliquer dans les traitements minéraux et au fumier qui n'ont pas entraîné de fortes immobilisations de nutriment par la biomasse microbienne du sol.



## DISCUSSION GÉNÉRALE

Dans des systèmes de culture caractérisés par une faible productivité initiale des sols et des apports limités en nutriments, il est important d'exploiter de façon optimale tous les services écologiques dont on dispose pour améliorer la nutrition des plantes. Le niébé tient une place importante dans les systèmes de culture du Centre-Ouest du Burkina Faso, et sa capacité de fixation symbiotique d'azote atmosphérique ( $N_2$ ) peut être exploitée pour augmenter les entrées de N. Dans le chapitre I, nous avons montré que dans les champs paysans de la région de Saria, le pourcentage de N dérivé de l'atmosphère (%Ndfa) dans les monocultures de niébé était plus élevé comparativement aux valeurs mesurées dans l'essai de Saria. Les régimes contrastés de fertilisation ont eu moins d'effet sur le %Ndfa du niébé cultivé dans cet essai comparativement aux pratiques paysannes. L'étude dans les champs paysans et dans différents traitements de l'essai de Saria a permis de voir que des aspects autres que les modes de gestion de la fertilité des sols sont aussi importants pour comprendre la fixation du niébé. Le facteur variétal et l'apport de quantités modérées de N sous forme d'engrais minéral soluble dans l'eau se sont montrés déterminants pour le %Ndfa du niébé dans les champs paysans. En effet, le N apporté a eu un effet *starter* sur le %Ndfa tandis que les variétés locales ont montré une meilleure capacité fixatrice comparativement aux variétés introduites. Une augmentation de la teneur en P disponible du sol par des apports en P sous forme d'engrais minéral est déterminante, pour augmenter la production et la quantité de N fixée dans les champs de niébé. Lorsque les amendements organiques ne sont pas appliqués dans le champ, l'exportation de l'ensemble de la biomasse aérienne du niébé (graines et fanes) conduit à des bilans annuels en N presque nuls à légèrement positifs dans les monocultures de niébé, malgré des %Ndfa relativement élevés.

Dans le chapitre II, nous avons étudié l'effet d'apports limités d'engrais minéraux exclusivement (fm) ou en combinaison avec un apport de  $5 \text{ t ha}^{-1}$  de fumier tous les deux ans (fmo) sur les limitations en N et en P des microorganismes des sols par comparaison à un témoin sans apports de fertilisants (Te) dans l'essai de Saria. Nous avons vu que la culture continue sans apports de fertilisants conduisait, à long terme, à une très faible biomasse microbienne du sol (P microbien et N microbien). L'apport de fertilisants exclusivement minéraux ou associée à l'application de  $5 \text{ t ha}^{-1}$  de fumier tous les deux ans permettait d'augmenter cette biomasse microbienne, même si les niveaux atteints restaient assez bas comparativement à d'autres types de sol. Nous avons également montré que les

microorganismes du sol dans ces traitements subissent diverses formes de limitations en N et en P, une fois que la limitation en C facilement disponible est levée par l'ajout de glucose. La mise en culture continue sans apport de fertilisants, entraîne des co-limitations en N et en P pour l'activité microbienne, la formation de biomasse et la structure des communautés microbiennes du sol. Cette étude est l'une des premières mettant en évidence une limitation en P pour la formation de biomasse microbienne du sol, par des mesures directes sur ce type de sol en Afrique subsaharienne. Les stratégies de fertilisation testées permettent d'atténuer ou de modifier ces limitations sans toutefois les éliminer. Cette étude montre qu'à partir d'un certain niveau d'épuisement des éléments nutritifs du sol, les microorganismes ne seraient plus en mesure de jouer efficacement leur rôle de mobilisation et de recyclage des nutriments du sol. De plus, les microorganismes du sol peuvent être en concurrence avec les plantes pour les éléments nutritifs sur les sols continuellement cultivés sans apports de fertilisant. Cela a été vérifié dans le chapitre III, où la minéralisation de différents amendements organiques et le prélèvement par le sorgho du N et du P apportés par ces amendements ont été étudiés sur un tel sol.

L'utilisation du marquage direct dans l'incubation de sol nous a permis de montrer que l'apport de résidus de niébé augmentait l'activité microbienne, et entraînait une forte immobilisation de N et surtout de P dans la biomasse microbienne du sol. Les conséquences de cette immobilisation ont été observées par l'essai en pot. La production de biomasse et les quantités totales de N et de P prélevées par le sorgho, après l'apport des substrats à base de niébé étaient faibles et comparables à celles dans le pot témoin sans aucun amendement.

Dans le sorgho, bien que les quantités de P dérivées des fertilisants ( $P_{\text{dff}}$  en  $\text{mg kg}^{-1}$ ) fussent différentes en fonction des fertilisants testés, les pourcentages de P provenant des fertilisants dans les plantes ( $\%P_{\text{dff}}$ ) étaient assez élevés (minimum 56%). Cela suggère que le niveau d'épuisement de ce sol l'a rendu incapable de fournir suffisamment de P aux plantes qui sont devenues fortement dépendantes de sources extérieures de P pour leur nutrition. La situation, bien que similaire, semble toutefois moins grave pour le N. En effet, lorsque la limitation en P est corrigée par l'application de fumier, le  $\%N_{\text{dff}}$  faible de cet amendement (19%) n'empêche par le sorgho de faire une production de biomasse similaire à celle de la fertilisation minérale. Cela suggère que le P limite plus la croissance des plantes que le N.

La restauration de la fertilité du sol est essentielle pour une agriculture durable. Cela est spécialement important dans un environnement où la productivité initiale du sol est faible, et où les champs sont cultivés sans la possibilité de les mettre en jachère (Sheahan et Barrett,

2014). Les résultats de notre étude montrent que l'état de fertilité des sols de la région de Saria, et les modes de production sans apports (ou avec des apports limités) de nutriments peuvent compromettre les avantages agronomiques que l'on pourrait tirer de la culture d'une légumineuse comme le niébé, ou des microorganismes du sol. Les bilans annuels en N presque nuls des monocultures de niébé interpellent sur la nécessité d'une bonne gestion des résidus de culture. Pour mieux profiter de la capacité de fixation symbiotique de  $N_2$  des légumineuses, il faudra utiliser des variétés ayant les meilleures capacités de fixation. Il faudra également mettre en place des systèmes de culture impliquant la restitution des résidus de récolte, ou des options de rotation des cultures comme l'ont montré récemment Zeinabou *et al.*, (2014). Dans ce cas, une attention devrait être accordée aux phénomènes d'immobilisation de nutriments dans la biomasse microbienne afin de synchroniser la demande des cultures et la minéralisation nette des résidus appliqués (Palm *et al.*, 2001b). Alternativement, il faudrait au moins rapporter aux champs, le fumier produit en nourrissant les animaux avec les fanes de niébé. Auquel cas, il faudrait regarder de plus près les caractéristiques du fumier, notamment sa teneur en N qui pourrait être limitante.

Nous partageons l'idée de (Vanlauwe *et al.*, (2014)) pour qui, une utilisation appropriée des engrais minéraux est impérative pour augmenter la production des sols en Afrique subsaharienne. Dans le Centre-Ouest du Burkina Faso, cela passe par une augmentation des doses apportées, pour accroître la production agricole et la disponibilité des résidus de récolte. L'expérimentation en pot a montré que le sol étudié répond encore à la fertilisation minérale. Les formulations d'engrais devraient cependant être mieux adaptées aux cultures, avec par exemple, une augmentation des teneurs en P pour ce qui concerne les légumineuses. L'augmentation globale des apports de fertilisants sous forme organique et minérale aidera à corriger les limitations en nutriments pour les microorganismes du sol, et nous fera entrer dans le cercle vertueux d'augmentation de la fertilité et de la productivité des sols.

## CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PERSPECTIVES

Une utilisation efficiente des sources de nutriments est nécessaire pour accroître la production agricole. Cela est spécialement vrai dans les systèmes agraires caractérisés par des faibles teneurs en nutriments disponibles dans les sols et des apports limités de fertilisants. L'objectif principal de cette thèse était de contribuer à une meilleure compréhension des flux de N et de P dans un tel système. Nous avons d'abord étudié les déterminants de la fixation symbiotique de  $N_2$  par le niébé. Ensuite nous avons étudié les limitations en nutriments (N et P) pour les microorganismes du sol qui jouent un rôle clé dans les processus biogéochimiques et la disponibilité des nutriments dans le sol. Enfin, la minéralisation de divers types d'amendements organiques et les prélèvements par le sorgho et les microorganismes du sol du N et du P apportés par ces amendements à un sol appauvri ont été analysées.

Les proportions de N fixées par le niébé sont élevées dans les champs paysans. Les variétés locales de niébé ont des plus grandes proportions de N fixées que les variétés améliorées. L'amélioration de la nutrition en P du niébé permet d'augmenter les quantités de N fixées dans les champs de niébé en accroissant les rendements. L'exportation totale des graines des résidus de niébé des champs réduit considérablement les entrées de N via la fixation symbiotique. La mise en culture sans apports extérieurs de nutriments conduit à des co-limitations en N et en P pour l'activité, la croissance de la biomasse et la structure des communautés microbiennes du sol. Ces limitations sont atténuées, et modifiées selon qu'une fertilisation exclusivement minérale ou combinée avec un apport de fumier est effectuée. L'utilisation des techniques de marquage isotopiques a permis de montrer que lorsque les réserves en nutriment du sol sont épuisées, l'application d'amendements organiques frais tels que les résidus de niébé conduit à une forte immobilisation de P et de N dans la biomasse microbienne du sol. Par contre, l'application de fumier améliore la nutrition en P des plantes. La fertilisation minérale augmente les teneurs en N et en P disponible du sol et améliore la nutrition du sorgho.

Notre étude nous conforte dans la conviction qu'on ne pourra pas accroître la production agricole et atteindre l'autosuffisance alimentaire, en pérennisant une agriculture sans apports (ou avec de trop faibles apports) de nutriments. Cette forme d'agriculture entraîne l'épuisement des sols en nutriments et des rendements faibles. Les monocultures de niébé telles que pratiquées, ont un faible effet bénéfique sur les bilans en azote. A long terme, les processus microbiologiques jouant des rôles clés dans la disponibilité des éléments nutritifs du sol, peuvent être compromis à cause de l'apparition de limitations en nutriments de plus en

plus sévères pour les microorganismes du sol. Cela a une incidence sur les processus de minéralisation des amendements organiques frais tels que les résidus de récolte, avec l'apparition d'une concurrence pour les nutriments entre les plantes et les microorganismes du sol. Sur la base de cette étude, les recommandations suivantes peuvent être faites :

- Pour les producteurs, le choix des variétés locales de niébé combinée avec une plus grande utilisation des engrais phosphatés pourrait permettre d'accroître des quantités de N fixées dans les monocultures de niébé. Il faudrait une meilleure intégration de l'agriculture à l'élevage pour restituer au moins une partie des nutriments exportés des champs. Les apports de fertilisants minéraux et ou organiques permettront d'atténuer les limitations en nutriments pour les microorganismes du sol. Les apports d'amendements organiques permettront d'accroître les teneurs en nutriments et l'activité biologique du sol

- Pour la recherche, il faudrait une meilleure collaboration entre les équipes de recherche en sciences du sol et en amélioration variétale afin de prendre en compte l'aptitude à la fixation de  $N_2$  lors de la création des variétés améliorées de niébé.

- Des politiques visant à réduire le cout et à améliorer l'accessibilité des fertilisants minéraux devraient également être menées pour permettre leur plus grande utilisation par les producteurs. La sensibilisation et la formation sur la production et l'utilisation des amendements organiques de qualité tels que les phospho-composts doit être poursuivie par les services de vulgarisation.

En guise de perspectives, des études sur l'élaboration des formules de fertilisation spécifiques aux légumineuses, notamment sur l'identification de la dose *starter* de N à appliquer pour optimiser la fixation de  $N_2$  devraient être menée.

Au vu des résultats de cette thèse, les effets à long terme des techniques de micro-dose de fertilisation sur la biomasse microbienne du sol mériteraient d'être étudiés. Des études devront également être poursuivies sur la qualité et l'effet résiduel des amendements organiques en utilisant les techniques de marquage isotopiques, afin établir une base de données sur leur efficacité.

Enfin, il faudrait rédiger des plaidoyers (*policy brief*) à l'attention des décideurs politiques pour attirer leur attention sur le caractère non durable des politiques conduisant à un usage des fertilisants minéraux à des doses trop faibles, dans le contexte des sols pauvres comme ceux du Centre-Ouest du Burkina Faso.



## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abera G, Wolde-meskel E, Bakken L R, 2012. Carbon and nitrogen mineralization dynamics in different soils of the tropics amended with legume residues and contrasting soil moisture contents. *Biology and Fertility of Soils* 48:51-66, doi:10.1007/s00374-011-0607-8.
- Adeoye P A, Adebayo S E, Musa J J, 2011. Growth and yield response of cowpea (*Vigna unguiculata*) to poultry and cattle manure as amendments on sandy soil plot. *Agricultural Journal* 6:218-221.
- Aghili F, Jansa J, Khoshgoftarmanesh A H, Afyuni M, Schulin R, Frossard E, Gamper H A, 2014. Wheat plants invest more in mycorrhizae and receive more benefits from them under adverse than favorable soil conditions. *Applied Soil Ecology* 84:93-111, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.06.013>.
- Ahamefule E H, Obi E M, Amana S M, Peter P C, Eifediyi E K, Nwokocha C C, 2014. Response of cowpea (*Vigna unguiculata* L. walp) to changes in hydraulic properties of a spent crank-case oil contaminated Ultisol under bio-stimulation. *Nigerian Journal of Agriculture, FOod and Environnement* 10:99-105.
- Alamgir M, McNeill A, Tang C, Marschner P, 2012. Changes in soil P pools during legume residue decomposition. *Soil Biology & Biochemistry* 49:70-77, doi:10.1016/j.soilbio.2012.01.031.
- Alef K, 1995. Soil respiration. In: Alef K, Nannipieri P (eds) *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Academic Press, London, pp 214-219.
- Alkama N, Bolou E B B, Vailhe H, Roger L, Ounane S M, Drevon J J, 2009. Genotypic variability in P use efficiency for symbiotic nitrogen fixation is associated with variation of proton efflux in cowpea rhizosphere. *Soil Biology & Biochemistry* 41:1814-1823, doi:10.1016/j.soilbio.2008.11.017.
- Allen A S, Schlesinger W H, 2004. Nutrient limitations to soil microbial biomass and activity in loblolly pine forests. *Soil Biology & Biochemistry* 36:581-589.
- Anderson J P E, Domsch K H, 1978. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biology & Biochemistry* 10:215-221.

- Anteneh A, Ayele A, 2015. *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* sp. inoculation improves the agronomic efficiency of N of common bean ( *Phaseolus vulgaris* L.). *Environmental Systems Research* 4:(25 July 2015)-(2025 July 2015).
- Azcon-Aguilar C, Barea J M, 2015. Nutrient cycling in the mycorrhizosphere. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 15:372-396.
- Bado B V, Bationo A, Cescas M P, 2006. Assessment of cowpea and groundnut contributions to soil fertility and succeeding sorghum yields in the Guinean savannah zone of Burkina Faso (West Africa). *Biology and Fertility of Soils* 43:171-176, doi:10.1007/s00374-006-0076-7.
- Baggie I, Rowell D L, Warren G P, Robinson J S, 2004. Utilisation by upland rice of plant residue- and fertiliser-phosphorus in two tropical acid soils. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 69:73-84.
- Barraclough D, 1995. N-15 isotope dilution techniques to study soil nitrogen transformations and plant uptake. *Fertilizer Research* 42:185-192.
- Bateman A S, Kelly S D, 2007. Fertilizer nitrogen isotope signatures. *Isotopes in Environmental and Health Studies* 43:237-247, doi:10.1080/10256010701550732.
- Bationo A, Kihara J, Vanlauwe B, Waswa B, Kimetu J, 2007. Soil organic carbon dynamics, functions and management in West African agro-ecosystems. *Agricultural Systems* 64:13-25, doi:10.1016/j.agsy.2005.08.011.
- Bationo B A, Kalinganiré A, Bayala J, 2012. Potentialités des ligneux dans la pratique de l'agriculture de conservation dans les zones arides et semi arides de l'Afrique de l'Ouest: Aperçu de quelques systèmes candidats. ICRAF Technical Manual.
- Belane A K, Asiwe J, D. Dakora F D, 2011. Assessment of N<sub>2</sub> fixation in 32 cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) genotypes grown in the field at Taung in South Africa, using <sup>15</sup>N natural abundance. *African Journal of Biotechnology* 10:11450-11458.
- Belane A K, Dakora F D, 2009. Measurement of N<sub>2</sub> fixation in 30 cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) genotypes under field conditions in Ghana, using the <sup>15</sup>N natural abundance technique. *Symbiosis* 48:47-56.



- Belane A K, Dakora F D, 2010. Symbiotic N<sub>2</sub> fixation in 30 field-grown cowpea genotypes in Upper West region of Ghana measured using <sup>15</sup>N natural abundance. *Biology and Fertility of Soils* 46:191–198.
- Berthrong S T, Buckley D H, Drinkwater L E, 2013. Agricultural management and labile carbon additions affect soil microbial community structure and interact with carbon and nitrogen cycling. *Microbial Ecology* 66, doi:10.1007/s00248-013-0225-0.
- Bidlack J E, Buxton D R, 1992. Content and deposition rates of cellulose, hemicellulose, and lignin during regrowth of forage grasses and legumes. *Canadian Journal of Plant Science* 72:809-818, doi:doi:10.4141/cjps92-097.
- Boddey R M, Peoples M B, Palmer B, Dart P J, 2000. Use of the 15N natural abundance technique to quantify biological nitrogen fixation by woody perennials. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 57:235-270.
- Bonzi M, 2002. Evaluation et déterminisme du bilan de l'azote en sols cultivés du centre Burkina Faso : Etude par traçage isotopique <sup>15</sup>N au cours d'essais en station et en milieu paysan., Institut National Polytechnique de Lorraine.
- Bosshard C, Sørensen P, Frossard E, Dubois D, Mäder P, Nanzer S, Oberson A, 2009. Nitrogen use efficiency of <sup>15</sup>N-labelled sheep manure and mineral fertiliser applied to microplots in long-term organic and conventional cropping systems. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 83:271-287, doi:10.1007/s10705-008-9218-7.
- Bray R H, Kurtz L, 1945. Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. *Soil Science* 59:39-46.
- Bünemann E K, 2015. Assessment of gross and net mineralization rates of soil organic phosphorus—A review. *Soil Biology and Biochemistry* 89:82-98.
- Bünemann E K, Bossio D A, Smithson P C, Frossard E, Oberson A, 2004a. Microbial community composition and substrate use in a highly weathered soil as affected by crop rotation and P fertilization. *Soil Biology & Biochemistry* 36:889-901.
- Bünemann E K, Marschner P, McNeill A M, McLaughlin M J, 2007. Measuring rates of gross and net mineralisation of organic phosphorus in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 39:900-913.

- Bünemann E K, Smernik R J, Doolette A L, Marschner P, Stonor R, Wakelin S A, McNeill A M, 2008. Forms of phosphorus in bacteria and fungi isolated from two Australian soils. *Soil Biology and Biochemistry* 40:1908-1915.
- Bünemann E K, Steinebrunner F, Smithson P C, Frossard E, Oberson A, 2004b. Phosphorus dynamics in a highly weathered soil as revealed by isotopic labeling techniques. *Soil Science Society of America Journal* 68:1645-1655.
- Caamal-Maldonado J A, Jiménez-Osornio J J, Torres-Barragán A, Anaya A L, 2001. The use of allelopathic legume cover and mulch species for weed control in cropping systems. *Agronomy Journal* 93:27-36.
- Cabrera M, Beare M, 1993. Alkaline persulfate oxidation for determining total nitrogen in microbial biomass extracts. *Soil Science Society of America Journal* 57:1007-1012.
- Cavagnaro T R, 2008. The role of arbuscular mycorrhizas in improving plant zinc nutrition under low soil zinc concentrations: a review. *Plant and Soil* 304:315-325, doi:10.1007/s11104-008-9559-7.
- Chakraborty A, Chakrabarti K, Chakraborty A, Ghosh S, 2011. Effect of long-term fertilizers and manure application on microbial biomass and microbial activity of a tropical agricultural soil. *Biology and Fertility of Soils* 47:227-233.
- Cleveland C C, Reed S C, Townsend A R, 2006. Nutrient regulation of organic matter decomposition in a tropical rain forest. *Ecology* 87:492-503.
- Compaoré E, Frossard E, Sinaj S, Fardeau J C, Morel J-L, 2003. Influence of land-use management on isotopically exchangeable phosphate in soils from Burkina Faso. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 34:201-223.
- Demoling F, Figueroa D, Bääth E, 2007. Comparison of factors limiting bacterial growth in different soils. *Soil Biology & Biochemistry* 39:2485-2495.
- Di H J, Cameron K C, McLaren R G, 2000. Isotopic dilution methods to determine the gross transformation rates of nitrogen, phosphorus, and sulfur in soil: a review of the theory, methodologies and limitations. *AustJSoil Res* 38:213-230.
- Di H J, Condron L M, Frossard E, 1997. Isotopic techniques to study phosphorus cycling in agricultural and forest soils: a review. *Biology and Fertility of Soils* 24:1-12.

- Douxchamps S, Frossard E, Bernasconi S M, van der Hoek R, Schmidt A, Rao I M, Oberson A, 2011. Nitrogen recoveries from organic amendments in crop and soil assessed by isotope techniques under tropical field conditions. *Plant and Soil* 341:179-192, doi:10.1007/s11104-010-0633-6.
- Douxchamps S, Humbert F L, van der Hoek R, Mena M, Bernasconi S M, Schmidt A, Rao I, Frossard E, Oberson A, 2010. Nitrogen balances in farmers fields under alternative uses of a cover crop legume: a case study from Nicaragua. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 88:447-462, doi:10.1007/s10705-010-9368-2.
- Egbe O M, Egbo C U, 2011. Nodulation, nitrogen fixation and harvest index of extra-short- and short-duration cowpea varieties intercropped with maize at Otobi, Benue state, Nigeria. *Journal of Animal and Plant Sciences (JAPS)* 10:1315-1324.
- Ehlers K, Bakken L R, Frostegård Å, Frossard E, Bünemann E K, 2010. Phosphorus limitation in a Ferralsol: Impact on microbial activity and cell-internal P pools. *Soil Biology & Biochemistry* 42:558-566.
- FAO, 2006. World reference base for soil resources. A framework for international classification, correlation and communication. FAO, Rome, Italy.
- FAOSTAT Database on Agriculture 2015. <http://faostat.fao.org/>.
- Fardeau J C, Guiraud G, Marol C, 1996. The role of isotopic techniques on the evaluation of the agronomic effectiveness of P fertilizers. *Fertilizer Research* 45:101-109.
- Fontaine S, Mariotti A, Abbadie L, 2003. The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? *Soil Biology & Biochemistry* 35:837-843.
- Frossard E, Achat D L, Bernasconi S M, Bünemann E K, Fardeau J-C, Jansa J, Morel C, Rabeharisoa L, Randriamanantsoa L, Sinaj S, Tamburini F, Oberson A, 2011. The use of tracers to investigate phosphate cycling in soil-plant systems. In: Bünemann EK, Oberson A, Frossard E (eds) *Phosphorus in action. Biological processes in soil phosphorus cycling*. vol 26. Springer, Heidelberg, pp 59-91.
- Frossard E, Buchmann N, Bünemann E K, Kiba D I, Lompo F, Oberson A, Tamburini F, Traoré O Y A, 2016. Soil properties and not inputs control carbon : nitrogen : phosphorus ratios in cropped soils in the long term. *SOIL* 2:83-99, doi:10.5194/soil-2-83-2016.

- Frossard E, Condon L M, Oberson A, Sinaj S, Fardeau J C, 2000. Processes governing phosphorus availability in temperate soils. *Journal of Environmental Quality* 29:15-23.
- Frostegård Å, Bååth E, 1996. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology and Fertility of Soils* 22:59-65.
- Frostegård A, Tunlid A, Bååth E, 2011. Use and misuse of PLFA measurements in soils. *Soil Biology & Biochemistry* 43:1621-1625, doi:10.1016/j.soilbio.2010.11.021.
- Frostegård Å, Tunlid A, Bååth E, 1991. Microbial biomass measured as total lipid phosphate in soils of different organic content. *Journal of Microbiological Methods* 14:151-163.
- Ge T, Nie S a, Wu J, Shen J, Xiao H a, Tong C, Huang D, Hong Y, Iwasaki K, 2011. Chemical properties, microbial biomass, and activity differ between soils of organic and conventional horticultural systems under greenhouse and open field management: a case study. *Journal of Soils and Sediments* 11:25-36, doi:10.1007/s11368-010-0293-4.
- Gichangi E M, Mkeni P N S, Brookes P C, 2009. Effects of goat manure and inorganic phosphate addition on soil inorganic and microbial biomass phosphorus fractions under laboratory incubation conditions. *Soil Science and Plant Nutrition* 55:764-771, doi:10.1111/j.1747-0765.2009.00415.x.
- Goerges T, Dittert K, 1998. Improved diffusion technique for  $^{15}\text{N}$ :  $^{14}\text{N}$  analysis of ammonium and nitrate from aqueous samples by stable isotope spectrometry. *Communications in Soil Science & Plant Analysis* 29:361-368.
- Göransson H, Venterink H O, Bååth E, 2011. Soil bacterial growth and nutrient limitation along a chronosequence from a glacier forefield. *Soil Biology & Biochemistry* 43:1333-1340, doi:10.1016/j.soilbio.2011.03.006.
- Griffiths B S, Spill A, Bonkowski M., 2012. C:N:P stoichiometry and nutrient limitation of the soil microbial biomass in a grazed grassland site under experimental P limitation or excess. *Ecological Processes* 1.
- Ha K V, Marschner P, Bünemann E K, Smernik R, 2007. Chemical changes and phosphorus release during decomposition of pea residues in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 39:2696-2699.

- Hardarson G, Danso S K A, 1993. Methods for measuring biological nitrogen in grain legumes. *Plant and Soil* 152:19-23.
- Heinemeyer O, Insam H, Kaiser E A, Walenzik G, 1989. Soil microbial biomass and respiration measurements: An automated technique based on infra-red gas analysis. *Plant and Soil* 116:191-195.
- Herridge D F, Peoples M B, Boddey R M, 2008. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. *Plant and Soil* 311:1-18, doi:10.1007/s11104-008-9668-3.
- Hien E, 2004. Dynamique du carbone dans un Acrisol ferrique du Centre Ouest Burkina: Influence des pratiques culturales sur le stock et la qualité de la matière organique. Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier.
- Högberg P, 1997. Tansley Review No. 95 -  $^{15}\text{N}$  natural abundance in soil-plant systems. *New Phytol* 137:179-203.
- Hood-Nowotny R, 2008. Isotope labelling methods for evaluating contributions of organic sources to plant nutrition. *Guidelines on Nitrogen Management in Agricultural Systems*:182.
- Hood R, Merckx R, Jensen E S, Powlson D, Matijevic M, Hardarson G, 2000. Estimating crop N uptake from organic residues using a new approach to the  $^{15}\text{N}$  isotope dilution technique. *Plant and Soil* 223:33-44.
- Hood R, N'goran K, Aigner M, Hardarson G, 1999. A comparison of direct and indirect  $^{15}\text{N}$  isotope techniques for estimating crop N uptake from organic residues. *Plant and Soil* 208:259-270.
- Hu J, Lin X, Wang J, Dai J, Chen R, Zhang J, Wong M H, 2011. Microbial functional diversity, metabolic quotient, and invertase activity of a sandy loam soil as affected by long-term application of organic amendment and mineral fertilizer. *Journal of Soils and Sediments* 11:271-280, doi:10.1007/s11368-010-0308-1.
- Jansa J, Bationo A, Frossard E, Rao I, 2011. Options for improving plant nutrition to increase common bean productivity in Africa. In: *Fighting poverty in Sub-Saharan Africa: the multiple roles of legumes in integrated soil fertility management*. Springer, pp 201-240.
- Janssen B H, 1996. Nitrogen mineralization in relation to C:N ratio and decomposability of organic materials. *Plant and Soil* 181:39-45, doi:10.1007/BF00011290.

- Jemo M, Abaidoo R C, Nolte C, Horst W J, 2006. Genotypic variation for phosphorus uptake dinitrogen fixation in cowpea on low-phosphorus soils of southern Cameroon. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 169:816-825.
- Jensen L S, Salo T, Palmason F, Berland T A, Henriksen T M, Senberg B, Pedersen A, Lundström C, Esala M, 2005. Influence of biochemical quality on C and N mineralisation from a broad variety of plant materials in soil. *Plant and Soil* 273:307-326.
- Kamaa M, Mburu H, Blanchart E, Chibole L, Chotte J L, Kibunja C, Lesueur D, 2011. Effects of organic and inorganic fertilization on soil bacterial and fungal microbial diversity in the Kabete long-term trial, Kenya. *Biology and Fertility of Soils* 47:315-321.
- Kamble P N, Bååth E, 2014. Induced N-limitation of bacterial growth in soil: Effect of carbon loading and N status in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 74:11-20, doi:10.1016/j.soilbio.2014.02.015.
- Kiba D I, 2012. Diversité des modes de gestion de la fertilité des sols et leurs effets sur la qualité des sols et la production des cultures en zones urbaine, péri-urbaine et rurale au Burkina Faso. Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso.
- Koroleff F, 1983. Determination of nutrients. In: Grasshoff K, Ehrhardt M, Kremling K (eds) *Methods of Seawater Analysis*. Verlag Chemie, New York, pp 125-187.
- Kouno K, Tuchiya Y, Ando T, 1995. Measurement of soil microbial biomass phosphorus by an anion exchange membrane method. *Soil Biology & Biochemistry* 27:1353-1357.
- Kremer R J, Means N E, Kim S, 2005. Glyphosphate affects soybean root exudation and rhizosphere micro-organisms. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 85:595-651.
- Kuzyakov Y, Blagodatskaya E, 2015. Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept & review. *Soil Biology and Biochemistry* 83:184-199.
- Kuzyakov Y, Friedel J K, Stahr K, 2000. Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biology and Biochemistry* 32:1485-1498, doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0038-0717\(00\)00084-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00084-5).

- Kwabiah A B, Palm C A, Stoskopf N C, Voroney R P, 2003a. Response of soil microbial biomass dynamics to quality of plant materials with emphasis on P availability. *Soil Biology and Biochemistry* 35:207-216.
- Kwabiah A B, Stoskopf N C, Palm C A, Voroney R P, 2003b. Soil P availability as affected by the chemical composition of plant materials: implications for P-limiting agriculture in tropical Africa. *Agriculture Ecosystems & Environment* 100:53-61.
- Laberge G, Bettina I G, Haussann P A, Henning H-J, 2011. Cowpea N rhizodeposition and its below-ground transfer to a co-existing and to a subsequent millet crop on a sandy soil of the Sudano-Sahelian eco-zone. *Plant and Soil* 340:369-382, doi:10.1007/s11104-010-0609-6.
- Lesschen J P, Stoorvogel J J, Smaling E M A, Heuvelink G B M, Veldkamp A, 2007. A spatially explicit methodology to quantify soil nutrient balances and their uncertainties at the national level. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 78:111-131, doi:10.1007/s10705-006-9078-y.
- Li Y-Y, Yu C-B, Cheng X, Li C-J, Sun J-H, Zhang F-S, Lambers H, Li L, 2009. Intercropping alleviates the inhibitory effect of N fertilization on nodulation and symbiotic N<sub>2</sub> fixation of faba bean. *Plant and Soil* 323:295-308, doi:10.1007/s11104-009-9938-8.
- Lompo F, 2009. Effets induits des modes de gestion de la fertilité sur les états du phosphore et la solubilisation des phosphates naturels dans deux sols acides du Burkina Faso. Thèse doctorat d'Etat, Université de Cocody.
- Lompo F, Segda Z, Gnankambary Z, Ouandaogo N, 2009. Influence des phosphates naturels sur la qualité et la biodégradation d'un compost de pailles de maïs. *Tropicultura* 27:105-109.
- Maatman A, Wopereis M C S, Debrah K S, Groot J J R, 2007. From Thousands to Millions: Accelerating Agricultural Intensification and Economic Growth in Sub-Saharan Africa. In: Bationo A, Waswa B, Kihara J, Kimetu J (eds) *Advances in Integrated Soil Fertility Management in sub-Saharan Africa: Challenges and Opportunities*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 75-84. doi:10.1007/978-1-4020-5760-1\_5.
- Maistry P M, Cramer M D, Chimphango S B M, 2013. N and P colimitation of N<sub>2</sub>-fixing and N-supplied fynbos legumes from the Cape Floristic Region. *Plant and Soil* 373:217-228, doi:10.1007/s11104-013-1793-y.

- Makoi J H J R, Chimphango S B M, Dakora F D, 2009. Effect of legume plant density and mixed culture on symbiotic N-2 fixation in five cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) genotypes in South Africa. *Symbiosis* 48:57-67.
- Mando A, Bonzi M, Wopereis M C S, Lompo F, Stroosnijder L, 2005. Long-term effects of mineral and organic fertilization on soil organic matter fractions and sorghum yield under Sudano-Sahelian conditions. *Soil Use and Management* 21:396 – 401, doi:10.1079/SUM2005339.
- Marschner P, Crowley D, Rengel Z, 2011. Rhizosphere interactions between microorganisms and plants govern iron and phosphorus acquisition along the root axis – model and research methods. *Soil Biology and Biochemistry* 43:883-894, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.01.005>.
- Massenssini A M, Bonduki V H A, Melo C A D, Tótola M R, Ferreira F A, Costa M D, 2014. Soil microorganisms and their role in the interactions between weeds and crops. *Planta Daninha* 32:873-884.
- Mayer J, Buegger F, Jensen E S, Schlöter M, Heß J, 2003. Estimating N rhizodeposition of grain legumes using a 15 N in situ stem labelling method. *Soil Biology and Biochemistry* 35:21-28.
- Mayer J, Buegger F, Jensen E S, Schlöter M, Hess J, 2004. Turnover of grain legume N rhizodeposits and effect of rhizodeposition on the turnover of crop residues. *Biology and Fertility of Soils* 39:153-164, doi:10.1007/s00374-003-0694-2.
- McLaughlin M J, Alston A M, Martin J K, 1988. Phosphorus cycling in wheat-pasture rotations. II. The role of the microbial biomass in phosphorus cycling. *Australian Journal of Soil Research* 26:333-342.
- McNeill A M, Unkovich M J, 2007. The nitrogen cycle in terrestrial ecosystems. In: Marschner P, Rengel Z (eds) *Nutrient cycling in terrestrial ecosystems*, vol 10. *Soil Biology*. Springer, Berlin, pp 37-64.
- Miransari M, 2010. Contribution of arbuscular mycorrhizal symbiosis to plant growth under different types of soil stress. *Plant Biology* 12:563-569, doi:10.1111/j.1438-8677.2009.00308.x.



- Morel C, Fardeau J, 1989a. Native soil and fresh fertilizer phosphorus uptake as affected by rate of application and P fertilizers. *Plant and Soil* 115:123-128.
- Morel C, Fardeau J C, 1989b. The uptake by crops of fresh and residual phosphatic fertilizers by simultaneous measurements with  $^{32}\text{P}$  and  $^{33}\text{P}$ . *Appl Radiat Isotopes* 40:273-278.
- Muleba N, Ouedraogo J, Drabo I, Dabire C, 1997. Improving the efficiency in breeding cowpea for adaptation in semi-arid tropics. *African Crop Science Journal* 5:325-340.
- Naab J B, Chimphango S M B, Dakora F D, 2009.  $\text{N}_2$  Fixation in cowpea plants grown in farmer's fields in the Uper West Region of Ghana, measured using  $^{15}\text{N}$  natural abundance. *Symbiosis* 48:37-46.
- Nguluu S N, Probert M, McCown R, Myers R, Waring S, 2002. Isotopic discrimination associated with symbiotic nitrogen fixation in stylo (*Stylosanthes hamata* L.) and cowpea (*Vigna unguiculata* L.). *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 62:11-14.
- Nielsen M N, Winding A, Binnerup S, Hansen B, Hendriksen N, Kroer N, 2002. Microorganisms as indicators of soil health. National Environmental Research Institute.
- Nordgren A, Bååth E, Söderström B, 1988. Evaluation of soil respiration characteristics to assess heavy metal effects on soil microorganisms using glutamic acid as a substrate. *Soil Biology & Biochemistry* 20:949-954.
- Nyemba R C, Dakora F D, 2010. Evaluating  $\text{N}_2$  fixation by food grain legumes in farmers' fields in three agro-ecological zones of Zambia, using  $^{15}\text{N}$  natural abundance. *Biology and Fertility of Soils* 46:461-470.
- Oberson A, Frossard E, Buhlmann C, Mayer J, Mader P, Luscher A, 2013. Nitrogen fixation and transfer in grass-clover leys under organic and conventional cropping systems. *Plant and Soil* 371:237-255, doi:10.1007/s11104-013-1666-4.
- Oberson A, Nanzer S, Bosshard C, Dubois D, Mäder P, Frossard E, 2007. Symbiotic  $\text{N}_2$  fixation by soybean in organic and conventional cropping systems estimated by  $^{15}\text{N}$  dilution and  $^{15}\text{N}$  natural abundance. *Plant and Soil* 290:69-83.
- Oberson A, Pypers P, Büemann E K, Frossard E, 2011. Management Impacts on Biological Phosphorus Cycling in Cropped Soils. In: E.K. Büemann AO, E. Frossard (ed) *Phosphorus in action*. doi:10.1007/978-3-642-15271-9.

- Oberson A, Tagmann H U, Langmeier M, Dubois D, Mader P, Frossard E, 2010. Fresh and residual phosphorus uptake by ryegrass from soils with different fertilization histories. *Plant and Soil* 334:391-407, doi:10.1007/s11104-010-0390-6.
- Oehl F, Oberson A, Probst M, Fliessbach A, Roth H-R, Frossard E, 2001. Kinetics of microbial phosphorus uptake in cultivated soils. *Biology and Fertility of Soils* 34:31-41.
- Oenema O, Kros H, de Vries W, 2003. Approaches and uncertainties in nutrient budgets: implications for nutrient management and environmental policies. *European Journal of Agronomy* 20:3-16, doi:10.1016/s1161-0301(03)00067-4.
- Ohno R, Zibilske L M, 1991. Determination of low concentrations of phosphorus in soil extracts using malachite green. *Soil Science Society of America Journal* 55:892-895.
- Okito A, Alves B R J, Urquiaga S, Boddey R M, 2004. Isotopic fractionation during N<sub>2</sub> fixation by four tropical legumes. *Soil Biology & Biochemistry* 36:1179-1190, doi:10.1016/j.soilbio.2004.03.004.
- Okpara I M, Igwe C A, 2014. Soil chemical properties and legume-cereal rotation benefits in an Ultisol in Nsukka, southeastern Nigeria. *African Journal of Biotechnology* 13:2341-2349.
- Ouédraogo E, Mando A, Zombré N, 2001. Use of compost to improve soil properties and crop productivity under low input agricultural system in West Africa. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 84:259-266.
- Pallo F, Thiombiano L, 1989. Les sols ferrugineux tropicaux lessivés à concrétions du Burkina Faso: caractéristiques et contraintes pour l'utilisation agricole. In: Soltrop (ed) *Actes du premier séminaire franco-africain de pédologie tropicale*, Lomé, 6-12 février 1989. ORSTOM, Paris, pp 307-327.
- Pallo J, Sawadogo N, Zombre N, Sedogo M, 2009a. Statut de la matière organique des Cambisols et des Lixisols sous formations naturelles de longue durée en zone Nord-Soudanienne au Burkina Faso. *Agronomie Africaine* 21:215 - 229.
- Pallo J F, Sawadogo N, Zombre N P, Sedogo M P, 2009b. Statut de la matière organique des sols de la zone nord-soudanienne au Burkina Faso. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 13:139-142.

- Palm C A, Gachengo C N, Delve R J, Cadisch G, Giller K E, 2001a. Organic inputs for soil fertility management in tropical agroecosystems: application of an organic resource database. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 83:27-42.
- Palm C A, Giller K E, Mafongoya P L, Swift M J, 2001b. Management of organic matter in the tropics: translating theory into practice. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 61:61-75.
- Peel M C, Finlayson B L, McMahon T A, 2007. Updated world map of the Koppen-Geiger climate classification. *Hydrol Earth Syst Sci* 11:1633-1644.
- Pieri C, 1989. Fertilité des terres de savanes. Bilan de trente ans de recherche et de développement agricoles au sud du Sahara. Ministère de la coopération et du Développement, et CIRAD-IRAT.
- Piotrowska-Seget Z, Mroziak A, 2003. Signature lipid biomarker (SLB) analysis in determining changes in community structure of soil microorganisms. *Polish Journal of Environmental Studies* 12:669-675.
- Pypers P, Van Loon L, Diels J, Abaidoo R, Smolders E, Merckx R, 2006. Plant-available P for maize and cowpea in P-deficient soils from the Nigerian Northern Guinea Savanna - Comparison of E- and L-values. *Plant and Soil* 283:251-264.
- Qian P, Schoenau J, Huang W, 1992. Use of ion exchange membranes in routine soil testing. *Communications in Soil Science & Plant Analysis* 23:1791-1804.
- Randriamanantsoa L, 2013. Effets d'apports de résidus de légumineuse et de fumier sur la phytodisponibilité du phosphore du sol dans un ferralsol du moyen ouest de Madagascar. Université d'Antananarivo.
- Roose E, Barthès B, 2001. Organic matter management for soil conservation and productivity restoration in Africa: a contribution from Francophone research. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 61:159-170.
- Salvagiotti F, Cassman K G, Specht J E, Walters D T, Weiss A, Dobermann A, 2008. Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: A review. *Field Crops Research* 108:1-13, doi:10.1016/j.fcr.2008.03.001.
- Sanchez P A, Shepherd K D, Soule M J, Place F M, Buresh R J, Izac A-M N, Mkwunye A U, Kwasiga F R, Ndiritu C G, Woomer P L, 1997. Soil fertility replenishment in Africa: an

- investment in natural resource capital. In: Buresh RJ, Sanchez PA, Calhoun F (eds) Replenishing soil fertility in Africa. SSSA special publication no. 51. SSSA and ASA, Madison, WI, USA, pp 1-46.
- Scheu S, 1993. Analysis of the microbial nutrient status in soil micro compartments: earthworm faeces from a basalt-limestone gradient. *Geoderma* 56:575-586
- Sedogo M P, 1993. Evolution des sols ferrugineux lessivés sous culture: incidence des modes de gestion sur la fertilité. Thèse de doctorat, Université Nationale de Côte d'Ivoire.
- Sheahan M, Barrett C B, 2014. Understanding the agricultural input landscape in sub-Saharan Africa: Recent plot, household, and community-level evidence. World Bank Policy Research Working Paper.
- Shearer G, Kohl D H, 1986. N<sub>2</sub>-fixation in field settings: estimations based on natural <sup>15</sup>N abundance. *Australian Journal of Plant Physiology* 13:699-756.
- Sinclair T R, Manandhar A, Belko N, Riar M, Vadez V, Roberts P A, 2015. Variation among cowpea genotypes in sensitivity of transpiration rate and symbiotic nitrogen fixation to soil drying. *Crop Science* 55:2270-2275, doi:10.2135/cropsci2014.12.0816.
- Singh B, Usha K, 2003. Nodulation and symbiotic nitrogen fixation of cowpea genotypes as affected by fertilizer nitrogen. *Journal of Plant Nutrition* 26:463-473, doi:10.1081/pln-120017147.
- Smaling E M A, Nandwa S M, Janssen B H, 1997. Soil fertility in Africa is at stake. In: Buresh RJ, Sanchez PA, Calhoun F (eds) Replenishing soil fertility in Africa. SSSA special publication no. 51. SSSA/ASA, Madison, WI, pp 47-61.
- Smaling E M A, Stoorvogel J J, Windmeijer P N, 1993. Calculating soil nutrient balances in Africa at different scales II. District scale. *Fertilizer Research* 35:237-250.
- Snapp S S, Silim S N, 2002. Farmer preferences and legume intensification for low nutrient environments. In: Adu-Gyamfi JJ (ed) Food Security in Nutrient-Stressed Environments: Exploiting Plants' Genetic Capabilities. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 289-300. doi:10.1007/978-94-017-1570-6\_31.

- Stockdale E, Hatch D, Murphy D, Ledgard S, Watson C, 2002. Verifying the nitrification to immobilisation ratio (N/I) as a key determinant of potential nitrate loss in grassland and arable soils. *Agronomie* 22:831-838, doi:10.1051/agro:2002060.
- Tate K R, 1985. Soil Phosphorus. In: Vaughan D, Malcolm RE (eds) *Soil Organic Matter and Biological Activity*, vol 16. *Developments in Plant and Soil Sciences*. Springer Netherlands, pp 329-377. doi:10.1007/978-94-009-5105-1\_10.
- Tiessen H, Moir J O, 1993. Characterisation of available P by sequential extraction. In: Carter MR (ed) *Soil sampling and methods of analysis*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp 75-86.
- Tisdall J, 1994. Possible role of soil microorganisms in aggregation in soils. *Plant and Soil* 159:115-121.
- Tittonell P, Giller K E, 2013. When yield gaps are poverty traps: the paradigm of ecological intensification in African smallholder agriculture. *Field Crops Research* 143:76-90.
- Traoré O Y A, Kiba D I, Arnold M C, Fliessbach A, Oberholzer H R, Nacro H B, Lompo F, Oberson A, Frossard E, Bunemann E K, 2016. Fertilization practices alter microbial nutrient limitations after alleviation of carbon limitation in a Ferric Acrisol. *Biology and Fertility of Soils* 52:177-189, doi:10.1007/s00374-015-1061-9.
- Treseder K K, Allen M F, 2002. Direct nitrogen and phosphorus limitation of arbuscular mycorrhizal fungi: a model and field test. *New-Phytologist* 155:507-515.
- Umrit G, Friesen D K, 1994. The effect of C:P ratio of plant residues added to soils of contrasting phosphate sorption capacities on P uptake by *Panicum maximum* (Jacq.). *Plant and Soil* 158:275-285.
- Unkovich M, Herridge D, Peoples M, Cadisch G, Boddey B, Giller K, Alves B, Chalk P, 2008. Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems vol 136. *ACIAR monograph series ; 136*. Australian Centre for International Agricultural Research, Australia.
- Unkovich M J, Pate J S, 2000. An appraisal of recent field measurements of symbiotic N<sub>2</sub> fixation by annual legumes. *Field Crops Research* 65:211- 228.

- Unkovich M J, Pate J S, Sanford P, Armstrong E L, 1994. Potential precision of the  $\delta^{15}\text{N}$  natural abundance method in field estimates of nitrogen-fixation by crop and pasture legumes in south-west Australia. *AustJAgriRes* 45:119-132.
- Van Veen J A, Ladd J N, Amato M, 1985. Turnover of carbon and nitrogen through the microbial biomass in a sandy loam and a clay soil incubated with  $[^{14}\text{C}(\text{U})]$ glucose and  $[^{15}\text{N}](\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  under different moisture regimes. *Soil Biology and Biochemistry* 17:747-756, doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717\(85\)90128-2](http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717(85)90128-2).
- Vance C P, 2001. Symbiotic Nitrogen Fixation and Phosphorus Acquisition. *Plant Nutrition in a World of Declining Renewable Resources*. *Plant Physiology* 127:390-397.
- Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S, 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology & Biochemistry* 19:703-707.
- Vanlauwe B, Sanginga N, Merckx R, 1998. Soil organic matter dynamics after addition of nitrogen-15-labeled *Leucaena* and *Dactyladenia* residues. *Soil SciSocAmJ* 62:461-466.
- Vanlauwe B, Wendt J, Giller K E, Corbeels M, Gerard B, Nolte C, 2014. A fourth principle is required to define Conservation Agriculture in sub-Saharan Africa: The appropriate use of fertilizer to enhance crop productivity. *Field Crops Research* 155:10-13, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2013.10.002>.
- Welbaum G E, Sturz A V, Dong Z, Nowak J, 2004. Managing soil microorganisms to improve productivity of agro-ecosystems. *Critical Reviews in Plant Sciences* 23:175-193.
- Whalen J K, 2014. Managing soil biota-mediated decomposition and nutrient mineralization in sustainable agroecosystems. *Advances in Agriculture* 2014:1-13, doi:<http://dx.doi.org/10.1155/2014/384604>.
- Wu J, Huang M, Xiao H-A, Su Y-R, Tong C-L, Huang D-Y, Syers J K, 2007. Dynamics in microbial immobilization and transformations of phosphorus in highly weathered subtropical soil following organic amendments. *Plant and Soil* 290:333-342, doi:10.1007/s11104-006-9165-5.
- Yusuf A A, Abaidoo R C, Iwuafor E N O, Olufajo O O, Sanginga N, 2009. Rotation effects of grain legumes and fallow on maize yield, microbial biomass and chemical properties of an

Alfisol in the Nigerian savanna. *Agriculture Ecosystems & Environment* 129:325-331, doi:10.1016/j.agee.2008.10.007.

Zechmeister-Boltenstern S, Keiblinger K M, Mooshammer M, Penuelas J, Richter A, Sardans J, Wanek W, 2015. The application of ecological stoichiometry to plant-microbial-soil organic matter transformations. *Ecological Monographs* 85:133-155, doi:10.1890/14-0777.1.

Zeinabou H, Mahamane S, Bismarck N H, Bado B V, Lompo F, Bationo A, 2014. Effet de la combinaison des fumures organo-minérales et de la rotation niébé-mil sur la nutrition azotée et les rendements du mil au sahel. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 8:1620-1632.

Zelles L, 1997. Phospholipid fatty acid profiles in selected members of soil microbial communities. *Chemosphere* 35:275-294.

Zhong W, Gu T, Wang W, Zhang B, Lin X, Huang Q, Shen W, 2010. The effects of mineral fertilizer and organic manure on soil microbial community and diversity. *Plant and Soil* 326:511-522, doi:10.1007/s11104-009-9988-y.

Zougmore R, Bonzi M, Zida Z, 2000. Etalonnage des unites locales de mesures pour le compostage en fosse de type unique etanche durable. IFAD Africa. <http://www.fidafrique.net/IMG/pdf/Leaf4.pdf>. Accessed 29.04 2015.

Zoundi J S, Lalba A, Tiendrebeogo J-P, Bambara D, 2007. Systèmes de cultures améliorés à base de niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) pour une meilleure gestion de la sécurité alimentaire et des ressources naturelles en zone semi-aride du Burkina Faso. *Tropicultura* 25:87-96.

## ANNEXES

**Annexe 1:** Photographies de l'essai de longue durée de Saria en hivernage 2009 (a) et en saison sèche 2013 (b)



Auteur: O. Y. A. Traoré, photo a prise en 2009 ; photo b prise en janvier 2013

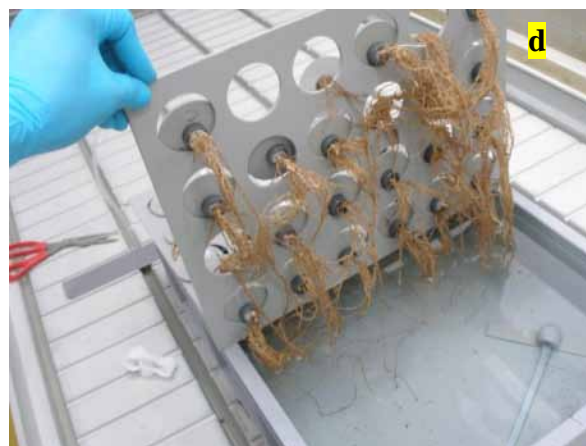
**Annexe 2 :** Photographies des plantes de niébé en pot à 2 semaines (a) et à 8 semaines (b) après transplantation, durant l'expérience de détermination sous serre de la valeur B des différentes variétés de niébé



Auteur: O. Y. A. Traoré ; photos prises en 2014



**Annexe 3:** Production hydroponique sous serre du niébé non marqué (a), et doublement marqué (b) en  $^{15}\text{N}$  et  $^{33}\text{P}$  utilisés pour l'expérimentation en pot, et leur récolte (c et d)



Auteur: O. Y. A. Traoré, photos prises en 2013

**Annexe 4 :** Photographies des plantes de sorgho en pot et sous serre durant l'expérimentation de double marquage isotopique en  $^{15}\text{N}$  et  $^{33}\text{P}$



Auteur: O. Y. A. Traoré, photos prises en 2013

**Annexe 5** : Aperçu d'ensemble des limitations des microorganismes du sol en N et P, déduites des différents indicateurs après la levée de la limitation en C. Les éléments séparés avec une virgule sont rangés en par ordre d'apparition de la limitation ; primaire, puis secondaire après la correction de la limitation primaire. Une vraie co-limitation est indiquée par un + entre les éléments co-limitants.

Pratiques de fertilisation	-----Cinétique de respiration-----			-----Formation de biomasse-----		-----Structure des----- communautés microbienne	
	Max. AMR	Courbes de respiration <sup>1</sup>	Croissance exponentielle ( $\mu$ )	$P_{mic}$	AGPL Total	ACP sur les AGPL individuels	Rapport f/b
<b>Te</b>	N+P	N, P	P	- <sup>2</sup>	N+P	N+P	N+P
<b>fmo</b>	-	N	?	N+P	N, P	N	N
<b>fm</b>	N	N	-	N	-	P	N+P

<sup>1</sup> niveau des émissions horaires et cumulées de C

<sup>2</sup> Tendance à une co-limitation N+P