



Éditeurs scientifiques

R. Duponnois

M. Hafidi

I. NDoye

H. Ramanankierana

A. M. Bâ

Des champignons symbiotiques contre la désertification

Écosystèmes méditerranéens, tropicaux et insulaires

DES CHAMPIGNONS SYMBIOTIQUES CONTRE LA DESERTIFICATION

ECOSYSTEMES MEDITERRANEENS, TROPICAUX ET INSULAIRES

Editeurs scientifiques

ROBIN DUPONNOIS^{1,2,4}, MOHAMED HAFIDI², IBRAHIMA NDOYE^{3,4},
HERINIAIRANA RAMANANKIERANA⁵, AMADOU M. BÂ^{1,4}

¹ IRD. UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/AGRO-M/UM2. Laboratoire des symbioses tropicales et méditerranéennes (LSTM). Campus international de Baillarguet, Montpellier. France.

² Laboratoire Écologie & Environnement (Unité associée au CNRST, URAC 32). Faculté des sciences Semlalia. Université Cadi Ayyad. Marrakech. Maroc.

³ Université Cheikh Anta Diop. Département de Biologie végétale. Dakar. Sénégal.

⁴ IRD. Laboratoire commun de microbiologie IRD/ISRA/UCAD. Centre de recherche de Bel Air. BP 1386. Dakar. Sénégal.

⁵ Laboratoire de microbiologie de l'environnement. Centre national de recherches sur l'environnement. BP 1739. Antananarivo. Madagascar.

IRD Editions

INSTITUT DE RECHERCHE POUR LE DEVELOPPEMENT

Marseille, 2013

PRESENTATION DES EDITEURS



Robin DUPONNOIS est directeur de recherche IRD au laboratoire des symbioses tropicales et méditerranéenne (Cirad/Inra/IRD/Montpellier SupAgro/Université Montpellier 2). Ses travaux portent sur le rôle de la symbiose mycorhizienne dans la productivité et la stabilité des écosystèmes forestiers en milieu tropical et méditerranéen, domaine dans lequel il a publié plus d'une centaine d'articles scientifiques dans des revues internationales, de nombreux chapitres d'ouvrage ainsi que trois ouvrages. Ses objectifs de recherche visent à comprendre la place de la symbiose mycorhizienne dans le bio-fonctionnement du sol afin de valoriser cette ressource microbienne dans les opérations de réhabilitation des milieux dégradés. Après avoir séjourné plusieurs années en Afrique de l'Ouest (Sénégal, Burkina Faso) et en Afrique du Nord (Maroc), il a pu démontrer *in situ* l'intérêt de valoriser cette symbiose fongique afin d'améliorer la productivité des plantations forestières mais également pour conserver la diversité végétale endémique de ces milieux. Convaincu de l'importance de la formation et de la valorisation des acquis de la recherche dans l'essor des pays en voie de développement, il a largement contribué à la formation de jeunes chercheurs et à la création d'entreprises innovantes au Sénégal, au Burkina Faso, à Madagascar et au Maroc. Membre de divers comités d'évaluation et de gestion de la recherche (ANR SEV7, Centre national d'études et de recherches sur le Sahara, etc), il a été récemment désigné pour assurer la coordination des activités de recherche et de développement prévues dans le cadre de l'accord de partenariat entre l'Agence panafricaine de la Grande muraille verte (AAGMV) et l'Agence inter-établissements de recherche pour le développement (AIRD). Il assure également la fonction de chef du consortium « Lutte contre la Désertification » au sein de la Direction des Programmes et de la Formation pour le Sud (DPF) de l'AIRD.

Contact : +33 (0)4 67 59 38 01, robin.duponnois@ird.fr



Mohamed HAFIDI est Professeur de l'Enseignement Supérieur au laboratoire Ecologie et Environnement (Unité associée au CNRST, URC 32 ; Faculté des Sciences Semlalia/ Université Cadi Ayyad Marrakech). Ses travaux portent sur l'efficacité de la fertilité des sols et l'interface sol-environnement, domaine dans lequel il a publié plus de quatre vingt articles scientifiques dans des revues internationales, de nombreux chapitres d'ouvrage. Ses objectifs de recherche visent à optimiser les pratiques de recyclage des matières organiques d'origines diverses dans les agro-systèmes tout en essayant de comprendre les mécanismes de leurs biotransformations. Il a développé de nombreuses collaborations Nord-Sud (France, Espagne) et Sud-Sud (Togo, Sénégal, Algérie), il a pu contribuer par le biais de son expertise en matière d'activité pédagogique et scientifique à tisser des liens solides avec les différents partenaires en ayant contribué à la formation de groupe d'excellence en la matière. Il a initié une collaboration très fructueuse depuis quinze ans avec l'Institut de recherche pour le Développement (France), qui s'est soldée par de nombreux projets de recherche, des thèses en co-direction, des bourses de doctorants et une valorisation exemplaire des résultats. Il a pu participer à l'encadrement de plusieurs thèses de doctorat parmi lesquels des doctorats en co-tutelles. Certains de ces doctorats se sont vus décerner le prix de meilleure thèse soutenue. Il a développé un partenariat avec le secteur socio-économique au Maroc (Ex : Office Chérifien des Phosphates) et s'est investi en matière de propriété intellectuelle avec 08 brevets à son actif. Il est membre de divers comités d'évaluation et de gestion de la recherche (Centre national d'études et de recherches sur le Sahara-UCAM, Centre National de la Recherche Scientifique et Technique-CNRST, Comité de pilotage à l'AIRD pour les programmes de recherche au Sud, référés de plusieurs journaux internationaux..).

Contact : +212 (0)5 24 43 76 65, hafidi@uca.ma/hafidi.ucam@gmail.com



Amadou Bâ est professeur des universités à l'Université des Antilles et de la Guyane, et rattaché au laboratoire des symbioses tropicales et méditerranéenne (Cirad/Inra/IRD/Montpellier SupAgro/Université Montpellier 2). Ses activités de recherche portent sur la diversité, le fonctionnement et la l'utilisation des symbioses mycorhiziennes dans des agroécosystèmes tropicaux et néotropicaux. Il a publié une centaine d'articles dans des revues internationales à comité de lecture, des ouvrages et chapitres d'ouvrage et a participé à de nombreux congrès internationaux. Ses activités d'enseignement et de recherche se sont déroulées dans des contextes géographiques différents. Après un séjour postdoctoral à l'Université Laval au Canada, il a séjourné plusieurs années au Burkina Faso, au Sénégal, en Guinée Conakry et en Guadeloupe. Il a encadré plusieurs étudiants en Master 2 et doctorat. Il est actuellement directeur du laboratoire commun de microbiologie LCM IRD/UCAD/ISRA (Sénégal), président du réseau africain sur les Mycorhizes (AFRINOM), expert évaluateur auprès d'organismes de financement de la recherche (IFS, WB, AIEA, etc.) et membre de comités sélection (recrutement enseignants-chercheurs).

Contact : amadou.ba@univ-ag.fr, www.senegal.ird.fr/afrinom



Ibrahima Ndoye est Professeur titulaire à l'université Cheikh Anta Diop de Dakar. Il est spécialiste en microbiologie et chercheur associé au Laboratoire Commun de Microbiologie regroupant trois institutions IRD, ISRA et UCAD, où il mène depuis plusieurs années ses activités de recherche et d'encadrement d'étudiants en DEA, Master et thèse au sein d'une équipe de recherche sur les symbioses microbiennes. Il a mené des travaux de microbiologie de haut niveau qui ont permis de développer des programmes sur la diversité symbiotique des rhizobiums tropicaux associés à des légumineuses, Ses objectifs de recherche visaient à étudier le comportement des micro-organismes symbiotiques des végétaux (rhizobiums et Champignons mycorhiziens principalement) en zone sahélienne, en fonction des facteurs environnementaux prédominants (aridité, stress salin, pratiques culturales, compétition entre organismes du sol), notamment afin de dégager les critères de sélection à prendre en compte pour l'utilisation de ces micro-

organismes dans l'amélioration de la production végétale. Il a pu ainsi développer une réelle collaboration avec plusieurs institutions de recherche internationales du Nord et du sud. Ses activités d'encadrement de stagiaires de différents instituts et universités pour des formations de courte durée (stages d'initiation ou de perfectionnement) ou de longue durée (étudiants en DEA, Master, Thèses de doctorat et formation de stagiaires étrangers) ont permis non seulement une production scientifique de qualité (publication d'articles dans des revues internationales) mais aussi le renforcement de la collaboration scientifique avec ses partenaires. Il a largement contribué à la formation de jeunes chercheurs. Ses résultats ont permis de renforcer les connaissances sur l'écologie des différents systèmes symbiotiques étudiés en vue de leur utilisation dans l'agriculture sénégalaise, en particulier dans l'agriculture périurbaine en pleine expansion. Il s'agit maintenant dans une perspective de valorisation, de développer et de valider au champ les approches mises au point au laboratoire et en stations expérimentales. Le Pr. I. Ndoye a publié plus d'une cinquantaine d'articles scientifiques dans des revues internationales et de nombreux chapitres d'ouvrage et communications dans des congrès internationaux. Il assure la coordination du Master en "Biotechnologies Végétales et Microbiennes" et de la Formation doctorale "Biotechnologies Végétales et Microbiennes et Amélioration des Plantes" de l'école doctorale « Sciences de la Vie, de la Santé et de l'Environnement ». Il est Co-directeur du LMI LAPSE (Laboratoire Mixte International Adaptation des Plantes et microorganismes associés aux Stress Environnementaux). Il a eu à coordonner plusieurs projets de recherche et à assurer la direction du LCM de 2008 à 2010. Il est membre de divers comités d'évaluation, d'expertise et de relectures pour de nombreuses revues scientifiques et à assurer la présidence de l'association Africaine pour la fixation biologique de l'azote (AABNF)

Contact : Ibrahima.Ndoye@ird.fr



Dr Ramanankierana Heriniaina est Directeur de Recherche Associé au sein du Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement (LME) du Centre National de Recherches sur l'Environnement (CNRE) à Antananarivo Madagascar. Il a présenté son «Habilitation à Diriger des Recherches» au mois de novembre 2012 après sept années de travaux de recherche entrepris entre l'Université d'Antananarivo, le LME et le

Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (LSTM) de l'Institut de Recherche pour le Développement. Membre de l'équipe pédagogique du laboratoire de Biotechnologie – Microbiologie de l'Université d'Antananarivo et de la formation « Gestion des ressources naturelles et Sciences de l'Environnement » de l'Université de Toamasina, Dr Ramanankierana dirige actuellement l'Unité de Recherche « Microbiologie en milieux naturels » au sein du CNRE. Son équipe développe, dans plusieurs régions de Madagascar et des Comores, des travaux de recherche sur l'écologie des symbioses racinaires et ses applications en foresterie et en agriculture.

Contact : nierani@yahoo.fr

SOMMAIRE

 **PREFACES**

B. Dreyfus, A. Miraoui

 **AVANT-PROPOS**

 **INTRODUCTION**

« *Généralités sur la symbiose mycorhizienne* » par Duponnois R., Sanon A., Hafidi M., Ndoye I., Bâ A. M.

 **PARTIE 1. SYMBIOSE MYCORHIZIENNE ET ECOSYSTEMES TROPICAUX**

 **CHAPITRE 1.** Symbiose mycorhizienne et écosystèmes tropicaux. Exemples d'études réalisées au Burkina Faso

 « *Diversité spécifique des champignons ectomycorhiziens du genre Scleroderma du Burkina Faso et application à la mycorhization contrôlée de Afzelia africana* » par Sanon B. K., Bâ A. M., Duponnois R.

 « *Fertilité des sols et gestion du potentiel infectieux mycorhizien* » par Bilgo A., Sanon A., Sangaré S. K., Dabire P., Hien V., Duponnois R.

 **CHAPITRE 2.** Symbiose mycorhizienne et écosystèmes tropicaux. Exemples d'études réalisées au Cameroun

 « *Rôles-clés des champignons mycorhiziens pour la gestion durable de la forêt camerounaise* » par Onguene N. A., Bechem E. E., Nwaga D., Nana W. L.

 « *Diversité des champignons mycorhiziens arbusculaires du Cameroun* » par Ngonkeu M. E. L., Nwaga D., Adamou S., Fokom R., Tchameni N. S., Onguene N. A., Nana W. L., Chaintreuil C., The C., Amougou A., Moulin L., Prin Y., Lebrun M., Dreyfus B.

 « *Valorisation des fonctions multiples des champignons mycorhiziens arbusculaires pour la production agricole* » par Nwaga D., Nana W. L., Ngonkeu M. E. L., Onguene N. A., Tchameni N. S., Abba M., Mvele M. E. C., Mayoh J.-F., Mbouapougnigni V. P., Ngoumé R.

 **CHAPITRE 3.** Symbiose mycorhizienne et écosystèmes tropicaux. Exemples d'études réalisées au Sénégal

 « *Diversité des champignons ectomycorhiziens et des ectomycorhizes des arbres forestiers natifs d'Afrique de l'Ouest* » par Bâ A. M., Duponnois R., Diabaté M., Diédhiou A. G., Sanon K., Nérée, Dreyfus B.

 « *Effet de l'inoculation avec des souches de Mesorhizobium sp. et/ou des champignons mycorhiziens à arbuscules sur la croissance et la nutrition minérale de plants d'Acacia seyal Del.* » par Diouf D., Fall D., Kane A., Bakhoum N., Bâ A. T., Bâ A. M., Duponnois R.

 « *Biotechnologie et mycorhization contrôlée en milieu tropical* » par Duponnois R., Bâ A. M., Galiana A., Baudoin E., Sanguin H., Lebrun M., Prin Y.

 **PARTIE 2. SYMBIOSE MYCORHIZIENNE ET ECOSYSTEMES MEDITERRANEENS**

 **CHAPITRE 1.** Symbiose mycorhizienne et écosystèmes méditerranéens. Exemples d'études réalisées en Algérie

 « *Statut symbiotique des principales essences forestières et de l'olivier cultivé du Nord-Est algérien* » par Beddiar A., Meddad-Hamza A., Adouane M., Azzouz F.

 « *Les symbioses végétales, un atout pour la revégétalisation des sols dégradés : cas des sablières de Terga et Sidi Lakhdar (Algérie)* » par Ighilhariz Z., Benguesmia R., Benelhadj Djelloul S., Sekour S., Mansouri M. L., Bekki A. E. K.

 **CHAPITRE 2.** Symbiose mycorhizienne et écosystèmes méditerranéens. Exemples d'études réalisées au Maroc

 « *La symbiose mycorhizienne des écosystèmes forestiers marocains : diversité naturelle et perspectives d'application* » par Bakkali Y. S. E., Abbas Y., Abourouh M.

 « *Plante nurse : vecteur de propagation de champignons mycorhiziens pour optimiser les performances des opérations de reboisement au Maroc* » par Manaut N., Hafidi M., Ouahmmou A., Baudoin E., Chaffii K., Prin Y., Ouahmane L., Sanguin H., Galiana A., Boumezzough A., Duponnois R.

PARTIE 3. SYMBIOSE MYCORHIZIENNE ET ECOSYSTEMES INSULAIRES

 **CHAPITRE 1.** Symbiose mycorhizienne et écosystèmes insulaires. Exemples d'études réalisées à Madagascar

 « *Communautés mycorhiziennes : structure et fonctionnement selon l'état de dégradation des écosystèmes forestiers du haut plateau et de la région est de Madagascar* » par Ramanankierana H., Randriambanona H., Baohanta R. H., Sanon A., Andrianandrasana D. M., Rajaonarimamy E., Duponnois R.

 **CHAPITRE 2.** Symbiose mycorhizienne et écosystèmes insulaires. Exemples d'études réalisées en Nouvelle-Calédonie

 « *Diversité des symbioses ectomycorhiziennes dans les écosystèmes forestiers naturels sur sols ultramafiques de Nouvelle-Calédonie* » par Prin Y., Ducousso M., Tassin J., Bena G., Jourand P., Dumontet V., Moulin L., Contesto C., Ambrosi J.-P., Chaintreuil C., Dreyfus B., Lebrun M.

 **PARTIE 4. EXEMPLES D'OUTILS POUR ANALYSER LE ROLE DE LA SYMBIOSE**

MYCORHIZIENNE DANS LE FONCTIONNEMENT DU SOL : L'ANALYSE

MULTIVARIEE

 « *Méthodes d'analyse multivariée pour l'étude de l'influence de la mycorhizosphère sur la structure et le fonctionnement des communautés bactériennes du sol* » par Thioulouse J., Sanguin H., Prin Y., Duponnois R.

 **CONCLUSION**

PREFACES

PREFACE

Les forêts couvrent près de 30 % de la superficie émergée de la planète et assurent de multiples fonctions allant de la conservation de la biodiversité, des sols et de l'eau à la fourniture de produits ligneux ou non ligneux et d'activités récréatives. De plus, la biomasse forestière représente la principale forme de stockage de carbone estimée à environ 283 Gigatonnes (Gt), malgré une diminution enregistrée à l'échelle mondiale de 1,1 Gt par an de 1990 à 2005. Elles sont considérées comme des éléments de développement socio-économique particulièrement importants dans les pays du Sud en fournissant des emplois et des moyens de subsistance à une grande partie de la population. Malgré le rôle majeur que jouent les forêts dans la régulation des climats, le débit des grands fleuves, la séquestration du carbone et en tant que réservoirs d'une biodiversité animale et végétale exceptionnelle, la déforestation fait disparaître annuellement quelque 13 millions d'hectares de forêts dans le monde, correspondant ainsi à des pertes nettes de superficies boisées entre 2000 et 2005 de 7,3 millions d'hectares/an, soit une superficie équivalant à la Sierra Leone ou à Panama. Cette déforestation, consécutive à l'extension des terres agricoles, à l'exploitation des ressources minières du sous-sol, à l'urbanisation, à l'exploitation excessive ou anarchique de certaines essences forestières, suscite actuellement un intérêt sans précédent du fait de la prise de conscience croissante du rôle primordial que jouent les forêts dans le cycle mondial du carbone. En effet, la réduction des émissions de CO₂ suite aux déboisements et aux dégradations du couvert forestier et l'augmentation de la séquestration du carbone *via* des actions de reboisement ou de gestion durable des formations offrent des solutions performantes pour atténuer les effets des aléas climatiques actuels. Cette mobilisation planétaire pour la sauvegarde du patrimoine forestier mondial enregistre des résultats encourageants puisque le rythme de la déforestation a connu un ralentissement significatif au cours de cette dernière décennie. Selon la FAO, 5,2 millions d'hectares de surfaces boisées ont disparu entre 2000 et 2010 contre 8,3 millions entre 1990 et 2000. Toutefois, ces résultats sont très variables entre les zones tempérées et boréales et les pays des régions tropicales et méditerranéennes où la perte nette de surfaces boisées est toujours extrêmement soutenue et alarmante.

Les forêts les plus riches – mais également les plus menacées – de la planète se trouvent dans les pays du Sud et ne représentent plus que 7 % de la surface terrestre et parallèlement 15 à 20 % des émissions de CO₂. Lors des conférences de Cancun sur le climat et de Nagoya sur la

diversité biologique, la communauté internationale a montré très clairement son engagement pour une conservation et une gestion durable du patrimoine forestier tropical. Cette volonté affirmée est confrontée à de multiples facteurs d'ordre socio-économique, mais également scientifique du fait de la complexité des déterminants biologiques des territoires forestiers tropicaux.

L'IRD a historiquement conduit de nombreuses études dans les principales régions forestières tropicales et méditerranéennes visant à décrire et comprendre les mécanismes biologiques et socio-économiques régissant l'évolution du couvert forestier *via* des approches multidisciplinaires à l'interface entre biodiversité et santé, végétation et climat, ressources naturelles et sociétés, lui donnant ainsi une expertise scientifique et technique reconnue internationalement. Par ses travaux de recherche, la formation de jeunes chercheurs et de futurs décideurs, la valorisation socio-économique des acquis de la recherche, l'IRD a et doit conserver cette position de leader de la recherche européenne œuvrant pour la sauvegarde de ce patrimoine mondial qui joue un rôle essentiel dans le maintien de vie sur terre.

Parmi les thématiques scientifiques particulièrement développées par l'IRD au cours de ces dernières décennies figure la symbiose mycorhizienne et son rôle dans la productivité et la stabilité des écosystèmes forestiers tropicaux et méditerranéens. Il est maintenant parfaitement admis que la symbiose mycorhizienne joue un rôle majeur dans les processus biologiques régissant la fertilité des sols et l'évolution spatio-temporelle des écosystèmes végétaux terrestres. De par ces fonctions écologiques fondamentales dont dépendent la productivité et la stabilité (résistance et résilience) des écosystèmes, la gestion et la valorisation de cette symbiose fongique revêtent une importance toute particulière dans les régions tropicales et méditerranéennes où, du fait d'une surexploitation des ressources naturelles, la conservation et la valorisation des ressources naturelles sont devenues des priorités nationales. Dans le cadre d'une agriculture durable à faibles apports d'intrants, mais aussi pour améliorer les performances des interventions humaines visant à préserver la biodiversité des écosystèmes végétaux terrestres, il est nécessaire de décrire la structure des communautés de symbiotes fongiques et également leur évolution au sein de l'écosystème afin de maîtriser leur fonctionnement et ainsi optimiser leur impact sur le développement du couvert végétal naturel ou cultivé dans différents contextes d'anthropisation.

Depuis plusieurs décennies, le Laboratoire des symbioses tropicales et méditerranéennes (LSTM) et l'IRD (DSF) ont contribué de manière significative à la

formation de mycorhizologues dont les compétences sont reconnues au niveau national, régional et international. Les collaborations développées entre les différents acteurs de cette problématique scientifique au Sud et au Nord ont permis d'acquérir des connaissances scientifiques sur la diversité des symbiotes fongiques, leurs interactions avec d'autres composantes microbiennes du sol, d'évaluer leur impact sur la croissance des plantes et enfin d'apprécier les conséquences de certaines pratiques agricoles ou sylvicoles sur la gestion du potentiel mycorhizien des sols. Des exemples pertinents de ce type de recherche menée en partenariat sur le continent africain sont présentés dans cet ouvrage afin de démontrer l'excellence et l'originalité des résultats obtenus par l'ensemble de ces équipes, mais également d'identifier des pistes de recherche visant à promouvoir les propriétés de la symbiose mycorhizienne dans les stratégies d'ingénierie écologique et d'intensification écologique requises pour remédier à la perte alarmante de biodiversité enregistrée sur la planète – et plus particulièrement dans les régions tropicales et méditerranéennes – depuis le siècle dernier.

Outre l'aspect scientifique et l'importance de ce type de recherche pour la sauvegarde du patrimoine naturel en Afrique, ce document témoigne de l'exemplarité de ces partenariats construits patiemment par des chercheurs du Sud et du Nord sur plusieurs générations en respectant les fondements des métiers de la recherche, à savoir l'excellence scientifique, la formation et le transfert de connaissances, et l'innovation qui font de la recherche un moteur essentiel du développement de l'ensemble de ces pays.

Dr Bernard Dreyfus

Directeur général délégué à la science

Cet ouvrage relate de nombreux résultats de recherche menés sur le rôle de la symbiose mycorhizienne dans la stabilité et la productivité d'agro- et écosystèmes des milieux tropicaux, méditerranéens et insulaires. Ce document présente une originalité indéniable dans le paysage scientifique dédié à la conservation et la valorisation des ressources naturelles et cultivées. Tout d'abord, il est rédigé en français et trouvera assurément un accueil très favorable de la part de la communauté scientifique francophone intéressée par ce sujet. Il témoigne également du dynamisme des collaborations entre les différents groupes impliqués, garant d'une formation d'excellence de jeunes chercheurs par et pour la recherche, et d'une production de connaissances de qualité valorisée par de nombreux articles scientifiques publiés dans des revues internationales. Enfin, il met en exergue les potentialités de cette discipline en termes de valorisation des acquis de la recherche pour lutter contre les fléaux sociaux et écologiques dont la planète est victime à l'heure actuelle et des actions mises en œuvre pour y remédier, à savoir : la lutte contre la pauvreté et l'ensemble des propositions et engagements visant à assurer une sécurité alimentaire pour les populations, en particulier celles des pays en voie de développement.

La réalisation de cet ouvrage, dans lequel l'Université Cadi Ayyad de Marrakech s'est engagée de manière significative à travers les activités développées par le Laboratoire Écologie et Environnement, montre la volonté de notre établissement de promouvoir l'essor de cette discipline scientifique liée à la maîtrise de la symbiose mycorhizienne en Afrique du Nord pour améliorer la productivité des terres dans le cadre d'une agriculture à faibles apports d'intrants. Cet objectif sera atteint en favorisant la formation de jeunes chercheurs, l'acquisition de connaissances scientifiques sur ce sujet mais aussi une valorisation de ces acquis pour la sphère socio-économique de la région. Ces mots clés sont à la base des orientations pour les années à venir de l'Université Cadi Ayyad de Marrakech et cet ouvrage en est un vibrant exemple

Pr Abdellatif MIRAOUI

Président de l'Université Cadi Ayyad

Président de l'Agence Universitaire Francophone

AVANT-PROPOS

La désertification consécutive à la conjonction de différents facteurs environnementaux (aléas climatiques, périodes de sécheresse accentuées, etc.) et une pression anthropique exacerbée sur les ressources terrestres, affectent plus de 2 milliards de personnes sur la planète et cette situation dramatique risque de s'aggraver sous les effets conjugués d'une gestion anarchique des ressources naturelles terrestres et dans le contexte des scénarii actuels de changements climatiques.

Face à ces tendances et la nécessité d'identifier différentes stratégies pour permettre à ces écosystèmes de recouvrer leurs caractéristiques originelles ou tout du moins, leur permettre d'assurer les services attendus en termes de sécurité alimentaire, mais aussi de services environnementaux (régulation des cycles de l'eau, séquestration de carbone, etc.), la gestion durable des terres (GDT) représente un potentiel significatif pour améliorer les modes de vie locaux, pour assurer la sécurité alimentaire des populations, pour restaurer les écosystèmes naturels et inverser cette évolution négative de l'environnement.

Les bénéfices attendus de la GDT deviendront réalité sous réserve de la mise en œuvre d'une stratégie basée sur trois principes : (i) encourager la recherche afin d'améliorer nos connaissances sur les facteurs régulant l'évolution du milieu à réhabiliter ou à conserver, (ii) partager et diffuser les acquis de la recherche et (iii) sensibiliser les populations locales des bénéfices potentiels que l'adoption de cette pratique pourrait générer.

Parmi tous les domaines de recherche inscrits dans la problématique scientifique et technique d'amélioration de la fertilité des sols et d'augmentation de la productivité et de la stabilité du couvert végétal (cultivé ou naturel), les modèles biologiques basés sur la valorisation des symbioses plante/microorganismes (symbiose fixatrice d'azote et/ou symbiose mycorhizienne) ont fait l'objet de nombreux travaux et les résultats obtenus montrent de manière indéniable le rôle majeur que pourrait jouer ce processus symbiotique pour assurer le succès d'une gestion durable des sols. Paradoxalement, force est de constater que cet « outil biologique » est reconnu par la communauté scientifique, mais rarement appliqué par les Hommes du métier et plus particulièrement ceux des pays du Sud. Une des principales raisons susceptible d'expliquer cette carence en matière de transfert technologique est le manque de diffusion des connaissances vis-à-vis des décideurs impliqués dans la mise en place des diverses politiques sectorielles concernées.

Outre l'aspect institutionnel avec la démonstration des liens historiques et solides associant différentes équipes de recherche localisées dans des pays particulièrement affectés par l'usage

abusif des ressources naturelles et dont le modèle d'étude est « la symbiose mycorhizienne », cet ouvrage a pour vocation principale de présenter un panorama de la diversité des écosystèmes étudiés et des techniques utilisées (ex. : outils statistiques) dans les travaux menés au sein du réseau SYMETROP sur la symbiose mycorhizienne. Il a pour ambition de décrire différentes approches susceptibles d'être développées pour réhabiliter un écosystème dans un endroit donné et pour une raison connue (ex. : pollution, baisse de la fertilité des sols, etc.). Ces écosystèmes sont situés dans les milieu méditerranéen (Algérie, Maroc), tropical (Burkina Faso, Cameroun, Sénégal) et insulaires (Madagascar, Nouvelle-Calédonie).

INTRODUCTION

GENERALITES SUR LA SYMBIOSE MYCORHIZIENNE

Par Duponnois R.¹, Sanon A.^{1,3}, Hafidi M.², Ndoye I.^{3,4}, Bâ A. M.³

¹ IRD. UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/AGRO-M/UM2. Laboratoire des symbioses tropicales et méditerranéennes (LSTM). Campus international de Baillarguet, Montpellier. France.

² Laboratoire Écologie & Environnement (Unité associée au CNRST, URAC 32). Faculté des sciences Semlalia. Université Cadi Ayyad. Marrakech. Maroc.

³ IRD. Laboratoire commun de microbiologie IRD/ISRA/UCAD. Centre de recherche de Bel Air. BP 1386. Dakar. Sénégal.

⁴ Université Cheikh Anta Diop. Département de Biologie végétale. Dakar. Sénégal.

1. INTRODUCTION

Le processus de désertification est défini par la Convention des Nations unies sur la lutte contre la désertification (CNULD) aux échelles régionales et locales comme « la dégradation des terres dans les zones arides, semi-arides et subhumides sèches par suite de divers facteurs, parmi lesquels les variations climatiques et les activités humaines ».

La désertification traduit le déclin irréversible ou la destruction du potentiel biologique des terres et de leur capacité à supporter et à nourrir les populations. Ce processus met en avant la nécessité d'accroître le niveau de vie des sociétés les plus vulnérables en pérennisant le support de leur activité, la fertilité des terres, et en trouvant diverses alternatives qui soulagent la pression sur les terres. La désertification est indissociable de la question du développement durable des zones sèches. Comme le soulignent les annexes de la Convention, cette notion s'applique sur tous les continents, principalement vis-à-vis des zones sèches dans lesquelles aridité et sécheresse sont les principales contraintes.

Face à ce constat et afin d'identifier les axes à développer pour permettre à ces écosystèmes de rendre les services attendus et satisfaire les besoins des populations locales, de nombreux travaux de recherche ont été entrepris pour optimiser la croissance des plantes dans des environnements ingrats et maîtriser certaines composantes du sol susceptibles de contribuer à la réhabilitation de ces écosystèmes dégradés. Parmi les composantes telluriques particulièrement impliquées dans les processus biologiques régissant le fonctionnement des principaux cycles biogéochimiques et, en conséquence, la fertilité des sols figurent les champignons mycorrhiziens. Ces microorganismes ubiquistes évoluent en association symbiotique stricte avec diverses plantes hôtes et optimisent le développement du végétal *via* deux voies principales à savoir (i) une stimulation de la nutrition minérale (plus particulièrement pour le phosphore considéré comme une des principales carences minérales dans les sols méditerranéens et tropicaux) et (ii) une meilleure tolérance ou résistance de la plante vis-à-vis de stress biotiques (impacts de microorganismes pathogènes fongiques, bactériens ou de nématodes phytoparasites) et/ou abiotiques (stress salin, hydrique, métaux lourds). Les interactions plante/symbiote fongique ont généralement été abordées de manière bilatérale en évaluant l'impact d'une souche fongique préalablement sélectionnée pour un paramètre donné (ex. : impact sur la croissance de la plante, impact sur la tolérance ou la résistance d'une plante à un agent pathogène, etc.). Plus récemment, divers facteurs comme la

structure de la communauté du cortège mycorhizien associé une plante, les interactions créées lors de l'établissement de la symbiose mycorhizienne avec la microflore saprophyte du sol, le rôle des champignons mycorhiziens dans l'évolution spatio-temporelle, la productivité, la stabilité, la capacité de résilience écosystémique, etc., ont été pris en compte et particulièrement développés *via* de nombreux travaux scientifiques. Il est maintenant parfaitement admis que la symbiose mycorhizienne constitue un élément clé dans le fonctionnement durable des écosystèmes végétaux terrestres et doit être considérée à juste titre dans toutes opérations de réhabilitation durable d'écosystèmes dégradés.

Ce chapitre vise à présenter le contexte dans lequel évolue cette symbiose fongique et à synthétiser les connaissances scientifiques acquises sur ce modèle biologique afin d'apprécier les principaux intérêts attendus de la maîtrise de ce processus symbiotique pour conserver et valoriser la biodiversité végétale naturelle terrestre.

2. LE *CONTINUUM* SOL – PLANTES – MICROORGANISMES

2.1. LE SOL

Le sol est considéré comme la couche superficielle de l'écorce terrestre située à l'interface entre la lithosphère et l'atmosphère. Il est la conséquence de la transformation de la roche mère enrichie par des apports organiques et caractérisée par la présence de vie. Il est un support et une ressource de base pour la plupart des activités humaines.

À une échelle microscopique, le sol constitue un environnement où interagissent directement ou indirectement de nombreux microorganismes, entre eux mais aussi avec les composantes abiotiques du sol (matière organique, matrice minérale, etc.) et avec les racines des plantes (Albino et Andrade, 2006). Il constitue ainsi un **réacteur biologique** très actif où se développent des réactions biochimiques abondantes et variées.

La production primaire des plantes, *via* le *turnover* de la matière organique sénescente et les rhizodépôts d'exsudats, constitue une des principales voies par lesquelles le C atmosphérique alimente le cycle du C dans le sol (Carpenter-Boggs *et al.*, 2000 ; Six *et al.*, 2006). De nombreux autres composés chimiques et certains xénobiotiques se retrouvent

également dans les sols et les microorganismes sont fortement impliqués dans leur évolution (Corgié *et al.*, 2004 ; Corgié *et al.*, 2006). Ces mécanismes d'origine biotique et abiotique permettent un retour des éléments chimiques dans le pool de nutriments dissous dans la solution de sol qui sont alors mobilisables par la plante pour assurer ses besoins.

La structure des communautés microbiennes associées aux racines des plantes est fortement dépendante de la quantité et de la qualité des exsudats racinaires. La composition de ces exsudats racinaires est principalement déterminée par les caractéristiques du couvert végétal en présence : composition spécifique, âge de la formation, etc. (Grayston et Campbell, 1996 ; Coleman *et al.*, 2000 ; Gransee et Wittenmayer, 2000) et des conditions environnementales (Grayston et Campbell, 1996). L'exsudation racinaire représente la diffusion passive de solutés racinaires vers la solution du sol. Ces exsudats sont constitués majoritairement de sucres, d'acides carboxyliques et d'acides aminés et sont plus particulièrement présents en abondance au niveau des extrémités racinaires (Jones, 1998).

La **rhizosphère** a été définie par Hiltner (1904) comme le volume de sol évoluant sous influence des racines et caractérisé par une intense activité microbienne résultant de la diffusion ou de l'exsudation de composés organiques au niveau racinaire (Curl et Truelove, 1986 ; Grayston *et al.*, 1997). Cet 'effet rhizosphère' est un processus dynamique résultant d'interactions entre la plante hôte, le sol, les microorganismes telluriques et différentes caractéristiques du milieu (climat, pratiques culturales, ...) attribuant à ce compartiment rhizosphérique des caractéristiques physico-chimiques et biologiques particulières (Yang et Crowley, 2000 ; Wieland *et al.*, 2001).

Les interactions entre la plante hôte et les microorganismes peuvent être soit facilitatrices, soit antagonistes pour un indicateur donné (ex. : croissance de la plante) (Souchie *et al.*, 2006 ; Stinson *et al.*, 2006). Ces deux catégories d'interactions se manifestent également entre les microorganismes telluriques (Duponnois et Plenchette, 2003 ; Duponnois, 2006).

Parmi les groupes fonctionnels composant la microflore tellurique, certains jouent un rôle majeur dans l'amélioration de la croissance et de la survie des plantes en augmentant notamment la biodisponibilité d'éléments minéraux qui constitue fréquemment la principale contrainte au bon développement du végétal. Dans cette perspective, de nombreux microorganismes telluriques ont été considérés comme des **biofertilisants potentiels** dans le cadre d'une agriculture durable à faible apport d'intrants (Rodriguez et Fraga, 1999 ; Johansson *et al.*, 2004 ; Matiru et Dakora, 2004 ; Douds *et al.*, 2005 ; Gentili et Jumpponen,

2006). Il s'agit notamment des champignons mycorhiziens qui améliorent la nutrition hydrique et minérale (Duponnois *et al.*, 2005 ; Lambers *et al.*, 2008) et la protection phytosanitaire (Leyval et Joner, 2001 ; Joner et Leyval, 2003) des plantes ; des bactéries fixatrices d'azote qui sont capables de piéger l'azote atmosphérique et de le rendre accessible aux plantes (Samba *et al.*, 2002 ; Matiru et Dakora, 2004). Des processus de mobilisation d'éléments nutritifs à partir de formes complexes de phosphates organiques et inorganiques ont également été mis en évidence chez ces microorganismes (Chabot *et al.*, 1996 ; Alikhani *et al.*, 2006). De nombreuses autres bactéries (notamment les bactéries des genres *Pseudomonas*, *Bacillus*,...) peuvent également solubiliser ces phosphates (Harris *et al.*, 2006 ; Souchie *et al.*, 2006) et/ou produire des hormones de croissance, des antibiotiques, etc. (Hamdan *et al.*, 1991 ; Gentili et Jumpponen, 2006). Pour cet effet positif sur la croissance des plantes, ces bactéries sont nommées Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR).

En revanche, il existe des microorganismes phytopathogènes dans le sol et susceptibles de réduire fortement la survie et le développement des végétaux (Miller *et al.*, 1997 ; Nyvall, 1999).

2.2. LA SYMBIOSE MYCORHIZIENNE

2.2.1. LES COMPOSANTES DE LA SYMBIOSE MYCORHIZIENNE

Les mycorhizes résultent d'une union durable basée sur des échanges réciproques entre les racines des végétaux et certains champignons du sol. Elles constituent des composantes essentielles dans la relation sol-plantes-microorganismes. En effet, certaines espèces végétales ne peuvent croître normalement sans s'associer à un partenaire fongique (Janos, 1980 ; Gobat *et al.*, 2003). La diversité végétale est entre 220 000 et 420 000 espèces de plantes terrestres (Scotland *et al.*, 2003). D'après l'examen de plus de 10 000 espèces, en majorité des angiospermes, des structures mycorhiziennes ont été observées chez 86 % d'entre elles (Brundrett, 2009 ; Tedersoo *et al.*, 2010).

Le nouvel organe mixte résulte de l'association intime de la plante hôte et du champignon mycorhizien et chaque partenaire optimise son développement grâce à cette symbiose. Les racines de plus de 80 % des espèces de plantes vasculaires présentent ou sont susceptibles de présenter des structures mycorhiziennes au sein de leur système racinaire. La présence de

mycorhizes est donc un phénomène général chez les plantes à l'exception de quelques familles comme les *Brassicaceae*, les *Caryophyllaceae*, les *Cyperaceae*, les *Juncaceae*, les *Chenopodiaceae* et les *Amaranthaceae* qui présentent très peu d'associations mycorhiziennes (Strullu, 1991 ; Norman *et al.*, 1995). Leur impact est primordial dans tout ou partie du cycle de la plante, surtout, mais non exclusivement, pour la nutrition. Le champignon profite des ressources carbonées synthétisées par la plante *via* la photosynthèse et qui sont indispensables à son métabolisme et à sa fructification. En retour, les hyphes fongiques améliorent la nutrition hydrique et minérale de la plante hôte grâce à l'augmentation du volume de sol prospecté et à la production de divers enzymes extracellulaires (protéinases, phosphatases, etc.) susceptibles de mobiliser des éléments nutritifs à partir de composés complexes du sol (Manjunath *et al.*, 1989 ; Leyval et Berthelin, 1993 ; Gobat *et al.*, 2003).

2.2.2. LES PRINCIPAUX TYPES DE SYMBIOSES

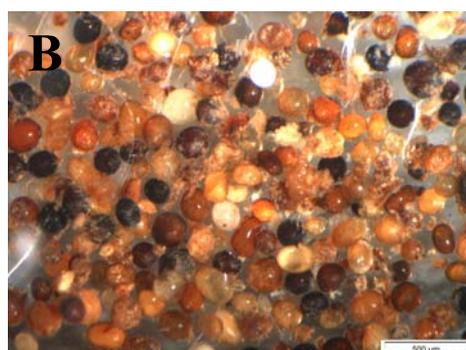
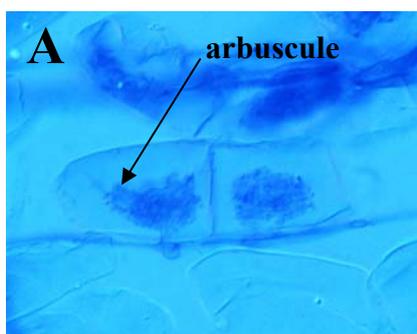
D'après la morphologie de l'organe résultant de l'association plante – symbiote fongique, différents types de mycorhizes sont distingués. Les mycorhizes à arbuscules, les mycorhizes orchidoïdes et les ectomycorhizes sont les plus fréquentes et les plus étudiées. Les mycorhizes à arbuscules sont les plus primitives et les plus répandues dans les écosystèmes naturels et cultivés (Tedersoo *et al.*, 2010). Les mycorhizes à arbuscules seraient à l'origine des autres types de symbiose mycorhizienne et coïncideraient avec celle des végétaux terrestres il y a 450 millions d'années (Wang et Qiu, 2006).

- **LES ECTOMYCORHIZES** (du grec *ektos* : à l'extérieur) où les champignons se développent essentiellement autour de la racine, en formant un manchon mycélien (**le manteau**) à partir duquel se développent des hyphes qui s'insèrent entre les cellules corticales de la racine (**réseau de Hartig**). Ce type d'association est principalement représenté chez les essences forestières des régions tempérées, méditerranéennes et boréales, mais il a été également décrit chez quelques espèces tropicales de la famille des *Dipterocarpaceae*, *Euphorbiaceae*, *Cesalpiniaceae*, *Myrtaceae* et *Fagaceae*). Les partenaires fongiques appartiennent aux Basidiomycètes (*Boletus*, *Russula*, *Laccaria*...), mais aussi aux Ascomycètes (*Tuber*, *Elaphomyces*...).

- **LES ENDOMYCORHIZES** (du grec endon : à l'intérieur) sont caractérisées par l'absence de manchon mycélien externe et par la pénétration des hyphes fongiques dans les cellules corticales. On rencontre :
 - **LES ENDOMYCORHIZES DES ORCHIDEES** formées par des Basidiomycètes et **LES ENDOMYCORHIZES DES ERICACEES** associées aux Ascomycètes (les *Pezizaceae*). Dans ces deux cas, le mycélium forme des pelotons à l'intérieur des cellules du parenchyme cortical.
 - **LES ENDOMYCORHIZES DES CISTACEES** où les pénétrations endocellulaires ont une forme coralloïde. Les champignons symbiotiques impliqués appartiennent aux Ascomycètes hypogés (les *Terfeziaceae*).
 - **LES MYCORHIZES A VESICULES ET ARBUSCULES** formées par des champignons inférieurs et qui concernent environ 80 % des espèces végétales (Barea et Honrubia, 1993). Ces associations doivent leur nom aux structures fongiques résultant des hyphes intracellulaires qui se ramifient intensément à l'intérieur des cellules du cortex racinaire pour former des structures appelées arbuscules. Ces hyphes peuvent former des vésicules (Bonfante-Fasolo, 1984).
- **LES ECTENDOMYCORHIZES** caractérisées à la fois par la présence du manteau mycélien et le développement d'hyphes inter et intracellulaires. Elles se rencontrent chez les Arbutacées, les Monotropacées et sont formées par des Basidiomycètes (*Cortinarius*, *Boletus...*) (Mikola, 1948).

2.2.3. LES MYCORHIZES A VESICULES ET ARBUSCULES (fig. 1)

Figure 1. Mycorhize à arbuscules. A : arbuscules. B : spores (Photo Yves Prin)



2.2.3.1. HISTORIQUE

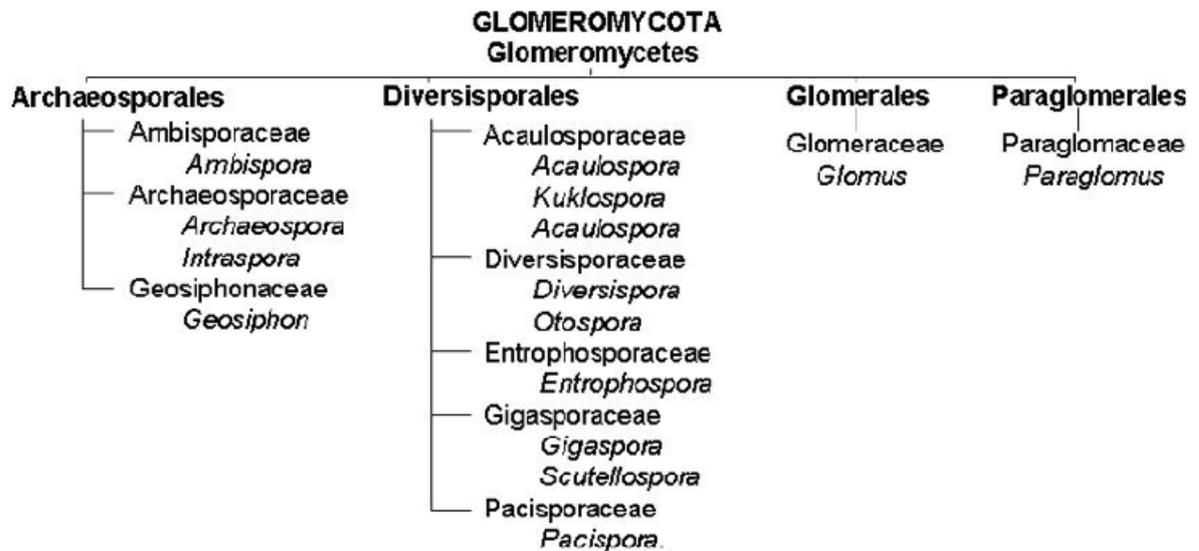
Selon Morton *et al.* (1995), ce type de symbiose est apparu il y a 250 millions d'années. La première classification des champignons endomycorhizogènes a été proposée par Gerdemann et Trappe (1974) basée essentiellement sur les phénotypes des spores. Cinq genres ont été distingués : *Endogone*, *Glomus*, *Sclerosystis*, *Acaulospora* et *Gigaspora*. Ensuite, une révision de la famille des endogonacées a été réalisée par ces mêmes auteurs qui ont caractérisé 44 espèces au sein de 7 genres. Parmi elles, beaucoup de taxons ont été redéfinis, 2 genres (*Acaulospora*, *Gigaspora*) et 12 nouvelles espèces ont été décrits.

En 1979, Ames et Schneider mettaient en évidence le nouveau genre *Entrophospora* dans la famille des Endogonaceae, avec *E. infrequens*, espèce qui était préalablement classée dans le genre *Glomus* sous le nom de *G. infrequens* (Hall, 1977). Walker et Sanders (1986) ont distingué deux genres, *Gigaspora* et *Scutellospora*. Enfin, en 1990, Morton et Benny ont classé les champignons symbiotiques appartenant à l'ordre des Glomales dans deux sous-ordres, Glomineae et Gigasporineae. Redecker *et al.* (2000) se sont basés sur des données phénotypiques et moléculaires pour placer *Sclerocystis coremioides* dans le genre *Glomus*, éliminant ainsi le genre *Sclerocystis*. Morton et Redecker (2001) en croisant des données morphologiques, moléculaires et biochimiques, ont décrit deux autres familles, Archaeosporaceae et Paraglomaceae. La première famille héberge le genre *Archaeospora*, avec trois espèces et la seconde, le genre *Paraglomus*, avec aussi deux espèces.

2.2.3.2. TAXONOMIE ACTUELLE

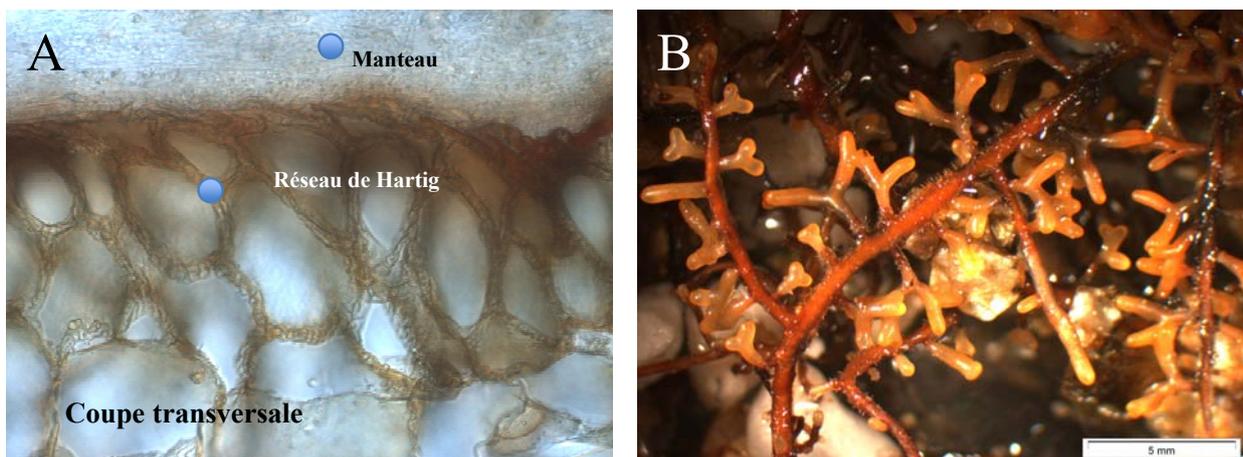
La systématique des champignons mycorhiziens à arbuscules reposait essentiellement sur des critères morphologiques des spores (Morton et Benny, 1990), mais cette classification restait limitée puisqu'elle ne permettait pas de décrire finement cette diversité fongique (Giovannetti et Gianinazzi-Pearson, 1994). L'impossibilité de multiplier ces symbiotes fongiques en l'absence de leur partenaire végétal représente une difficulté supplémentaire pour établir une classification fiable de ces champignons. Grâce à l'avènement de techniques de biologie moléculaire, la classification des champignons mycorhiziens a été significativement revue. Ces symbiotes fongiques sont actuellement classés dans le phylum des Glomeromycota (Schüßler *et al.*, 2001) avec quatre ordres, dix familles et approximativement 200 espèces décrites (Raab et Redecker, 2006) (fig. 2).

Figure 2. Classification des champignons mycorhizogènes à arbuscule. Selon Schüßler *et al.* (2001) avec corrections de Oehl et Sieverding (2004), Walker et Schüßler (2004), Sieverding et Oehl (2006), Spain *et al.* (2006), Walker *et al.* (2007a, b) et Palenzuela *et al.* (2008).



2.2.4. LES ECTOMYCORHIZES (fig. 3)

Figure 3. Ectomycorhize. A : coupe transversale. B : morphotype d'ectomycorhize (Photo Yves Prin).



Les ectomycorhizes sont détectées chez 2 % des espèces, en majorité des arbres d'intérêt et sont dominantes dans les forêts boréales, tempérées (ex. Pinaceae, Fagaceae) et tropicales (ex. Caesalpinioideae, Dipterocarpaceae). La présence des ectomycorhizes chez les Sarcolaenaceae, une famille de plantes ectomycorhizogènes proche des Dipterocarpaceae et

native de Madagascar permet d'estimer l'origine de la symbiose ectomycorhizienne chez les Dipterocarpaceae à l'époque du supercontinent Gondwana, et le statut ectomycorhizien de *Pakaraimaea dipterocarpacea* (Dipterocarpaceae ancestrale) évalue cette origine à environ 135 millions d'années (Dayanandan *et al.*, 1999 ; Ducouso *et al.*, 2004 ; Moyerso, 2006).

2.2.4.1. LE PARTENAIRE PLANTES

Il est généralement estimé que 6 000 espèces de plantes terrestres présentent un statut ectotrophe (Taylor et Alexander, 2005 ; Tedersoo *et al.*, 2010). Les espèces de plantes ectotrophes sont des gymnospermes et surtout des angiospermes. Les arbres sont majoritairement impliqués dans cette symbiose qui intéresse également des arbustes, des lianes et des herbacées. Les arbres sont représentés principalement dans les familles ou sous-familles des Betulaceae, Caesalpinioideae, Dipterocarpaceae, Fagaceae, Myrtaceae, Papilionoideae et Pinaceae. En général, les arbres ectotrophes dominent la strate arborée des forêts boréales et tempérées de l'hémisphère nord, des forêts tempérées et subtropicales de l'hémisphère sud, des forêts à Dipterocarpaceae en Asie du Sud-Est et à Caesalpinioideae (tribu des Amherstieae) en Afrique tropicale.

Les arbres ectotrophes sont fréquemment associés avec des symbiotes endomycorhizogènes et/ou plus rarement avec des symbiotes formant des ectendomycorhizes, en particulier chez les Ericaceae. Par exemple, chez le genre *Eucalyptus*, *Helianthemum* et *Quercus*, les mycorhizes à arbuscules sont dominantes sur les jeunes semis alors que les ectomycorhizes sont principalement détectées chez les arbres adultes (Dos Santos *et al.*, 2001 ; Egerton-Warburton et Allen, 2001).

2.2.4.2. LE PARTENAIRE FONGIQUE

La diversité des champignons ectomycorhiziens est estimée entre 20 000 à 25 000 espèces (0,5 à 0,7 % de la diversité fongique totale). Ces symbiotes fongiques appartiennent majoritairement à des Basidiomycètes et Ascomycètes et plus rarement à des

Gloméromycètes (Taylor et Alexander, 2005 ; Tedersoo *et al.*, 2010). La diversité des champignons ectomycorhiziens serait moins importante dans les régions tropicales que dans les régions tempérées (Tedersoo et Nara, 2010). Toutefois, ce constat serait sous-estimé, car les enquêtes restent encore relativement rares et de nombreuses espèces fongiques n'ont pas encore été identifiées dans les régions tropicales (Rivière *et al.*, 2007 ; Peay *et al.*, 2009).

Les Ascomycètes sont fréquemment observés chez les champignons hypogés, au contraire des Basidiomycètes qui sont épigés. Certains champignons épigés (ex. russules, chanterelles, bolets, agarics) ou hypogés (ex. truffes) sont comestibles. Des espèces fongiques telles que *Laccaria laccata*, *Thelephora terrestris*, *Pisolithus tinctorius*, etc. sont largement présentes dans les écosystèmes forestiers des régions tempérées et tropicales.

2.2.5. EFFET « MYCORHIZOSPHERE »

La symbiose ectomycorhizienne a généralement été étudiée suivant une approche binomiale en prenant principalement en compte les interactions trophiques et le dialogue moléculaire entre les deux partenaires de l'association symbiotique. Plus récemment, ce phénomène symbiotique a été élargi à son environnement et il a été démontré que le développement de la symbiose mycorhizienne et plus particulièrement celui du mycélium extramatriciel, influençait significativement la stabilité structurale des sols (Caravaca *et al.*, 2002 ; Kisa *et al.*, 2007). L'établissement de la symbiose mycorhizienne matérialise de nouveaux compartiments biologiques dans la rhizosphère. En modifiant la physiologie de la plante et en conséquence la qualité et quantité des exsudats racinaires, l'établissement de la symbiose mycorhizienne induit des modifications significatives dans la structure des communautés bactériennes au voisinage de ces racines mycorhizes. Le terme « **mycorhizosphère** » a été proposé pour caractériser ce volume de sol sous influence des mycorhizes (Rambelli, 1973 ; Linderman, 1988). Des études ont montré qu'environ 10 à 20 % du carbone fixé au niveau du végétal sont transférés aux symbiotes fongiques, représentant ainsi une source significative d'énergie dans ce compartiment. Cette source de carbone jouera un rôle crucial dans la dynamique de nombreux microorganismes associés à cette mycorhizosphère (Johnson *et al.*, 2002). Par ailleurs, le mycélium extramatriciel peut s'étendre jusqu'à plusieurs centimètres de la racine (Rhodes et Gerdemann, 1975). Outre leur rôle dans le prélèvement des nutriments,

ces hyphes favorisent la formation d'agrégats dans le sol, notamment par leur exsudation. De par leurs activités physiologiques, ces hyphes vont conditionner l'apparition d'un compartiment microbien présentant des caractéristiques spécifiques (diversité génétique et fonctionnelle, abondance) nommé « **mycosphère** » ou « **hyphosphère** » (Rambelli, 1973 ; Linderman, 1988).

2.2.6. ROLE ECOLOGIQUE DES CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS DANS LES AGROSYSTEMES

La symbiose mycorhizienne favorise le prélèvement et le transport vers la plante des éléments minéraux nutritifs très peu mobiles dans le sol comme le phosphore (Duponnois *et al.*, 2005 ; Lambers *et al.*, 2008). En fonction du pH du sol, cet élément se retrouve en grande partie immobilisé par le fer, l'aluminium ou le calcium sous des formes difficilement accessibles par les plantes (Hinsinger, 2001). L'exploration du volume du sol par le mycélium extramatriciel et sa capacité à mobiliser des éléments nutritifs à partir des minéraux primaires favorisent la nutrition phosphatée des plantes (Manjunath *et al.*, 1989 ; Landeweert *et al.*, 2001). Cette amélioration de la nutrition minérale des plantes concerne également d'autres macroéléments (N, K) et oligoéléments (B, Br, Cl, Cu, Cr, Cs, Co, Fe, Mo, Mn, Ni, Si, Zn) (Duponnois et Bâ, 1999 ; He et Nara, 2007). Ces associations mycorhiziennes jouent également un rôle significatif dans la décomposition et la minéralisation de la matière organique tellurique et mobilisent les nutriments au bénéfice de la plante hôte (Gobat *et al.*, 2003 ; Lambers *et al.*, 2008).

L'amélioration de la nutrition hydrique des plantes grâce à la symbiose mycorhizienne a également été déterminée et cet effet « mycorhize » est attribué à une meilleure utilisation de l'eau par la plante en raison du volume de sol exploré par les hyphes mycéliens (Garbaye, 2000 ; Auge, 2001).

De nombreux résultats de recherche attribuent à la symbiose mycorhizienne un effet bioprotecteur *via* une réduction de l'effet pathogène de certains agents phytoparasites (Duponnois et Cadet, 1994 ; St-Arnaud *et al.*, 1997) et une meilleure tolérance des plantes mycorhizées aux stress induits par les éléments traces métalliques ou par les hydrocarbures aromatiques polycycliques (Leyval et Joner, 2001 ; Joner et Leyval, 2003). Parallèlement, une nette amélioration de la structure du sol a souvent été observée en présence des mycorhizes. Le vaste réseau d'hyphes extramatriciels et leur capacité à produire des molécules agrégeantes

comme la glycoprotéine nommée glomaline, dans le cas de la symbiose mycorhizienne à arbuscules, permet une meilleure stabilisation du sol par la formation d'agrégats beaucoup plus stables (Rillig et Steinberg, 2002 ; Lovelock *et al.*, 2004 ; Rillig et Mummey, 2006).

Les associations mycorhiziennes jouent un rôle clef dans le fonctionnement et la stabilité des écosystèmes terrestres en intervenant fortement dans les mécanismes régissant l'évolution spatio-temporelle des écosystèmes. En effet, la présence de plantes supportant déjà des structures mycorhiziennes a été décrite comme un moyen très efficace pour assurer la régénération de l'espèce végétale en facilitant notamment l'infection des jeunes plants et en conséquence leur survie, dans des conditions du milieu souvent hostiles (Simard et Durall, 2004). Les champignons mycorhiziens favorisent la coexistence entre plusieurs espèces végétales, améliorant ainsi la productivité et la biodiversité végétales dans ces écosystèmes (van der Heijden *et al.*, 1998 a, b ; Gobat *et al.*, 2003 ; Hart *et al.*, 2003 ; Silvertown, 2004 ; Sanon *et al.*, 2006 ; Kisa *et al.*, 2007). Certains auteurs ont montré qu'il existait un transfert de métabolites *via* des ponts mycéliens créé par le réseau d'hyphes connectant plusieurs plantes de la même et/ou d'espèces différentes (Robinson et Fitter, 1999 ; Gobat *et al.*, 2003 ; Yao *et al.*, 2003 ; Simard et Durall, 2004). Par ailleurs, les associations mycorhiziennes sont fortement impliquées dans la dynamique des successions végétales. En début de succession, marquées par une pauvreté du sol en propagules mycorhiziennes, ce sont les espèces végétales qui dépendent peu de cette symbiose qui s'installeront. Par la suite, avec l'enrichissement du sol en structures mycorhiziennes et son appauvrissement en éléments nutritifs, les espèces présentant une mycotrophie plus importante leur succéderont avec une forte corrélation positive entre les biodiversités fongique et végétale (Reeves *et al.*, 1979 ; Janos, 1980 ; van der Heijden *et al.*, 1998 a ; Hart *et al.*, 2003).

2.2.7. INTERACTIONS BIOLOGIQUES DANS LA RHIZOSPHERE

2.2.7.1. CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS A ARBUSCULES ET CHAMPIGNONS ECTOMYCORHIZIENS

Certaines espèces végétales ont la propriété de contracter des relations symbiotiques avec les deux types de symbioses fongiques (champignons mycorhiziens à arbuscules et ectomycorhiziens). Il s'agit notamment des genres *Acacia* d'origine australienne, *Casuarina*, *Eucalyptus*, *Populus* et *Quercus* (Brundrett *et al.*, 1996 ; Chen *et al.*, 2000 ; Founoune *et al.*, 2001 ; He *et al.*, 2003 ; Ramanankierana *et al.*, 2007).

Lors de l'établissement du cortège mycorhizien, les champignons mycorhiziens à arbuscules s'installent précocement et sont suivis par les symbiotes ectomycorhiziens (Selosse *et al.*, 2006). Ducouso *et al.* (1991) ont montré que la double inoculation chez *Acacia holosericea* réduisait de 39 % le taux d'ectomycorhization par *Pisolithus* sp. en présence de *Glomus mosseae*. Chen *et al.* (2000) ont, au contraire, observé une augmentation du taux d'ectomycorhization chez *Eucalyptus globulus* et *E. urophylla* inoculés par un champignon ectomycorhizien du genre *Laccaria* en présence des champignons mycorhiziens à arbuscules *Glomus invermaium*, *Acaulospora laevis* ou *Scutellospora calospora*. Founoune *et al.* (2001) ont montré que la double inoculation améliorait le développement de *A. holosericea*, comparée à la croissance des plants inoculés par l'un ou l'autre des symbiotes. Michelsen *et al.* (1998) ont conclu que les champignons mycorhiziens à arbuscules et ectomycorhiziens prospectaient des pools distincts de nutriments du sol, suggérant ainsi une exploration et un prélèvement plus performants des ressources par la symbiose tripartite (plante, champignons endo- et ectomycorhizien).

2.2.7.2. CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS ET COMMUNAUTES BACTERIENNES

En affectant qualitativement et quantitativement l'exsudation racinaire et en induisant l'effet « mycorhizosphère », la compétition pour les nutriments entre les différents protagonistes de la rhizosphère (Ravnskov *et al.*, 1999), l'exsudation par le symbiote fongique de composés inhibiteurs ou stimulateurs pour certains microorganismes telluriques (Ames *et al.*, 1984), et en agissant sur la structure du sol (Andrade *et al.*, 1998), les champignons mycorhiziens induisent une pression sélective sur certains agents microbiens susceptibles de favoriser la croissance de la plante créant ainsi un complexe trophique associant la plante hôte, les symbiotes fongiques et certaines composantes de la microflore tellurique.

En retour, certaines bactéries du sol peuvent agir sur la relation plante-champignons mycorhiziens notamment au niveau de (i) la réceptivité de la racine (Meyer et Linderman, 1986), (ii) la reconnaissance entre la racine et le champignon (Garbaye et Duponnois, 1992), (iii) la croissance saprophytique du champignon (Budi *et al.*, 1999 ; Duponnois et Plenchette, 2003) et (iv) la germination des propagules fongiques (Mosse, 1959 ; Ross, 1980 ; Budi *et al.*, 1999).

2.2.7.3. CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS ET BACTERIES FIXATRICES D'AZOTE

Au niveau de la symbiose fixatrice d'azote, la plante parvient, grâce aux bactéries, à convertir l'azote diatomique en une forme assimilable et en retour les bactéries reçoivent de la plante les photosynthétats nécessaires à leur développement (Dommergues *et al.*, 1999). Dans les zones tropicale et méditerranéenne, les carences en phosphore dans les sols constituent le principal facteur limitant l'établissement de la symbiose fixatrice d'azote (Badji *et al.*, 1988). La symbiose mycorhizienne, connue pour sa capacité à améliorer la nutrition phosphatée de la plante, assure ainsi un apport de phosphore nécessaire au fonctionnement de la symbiose fixatrice d'azote (Badji *et al.*, 1988). L'augmentation de l'absorption du phosphore par le champignon mycorhizien améliore également le fonctionnement de la nitrogénase, enzyme active dans la nodulation, permettant ainsi une fixation d'azote plus importante. En contrepartie, cette absorption accrue d'azote permet un meilleur développement du champignon *via* une meilleure croissance racinaire.

Cornet et Diem (1982) ont montré que la double inoculation *Glomus mosseae-Rhizobium* chez *Acacia holosericea* et chez *A. raddiana* a amélioré la croissance, la nodulation et les teneurs en phosphore et en azote des parties aériennes des plantes. Des effets similaires ont été obtenus par de la Cruz *et al.* (1988) chez *A. mangium* et *A. auriculiformis* inoculés avec une souche de *Rhizobium* et quatre souches de champignons mycorhiziens à arbuscules (*Glomus fasciculatus*, *Gigaspora margarita*, *Scutellospora persica* et *Sclerocystis clavispora*). Duponnois *et al.* (2002) ont montré que la double inoculation *Pisolithus* sp. et *Bradyrhizobium* sp. a amélioré la croissance de quatre provenances d'*A. mangium* en conditions contrôlées. En revanche, aucune différence significative n'avait été enregistrée après transplantation au champ entre les plants doublement inoculés et ceux inoculés avec l'un ou l'autre des symbiotes (champignon ectomycorhizien ou rhizobium).

2.2.8. GESTION DURABLE DU POTENTIEL INFECTIEUX MYCORHIZOGENE DES SOLS POUR UNE MEILLEURE VALORISATION DES RESSOURCES NATURELLES

Le **Potentiel Infectieux Mycorhizogène** (PIM) d'un sol représente la diversité et l'abondance des propagules fongiques infectieuses présentes dans ce sol sous forme de spores, de mycélium et de fragments de racines portant des structures mycorhiziennes (Plenchette *et al.*, 1989). Cependant, les activités anthropiques courantes ne permettent souvent pas de maintenir

ce PIM à un niveau satisfaisant dans les sols : la déforestation favorisant la dégradation (physique, chimique et biologique) des sols, l'application des intrants agricoles (engrais, pesticides, herbicides, ...), les travaux culturaux (labour, défrichage, feux de brousse, ...), les itinéraires techniques (monoculture en continu, ...) réduisent de façon drastique le développement des champignons mycorhiziens dans les sols (Mosse, 1986 ; Jasper *et al.*, 1991 ; Hamel, 1996) compromettant ainsi la survie et la croissance des plantes qui en dépendent (Sylvia, 1990).

Une gestion appropriée de la biodiversité microbienne tellurique, des champignons mycorhiziens notamment, pourra concourir aussi bien à l'amélioration de la performance des plantes vis-à-vis des stress environnementaux qu'au maintien de la fertilité des sols et la capacité de résilience des écosystèmes terrestres vis-à-vis de stress environnementaux (ex. : changements climatiques) (Barea et Jeffries, 1995 ; Requena *et al.*, 2001).

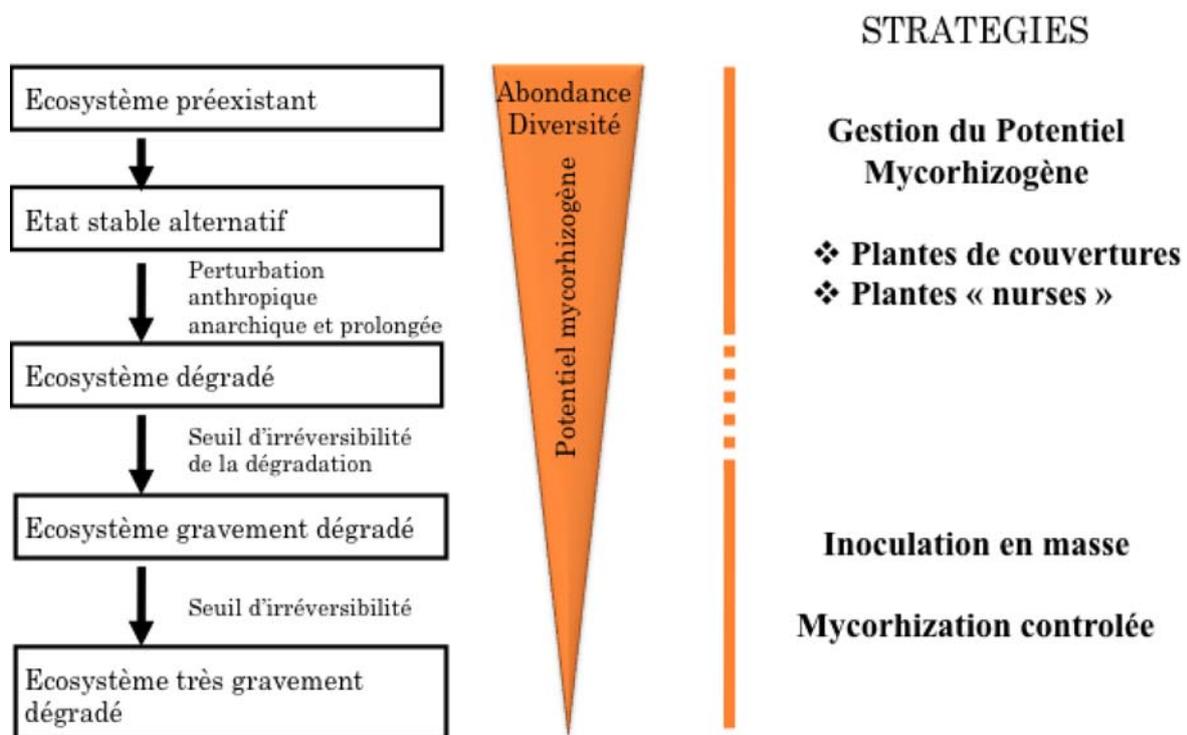
La restauration d'un PIM susceptible de donner au sol sa capacité à assurer les services attendus (productivité, augmentation de la capacité de résilience d'un écosystème, etc.) peut être atteinte en adoptant deux principales stratégies à savoir : (i) la gestion du potentiel mycorhizien endogène au travers d'espèces végétales hypermycotrophes (plantes nurses, plantes de couverture) capables de promouvoir la multiplication *in situ* des propagules mycorhiziennes (Duponnois *et al.*, 2011) et dans le cas des sols fortement perturbés et dégradés, (ii) l'inoculation préalable en masse des plants par des symbiotes fongiques sélectionnés avant leur transplantation au champ ou mycorhization contrôlée (Duponnois *et al.*, 2005, 2007) (fig. 4).

3. CONCLUSION

Les régions tropicales sont assujetties à une dégradation accélérée de leurs ressources naturelles. Les sols fragilisés par un rapide déclin de leur fertilité avec en particulier de faibles teneurs en matière organique et en éléments minéraux (N et P en particulier), des pH acides, des capacités très élevées de fixation et de rétention du phosphore le rendant ainsi indisponibles aux plantes, ne peuvent plus assurer leur rôle dans les processus biologiques régissant la stabilité et la capacité de résilience des écosystèmes et agrosystèmes (Piéri, 1989 ; Sanchez *et al.*, 2003 ; Zapata et Roy, 2004 ; Cardoso et Kuyper, 2006 ; Swift et Shepherd, 2007). Dans ce contexte, la symbiose mycorhizienne apparaît comme un **outil biologique**

performant dans le cadre d'une ingénierie écologique mise en œuvre pour optimiser la gestion durable des terres (Bethlenfalvay et Schüepp, 1994 ; Johansson *et al.*, 2004 ; Cardoso et Kuyper, 2006 ; Gentili et Jumpponen, 2006).

Figure 4. Schématisation des stratégies d'ingénierie écologique basée sur la gestion du potentiel infectieux mycorhizogène en fonction des conditions de dégradation des sols et en particulier de la structure (diversité et abondance) des communautés de champignons mycorhiziens. (D'après Duponnois R., figure non publiée)



4. REFERENCES

- Albino, U.B. & Andrade, G. (2006). Evaluation of the functional group of microorganisms as bioindicators on the rhizosphere microcosm. In: Rai MK (ed) Handbook of Microbial Biofertilizers. Food Products Press. pp 29-49.
- Alikhani, H.A., Saleh-Rastin, N. & Antoun, H. (2006). Phosphate solubilization activity of rhizobia native to Iranian soils. Plant & Soil, 287: 35-41.

- Ames, R.N. & Schneider, R.W. (1979). *Entrophospora*, a new genus in the Endogonaceae. *Mycotaxon* 8: 347-352.
- Ames, R.N., Reid, C.P.P. & Ingham, E.R. (1984). Rhizosphere bacterial population responses to root colonization by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytologist*, 96: 555-563.
- Andrade, G., Mihara, K.L., Linderman, R.G. & Bethlenfalvay, G.J. (1997). Bacteria from rhizosphere and hyphosphere soils of different arbuscular-mycorrhizal fungi. *Plant & Soil*, 192: 71-79.
- Andrade, G., Mihara, K.L., Linderman, R.G. & Bethlenfalvay, G.J. (1998). Soil aggregation status and rhizobacteria in the mycorrhizosphere. *Plant & Soil*, 202: 89-96.
- Auge, R.M. (2001). Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11: 3-42.
- Augspurger, C.K. (1990). Spatial patterns of damping-off disease during seedling recruitment in tropical forests. *Pest, Pathogens and Plant Communities*. JJ Burdon, SR Leather (eds). Blackwell Scientific Publications, Oxford. pp 131-144.
- Azcon-Aguilar, C. & Barea, J.M. (1996). Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens – An overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza* 6: 457-464.
- Azcón-Aguilar, C., Palenzuela, J., Roide, A., Bautista, S., Vallejo, R. & Barea, J.M. (2003). Analysis of the mycorrhizal potential in the rhizosphere of representative plant species from desertification-threatened Mediterranean shrublands. *Applied Soil Ecology*, 22: 29-37.
- Bâ, A.M., Balaji, B. & Piche, Y. (1994). Effect of time of inoculation on in vitro ectomycorrhizal colonisation and nodule initiation in *Acacia holosericea* seedlings. *Mycorrhiza*, 4: 109-119.
- Bâ, A.M., Dalpe, Y. & Guissou, T. (1996). Les Glomales d'*Acacia holosericea* et d'*Acacia mangium*. *Bois et Forêt des Tropiques*, 250: 5-18.
- Badji, S., Ducouso, M., Gueye, M. & Colonna, J.P. (1988). Fixation biologique de l'azote et possibilité de nodulation croisée chez les deux espèces d'Acacias producteurs de

- gomme dure : *Acacia senegal* L. Willd et *Acacia laeta* R. Br. ex Benth. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences* 307 (série. III): 663- 668.
- Bais, H.P., Walker, T.S., Stermitz, F.R., Hufbauer, R.A. & Vivanco, J.M. (2002) Enantiomeric-dependent phytotoxic and antimicrobial activity of (\pm) catechin. A rhizosecreted racemic mixture from spotted knapweed. *Plant Physiology*, 128: 1173-1179.
- Barea, J.M. & Azcon-Aguilar, C. (1983). Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogen-fixing plants. *Advances in Agronomy*, 36: 1-54.
- Barea, J.M. & Honrubia, M. (1993). Micorrizas y revegetación. *Ecosistemas*, 4: 46-47.
- Barea, J.M. & Jeffries, P. (1995). Arbuscular mycorrhizas in sustainable soil plant systems. En: Varma A., Hock B. (eds) *Mycorrhiza: Structure, function, molecular biology and biotechnology*. Springer-Verlag, Heidelberg, pp. 521-559.
- Bationo, A., Baethgen, W.E., Christianson, C.B. & Mokwunye, A.U. (1991). Comparison of five soil-testing methods to establish phosphorus sufficiency levels in soil fertilized with water-soluble and sparingly soluble phosphorus sources. *Nutrient Cycling in Agrosystems*, 28: 271-279.
- Berthelin, J., Quantin, J., Stemmler, S. & Leyval, C. (2004). Biodisponibilité du fer dans les sols: rôle majeur des activités microbiennes. *Comptes Rendus de l'Académie d'Agriculture de France*.
- Bethlenfalvai, G.J. & Schüepp, H. (1994). Arbuscular mycorrhizas and agrosystem stability. in: Gianinazzi S, Schüepp H. (eds) ; *Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems*. Birkhauser Verlag ; Basel, Switzerland. pp: 117-131.
- Bolan, N.S. (1991). A critical review of the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant & Soil*, 134: 189-207.
- Bonfante-Fasolo, P. (1984). Anatomy and morphology of VA mycorrhizae. En: Powell CL, Bagyaraj DJ (eds) *VA mycorrhiza*, CRC Press, Boca Raton, pp. 5-33.
- Bowen, G.D. (1994). The ecology of ectomycorrhiza formation and functioning. *Plant & Soil* 159: 61-67.

- Bruehl, G.W. (1987) *Soilborne Plant Pathogens*. Macmillan Publishing Co., New York.
- Brundrett, M.C. (1991). Mycorrhizas in natural ecosystems. In: Macfayden A., Begon M. and Fitter A.H. (Eds), *Advances in Ecological Research*, Academic Press Ltd., London, Vol. 21 : 171-313.
- Brundrett, M.C. (2009). Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant & Soil*, 320: 37-77.
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B. & Malajczuk, N. (1996). *Working with mycorrhizas in forestry and agriculture*. ACIAR Monograph 32. Canberra, Australia. Australian Center for International Agricultural Research. 374 p.
- Budi, S.W., Van Tuinen, D., Martinotti, G. & Gianinazzi, S. (1999). Isolation from *Sorghum bicolor* mycorrhizosphere of a bacterium compatible with arbuscular mycorrhiza development and antagonistic towards soil-borne fungal pathogens. *Applied & Environmental Microbiology*, 65: 5148-5150.
- Caravaca, F., Barea, J.M., Figueroa, D. & Roldán, A. (2002). Assessing the effectiveness of mycorrhizal inoculation and soil compost addition for enhancing reforestation with *Olea europaea* subsp. *sylvestris* through changes in soil biological and physical parameters. *Applied Soil Ecology*, 20 : 107-118
- Cardoso, I.M. & Kuyper, T.M. (2006). Mycorrhizas and tropical soil fertility. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 116: 72-84.
- Caris, C., Hördt, W., Hawkins, H-J., Römheld, V. & George, E. (1998). Studies of iron transport by arbuscular mycorrhizal hyphae from soil to peanut and sorghum plants. *Mycorrhiza* 8: 35-39.
- Carpenter-Boggs, L., Kennedy, A.C. & Reganold, J.P. (2000). Organic and biodynamic management: effects on soil biology. *Soil Science Society of America Journal*, 64: 1651-1659.
- Chabot, R., Antoun, H. & Cescas, M.P. (1996). Growth promotion of maize and lettuce by phosphate solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*. *Plant & Soil*, 184: 311-321.

- Chen, T.L., Brundrett, M.C. & Dell, B. (2000). Effects of ectomycorrhizas and vesicular-arbuscular mycorrhizas, alone or in competition, on root colonisation and growth of *Eucalyptus globulus* and *E. urophylla*. *New Phytologist*, 146: 545-556.
- Coleman, M.D., Dickson, R.E. & Isebrands, J.G. (2000). Contrasting fine-root production, survival and soil CO₂ efflux in pine and poplar plantations. *Plant & Soil*, 225: 129-139.
- Corgié, S.C., Beguiristain, T. & Leyval, C. (2004). Spatial distribution of bacterial communities and phenanthrene (PHE) degradation in the rhizosphere of *Lolium perenne* L. *Applied and Environmental Microbiology*, 70: 3352-3357.
- Corgié, S.C., Fons, F., Beguiristain, T. & Leyval, C. (2006). Biodegradation of phenanthrene, spatial distribution of bacterial populations and dioxygenase expression in the mycorrhizosphere of *Lolium perenne* inoculated *Glomus mossea*. *Mycorrhiza*, 16: 207-212.
- Cornet, F. & Diem, H.G. (1982). Etude comparative de l'efficacité des souches de *Rhizobium* d'*Acacia* isolées de sols du Sénégal et effet de la double symbiose *Rhizobium* – *Glomus mosseae* sur la croissance de *Acacia holosericea* et *A. raddiana*. *Bois et Forêts des Tropiques*, 198 : 3-15.
- Curl, E.A. & Truelove, B. (1986). *The Rhizosphere*. Springer-Verlag, Berlin. pp 1-8.
- Dalpé, Y., Diop, T., Plenchette, C. & Gueye, M. (2000). Biodiversity of Glomales with soil depth under *Faidherbia albida* in Senegal. *Mycorrhiza* 10 : 125-129.
- Dayanandan, S., Dole, J., Bawa, K. & Kesseli, R. (1999) Population structure delineated with microsatellite markers in fragmented populations of a tropical tree, *Carapa guianensis* (Meliaceae). *Molecular Ecology*, 8: 1585-1592.
- de la Cruz, R.E., Manalo, M.Q., Aggangan, N.S. & Tambalo, J.D. (1988). Growth of three legumes trees inoculated with VA mycorrhizal fungi and *Rhizobium*. *Plant & Soil*, 108: 111-115.
- Derylo, M. & Skorupska, A. (1992). Rhizobial siderophore as an iron source for clover. *Physiology of Plants*, 85: 549-553.

- Diédhiou, A.G., Guèye, O., Diabaté, M., Prin, Y., Duponnois, R., Dreyfus, B. & Bâ, A.M. (2005). Contrasting responses to ectomycorrhizal inoculation in seedlings of six tropical African tree species. *Mycorrhiza*, 16: 11-17.
- Diop, T.A., Gueye, M., Dreyfus, B.L., Plenchette, C. & Strullu, D.G. (1994). Indigenous arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Acacia albida* Del. in different areas of Senegal. *Applied & Environmental Microbiology*, 60: 3433-3436.
- Dommergues, Y., Duhoux, E. & Diem, H.G. (1999). Les arbres fixateurs d'azote : caractéristiques fondamentales et rôle dans l'aménagement des écosystèmes méditerranéens et tropicaux. Editions Espaces 34, Paris. 499 p.
- Dos Santos, V. L., Muchoveg, R.M., Uchoveg, R.M., Borges, A.C., Neves, J.C.L. & Kasuya, M.C.M. (2001). Vesicular-arbuscular/ectomycorrhiza succession in seedlings of *Eucalyptus* spp. *Brazilian Journal of Microbiology*, 32 : 81-86.
- Douds, D.D. Jr, Nagahashi, G., Pfeffer, P.E., Kayser, W.M. & Reider, C. (2005). On-farm production and utilization of arbuscular mycorrhizal fungus inoculum. *Canadian Journal of Plant Science*, 85: 15-21.
- Ducouso, M. & Thoen, D. (1991). Les types mycorrhiziens des Acacieae. in : *Physiologie des Arbres et Arbustes en zones arides et semi-arides*. Groupes d'Etude de l'Arbre. Paris, France. pp : 175-182.
- Ducouso, M., Colonna, J.P., Badji, S. & Thoen, D. (1991). Influence de l'azote et du phosphore sur l'établissement de la symbiose quadripartite : *Acacia holosericea*/Bradyrhizobium sp/*Glomus mosseae*/*Pisolithus* sp. in : *Physiologie des Arbres et Arbustes en zones arides et semi-arides*. Groupes d'Etude de l'Arbre. Paris, France. pp : 1-14.
- Ducouso, M., Béna, G., Bourgeois, C., Buyck, B., Eyssartier, G., Vincelette, M., Rabevohitra, R., Randrihasipara, L., Dreyfus, B. & Prin, Y. (2004). The last common ancestor of Sarcolaenaceae and Asian dipterocarp trees was ectomycorrhizal before the India-Madagascar separation, about 88 million years. *Molecular Ecology*, 13: 231-236.
- Duponnois, R. (2006). Bacteria Helping Mycorrhiza Development. In: Mukerji KG, Manoharachary C, Singh J (eds) *Microbial Activity in the Rhizosphere*. Springer-Verlag, Berlin. pp: 297-310.

- Duponnois, R., Garbaye, J., Bouchard, D. & Churin, J.L. (1993). The fungus-specificity of mycorrhization helper bacteria (MHBs) used as an alternative to soil fumigation for ectomycorrhizal inoculation of bare-root Douglas-fir planting stocks with *Laccaria laccata*. *Plant & Soil*, 157: 257-262.
- Duponnois, R. & Cadet, P. (1994). Interactions of *Meloidogyne javanica* and *Glomus* sp. on growth and N₂ fixation of *Acacia seyal*. *Afro Asian Journal of Nematology*, 4, 228-233.
- Duponnois, R. & Bâ, A.M. (1999). Growth stimulation of *Acacia mangium* Willd by *Pisolithus* sp. in some senegalese soils. *Forest Ecology & Management*, 119: 209-215.
- Duponnois, R., Plenchette, C., Thioulouse, J. & Cadet, P. (2001). The mycorrhizal soil infectivity and arbuscular mycorrhizal fungal spore communities in soils of different aged fallows in Senegal. *Applied Soil Ecology*, 17 (3) : 239-251.
- Duponnois, R., Founoune, H. & Lesueur, D. (2002). Influence of the dual ectomycorrhizal and rhizobial symbiosis on the growth of *Acacia mangium* provenances, the indigenous symbiotic microflora and the structure of plant parasitic nematode communities. *Geoderma*, 109: 85-102.
- Duponnois, R. & Plenchette, C. (2003). A mycorrhiza helper bacterium (MHB) enhances ectomycorrhizal and endomycorrhizal symbiosis of Australian *Acacia* species. *Mycorrhiza* 13: 85-91.
- Duponnois, R., Founoune, H., Masse, D. & Pontanier, R. (2005) Inoculation of *Acacia holosericea* with ectomycorrhizal fungi in a semi-arid site in Senegal: growth response and influences on the mycorrhizal soil infectivity after 2 years plantation. *Forest Ecology and Management*, 207: 351-362.
- Duponnois R., Plenchette C., Prin Y., Ducouso M., Kisa M., Bâ A. M. & Galiana A. (2007). Use of mycorrhizal inoculation to improve reforestation process with Australian *Acacia* in Sahelian ecozones. *Ecological engineering*, 29: 105-112.
- Duponnois, R., Ouahmane, L., Kane, A., Thioulouse, J., Hafidi, M., Boumezzough, A., Prin, Y., Baudoin, E. & Dreyfus, B. (2011). Nurse shrubs increased the early growth of *Cupressus* seedlings by enhancing belowground mutualism and soil microbial activity. *Soil Biology & Biochemistry*, 43: 2160-2168.

- Egerton-Warburton, L. & Allen, M. F. (2001). Endo- and ectomycorrhizas in *Quercus agrifolia* Nee. (Fagaceae): patterns of root colonization and effects on seedling growth. *Mycorrhiza*, 11 : 283-290.
- Founoune, H. (2001). La symbiose ectomycorhizienne des acacias australiens en Afrique de l'Ouest : impact sur le développement de la plante hôte et sur le biofonctionnement du sol. Thèse de Doctorat. Université Moulay Ismaïl. Maroc. 186 p.
- Founoune, H., Duponnois, R. & Bâ, A.M. & El Bouami, F. (2001). Influence of the dual arbuscular endomycorrhizal/ectomycorrhizal symbiosis on the growth of *Acacia holosericea* (A. Cunn. ex G. Don) in glasshouse conditions. *Annals of Forest Sciences*, 59: 93-98.
- Founoune, H., Duponnois, R., Meyer, J.M., Thioulouse, J., Masse, D., Chotte, J.L. & Neyra, M. (2002) Interactions between ectomycorrhizal symbiosis and fluorescent pseudomonads on *Acacia holosericea*: isolation of Mycorrhiza Helper Bacteria (MHB) from a Soudano-Sahelian soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 41: 37- 46.
- Frey-Klett, P., Chavatte, M., Clause, M. L., Courrier, S., Le Roux, C., Raaijmakers, J., Martinotti, M. G., Pierrat, J. C. & Garbaye, J. (2005). Ectomycorrhizal symbiosis affects functional diversity of rhizosphere fluorescent pseudomonads. *New Phytologist*, 165: 317-328.
- Garbaye, J. (2000). The role of ectomycorrhizal symbiosis in the resistance of forests to water stress. *Outlook on Agriculture*, 29 : 63-69.
- Garbaye, J. & Duponnois, R. (1992). Application des BAM (Bactéries Auxilliaires de la Mycorhization) à l'inoculation du Douglas par *Laccaria laccata* S238 en pépinière forestière. *Revue Forestière Française*, 44 : 491-500.
- Gentili, F. & Jumpponen, A. (2006). Potential and possible uses of bacterial and fungal biofertilizers. in: Rai MK (ed) *Handbook of Microbial Biofertilizers*. Food Products Press. pp 1-28.
- Gerdemann, J.W. & Trappe, J.M. (1974). The Endogonaceae in the Pacific Northwest. *Mycologia memoir n° 5*, The Mycological Society of America, 76 p.

- Gianinazzi, S. & Schüepp, H. (1994). Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems. Birkhauser Verlag, Basel. 226 p.
- Giovanetti, M. & Gianinazzi-Pearson, V. (1994). Biodiversity in arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycological Research*, 98: 705-715
- Gobat, J.M., Aragno, M. & Matthey, W. (2003). *Le sol vivant*, 2e Edition. Presses Polytechniques Universitaires Romandes, Lausanne. 568 p.
- Goldstein, A.H. (1986). Bacterial solubilization of mineral phosphates: historical perspective and future prospects. *American Journal of Alternative Agriculture*, 1: 51-57.
- Graham, J.H., Leonard, R.T. & Menge, J.A. (1981). Membrane-mediated decrease in root exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. *Plant Physiology*, 68: 548-552.
- Gransee, A. & Wittenmayer, L. (2000). Qualitative and quantitative analysis of water-soluble root exudates in relation to plant species and development. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 163: 381-385.
- Grayston, S.J. & Campbell, C.D. (1996). Functional biodiversity of microbial communities in the rhizosphere of hybrid larch (*Larix eurolepis*) and Sitka spruce (*Picea sitchensis*). *Tree Physiology*, 16: 1031-1038.
- Grayston, S.J., Vaughan, D. & Jones, D. (1997). Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. *Applied Soil Ecology*, 5: 29-56.
- Grayston, S., Griffith, G., Mawdsley, J., Campbell, C. & Bardgett, R. (2001). Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, 33: 533-551.
- Hall, I.R. (1977). Species and mycorrhizal infections of New Zealand Endogonaceae. *Transactions of British Mycological Research*, 341-356.
- Hamdan, H., Weller, D.M. & Thomashow, L.S. (1991). Relative importance of fluorescent siderophores and others factors in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by *Pseudomonas fluorescens* 2-79 and M4-80R. *Applied and Environmental Microbiology*, 57: 3270-3277.

- Hamel, C. (1996). Prospects and problems pertaining to the management of arbuscular mycorrhizae in agriculture. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 60: 197-210.
- Harris, J.N., New, P.B. & Martin, P.M. (2006). Laboratory tests can predict beneficial effects of phosphate- solubilizing bacteria on plants. *Soil Biology & Biochemistry*, 38: 1521-1526.
- Hart, M.M., Reader, R.J. & Klironomos, J.N. (2003). Plant coexistence mediated by arbuscular mycorrhizal fungi. *Trends in Ecology & Evolution*, 18: 418-423.
- He, X.H., Critchley, C. & Bledsoe, C. (2003). Nitrogen transfer within and between plants through common mycorrhizal networks (CMNs). *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22: 531-567.
- He, X. & Nara, K. (2007). Element biofortification: can mycorrhizas potentially offer a more effective and sustainable pathway to curb human malnutrition? *Trends in Plant Science*, 12: 331-333.
- Herrera, M.A., Salamanca, C.P. & Barea J.M. (1993). Inoculation of Woody Legumes with Selected Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Rhizobia To Recover Desertified Mediterranean Ecosystems. *Applied Environmental Microbiology*, 59 (1) : 129-133
- Hetrick, B.A.D. (1984). Ecology of VA Mycorrhizal fungi. *VA Mycorrhizae*. CL Powell, DJ Bagyaraj (eds), CRC Press, Louisiana, USA. pp 35-56.
- Hiltner, L. (1904). Über neuere Erfahrungen und Problem auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache (On recent insights and problems in the area of soil bacteriology under special consideration of the use of green manure and following). *Arbeiten der Deutschen Landwirtschaftlichen Gesellschaft* 98: 59-78.
- Hinsinger, P. (2001). Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: A review. *Plant & Soil*, 237: 173-195.
- Hoitink, H.A. (1986). Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. *Annual Review of Phytopathology*, 24: 93-114.
- Janos, D.P. (1980). Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica*, 12: 56-64.

- Jasper, D.A., Abbot, L.K. & Robson, D. (1991). The effect of soil disturbance on vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soils from different vegetation types. *New Phytologist*, 118: 471-476.
- Johansson, J.F., Paul, L.R. & Finlay, R.D. (2004). Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiology Ecology*, 48: 1-13.
- Johnson, D., Leake, J.R., Ostle, N., Ineson, P. & Read, D.J. (2002). In situ (CO₂)-C-¹³ pulse-labelling of upland grassland demonstrates a rapid pathway of carbon flux from arbuscular mycorrhizal mycelia to the soil. *New Phytologist*, 153: 327-334.
- Joner, E.J. & Leyval, C. (2003). Rhizosphere gradients of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) dissipation in two industrial soils and the impact of arbuscular mycorrhiza. *Environmental Science & Technology*, 37: 2371-2375.
- Jones, D.L. (1998). Organic acids in the rhizosphere – a critical review. *Plant & Soil*, 205: 25-44.
- Khan, A.G., Kuek, C., Chaudhry, T.M., Khoo, C.S. & Hayes, W.J. (2000). Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere* 41: 197-207.
- Kim, D-S., Weller, D.M. & Cook, R.J. (1997). Population dynamics of *Bacillus* sp. L324-92R12 and *Pseudomonas fluorescens* 2-79RN10 in the rhizosphere of wheat. *Phytopathology*, 87: 559-564.
- Kisa, M., Sanon, A., Thioulouse, J., Assigbetse, K., Sylla, S., Spichiger, R., Dieng, L., Berthelin, J., Prin, Y., Galiana, A., Lepage, M. & Duponnois, R. (2007). Arbuscular mycorrhizal symbiosis counterbalance the negative influence of the exotic tree species *Eucalyptus camaldulensis* on the structure and functioning of soil microbial communities in a sahelian soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 62: 32-44.
- Koch, K.E. & Johnson, C.R. (1984). Photosynthate partitioning in split-root citrus seedlings with mycorrhizal and non-mycorrhizal root systems. *Plant Physiology*, 75: 26-30.
- Lambers, H., Raven, J.A., Shaver, G.R. & Smith, S.E. (2008). Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. *Trends in Ecology & Evolution*, 23: 95-103.

- Landeweert, R., Hoffland, E., Finlay, R.D., Kuypers, T.W. & van Breemen, N. (2001). Linking plant to rocks: ectomycorrhizal fungi mobilize nutrients from minerals. *Trends in Ecology & Evolution*, 16: 248-255.
- Leake, J.R. (2004). Myco-heterotroph/epiparasitic plant interactions with ectomycorrhizal and arbuscular Mycorrhizal fungi. *Current Opinion in Plant Biology*, 7: 422-428.
- Lebreton, P. (1978). *Eco-logique. Initiation aux disciplines de l'environnement*. Inter Editions, Paris. 239 p.
- Le Tacon F. (1985). Les Mycorrhizes : une coopération entre plantes et champignons. *La Recherche* n° 166, pp. 624–632.
- Leyval, C. & Berthelin, J. (1993). Rhizodeposition and net release of soluble organic compounds by pine and beech seedlings inoculated with rhizobacteria and ectomycorrhizal fungi. *Biology & Fertility of Soils* 15: 259-267.
- Leyval, C., Turnau, K. & Haselwandter, K. (1997). Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza*, 7: 139-153.
- Leyval, C. & Joner, E.J. (2001). Bioavailability of heavy metals in the mycorrhizosphere. in: *Trace elements in the rhizosphere*. CRC Press. pp 165-185.
- Linderman, R.G. (1988). Mycorrhizal interactions with the rhizosphere microflora: the mycorrhizosphere effect. *Phytopathology*, 78: 366-371.
- Lovelock, C.E., Wright, S.F., Clark, D.A. & Ruess, R.W. (2004). Soil stocks of glomalin produced by arbuscular mycorrhizal fungi across a tropical rain forest landscape. *Journal of Ecology*, 92: 278-287.
- Manjunath, A., Hue, N.V. & Habte, M. (1989). Response of *Leuceana leucocephala* to vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization and rock phosphate fertilization in an Oxisol. *Plant & Soil*, 114: 127-133.
- Marilley, L., Vogt, G., Blanc, M. & Aragno, M. (1998). Bacterial diversity in the bulk soil and rhizosphere fractions of *Lolium perenne* and *Trifolium repens* as revealed by PCR restriction analysis of 16s rDNA. *Plant & Soil*, 198: 219-224.

- Marscher, H. (1997). Mineral nutrition of higher plant. 2e edition. Academic Press, London. 889 p.
- Matiru, V.N. & Dakora, F.D. (2004). Potential use of rhizobial bacteria as promoters of plant growth for increased yield in landraces of African cereal crops. *African Journal of Biotechnology* 3: 1-7.
- Meyer, J.R. & Linderman, R.G. (1986). Selective influence on populations of rhizosphere or rhizoplane bacteria and actinomycetes by mycorrhizas formed by *Glomus fasciculatum*. *Soil Biology & Biochemistry*, 18: 191-196.
- Michelsen, A., Quarmby, C., Sleep, D. & Jonasson, S. (1998). Vascular plant ^{15}N natural abundance in heath and forest tundra ecosystems is closely correlated with presence and type of mycorrhizal fungi in roots. *Oecologia*, 115: 406-418.
- Mikola, P. (1948). On the physiology and ecology of *Cenococcum graniforme*. *Communicationes Instituti Forestalis Fenniae*, 36: 1-104.
- Miller, S.A., Madden, L.V. & Schmitthenner, A.F. (1997). Distribution of *Phytophthora* spp. in field soils determined by immunoassay. *Phytopathology*, 87: 101-107.
- Morton, J.B. & Benny, J. (1990). Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glominae and Gigasporinae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an amediation of Glomaceae. *Mycotaxon*, 37: 471-491
- Morton J.B., Bentivenga, S.P. & Bever, J.D. (1995). Discovery, measurement, and interpretation of diversity in symbiotic endomycorrhizal fungi. *Canadian Journal of Botany*, 73S: 25-32.
- Morton, J.B. & Redecker, D. (2001). Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. *Mycologia*, 93:181-195.
- Mosse, B. (1959). The regular germination of resting spores and some observations on the growth requirements of *Endogone* sp. causing vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Transactions of the British Mycological Society*, 42: 273-286.

- Mosse, B. (1986). Mycorrhiza in a sustainable agriculture. *Biological Agriculture & Horticulture*, 3: 191-209.
- Moyersoen, B. (2006). Pakaraimaea dipterocarpacea is ectomycorrhizal, indicating an ancient Gondwanaland origin for the ectomycorrhizal habit in Dipterocarpaceae. *New Phytologist*, 172: 753-762.
- Neitko, K.F. & Frankenberg, W.T.Jr (1989). Biosynthesis of cytokinins in soil. *Journal of the Soil Science Society of America*, 53: 735-740.
- Newman, E.I. (1988). Mycorrhizal links between plants: their functioning and ecological significance. *Advances in Ecological Research*, 18: 243-270.
- Newsham, K.K., Fitter, A.H. & Watkinson, A.R. (1995). Arbuscular mycorrhiza protect an annual grass from root pathogenic fungi in the field. *Journal of Ecology*, 83: 991-1000.
- Norman, M.J.T., Pearson, C.J. & Searle, P.G.E. (1995). *The Ecology of Tropical Food Crops*. Cambridge University Press, Cambridge. 436 p.
- Nyvall, R.F. (1999). *Field Crop Diseases*, 3d edition. Iowa State University Press.
- Oehl, F. & Sieverding E. (2004). Pacispora, a new vesicular-arbuscular mycorrhizal fungal genus in the Glomeromycetes. *J. Applied Botany and Food Quality*, 78, 72–82.
- Palenzuela, J., Ferrol, N., Boller, T., Azcón-Aguilar, C. & Oehl, F. (2008). Otospora bareai, a new fungal species in the Glomeromycetes from a dolomitic shrub land in Sierra de Baza National Park (Granada, Spain). *Mycologia*, 100(2) : 296-305
- Peay, K, Kennedy, P.G., Davies, S.J., Tan, S. & Bruns T. (2009). Potential link between plant and fungal distributions in a dipterocarp rainforest: community and phylogenetic structure of tropical ectomycorrhizal fungi across a plant and soil ecotone. *New Phytologist*, 185: 525-538.
- Piéri, C. (1989). Fertilité des terres de savane. Bilan de trente années de recherche et de développement agricole au sud du Sahara. Ministère de la Coopération et du Développement. Cirad, Paris. 444p.

- Plenchette, C., Perrin, R. & Duvert, P. (1989). The concept of soil infectivity and a method for its determination as applied to endomycorrhizas. *Canadian Journal of Botany*, 67: 112-115.
- Raab, P. & Redecker, D. (2006). Phylogeny of the Glomeromycota (arbuscular mycorrhizal fungi): recent developments and new gene markers. *Mycologia*, 98 : 885-895.
- Ramanankierana, N., Rakotoarimange, N., Thioulouse, J., Kisa, M., Randrianjohany, E., Ramarason, L. & Duponnois, R. (2006). The Ectomycorrhizosphere effect influences functional diversity of soil microflora. *International Journal of Soil Sciences*, 1: 8-19.
- Ramanankierana, N., Ducouso, M., Rakotoarimanga, N., Prin, Y., Thioulouse, J., Randrianjohany, E., Ramarason, L., Kisa, M., Galiana, A. & Duponnois, R. (2007). Arbuscular mycorrhizas and ectomycorrhizas of *Uapaca bojeri* L. (Euphorbiaceae): sporophore diversity, patterns of root colonization, and effects on seedling growth and soil microbial catabolic diversity. *Mycorrhiza*, 17: 195-208.
- Rambelli, A. (1973). The Rhizosphere of Mycorrhizae. in: Marks GL, Koslowski TT (eds): *Ectomycorrhizae, their ecology and physiology*. Academic Press, New York. pp 299-343.
- Ratnayake, M., Leonard, R.T. & Menge, J.A. (1978). Root exudation in relation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhizal formation. *New Phytologist*, 1978: 543-552.
- Ravnskov, S., Nybroe, O. & Jakobsen, I. (1999). Influence of arbuscular mycorrhizal fungus on *Pseudomonas fluorescens* DF57 in rhizosphere and hydrosphere soil. *New Phytologist*, 142: 113-122.
- Read, D.J. (1991). Mycorrhiza in ecosystems. *Experientia*, 47: 376-391.
- Redecker, D., Morton, J. B. & Bruns, T. D. (2000). Molecular phylogeny of the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus sinuosum* and *Sclerocystis coremioides*. *Mycologia*, 92 : 282-285.
- Reeves, F.B., Wagner, D., Moorman, T. & Kiel, J. (1979). The role of endomycorrhizae in revegetation practices in the semi-arid Est. I. A comparison of incidence of mycorrhizae in severely disturbed vs. Natural environments. *American Journal of Botany*, 66: 6-13.

- Requena, N., Pérez-Solis, E., Azcón-Aguilar, C., Jeffries, P. & Barea, J.M. (2001). Management of Indigenous Plant-Microbe Symbioses Aids Restoration of Desertified Ecosystems. *Applied Environmental Microbiology*, 67(2): 495-498
- Rhodes, L.H., & Gerdemann, J.W. (1975). Phosphate uptake zones of mycorrhizal and non-mycorrhizal onions. *New Phytologist*, 75: 555-561.
- Richardson, A.E. (2001). Prospects for using soils microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Australian Journal of Plant Physiology*, 28: 897-906.
- Rillig, M.C. & Steinberg, P.D. (2002). Glomalin production by an arbuscular mycorrhizal fungus: a mechanism of habitat modification? *Soil Biology & Biochemistry*, 34: 1371-1374.
- Rillig, M.C. & Mummey, D.L. (2006). Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist*, 171, 41-53.
- Rivière, T., Diedhiou, A.G., Diabate, M., Senthilarasu, G., Natarajan, K., Verbeken, A., Buyck, B., Dreyfus, B., Bena, G. & Bâ, A.M. (2007). Genetic diversity of ectomycorrhizal basidiomycetes from African and Indian tropical forests. *Mycorrhiza*, 17: 415-428.
- Robinson, D. & Fitter, A. (1999). The magnitude and control of carbon transfer between plants linked by a common mycorrhizal network. *Journal of Experimental Botany*, 50: 9-13.
- Rodriguez, H. & Fraga, R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*, 17: 319-339.
- Ross, J.P. (1980). Effect of nontreated soil on sporulation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with soybean. *Phytopathology*, 70: 1200-1205.
- Rovira, A.D. (1965). Plant root exudates and their influence upon soil microorganisms. In: Baker KF, Snyder WC (eds) *Ecology of soil-borne pathogens – prelude to biological control*. University of California, Berkely, California; pp 170-186.
- Rufyikiri, G.S., Declerck, S., Dufey, J.E. & Delvaux, B. (2000). Arbuscular mycorrhizal fungi might alleviate aluminium toxicity in banana plants. *New Phytologist*, 148: 343-352.

- Samba, R.T., Sylla, S.N., Neyra, M., Gueye, M., Dreyfus, B. & Ndoye, I. (2002). Biological nitrogen fixation in *Crotalaria* species estimated using the ^{15}N isotope dilution method. *African Journal of Biotechnology*, 1: 17-22.
- Sanchez, P.A., Palm, C.A. & Buol, S.W. (2003). Fertility capability soil classification, a tool to help assess soil quality in the tropics. *Geoderma*, 114: 157-185.
- Sanon, K.B., Bâ, A.M. & Dexheimer, J. (1997). Mycorrhizal status of some fungi fruiting beneath indigenous trees in Burkina Faso. *Forest Ecology Management*, 98: 61-69
- Sanon, A., Martin, P., Thioulouse, J., Plenchette, C., Spichiger, R., Lepage, M. & Duponnois, R. (2006). Displacement of an herbaceous plant species community by Mycorrhizal and non-mycorrhizal *Gmelina arborea*, an exotic tree, grown in a microcosm experiment. *Mycorrhiza*, 16: 125-132.
- Schüßler, A., Gehric, H., Schwarzott, D. & Walker, C. (2001). Analysis of partial Glomales SSU rRNA gene sequences: implications for primer design and phylogeny. *Mycological Research*, 1 : 5-15.
- Scotland, R.W. & Wortley, A.H. (2003). How many species of seed plants are there? *Taxon*, 52: 101-104.
- Secilia, J. & Bagyaraj, D.J. (1987). Bacteria and actinomycetes associated with pot cultures of vesicular- arbuscular mycorrhizas. *Canadian Journal of Microbiology*, 33: 1067-1073.
- Selosse, M-A, Richard, F., He, X. & Simard, S.W. (2006). Mycorrhizal networks: des liaisons dangereuses ? *Trends in Ecology & Evolution*, 21 : 621-628.
- Sieverding, E. & Oehl, F. (2006). Revision of *Entrophospora* and description of *Kuklospora* and *Intraspora*, two new genera in the arbuscular mycorrhizal Glomeromycetes. *Journal of Applied Botanic & Food Quality*, 80 : 69-81.
- Silvertown, J. (2004). Plant coexistence and the niche. *Trends in Ecology & Evolution* 19: 605-611.
- Simard, S.W. & Durall, D.M. (2004). Mycorrhizal networks: a review of their extent, function, and importance. *Canadian Journal of Botany*, 82: 1140-1165.

- Six, J., Frey, S.D., Thiet, R.K. & Batten, K.M. (2006). Bacterial and Fungal contributions to carbon sequestration in Agrosystems. *Soil Science Society of American Journal*, 70: 555-569.
- Smith, S.E. & Read, D.J. (1997). *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press. San Diego, USA.
- Souchie, E.L., Saggin-Junior, O.J., Silva, E.M.R., Campello, E.F.C., Azcon, R. & Barea, J.M. (2006) Communities of P-Solubilizing Bacteria, Fungi and Arbuscular Mycorrhizal Fungi in grass pasture and secondary forest of Paraty, RJ - Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 78: 183-193.
- Spain, J., Sieverding, E. & Oehl, F. (2006). *Appendicispora*, a new genus in the arbuscular mycorrhizal-forming Glomeromycetes, with a discussion of the genus *Archaeospora*. *Mycotaxon*, 97: 163-182.
- St-Arnaud, M., Hamel, C., Vimard, B., Caron, M. & Fortin, J.A. (1997). Inhibition of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* in the non-VAM species *Dianthus caryophyllus* by co-culture with *Tagetes patula* companion plants colonized by *Glomus intraradices*. *Canadian Journal of Botany*, 75: 998-1005.
- Stemmler, S.J. & Berthelin, J. (2003). Microbial activity, a major parameter of iron mobilisation in a typical watershed of humid tropical countries (Nsimi, Cameroon). *European Journal of Soil Science*, 54: 725-733.
- Stephan, A., Meyer, A.H. & Schmid, B. (2000). Plant diversity affects culturable soil bacteria in experimental grassland communities. *Journal of Ecology*, 88: 988-998.
- Stinson, K.A., Campbell, S.A., Powell, J.R., Wolfe, B.E., Callaway, R.M., Thelen, G.C., Hallett, S.G., Prati, D. & Klironomos, J.N. (2006). Invasive plant suppresses the growth of native tree seedling by disrupting belowground mutualisms. *PLOS Biology*, 4: 727-731.
- Strullu, D.G. (1991). *Les mycorhizes des arbres et des plantes cultivées*. Techniques et Documentation Lavoisier. Paris. 242 p.
- Swift, M.J. & Shepherd, K.D. (2007). *Saving Africa's Soils: Science and Technology for Improved Soil Management in Africa*. World Agroforestry Centre, Nairobi. 18 p.

- Sylvia, D.M. (1990). Distribution, structure, and function of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In: Rhizosphere Dynamics. J.E. Box and L.H. Hammond (ed.) p. 144-167. Westview Press, Boulder, CO.
- Taylor, A. F. S. & Alexander, I. (2005). The ectomycorrhizal symbiosis: life in the real world. *Mycologist*, 19: 102-112.
- Tedersoo, L. & Nara, K. (2010). General latitudinal gradient of biodiversity is reversed in ectomycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 185 : 351-354.
- Tedersoo, L., May, T.W. & Smith, M.E. (2010). Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza* 20: 217-263.
- Toen, D. & Bâ, A.M. (1989). Ectomycorrhizas and putative ectomycorrhizal fungi of *Azelia africana* Sm. And *Uapaca guineensis* Müll Arg. in southern Senegal. *New Phytologist*, 113: 549-559.
- Toen, D. & Ducouso, M. (1989). Champignons et ectomycorhizes du Fouta Djallon. *Bois et Forêts des Tropiques*, 221: 45-63.
- Tisdall, J.M. & Oades, J.M. (1979). Stabilization of soil aggregates by the root systems of rye grass. *Australian Journal of Soil Research*, 17: 429-441.
- van der Heijden, M.G.A., Boller, T., Wiemken, A. & Sanders, I.R. (1998a). Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. *Ecology*, 79: 2082-2091.
- van der Heijden, M.G.A., Klironomos, J.N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Bolier, T., Wiemken, A. & Sanders, I.R. (1998b). Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 396 : 69-72
- Walker, C. & Sanders, F.E. (1986). Taxonomic concepts in the endogonaceae. III: The separation of *Scutellospora* gen. Nov. From *Gigaspora* Gerd. & Trappe. *Mycotaxon*, XXXII 17: 169-182.
- Walker, C. & Schüßler, A. (2004). Nomenclatural Clarifications and New Taxa in the Glomeromycota. *Mycological Research*, 108(9): 981-982.

- Walker, C., Vestberg, M., Demircik, F., Stockinger, H., Saito, M., Sawaki, H., Nishmura, I. & Schüßler, A. (2007a). Molecular phylogeny and new taxa in the Archaeosporales (Glomeromycota): *Ambispora fennica* gen. sp. nov., Ambisporaceae fam. nov., and emendation of *Archaeospora* and Archaeosporaceae. *Mycological Research*, 111: 137-143.
- Walker, C., Vestberg, M. & Schüßler, A. (2007b). Nomenclatural clarifications in Glomeromycota. *Mycological Research*, 111 : 253-255.
- Wang, B. & Qiu, Y-L. (2006). Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza*, 16: 299-363.
- Wieland, G., Neumann, R. & Backhaus, H. (2001). Variation of microbial communities in soil, rhizosphere, and rhizoplane in response to crop species, soil type, and crop development. *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 5849-5854.
- Wright, S.F. & Upadhyaya, A. (1998). A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant & Soil*, 198: 97-107.
- Yang, C-H. & Crowley, D.E. (2000). Rhizosphere microbial community structure in relation to root location and plant iron nutritional status. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 345-351.
- Yao, Q., Li, X.L., Ai, W.D. & Christie, P. (2003). Bi-directional transfer of phosphorus between red clover and perennial ryegrass via arbuscular mycorrhizal hyphal links. *European Journal of Soil Biology*, 39: 47-54.
- Zapata, F. & Roy, R.N. (2004). Utilisation des phosphates naturels pour une agriculture durable. *Bulletin FAO Engrais et Nutrition Végétale* N° 13. 151p.

PARTIE 1

SYMBIOSE MYCORHIZIENNE ET ECOSYSTEMES TROPICAUX

CHAPITRE 1

**SYMBIOSE MYCORHIZIENNE ET ECOSYSTEMES
TROPICAUX**

EXEMPLES D'ETUDES REALISEES AU BURKINA FASO

**DIVERSITE SPECIFIQUE DES CHAMPIGNONS ECTOMYCORHIZIENS DU GENRE
SCLERODERMA DU BURKINA FASO ET APPLICATION A LA MYCORHIZATION
CONTROLEE DE *AFZELIA AFRICANA***

par Sanon B. K.¹, Bâ A. M.², Duponnois R.³

¹ Institut de l'environnement et de recherches agricoles, Département productions forestières (Inera/DPF). Laboratoire de microbiologie forestière. BP 7047. Ouagadougou 03. Burkina Faso.

² Laboratoire commun de microbiologie (UCAD-IRD-ISRA). BP 1386 Centre de recherche de Bel Air. Dakar. Sénégal.

³ IRD. UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/AGRO-M/UM2. Laboratoire des symbioses tropicales et méditerranéennes (LSTM). Campus international de Baillarguet, Montpellier. France.

1. INTRODUCTION

La plupart des arbres forestiers puisent l'eau et les éléments minéraux du sol par l'intermédiaire de champignons telluriques associés à leur système racinaire. Cette association de type symbiotique, appelée mycorhize, contribue à la nutrition minérale et hydrique des plantes et à la protection phytosanitaire des racines. En retour, le champignon reçoit les photosynthétats nécessaires à sa croissance et à son développement.

Deux principaux types d'association mycorhizienne ont été décrits en fonction de leurs caractéristiques morphologiques : les endomycorhizes et les ectomycorhizes. Les endomycorhizes sont les plus répandues et s'associent avec environ 80 % des végétaux terrestres (Fortin *et al.*, 2008), elles se rencontrent essentiellement chez les plantes cultivées et chez la plupart des arbres tropicaux. Quant aux ectomycorhizes, elles sont fréquentes et très répandues dans les forêts et régions boisées des zones tempérées froides et des régions boréales (Alexander, 2006). Néanmoins, une minorité d'arbres tropicaux très importants sur le plan écologique et économique tels que les Dipterocarpaceae, les Fagaceae, des Caesalpinioïdeae et des Myrtaceae forme des ectomycorhizes.

En Afrique tropicale, les études sur la symbiose mycorhizienne et sa prise en compte dans les itinéraires techniques de productions agricoles ou de productions de plants de reboisement restent limitées. Au Burkina Faso, les premières études sur la symbiose mycorhizienne datent des années 1989 avec *Afzelia africana* et *Pisolithus tinctorius* (Sary, 1989). Mais quelques années après, à la faveur de la réhabilitation du laboratoire de microbiologie de l'Inera/DPF (ancien Irbet), des travaux ont été conduits sur les deux types de symbioses. Parmi les études sur la symbiose endomycorhizienne, on peut citer entre autres :

- la diversité des Glomales associées à quelques *Acacia* australiens introduits au Burkina Faso (Bâ *et al.*, 1996a) ;
- l'effet de l'inoculation des souches de champignons endomycorhiziens sur la croissance, la nutrition et la résistance au stress hydrique de quelques espèces fruitières sauvages ou domestiquées de l'Afrique tropicale (*Ziziphus mauritiana*, *Balanites aegyptiaca*, *Parkia biglobosa*, *Balanites aegyptiaca*, ..) (Guissou *et al.*, 1998 ; Guissou *et al.*, 2001 ; Bâ *et al.*, 2001) ;

–la réponse à l'inoculation du Karité (*Vitellaria paradoxa*) et de *Faidherbia albida* en présence ou non de fertilisants ou de phosphate naturel (Bâ et Guissou, 1996 ; Bâ *et al.*, 1996b ; Dianda *et al.*, 2009).

Le Burkina Faso étant un pays tropical sec avec des pluviométries de 400 mm au nord à 1 100 mm au sud-ouest, les essences à ectomycorhizes sont très peu abondantes et confinées au sud et sud-ouest où on rencontre quelques formations forestières et des reliques de forêts guinéennes le long des cours d'eau. Les premiers travaux sur ce type de symbiose ont identifié les essences à ectomycorhizes et les champignons mycorhiziens putatifs qui leur sont associés (Sanon *et al.*, 1997 ; Sanon, 1999). Ces travaux ont également permis de constituer une collection de culture pure, essentiellement des champignons du genre *Scleroderma*. Ces derniers qui apparaissent comme de bons candidats pour la mycorhization contrôlée compte tenu de leur facilité relative de mise en culture et de leur précocité, ont fait l'objet de quelques études plus approfondies (Sanon *et al.*, 1997 ; Bâ *et al.*, 1999, 2002 ; Sanon *et al.*, 2002 ; Sanon *et al.*, 2009 a, b).

2. LES PARTENAIRES DE LA SYMBIOSE ECTOMYCORHIZIENNE AU BURKINA FASO

2.1. QUELQUES TRAITS DU CLIMAT ET DE LA VEGETATION DU BURKINA

Le Burkina Faso est situé au cœur de l'Afrique occidentale entre les latitudes 9° 20' et 15° 05' et les longitudes 2° 03' et 5° 20'. C'est un pays plat à relief peu accidenté, notamment dans sa moitié Nord et il s'étend sur 274 000 km².

Le climat est caractérisé par l'alternance de deux saisons : une saison sèche et une saison des pluies. La saison sèche varie de 8 à 9 mois au nord à 5-6 mois au sud-ouest. Quant à la saison pluvieuse, elle s'étend de mai à octobre au sud, sud-ouest et de juin-juillet à septembre au nord.

Les précipitations sont irrégulièrement réparties dans l'espace et dans le temps. La pluviométrie moyenne annuelle décroît du sud-ouest (1 100 mm) au nord (moins de 400 mm). Les précipitations sont concentrées pendant l'unique saison des pluies avec un maximum au mois d'août. Depuis la sécheresse des années 1973-1974, les isohyètes initiaux ont perdu entre 100 et 200 mm (Kessler et Geerling, 1994).

En fonction de ces principaux éléments du climat, en particulier la pluviométrie, le pays est subdivisé en trois régions climatiques. La zone soudanienne occupe tout le Sud du pays avec environ 6 mois de pluies et une pluviométrie supérieure à 900 mm ; la zone soudano-sahélienne, située au centre, occupe la moitié du pays avec 4-5 mois de pluies à pluviométrie comprise entre 900 et 600 mm ; la zone sahélienne, au nord avec environ 2-3 mois de pluies et une pluviométrie annuelle de moins de 600 mm.

Du point de vue de la végétation, le pays appartient à la vaste région phytogéographique soudano-zambézienne de l'Afrique qui s'étend du Sénégal à l'ouest à la Namibie au sud en passant par la Somalie (Laclavère, 1993).

La végétation est caractérisée par la prédominance de formations mixtes ligneuses et herbacées à couvert peu fermé (steppes, savanes, forêts claires). Les formations végétales naturelles occupent 60 % du territoire (FAO, 1987). On rencontre au sud des forêts-galeries (1 %) et des forêts claires (1 %), au nord des brousses tigrées (1 %) et la steppe (4 %) et enfin des savanes arborées et arbustives (53 %) dans le reste du pays.

Les essences ectomycorhiziennes sont des espèces de zones plus humides. Leur répartition s'étend dans la zone soudanienne, en particulier le Sud-Ouest du pays, le Sud et l'Est. Cette zone est caractérisée par des pluviométries de 900 à 1 100 mm de nos jours et des savanes boisées, des forêts claires et des galeries forestières constituées d'espèces guinéennes sempervirentes. Dans beaucoup de forêts claires domine l'espèce *Anogeissus leiocarpus* avec d'autres espèces telles que *Pterocarpus erinaceus*, *Burkea africana*, *Azelia africana*, *Albizia chevalieri* et surtout *Isobertinia doka* et *Detarium microcarpum*. La présence de l'espèce *Isobertinia doka* en peuplements monospécifiques ou associée à *Isobertinia dalziellii* caractérise également cette zone.

2.2. LES ESSENCES A ECTOMYCORHIZES ET LEURS SYMBIOTES

Différentes espèces végétales tropicales réputées ectomycorhiziennes ont été signalées dans la littérature. Par rapport à ces données, un inventaire a d'abord été effectué sur le terrain dans la zone soudanienne. Il a permis d'identifier 7 espèces ectomycorhiziennes réparties en 3 familles et 5 genres (tabl. 1).

Tableau 1. Espèces à ectomycorhizes inventoriées au Burkina Faso.

Famille ou sous-famille	Genres	Espèces	Statut symbiotique ^a
Caesalpiniodeae	<i>Afzelia</i>	<i>africana</i>	ECM
	<i>Berlinia</i>	<i>grandiflora</i>	ECM
	<i>Isoberlinia</i>	<i>doka</i>	ECM
	<i>Isoberlinia</i>	<i>dalziellii</i>	ECM
Dipterocarpaceae	<i>Monotes</i>	<i>kerstingii</i>	ECM & MA
Phyllanthaceae	<i>Uapaca</i>	<i>guineensis</i>	ECM & MA
	<i>Uapaca</i>	<i>somon</i>	ECM & MA

Sanon *et al.* (1997). ^a ECM : Ectomycorhizienne ; MA : Endomycorhizienne à arbuscules. Cette liste n'est certainement pas exhaustive.

L'évaluation du statut mycorhizien de ces espèces a été effectuée sur des racines de jeunes plants, d'arbres adultes et de régénération naturelle. Des endomycorhizes à arbuscules n'ont pas été observées sur des racines de *Isoberlinia* spp. Certains travaux ont signalé la présence de mycorhizes à arbuscules au niveau de *A. africana* (Thoen et Ducouso, 1989) ; cependant nous n'avons pas trouvé ce type de symbiose sur les différents échantillons analysés. Pour *B. grandiflora*, la présence ou non d'endomycorhizes n'a pas été évaluée.

Des sites renfermant ces essences à ectomycorhizes ont été identifiés essentiellement au Sud-ouest du pays et dans une moindre mesure au sud et à l'est. Ces sites peuvent être regroupés comme suit (tabl. 2).

Les sites à *U. guineensis* et *B. grandiflora*, et le site à *A. africana* du Sud-Ouest sont situés dans des galeries forestières. Hormis le site à *Isoberlinia* spp et *M. kerstingii* du Sud-Ouest qui a été identifié en 2000 et prospecté, tous les autres sites ont été prospectés en 1994, 1995, 2000, 2005 et 2006.

Tableau 2. Les sites prospectés avec les plantes hôtes dominantes.

Régions	Nombre de sites	Plantes hôtes dominantes
Sud-Ouest	3	<i>U. guineensis</i> et <i>B. grandiflora</i>
	2	<i>Isoberlinia</i> spp
	1	<i>A. africana</i>
	1	<i>I. dalziellii</i> et <i>M. Kerstingii</i>
	1	<i>Isoberlinia</i> spp et <i>M. kerstingii</i>
	1	<i>M. kerstingii</i>
	1	<i>U. somon</i> et <i>Isoberlinia</i> spp
Sud	2	<i>I. doka</i>
	1	<i>A. africana</i>
	1	<i>I. doka</i> et <i>A. africana</i>
Est	2	<i>I. doka</i>
	1	<i>A. africana</i>
	1	<i>I. doka</i> et <i>A. africana</i>

Les sites du Sud et de l'Est ont été prospectés en 2000 et les champignons recherchés et fréquents étaient essentiellement des Sclérodermes.

Excepté les sites des galeries forestières, les autres espèces sont rencontrées dans les forêts claires et les savanes.

Les missions de prospections ont été effectuées en saison pluvieuse, période de fructification des champignons, en particulier en juin, juillet et août. Au cours de ces prospections, tous les champignons réputés mycorhiziens et fructifiant à proximité de ces essences sont récoltés. Ils sont soigneusement nettoyés et photographiés, puis décrits morphologiquement avec des détails du chapeau, stipe et couleur après coupe, ... Ils sont transportés au laboratoire pour isolement en culture pure et/ou séchés à l'étuve ventilée à 50 °C et conservés en herbier au laboratoire de microbiologie de l'Inera/DPF.

Les différentes prospections ont permis de récolter des champignons appartenant à 8 ordres et 18 genres toutes plantes hôtes confondues (tabl. 3). Les genres les plus représentés sont les *Russula*, *Boletellus*, *Leccinum*, *Amanita* et *Scleroderma*. Des tentatives d'isolement en culture pure à partir des différents carpophores récoltés ont permis d'isoler essentiellement les espèces du genre *Scleroderma* (Sanon *et al.*, 1997 ; Sanon, 1999). Le statut mycorhizien de ces isolats a été confirmé *in vitro* vis-à-vis de certaines plantes hôtes.

Tableau 3. Les genres de champignons ectomycorhiziens (identifiés par leur morphologie) des formations forestières du Burkina Faso.

Ordres	Genres	Nombre d'espèces
Aphylophorales	<i>Coltricia</i>	(1)
Agaricales	<i>Amanita</i>	(8)
	<i>Amanitopsis</i>	(3)
	<i>Inocybe</i>	(2)
Boletales	<i>Boletus</i>	(3)
	<i>Boletellus</i>	(9)
	<i>Chalciporus</i>	(3)
	<i>Leccinum</i>	(8)
	<i>Phylloporus</i>	(1)
	<i>Strobilomyces</i>	(2)
	<i>Tuboseata</i>	(1)
	<i>Xerocomus</i>	(4)
Cantharellales	<i>Cantharellus</i>	(3)
Gautieriales	<i>Austrogautiera</i>	(1)
Hymenogastreales	<i>Sclerogaster</i>	(1)

Russulales	<i>Lactarius</i>	(4)
	<i>Russula</i>	(18)
Sclerodermatales	<i>Scleroderma</i>	(6)

Sanon *et al.* (1997), Sanon (1999), Sanon (2007), Ducouso (comm. personnelle).

Une analyse de la diversité génétique des différentes espèces de *Scleroderma* et des essais de mycorhization contrôlée en pépinière ont ensuite été conduits.

2.3. LE GENRE *SCLERODERMA*

Le genre *Scleroderma* est un gastéromycète de la famille des Sclerodermataceae. C'est un genre très répandu en zone tropicale et tempérée et un symbionte de beaucoup de familles de plantes tropicales et tempérées de grande importance économique telles que Pinaceae, Myrtaceae, Fagaceae, Dipterocarpaceae et la sous-famille Caesalpinioideae (Munyanziza et Kuyper, 1995 ; Sims *et al.*, 1997).

En fonction des caractéristiques morphologiques des carpophores, des spores et du mycélium en culture, plus de 25 espèces ont été décrites (Sims *et al.*, 1995 ; Sims *et al.*, 1997 ; Guzman *et al.*, 2004). Néanmoins, certaines espèces restent indéterminées en particulier en Afrique tropicale et en Asie (Sanon *et al.*, 1997 ; David et David, 1998 ; Sims *et al.*, 1999). Une clé révisée de détermination des espèces du genre *Scleroderma* a été élaborée par Sims *et al.* (1995). Cette clé est basée essentiellement sur les caractéristiques des spores et du péridium. Ainsi, les *Scleroderma* appartiennent à trois morphotypes ou sections en fonction de la morphologie de leurs spores : la section *Aculeatispora* avec des spores épineuses ou verruqueuses ; la section *Sclerangium* à spores sub-réticulaires et la section *Scleroderma* avec des spores totalement couvertes de réticulum.

2.3.1. DIVERSITE MORPHOLOGIQUE

Au cours de nos prospections dans les formations forestières renfermant les essences à ectomycorhizes au sud-ouest, sud et est du Burkina, les Sclérodermes ont été les plus fréquemment rencontrés. Ils fructifient abondamment surtout en début de saison pluvieuse

(juin-début juillet) et sont presque absents lorsque les pluies sont bien installées et abondantes.

Les carpophores récoltés de 1994 à 1997 et en 2000 ont été décrits morphologiquement. Ils sont tous sphériques ou subsphériques et contractés à la base pour former ou non une structure en forme de tige (fig. 1). La face externe du péridium peut être aréolée, lisse, ou en forme d'écaille. La couleur et l'ornementation des péridiums et spores ont permis d'identifier 6 espèces morphologiques appartenant aux sections *Aculeatispora* et *Scleroderma* et un nouveau groupe non encore décrit dans la littérature (tabl. 4 ; fig. 2).

2.3.2. MISE EN CULTURE

Une partie des carpophores fraîchement récoltés est utilisée pour les isolements en culture. Les isolements de mycélium végétatif sont effectués sur des carpophores fermes selon la technique décrite par Bâ (1990). Sur une paillasse ou une table désinfectée à l'alcool et à proximité d'une flamme, les carpophores sont débarrassés des particules de sol avec un pinceau et du coton imbibé d'alcool (96 %) puis fractionnés en deux. À l'aide d'un scalpel flambé, des fragments de carpophores sont prélevés dans la partie interne du péridium et déposés sur milieu gélosé MNM (CaCl_2 , $2\text{H}_2\text{O}$, 0,05 g ; NaCl , 0,025 g ; KH_2PO_4 , 0,5 g ; $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, 0,25 g ; MgSO_4 , $7\text{H}_2\text{O}$, 0,15 g ; FeCl_3 (1 %), 1,2 ml ; Thiamine HCl (50 mg/500 ml), 1 ml ; Extrait de Malt, 3 g ; Glucose, 10 g ; H_2O distillée, qsp 1 l ; pH 5,5 ; Agar, 15 g) (Marx, 1969) en boîtes de Petri, puis incubés à 30 °C dans une étuve. Des repiquages successifs sur milieu MNM gélosé contenant de l'antibiotique (streptomycine à 300 ppm dans MNM) ont permis d'éliminer les contaminants bactériens et d'obtenir des cultures pures de mycéliums ectomycorhiziens dicaryotiques. Ces cultures sont maintenues par repiquage sur le milieu MNM gélosé une fois par mois.

Figure 1. Carpophores de *S. verrucosum*

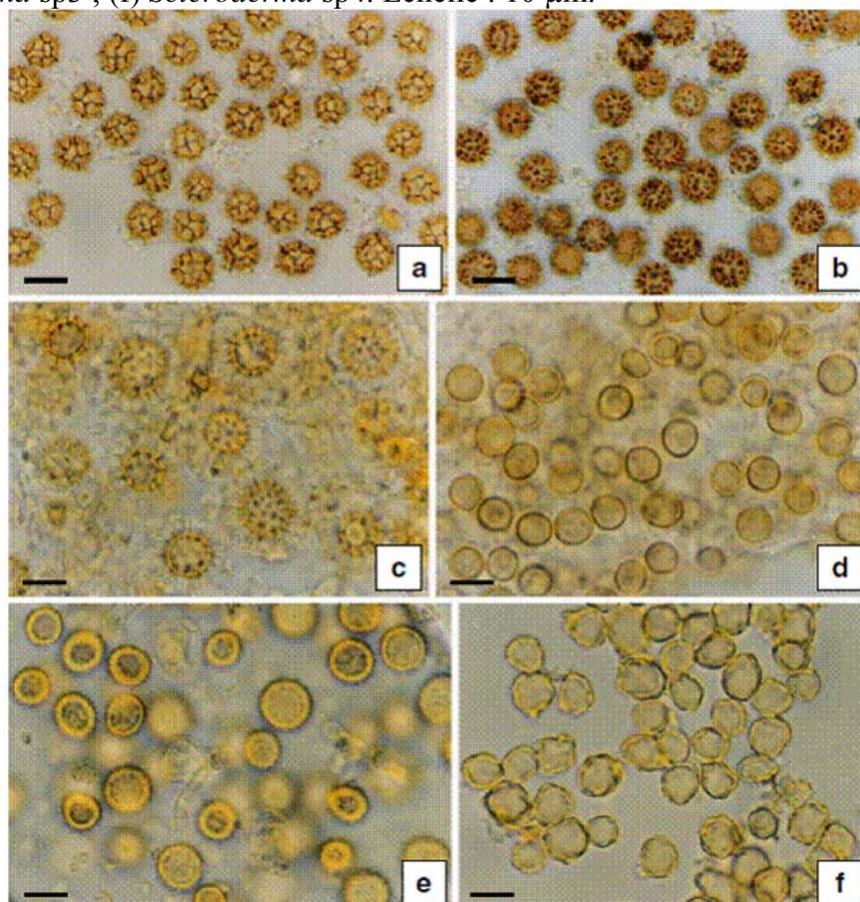


Tableau 4. Description des carpophores et basidiospores des espèces de *Scleroderma*.

Espèces	Couleur des carpophores	Diamètres des spores (µm)	Ornementation des spores	Sections
<i>Scleroderma dictyosporum</i>	Brun-noir	7-9	réticulé	<i>Scleroderma</i>
<i>Scleroderma verrucosum</i>	Brun	5-9	verruqueux, 1-2 µm	<i>Aculeatispora</i>
<i>Scleroderma</i> sp1	Brun-rosâtre	9-13	épineux, 2-3 µm	<i>Aculeatispora</i>
<i>Scleroderma</i> sp2	Brun	5-7	-	Nouveau
<i>Scleroderma</i> sp3	Brun	5-10	Très petites épines	<i>Aculeatispora</i>
<i>Scleroderma</i> sp4	Jaunâtre	7-9	-	Nouveau

Sanon *et al.* (2009a).

Figure 2. Basidiospores de *Scleroderma* spp. Observées au microscope photonique (G.100x). (a) *S. dictyosporum* ; (b) *S. verrucosum* ; (c) *Scleroderma* sp1 ; (d) *Scleroderma* sp2 ; (e) *Scleroderma* sp3 ; (f) *Scleroderma* sp4. Échelle : 10 µm.



Les isollements ont permis de mettre en culture une vingtaine d'isolats dont au moins un isolat par espèce morphologique ou morphotype. La liste des isolats disponibles et des carpophores en collection est présentée dans le tableau 5. Le mycélium est de couleur blanche à beige.

Tableau 5. Liste de la collection de carpophores et de cultures des espèces de *Scleroderma* avec les années de récoltes, les plantes hôtes et les origines géographiques. « IR » se réfère aux cultures et « SD, SV, SP1, SP2, SP3 ou SP4 » se réfèrent aux carpophores.

Espèces/Références	Période de récolte	Plantes hôtes	Origines/Provinces
<i>Scleroderma dictyosporum</i>			
IR109			
IR215	1994	<i>A. africana</i>	S-O (Houet)
IR250	1994	<i>I. doka, I. dalziellii</i>	S-O (Houet)
IR412	1996	<i>I. doka</i>	S-O (Comoé)
IR602	1996	<i>U. guineensis</i>	S-O (Houet)
SD-2871	1996	<i>M. kerstingii, I. dalziellii I. doka,</i>	S-O (Comoé)
SD-3601	1997	<i>I. dalziellii</i>	S-O (Comoé)
SD-2872	1997	<i>U. guineensis</i>	S-O (Comoé)
SD-6871	1997	<i>I. doka</i>	S-O (Houet)
SD-4901	1997	<i>M. kerstingii, I. dalziellii</i>	S-O (Comoé)
	2000	<i>U. somon</i>	S-O (Comoé)
<i>Scleroderma verrucosum</i>			
IR256			
IR500	1996	<i>I. doka, I. dalziellii</i>	S-O (Comoé)
IR600	1994	<i>U. somon</i>	S-O (Comoé)
IR114	1996	<i>M. kerstingii, I. dalziellii</i>	S-O (Comoé)
IR110	2000	<i>A. africana</i>	S (Nahouri)
IR118	2000	<i>A. africana</i>	S (Nahouri)

IR261	2000	<i>A. africana</i>	S (Nahouri)
SV-3871	2000	<i>I. doka</i>	S (Nahouri)
SV-5871	1997	<i>U. guineensis</i>	S-O (Comoé)
SV-2871	1997	<i>I. doka</i>	S-O (Comoé)
SV-5872	1997	<i>I. doka, I. dalziellii</i>	S-O (Comoé)
SV-2873	1997	<i>I. doka</i>	S-O (Houet)
SV-1801	1997	<i>M. kerstingii, I. dalziellii</i>	S-O (Comoé)
SV-2802	2000	<i>A. africana</i>	S (Nahouri)
SV-1803	2000	<i>I. doka</i>	S (Nahouri)
SV-1804	2000	<i>A. africana</i>	S (Nahouri)
SV-1902	2000	<i>A. africana</i>	E (Tapoa)
SV-2811	2000	<i>A. africana</i>	E (Tapoa)
SV-5602	2000	<i>I. doka</i>	S (Nahouri)
	2000	<i>U. guineensis</i>	S-O (Houet)
<hr/>			
<i>Scleroderma</i> sp1			
IR406	1994	<i>U. guineensis</i>	S-O (Houet)
IR409	1995	<i>U. guineensis</i>	S-O (Houet)
IR410	1996	<i>U. guineensis</i>	S-O (Houet)
SP1-4871	1997	<i>U. guineensis</i>	S-O (Houet)
<hr/>			
<i>Scleroderma</i> sp2			
IR100	1994	<i>A. africana</i>	S-O (Houet)
IR510	1996	<i>U. somon</i>	S-O (Comoé)
IR134	2000	<i>A. africana</i>	S-O (Houet)
IR263	2000	<i>I. doka, I. dalziellii</i>	S-O (Comoé)
SP2-1802	2000	<i>A. africana, I. doka</i>	S (Nahouri)
SP2-2801	2000	<i>I. doka</i>	S (Nahouri)
SP2-1806	2000	<i>A. africana, I. doka</i>	E (Tapoa)
SP2-2803	2000	<i>I. doka</i>	S (Sissili)
SP2-2901	2000	<i>I. doka</i>	E (Tapoa)
SP2-4902	2000	<i>U. somon</i>	S-O (Comoé)
SP2-2902	2000	<i>I. doka</i>	S-O (Comoé)
SP2-7901	2000	<i>I. doka, I. dalziellii, A. africana,</i>	S-O (Comoé)

<i>U. somon, M. kerstingii</i>			
SP2-3901	2000	<i>M. kerstingii</i>	S-O (Comoé)
SP2-1901	2000	<i>A. africana</i>	E (Tapoa)
SP2-5601	2000	<i>U. guineensis</i>	S-O (Houet)
<i>Scleroderma</i> sp3			
IR252	1996	<i>U. somon</i>	S-O (Comoé)
<i>Scleroderma</i> sp4			
IR408	1995	<i>U. guineensis</i>	S-O (Houet)
IR265	2000	<i>I. doka</i>	S-O (Houet)
SP3-2903	2000	<i>I. doka</i>	S-O (Houet)

Sanon *et al.* (2009a). S-O = Sud-Ouest ; S = Sud ; E = Est.

2.3.3. STATUT SYMBIOTIQUE DES ISOLATS

Les différents isolats en culture ont été ensuite testés pour confirmer leur statut mycorhizien vis-à-vis de quelques plantes hôtes. Les premiers isolats obtenus ont été testés sur *A. africana*, *A. quanzensis*, *I. doka*, *I. dalziellii* et *Brachystegia specififormis* (tabl. 6). La synthèse a été réalisée suivant la méthode décrite par Sanon *et al.* (1997, 2002). Elle s'effectue en conditions semi-axéniques dans des minirhizotrons qui sont des parallélépipèdes plats transparents en polystyrène (20 x 8 x 2,5 cm) ouvrables sur une face (Riedacker, 1974). Ils sont inclinés en expérimentation de 30° à 45 °C du côté de la face ouvrable permettant l'étude du système racinaire.

Les mycorhizes obtenues ont fait l'objet de coupe et observation au microscope photonique. La présence du manteau et du réseau de Hartig permet de confirmer le statut mycorhizien de ces isolats de *Scleroderma* vis-à-vis des plantes hôtes testées (Sanon *et al.*, 1997 ; Sanon *et al.*, 2002).

2.3.4. DIVERSITE GENETIQUE DES *SCLERODERMA* RECOLTES AU BURKINA FASO

Des différences inter- et intraspécifiques dans la capacité mycorhizogène ou la stimulation de croissance des plantes hôtes ont été mises en évidence chez les champignons ectomycorhiziens au cours de différents travaux réalisés au laboratoire, en pépinière et au champ (Malajczuk *et al.*, 1990 ; Lei *et al.*, 1990 ; Le Tacon *et al.*, 1992 ; Thomson *et al.*,

1994 ; Bâ *et al.*, 1999, 2002 ; Diédhiou *et al.*, 2005). Afin de vérifier si le gain de croissance des plantes hôtes résulte des symbiotes inoculés, il est indispensable d'apprécier la persistance de ceux-ci. En absence de fructification, l'étude de la persistance du mycosymbionte implique qu'il soit possible de l'identifier à partir des mycorhizes formées *in situ*. Pourtant, l'identification des champignons ectomycorhiziens sur les racines est assez délicate, ceci étant dû à des caractéristiques morphologiques et structurales peu variables (Agerer, 1987 ; Gardes *et al.*, 1991 ; Sanon, 1999 ; Sanon *et al.*, 2002). Pour remédier à ces difficultés, les techniques de biologie moléculaire sont de plus en plus utilisées pour permettre l'identification de champignons ectomycorhiziens à partir de carpophores, de mycélium en culture et de mycorhizes.

Tableau 6. Infectivité de certains isolats fongiques vis-à-vis de *A. africana* (*A. a.*), *A. quanzensis* (*A. q.*), *I. doka* (*I. do.*), *I. dalziellii* (*I. da.*) et *Brachystegia speciformis* (*B. s.*).

Isolats/espèces	Plantes hôtes d'origine	Plantes testées				
		<i>A. a.</i>	<i>A. q.</i>	<i>I. do.</i>	<i>I. da.</i>	<i>B. s.</i>
IR109 <i>S. dictyosporum</i>	<i>A. africana</i>	+	+	+	+	+
IR406 <i>Scleroderma</i> sp1	<i>U. guineensis</i>	+	+	+	+	+
IR408 <i>Scleroderma</i> sp2	<i>U. guineensis</i>	+	+	+	+	+
IR500 <i>S. verrucosum</i>	<i>U. somon</i>	+	+	+	+	+
ORS 7731 <i>S. dictyosporum</i> *	<i>A. africana</i>	+	+	+	+	+

Sanon *et al.* (1997). (+) = présence du manteau et du réseau de Hartig, (*) Isolat provenant du Sénégal.

Aussi, bien que les caractéristiques morphologiques permettent l'identification d'un nombre assez important d'espèces du genre *Scleroderma*, les outils moléculaires offrent plus de précisions dans l'identification des champignons ectomycorhiziens (Hansen *et al.*, 2002 ; Rivière *et al.*, 2007 ; Tedersoo *et al.*, 2007).

Différentes études ont montré que l'amplification génique *in vitro* (PCR) suivie de l'étude du Polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP), le séquençage de l'espace interne transcrit (ITS) et de l'espace intergénique (IGS) sont parmi les outils les plus

importants d'analyse de la variabilité inter et intraspécifique des symbiontes fongiques (Liang *et al.*, 2004 ; Matsushita *et al.*, 2005 ; Ruiz-Diez *et al.*, 2006 ; Sica *et al.*, 2007). Les espaces de l'ADN ribosomal (ITS et IGS) sont connus pour être variables au niveau inter et intraspécifiques et utilisés comme marqueurs pour différencier plusieurs espèces ou isolats de champignons ectomycorhiziens (Karen *et al.*, 1997 ; Peter *et al.*, 2001 ; Horton, 2002 ; Gomes *et al.*, 2002).

Pour évaluer la diversité inter et intraspécifique des Sclérodermes récoltés au Burkina Faso, les régions ITS et IGS1 ont été amplifiées et digérées par deux enzymes de restriction *HinfI* et *MboI*. Des isolats et des carpophores indiqués dans le tableau 5 ont fait l'objet de cette étude. L'ADN a été extrait des isolats et des carpophores suivant les méthodes décrites par Grube *et al.* (1995) et Martin *et al.* (1997) ou le kit DNeasy suivant les instructions du fabricant. L'utilisation de l'une ou l'autre méthode est fonction du rendement de l'extraction d'ADN. Les amorces universelles ITS1/ITS4 et CNL12/5SA sont utilisées respectivement pour l'ITS et l'IGS1. Les conditions d'amplification, de digestion et d'électrophorèse sont décrites par Sanon *et al.* (2009a).

Parmi les six espèces morphologiques identifiées ci-dessus (tabl. 4 et 5), l'analyse du polymorphisme de longueur des fragments de restriction montre que chaque région, digérée par les deux enzymes de restriction, révèle 8 ribotypes communs notés, A, B, C, D, E, F, G et H avec 1 à 3 ribotypes au sein de chaque espèce morphologique (tabl. 7). Les figures 3 et 4 (Sanon *et al.*, 2009a) représentent la région ITS digérée par *MboI* et *HinfI* respectivement. Deux ribotypes ont été identifiés au sein du morphotype *S. dictyosporum* (A, B), trois pour *S. verrucosum* (C, D, E), un pour *Scleroderma* sp1 (F) et deux pour *Scleroderma* sp2 (G, H). Certains ribotypes sont plus représentés que d'autres, cas du ribotype A de *S. dictyosporum*, C de *S. verrucosum* et H de *Scleroderma* sp2. Cependant, aucune corrélation n'est établie entre l'origine (plante hôte) des espèces et les ribotypes observés. Les profils RFLP de *Scleroderma* sp3 et *Scleroderma* sp4 sont identiques à ceux du ribotype D de *S. verrucosum* et A de *S. dictyosporum* respectivement. Ceci suggère que ces deux espèces sont plutôt des morphotypes de *S. verrucosum* et *S. dictyosporum*.

Les six espèces morphologiques identifiées doivent être regroupées en 4 espèces à l'issue de cette analyse : *S. dictyosporum*, *S. verrucosum*, *Scleroderma* sp1 et *Scleroderma* sp2.

Figure 3. Gel agarose de l'ITS digéré par *Mbo*I. (M) Marqueur 100 pb ladder. Bandes (1) et (2) *Scleroderma dictyosporum* ; bandes (3), (4) et (5) *Scleroderma verrucosum* ; bande (6) *Scleroderma* sp1 et bandes (7) et (8) *Scleroderma* sp2.

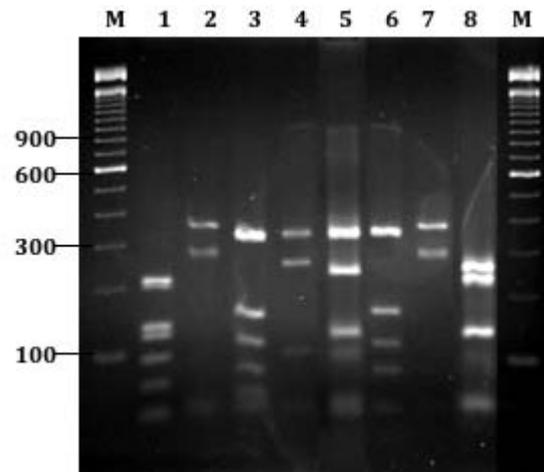


Figure 4. Gel agarose de l'ITS digéré par *Hinf*I. (M) Marqueur 100 pb ladder. Bandes (1) et (2) *Scleroderma dictyosporum* ; bandes (3), (4) et (5) *Scleroderma verrucosum* ; bande (6) *Scleroderma* sp1 et bandes (7) et (8) *Scleroderma* sp2.

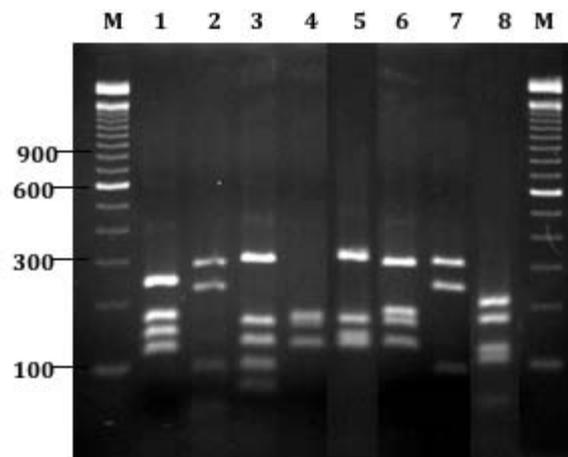


Tableau 7. Taille des fragments de restriction (en paires de bases) des régions ITS et IGS1 digérées par les enzymes de restriction *MboI* et *HinfI*. Les carpophores sont notés « SD, SV, SP1, SP2, SP3 ou SP4 » et les isolats « IR ». La liste des échantillons analysés figure dans le tableau 5. Les fragments inférieurs à 50 pb ne sont pas représentés sur le tableau.

Espèces	ITS		IGS1		Ribotypes
	<i>HinfI</i>	<i>MboI</i>	<i>HinfI</i>	<i>MboI</i>	
<i>S. dictyosporum</i> (4IR et 4SD)	174, 127, 113, 87, 60	208, 159, 135, 119	143, 135, 128	228, 153, 86	A
(1IR et 1SD)	287, 240	218, 198, 167	160, 151, 82	280, 240	B
<i>S. verrucosum</i> (5IR et 10SV)	311, 246, 93	171, 162, 153, 119	182, 167, 119	238, 151, 54	C
(2IR)	285, 146, 110, 66	254, 146, 124, 98, 77	182, 147, 63	228, 178	D
(2SV)	264, 114, 104, 94	208, 159, 135, 92	182, 139, 119	238, 210	E
<i>Scleroderma</i> sp1 (tous les échantillons)	322, 149, 110, 66	241, 153, 140, 119, 102	286, 143	228, 196, 54	F
<i>Scleroderma</i> sp2 (1SP2 et 2IR)	331, 294, 87	284, 227, 91	232, 143, 88	228, 153	G
(10SP2 et 2IR)	206, 186, 99	152, 137, 113, 106	173, 139, 124	231, 209	H
<i>Scleroderma</i> sp3 (1IR)	285, 146, 110, 66	254, 146, 124, 98, 77	182, 147, 63	228, 178	D
<i>Scleroderma</i> sp4 (2IR et 1SP4)	174, 127, 113, 87, 60	208, 159, 135, 119	143, 135, 128	228, 153, 86	A

Sanon *et al.* (2009).

Excepté le ribotype G de *Scleroderma* sp2, au moins deux ribotypes par espèce ont fait l'objet du séquençage de l'ITS incluant les espèces morphologiques *Scleroderma* sp3 et *Scleroderma* sp4. Ainsi, les séquences ITS ont été obtenues à partir de 9 carpophores et 16 isolats en culture. Elles ont été soumises à la base de données GenBank et les séquences similaires ont été identifiées à l'aide de l'algorithme Blastn.

Les séquences des *Scleroderma* du Burkina montrent une faible similarité avec d'autres *Scleroderma* dans GenBank. Sept géotypes différents ont été identifiés pour l'ensemble des 25 échantillons analysés et les 25 séquences ont été déposées dans GenBank (tabl. 8).

Tableau 8. Carpophores et isolats de *Scleroderma* séquencés avec les numéros d'accension dans GenBank et les pourcentages d'homologies avec des séquences de références. Les isolats sont notés « IR » et les carpophores « SD, SV, SP1, SP2, SP3 ou SP4 ».

Espèces/Ribotypes/ Références	N° d'accension dans GenBank	Pourcentage d'homologies avec des souches de référence dans GenBank
<i>S. dictyosporum</i>		
Ribotype A		
IR109	FJ840442	<i>S. areolatum</i> voucher JMP0080 (EU819438) (496/583, 85 %)
IR250	FJ840444	<i>S. areolatum</i> voucher JMP0080 (EU819438) (475/563, 84 %)
IR412	FJ840444	<i>S. areolatum</i> voucher RT00036 (EU819518) (439/513, 85 %)
IR602	FJ840447	<i>S. areolatum</i> voucher JMP0080 (EU819438) (499/587, 85 %)
IR408	FJ840445	<i>S. areolatum</i> voucher RT00036 (EU819518) (439/513, 85 %)
ORS7731	FJ840448	<i>S. areolatum</i> voucher RT00036 (EU819518) (547/665, 82 %)
Ribotype B		
IR215	FJ840443	<i>S. bovista</i> voucher RT00034 (EU81951) (423/503, 84 %)
SD-4901	FJ840449	<i>S. areolatum</i> voucher JMP0080 (EU819438) (378/438, 86 %)
<i>S. verrucosum</i>		
Ribotype C		
IR256	FJ840454	<i>S. cepa</i> voucher SOC541 (DQ453694) (545/615, 88 %)

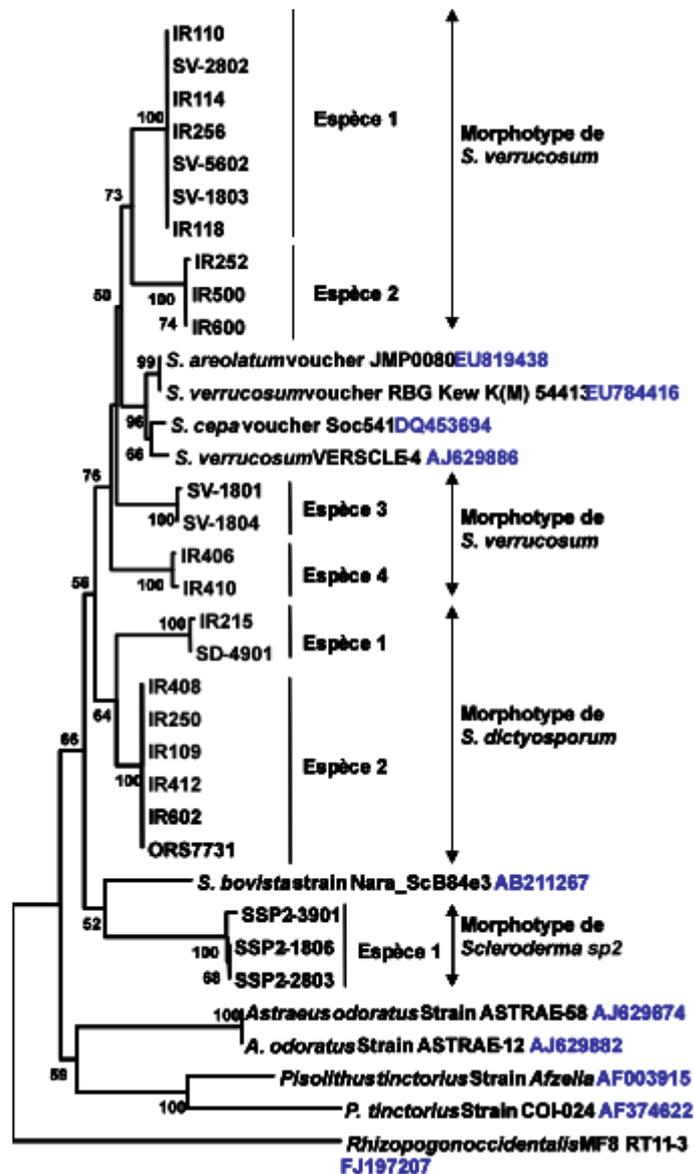
IR114	FJ840451	<i>S. cepa</i> voucher SOC541 (DQ453694) (579/654, 88 %)
IR110	FJ840450	<i>S. cepa</i> voucher SOC541 (DQ453694) (584/661, 88 %)
IR118	FJ840452	<i>S. cepa</i> voucher SOC541 (DQ453694) (583/661, 88 %)
SV1803	FJ840458	<i>S. cepa</i> voucher SOC541 (DQ453694) (586/665, 88 %)
SV2802	FJ840460	<i>S. cepa</i> voucher SOC541 (DQ453694) (589/665, 88 %)
SV5602	FJ840461	<i>S. cepa</i> voucher SOC541 (DQ453694) (545/614, 88 %)
Ribotype D		
IR500	FJ840455	Sclerodermataceae sp. TU103614 (AM412304) (544/613, 88 %)
IR600	FJ840456	Sclerodermataceae sp. TU103614 (AM412304) (541/611, 88 %)
IR252	FJ840453	Sclerodermataceae sp. TU103614 (AM412304) (570/642, 88 %)
Ribotype E		
SV1801	FJ840457	<i>S. verrucosum</i> strain VERSCLE-4 (AJ629886) (488/546, 89 %)
SV1804	FJ840459	<i>S. verrucosum</i> strain VERSCLE-4 (AJ629886) (489/546, 89 %)
Scleroderma sp1		
Ribotype F		
IR406	FJ840462	<i>S. cepa</i> voucher SOC541 (DQ453694) (551/630, 87 %)
IR410	FJ840463	<i>S. cepa</i> voucher SOC541 (DQ453694) (530/602, 88 %)
Scleroderma sp2		
Ribotype H		
SSP2-1806	FJ840464	<i>S. bovista</i> strain : Nara_ScB84e3 (AB211267) (577/618, 83 %)
SSP2-2803	FJ840465	<i>S. bovista</i> strain : Nara_ScB84e3 (AB211267) (498/592, 84 %)
SSP2-3901	FJ840466	<i>S. bovista</i> strain : Nara_ScB84e3 (AB211267) (484/585, 82 %)

Sanon *et al.* (2009a).

Les séquences ont été alignées, à l'aide du logiciel Gendoc (Nicholas et Nicholas, 1997), avec d'autres séquences de *Scleroderma*, *Pisolithus* et *Astraeus* de GenBank et aussi *Rizopogon occidentalis* MF8RT11-3 (Peay *et al.*, 2009) comme outgroup.

L'arbre phylogénétique, méthode de Neighbor-joining, construit (logiciel MEGA, Kumar *et al.*, 2004) à partir de ces séquences permet de distinguer 3 branches différentes (fig. 5). La branche 1 regroupe les espèces morphologiques *S. verrucosum* et *Scleroderma* sp1, la branche 2 rassemble les morphotypes de *S. dictyosporum* et la 3^e branche regroupe le morphotype *Scleroderma* sp2. Pour chaque branche, les ribotypes sont supportés par de fortes valeurs de bootstrap suggérant que les ribotypes identifiés au sein de chaque espèce morphologique peuvent être considérés comme des espèces phylogénétiques différentes comme dans le cas des espèces de *Pisolithus* (Martin *et al.*, 2002). Ainsi, les échantillons identifiés comme *S. verrucosum* regroupent 3 espèces, ceux identifiés comme *S. dictyosporum* regroupent deux espèces et une espèce séquencée pour *Scleroderma* sp2 (fig. 5).

Figure 5. Arbre phylogénétique, méthode Neighbor-joining, basé sur les séquences ITS des espèces de *Scleroderma*, *Astraeus* et *Pisolithus*. *Rhizopogon occidentalis* est utilisé comme outgroup. Les valeurs numériques sur les branches sont des valeurs de bootstrap pour 1 000 reproductions. (Sanon *et al.*, 2009a).



Scleroderma sp1, plus proche de *S. verrucosum* que de toute autre espèce, duquel il diffère par quelques délétions et insertions au niveau de l'ITS2, appartiendrait au morphotype *S. verrucosum* (espèce 4). Les deux espèces morphologiques *Scleroderma* sp3 (IR252) et *Scleroderma* sp4 (IR408) sont supportées par des valeurs de bootstrap élevées (100 %) avec l'espèce 2 des morphotypes *S. verrucosum* et *S. dictyosporum* respectivement (fig. 5). Ceci confirme les résultats obtenus par PCR/RFLP et montre que *Scleroderma* sp3 (IR252) et *Scleroderma* sp4 (IR408) sont respectivement des morphotypes de *S. verrucosum* et *S. dictyosporum*.

Scleroderma sp2 est génétiquement éloigné des autres espèces analysées, mais reste regroupé avec le genre *Scleroderma*. La morphologie des spores de cette espèce suggère qu'il pourrait s'agir d'une nouvelle espèce spécifique à l'Afrique. Cependant, des études complémentaires s'avèrent nécessaires sur un nombre plus important d'échantillons et aussi sur le séquençage du second ribotype de cette espèce.

3. MYCORHIZATION CONTROLEE DE *AFZELIA* SPP.

La technique qui consiste à associer une souche de champignon mycorhizien bien définie et compatible avec la plante hôte dans des conditions contrôlées et à évaluer l'effet de ce champignon sur la croissance de l'hôte est appelée « mycorhization contrôlée ». Elle permet la sélection de champignons compatibles et efficaces pour la production de plants pour le reboisement. Les critères de sélection des meilleures souches sont entre autres l'aptitude à la mycorhization des jeunes plants, l'effet bénéfique sur la croissance des plants inoculés et la teneur en éléments minéraux des différents organes des plants, en particulier le phosphore. Cette meilleure nutrition traduit une efficacité dans l'absorption de ces éléments par le champignon associé. Aussi, la longueur du réseau extramatriciel développé dans le sol par le mycosymbionte ou la proportion d'hyphes métaboliquement actifs dans le sol associée aux autres paramètres, sont également indiquées par certains auteurs comme pouvant caractériser l'efficacité du champignon (Jones *et al.*, 1990 ; Hamel *et al.*, 1990).

Cette technique est très largement utilisée en zone tempérée (France, Espagne, USA, Canada, ...) (Le Tacon *et al.*, 1992). En revanche, elle a fait l'objet de très peu d'études sur les

arbres tropicaux, en particulier en Afrique. Néanmoins, ces dernières années, il y a un regain d'intérêt pour l'étude de la mycorhization contrôlée de quelques essences locales.

Au Burkina Faso, les travaux sur la mycorhization contrôlée ont principalement porté sur les espèces du genre *Scleroderma* compte tenu des critères évoqués précédemment et la plante hôte *A. africana*, l'une des espèces à ectomycorhizes la plus importante au Burkina Faso et aussi *A. quanzensis*, une espèce de l'Afrique de l'Est.

3.1. PRODUCTION D'INOCULUM

Essentiellement deux types d'inoculum sont utilisés pour les essais de mycorhization contrôlée et de production de plants pour le reboisement : l'inoculum solide constitué de mycélium de champignons en culture et l'inoculum spores pour les champignons qui en produisent suffisamment telles les espèces des genres *Scleroderma* et *Pisolithus*.

L'inoculum solide a été utilisé au cours de deux expériences sur *A. africana* et *A. quanzensis* en pépinière.

L'inoculum solide est produit sur un substrat composé de tourbe et de vermiculite suivant la méthode décrite par Duponnois et Garbaye (1991). Le mycélium végétatif est repiqué sur milieu gélosé MNM (Marx, 1969) et incubé à 30 °C pendant deux à trois semaines. Des bocaux de 800 ml sont remplis à moitié avec un mélange de tourbe et de vermiculite (1/4 ; v/v) et autoclavés à 120 °C pendant 20 min. Après refroidissement, 300 ml de milieu liquide MNM sont additionnés au contenu des bocaux qui sont de nouveau autoclavés. Une dizaine d'implants fongiques de mycélium végétatif de chaque souche sont repiqués dans chaque bocal. Les bocaux inoculés sont hermétiquement fermés et incubés à l'étuve à 30 °C. Ils sont agités régulièrement au fur et à mesure que le champignon colonise le substrat afin d'améliorer la croissance du mycélium.

3.2. METHODE D'INOCULATION

La mycorhization contrôlée de ces deux espèces a été conduite sur un substrat (sol de Sangalkam, Sénégal) exempt de propagules ectomycorhiziens et dont quelques

caractéristiques physico-chimiques sont : argile (5,4 %), limon (5,8 %), sable (88,8), pH eau (6,03), C total (0,39 %), N total (0,027 %), MO total (0,68 %), C/N 14, P total (41,92 %), P assimilable, Bray 1 (2,15 %). Le substrat est tamisé et mélangé à l'inoculum (10 : 1, v/v). Le mélange est distribué dans des sachets en polyéthylène de 2 litres et arrosé à l'eau de robinet.

Les graines pré-germées y sont repiquées à raison de 2 graines par gaine. Dix jours après repiquage des graines, le nombre de plantules est réduit à une par gaine.

Pour *A. africana*, deux provenances ont été inoculées ou non avec deux isolats de *S. dictyosporum* (IR109 et IR408), un isolat de *S. verrucosum* (IR406) et un isolat de *Telephora* sp (ORSXM002) (Sanon, 1999 ; Diédhiou *et al.*, 2004) issu de mycorhize au Sénégal (Bâ et Thoen, 1990). Les deux provenances de *A. africana* sont : Nazinga au Burkina Faso (AaBF) et Diatock au Sénégal (AaSN). Le dispositif expérimental est de type factoriel (2 provenances x (4 champignons + 1 témoin)) et les traitements, répétés chacun 10 fois ont été disposés en randomisation simple sous un abri grillagé non étanche dans les conditions climatiques de Dakar (température moyenne journalière 25-30 °C, photopériode environ 12 h). L'arrosage a été effectué une fois par jour avec l'eau du robinet. L'expérience a duré 4 mois.

Quant à *A. quanzensis*, une provenance de l'Afrique de l'Est dont les graines ont été fournies par Kenya Forestry Seed Center (Nairobi, Kenya) a été testée. Les deux meilleurs isolats identifiés dans le cadre de l'expérimentation précédente ont été utilisés : *S. dictyosporum* IR408 et *Telephora* sp. ORSXM002. Le dispositif est une randomisation simple avec 3 traitements et 10 répétitions par traitement. Les conditions expérimentales sont identiques à celles ci-dessus et l'essai a duré également 4 mois.

3.3. PARAMETRES MESURES

Différents paramètres ont souvent été utilisés pour évaluer l'effet de l'inoculation mycorhizienne sur la croissance des plantes hôtes. Il s'agit essentiellement des paramètres de croissance et de nutrition et aussi de la longueur du réseau extramatriciel développé dans le sol par le mycélium du champignon.

Ces différents paramètres ont été mesurés au cours des expérimentations de mycorhization contrôlée ci-dessus citées.

3.3.1. CROISSANCE ET NUTRITION DES DEUX PROVENANCES DE *A. AFRICANA*

Dans cette étude, les deux provenances diffèrent dans leur réponse à l'inoculation avec les 4 souches fongiques. Le taux de mycorhization varie à peu près dans les mêmes proportions pour les deux provenances, 32 % à 69 % pour AaBF et 22 % à 64 % pour AaSN (tabl. 9). Pour la provenance du Burkina Faso (AaBF), les meilleurs taux de mycorhization ont été obtenus avec *S. dictyosporum*, IR109 (69 %) et IR408 (64 %). *Telephora* sp. ORSXM002 mycorhize moyennement AaBF avec un taux de 46 %. *S. verrucosum* IR406 présente un taux plus faible de 32 %. Les isolats IR408 et IR406 donnent les taux de mycorhization les plus faibles (22 % et 32 %) avec la provenance *A. africana* du Sénégal.

La croissance de AaSN n'est pas améliorée par l'inoculation malgré des taux de mycorhization de 58 % et 64 % avec IR109 et ORSXM002 respectivement, alors que celle de AaBF est améliorée par l'inoculation avec IR408 et ORSXM002 (tabl. 9). L'augmentation de croissance observée pour cette provenance peut être attribuée au développement du système racinaire qui est reflété par la biomasse totale des plants inoculés. Ces résultats confirment ceux obtenus par Bâ (1990) sur l'effet positif de l'inoculation avec ORSXM002 sur la croissance d'une provenance de *A. africana* (provenance Bayottes) dû à une augmentation de la biomasse racinaire. Ils sont également en accord avec ceux obtenus par Diédhiou *et al.* (2005) sur une provenance sénégalaise de *A. africana* inoculée pendant 7 mois en pépinière avec différents champignons mycorhiziens dont IR408 et ORSXM002.

La dépendance mycorhizienne des deux provenances de *A. africana* est relativement faible 0,15 % à 32 % comparativement aux valeurs obtenues avec les espèces tropicales introduites en Afrique de l'Ouest telles l'hybride *Eucalyptus urophylla* x *E. kirtonia* et *Acacia mangium* (Garbaye *et al.*, 1988 ; Duponnois et Bâ, 1999). Néanmoins, la comparaison est difficile compte tenu des conditions de culture différentes. Une dépendance mycorhizienne d'au plus 30 % a également été obtenue avec une autre provenance de *A. africana* inoculée avec différents isolats de *Scleroderma*, un isolat de *Pisolithus* et *Telephora* sp. ORSXM002 après 7 mois de culture (Diédhiou *et al.*, 2005).

Tableau 9. Effet de l'inoculation avec différents isolats de champignons ectomycorhiziens sur les paramètres de croissance des plants de deux provenances de *A. africana*.

Provenances de <i>A. africana</i> /Isolats inoculés	Hauteur	Biomasse aérienne	Biomasse racinaire	Biomasse totale	Taux de mycorhization	Longueur du réseau extramatriciel	Dépendance mycorhizienne
AaBF							
IR109	41,97 b	4,98 a	2,83 abc	7,81 ab	69,00 a	2,00 a	21,25 ab
IR406	44,96 ab	5,20 a	2,53 bc	7,73 ab	32,00 abc	2,47 a	20,43 ab
IR408	47,78 ab	5,71 a	3,29 ab	9,00 a	64,00 a	1,81 a	31,66 a
ORSXM002	47,78 ab	5,12 a	3,98 a	9,10 a	46,00 ab	1,66 a	32,24 a
Témoin	42,75 b	4,39 a	1,76 c	6,15 b	0,00 c	-	-
	38,98 b						
AaSN							
IR109		4,27 a	2,07 bc	6,34 b	58,00 ab	2,81 a	0,15 b
IR406	46,85 ab	4,23 a	2,71 abc	6,95 ab	38,00 ab	1,95 a	8,92 ab
IR408		4,86 a	2,17 bc	7,03 ab	22,00 bc	2,62 a	9,95 ab
ORSXM002	47,80 ab	5,26 a	2,92 abc	8,18 ab	64,00a	1,95 a	22,61 ab
Témoin	52,40 a	4,62 a	1,73 c	6,33 b	0,00 c	-	-
	52,78 a						
	52,60 a						

Bâ *et al.* (1999).

Un des principaux effets de la mycorhization est d'améliorer la concentration en P des plantes hôtes. En comparant les traitements témoins et ceux inoculés, l'augmentation de la concentration en P, N, Mg et Ca des plants pour certaines souches n'est pas liée avec la stimulation de la croissance des plants en termes de biomasse produite, sauf pour IR408 inoculée à la provenance AaBF pour la teneur en P (tabl. 10). Seule la concentration en K des feuilles est plus élevée au niveau des plants inoculés par rapport aux témoins, mais sans lien avec la stimulation de croissance des plants. Ceci suggère que ces éléments minéraux ne sont

pas des facteurs limitants pour la croissance de ces deux provenances. Ainsi, le taux élevé de la mycorhization pour certaines souches ne se traduit pas forcément par une concentration élevée en éléments minéraux des feuilles des plants inoculés, il n’y a aucun lien évident entre le niveau de colonisation des plants inoculés et le potentiel pour les plants d’en bénéficier.

L’efficacité des isolats et espèces testés n’est également pas liée au réseau extramatriciel développé dans le sol (tabl. 9). Par conséquent, la sélection de souches efficaces ne peut se faire sur la base du taux de mycorhization et de la longueur du réseau extramatriciel même si ces critères ont été utilisés par d’autres auteurs (Thomson *et al.*, 1994 ; Jones *et al.*, 1990).

En conclusion, deux espèces fongiques *S. dictyosporum* IR408 et le *Telephora* sp.ORSXM002 semblent être les espèces les plus appropriées pour améliorer la croissance des plants de *A. africana*.

Tableau 10. Effet de l’inoculation avec différents isolats de champignons ectomycorhiziens sur la nutrition minérale des plants de deux provenances de *A. africana*.

Provenances de <i>A. africana</i> /Isolats inoculés	N (%)	P (%)	K (%)	Mg (%)	Ca (%)
AaBF					
IR109	1,96 d	0,11 bc	1,41 cde	0,65 ab	2,13 bc
IR406	2,33 ab	0,09 c	2,12 a	0,65 a	2,65 ab
IR408	1,94 d	0,14 a	1,66 bc	0,56 abc	1,77 c
ORSXM002	1,85 d	0,10 bc	1,45 cd	0,58 abc	1,99 c
Témoin	2,02 cd	0,10 bc	1,02 e	0,50 c	2,00 c
AaSN					
IR109	2,03 cd	0,13 ab	1,55 c	0,55 abc	1,82 c
IR406	2,28 abc	0,10 bc	2,05 ab	0,62 abc	2,65 a
IR408	2,54 abc	0,11 bc	2,11 a	0,64 ab	3,09 a
ORSXM002	2,08 bcd	0,12 abc	1,80 abc	0,57 abc	1,76 c

Témoin	1,90 d	0,10 bc	1,13 de	0,53 bc	2,20 bc
--------	--------	---------	---------	---------	---------

Bâ *et al.* (1999).

3.3.2. CROISSANCE ET NUTRITION DE *A. QUANZENSIS*

À la suite de l'étude précédente sur l'inoculation des deux provenances de *A. africana*, les deux isolats prometteurs identifiés ont été testés sur *A. quanzensis* (Bâ *et al.*, 2002).

A. quanzensis répond différemment à l'inoculation avec les deux isolats. *Telephora* sp. ORSXM002 colonise bien le système racinaire des plants inoculés et stimule la biomasse racinaire par rapport à *S. dictyosporum* IR408 (tabl. 11). Le taux de mycorhization obtenu avec ORSXM002 (66,40 %) est similaire à celui obtenu avec la provenance sénégalaise de *A. africana* (64 %) (Bâ *et al.*, 1999). Par contre, pour IR408, ce taux est très faible (19,40 %). La stimulation de la biomasse racinaire par ORSXM002 n'est pas reflétée au niveau de la biomasse totale des plants qui n'est stimulée par aucune souche. Pourtant, cette souche a stimulé la biomasse totale de *A. africana* dans les mêmes conditions. Par conséquent, la dépendance mycorhizienne de *A. quanzensis* vis-à-vis de ces deux espèces n'excède pas 16 %, ce qui est assez faible comparativement à *A. africana* (Bâ *et al.*, 1999). Ces données suggèrent que l'origine différente des souches et de la plante hôte pourrait avoir une influence dans la réponse à l'inoculation de *A. quanzensis* par rapport à *A. africana*.

Comme dans le cas des deux provenances de *A. africana*, seule la teneur en K des parties aériennes est plus importante chez les plants inoculés avec les deux espèces (tabl. 12). Néanmoins, cette teneur n'est pas significativement différente entre les deux espèces malgré un taux de mycorhization et un réseau extramatriciel plus importants pour les plants inoculés avec ORSXM002.

Tableau 11. Effet de l'inoculation avec IR408 et ORSXM002 sur les paramètres de croissance des plants de *A. quanzensis*.

<i>A. quanzensis</i> /Isolats inoculés	Hauteur	Biomasse aérienne	Biomasse racinaire	Biomasse totale	Taux de mycorhization	Dépendance mycorhizienne
IR408	69,86 b	8,84 a	2,26 a	11,10 a	19,40 b	3,50 a
ORSXM002	68,22 ab	9,14 a	3,60 b	12,75 a	66,40 a	16,00 a
Témoin	64,28 a	8,80 a	1,91 a	10,71 a	0,00 c	-

Bâ *et al.* (2002).

Tableau 12. Effet de l'inoculation avec IR408 et ORSXM002 sur la nutrition minérale des plants de *A. quanzensis*.

<i>A. quanzensis</i> /Isolats inoculés	N (%)	P (%)	K (%)	Mg (%)	Ca (%)
IR408	2,09 a	0,13 a	1,63 b	0,58 a	1,66 ab
ORSXM002	2,14 a	0,14 a	1,56 b	0,58 a	1,56 a
Témoin	2,15 a	0,12 a	0,81 a	0,59 a	1,86 b

Bâ *et al.* (2002).

4. CONCLUSION

Ces travaux nous ont permis d'identifier pour la première fois les champignons ectomycorhiziens associés à sept plantes hôtes au sud-ouest, sud et est du Burkina Faso (*A. africana*, *B. grandiflora*, *I. doka*, *I. dalzeillii*, *M. kerstingii*, *U. guineensis*, *U. somon*). Tous les champignons récoltés appartiennent à des genres ectomycorhiziens déjà identifiés et certains ont été identifiés au niveau spécifique. Une diversité insoupçonnée des champignons ectomycorhiziens (environ 78 espèces morphologiques) a pu être mise en évidence malgré les conditions géoclimatiques des régions prospectées et la fluctuation de la fructification de ces champignons d'une année à l'autre en zone peu humide.

Notre inventaire a révélé une abondance relative des espèces des genres *Russula*, *Boletus*, *Leccinum*, *Amanita* et *Scleroderma*. Pour ce dernier genre, 6 espèces ont été identifiées en fonction des caractéristiques morphologiques des carpophores et des spores. Ce sont essentiellement ces espèces du genre *Scleroderma* que nous avons pu maintenir en culture. Elles sont peu spécifiques, car elles ont été fréquemment rencontrées sous pratiquement toutes les plantes hôtes. Leur facilité d'isolement en culture pure fait d'eux des candidats potentiels pour des tests de mycorhization contrôlée d'où un intérêt particulier pour ce genre.

La capacité mycorhizogène des isolats représentatifs des espèces morphologiques de *Scleroderma* identifiées a été mise en évidence vis-à-vis de certaines plantes hôtes (*A. africana*, *A. quanzensis*, *Isobertinia doka*, *I. dalziellii* et *Brachystegia speciformis*). Ces résultats ont montré que les Sclérodermes sont peu spécifiques et peuvent être considérés comme des champignons précoces capables de mycorhizer les jeunes plants d'une large gamme d'hôtes et de se maintenir sur les pieds adultes.

L'étude de la diversité génétique des différents isolats et des carpophores des espèces morphologiques de *Scleroderma* par amplification génique des régions ITS et IGS1 et leur digestion par les enzymes *HinfI* et *MboI* ont révélé un à trois ribotypes au niveau des espèces morphologiques identifiées. Le séquençage de la région ITS des ribotypes a montré que les Sclérodermes récoltés au Burkina Faso appartiennent à au moins 7 espèces phylogénétiques : 4 espèces pour le morphotype *S. verrucosum*, 2 pour *S. dictyosporum* et une espèce pour le seul ribotype séquencé de *Scleroderma* sp2.

La morphologie particulière des spores de *Scleroderma* sp2 et sa position sur l'arbre phylogénétique par rapport aux autres espèces de *Scleroderma* suggèrent une nouvelle espèce spécifique à l'Afrique, en particulier à l'Afrique de l'Ouest. Cependant, des études plus approfondies sont nécessaires pour confirmer ou infirmer cette hypothèse.

Enfin, nous avons testé l'efficacité de 4 isolats fongiques, *S. dictyosporum* IR109 et IR408 ; *S. verrucosum* IR406 et *Telephora* sp. ORSXM002, sur la croissance et la nutrition minérale des plants de deux provenances d'*A. africana* en pépinière. Nous avons montré que l'inoculation induisait une stimulation plus ou moins importante de la croissance des plants (0,17 % à 48 % de gain de biomasse) et une amélioration de la nutrition minérale, surtout en potassium. L'utilisation de deux provenances d'*A. africana* a permis de mettre en évidence l'influence forte du fond génétique de la plante hôte sur l'effet bénéfique de la mycorhization. La dépendance mycorhizienne indique que la provenance sénégalaise est moins dépendante

des mycorhizes pour sa croissance que la provenance burkinabé. L'utilisation de souche efficace pour l'amélioration de la croissance des plants d'*A. africana* peut être orientée vers les isolats *S. dictyosporum* IR408 et *Telephora* sp. ORSXM002 pour les deux provenances. Cependant, ces isolats devront être auparavant testés dans d'autres conditions édaphiques.

Ces deux isolats testés sur une autre espèce d'*Afzelia* (*A. quanzensis*) de l'Afrique de l'Est ont montré un effet peu significatif par rapport à *A. africana* suggérant que l'origine de la plante hôte par rapport aux isolats fongiques testés peut avoir une influence dans la réponse à l'inoculation.

La mycorhization contrôlée d'*A. africana* en pépinière a montré que les Sclérodermes étaient de bons candidats pour des programmes de mycorhization contrôlée. Notre expérimentation a été effectuée sur un sol sableux non représentatif des conditions de forêts à *A. africana* en Afrique de l'Ouest. Toute sélection de souche devra donc être complétée par des essais réalisés dans des conditions variées et respectant les conditions locales de plantations.

Notre étude nous aura permis d'apporter notre contribution à la connaissance des champignons ectomycorhiziens tropicaux et en particulier, le genre *Scleroderma*.

5. REFERENCES

- Agerer, R. (1987-1996). Color Atlas of ectomycorrhizae. With glossary. Agerer R (ed).
Einhorn-Verlag Eduard Dietenberger.
- Alexander, I.J. (2006) Ectomycorrhizas – out of Africa? *New Phytologist*, 172:589-591.
- Bâ, A.M. (1990). Contribution à l'étude de la symbiose ectomycorhizienne chez deux essences forestières d'Afrique intertropicale : *Afzelia africana* Sm. et *Uapaca guineensis* Müll. Arg. Thèse de l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, 193 p.
- Bâ, A.M. & Thoen, D. (1990). First syntheses of ectomycorrhizas between *Afzelia africana* Sm. (Caesalpinioideae) and native fungi from West Africa. *New Phytologist*, 103 : 441-448.
- Bâ, A.M., Dalpé, Y. & Guissou, T. (1996a). Les Glomales d'*Acacia holosericea* Cunn. ex G. Don. et d'*Acacia mangium* Willd.: diversité et abondance relative des champignons

endomycorhiziens à arbuscules dans deux types de sols de plantations au Burkina Faso. *Bois et Forêts des Tropiques*, 250: 5-18.

- Bâ, A.M., Bazié, M. & Guissou, T. (1996b). Effet du phosphate naturel sur de jeunes *Acacia albida* Del. en présence ou non de mycorhizes. In : *Les Parcs à Faidherbia*. CIRAD-Forêts (ed), Cahiers Scientifiques, 12: 237-244.
- Bâ, A.M. & Guissou, T. (1996). Rock phosphate and vesicular-arbuscular mycorrhiza effects on growth and nutrient uptake of *Acacia albida* (Del.) seedlings in an alkaline sandy soil. *Agroforestry Systems*, 34: 129-137.
- Bâ, A.M., Sanon, B.K., Duponnois, R. & Dexheimer, J. (1999). Growth responses of *Azelia Africana* Sm. seedlings to ectomycorrhizal inoculation in nutrient-deficient soil. *Mycorrhiza*, 9: 91-95.
- Bâ, A.M., Guissou, T., Duponnois, R., Plenchette, C., Sacko, O., Sidibé, D., Sylla, K. & Windou, B. (2001). Mycorrhization contrôlée et fertilisation phosphatée : applications à la domestication du jujubier (*Ziziphus mauritiana* Lam.). *Fruits*, 56: 261-269.
- Bâ, A.M., Sanon, B.K. & Duponnois, R. (2002). Influence of ectomycorrhizal inoculation on *Azelia quanzensis* Welw. seedlings in a nutrient-deficient soil. *Forest Ecology and Management*, 161: 215-219.
- David, J.F. & David, M.S. (1998). Variation in the ribosomal DNA internal transcribed spacer of a diverse collection of ectomycorrhizal fungi. *Mycological Research*, 102 (7): 859-865.
- Dianda, M., Bayala, J., Diop, T. & Ouedraogo, S.J. (2009). Improving growth of shea butter tree (*Vitellaria paradoxa* C.F.Gaertn.) seedlings using mineral N, P and arbuscular mycorrhizal (AM) fungi. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 13: 93-102.
- Diédhiou, A.G., Bâ, A.M., Sylla, S.N., Dreyfus, B., Neyra, M. & Ndoye, I. (2004). The early-stage ectomycorrhizal *Telephoroid* fungal sp. is competitive and effective on *Azelia Africana* Sm. in nursery conditions in Senegal. *Mycorrhiza*, 14: 313-322.

- Diédhiou, A.G., Guèye, O., Diabaté, M., Prin, Y., Duponnois, R., Dreyfus, B. & Bâ, A.M. (2005). Contrasting responses to ectomycorrhizal inoculation in seedlings of six tropical African tree species. *Mycorrhiza*, 16: 11-17.
- Duponnois, R. & Garbaye, J. (1991). Techniques for controlled synthesis of the Douglas-fir-*Laccaria laccata* ectomycorrhizal symbiosis. *Annales des Sciences Forestières*, 48: 641-650.
- Duponnois, R. & Bâ, A.M. (1999). Growth stimulation of *Acacia mangium* Willd. by *Pisolithus* sp. in some Senegalese soils. *Forest Ecology and Management*, 119: 209-215.
- FAO (1987). Etude sur la contribution du secteur forestier à l'économie du Burkina Faso. Rapport de synthèse du projet préparé par le gouvernement du Burkina Faso et la FAO. Rome.
- Fortin, J.A., Plenchette, C. & Piché, Y. (2008). Les mycorhizes: La nouvelle révolution verte. Edn multimondes. Québec, Canada, 131 p.
- Garbaye, J., Delwaulle, J.C. & Diangana, D. (1988) Growth response of eucalyptus in the Congo to ectomycorrhizal inoculation. *Forest Ecology and Management*, 24: 151-157.
- Gardes, M., White, T.J., Fortin, J.A., Bruns, T.D. & Taylor, J.W. (1991). Identification of indigenous and introduced symbiotic fungi in ectomycorrhizae by amplification of nuclear and mitochondrial ribosomal DNA. *Canadian Journal of Botany*, 69 : 180-190.
- Gomes, E.A., Kasuya, M.C.M., de Barros, E.G., Borges, A.C. & Araujo, E.F. (2002). Polymorphism in the internal transcribed spacer (ITS) of the ribosomal DNA of 26 isolates of ectomycorrhizal fungi. *Genetics and Molecular Biology*, 25 (4): 477-483.
- Grube, M., Depriest, P.T., Gargas, A. & Hafellner, J. (1995). DNA isolation from lichen ascomata. *Mycological Research*, 99: 1321-1324.
- Guisso, T., Bâ, A.M., Ouadba, J.M., Guinko, S. & Duponnois, R. (1998). Responses of *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth., *Tamarindus indica* L. and *Ziziphus mauritiana* Lam. to arbuscular mycorrhizal fungi in a phosphorus-deficient sandy soil. *Biology and Fertility of Soils*, 26:194-198.
- Guisso, T., Bâ, A.M., Plenchette, C., Guinko, S. & Duponnois, R. (2001). Effets des mycorhizes à arbuscules sur la tolérance à un stress hydrique chez quatre arbres

- fruitiers: *Balanites aegyptiaca* (L.) Del., *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth., *Tamarindus indica* L. et *Ziziphus mauritiana* Lam. *Sécheresse*, 12 (2): 121-127.
- Guzman, G., Ramirez-Guillém, F., Miller, O.K. & Lodge, D.J. (2004). *Scleroderma stellatum* versus *Scleroderma bermudense* : the status of *Scleroderma echinatum* and the first record of *Veligaster nitidum* from the Virgin Islands. *Mycologia*, 96: 1370-1379.
- Hamel, C., Fyles, H. & Smith, D.L. (1990). Measurement of development of endomycorrhizal mycelium using three different vital strains. *New Phytologist*, 115 : 297-302.
- Hansen, K., Laessoe, T. & Pfister, D. (2002). Phylogenetic diversity in the core group of *Peziza* inferred from ITS sequences and morphology. *Mycological Research*, 106 (8): 879-902.
- Horton, T. (2002). Molecular approaches to ectomycorrhizal diversity studies: variation in ITS at a local scale. *Plant and Soil*, 244: 29-39.
- Jones, M.D., Durall, D.M. & Tinker, P.B. (1990). Phosphorus relationships and production of extramatrical hyphae by two types of willow ectomycorrhizas at different soil phosphorus levels. *New Phytologist*, 115 : 259-267.
- Karen, O., Högberg, N., Dahlberg, A., Jonsson, L. & Nylund, J.E. (1997). Inter- and intraspecific variation in the ITS region of rDNA of ectomycorrhizal fungi in Fennoscandia as detected by endonuclease analysis. *New Phytologist*, 136 : 313-325.
- Kessler, J.J. & Geerling, C. (1994). Profil environnemental du Burkina Faso. Université Agronomique, Département de l'Aménagement de la Nature. Wageningen, les Pays Bas, p.63.
- Kumar, S., Tamura, K. & Nei, M. (2004). MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and Sequence Alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5:150-163.
- Laclavère, G. (1993). Atlas du Burkina Faso. Edn Jeune Afrique. p. 53.
- Le Tacon, F., Alvarez, I.F., Bouchard, D., Henrion, B., Jackson, R.M., Luff, S., Parlade, J.I., Pera, J., Stenström, E., Villeneuve, N. & Walker, C. (1992). Variations in field response of forest trees to nursery ectomycorrhizal inoculation in Europe. In : D.J. Read, D.H. Lewis, A.H. Fitter, & I.J. Alexander (eds). *Mycorrhizas in Ecosystems*. pp. 119-134.

- Lei, J., Lapeyrie, F., Malajczuk, N. & Dexheimer, J. (1990). Infectivity of pine and eucalypt isolates of *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch on roots of *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake in vitro. II. Ultrastructural and biochemical changes at the early stage of mycorrhiza formation. *New Phytologist*, 116: 115-122.
- Liang, Y., Guo, L.D. & Ma, K.P. (2004). Genetic structure of a population of the ectomycorrhizal fungus *Russula vinosa* in subtropical woodlands in southwest China. *Mycorrhiza*, 14: 235-240.
- Malajczuk, N., Lapeyrie, F. & Garbaye, J. (1990). Infectivity of pine and eucalypt isolates of *Pisolithus tinctorius* on roots of *Eucalyptus urophylla* in vitro. 1. Mycorrhiza formation in model systems. *New Phytologist*, 114 : 627-631.
- Martin, F., Costa, G., Delaruelle, C. & Diez, J. (1997). Genomic fingerprinting of ectomycorrhizal fungi by microsatellite-primed PCR. In: Varma A., Hock B. (eds). *Mycorrhiza Manual*. Springer Lab Manuel Berlin, Springer-Verlag, pp 463-474.
- Martin, F., Diez, J., Dell, B. & Delaruelle, C. (2002). Phylogeography of the ectomycorrhizal *Pisolithus* species as inferred from the nuclear ribosomal DNA ITS sequences. *New Phytologist*, 153: 345-358.
- Marx, D.H. (1969). The influence of ectotropic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. *Phytopathology*, 59: 153-163.
- Matsushita, N., Kikuchi, K., Sasaki, Y., Guerin-Laguette, A., Lapeyrie, F., Vaario, L.M., Intini, M. & Suzuki, K. (2005). Genetic relationship of *Tricholoma matsutake* and *T. nauseosum* from the Northern Hemisphere based on analyses of ribosomal DNA spacer regions. *Mycoscience*, 46: 90-96.
- Munyanziza, E. & Kuyper, T.W. (1995). Ectomycorrhizal synthesis on seedlings of *Azelia quanzensis* Welw. using various types of inoculum. *Mycorrhiza*, 5: 283-287.
- Nicholas, K.B. & Nicholas, H.B. (1997). GeneDoc: a tool for editing and annotating multiple sequences alignments. GeneDoc version 2.6.002.

- Peay, K.G., Garbelotto, M. & Bruns, T.D. (2009). Spore heat resistance plays an important role in disturbance mediated assemblage shift of ectomycorrhizal fungi colonizing *Pinus muricata* seedlings. *Journal of Ecology*, 97: 537-547.
- Peter, M., Büchler, U., Ayer, F. & Egli, S. (2001). Ectomycorrhizas and molecular phylogeny of the hypogeous russuloid fungus *Arcangeliella borziana*. *Mycological Research*, 105: 1231-1238.
- Rieddacker, A. (1974). Un nouvel outil pour l'étude des racines de la rhizosphère : le mini-rhizotron. *Annales des Sciences Forestières*, 31 (2): 129-134.
- Rivière, T., Diedhiou, A.G., Diabaté, M., Senthilarasu, G., Natarajan, K., Ducouso, M., Verbeken, A., Buyck, B., Dreyfus, B., Bena, G. & Bâ, A.M. (2007). Diversity of ectomycorrhizal Basidiomycetes in West African and Indian tropical rain forests. *Mycorrhiza*, 17: 415 – 428.
- Ruiz-Diez, B., Rincon, A.M., de Felipe, M.R. & Fernandez-Pascual, M. (2006). Molecular characterisation and evaluation of mycorrhizal capacity of *Suillus* isolates from Central Spain for the selection of fungal inoculants. *Mycorrhiza*, 16: 465-474.
- Sanon, B.K. (1999) La symbiose ectomycorhizienne chez quelques Césalpiniacées et Euphorbiacées des forêts du Sud-Ouest du Burkina Faso. Etude morphologique et cytologique, mycorrhization contrôlée et étude de la diversité inter- et intraspécifique de Sclérodermes ectomycorhiziens. Thèse de Doctorat de l'Université Henri Poincaré Nancy I, 119p.
- Sanon, B.K. (2007) Identification, par les outils de biologie moléculaire, des champignons ectomycorhiziens des genres *Russula*, *Amanita*, *Lactarius* et *Boletellus* associés à différentes essences des forêts du Sud du Burkina Faso. Rapport de stage d'échange scientifique de courte durée IRD-INERA. 25p.
- Sanon, K.B., Bâ, A.M. & Dexheimer, J. (1997). Mycorrhizal status of some fungi fruiting beneath indigenous trees in Burkina Faso. *Forest Ecology and Management*, 98: 61-69.
- Sanon, B.K., Dexheimer, J., Bâ, A.M., Dianda, M. & Gerard, J. (2002). Structure comparée des ectomycorhizes de *Afzelia africana* Sm. et *Scleroderma* sp. *Science et Technique, série Sciences Naturelles et Agronomie*, 1: 17-28.

- Sanon, B.K., Bâ, A.M., Delaruelle, C., Duponnois, R. & Martin, F. (2009a). Morphological and molecular analyses in *Scleroderma* species associated with some Caesalpinoid legumes, Dipterocarpaceae and Phyllanthaceae trees in southern Burkina Faso. *Mycorrhiza*, 19: 571-584.
- Sanon, B.K., Dianda, M., Guissou, T. & Bâ, A.M. (2009b). Description des champignons ectomycorhiziens du genre *Scleroderma* de quelques formations forestières du Sud du Burkina Faso. *Cameroon Journal of Experimental Biology*, 2 : 69-78.
- Sary, H. (1989). Essai de mycorrhization de *Azelia africana* avec *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker et Couch. In *Trees for development in Sub-Saharan Africa, Proceedings of a regional seminar held by the International Foundation for Science (IFS), ICRAF House, Nairobi, Kenya, February 20-25, 1989.*
- Sica, M., Gaudio, L. & Aceto, S. (2007). Genetic structure of *Tuber mesentericum* Vitt. Based on polymorphism at the ribosomal DNA ITS. *Mycorrhiza*, 17: 405-414.
- Sims, K.P., Watling, R. & Jeffries, P. (1995). A revised key to the genus *Scleroderma*. *Mycotaxon*, LVI: 403-420.
- Sims, K., Watling, R., De La Cruz, R. & Jeffries, P. (1997). Ectomycorrhizal fungi of the Philippines : a preliminary survey and notes on the geographic biodiversity of the Sclerodermatales. *Biodiversity and Conservation*, 6: 45-58.
- Sims, P.K., Sen, R., Watling, R. & Jeffries, P. (1999). Species and population structures of *Pisolithus* and *Scleroderma* identified by combined phenotypic and genomic marker analysis. *Mycological Research*, 103: 449-458.
- Tedersoo, L., Suvi, T., Beaver, K. & Kõljalg, U. (2007). Ectomycorrhizal fungi of the Seychelles: diversity patterns and host shifts from the native *Vateriaopsis seychellarum* (Dipterocarpaceae) and *Intsia bijuga* (Caesalpinaceae) to the introduced *Eucalyptus robusta* (Myrtaceae), but not *Pinus caribea* (Pinaceae). *New Phytologist*, 175: 321-333.
- Thoen, D. & Ducouso, M. (1989). Champignons et ectomycorhizes du Fouta Djallon. *Bois et Forêts des tropiques*, 221 : 45-63.
- Thomson, B.D., Grove, T.S., Malajczuk, N. & Hardy, G.E. StJ (1994). The effectiveness of ectomycorrhizal fungi in increasing the growth of *Eucalyptus globulus* Labill. in

relation to root colonisation and hyphal development in soil. *New Phytologist*, 126: 517-524.

FERTILITE DES SOLS ET GESTION DU POTENTIEL INFECTIEUX MYCORHIZIEN

par Bilgo A.^{1,2}, Sanon A.², Sangaré S. K.¹, Dabire P.¹, Hien V.¹, Duponnois R.³

¹ Laboratoire Sol-Eau-Plante (SEP). Institut de l'environnement et de recherches agricoles (Inera). 01 BP 476 Ouagadougou. Burkina Faso.

² Institut de recherche pour le développement (IRD). Centre de Ouagadougou. 01 BP 182 Ouagadougou. Burkina Faso.

³ IRD. UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/AGRO-M/UM2, Laboratoire des symbioses tropicales et méditerranéennes (LSTM), Campus international de Baillarguet. Montpellier, France.

1. INTRODUCTION

Au Burkina Faso, la forte croissance démographique et la pression foncière ont entraîné la surexploitation des ressources naturelles (terres, forêts, ...) obligeant les producteurs à adopter des techniques culturales peu respectueuses de l'environnement. De ce fait, ces systèmes d'exploitation inappropriés engendrent la baisse continue de la fertilité des sols et des services écosystémiques rendus. La tendance régressive des productions agricoles suite à la baisse de la capacité productive des sols menace l'atteinte des *Objectifs du millénaire pour le développement* (OMD) dont la sécurité alimentaire et la réduction de la pauvreté.

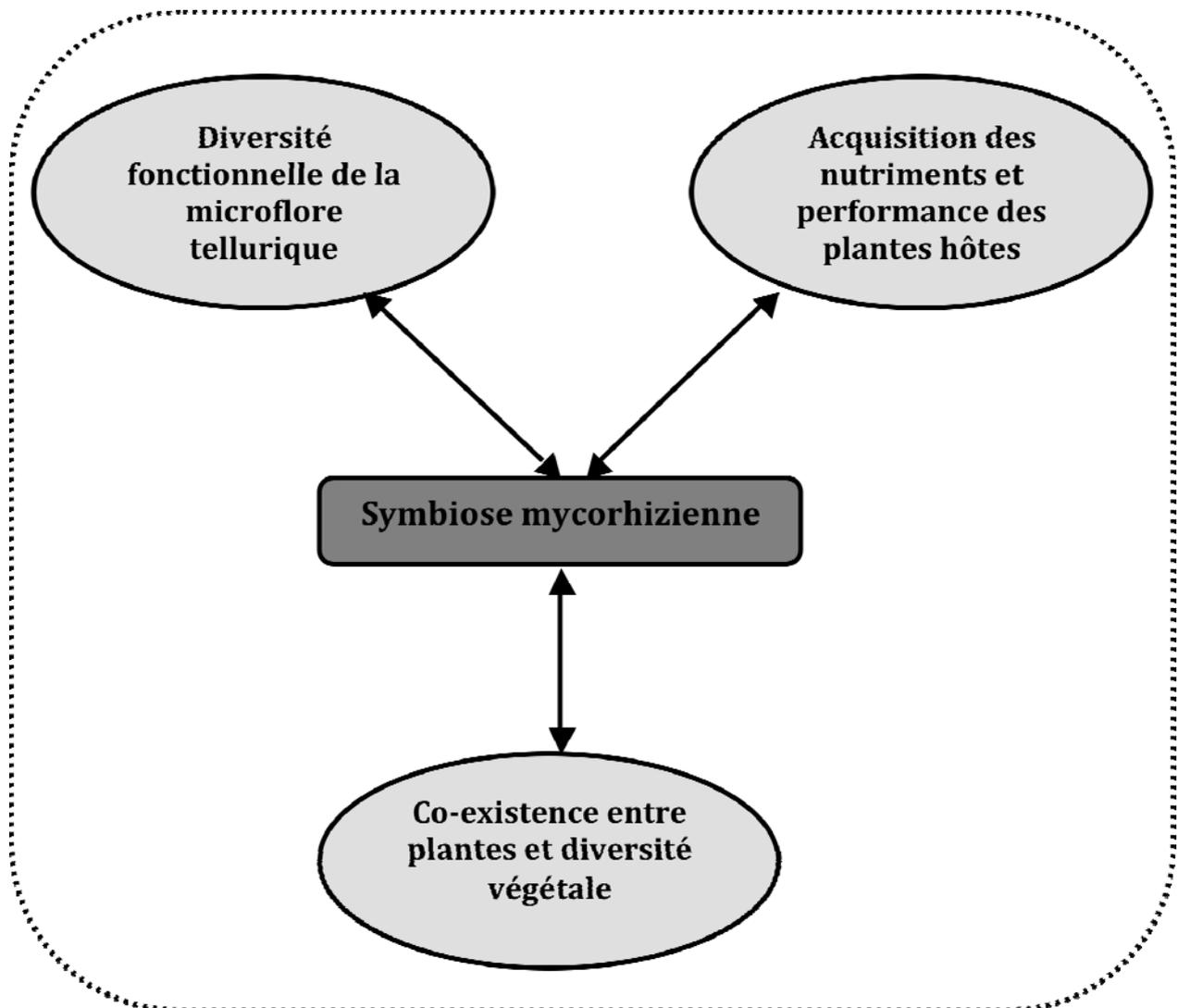
Diverses technologies de conservation des eaux et des sols ont été expérimentées par les producteurs pour s'adapter aux changements globaux. Dans la zone sahélienne, ces technologies sont entre autres les demi-lunes, les cordons pierreux (Zougmore *et al.*, 2004), le zaï (Traoré *et al.*, 2003), le tapis herbacé et le scarifiage motorisé (Sangaré, 2002), ainsi que les apports de fertilisants organiques ou minéraux (Bationo *et al.*, 1986 ; Bationo et Mowunye, 1991). Dans la zone soudanienne, les technologies les plus utilisées pour s'adapter à la baisse de la fertilité des sols sont les jachères naturelles ou améliorées ou de légumineuses (Bilgo, 2005). L'application de ces techniques est inéluctablement conditionnée par les conditions socio-économiques des utilisateurs. Suite aux difficultés rencontrées dans la diffusion de certaines techniques d'amélioration de la fertilité des sols, la recherche scientifique a été mise à contribution pour la mise au point et la diffusion de techniques biologiques de fertilisation plus facile d'application, plus écologique et avec des effets durables. Les perspectives de recherche sont donc de plus en plus orientées vers l'introduction d'espèces améliorantes locales et/ou exotiques susceptibles de permettre la restauration de la fertilité des sols (Guissou, 1994). En outre, il est bien établi que l'utilisation d'inocula mycorhiziens est une alternative innovante qui permet d'améliorer durablement le statut organo-minéral des sols et la production agricole et forestière (Duponnois *et al.*, 2001a ; Johansson *et al.*, 2004 ; Smith et Read, 2008). Ainsi, '*pouvoir continuer à produire de la biomasse végétale de manière à ne pas compromettre l'intégrité environnementale et la santé publique*' constitue un challenge pour notre décennie (Tilman *et al.*, 2002) auquel l'utilisation harmonieuse des microorganismes symbiotiques du sol devrait nous aider à aboutir (SBSTTA, 2001).

Le concept de résilience écologique fait référence à la capacité d'un écosystème à supporter diverses perturbations et adopter différentes stratégies pour recouvrer certaines de ses propriétés originelles (fonctions, structure, composition, etc.) (Peterson *et al.*, 1998). La capacité d'une espèce végétale à tolérer un stress d'origine biotique ou abiotique est fortement dépendante du degré d'établissement et de fonctionnement des relations symbiotiques entre le champignon et la plante hôte (Barea *et al.*, 1997). À l'échelle de la communauté végétale, il est aussi admis que les peuplements plurispécifiques présentent une plus grande capacité d'adaptation et/ou de recouvrement face aux adversités biotiques et abiotiques (Peterson *et al.*, 1998 ; Kennedy *et al.*, 2002).

Les champignons mycorhiziens jouent un rôle majeur dans l'évolution spatio-temporelle des écosystèmes végétaux terrestres (Kisa *et al.*, 2007 ; Sanon *et al.*, 2010, 2011). Outre leur impact direct sur la croissance de la plante *via* principalement une amélioration de la nutrition minérale de la plante hôte, il a été aussi démontré que la structure du couvert végétal ainsi que son développement étaient intimement liés à l'établissement de la symbiose mycorhizienne (van der Heijden *et al.*, 1998 ; Sanon *et al.*, 2010). Il est aussi parfaitement démontré que la symbiose mycorhizienne conditionne le fonctionnement microbien des sols en exerçant une pression sélective sur les microorganismes saprophytes du sol tant au niveau de leur diversité génétique que de leur diversité fonctionnelle (Frey-Klett *et al.*, 2005) afin de constituer un complexe trophique associant le symbiote fongique, la microflore mycorrhizosphérique et la plante.

Jusqu'à un temps très récent, la plupart des résultats obtenus sur l'écologie des symbioses mycorhiziennes étaient issus d'études réalisées en milieu tempéré notamment. Des résultats similaires étaient peu disponibles en ce qui concerne les régions sahéliennes, le Burkina Faso en particulier, malgré les possibilités de valorisation de cette ressource microbienne pour réhabiliter et optimiser la productivité des écosystèmes terrestres. La mise en œuvre d'un certain nombre de projets de recherche en collaboration entre l'IRD (Institut de recherche pour le développement) et les institutions locales de recherches agricoles et environnementales comme l'Inera (Institut de l'environnement et de recherches agricoles), est venue à point nommé renforcer le stock de connaissances scientifiques disponibles. Les études réalisées ont abordé divers aspects du fonctionnement de la symbiose mycorhizienne (fig. 1), à savoir les interactions trophiques avec la microflore associée, l'incidence sur le développement des plantes hôtes, les interférences dans les interactions '*plante-plante*' et les conséquences qui en découlent en termes de coexistence entre espèces végétales, ...

Figure 1 : Représentation schématique des principaux axes de recherche développés au Burkina Faso sur les symbioses mycorhiziennes en collaboration entre l'IRD et certaines équipes de recherche de l'Inera.



Le principal objectif de cet article est de présenter les principaux résultats issus des expérimentations réalisées au Burkina Faso en collaboration entre l'IRD et des équipes de l'Inera sur la gestion du potentiel mycorhizien des sols et ses implications en termes d'amélioration de la fertilité des sols, d'optimisation des performances des formations forestières et de promotion de la biodiversité végétale.

2. ROLE ECOLOGIQUE DES MYCORHIZES DANS LES AGRO-ECOSYSTEMES

Bien que des interactions de type parasitaire aient, dans certaines conditions, été rapportées concernant les partenaires mycorhiziens (Johnson *et al.*, 1997 ; Klironomos, 2003 ; Purin et Rillig, 2008), les champignons mycorhiziens sont généralement décrits comme des composantes essentielles des systèmes sol-plantes. Représentant une interface clef entre les plantes hôtes et les (macro- et micro-) nutriments du sol, les avantages de la symbiose mycorhizienne comportent également un accroissement de la résistance végétale face aux pathogènes et autres stress environnementaux (c.-à-d. les pollutions organiques et métalliques, la salinité, l'acidité, ...) et une amélioration de la nutrition hydrique des plantes hôtes en échange de photosynthétats (St-Arnaud *et al.*, 1997 ; Joner et Leyval, 2003 ; Lambers *et al.*, 2008 ; Smith et Read, 2008). Des interactions synergiques ont été décrites entre le développement des symbiotes mycorhiziens et celui d'autres microorganismes, également importants par leur rôle dans l'amélioration de la croissance des plantes et communément appelés *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria* (PGPR). Parmi les microorganismes dits PGPR, on peut citer ceux impliqués dans les cycles des nutriments (bactéries fixatrices d'azote, pseudomonads fluorescents, bactéries solubilisatrices des phosphates, ... (Founoune *et al.*, 2002 ; André *et al.*, 2005 ; Duponnois *et al.*, 2005 ; Ramanankierana *et al.*, 2006) qui améliorent substantiellement le gain en poids des plantes, et donc susceptibles, en association avec les champignons mycorhiziens, de pérenniser la productivité végétale (Johansson *et al.*, 2004). De plus, le réseau d'hyphes mycorhiziens qui se développe dans le sol améliore significativement la structure du sol par la formation d'agrégats plus stables (Rillig et Mummey, 2006) et influence profondément la composition et la dynamique des communautés végétales (van der Heijden *et al.*, 1998 ; Simard et Durall, 2004 ; Kisa *et al.*, 2007 ; Sanon *et al.*, 2011 ; Klironomos *et al.*, 2011). À cet égard, il a été rapporté que ce réseau d'hyphes faciliterait l'établissement de plantules de même espèce ou d'espèces différentes sous un arbre mature en homogénéisant l'accès aux nutriments (Simard et Durall, 2004 ; Smith et Read, 2008) ou pourrait promouvoir la diversité végétale entre espèces dominantes et celles moins compétitives (Kisa *et al.*, 2007). D'une manière générale, les symbioses mycorhiziennes constituent des agents biologiques de promotion de biodiversité et de productivité dans les communautés végétales (van der Heijden *et al.*, 1998 ; Hart *et al.*, 2003 ; Klironomos *et al.*, 2011), ceci, bien entendu, en relation avec la dépendance mycorhizienne et la position dans la hiérarchie locale des espèces végétales (Hart *et al.*, 2003 ; Urcelay et Diaz, 2003). Enfin, la contribution des symbioses mycorhiziennes dans la séquestration au niveau du sol du carbone

et des nutriments est également un sujet en plein débat (Rygiewicz et Andersen, 1994 ; Wilson *et al.*, 2009).

La dégradation du couvert végétal est généralement le premier symptôme visible de la désertification, mais cet état de dégradation est souvent accompagné ou précédé de perturbations profondes des propriétés physicochimiques et biologiques du sol (Requena *et al.*, 2001 ; Cardoso et Kuyper, 2006 ; Siddiqui et Pichtel, 2008). Or, ces propriétés déterminent largement la qualité et la fertilité, donc la capacité productive du sol. Il résulte ainsi de cette dégradation du sol, une réduction drastique du potentiel mycorhizien à tel point que dans de nombreuses situations, il devient nécessaire d'«aider» les plantes à faire face à l'adversité de la nature. Une des alternatives qui se veut efficiente, peu onéreuse et respectueuse de l'environnement est la mycorhization contrôlée.

La mycorhization contrôlée est un ensemble de techniques (culture, sélection, multiplication, incorporation au sol et suivi écologique du symbiote fongique) qui a pour objectif la production de plants '*biologiquement améliorés*' par optimisation de l'établissement de la symbiose (Garbaye, 1991). Il s'agit ainsi de provoquer la symbiose entre un jeune plant et un champignon d'une souche particulière sélectionnée pour ses performances intrinsèques et sa synergie vis-à-vis de l'espèce végétale considérée.

3. MYCORHIZATION CONTROLEE ET CONSEQUENCES SUR LA DIVERSITE FONCTIONNELLE DE LA MICROFLORE NATIVE DU SOL

La microflore du sol joue un rôle majeur dans les processus biologiques régissant les cycles biogéochimiques, favorisant ainsi le retour des éléments nutritifs dans le pool des nutriments biodisponibles nécessaires au développement des plantes. En affectant (1) la quantité et la qualité des composés carbonés produits par la plante et transportés dans la mycorhizosphère qui est le volume de sol influencé par la mycorhize (Andrade *et al.*, 1997), (2) la compétition pour les nutriments entre les différents microorganismes rhizosphériques (Ravnskov *et al.*, 1999), (3) l'exsudation mycorhizienne de composés inhibiteurs ou stimulateurs pour les bactéries (Ames *et al.*, 1984), et (4) la structure du sol (Andrade *et al.*, 1998 ; Rillig et Mummey, 2006), les champignons mycorhiziens impactent considérablement sur les communautés bactériennes du sol. La diversité des capacités cataboliques développée par les microorganismes hétérotrophes du sol représente un indicateur clef de la diversité

fonctionnelle microbienne et une approche simple pour mesurer cette diversité est d'évaluer le nombre de substrat organiques susceptibles d'être dégradés par les communautés microbiennes des sols (Degens et Harris, 1997 ; Graham et Haynes, 2005).

Dans leur expérimentation, Duponnois *et al.* (2005) ont cultivé *Acacia holosericea*, une espèce végétale à croissance rapide d'origine australienne, dans des gaines en polyéthylène (0,5 l) contenant du sol stérilisé de Gampéla (20 km à l'est de Ouagadougou, Burkina Faso) en appliquant 4 traitements (plant Témoin, sol amendé avec du phosphate naturel de Kodjari, sol inoculé avec le champignon endomycorhizien *Glomus intraradices*, combinaison amendement phosphaté + inoculation endomycorhizienne). Après 4 mois de culture, une partie des plants a été récoltée pour les mesures et analyses et les plants restants ont été transférés dans des pots (20 l) contenant le même sol utilisé précédemment, mais non stérilisé. Les plants ont été cultivés pendant 12 mois. À la récolte, des échantillons de sol ont été prélevés pour l'établissement des profils cataboliques. Les résultats obtenus à l'issue de l'analyse de co-inertie révèlent une meilleure métabolisation de l'acide α -kétoglutarique lorsque les plants étaient préalablement inoculés, suggérant que la mycorhization contrôlée de *A. holosericea* aurait favorisé une sélection ou une prolifération de bactéries susceptibles de cataboliser ce substrat organique. Pour le traitement témoin, les microorganismes ont préférentiellement catabolisé d'autres substrats dont la phenylalanine entre autres. Ainsi, les microorganismes ayant la capacité de cataboliser l'acide kétoglutarique auront une compétitivité plus élevée en situation de forte présence de propagules mycorhiziennes. En outre, la production et la libération de cet acide notamment par ces microorganismes devraient contribuer à altérer et/ou solubiliser les minéraux et donc libérer dans le sol du phosphore soluble et assimilable pour les plantes (Drever et Vance, 1994).

Par ailleurs, dans une autre expérimentation de mycorhization contrôlée, Sanon (2004) et Sanon *et al.* (2006) ont réalisé un essai portant sur la plante exotique *Gmelina arborea* avec 3 traitements appliqués sur sol stérilisé : Témoin (non inoculé et/ou non fertilisé), Inoculé et Fertilisé (+ NPK). À la récolte (4 mois) d'une partie des plants pour les mesures et analyses, le reste des plants a été transféré dans des pots (50 l) contenant le même sol de culture, mais non stérilisé. Un 4^e traitement a été mis en place et a consisté à laisser le pot contenant le sol non stérilisé sans plantation d'arbre afin de permettre à la strate herbacée issue de la germination du stock de graines endogènes de croître sans influence de l'arbre. Dans ce cas également, ces auteurs ont observé que la mycorhization contrôlée stimulait significativement la réponse de la communauté microbienne du sol en faveur des acides carboxyliques d'une

manière générale en comparaison du traitement Témoin. Cependant, la richesse (nombre de substrats utilisés) et l'équitabilité (uniformité dans l'utilisation des substrats) cataboliques n'ont pas été significativement affectées (tabl. 1).

En outre, Dabiré (2007) a réalisé une étude sur différents sols du Burkina Faso et ses résultats ont clairement démontré qu'il existait une corrélation positive significative entre le PIM₅₀ des sols et l'activité catabolique induite par le groupe des hydrates de carbones et celui des acides carboxyliques ($R^2 \geq 0,60$), indiquant que les sols plus riches en propagules mycorhiziennes infectives ont le mieux réagi avec ces substrats. Le même auteur a également observé une corrélation significative entre le PIM₅₀ et le cumul de l'activité induite par l'ensemble des substrats ($R^2 \geq 0,60$). En plus de ces premières observations, Dabiré *et al.* (2007) ont également testé l'effet du nombre de propagules mycorhiziennes sur la diversité fonctionnelle de la microflore tellurique dans des sols stérilisés ou non. Les résultats obtenus ont montré que la richesse et l'équitabilité cataboliques étaient positivement corrélées au nombre de propagules de *Glomus intraradices* inoculées dans le sol stérilisé. Ceci est d'autant écologiquement pertinent qu'il est bien établi qu'une diversité et une équitabilité cataboliques plus importantes dans un sol traduiraient une résistance face aux stress et perturbations et conduiraient à une meilleure résilience (Degens *et al.*, 2001). En revanche, la corrélation était négative pour le sol non stérilisé (Dabiré *et al.*, 2007). À cet effet, il a été préalablement rapporté que l'inoculation de *G. intraradices* dans un sol non stérilisé pouvait réduire la diversité catabolique microbienne en inhibant la prolifération de certains types de microorganismes (exemple : '*r-strategists*') fortement impliqués dans l'activité microbienne du sol (Vazquez *et al.*, 2000). Dabiré *et al.* (2007) ont par ailleurs observé que ces indicateurs (richesse et équitabilité cataboliques) du fonctionnement du compartiment mycorhizosphérique avaient des valeurs largement plus importantes lorsque le sol était stérilisé et inoculé par le champignon mycorhizien à arbuscules (MA) en comparaison des cas où (1) le sol était stérilisé et (2) le sol non stérilisé était sans inoculation (Dabiré *et al.*, 2007).

Une autre étude portant sur l'évaluation de l'effet de la mycorhization contrôlée de *A. holosericea* sur le développement de cette espèce végétale après 4 années de culture au champ (après une phase de culture en serre pour l'obtention de plants à transférer *in situ*) et sur la microflore endémique du sol a également été conduite à la station de recherche agricole de l'Inera à Kamboinsé (12 km au nord de Ouagadougou).

Tableau 1 : Paramètres de croissance des plants de *Gmelina arborea* fertilisés (+ NPK) ou inoculés par *Glomus intraradices* après 4 mois de culture dans du sol stérilisé ; et paramètres de croissance, niveau de colonisation racinaire par les champignons MA, teneurs en P et N des plants de *G. arborea* transplantés dans le sol non stérilisé, richesse et équitabilité cataboliques, biomasses et indices de diversité de la strate herbacée sous-jacente (adapté de Sanon *et al.*, 2006).

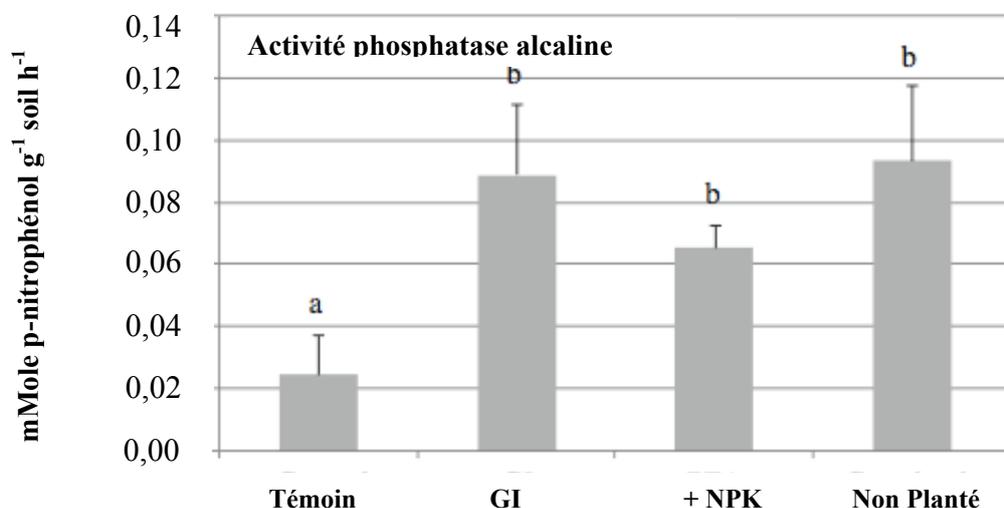
	Pots non plantés par <i>G. arborea</i>	Témoin	Plants fertilisés (+ NPK)	Plants inoculés par <i>G. intraradices</i>
Développement des plants après 4 mois de culture dans du sol sétrilisé				
Hauteur (cm)		22,7 a ⁽¹⁾	36,1 b	34,2 b
Biomasse aérienne (mg de matière sèche)		876 a	1540 b	1573 b
Biomasse racinaire (mg de matière sèche)		330 a	760 b	890 b
Développement des plants après 12 mois de culture dans le sol non stérilisé				
Hauteur (cm)		226 a	265,1 a	240,4 a
Biomasse totale aérienne (g de matière sèche, MS)		1570 a	2695 b	2425 b
Biomasse totale racinaire (g de MS)		520 a	750 b	710 a
Colonisation racinaire par les champignons MA (%)		32,3 a	25,6 a	69,3 b

Teneur en P des feuilles (mg/plant)		1,78 a	3,56 b	3,55 b
Teneur en N des feuilles (mg/plant)		16,6 a	30,1 b	27,2 ab
Richesse catabolique	24,8 a	28,3 ab	30,8 b	28,1 ab
Équitabilité catabolique	12,7 a	15,4 b	15,4 b	14,4 ab
Richesse spécifique de la strate herbacée sous-jacente	7,8 c	3,0 ab	2,8 a	5,7 bc
Indice de diversité de Simpson-Yule de la strate herbacée	3,46 b	1,62 a	1,69 a	3,16 b
Biomasse totale aérienne de la strate herbacée (mg de MS)	65,9 c	12,1 ab	1,64 a	16,8 b
Biomasse totale racinaire de la strate herbacée (mg de MS)	18,2 c	2,8 ab	0,5 a	3,6 b

⁽¹⁾ : les valeurs de la même ligne indexées par la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p < 0,05$).

Sangaré (2007) et Bilgo *et al.* (2011) ont observé que, comparé au Témoin non inoculé, l'inoculation de *G. intraradices* conduisait préférentiellement à une métabolisation plus importante des acides carboxyliques alors que les acides aminés l'étaient moins, suggérant une modification profonde de la capacité d'utilisation des substrats par les communautés microbiennes post-inoculation. En outre, ces mêmes auteurs ont observé des valeurs de diversité et d'équitabilité cataboliques, ainsi que le quotient respiratoire (qCO_2) plus importants pour le traitement mycorhizé comparativement au traitement Témoin (tabl. 2). Concernant la même expérimentation, Bilgo *et al.* (2011) ont observé une nette augmentation de l'activité microbienne totale (mesurée par l'hydrolyse de la fluorescéine di-acétate) et l'activité de la phosphatase alcaline dans les sols prélevés sous *A. holosericea* inoculé avec *G. intraradices* en comparaison au traitement Témoin (fig. 2). Du reste, aucune différence significative n'a été mise en évidence lorsqu'on compare les activités de la phosphatase acide et de la deshydrogénase. Il ressort de cette étude que la mycorhization préalable des plants tend à limiter l'effet négatif de la plantation de *A. holosericea* sur le fonctionnement biologique du sol (nos analyses montrent en effet que les plants du traitement Témoin modifient profondément l'activité fonctionnelle de la microflore tellurique en comparaison des sols sans plantation de *A. holosericea*), voire ramener le fonctionnement du sol à sa situation d'avant perturbation (c.-à-d. la plantation de l'espèce exotique). En effet, pour certains indicateurs mesurés, les situations de 'site non planté' et de '*A. holosericea* inoculé' se rapprochent le plus (tabl. 2).

Figure 2 : Activité phosphatase alcaline mesurée dans les sols de culture de *Acacia holosericea* au champ (adaptée de Bilgo *et al.*, 2011)



4. GESTION DU POTENTIEL MYCORHIZIEN ET PERFORMANCE DES ESPECES VEGETALES

Il est clairement établi que la symbiose mycorhizienne améliorait la croissance de la plante hôte aussi bien en conditions contrôlées qu'au champ. Ainsi, Sanon *et al.* (2006) ont observé que l'inoculation préalable a significativement amélioré la croissance des plantes dans du sol stérilisé comparé au témoin (hauteur : + 50 % ; biomasse aérienne : + 80 % ; biomasse racinaire : + 169 %) (tabl. 1). Cette stimulation de la croissance des plantes est également rapportée lorsque les plants sont transférés dans du sol non stérilisé et cultivés pendant 12 mois (hauteur : + 6 % ; biomasse des tiges : + 26 % ; biomasse des feuilles : + 95 % ; biomasse racinaire : + 37 %). L'effet bénéfique de l'apport massif de propagules pourrait, en partie, résulter du meilleur développement du réseau d'hyphes mycorhiziens (augmentation de la longueur des hyphes mycorhiziens suite à l'inoculation : + 200 % ; tabl. 2, Bilgo *et al.*, 2011) qui accroîtrait considérablement la mobilisation et l'accès aux nutriments pour la plante (Smith et Read, 2008). De ce fait, concomitamment à la meilleure croissance végétale, des disponibilités plus importantes en nutriments sont mesurées dans les biomasses des plantes inoculées ou dans le sol ayant servi à la culture de la plante inoculée. Ainsi, Sanon *et al.* (2006) ont observé 12 mois après la transplantation dans les pots contenant du sol non stérilisé, des teneurs en P et N significativement plus élevées dans les feuilles des plants inoculés comparativement aux plants non préalablement inoculés (P : + 99 % ; N : + 64 %) (tabl. 1). Concernant l'étude sur la mycorhization contrôlée de *Acacia holosericea*, en plus des teneurs en P et N plus élevées dans les biomasses foliaires des plants inoculés et cultivés pendant 4 années au champ, des teneurs plus élevées de P sont également observées dans les sols de culture des plants inoculés comparativement à ceux qui ne l'ont pas été préalablement (P soluble : + 152 %) (tabl. 2, Bilgo *et al.*, 2011).

Après 4 mois de culture dans du sol stérilisé, Duponnois *et al.* (2005) ont noté que la mycorhization des plants augmentait la biomasse des plants de *A. holosericea* (x 1,78 et x 2,23 pour les biomasses aériennes et racinaires respectivement) pendant que l'amendement par du phosphate naturel n'avait pas eu d'effet. Après 12 mois de culture dans du sol non stérilisé, la croissance des plants mycorhizés était meilleure que celle des plants amendés par du phosphate naturel et des plants témoins. Lorsque l'inoculation mycorhizienne et l'amendement au phosphate naturel étaient combinés, la croissance des plants était encore meilleure que celle des plants des traitements pris isolément (x 1,45 environ pour chaque traitement pris isolément). Ici également, les teneurs en P et N des feuilles étaient significativement plus élevées pour les plantes mycorhizées comparativement aux témoins,

mais le traitement combiné (inoculé + phosphate naturel) a eu les teneurs les plus élevées. De plus, la mycorhization préalable des plants a significativement stimulé les colonies de *Pseudomonas* fluorescents en comparaison des témoins (Duponnois *et al.*, 2005).

Il est important de noter que la stimulation de croissance des plants générée par l'inoculation mycorhizienne est similaire à l'effet obtenu lorsque les plants sont préalablement fertilisés (apport d'engrais minéraux), suggérant ainsi que les inocula mycorhiziens peuvent constituer des candidats sérieux pour la fertilisation des plantes (biofertilisants).

De ces trois études (Duponnois *et al.*, 2005 ; Sanon *et al.*, 2006 et Bilgo *et al.*, 2011), il ressort clairement que le champignon mycorhizien *Glomus intraradices* préalablement inoculé dans du sol stérilisé pouvait se maintenir dans un sol non stérilisé (présence de la microflore native) et faire perdurer son activité bénéfique vis-à-vis de la plante hôte. Ce résultat trouve tout son intérêt dans le fait de la non-nécessité de multiplier les apports de propagules aux plants et répond ainsi à un souci économique majeur dans un contexte de faibles revenus économiques des producteurs sahétiens. En outre, après les 5 années de culture de la légumineuse *A. holosericea* préalablement inoculée et cultivée au champ (site de Kamboinsé), Sangaré *et al.* (2009) ont observé un 'effet fertilisant' des sols suite à une remise en culture (*Zea mays* L.) des parcelles inoculées. Les résultats ont montré une amélioration significative du taux de carbone (+ 15 %) et d'azote (+ 22 %) dans les sols. De plus, un impact positif sur la croissance du maïs (+ 12 %), les rendements en grains (+ 15 %) et en paille (+ 17 %) du maïs par rapport aux témoins a été noté (fig. 3, Sangaré *et al.*, 2009).

Les résultats de Dabiré (2007) ont montré que l'inoculation avec *G. intraradices* a entraîné une augmentation du nombre de nodules, du poids sec des nodules, de la matière sèche aérienne et racinaire du niébé (*Vigna unguiculata* Walp.) pour tous les sols utilisés lors de son étude. De plus, Dabiré *et al.* (2007) indiquent également que, quel que soit le type de sol (stérilisé ou non), un effet positif de l'inoculation mycorhizienne est observé sur le développement de la plante hôte (*Sorghum bicolor* L.) et cet effet positif est corrélé au nombre de propagules infectives de champignon MA inoculé. Ces résultats suggèrent ainsi que l'effet de l'inoculation avec le champignon MA serait fonction du potentiel mycorhizien du sol de culture (Sylvia, 1990 ; Duponnois *et al.*, 2001b). En outre, il a été observé de cette étude que l'inoculation de *G. intraradices* induisait un meilleur développement du sorgho lorsque le sol de culture était préalablement stérilisé comparativement au sol non stérilisé.

Tableau 2 : Paramètres de croissance des plants de *Acacia holosericea* fertilisés (+ NPK) ou inoculés par *Glomus intraradices* après 4 mois de culture dans du sol stérilisé ; et paramètres de croissance, niveau de colonisation racinaire par les champignons MA, teneurs en nutriments des plants et des sols, et diversité fonctionnelle microbienne des sols (adapté de Bilgo *et al.*, 2011).

	Strate herbacée avoisinante	Témoin	Plants fertilisés (+ NPK)	Plants inoculés par <i>G. intraradices</i>
Développement des plants après 4 mois de culture dans du sol stérilisé				
Hauteur (cm)		26,1 a ⁽¹⁾	34,8 b	32,6 b
Biomasse aérienne (mg de matière sèche)		856 a	1356 b	1298 b
Biomasse racinaire (mg de matière sèche)		321 a	552,3 b	543,2 b
Développement des plants après 4 mois de culture au champ				
Hauteur (m)		3,51 a	4,62 b	4,43 b
Diamètre (cm)		5,67 a	8,77 b	8,23 b
Biomasse totale aérienne (kg de matière sèche, MS)		8,91 a	28,54 b	21,17 b
Biomasse totale racinaire (kg de MS)		0,15 a	1,8 b	1,7 b
Colonisation racinaire par les champignons MA (%)		25,8 a	21,6 a	45,3 b
Longueur des hyphes dans le sol de culture (m g ⁻¹ sol)	1,3 a	1,9 a	2,1 a	3,9 b
Teneur en P des feuilles (g/plant)		0,11 a	0,36 b	0,26 b
Teneur en N des feuilles (g/plant)		3,50 a	7,5 b	6,61 b
Équitabilité catabolique des sols de culture	17,9 a	20,4 b	22,7 bc	22,9 c

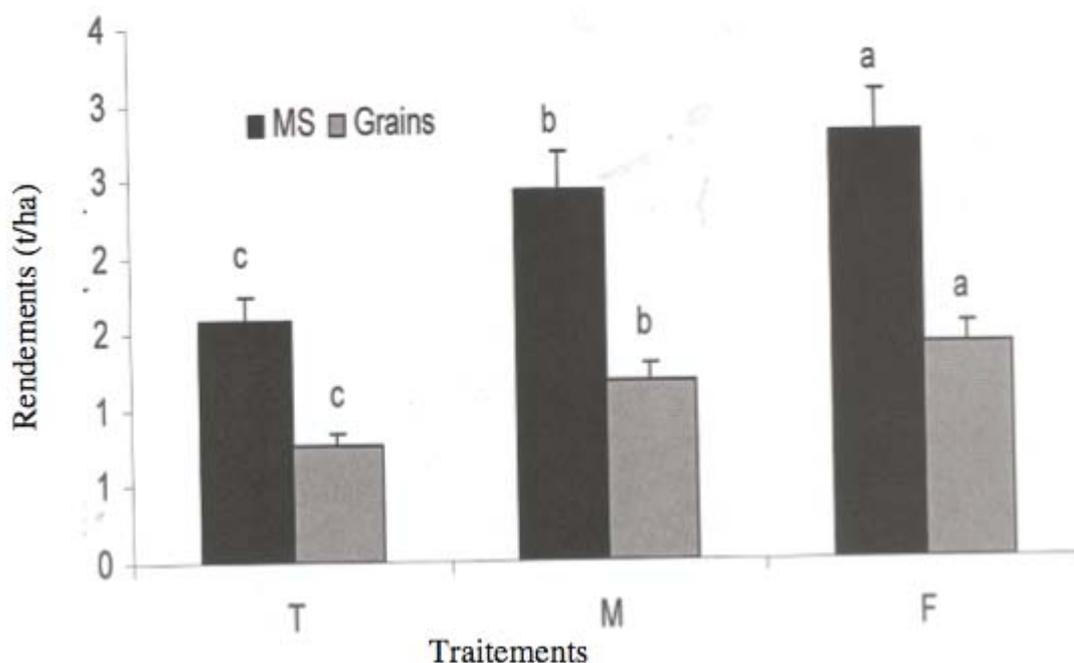
Teneur en N dans le sol de culture (%)	0,058 b	0,041 a	0,051 b	0,050 b
Teneur en C total dans le sol de culture (%)	0,676 b	0,577 a	0,682 b	0,669 b
Teneur en P soluble dans le sol de culture (mg kg ⁻¹)	6,9 a	8,4 a	6,8 a	17,4 b
Biomasse microbienne (µg C g ⁻¹ sol)	378,0 c	190,9 b	240,5 b	108,8 a
qCO ₂ (µg C-CO ₂ g ⁻¹ MBC h ⁻¹)	0,10 a	0,17 a	0,13 a	0,33 b
CBM : COT (%)	5,59 c	3,31 b	3,53 b	1,63 a

⁽¹⁾ : les valeurs de la même ligne indexées par la même lettre ne sont pas significativement différentes (p < 0,05).

CBM : C de la biomasse microbienne, COT : C organique total.

Dans ce cas de figure, le résultat obtenu traduit toute la complexité de l'inoculation mycorhizienne dans du sol non stérilisé et souligne que les interactions entre la microflore native du sol et la souche fongique apportée en masse pourraient éventuellement aboutir à une réduction de l'effet stimulant sur la croissance de la plante hôte inhérent à l'inoculum mycorhizien (Duponnois *et al.*, 2005). Il faut également noter qu'un effet positif significatif sur la croissance de la plante est observé dès l'apport de 3 propagules mycorhiziennes, indiquant que *Glomus intraradices* est un inocula mycorhizien très compétitif vis-à-vis de la microflore native, comme cela a été préalablement noté (Duponnois *et al.*, 2005 ; Sanon *et al.*, 2006 ; Kisa *et al.*, 2007).

Figure 3 : Rendements en matière végétale sèche et en grains du maïs après culture dans des parcelles où a été cultivé *Acacia holosericea* avec différents traitements (T = Témoin, M = Inoculé avec *Glomus intraradices*, F = Fertilisé au NPK) (d'après Sangaré *et al.*, 2009).



5. POTENTIEL MYCORHIZIEN ET BIODIVERSITE VEGETALE : ROLE DES MYCORHIZES DANS LES MECANISMES REGISSANT LA COEXISTENCE ENTRE ESPECES VEGETALES

La restauration et la préservation de la biodiversité (*'la diversité de la vie sur terre'*) constituent des priorités majeures dans l'élaboration des stratégies de lutte contre la pauvreté et de développement durable au niveau planétaire. En effet, la diversité biologique est assujettie actuellement à des changements drastiques sans précédent conduisant à une réduction, voire une dégradation de la richesse biologique terrestre entre autres. Pourtant, il est clairement établi que les pays du Sud souffrent le plus de cette perte de la biodiversité, car leur survie en dépend la plupart du temps (*Millenium Ecosystem Assessment, 2005*). La diversité biologique participe ainsi, directement ou indirectement, sous différentes formes au bien-être de la planète et en particulier de l'homme.

Le terme *'coexistence'* a été utilisé par les écologues pour décrire une association équilibrée d'espèces dans une communauté biotique (Hart *et al.*, 2003). En ce qui concerne les communautés végétales, les interactions entre espèces peuvent être positives, négatives ou neutres (Chesson, 2000 ; Bais *et al.*, 2002 ; Ouahmane *et al.*, 2006 ; Brooker *et al.*, 2008).

Différents processus permettent de réguler et de maintenir la biodiversité végétale, à savoir (1) la compétition entre plantes voisines (Grace et Tilman, 1990), (2) la répartition spatiale et temporelle des ressources nutritives (Tilman, 1982), (3) les perturbations édaphiques créant des nouvelles zones ou « patches » pour la colonisation par les plantes (Huston, 1979), et (4) les interactions avec les autres organismes constituant les écosystèmes (Bever *et al.*, 1997 ; Sanon *et al.*, 2010).

En se focalisant sur la composante biotique, il ressort que la dynamique de la flore épigée est liée au développement des organismes vivant dans le sol. En effet, un des paramètres fondamentaux de la composition et de l'activité des communautés microbiennes du sol est principalement déterminé par les caractéristiques de la strate végétale (composition et âge de la formation végétale) qui interviennent par la qualité et la quantité des exsudats racinaires et des résidus végétaux retournés au sol (Grayston *et al.*, 2001), ces facteurs s'ajoutant aux caractéristiques physico-chimiques, à l'humidité du sol, etc. (Stotzky, 1997). En retour, les microorganismes du sol, les champignons mycorhiziens entre autres, interviendraient fortement dans le déterminisme de la composition et de la dynamique des communautés végétales (van der Heijden *et al.*, 1998 ; Wardle, 2002 ; Sanon *et al.*, 2010, 2011).

Dans le cas des régions sahéliennes et soudano-sahéliennes où la faible pluviométrie ne permet pas le développement d'une strate forestière dense, la compétition interspécifique pour l'accès à la lumière a une importance relativement réduite. Les phénomènes de coexistence sont donc principalement régis au niveau du sol (accès aux ressources nutritives, interférences allélopathiques, ...) en impliquant les organismes qui y vivent. Ainsi, une meilleure compréhension de ces mécanismes est d'une importance cruciale dans toutes les opérations visant à restaurer et à revégétaliser des milieux dégradés, et ainsi conserver la diversité des ressources naturelles des écosystèmes terrestres.

En Afrique au sud du Sahara, l'espèce végétale exotique *Gmelina arborea* a largement été utilisée lors des programmes de reboisement (Ouedraogo, 1995). Or cette espèce végétale à croissance rapide est susceptible d'entraîner des impacts écologiques négatifs notamment sur la flore indigène. En effet, le développement des herbacées annuelles adjacentes aux plants de *G. arborea* est fortement inhibé. Il est rapporté dans la littérature que certaines espèces végétales, les espèces exotiques en particulier, ont la capacité de produire et de libérer dans le biotope des substances allélopathiques, entravant ainsi le développement des plantes voisines (Ridenour et Callaway, 2001 ; Bais *et al.*, 2002). Ces composés secondaires (acides phénoliques, flavonoïdes, terpénoïdes et alcaloïdes) se retrouvent ainsi dans l'environnement *via* quatre principaux mécanismes : l'exsudation racinaire, la lixiviation des pluviollessivats, la volatilisation et la décomposition de la litière.

Dans leur expérimentation, Sanon *et al.* (2006) ont évalué l'impact de la mycorhization contrôlée de *G. arborea* sur la structuration de la strate herbacée sous-jacente. Après 12 mois de culture dans le sol non stérilisé de Gampéla des plants préalablement traités, ces auteurs ont observé que les biomasses aériennes et racinaires des herbacées spontanées sous-jacentes suivaient l'ordre suivant : Non planté >> Plants inoculés > Plants témoins > Plants fertilisés (tabl. 1). Plus particulièrement, ils ont noté que l'effet négatif sur le développement des herbacées est corrélé à la croissance racinaire de l'arbre. En outre, la richesse spécifique et l'indice de diversité de Simpson-Yule des herbacées étaient significativement plus élevés dans les pots contenant les plants mycorhizés comparativement aux plants témoins et fertilisés (tabl. 1). Ces résultats corroborent ceux préalablement obtenus et qui sous-tendent que les champignons mycorhiziens étaient susceptibles de promouvoir la coexistence entre espèces végétales (Janos, 1980 ; van der Heidjen *et al.*, 1998) en constatant que l'augmentation des propagules mycorhiziennes dans le sol, et par voie de conséquence la longueur des hyphes, conduisaient à une plus grande diversité végétale et à une productivité plus élevée de

l'écosystème (van der Heijden *et al.*, 1998). Dans ce cas précis, les auteurs ont suggéré que l'effet positif pourrait résulter de la présence d'un réseau mycélien bien développé qui assurerait une uniformisation à l'accès aux ressources nutritives entre les espèces végétales dominantes (*G. arborea*) et celles qui le sont moins (herbacées annuelles) (Wirsel, 2004). Les microorganismes peuvent aussi agir sur les substances allélopathiques, en les inactivant ou en les dégradant. Les champignons MA et la microflore mycorrhizosphérique qui leur est associée pourraient ainsi, par les mécanismes précités, protéger les herbacées des substances toxiques libérées par les ligneux exotiques (Pellissier et Souto, 1999 ; Blum *et al.*, 2000).

En revanche, Sangaré (2007) au cours de son expérimentation sur *Acacia holosericea* transplanté *in situ* à la station expérimentale de Kamboinsé n'a pas observé cet effet promoteur de la diversité herbacée sous-jacente dû à la mycorhization contrôlée de la ligneuse exotique. Les tests statistiques qu'il a réalisés n'ont pas révélé de différence significative de diversité herbacée entre les différents traitements (Témoin, Inoculé, Fertilisé ; $p < 0,05$). Toutefois, il a observé une meilleure production herbacée sous les plants de *A. holosericea* témoins. La production herbacée n'était pas différente pour les plants mycorhizés et fertilisés. Lorsqu'il a comparé cette production de biomasse herbacée en fonction de la distance au tronc de l'arbre (50, 100 et 150 cm), la même tendance (50 cm > 100 cm > 150 cm) était observée pour les trois traitements.

6. CONCLUSION

Les travaux de recherche réalisés au Burkina Faso, en mettant en place diverses approches expérimentales (*in situ* et en conditions contrôlées) et méthodes d'analyse, ont permis de passer en revue différents aspects de l'écologie des symbioses mycorrhiziennes. Ces investigations ont abouti à une meilleure compréhension des interactions entre les espèces végétales et leur cortège microbien rhizosphérique (en particulier les champignons mycorrhiziens et leur microflore mycorrhizosphérique) dans un écosystème sahélien pour une meilleure gestion et une valorisation de la diversité des ressources naturelles.

Divers constats peuvent être relevés.

- La symbiose mycorrhizienne intervient largement pour déterminer les diversités structurelles et fonctionnelles de la microflore mycorrhizosphérique, quand on sait la fonction majeure dévolue à cette microflore dans la régulation des cycles

biogéochimiques des nutriments. Cette modification des capacités métaboliques des communautés bactériennes peut, *in fine*, être perçue comme bénéfique surtout que des groupes fonctionnels à intérêt écologique avéré sont souvent stimulés (bactéries fixatrices d'azote, pseudomonads fluorescents, bactéries solubilisant les phosphates, ...). Cela dénote encore une fois la nécessité d'une gestion harmonieuse du potentiel mycorhizien des sols dans la perspective d'une agriculture durable à faible apport d'intrants agrochimiques. En outre, nos résultats montrent que la symbiose mycorhizienne permettrait d'atténuer les perturbations induites dans les communautés microbiennes telluriques suite à la plantation d'espèces végétales exotiques et ceci, en restaurant une microflore semblable à la situation précédant la plantation de l'espèce exotique.

- La mycorhization contrôlée des espèces végétales améliore substantiellement leur croissance (biomasses foliaire, racinaire, des tiges ; rendement en grains, ...) et cette amélioration de la croissance végétale peut justement être imputable à une meilleure nutrition minérale, entre autres. Cette observation est justifiée par une teneur plus élevée en nutriments dans les biomasses des plants mycorhizés. De plus, nos résultats indiquent que les effets de la mycorhization peuvent perdurer dans le temps et surtout en conditions de sol non stérilisé. Par exemple, des meilleurs rendements de maïs ont été obtenus sur des parcelles ayant préalablement porté des plants de *Acacia holosericea* inoculés et remis en culture. Le choix du symbiote mycorhizien à inoculer revêt donc une importance capitale afin d'optimiser les bénéfices de la mycorhization. Efficacité et compétitivité vis-à-vis de la microflore native, entre autres, seront donc les qualités à rechercher chez l'inoculum mycorhizien.
- Les ligneux exotiques à croissance rapide peuvent avoir des effets antagonistes sur la strate herbacée sous-jacente. Nous avons observé que cet effet négatif était modifié lorsque ces arbres étaient préalablement inoculés par des champignons mycorhiziens, mettant ainsi en évidence un des nombreux mécanismes d'action des communautés microbiennes dans les processus favorables à la coexistence des espèces végétales. Ces résultats soulignent ainsi l'importance des réseaux d'hyphes mycorhiziens dans les interactions microbiennes au niveau du sol et dans les 'dialogues' plante-plante régissant la structuration des communautés végétales.

Les pépiniéristes privés ou les services forestiers évaluent rarement le statut mycorhizien des plants forestiers malgré les bénéfices potentiels de l'inoculation contrôlée sur la croissance des plants en pépinière comme en plantation. La sensibilisation des pépiniéristes est à encourager d'autant que les techniques de mycorhization contrôlée permettent d'obtenir des plants équilibrés, vigoureux et sains en réduisant notamment les traitements phytosanitaires et les fertilisants.

Ensuite, les techniques de production de plants en pépinière sont à optimiser en apportant l'associé fongique approprié lorsqu'il est absent, tout en économisant l'utilisation d'intrants agrochimiques. Le choix du partenaire fongique adapté à l'essence et aux conditions pédoclimatiques est primordial pour la réussite des plantations des essences indigènes ou introduites. Le problème de la spécificité peut se poser lorsqu'on introduit par exemple des essences en dehors de leur aire d'origine. On pourra envisager, dans le cas où les symbiotes indigènes ne sont pas compatibles avec la plante introduite, de nous orienter vers le choix de champignons ayant coévolué avec la plante dans l'aire d'origine de celle-ci en n'occultant pas le soin de réaliser un suivi écologique du matériel biologique introduit (inoculum fongique). Toutefois, la production d'inoculum commercialisé reste encore un des obstacles majeurs pour la diffusion de la technique de mycorhization contrôlée. Des procédés de fabrication d'inoculum mycorhizien sont à promouvoir puisque la demande en produits ligneux va croissant dans les pays sahéliens notamment.

Enfin, une plus grande attention sera à accorder, dans les programmes de recherche à venir, aux inoculations multiples avec des champignons mycorhiziens (inocula endo- et ectomycorhiziens) et des rhizobiums dans la mesure où la plupart des légumineuses forestières exotiques ou indigènes hébergent concomitamment ces microorganismes symbiotiques.

7. REFERENCES

- Ames, R.N., Reid, C.P.P. & Ingham, E.R. (1984). Rhizosphere bacterial population responses to root colonization by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytologist*, 96:555-563
- Andrade, G., Mihara, K.L., Linderman, R.G. & Bethlenfalvay, G.J. (1997). Bacteria from rhizosphere and hyphosphere soils of different arbuscular-mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 192:71-79

- Andrade, G., Mihara, K.L., Linderman, R.G. & Bethlenfalvay, G.J. (1998). Soil aggregation status and rhizobacteria in the mycorrhizosphere. *Plant and Soil*, 202:89-96
- André, S., Galiana, A., Le Roux, C., Prin, Y., Neyra, M. & Duponnois, R. (2005). Ectomycorrhizal symbiosis enhanced the efficiency of two Bradyrhizobium inoculated on *Acacia holosericea* plant growth. *Mycorrhiza*, 15:357-364
- Bais, H.P., Walker, T.S., Stermitz, F.R., Hufbauer, R.A. & Vivanco, J.M. (2002). Enantiomeric-dependent phytotoxic and antimicrobial activity of (\pm) catechin. A rhizosecreted racemic mixture from spotted knapweed. *Plant Physiology*, 128:1173-1179
- Barea, J.M., Azcon-Aguilar, C. & Azcon, R. (1997). Interactions between mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms within the context of sustainable soil-plant systems. In: Gange AC, Brown VK (eds) *Multitrophic Interactions in Terrestrial Systems*, Blackwell Science, Cambridge, pp 65-77
- Bationo, A. & Mowunye, A.U. (1991). Role of manure and crop residue in alleviating soil fertility constraints to crop production with special reference to the Sahelian and Sudanian zones of West Africa. *Soil Fertility Research*, 29 : 117-125.
- Bationo, A., Mugbogho, S.K. & Mowunye, A.U. (1986). Agronomic evaluation of phosphate fertilizers in Tropical Africa. In: Mowunye AU, Vleck PLG (eds) *Management of nitrogen and phosphorus fertilizers in sub-saharian Africa*. Martinus Nijhoff Dordrech, Netherlands, pp 283-318
- Bever, J.D., Westover, K.M. & Antonovics, J. (1997). Incorporating the soil community into plant population dynamics: the utility of the feedback approach. *Journal of Ecology*, 85: 561-573.
- Bilgo, A. (2005). Statut organo-minéral et biologique des sols dans les systèmes culture-jachère naturelle de courte durée ou améliorée à *Andropogon gayanus* Kunth. Cas de Bondoukuy en zone sud soudanienne du Burkina Faso. Thèse de l'Université de Ouagadougou. 183 p.
- Bilgo, A., Masse, D., Sall, S., Serpantié, G., Chotte, J-L. & Hien, V. (2007). Chemical and microbial properties of semiarid tropical soils of short-term fallows in Burkina Faso, West Africa. *Biology & Fertility of Soils*, 43:313-320

- Bilgo, A., Sangare, S.K., Thioulouse, J., Prin, Y., Hien, V., Galiana, A., Baudoin, E., Hafidi, M., Bâ, A.M. & Duponnois, R. (2011). Response of native soil microbial functions to the controlled mycorrhization of an exotic tree legume, *Acacia holosericea* in a Sahelian ecosystem. *Mycorrhiza*. doi [10.1007/s00572-011-0390-2](https://doi.org/10.1007/s00572-011-0390-2)
- Blum, U., Statman, K.L., Flint, L.J. & Shaefer, S.R. (2000). Induction and/or selection of phenolic acid-utilizing bulk-soil and rhizospheric bacteria and their influence on phenolic acid phytotoxicity. *Journal of Chemical Ecology*, 26: 2059-2078
- Brooker, R.W., Maestre, F.T., Callaway, R.M., Lortie, C.L., Cavieres, L.A., Kunstler, G., Liancourt, P., Tielbörger, K., Travis, J.M.J., Anthelme, F., Armas, C., Coll, L., Corcket, E., Delzon, S., Forey, E., Kikvidze, Z., Olofsson, J., Pugnaire, F., Quiroz, C.L., Saccone, P., Schiffers, K., Seifan, M., Touzard, B. & Michalet, R. (2008). Facilitation in plant communities: the past, the present, and the future. *Journal of Ecology*, 96:18-34
- Cardoso, I.M. & Kuyper, T.M. (2006). Mycorrhizas and tropical soil fertility. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 116:72-84
- Chesson, P. (2000). Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annual Review Ecological Systems*, 31: 343-366
- Dabiré, A.P. (2007). Evaluation du Potentiel Infectieux Mycorrhizogène de sols du Burkina Faso par la mesure de la nodulation rhizobienne et l'activité fonctionnelle de la microflore mycorrhizosphérique. Mémoire de DEA de l'Institut de Développement Rural (IDR) de Bobo. 56 p
- Dabiré, A.P., Hien, V., Kisa, M., Bilgo, A., Sangare, K.S., Plenchette, C., Galiana, A., Prin, Y. & Duponnois, R. (2007). Responses of soil microbial catabolic diversity to arbuscular mycorrhizal inoculation and soil disinfection. *Mycorrhiza*, 17: 537-545
- Degens, B.P. & Harris, J.A. (1997). Development of a physiological to measuring the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 29:1309-1320
- Degens, B.P., Schipper, L.A., Sparling, G.P. & Duncan, L.C. (2001). Is the microbial community in a soil with reduced catabolic diversity less resistant to stress or disturbance. *Soil Biology & Biochemistry*, 33:1143–1153

- Drever, J.L. & Vance, G.F. (1994). Role of soil organic acids in mineral weathering processes. In: Lewan MD, Pittman ED (eds) *The role of organic acids in geological processes*. Springer Verlag, New York, pp 138-161
- Duponnois, R., Colombet, A., Hien, V. & Thioulouse, J. (2005). The mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendment influence plant growth and microbial activity in the rhizosphere of *Acacia holosericea*. *Soil Biology & Biochemistry*, 37: 1460-1468
- Duponnois, R., Plenchette, C. & Bâ, A.M. (2001a). Growth stimulation of seventeen fallow leguminous plants inoculated with *Glomus aggregatum* in Senegal. *European Journal of Soil Biology*, 37: 181-186
- Duponnois, R., Plenchette, C., Thioulouse, J. & Cadet, P. (2001b). The mycorrhizal soil infectivity and arbuscular mycorrhizal fungal spore communities in soils of different aged fallows in Senegal. *Applied Soil Ecology*, 17:239–251
- Founoune, H., Duponnois, R., Meyer, J.M., Thioulouse, J., Masse, D., Chotte, J.-L. & Neyra, M. (2002). Interactions between ectomycorrhizal symbiosis and fluorescent pseudomonads on *Acacia holosericea*: isolation of Mycorrhiza Helper Bacteria (MHB) from a Soudano-Sahelian soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 41:37-46
- Frey-Klett, P., Chavatte, M., Clause, M.L., Courier, S., Le Roux, C., Raaijmakers, J., Martinotti, M.G., Pierrat, J.C. & Garbaye, J. (2005). Ectomycorrhizal symbiosis affects functional diversity of rhizosphere fluorescent pseudomonads. *New Phytologist*, 165: 317-328
- Garbaye, J. (1991). Biological interactions in the mycorrhizosphere. *Experienta*, 47: 370-375
- Grace, J.D. & Tilman, D. (1990). *Perspectives on plant competition*. Academic Press, New York
- Graham, M.H. & Haynes, R.J. (2005). Catabolic diversity of soil microbial communities under sugarcane and other land uses estimated by Biolog and substrate-induced respiration methods. *Applied Soil Ecology*, 29:155-164

- Grayston, S., Griffith, G., Mawdsley, J., Campbell, C. & Bardgett, R. (2001). Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. *Soil Biology & Biochemistry*, 33:533-551
- Guisso, T. (1994). Amélioration de la croissance et de la fixation d'Azote chez deux Acacia australiens (*Acacia holosericea* A. Cunn. Ex G. Don. et *Acacia mangium* Wild.). Mise en évidence d'une diversité de Glomales dans les sols du Burkina Faso. Mémoire de l'Institut de Développement Rural de Bobo (Burkina Faso) ; 49 p.
- Hart, M.M., Reader, R.J. & Klironomos, J.N. (2003). Plant coexistence mediated by arbuscular mycorrhizal fungi. *Trends in Ecology & Evolution*, 18: 418-423
- Huston, M.A. (1979). General hypothesis of species diversity. *American Naturalist*, 113: 81-101
- Janos, D.P. (1980). Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica*, 12: 56-64
- Johansson, J.F., Paul, L.R. & Finlay, R.D. (2004). Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiology Ecology*, 48: 1-13
- Johnson, N.C., Graham, J.H. & Smith, F.A. (1997). Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytologist*, 135:575-585.
- Joner, E.J. & Leyval, C. (2003). Rhizosphere gradients of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) dissipation in two industrial soils and the impact of arbuscular mycorrhiza. *Environmental Sciences & Technology*, 37: 2371-2375
- Kennedy, T.A., Naeem, S., Howe, K.M., Knops, J.M.H., Tilman, D. & Reich, P. (2002). Biodiversity as a barrier to ecological invasion. *Nature*, 417: 636-638
- Kisa, M., Sanon, A., Thioulouse, J., Assigbetse, K., Sylla, S., Spichiger, R., Dieng, L., Berthelin, J., Prin, Y., Galiana, A., Lepage, M. & Duponnois, R. (2007). Arbuscular mycorrhizal symbiosis can counterbalance the negative influence of the exotic tree species *Eucalyptus camaldulensis* on the structure and functioning of soil microbial communities in a Sahelian soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 62:32-44
- Klironomos, J.N. (2003) Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology*, 84:2292-2301

- Klironomos, J., Zobel, M., Tibbett, M., Stock, W.D., Rillig, M.C., Parrent, J.L., Moora, M., Koch, A.M., Facelli, J.M., Facelli, E., Dickie, I.A. & Bever, J.D. (2011). Forces that structure plant communities: quantifying the importance of the mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*, 189:366-370
- Lambers, H., Raven, J.A., Shaver, G.R. & Smith, S.E. (2008). Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. *Trends in Ecology & Evolution*, 23:95-103
- Millenium Ecosystem Assessment (2005). Ecosystems and human well-being : Biodiversity synthesis. [http:// www.worldcat.org/title/ecosystems-and-human-well-being-biodiversity-synthesis-a-report-of-the-millennium-ecosystem-assessment/](http://www.worldcat.org/title/ecosystems-and-human-well-being-biodiversity-synthesis-a-report-of-the-millennium-ecosystem-assessment/). Cited 26 July 2011.
- Ouahmane, L., Duponnois R., Hafidi, M., Kisa, M., Boumezouch, A., Thioulouse, J. & Plenchette, C. (2006). Some Mediterranean plant species (*Lavandula* spp. and *Thymus satureioides*) act as potential ‘plant nurses’ for the early growth of *Cupressus atlantica*. *Plant Ecology*, 185: 123-134
- Ouédraogo, S.J. (1995). Les parcs agroforestiers au Burkina Faso. Rapport AFRENA N°79.
- Pellissier, F. & Souto, X. (1999). Allelopathy in Northern temperate and boreal semi-natural woodland. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 18: 637-652
- Peterson, G., Allen, C.R. & Holling, C.S. (1998). Ecological resilience, biodiversity, and scale. *Ecosystems*, 1: 6-18
- Purin, S. & Rillig, M.C. (2008). Parasitism of arbuscular mycorrhizal fungi : reviewing the evidence. *FEMS Microbiology Ecology*, 279: 8-14
- Ramanankierana, N., Rakotoarimanga, N., Thioulouse, J., Kisa, M., Randrianjohany, E., Ramaroson, L. & Duponnois, R. (2006). The Ectomycorrhizosphere effect influences functional diversity of soil microflora. *International Journal of Soil Sciences*, 1:8-19
- Ravnskov, S., Nybroe, O. & Jakobsen, I. (1999). Influence of arbuscular mycorrhizal fungus on *Pseudomonas fluorescens* DF57 in rhizosphere and hydrosphere soil. *New Phytologist*, 142: 113-122
- Requena, N., Perez-Solis, E., Azcon-Aguilar, C., Jeffries, P. & Barea, J.M. (2011). Management of indigenous Plant-Microbe Symbioses aids restoration of desertified

- ecosystems. *Applied Environmental Microbiology*, 67:495-498
- Ridenour, W.M. & Callaway, R.M. (2001). The relative importance of allelopathy in interference: the effects of an invasive weed on a native bunchgrass. *Oecologia*, 126: 444-450
- Rillig, M.C. & Mummey, D.L. (2006). Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist*, 171: 41-53
- Rygiel, P.T. & Andersen, C.P. (1994). Mycorrhizae alter quality and quantity of carbon allocated belowground. *Nature*, 36: 58-60
- Sangaré, S.A.K. (2002). Evaluation de la performance agro-écologique des techniques de lutte contre la désertification: cas du Zaï, de la demi-lune et du tapis herbacé dans les provinces du Passoré et du Yatenga. Mémoire d'Ingénieur de l'Institut de Développement Rural. 84 p.
- Sangaré, S.K. (2007). La mycorhization contrôlée de *Acacia holosericea* A. Cunn ex G. Don: conséquences sur le développement de la plante et la diversité fonctionnelle de la microflore endémique du sol dans les agrosystèmes du Burkina Faso. Mémoire de DEA de l'Institut de Développement Rural (IDR) de Bobo. 92 p
- Sangaré, S.K., Bilgo, A. & Hien, V. (2009). Effets de la mycorhization contrôlée de *Acacia holosericea* A. Cunn ex G. Don sur les caractéristiques chimiques d'un lixisol et impact sur les rendements du maïs (*Zea mays* L.). *Science et Technique*, 31 : 27-39
- Sanon, A. (2004). Impact de la mycorhization contrôlée du *Gmelina arborea* sur le biofonctionnement du sol et sur la structure de la strate herbée. Mémoire de DESS du Centre Régional d'Enseignement Spécialisé en Agriculture (CRESA) de Niamey. 60 p
- Sanon, A., Martin, P., Thioulouse, J., Planchette, C., Spichiger, R., Lepage, M. & Duponnois, R. (2006). Displacement of an herbaceous plant species community by mycorrhizal and non-mycorrhizal *Gmelina arborea*, an exotic tree, grown in a microcosm experiment. *Mycorrhiza*, 16: 125-132
- Sanon, A., Beguiristain, T., Cébron, A., Berthelin, J., Ndoye, I., Leyval, C., Prin, Y., Galiana, A., Baudoin, E. & Duponnois, R. (2010). Towards the influence of plant-soil-microbes feedbacks on plant biodiversity, grassland variability and productivity. In: Runas J,

- Dahlgren T (eds) Grassland Biodiversity: Habitat types, Ecological Processes and Environmental impacts. Nova Sciences Publishers, Inc, New York, pp 267-301
- Sanon, A., Baudoin, E., Prin, Y., Galiana, A., Duponnois, R. & Ndoye, F. (2011). Plant Coexistence and Diversity Mediated Belowground: the Importance of Mycorrhizal Networks. Nova Sciences Publishers, Hauppauge New York
- SBSTTA (Subsidiary Body on Scientific, Technical and Technological Advice) (2001). Soil biodiversity and sustainable agriculture; paper submitted by the Food and Agriculture Organization of the United Nations to the Secretariat of the Convention on Biological Diversity. 28p. Site web: <http://www.cbd.int/doc/meetings/sbstta/sbstta-07/information/sbstta-07-inf-11-en.doc>. Cited 26 July 2011
- Siddiqui, Z.A. & Pichtel, J. (2008). Mycorrhizae : an overview. In: Siddiqui ZA, Akhtar MS, Futai K, (eds) Mycorrhizae : Sustainable Agriculture and Forestry. Springer Dordrecht, pp1-35
- Simard, S.W. & Durall, D.M. (2004). Mycorrhizal networks: a review of their extent, function, and importance. Canadian Journal of Botany, 82:1140-1165
- Smith, S.E. & Read, D.J. (2008). Mycorrhizal symbiosis. Elsevier, London
- St-Arnaud, M., Hamel, C., Vimard, B., Caron, M. & Fortin, J.A. (1997). Inhibition of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* in the non-VAM species *Dianthus caryophyllus* by co-culture with *Tagetes patula* companion plants colonized by *Glomus intraradices*. Canadian Journal of Botany, 75: 998-1005
- Stotzky, G. (1997). Soil as an environment for microbial life. In: Van Elsas JD, Trevors JT, Wellington EMH (eds) Modern Soil Microbiology. Dekker, New York, pp 1-20
- Sylvia, D.M. (1990). Inoculation of native woody plants with vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi for phosphate mine lands reclamation. Agriculture Ecosystems & Environment, 31: 253–261
- Tilman, D. (1982). Resource competition and community structure. Princeton Monographs in Population Biology 17. Princeton University Press, Princeton
- Tilman, D., Cassman, K.G., Matson, P.A., Naylor, R. & Polasky, S. (2002). Agricultural sustainability and intensive production practices. Nature, 418: 671-677

- Traoré, K., Hien, F. & Hien, V. (2003). Durabilité du système zaï dans la zone nord du Burkina Faso : Etude des flux de matières organiques dans l'exploitation et gestion de la production agricole. Symposium "Sustainable Dry Land Agriculture System". Niamey 2 - 5 décembre 2003
- Urcelay, C. & Diaz, S. (2003). The mycorrhizal dependence of subordinates determines the effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plant diversity. *Ecology Letters*, 6: 388-391
- van der Heijden, M.G.A., Klironomos, J.N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Wiemken, A. & Sanders, I.R. (1998). Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 396: 69-72
- Vazquez, M.M., Cesar, S., Azcon, R. & Barea, J.M. (2000). Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and other microbial inoculants (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) and their effects on microbial populations and enzyme activities in the rhizosphere of maize plants. *Applied Soil Ecology*, 15: 261-272
- Wardle, D.A. (2002). *Communities and Ecosystems: Linking the aboveground and belowground components*. Monographs in Population Biology, vol 34. Princeton University Press, Princeton
- Wilson, G.W.T., Rice, C.W., Rillig, M., Springer, A. & Hartnett, D.C. (2009). Soil aggregation and carbon sequestration are tightly correlated with the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi: results from long-term field experiments. *Ecology Letters*, 12: 452-461
- Wirsel, S.G.R. (2004). Homogenous stands of wetland grass harbour diverse consortia of arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microbiology Ecology*, 48: 129-138
- Zougmore, R., Mando, A., Stroosnijder, L. & Ouédraogo, E. (2004). Economic benefits of combining soil and water conservation measures with nutrient management in semiarid Burkina Faso. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 70: 261-269

CHAPITRE 2

**SYMBIOSE MYCORHIZIENNE ET ECOSYSTEMES
TROPICAUX**

EXEMPLES D'ETUDES REALISEES AU CAMEROUN

INTRODUCTION GENERALE

Située en Afrique centrale, la République du Cameroun s'étend du golfe de Guinée jusqu'au lac Tchad, entre le 2^e et le 13^e N et le 9^e et le 16^e E. Les diversités de ses paysages naturels et de ses populations s'expliquent par son emplacement dans la zone intertropicale, à la charnière de l'Afrique occidentale et de l'Afrique centrale. De forme triangulaire, il s'étend de Campo sur l'océan Atlantique à Massabi sur les bords du lac Tchad, et de Mouloundou sur la Sangha à Akwaya dans la province du Sud-Ouest. C'est l'un des plus petits États de l'Afrique centrale, mais de taille moyenne (475 000 km²). En 2010, on estime à 19 000 000 d'habitants la population du Cameroun représentant 230 ethnies.

À l'exception des chaînes plissées, le Cameroun possède tous les grands types de relief du continent africain : plaines, cuvettes, massifs volcaniques et plateaux. Ces derniers sont prépondérants et occupent les 2/3 du territoire camerounais. Les éléments du relief se divisent en deux catégories : les hautes terres, constituées de plateaux et de massifs dans le Sud et Nord-Ouest, et les basses terres, régions de faible altitude situées à l'intérieur du pays ou en bordure de mer (Plateau sud-camerounais).

Les roches formées au cours d'ères géologiques différentes (roches cristallines, volcaniques et sédimentaires) et les sols du Cameroun sont très variés, notamment :

- les sols ferrallitiques de couleur rouge qui s'étendent sur les 2/3 du pays, de l'Adamaoua à la frontière sud et correspondent aux régions de climat équatorial (Zones agroécologiques III, IV et V),
- les sols rouge foncé plus ou moins fertiles mais peu profonds, qui s'étendent de l'Adamaoua à la plaine du Tchad formés dans les régions de climat soudanien,
- les sols des régions marécageuses ou inondées généralement très fertiles, qui sont des argiles noires des vallées de la Bénoué et du Logone,
- les sols jaunes formés de roches volcaniques et d'alluvions qui couvrent les Hauts Plateaux de l'Ouest, le littoral du bassin de Douala et la côte du Rio del Rey.

Le Cameroun connaît deux types de climats : le climat équatorial qui domine le Sud-Cameroun à trois nuances [guinéen très humide ou camerounien à deux saisons sur les massifs, les hauts plateaux de l'Ouest et les régions de Douala et du mont Cameroun, guinéen très humide, guinéen ou équatorial classique avec deux saisons humides et deux saisons sèches d'inégale durée, présent sur le plateau sud-camerounais et guinéen de transition au pied de l'Adamaoua : la petite saison sèche disparaît progressivement ; la saison des pluies dure 6 à 8 mois (région de Yoko, nord de Bafia)] et le climat tropical dans les plaines du Nord et le

plateau de l'Adamaoua, où les pluies diminuent progressivement et la saison sèche s'allonge et dure 5 mois à Ngaoundéré, 9 mois à Kousséri. Les températures, très modérées dans l'Adamaoua, s'élèvent dans les cuvettes et les plaines. Seuls les massifs de la région jouissent de climats plus tempérés (les monts Mandara). Le climat tropical présente au Cameroun deux nuances, tropical humide ou soudanien dans l'Adamaoua et la cuvette de la Bénoué et tropical sec ou sahélien des plaines du Diamaré, du Mayo-Danaï, du Logone et Chari.

On retrouve au Cameroun les deux principaux paysages naturels de l'Afrique au sud du Sahara. Ces paysages correspondent aux deux types de climat : la forêt dense humide (climat équatorial et sols argileux) qui couvre tout le Sud-Cameroun, et les savanes (climat tropical), de l'Adamaoua aux plaines du Tchad, qui s'appauvrissent avec les pluies.

Ces diversités écosystémiques donnent lieu à une biodiversité prodigieuse des organismes du sol mal connus, notamment les champignons mycorhiziens. Plusieurs institutions nationales génèrent des données sur les mycorhizes et leurs associations, notamment l'Institut de recherche agricole pour le développement (Irad), les universités de Yaoundé I, Buéa, Dschang et Ngaoundéré dont les principaux acquis sur le sujet sont présentés dans ce chapitre.

ROLES-CLES DES CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS POUR LA GESTION DURABLE DE LA FORET CAMEROUNAISE

par Onguene N. A¹, Bechem E. E. ¹, Nwaga D.², Nana W L.²

¹ Institut de recherche agricole pour le développement. B.P 2067. Yaoundé. Cameroun.

² Université de Yaoundé I. B.P 812. Yaoundé. Cameroun.

1. INTRODUCTION

Le Cameroun est de forme triangulaire et contient une multitude variable de ressources forestières. Il est couvert par deux grands écosystèmes forestiers : la forêt dense humide et ses variantes entre le 2^e et le 6^e parallèle de latitude Nord et la forêt sèche au-delà. Dans la partie australe du pays, on distingue les formations forestières suivantes : forêt dense de basse altitude, forêt submontagnarde (900-1 500 m), forêt montagnarde (1 500 m), forêt marécageuse et les mangroves qui couvrent environ 16 876 000 hectares. En incluant toutes les forêts du domaine national, la superficie forestière du Cameroun avoisine 46 600 000 hectares (Anonyme, 2008a). La forêt camerounaise est très riche. On dénombre environ 300 espèces de plantes par hectare (Anonyme, 2008a). Dix essences seulement sont parmi les plus exploitées, respectivement, l'Ayous, le Sapelli, le Tali, l'Azobé, l'Iroko, l'Okan, le Fraké, le Movingui, le Kossipo, le Padouk rouge (Anonyme 2008b). Cependant, ce couvert forestier connaît une évolution décroissante à cause d'un taux net de déforestation de 1990 à 2000 d'environ 0,14 à 1 % selon les sources (FAO, 2007). Les principaux facteurs de déforestation sont les agricultures (responsables de plus de 80 % des pertes du couvert végétal au Cameroun (CARPE, 2005), l'exploitation illégale des forêts pour la production du bois d'œuvre, dans le secteur informel, et tout récemment l'exploitation minière (Anonyme, 2008a). Cette dégradation de l'habitat forestier camerounais et ses conséquences sur la perte de la diversité biologique ont reçu une faible attention, surtout sur les composants, les processus et les interactions de la biodiversité des sols qui assument des rôles essentiels dans la régulation, la structure et le fonctionnement des forêts humides, notamment les associations mycorhiziennes.

2. STATUT MYCOTROPHIQUE D'ESSENCES FORESTIERES EN FORET HUMIDE CAMEROUNAISE

Presque toutes les espèces d'arbres des forêts tropicales humides forment des associations mycorhiziennes. Sans elles, il leur serait impossible de survivre. La connaissance de la diversité et dynamique des associations arbres-champignons mycorhiziens soumises à divers modes d'utilisation des terres forestières est, par conséquent, un pré-requis en gestion durable des forêts.

Les écosystèmes forestiers camerounais renferment les représentants des deux types majeurs d'associations mycorhiziennes, à savoir, mycorhizes arbusculaires et ectomycorhizes. Historiquement, les premières investigations sur les champignons mycorhiziens de la forêt camerounaise remontent vers le milieu des années 1980 dans le parc national de Korup (PNK), au Sud-Ouest camerounais (Newbery *et al.*, 1988). Puis, elles ont été poursuivies en forêt de Bipindi-Lolodorf-Akom II (BLA), au Sud-Cameroun dans les années 1990 (Onguene, 2000 ; Tsamo, 2005). Au milieu des années 2000, elles ont porté sur une liane à haute valeur nutritionnelle et économique, *Gnetum* spp, à travers 25 localités du Cameroun (Bechem, 2004). Tout récemment, une étude sur les associations ectomycorhiziennes a été entreprise en forêt du Sud-Est-Cameroun, dans les peuplements de *Gilbertiodendron dewevrei* (Ba *et al.*, comm. pers.).

Les premiers résultats en forêt humide camerounaise montrent que le statut mycorhizien de plus de 300 essences a été évalué, avec une prédominance des associations mycorhiziennes arbusculaires. Ainsi, au moins 232 espèces d'arbres forment toujours des mycorhizes arbusculaires (environ 82 %) appartenant au moins à une quarantaine de familles de phanérogames ; 45 essences appartenant uniquement à deux familles, Césalpiniciées et Phyllanthacées, et trois espèces de la liane *Gnetum* forment des ectomycorhizes (environ 16 %) ; six essences forment à la fois des ectomycorhizes et des mycorhizes arbusculaires ; quatre espèces d'arbres ne sont pas mycotrophiques (tabl. 1), en forêt de Korup.

La forêt humide du Cameroun apparaît donc comme partitionnée en deux selon le type d'associations mycorhiziennes : la forêt mycorhizienne arbusculaire au sein de laquelle des îlots de forêts ectomycorhiziennes, de tailles et de composition floristiques variées, où domine la canopée en formant des peuplements aux caractéristiques fongiques particulières, inaperçus par les botanistes et les forestiers lors d'inventaires. Pourtant, ces deux types forestiers sont très différents sur le plan de la structure floristique et de la composition fongique. Leur fonctionnement semble aussi varié en raison de niches de régénération différentes (Onguene,

2000). Il apparaît d'ailleurs que la maintenance des peuplements forestiers ectomycorhiziens avec des arbres à tous les stades de développement serait liée à des réseaux mycéliens des champignons ectomycorhiziens entre les jeunes plants et les arbres adultes conspécifiques ou différents (Onguene et Kuyper, 2001).

En fonction de l'espèce ou du genre dominant, trois types de peuplements forestiers ectomycorhiziens existent actuellement au Cameroun : les peuplements oligodominants à césalpiniacées mixtes, les peuplements monodominants à *Gilbertiodendron dewevrei* et les peuplements à *Uapaca* souvent notés au bord de cours d'eau, mais observés aussi sur terre ferme (Onguene, 2000).

Tableau 1 : Statut mycotrophique des essences des forêts camerounaises (Bechem et Alexander, 2011 ; Newberry *et al.*, 1988 ; Onguene et Kuyper, 2001 ; Onguene et Kuyper, 2002 ; Onguene et Onana, non publié ; Tenku *et al.*, non publié).

Essences mycorhiziennes arbusculaires (82 %)

Antrocaryon klaineum Pierre ; *Trichoscypha acuminata* Engl. ; *Enantia chlorantha* Oliv. ; *Hexalobus crispiflorus* A.Rich. ; *Tabaernaemontana crassa* Benth. ; *Alstonia boonei* De Wild.

Picalima nitida (Staf.) Th. & H. Dur ; *Aucoumea klaineana* Pierre ; *Canarium schweinfurthii* Engl. ; *Dacryodes edulis* ; *D. klaineana* (Pierre) Lam ; *D. macrophylla* ; *Santiria trimera* (Oliv.) Aubr. ; *Amphimas ferrugineus* Harms ; *A. pterocarpoides* Harms ; *Baikiaea insignis* Benth. ; *Cynometra hankei* Harms ; *C. sanagaensis* Aubr ; *Daniella ogea* Roffe ; *D. pynaertii* De Wild ; *Detarium macrocarpum* Pellegr. ; *Dialium pachyphyllum* Harms ; *D. spp.* Harms ; *Erythrophloeum ivorense* A. Chev. ; *Gossweilerodendron balsamiferum* (Vermoesen) Harms ; *Guibourtia tessmannii* (Harms) J. Léonard ; *Hymenostegia afzelii* (Oliv.) Harms ; *H. bakeriana* Hucth. & Dalz. ; *Oxystigma buchholzii* Harms ; *O. mannii* (Baill.) Harms ; *Pachyelasma tessmannii* (Harms) ; *Plagiosiphon longitibus* (Harms) J. Léonard ; *P. multijugus* (Harms) J. Léonard ; *P. sp.* ; *Scorodophloeus zenkeri* Harms ; *Talbotiella batesi* Baker ; *Garcinia kola* Heckel. ; *Garcinia lucida* Vesque ; *Terminalia superba* Engl. & Diel. ; *Diospyros iturensis* (Gürke) R. Let. & F. White ; *Dispyros spp.* Hiern ; *Caloncoba glauca* (P. Beauv.) Gilg. ; *Garcinia staudtii* Engl. ; *Sacoglottis gabonensis* (Baill.) Urb. ; *Irvingia gabonensis* (Aubry-Lec. ex O'Rorke) baill. ; *Hypodaphnis zenkeri* (Engl.) Stapf ; *Anthocleista*

schweinfurthii Gilg ; *Warneckea memecyloides* (Benth.) Jag. Fel. ; *Entandrophragma angolense* (Welw.) C. DC ; *E. candollei* Harms ; *E. cylindricum* (Sprague) Sprague ; *E. utile* (Dawe & Sprague) Sprague ; *Guarea cedrata* (A. Chev.) Pellegr. ; *Khaya ivorensis* A. Chev. ; *Lovoa trichilioides* Harms ; *Trichilia heudelotii* (Planch ex Oliv. ; *Calpocalyx dinklagei* Harms ; *Cyclodiscus gabonensis* Harms ; *Newtonia duparquetiana* (Baill.) Keay ; *Parkia bicolor* A. Chev. ; *Pentaclethra macrophylla* Benth. ; *Piptadeniastrum africanum* (Hook.f) Brenan ; *Musanga cecropioides* R.Br.ex tedlie ; *Milicia exelsa* (Welw.) C.C. Berg ; *Moringa oleifera* ; *Coelocaryon preussii* Warb. ; *Pycnanthus angolensis* (Welw.) Warb. ; *Staudtia kamerunensis* Warb. ; *Lophira alata* Banks ex Gaertn.f ; *Coula edulis* Baill. ; *Ongokea gore* (Hua) Pierre ; *Strombosia grandiflora* Hook.f.ex.Benth. ; *S. tetrandra* Engl. ; *Panda oleosa* Pierre ; *Pterocarpus soyauxii* Taub. ; *P. mildbraedii* Harms ; *Amanoa strobilacea* Muell.Arg. ; *Dichostemma glaucescens* Pierre ; *Klaineanthus gaboniae* Pierre ex Prain ; *Macaranga spinosa* Muell. Arg ; *Poga oleosa* Pierre ; *Prunus africana* Kalkman ; *Hallea ciliata* Aubr. & Pellegr. ; *Nauclea diderrichii* (De Wild. & Th. Dur.) Merrill ; *Pausynistalia johimbe* (K. Schumm) Pierre ; *Fagara heitzii* Aubr. & Pellegr. ; *Allophyllus schweinfurthii* Gilg. ; *Blighia welwitschii* (Hiern) Radlk. ; *Deinbollia pycnophylla* Gilg. Ex Radlk. ; *Eriocolum macrocarpum* Gilg. Ex Radlk. ; *Aningeria robusta* Aubr. & Pellgr. ; *Autranella congolensis* (De Wild.) A. Chev. ; *Baillonella toxisperma* Pierre ; *Chrysophyllum* sp. Linn. ; *Gambeya africana* (Bak.) Pierre ; *Lecomptedoxa klaineana* (Pierre ex Engl.) ; *Omphalocarpum procerum* P. Beauv. ; *Oubangia alata* Bak. F. ; *Theobroma cacao* L. ; *Cola verticillata* (Thonn.) Stapf ex A. ; *Eribroma oblonga* (Mast.) Bod. ; *Pterygota macrocarpa* K. ; *Grewia coriacea* Mast. ; *Celtis* spp Linn. ; *Trema orientalis* (Linn.) Blume ; *Vitex* sp. ; *Ceiba pentandra* ; *Ricinodendron heudelotii* ; *Ficus mucoso* ; *F. exasperate* ; *Persea Americana* ; *Triplochyton scleroxylon* ; *Spathodea campanulata* ; *Cordial platyrthyrsa* ; *Mangifera indica* L. *Leonardoxa africana* Aubr.

Essences et lianes ectomycorhiziennes (16 %)

Afzelia bipindensis Harms ; *A. Pachyloba* Harms ; *Angylocalyx oligophyllus* ; *A. pynaertii* ;
Anthonotha fragans (Bak. f.) Exell & Hillcoat ; *A. lamprophylla* (Harms) J. Léonard ;
A. macrophylla P. de Beauvois ; *A. cladantha* (Harms) J. Léonard ; *Anthonotha* sp.
Aphanocalyx ; *margininervatus* (J.) Léonard ; *Baikiaea insignis* ; *Baphia capparidifolia* ;
Berlinia auriculata ; *B. bracteosa* Benth. ; *B. crabiana* Bak. f. ; *B. confusa* Hoyle ;
Berlinia. sp. ; *Brachystegia cynometroides* Harms ; *B. eurycoma* Harms ; *B. zenkeri* Harms ;
Calpocalyx dinklagei ; *Dialium* sp. ; *Didelotia africana* Baill. ; *D. letouzeyi* Pellegr. ;
Gilbertiodendron Brachystegiodes (Harms.) J. Léonard ; *G. demonstrans* ; *G. dewevrei*
J. Léonard ; *G. demonstrans* J. Léonard ; *G. ogoouense* (Pell.) J. Léonard ;
Gilbertiodendron sp. ; *Julbernadia seretii* (De Wild.) Troupin ; *Microberlinia bisulcata*
A. Chev. ; *Monopetalanthus letestui* Pellegr. *M. microphyllus* Harms : *Monopetalanthus* sp.
nov. ; *Paraberlinia bifoliolata* Pellegr. ; *Tetraberlinia bifoliolata* (Harms) Hauman ;
T. moreliana Aubr. ; *Toubaouate brevipaniculata* (J. Léonard) Aubr. & Pellegr. ; *Uapaca*
acuminata (Hutch.) Pax & K. Hoffm ; *U. guinensis* Müell. Arg. ; *U. staudtii* Pax ;
U. vanhouttei De Wild. ; *Gnetum africanum* Welw. ; *Gnetum bulchholzianum* Engl. ;
Gnetum sp.

Essences à double statut mycorhizien, ectomycorhiziennes et arbusculaires

Hymenostegia afzelii ; *Uapaca staudtii* ; *Antidesma laciniatum* ; *Baphia laurifolia* ;
Leptonychia pallida ; *Soyauxia gabonensis*

Essences non mycorhiziennes

Lasianthus batangensis ; *Trichoscypha preussii* ; *Memecylon zenkeri* ; *Hypodaphnis zenkeri*

3. DIVERSITE ECTOMYCORHIZIENNE

Les peuplements forestiers ectomycorhiziens (ECM) constituent l'unique habitat de la diversité des carpophores de champignons ECM tropicaux. Dans trois sites, plus d'une centaine d'espèces de champignons ectomycorhiziens ont été identifiées par morpho-anatomie incluant la plupart des familles et genres ECM et des espèces réputées rares sous les tropiques telles que les Cortinaires (Photo 1), les *Inocybe* (Photo 2) et *Paxillus*. Les résultats récents en forêt du Sud-Est-Cameroun ont permis d'identifier neuf familles de champignons ECM (Amanitaceae (Photo 3), Botryosphaeriaceae, Cantharellaceae (Photo 4), Clavulinaceae, Russulaceae (Photo 5), Thelephoraceae/Tomentellaceae, Tricholomataceae et Xylariaceae) avec une prédominance de ceux de la famille des Russulaceae, confirmant les observations antérieures (tabl. 2). Parmi ces espèces de champignons forestiers sauvages, la plupart des espèces de la famille de Cantharellaceae (Chanterelles) et une espèce de lactaires (*Lactarius gymnocarpus*) sont consommées par les populations locales (Dijk *et al.*, 2003).

Cependant, il existe encore de nombreuses zones des forêts camerounaises dont la diversité des associations mycorhiziennes est mal connue, notamment, les écosystèmes secs du Grand-Nord-Cameroun, les savanes montagneuses des Hauts Plateaux de l'Ouest avec leurs forêts sacrées, les forêts de basse altitude de l'Est et du Sud-Cameroun, sites de futurs grands travaux tels que les industries minières et hydroélectriques. Une menace sérieuse pèse donc sur ces groupes fonctionnels de microorganismes essentiels à la fertilisation des sols forestiers et indispensables à la mitigation du changement climatique.

4. ECTOMYCORHIZES DES ARBRES

Les ectomycorhizes résultent de relations mutualistes entre un petit nombre d'essences forestières (tabl. 1) et une gamme variée de champignons Asco- et Basidiomycètes (tabl. 2).

L'association est bénéfique aux deux partenaires : c'est une symbiose. Le champignon fournit à l'arbre de l'eau, du phosphore et d'autres éléments minéraux essentiels. L'arbre, à son tour, lui fait profiter des hydrates de carbone qu'il synthétise, permettant au champignon de se développer à l'intérieur et l'extérieur de la racine, formant ainsi un manteau protecteur de la racine (Photos 6 à 9). En dépit des généralisations relatives aux ordres, familles et genres, seul un petit nombre d'espèces ectomycorhiziennes a été étudié jusqu'ici, en zones tempérées et tropicales. Peu de données morphologiques, anatomiques et génétiques existent sur les

ectomycorhizes des forêts humide et sèche du Cameroun. Cette information est essentielle pour la sylviculture d'espèces d'arbres locales, en raison de leur forte interdépendance.

Tableau 2 : Abondance relative des espèces de champignons ectomycorhiziens de la forêt de Bipindi-Lolodorf- Akom II au Sud-Cameroun.

Familles	Genres	Richesse spécifique
Amanitaceae	<i>Amanita</i>	30
Boletaceae	<i>Boletus</i>	4
	<i>Boletellus</i>	1
	<i>Chalciporus</i>	1
	<i>Gyrodon</i>	1
	<i>Gyropus</i>	2
	<i>Leccinum</i>	1
	<i>Phlebopus</i>	2
	<i>Phylloporus</i>	1
	<i>Pulveroboletus</i>	2
	<i>Rubinoboletus</i>	1
	<i>Strobilomyces</i>	4
	<i>Tubosaeta</i>	3
<i>Tylopus</i>	1	
Cantharellaceae	<i>Cantharellus</i>	10
	<i>Craterellus</i>	2
Clavulinaceae	<i>Clavulina</i>	1
Cortinariaceae	<i>Cortinarius</i>	3
	<i>Inocybe</i>	8
Gomphaceae	<i>Gomphus</i>	1
Hymenochaetaceae	<i>Coltricia</i>	1
Russulaceae	<i>Russula</i>	30
	<i>Lactarius</i>	11
Paxillaceae	<i>Paxillus</i>	2
Sclerodermataceae	<i>Scleroderma</i>	2
Total		125

Des descriptions et identifications morpho-anatomiques ont été menées sur 11 espèces d'arbres appartenant aux familles de Césalpiniacées et Phyllanthacées, et deux espèces de *Gnetum* (Tsamo, 2005 ; Bechem, 2004). Les ectomycorhizes de *Gnetum* sont de couleur jaune d'or et blanc avec un manteau plectenchymateux sans cystides (Bechem et Alexander, 2011) ; chez les espèces d'arbres, elles sont de couleur variable (blanc, brun, brun noir, noir, marron) avec une morphologie (à l'exception de la texture) et anatomie peu variables, et généralement un manteau prosenchymateux en surface lisse ou nanti de nombreuses rhizomorphes, des hyphes émanantes, des cystides (Photos 7 à 9). Le champignon jaune d'or de *Gnetum* a toujours été observé uniquement associé à la liane et jamais aux essences forestières, ce qui suggère une forte spécificité. Par conséquent, il apparaît nécessaire de le réintroduire dans les substrats de régénération destinés à la domestication de la liane.

Figure 1. Ectomycorhizes de quelques essences forestières et de *Gnetum*.



Photo 1.
Cortinarius
diobensis



Photo 2.
Inocybe



Photo 3.
Amanite
zingii



Photo 4.
Cantharellus
camerounais



Photo 5. Russule
camerounaise
rufopunctatus



Photo 6.
Gnetumerhiza
sinnamariense



Photo 7.
Ectomycorhizes
sur racines
d'*Azelia*
bipindensis



Photo 8.
Ectomycorhizes
avec des
rhizomorphes
abondants



Photo 9.
Ectomycorhizes sur
racines de
Gilbertiodendron
dewevrei

6. ECTOMYCORHIZES DE LA LIANE *GNETUM*

Le *Gnetum* est une liane pérenne qui a toujours abondé en forêt humide du Cameroun. Mais, en raison de l'exploitation accrue du stock naturel, accentuée par la dégradation de son habitat, les espèces de *Gnetum* sont menacées de disparition au Cameroun. Les feuilles de *Gnetum*, riches en protéines et sels minéraux, sont très prisées comme légumes-feuilles. Plus d'un millier de tonnes de feuilles de *Gnetum* sont collectées annuellement des forêts camerounaises pour une valeur marchande estimée à plus de 2 milliards de FCFA (Bokwe et Ngatoum, 1994). Cependant, il n'existe pas encore de techniques appropriées de production à grande échelle pouvant soutenir l'approvisionnement durable des marchés en raison du manque de connaissances sur les exigences en régénération artificielle des lianes de *Gnetum*. Aussi, une étude a-t-elle été conduite dans 25 localités du Cameroun pour déterminer le statut mycotrophique de la liane *Gnetum* dans une optique d'améliorer les efforts de domestication (Bechem, 2004).

Apparemment, il n'existe pas de *Gnetum* dans les régions du Nord, Ouest et Nord-Ouest-Cameroun. Les lianes de *Gnetum* sont rencontrées dans une grande variété de sols ferrallitiques, acides, pauvres en C total, N, et P, et d'écosystèmes, notamment, en forêt primaire non perturbée, forêt secondaire, cacaoyères, champs vivriers d'arachides, de manioc et de banane et en pépinières (Onguene, 2000 ; Bechem et Alexander, 2011). Deux types ectomycorhiziens sont morphologiquement distincts sur les racines de *Gnetum*, les types jaune et blanc (tabl. 3). Le type ectomycorhizien jaune est quantitativement prédominant et a été identifié comme *Scleroderma sinnamariense*. La distribution verticale des racines ectomycorhiziennes de *Gnetum* montre qu'elles se trouvent dans les 10 premiers cm alors que le mycélium extramatriciel peut être observé jusqu'à 30 cm de profondeur. L'utilisation des sols à *Gnetum* montre qu'après seulement trois mois, les sols d'une forêt à césalpiniacées et de plants de *Gnetum* provoquent une colonisation ectomycorhizienne jaune alors que les sols de la césalpiniacée *Monopetalanthus* ectomycorhizienne **n'entraînent pas de colonisation**, mettant un accent sur la spécificité entre le champignon jaune et les racines de *Gnetum*. Les sols provenant d'autres écosystèmes provoquent la colonisation ECM plus tard. Aussi, tout

programme de domestication de la liane devrait considérer ce symbionte, ainsi que les programmes de reforestation en cours ou à venir au Cameroun et en Afrique.

Tableau 3 : Carte de distribution des espèces de *Gnetum* au Cameroun et leur statut mycotrophique (Bechem, 2004).

Sites de collecte dans certaines régions au Cameroun		Types ectomycorhiziens et taux de colonisation ectomycorhizienne (%)
Régions	Sites	
Centre	Ovoa abang	Jaune (80) et blanc (20)
	Minkoameyos	Jaune (60) et blanc (20)
	Nkol owondo	Jaune (80) et blanc (15)
	Nkolbisson	Jaune (90) et (10)
	Okola	Jaune (100)
	Mefomo	Jaune (100)
	Ngoumou	Jaune (100)
	Mfou	Jaune (100)
	Nlong	Jaune (90) et blanc (10)
	Mengang	Jaune (40)
Est	Kobi	Jaune (60) et blanc (10)
Littoral	Pouma	Jaune (100)
	Mbanga pongo	Jaune (60) et blanc (30)
Sud	Ebimimbang	Jaune (75) et blanc (20)
	Ebom	Jaune (100)
	Nyangong	Jaune (100)
Sud-Ouest	Kumba	Jaune (100) et blanc (90)
	Limbe	Jaune (100) et blanc (100)
	Mode mallam	Jaune (60) et blanc (10)

7. DYNAMIQUE MYCORHIZIENNE EN FONCTION DES MODES D'UTILISATION DES TERRES

Il est clairement établi que les modes d'utilisation des terres ont une influence variable sur les propagules mycorhiziennes infectieuses. Les résultats en forêt humide du Cameroun montrent que l'exploitation agricole augmente le potentiel mycorhizien infectieux des CMA (Nombre

de spores et TCM), alors que l'exploitation forestière réduit le nombre de propagules mycorhiziennes infectieuses de manière drastique (tableau 4). Mais, en utilisant un inoculum à base de sol de la rhizosphère d'une graminée, *Paspalum conjugatum*, les plants de Movingui, Sipo et Fraké réagissent différemment à l'inoculation mycorhizienne en raison de l'espèce d'arbre et du potentiel mycorhizien infectieux (Onguene et Kuyper, 2005). Cependant, lorsqu'une légumineuse comme le Padouk et l'Azobe est exposée à l'inoculum de sa rhizosphère, l'effet de l'inoculation mycorhizienne dépend fortement de la présence de champignons mycorhiziens indigènes de sa propre rhizosphère. Du reste, la réponse des essences locales telles que le Gilbertiodendron à l'inoculation ectomycorhizienne reste à étudier.

En conclusion, les forêts ectomycorhiziennes camerounaises méritent une attention de conservation particulière en raison de leur forte vulnérabilité en cas d'exploitation agricole, forestière et voire minière. Il est aussi urgent de connaître la diversité mycorhizienne des forêts du Cameroun afin de disposer des outils biologiques permettant d'assurer la régénération d'essences locales après exploitation.

Tableau 4 : Variation des propagules mycorhiziennes en fonction des modes d'utilisation des terres en zone forestière du Cameroun.

Modes d'utilisation des terres	Propagules mycorhiziennes arbusculaires		Propagules mycorhiziennes ectomycorhiziennes	
	Nombre de spores/g sol	Colonisation mycorhizienne (%)	Carpophores ECM	Colonisation mycorhizienne (%)
Vieille forêt primaire	12c	30c	30	54
Peuplement ECM	nd	nd	125	31
Forêt secondaire	21b	34c	12	8
Piste forestière	8c	18d	2	0
Parc-à-bois	5c	14d	0	0
Champ avant brûlis	21b	49b	0	0
Champ après brûlis	39a	28c	0	0
Jachère à <i>Chromolaena</i>	38a	62a	0	0

Jachère à <i>Chromolaena</i> avec <i>Gnetum</i>	nd	nd	1	2
---	----	----	---	---

nd : non déterminé.

8. REFERENCES

- Anonyme (2008a) Les forêts du Bassin du Congo – Etat des Forêts 2008 (de Was Seige C, Deveers D, de Marcken P, Eba’a Atyi R, Nasi R et Mayaux Ph, eds.), OFAC, 425p
- Anonyme (2008b) Indicateurs FORAF pour le suivi de l’état des forêts d’Afrique Centrale, Yaoundé, Cameroun
- Bechem, E.E. (2004). Mycorrhizal status of *Gnetum* spp in Cameroon: Evaluating diversity with a view to ameliorating domestication efforts. PhD thesis, University of Aberdeen, 227p
- Bechem, E.E. & Alexander, I. (2011) Mycorrhizal status of *Gnetum* spp. in Cameroon: evaluating diversity with a view to ameliorating domestication efforts. *Mycorrhiza*. Sous presse.
- Bokwe, A. & Ngatoum, D. (1994). Rapport de mission effectué autour du Mont Cameroun (Province du Sud-Ouest) relatif au recensement de certaines espèces des produits forestiers secondaires en voie de disparition. MINEF, Yaoundé, p
- CARPE (2005) The forests of the Congo Basin: A preliminary assessment. Central African Regional Program for the Environment (CARPE), 37p
- FAO (2007) Forest Resources Assessment. State of the world forests.
- van Dijk, H., Nérée Awana Onguene, N.A. & Kuyper, T.W. (2003). Knowledge and utilisation of edible mushrooms by local populations of the rain forest of South Cameroon. *Ambio*, 32 (1): 19-23
- Newberry, D.M., Alexander, I.J., Thomas, D.W. & Gartlan, J.S. (1988). Ectomycorrhiza rain forest legumes and soil phosphorus in Korup National Park, Cameroon. *New Phytologist*, 109: 433-450
- Onguene, N.A. (2000). Diversity and dynamics of mycorrhizal associations in tropical rain forests with different disturbance regimes in south Cameroon. Ph.D thesis, Wageningen University, The Netherlands. Tropenbos Documents Series 3, 167p
- Onguene, N.A. & Kuyper, T.H.W. (2001). Mycorrhizal associations in the rain forest of South Cameroon. *Forest Ecology & Management*, 140:277-287

- Onguene, N.A. & Kuyper, T.W. (2002). Importance of the ectomycorrhizal network for the seedling survival and ectomycorrhizal formation in rain forests of south Cameroon. *Mycorrhiza*, 12: 13-17
- Onguene, N.A. & Kuyper, T.H.W. (2005). Growth responses of three native timber species to soils with different arbuscular mycorrhizal inoculum potentials in South Cameroon. Indigenous inoculum and effect of addition of grass inoculum. *Forest Ecology and Management*, 210: 283-290
- Onguene, N.A., Tsimi, J.P. & Balla, M.J.E. (2002). Statut mycorrhizien de l'okoumé (*Aucoumea klaineana* Pierre) en régénération artificielle au sud Cameroun. *Tropicultura*, 20(3): 104-108
- Onguene, N.A. & Onana, C.S.O.. Functional significance of arbuscular mycorrhizae to *Theobroma cacao* L. in relation to age of plantation in South Cameroon. Unpubl. Manuscript
- Tenku, S.N., Onguene, N.A., Tchoundjeu, Z.. Independent interaction of site, altitude and size class distribution on the mycorrhizal status of *Prunus africana*, an endangered montane tree of Cameroon. Unpubl. Manuscript
- Tsamo, J.D. (2005). Contribution à la caractérisation morphologique et anatomique des ectomycorhizes de la forêt humide du Sud Cameroun. Mémoire, DEA, Université de Yaoundé I, Cameroun

DIVERSITE DES CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS ARBUSCULAIRES DU CAMEROUN

par Ngonkeu M. E. L.^{1,2}, Nwaga D.¹, Adamou S.¹, Fokom R.¹, Tchameni N. S.¹,
Onguene N. A.², Nana W. L.¹, Chaintreuil C.³, The C.², Amougou A.¹, Moulin L.³, Prin Y.³,
Lebrun M.³, Dreyfus B.³

¹ Université de Yaoundé I. B.P 812. Yaoundé. Cameroun.

² Institut de recherche agricole pour le développement. B.P 2067. Yaoundé. Cameroun.

³ IRD. UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/AGRO-M/UM2, Laboratoire des symbioses tropicales et méditerranéennes (LSTM), Campus international de Baillarguet. Montpellier, France.

1. INTRODUCTION

Les mycorhizes sont des associations symbiotiques qui favorisent la croissance et le développement des plantes. Parmi les symbioses végétales, les mycorhizes à arbuscules sont les plus abondantes et les plus importantes sur les plans écologique et économique (Schüßler *et al.*, 2001). Leurs rôles dans l'amélioration de la production agricole ont été largement démontrés. Environ 80 % des plantes supérieures sont associées aux champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) qui assurent la stabilité écologique du milieu (Harley et Smith, 1983 ; Strullu, 1991). Ces champignons appartiennent à un groupe monophylétique (Glomeromycètes) constitué de quatre ordres (Archaeosporales, Diversisporales, Paraglomerales, Glomerales) et huit familles (Schüßler *et al.*, 2001). On dénombre aujourd'hui plus de 150 espèces dans ce groupe de champignons (Selosse et Le Tacon, 1998). Leur large distribution géographique se caractérise par une importante variabilité décelable au sein de la biologie de leur population, de la spécificité écologique et de l'activité symbiotique (Giovannetti et Gianinazzi-Pearson, 1994). Ces champignons sont capables d'influencer la biodiversité des espèces végétales (Van der Heijden *et al.*, 1998), de contribuer à la lutte contre les pathogènes et pestes (Newsham *et al.*, 1994), d'améliorer la nutrition des plantes dans les environnements pollués (Hildebrandt *et al.*, 1999) et de stabiliser les agrégats des sols à travers la libération de la glomaline (Wright et Upadhyaya, 1998). Malgré leur importance, ces associations symbiotiques sont non exploitées et presque ignorées des agriculteurs camerounais. Pourtant, elles sont une condition de la fertilité et de la biodisponibilité du phosphore dans le sol. Le but principal de l'utilisation de ces microorganismes est la réduction de l'emploi des fertilisants inorganiques. Cette dernière permettrait en effet de réduire les dépenses jusqu'à 70 % pour les fertilisants phosphatés et de 30 à 40 % pour l'azote, le potassium et les oligo-éléments (Johnson et Menge, 1982). Malheureusement, la plupart des contraintes environnementales et des pratiques culturales non adaptées réduisent leur nombre et leurs activités dans les sols, modifiant ainsi tout le statut mycorhizien du sol (Giovannetti et Gianinazzi-Pearson, 1994). Le Cameroun qui renferme la diversité végétale la plus grande des écosystèmes de la sous-région et des forêts parmi les plus riches du continent abritant plus de 8 000 espèces de plantes, regorge d'un potentiel d'espèces de CMA riche et très diversifié (Ngonkeu, 2003). De nombreuses études confirment l'exploitation massive des ressources naturelles au Cameroun (Onguene, 2000). La politique gouvernementale vise à pérenniser et développer ces zones écologiques. Raison pour laquelle, de 1992 à 2002 et même bien avant, le Cameroun s'est doté d'un ensemble d'instruments juridiques, politiques

et institutionnels qui régulent au mieux la conservation des ressources biologiques. Ainsi, la préservation des CMA est essentielle dans toutes tentatives de leur utilisation dans la conservation de l'environnement (Allen, 1991), dans la biotechnologie (Mulongoy *et al.*, 1992) et en agriculture durable (Bethlenfalvay et Linderman, 1992). Pour atteindre ces objectifs, une approche multidisciplinaire est ainsi nécessaire pour identifier les espèces de CMA, leurs fonctions et caractériser leurs capacités symbiotiques.

2. DIVERSITE MORPHOLOGIQUE DES CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS A ARBUSCULES

Les premières descriptions de la diversité des CMA étaient basées sur les caractères morphologiques des spores (couleur, forme, taille, ornements). Ces critères ont abouti à la classification des CMA en six genres (Morton et Benny, 1990). Ainsi, la majorité des informations sur la diversité des CMA provenaient des régions tempérées. Il y a seulement quelques années que des tentatives d'exploration ont démarré dans les zones tropicales (Gianinazzi-Pearson et Diem, 1982). Les premières données enregistrées en Afrique tropicale ont été obtenues au Nigeria, en Côte d'Ivoire et au Sénégal.

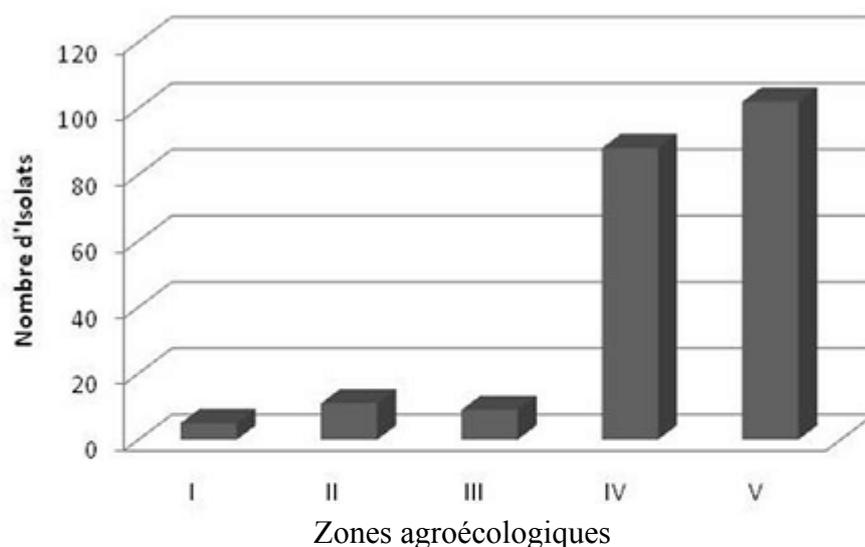
Au Cameroun, les études sur la diversité des CMA ont débuté dans les plantations de *Terminalia* de la forêt secondaire humide décidue de Mbalmayo (Mason *et al.*, 1992). Les caractères morphologique et anatomique ont permis de recenser 17 espèces de CMA avec 14 appartenant aux genres *Acaulospora*, *Glomus* et *Scutellospora* (Il s'agit de : *Glomus etunicatum*, *Glomus macrocarpum*, *Glomus occultum*, *Glomus geosporum*, *Glomus rubiforme*, *Glomus clavisporum*, *Acaulospora scrobiculata*, *Acaulospora spinosa*, *Acaulospora laevis*, *Acaulospora mellea*, *Acaulospora morrowae*, *Scutellospora pellucida* et *Scutellospora coralloidea*).

La présence d'au moins 17 espèces de CMA décrites indique que la forêt de Mbalmayo est semblable à d'autres écosystèmes naturels des régions tropicales (Sieverding, 1989). Cette richesse spécifique est probablement le reflet de la richesse floristique du couvert végétal – plus de 200 espèces (la plupart associées au CMA) ont été inventoriées dans cette forêt étudiée (Mason *et al.*, 1988). Ces auteurs ont également montré que les pratiques d'agriculture mécanique conduisaient à la réduction du nombre des propagules de 27-55 % dans les sols en fonction du degré de perturbation. Ces résultats ont été confirmés par Musoko *et al.* (1994)

qui ont ensuite montré l'importante représentation du genre *Glomus* dans cette forêt secondaire semi-décidue.

Les structures caractéristiques plus larges des propagules de CMA (couleur, forme et taille des sporocarpes ; couleur, nombre, épaisseur et types d'ornementation des membranes sporales ; structures des hyphes associées ; forme et type d'occlusions), ont permis de décrire un nombre plus important d'espèces de CMA (Ngonkeu et Nwaga, 1998 ; Onguene, 2000 ; Ngonkeu, 2003). Ces espèces appartiennent à cinq genres bien distincts (*Glomus*, *Sclerocystis*, *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Scutellospora*) et proviennent des cinq zones agro-écologiques du Cameroun (fig. 1 et tabl. 1).

Figure 1. Estimation du nombre d'isolats de CMA dans les différentes zones agroécologiques du Cameroun sur la base de 50 échantillons par zone.



I : soudano-sahélienne. II : Hautes savanes guinéennes. III : Hauts plateaux de l'Ouest. IV : Forêt à pluviométrie monomodale. V : Forêt à pluviométrie bimodale

Ces résultats montrent des particularités au niveau des spores entre les isolats appartenant à la même espèce (cas de *Gigaspora margarita*) ou à des espèces différentes (fig. 2). Des différences de structures anatomiques de colonisation racinaire ont été observées chez le maïs

inoculé par différentes espèces de CMA (fig. 3). Les espèces appartenant à la famille de Gigasporaceae ont été distinguées avec précision à l'aide des structures de la membrane des spores et des cellules auxiliaires.

Tableau 1. Espèces de champignons mycorhiziens à arbuscules identifiés à l'aide des critères morphologiques dans 5 zones agroécologiques du Cameroun (Ngonkeu, 2003).

Genres et espèces	Zones	Plantes hôtes	Nombre d'isolats
<i>Acaulospora appendiculata</i>	IV, V	manioc, tabac, <i>Albizia</i>	3
<i>Acaulospora delicata</i>	V	manioc, tabac, <i>Albizia</i>	2
<i>Acaulospora delatata</i>	V	<i>Leucena</i>	1
<i>Acaulospora rugosa</i>	V	Polyculture	1
<i>Acaulospora spinosa</i>	V	Polyculture	1
<i>Glomus aggregatum</i>	V, IV, II	Polyculture	10
<i>Glomus albidum</i>	V	<i>Crotalaria</i>	4
<i>Glomus claroideum</i>	IV, V	Polyculture	5
<i>Glomus clarum</i>	IV, V	Polyculture	9
<i>Glomus deserticola</i>	V	Manioc	1
<i>Glomus caledonium</i>	V	Maïs	1
<i>Glomus etunicatum</i>	IV, V	<i>Chromoleana</i> , <i>Rinorea</i>	4
<i>Glomus fragilistratum</i>	V	<i>Rinorea</i> , <i>Leucena</i>	3
<i>Glomus geosporum</i>	V, IV	<i>Rinorea</i>	2
<i>Glomus intraradices</i>	IV, V	Polyculture	5
<i>Glomus lamellosum</i>	V, IV	<i>Crotalaria</i> , Igname	2
<i>Glomus macrocarpum</i>	V, IV	Polyculture	3
<i>Glomus monosporum</i>	V	Polyculture	5
<i>Glomus manihotis</i>		Polyculture	
<i>Glomus occultum</i>	IV, V	<i>Chromoleana</i>	4
<i>Glomus pansihalos</i>	V	Tabac	2
<i>Glomus tortuosum</i>	V, IV	Polyculture	4
<i>Glomus tenue</i>	V	Polyculture	1
<i>Glomus versiforme</i>	V	Polyculture	10
<i>Gigaspora gigantea</i>	III	Arachide	1
<i>Gigaspora margarita</i>	II, IV, V	Polyculture	4

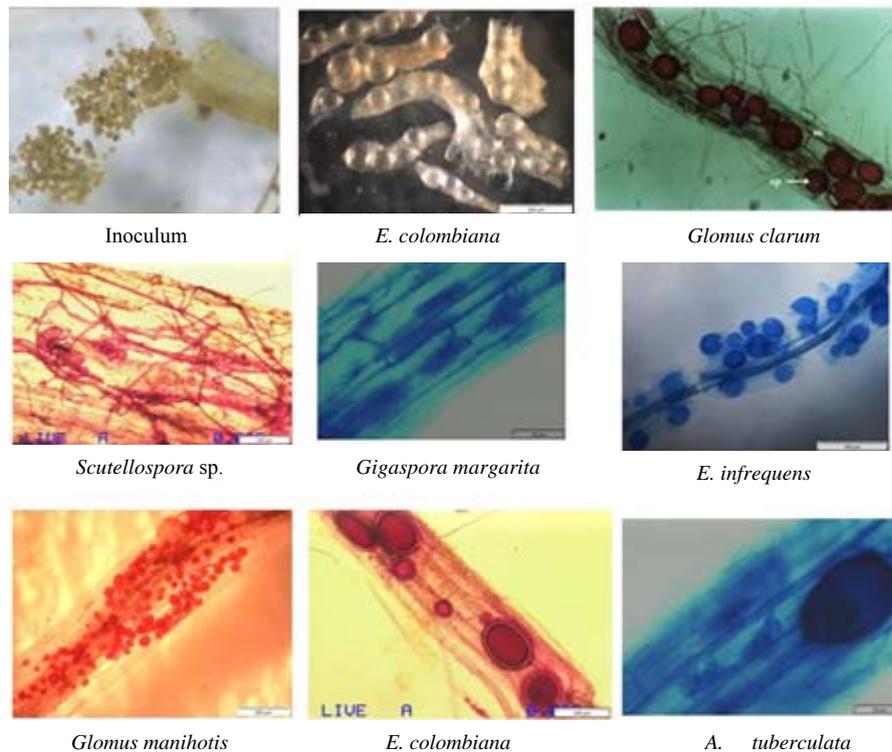
<i>Gigaspora rosea</i>	V	Arbre	4
<i>Gigaspora ramisporophora</i>	V	Polyculture	7
<i>Scutellospora aurigloba</i>	IV	<i>Crotalaria</i>	1
<i>Scutellospora arenicola</i>	IV	Légumineuses	1

Figure 2. Diversité morphologique des CMA des sols du Cameroun.



L'ensemble de ces caractères a contribué à la détermination de 37 espèces de CMA décrites au Cameroun. La majeure partie de ces espèces est localisée en zones de forêts humides (Zone IV et V) (fig. 1). Parmi ces espèces, 73 % appartiennent au genre *Glomus*, 14 % à *Gigaspora*, 4 % à *Scutellospora*, 6 % à *Acaulospora* et 3 % à *Sclerocystis*. Les souches appartenant au genre *Sclerocystis* n'ont pas été identifiées sur le plan morphologique. Les cinq zones agroécologiques du Cameroun montrent une représentation importante du genre *Glomus*. Cependant, à l'exception de quelques structures telles les hyphes associées aux spores, les caractéristiques des membranes sporales, les caractères morphologiques sont peu stables et sont sujets aux interprétations personnelles. Les aspects moléculaires sont fondamentaux pour comprendre véritablement la biodiversité des CMA.

Figure 3. Diversité des structures anatomiques de colonisation des racines par les différentes espèces de CMA.



3. DIVERSITE MOLECULAIRE DES CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS A ARBUSCULES

La caractérisation de la diversité moléculaire des CMA au Cameroun a porté sur l'amplification de la Large Sous-Unité ribosomale (LSU) de l'ADNr des spores et des racines récoltées dans deux sites de la zone agroécologique V (Ngonkeu, 2009). Deux grands groupes phylogénétiques bien distincts appartenant à trois familles différentes (Gigasporaceae, Glomaceae et Acaulosporaceae) ont été obtenus. Cinq espèces principales ont été décrites (*Glomus manihotis*, *Acaulospora spinosa*, *Entrophospora infrequens*, *Gigaspora margarita* et *Scutellospora nigra*). Parmi ces espèces, *Gigaspora margarita* était très représentée dans les sols acides de la Zone V. Ces résultats montrent que certaines souches de CMA présentant des structures morphologiques et anatomiques différentes peuvent appartenir à la même espèce. C'est le cas des genres *Gigaspora* et *Entrophospora* qui ont présenté respectivement 13 et 5 morphotypes différents après évaluation morphologique. Par contre, l'analyse moléculaire de ces morphotypes révèle qu'il s'agit de *Gigaspora margarita* pour le premier cas et de *Entrophospora infrequens* et *Entrophospora colombiana* pour le deuxième.

4. DIVERSITE FONCTIONNELLE DES CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS A ARBUSCULES

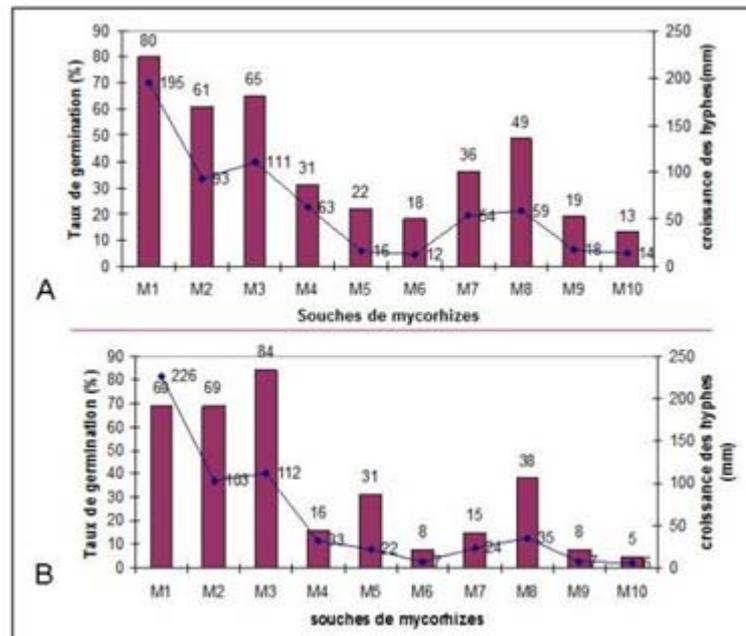
L'activité symbiotique des CMA est variable en fonction de la spécificité fonctionnelle de chaque souche. Ceci nécessite une sélection préalable des souches en fonction des objectifs de recherche visés. Ainsi, une souche peut être spécialisée à une fonction donnée ou être généraliste. Au préalable, il est nécessaire de déterminer le meilleur paramètre mycorhizien (germination, colonisation racinaire, production d'enzymes, les métabolites secondaires) indispensable à la composition d'un bon inoculum.

4.1. DIVERSITE DE LA TOLERANCE DES CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS A ARBUSCULES A AL ET MN

Presque tous les sols des zones forestières du Cameroun sont acides (75 à 95 %) et présentent une toxicité aluminique ou manganique (Ambassa-kiki *et al.*, 2002).

Jusqu'à une certaine époque, le développement des variétés de plantes adaptées aux sols acides ne prenait pas en compte l'apport des CMA dans les programmes de sélection variétale. C'est pourquoi deux expérimentations ont été menées dans le but d'évaluer la contribution des CMA dans la tolérance à l'acidité et la toxicité des variétés de maïs. La première a permis de présélectionner en boîte de Petri les souches tolérantes aux conditions acides à différentes doses de Al et Mn, tandis que la seconde a contribué à 'évaluer les performances des souches présélectionnées sur la croissance, le développement et le degré d'adaptation à la toxicité Al du maïs sur substrat acide en serre. Les souches *Archaeospora* sp. (M1), *Gigaspora margarita* (M2) et *Acaulospora tuberculata* (M3) ont montré les meilleurs taux moyens de germination et de la croissance mycélienne dans le milieu de culture (fig. 4). L'inoculation du mélange de ces trois meilleures souches à deux variétés contrastées de maïs (ATP : variétés tolérantes aux sols acides et CAM : variété sensible) a permis de tirer deux enseignements (fig. 5) : 1) l'apport des CMA permet incontestablement d'améliorer la croissance du maïs sur sol à différentes concentrations en Al même chez la variété tolérante à l'acidité ; 2) les CMA permettent à la variété sensible de tolérer l'acidité à la concentration élevée en Al (400 µm).

Figure 4. Taux moyens de germination des spores de mycorhizes sur gélose à différentes concentrations moyennes en Al et Mn après 10 jours d'incubation à 30°C. (A) : Al (0-50-100-200-400-800 μ M) et B) : Mn (0-50-100-200-400-800 μ M).

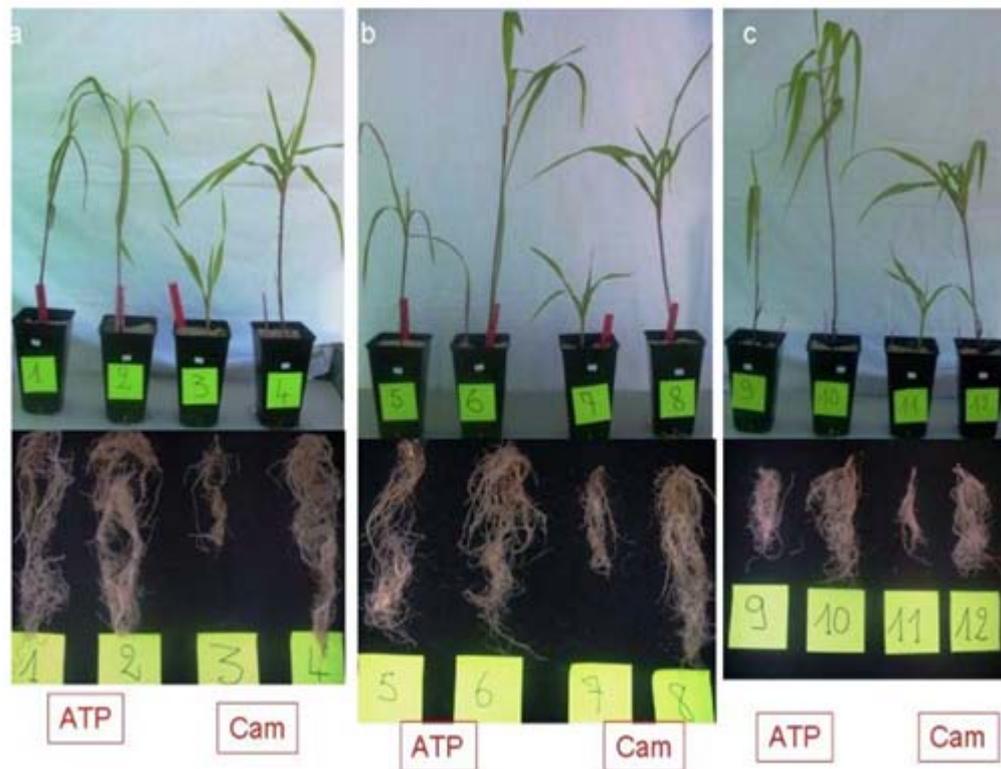


4.2. DIVERSITE DE L'INFECTIVITE DES RACINES DE L'OIGNON PAR CINQ ISOLATS DE CMA

Un essai a été mis en place en serre dans le but de déterminer la meilleure composition d'inoculum pour la production de l'oignon en champ. Le taux de colonisation racinaire a été le paramètre retenu et évalué à différents stades de croissance de la plante (15, 30, 60 et 90 jours après semis en serre) inoculée avec 5 espèces différentes de CMA (*Glomus hoi*, *Glomus intraradices*, *Glomus aggregatum*, *Glomus clarum*, *Gigaspora margarita*). Une variabilité du taux de colonisation a été observé à différents stades de croissance et deux groupes d'espèces se distinguent avec des taux de colonisation significativement différents : le 1^{er} groupe étant constitué de *Glomus clarum*, *Glomus intraradices* et *Glomus aggregatum* avec des taux de colonisation d'environ 70 % (fig. 6). Le 2^e groupe est constitué de *Glomus hoi* et *Gigaspora margarita* avec des taux de colonisation racinaire allant de 42 à 46 %. *In fine*, plusieurs inocula peuvent être produits à partir de ces résultats. Un inoculum est composé de chaque groupe de CMA pris individuellement ou de la combinaison des CMA issus de chaque groupe (Adamou, 2003).

Figure 5. Effet des CMA sur la croissance et le développement racinaire de deux variétés contrastées de maïs (ATP : variété tolérante ; Cam : variété sensible) à différentes doses d'Al (a : 0 μ M, b : 200 μ M, c : 400 μ M) en pépinière sur sol stérilisé.

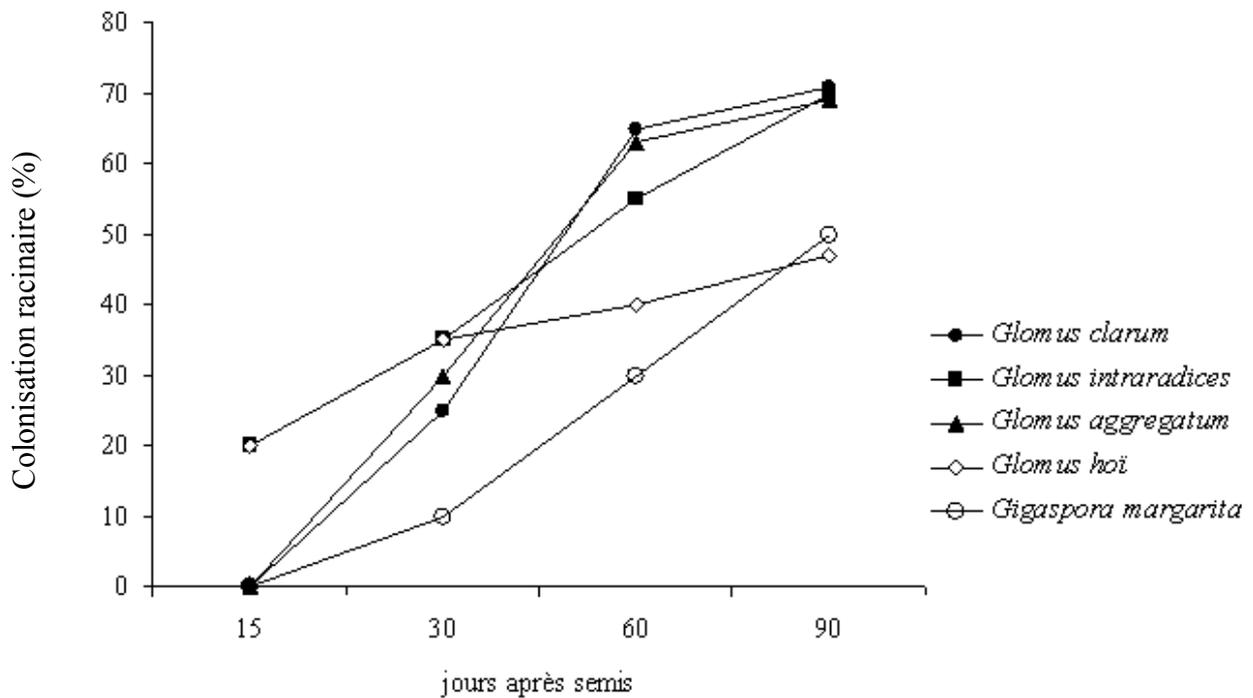
Les pots 1, 3, 5, 7, 9, 11 = plants non mycorhizés et 2, 4, 6, 8, 10, 12 = plants mycorhizés.



4.3. COLONISATIONS RACINAIRES ET PRODUCTION DE GLOMALINE DANS LES SYSTEMES CULTURAUX

Une étude des marqueurs biochimiques du fonctionnement des CMA a été menée dans différents systèmes de cultures (forêt, jachère et champ en zone de forêts humides) en zone de forêt humide du Cameroun. Cette étude visait à évaluer la quantité du carbone dans chaque système et apprécier la stabilité de la structure du sol. La quantité totale de la glomaline (TG) libérée dans le sol par les CMA a été mesurée dans chaque système. Une variation importante de TG a été observée. Cette variation était fonction des systèmes de cultures et proportionnelle au taux de colonisation racinaire des espèces végétales peuplant chaque système. Les données obtenues pourraient permettre de confirmer le choix du taux de colonisation racinaire comme meilleur indicateur de l'activité des mycorhizes dans le sol. Cette hypothèse est vérifiée par la glomaline totale (TG) qui montre une corrélation positive et significative avec le taux de colonisation racinaire (fig. 7) (Fokom, comm. pers.).

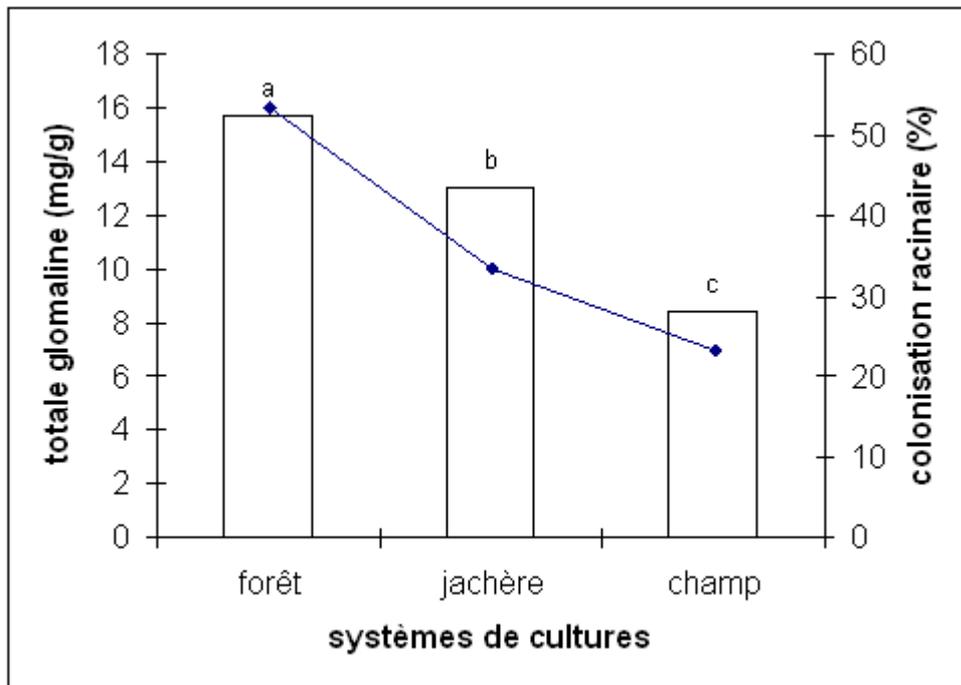
Figure 6. Diversité de l'infectivité des racines de l'oignon par cinq espèces de champignons mycorhiziens arbusculaires (Adamou, 2003).



5. CONCLUSION

Une partie de la diversité spécifique des CMA a été décrite avec une forte représentation du genre *Glomus*. Une mycothèque riche de plus de 207 isolats constitués est en conservation au Cameroun parmi lesquels 37 ont été identifiés grâce aux critères morphologiques. L'exploitation de moins de 10 % de cette diversité a déjà conduit à la production des inocula spécifiques et multifonctionnels adaptés aux différentes zones agroécologiques. C'est ainsi que depuis une dizaine d'années, 5 souches de biofertilisants ont été produites et exploitées dans un système de lutte intégrée pour la protection des cultures contre les stress biotiques et abiotiques et l'amélioration de la production agricole au Cameroun.

Figure 7. Variations de la teneur en glomaline totale dans trois systèmes d'utilisation de terre (forêt, jachère et champ) de la zone forestière humide du Sud-Cameroun (Fokom, 2011).



6. REFERENCES

- Adamou, S. (2003). Caractérisation de quelques isolats de champignons mycorrhiziens en symbiose avec l'oignon (*Allium cepa* L.). Mémoire de D.E.A., Université de Yaoundé 1
- Allen, M.F. (1991). The ecology of mycorrhizae. Cambridge University Press
- Ambassa-kiki, R., Yemefack, M. & Tchienkoua (2002). Caractéristique biophysique et aptitude à la production végétale, animale et piscicole IRAD Yaoundé 8-48
- Bethlenfalvay, G.J. & Linderman, R.G. (1992). Mycorrhizae in Sustainable Agriculture. Proceeding of a symposium. ASA N°54. Library of Congress cataloging-in-Publication Data USA
- Fokom, R. (2011). Glomalin related soil protein, Carbon, Nitrogen and soil aggregate stability as affected by land use variation in the humid forest zone in south Cameroun. Unpublish data.
- Gianinazzi-Pearson V. & Diem H.G. (1982). Endomycorrhizae in the tropics. In : "Microbiology of tropical soils and plant productivity", Dommergues Y.R., Diem H.G. (eds), Martinus Nijhoff, Le Havre, 209-251.

- Giovannetti, M. & Gianinazzi-Pearson, V. (1994). Biodiversity in arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycological Research*, 98: 705-715
- Harley, J.L. & Smith, S.E. (1983). *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press: London, U.K.
- Hildebrandt, U., Kaldorf, M. & Bothe, H. (1999). The zinc violet and its colonisation by arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Plant Physiology*, 154: 709-717.
- Johnson, C.P. & Menge, J.A. (1982). Mycorrhizae may save fertilizer dollars. *American Nurseryman*, 156: 79-81
- Linderman, R.G. (1992). Vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions. In: Bethlenfalvay, G.J. & Linderman, R.G. (Eds) *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture* pp 45–70. ASA, Inc. Madison, Wisconsin
- Mason, P.A., Leakey, R.R.B., Musoko, M., Ngeh, C.P., Smith, R.I. & Sargent, C. (1988). Endomycorrhizas and Nutrient Cycling in indigenous Hardwood Plantations in Cameroon: Effects of different systems of site preparation. Annual report to UK Overseas development administration, ODA/NERC Contract N°F3 CR26 D407
- Mason, P.A., Musoko, M.O. & Last, F.T. (1992) Short-term changes in vesicular-arbuscular mycorrhizal spore population In Terminalia plantation in Cameroon, In: Read DJ, Lewis DH, Fitter AH, Alexander IJ (Editors), *Mycorrhizas in Ecosystems*. CAB International, UK, pp 261-267
- Morton, B. & Benny, G.L. (1990) Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycètes): New order, Glomales, two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an amendment of Glomaceae. *Mycotaxon*, 37:471-491
- Mulongoy, K., Gianinazzi, S., Roger, P.A. & Dommergues, Y. (1992). Biofertilizers : agronomic and environment impact and économics. In *biotechnology : economic and social aspect : issues developing countries*. Cambridge University Press Cambridge U K.
- Musoko, M., Last, F.T. & Mason, P.A. (1994) Population of spores of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in undisturbed soils of secondary semi-deciduous moist tropical forest in Cameroon. *Forest Ecology and Management*, 63: 359-377.
- Newsham, K.K., Fitter, A.H. & Watkinson, A.R. (1994). Root pathogenic and arbuscular mycorrhizal fungi determine fecundity of asymptomatic plants in the field. *Journal of Ecology*, 82: 805-814
- Ngonkeu, M.E.L. (2003) Biodiversité et potentiel des mycorrhizes à arbuscules de certaines zones agro-écologiques du Cameroun. Thèse de Doctorat 3^{ème} cycle. Université de Yaoundé I Cameroun

- Ngonkeu, M.E.L. (2009). Tolérance de certaines variétés de maïs aux sols à toxicité aluminique et manganique du sud Cameroun et diversités moléculaire et fonctionnelle des mycorhizes à arbuscules. Thèse Ph.D Université de Yaoundé I. Cameroun
- Ngonkeu, M.E.L. & Nwaga, D. (1998). Diversité et potentiel infectieux des mycorhizes à arbuscules de quelques sols du Cameroun et réponse du niébé (*Vigna unguiculata*) à l'inoculation. *Cameroon Journal of Biological and Biochemical Sciences*, 8 : 56-67
- Onguene, N.A. (2000). Diversity and dynamics of mycorrhizal associations in Tropical rain forest with different disturbance regimes in south Cameroon. *Tropenbos. Cameroon series 3* Posen en louijen, Wageningen, the Nertherlands 167p
- Schüßler, A., Schwarzott, D. & Walker, C. (2001). A new fungal phylum, the Glomeromycota : phylogeny and evolution. *Mycological Research*, 105: 1413-1421
- Selosse, M.A. & Le Tacon, F. (1998). The land flora: a phototroph-fungus partnership. *Tree*, 13: 15-19
- Sieverding, E. (1989). Ecology of VAM fungi in tropical agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 29: 369-390
- Sieverding, E. (1991). Vesicular-arbuscular mycorrhiza Management. In *Tropical Agrosystems*. GTZ n° 224 FRG 281p
- Strullu, D.G. (1991). Les mycorhizes des arbres et des plantes cultivées. Lavoisier Paris. 3e edit 249p
- Van der Heijden, M.G.A., Klironomos, J.N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Wiemken, A. & Sanders, I.R. (1998). Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 396: 72-75.
- Wright, S. & Upadhyaya, F. (1998). A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 198: 97-107

**VALORISATION DES FONCTIONS MULTIPLES DES CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS
ARBUSCULAIRES POUR LA PRODUCTION AGRICOLE**

Par Nwaga D.¹, Nana W. L.¹, Ngonkeu M. E. L.¹, Onguene N. A.¹, Tchameni N. S.¹,
Abba M.¹, Mvele M. E. C.¹, Mayoh J. F.¹, Mbouapougnigni V. P.¹, Ngoumé R.¹

¹ Laboratoire de microbiologie des sols, Centre de biotechnologie et
faculté des sciences, université de Yaoundé I, Cameroun.

1. INTRODUCTION

Les mycorhizes sont des associations symbiotiques multifonctionnelles entre les champignons du sol et les racines de la plupart des plantes. Les fonctions multiples des CMA incluent : la mobilisation des nutriments, la médiation des réponses au stress hydrique et l'acidification du sol, les métaux toxiques, les pathogènes, les ravageurs et les interactions avec les autres organismes bénéfiques du sol, le recyclage du carbone et les effets sur les communautés végétales (diversité, productivité) (Newsham *et al.*, 1995 ; Finlay, 2004). Mais ils interagissent en synergie ou en compétition avec d'autres groupes fonctionnels d'organismes clés du sol : les vers de terre, les termites et les nématodes, les bactéries fixatrices d'azote, les pathogènes et les saprophytes microbiens. Une gestion intégrée de la fertilité des sols tropicaux est donc préconisée (Anonyme, 2005). Les fonctions des CMA peuvent être mises à profit en Afrique subsaharienne où les rendements agricoles sont les plus bas du monde et le taux de natalité parmi les plus élevés du monde.

2. QUESTIONS MAJEURES ET HISTORIQUE

Quel rôle les biotechnologies du sol faisant intervenir les fonctions multiples des champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) peuvent-elles y jouer ? Un inventaire préliminaire du potentiel des ressources microbiennes bénéfiques pour l'agriculture, l'élevage, la sylviculture et l'environnement a été initié depuis les années 1990 au Cameroun (Nwaga *et al.*, 2000). C'est dans ce but que nous avons initié des travaux pour mettre en place une collection de souches de champignons mycorhiziens, bactéries fixatrices d'azote, solubilisateurs de phosphore, agents de lutte et producteurs d'enzymes industriels (Nwaga *et al.*, 2010). L'agriculture durable devrait maintenir ou rétablir un optimum de productivité des sols en utilisant un niveau raisonnable d'intrants de synthèse tels que les engrais minéraux. Au sommet africain tenu à Abuja au Nigeria sur les fertilisants en 2006, l'on recommande le passage de 8 à 50 kg/ha/an d'apport en nutriments au sol pour atteindre les objectifs du Millenium pour l'Afrique en sécurité alimentaire et nourrir sa population avant 2015 (Bationo *et al.*, 2010). On estime que ces CMA pourraient constituer 20-30 % de la biomasse microbienne totale du sol. Les plantes mycorhizées ont des avantages beaucoup plus importants que celles qui ne le sont pas : une augmentation du volume de sol exploré, une stimulation de l'absorption de l'eau et des nutriments peu solubles, une meilleure fixation

symbiotique de l'azote atmosphérique chez les légumineuses, une meilleure préservation des sols contre la dégradation (Smith et Read, 1997 ; Duhoux et Nicole, 2004).

L'objectif de ce travail est de fournir une synthèse à partir d'exemples types de résultats obtenus dans les sols acides du Cameroun sur la valorisation des fonctions multiples des champignons mycorhiziens arbusculaires pour la production agricole et les services environnementaux. Cela, en insistant sur la fertilité des sols pour l'agriculture et la régénération forestière, le stress hydrique, l'acidité des sols, ainsi que la protection des cultures contre les bio-agresseurs.

3. CARACTERISATION DE LA ZONE D'ETUDE

La zone d'étude est caractérisée par un climat équatorial humide, avec une pluviométrie bimodale à deux saisons des pluies avec une courte et longue saison sèche. La pluviométrie est de 1 500-2 500 mm et les températures moyennes de 22 °C à 26 °C. Les systèmes agricoles y sont diversifiés et hétérogènes ; ils impliquent : agroforêts, jardins de cases, jachères aménagées ou non, agriculture itinérante, plantations, et parfois cultures permanentes. En majorité, les sols du Cameroun sont lessivés, acides, peu fertiles, pauvres en matières organiques et en nutriments majeurs, riches en aluminium échangeable. Une importante quantité de P est stockée dans les sols ; et une faible proportion est disponible par rapport au P total au Cameroun. Dans les oxisols, la teneur élevée en aluminium entraîne une toxicité pour les racines des plantes et les microorganismes bénéfiques, ainsi qu'une réduction de la disponibilité des nutriments solubles. Ces sols ont une faible capacité d'échange de cations ($1.6-2.4 \text{ cmol.kg}^{-1}$), un faible rapport phosphore disponible sur le phosphore total, une faible capacité au champ, et des risques élevés de toxicité en Al et Mn. La faible disponibilité du phosphore, la toxicité en Al et les déficiences en micronutriments (Mo) pourraient fortement limiter la production agricole. Dans ces sols, la culture continue sans gestion appropriée de la dégradation et de l'érosion des terres, et des nutriments est impossible. La dégradation de la fertilité des sols est considérée comme la contrainte majeure pour la sécurité alimentaire en Afrique subsaharienne (Bationo *et al.*, 2010).

4. POTENTIEL INFECTIEUX MYCORHIZIEN DES PALMERAIES SUR SOLS FORESTIERS

Le potentiel infectieux mycorhizien (ou mycorhizogène) d'un sol est la capacité d'un sol à permettre la formation et le développement des champignons mycorhiziens (Fortin *et al.*, 2008). On l'évalue en déterminant le nombre de propagules infectives d'un sol. Ce nombre est utile pour estimer l'activité symbiotique des CMA du sol ou de l'inoculum. Le nombre de propagules infectives CMA par g de sol de la rhizosphère des plantations de palmier à huile en zone de forêt est variable ; on note des valeurs de 1 à 49 (tabl.1, Abba, 2006). L'âge des plants a une influence notable sur l'infectivité, car chez les jeunes arbres elle varie de 1 à 22 (moyenne 5) et pour les arbres âgés de 4-49 (moyenne 22). Ces résultats peuvent être comparés à ceux des caractéristiques du sol tels que la teneur du sol en phosphore disponible qui est souvent plus élevée chez les jeunes arbres (30 ppm) par rapport à ceux qui sont plus âgés (16 ppm). Dans ces sols, le rapport entre le P disponible et le P total varie de 0,2 à 28 % avec une moyenne de 6,8 %, ce qui indique qu'il existe des réserves (Abba, 2006). Mais les pratiques culturales et la gestion des sols pourraient avoir une influence notable sur l'activité de ces CMA pour ces palmeraies. Selon Fortin *et al.* (2008), la gestion des CMA implique une approche technologique (sélection des souches) et une approche agroécologique (gestion des souches indigènes).

5. SELECTION DES SOUCHES ET MISE AU POINT D'UN ITINERAIRE D'UTILISATION DES CMA

Plusieurs résultats ont été obtenus sur la valorisation des CMA au Cameroun par l'approche technologique. Elle passe par l'extraction et l'isolement des spores, leur culture sur une plante hôte et la sélection des souches. L'effet de l'inoculation a été évalué en pépinières sur substrat stérilisé et en champs d'expérimentation, mais aussi au niveau paysan. La mise au point d'un inoculant à base de spores et de fragments de racines a été réalisée pour la production d'une fiche et d'itinéraires techniques pour la mycorhization de diverses cultures (Nwaga, 1997 ; Anonyme, 2008). Un inoculum à base d'isolats locaux de CMA a été mis au point après diverses étapes de sélection et d'évaluations (Nwaga, 1997 ; Ngonkeu, 2003 ; Nwaga *et al.*, 2004 ; Anonyme, 2008). Ce produit est plus recommandé pour les cultures en pépinières telles que les cultures maraîchères, fruitières, cultures de rente ou essences (Anonyme, 2008). Cet inoculum souvent adapté est utilisé pour des tests dans les 5 zones agroécologiques du pays. Dans certaines conditions (faible infectivité des CMA, acidité du sol, feux de brousse, faible

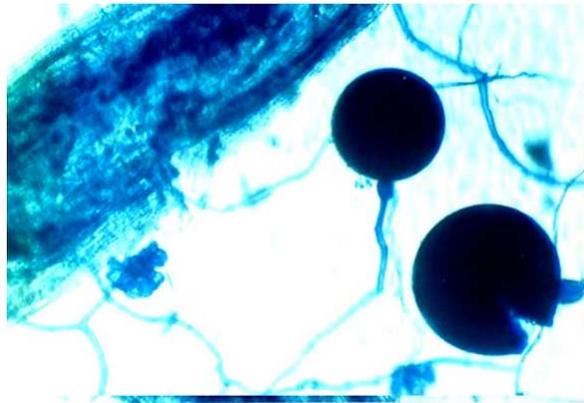
teneur en nutriments du sol, type de végétation ou type d'utilisation des terres), les CMA sont rares, absents dans le sol ou peu efficaces.

Tableau 1. Influence de l'âge des palmiers sur le potentiel infectieux des champignons mycorrhiziens arbusculaires des sols de la rhizosphère du palmier à huile en zone forestière du Cameroun (Nwaga *et al.*, résultats non publiés).

Origine du sol (site)	P assimilable (mg/kg de sol)		Infectivité (propagules/g de sol)	
	Jeunes	Âgés	Jeunes	Âgés
Bokito (Okole)	48	8	1	12
Okola (Leboudi)	2	5	1	12
Douala (PK 17)	114	50	1	4
Edéa (Missole II)	5	6	22	49
Ebolowa (Nkoemvone)	22	25	2	23
Sangmelima (NgamaI)	24	9	4	7
Ekona (Mbassicam)	1	16	12	37
Limbé (Moliwe)	23	19	1	28

Il est souvent nécessaire d'inoculer, c'est à dire d'apporter au niveau de la rhizosphère une grande quantité de microbes afin d'assurer une bonne symbiose (fig. 1). Un inoculum solide produit dans un substrat stérilisé, constitué d'un mélange de spores et de propagules infectives avec 50 à 1 000 spores de CMA pour chaque plante, est introduit au semis ou dans la rhizosphère de la semence ou du plant selon sa taille ou son importance. L'apport des CMA aux plants, arbres et arbustes en pépinière peut être bénéfique, par exemple réduire les pertes, améliorer la vigueur, réduire la date semis-floraison et aussi faciliter le choc d'adaptation lors de la transplantation en champ. Ces biofertilisants à base de CMA, testés en champs depuis 1996 en collaboration avec des structures de recherche nationales, des associations de producteurs, du Grand Nord, à l'Ouest et au Grand Sud du Cameroun, sont recommandés par le Comité camerounais de biosciences depuis 2001. Les CMA peuvent augmenter les rendements de 50 à plus de 200 % selon les cultures et la nature des sols (Nwaga *et al.*, 2010).

Figure 1. Racine colonisée par un champignon mycorhizien arbusculaire et les structures caractéristiques (arbuscules, vésicules, cellules auxilliaires et spores extraracinaires) colorées en bleu.



6. MYCORHIZATION ET AMELIORATION DE LA NUTRITION ET DU RENDEMENT DES CULTURES

L'inoculation en champ des souches sélectionnées de CMA indique qu'ils peuvent être équivalents aux engrais minéraux et augmenter la production de biomasse, le rendement et la qualité des cultures vivrières tropicales et même les fruitiers et ligneux.

6.1. MYCORHIZATION ET CROISSANCE DE *SOLANUM SCABRUM* EN PEPINIERE SUR SOL STERILISE

Solanum scabrum est un légume-feuille très apprécié par les populations urbaines et rurales africaines. Dans le but d'étudier l'effet des mycorhizes en pépinière sur sol stérile, une expérimentation a été menée avec deux cultivars (Foumbot et Bamenda) sur Andosol de Foumbot et Oxisol de Yaoundé. Les résultats obtenus montrent qu'en pépinière, l'inoculation de CMA à 20 spores/g de sol stimule l'absorption de N et P, la biomasse des deux cultivars sur les deux types de sol (tabl. 2, Mbouapouognigni, 2006). Sur Andosol, la colonisation mycorhizienne est deux fois plus importante que sur Oxisol chez les deux cultivars. Mais la biomasse est 2 à 3 fois plus grande sur Oxisol selon le cultivar. Les plantes absorbent plus de P sur Oxisol de Yaoundé que sur Andosol de Foumbot. Le phénomène inverse est observé pour l'absorption de N. On note une dépendance mycorhizienne relative stable pour la variété 'Bamenda' (45% et 46 %) sur les deux sols, elle varie de 36 % (Oxisol) à 65 % (Andosol) pour la variété 'Foumbot' sur les mêmes sols. La composition physico-chimique et

l'inféctivité de ces sols indiquent que l'Oxisol est argileux avec une forte teneur en P assimilable (34 ppm et inféctivité de 7 propagules) par rapport à l'Andosol limono-argileux qui a une faible teneur en P assimilable (4 ppm et inféctivité 12 propagules) (tabl. 3).

Tableau 2. Effet de la mycorhization de deux variétés de *Solanum scabrum* (Solanacée, légume-feuille) en pépinière sur la croissance et la teneur en phosphore et en azote sur les sites de Yaoundé et Foubot (Oxisol et Andosol) sur sol stérilisé.

Paramètres	Traitement	Colonisation racinaire (%)	Biomasse (g)	P total (%)	N total (%)	DMR (%)
Site de Yaoundé (Oxisol)						
Variété						
Bamenda	Non mycorhizé	10	12,67 a	0,96	12,76	-
	Mycorhizé	35	32,21 b	1,31	16,39	46
Foubot	Non mycorhizé	12	21,85 a	0,90	14,35	-
	Mycorhizé	18	38,41 b	1,41	19,52	36
Site de Foubot (Andosol)						
Variété						
Bamenda	Non mycorhizé	8	8,44 a	0,09	12,96	-
	Mycorhizé	65	13,54 b	0,23	23,37	45
Foubot	Non mycorhizé	8	4,19 a	0,06	14,74	-
	Mycorhizé	54	9,57 b	0,23	21,96	65

Tableau 3. Caractéristiques physico-chimiques et infectivité des CMA des sites de Yaoundé et Foubot (Oxisol et Andosol).

Paramètres	Site de Yaoundé	Site de Foubot
Texture (%) (sable, limon, argile)	25, 18, 57	5, 49, 46
Type de sol	Oxisol (Argileux)	Andosol (Limono-argileux)
pH Eau	6,4	5,5
pH KCl	5,6	5,0
M.O. (%)	3,6	11,4
N Total (%)	1,68	5,32
C/N	12,6	12,5
CEC (équ/100 g)	3,85	4,94
P assimilable (mg/kg)	33,6	4,2
Infectivité (propagules/g de sol)	7,2	12,3

Les données suivies de chiffres différents indiquent une différence significative au seuil de 5 %.

6.2. INOCULATION DES CMA ET RENDEMENT DU PALMIER A HUILE

Cet essai est réalisé dans le site de Nkomokui sur Oxisol. L'inoculum de CMA utilisé est constitué d'un mélange de deux souches, *Glomus* sp. et *Gigaspora*. sp., contenant 20 spores/g de sol. L'inoculation des CMA est effectuée en mélangeant 100 g d'inoculum à 2 kg de terre au moment du semis des graines prégermées en pépinière et le rendement est évalué en champ 4 ans et demi après la mise en terre des plants. Les résultats indiquent un effet significatif de la mycorhization du palmier à huile pour les paramètres du rendement tels que le nombre de régimes par pied et le poids moyen d'un régime. Les régimes des palmiers mycorhizés

(14,4/pied) ont un poids moyen de 5,74 kg ; qui est supérieur aux régimes de palmiers témoins (8,5/pied) qui est de 3,91 kg (tabl. 4). Le nombre moyen de régimes matures est de 6,6 pour les arbres mycorhizés par rapport à 3 pour ceux qui ne le sont pas. Donc, la mycorhization entraîne une précocité de la production. L'inoculation entraîne un rendement en régimes de 11,82 t/ha pour les arbres inoculés par rapport à 4,75 t/ha pour les témoins. Cela entraîne une augmentation de rendement en régimes de 149 % du fait de la mycorhization. On constate également une stimulation de l'infectivité des CMA du fait de l'inoculation, mais comment interpréter ces résultats longtemps après l'inoculation ?

Tableau 4. Effet de l'inoculation par les champignons mycorhiziens arbusculaires sur la sporulation, l'infectivité et le rendement du palmier à huile (régimes) sur Oxisol de Nkomokui.

Paramètres	Spores/g	Propagules/g	Régimes /plant	Poids du régime (kg)	Rend. (t/ha)	Effet (%)
Témoin non mycorhizé	0,83 a	1,03 a	8,5 a	3,91 a	4,75 a	-
Traitement mycorhizé	3,32 b	2,13 b	14,4 b	5,74 b	11,82 b	149

Les données suivies de chiffres différents indiquent une différence significative au seuil de 5 %.

6.3 APPORT DES CMA COMBINE A LA MO SUR LE RENDEMENT ET LA COMPOSITION DE LA TOMATE

L'inoculum de CMA est incorporé au sol de la pépinière de la tomate à raison de 2 kg/100 kg de substrat à l'aide d'un produit à 18 spores/g de sol. Puis les plants sont repiqués après 3 semaines en champ. Les rendements en fruits indiquent que les traitements à base de levure de bière (déchets de brasserie) et mycorhizes, mycorhizes et levure produisent respectivement 19,20, 11,83 et 13,73 t/ha contre 8,45 t/ha pour le témoin non inoculé (tabl. 5 ; Mayoh, 2003). Ceci représente pour le traitement levure + CMA, une augmentation de rendement en fruit de + 127 % par rapport au témoin. La mycorhization entraîne un effet sur le rendement de + 40 % par rapport au témoin. Le traitement à base de levure de bière donne un effet de + 63 % par rapport au traitement témoin. Ces résultats obtenus en champ signifient que

l'apport d'une source de matière organique, la levure de bière, aurait un effet positif sur la production de tomate ; effet renforcé par l'application des mycorhizes.

Tableau 5. Influence des déchets de brasseries (levure de bière) combinés aux champignons mycorhiziens sur le rendement et la composition minérale (mg/100 g de matière sèche) de la tomate sur Oxisol de Yaoundé.

Traitement	Rendement (t/ha)	Effet (%)	N total	P total	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺
Témoin	8,45 a	-	130	18,1	11,1	0,8	289	8,4
Levure (L)	13,73 c	+ 63	140	19,5	10,8	0,8	301	8,6
Mycorhize (M)	11,83 b	+ 40	160	18,4	11,3	0,7	290	8,4
L + M	19,20 d	+127	140	19,0	10,9	0,7	300	10,0

T: témoin (plants de tomate non traités dans un sol n'ayant pas reçu de levure) ; L : plants de tomate non traités aux mycorhizes dans un sol retourné avec de la levure ; M : plants de tomate traités aux mycorhizes dans un sol exempt de levure ; L + M : plants de tomate traités aux mycorhizes dans un sol retourné avec de la levure. Les données suivies de chiffres différents indiquent une différence significative au seuil de 5 %.

6.4. CMA ET SELECTION POUR L'ABSORPTION DE L'AZOTE CHEZ LE MAÏS

Une alternative vise à utiliser les variétés de maïs sélectionnées qui non seulement, s'adaptent à une faible fertilité du sol en azote, mais aussi forment une symbiose bénéfique avec les CMA. Pour comprendre le rôle des CMA dans la nutrition azotée du maïs, une sélection variétale du maïs a été combinée aux propriétés des CMA en pépinière. Les résultats obtenus sur substrat stérilisé indiquent qu'à faible dose (3,33 g/plant), les deux variétés Shaba et TZL de maïs ont les mêmes capacités de colonisation mycorhizienne (47 à 48 %), mais à forte dose (16,67 g/plant), la variété TZL possède des capacités plus élevées (83 %) par rapport à Shaba (57 %) (tabl. 6). Le calcul de l'azote absorbé montre que la variété TZL mycorhizée est moins efficace à faible dose (101 contre 129 mg/plante), mais plus efficace à forte dose (585 contre 514 mg/plante). Les résultats obtenus montrent que ces deux variétés de maïs possèdent un comportement contrasté pour l'absorption de l'azote : à faible teneur en azote, mycorhizé ou non, la meilleure variété est TZL ; à forte teneur en azote, mycorhizé ou non, c'est la variété

Shaba. Les variétés retenues au terme de notre travail pourront être croisées en champ afin de produire des hybrides ayant une grande capacité à s'adapter aux sols pauvres en azote et produisant des rendements élevés avec peu d'azote. L'identification des marqueurs biochimiques associés à cette capacité est nécessaire pour clarifier le mécanisme d'intervention des mycorhizes liées à cette contrainte de production. La mycorhization semble réduire pour tous les traitements la teneur en chlorophylle, cela stimulerait-il la photosynthèse ?

Tableau 6. Effet des CMA sur la croissance et l'efficacité d'utilisation de l'azote chez le maïs, 60 jours après le semis sur substrat stérilisé (Nana *et al.*, non publié). N apporté = dose faible : 0,33 g/plante et dose forte : 1,66 g/plante au semis sur du sable fin.

Variétés	TZL COMP1 SYN W-1-F2				SHABA			
	Dose faible		Dose forte		Dose faible		Dose forte	
Paramètres	NM	M	NM	M	NM	M	NM	M
Colonisation racinaire (%)	0	48	0	83	0	47	0	57
Taille (cm)	26,9fg	41,4ab	49,1a	45,1ab	31,9def	43,6ab	35,4bc	43,8ab
Biomasse aérienne (g)	1,8e	3,2de	3,1de	6,2b	2,4de	4,0cd	4,5cd	8,8a
Biomasse racinaire (g)	0,9d	1,9d	3,9ab	4,1ab	1,0d	1,9d	2,1cd	3,0bc
Chlorophylle (%)	17,2bc	7,7d	24,3a	18,8bc	18,6bc	9,6d	23,0ab	17,1bc
Acides aminés (µg/g de MF)	40,8cd	40,6cd	51,7c	173,0a	35,7d	32,2d	75,4b	88,0b
N total (% MS)	1,54d	3,14c	6,08b	9,43a	1,91d	3,22c	3,35c	5,84b
N absorbé (mg/plante)	28	101	189	585	46	129	151	514

NM : non mycorhizé ; M : mycorhizé ; N absorbé calculé sur la base de la biomasse aérienne et de sa teneur en azote total. Les données suivies de chiffres différents indiquent une différence significative au seuil de 5 %.

7. MYCORHIZATION DES CULTURES ET TOLERANCE AU STRESS HYDRIQUE ET A L'ACIDITE DES SOLS

La mycorhization des cultures entraîne une meilleure tolérance au stress hydrique modéré chez le bananier ou à la toxicité due à l'aluminium sur oxisol chez le maïs.

7.1. MYCORHIZATION DU BANANIER PLANTAIN ET TOLERANCE AU STRESS HYDRIQUE

Le déficit hydrique du sol affecte le nombre de feuilles émises, la surface foliaire et la biomasse aérienne chez les deux variétés de bananier plantain (fig. 2 ; Kinfiack, 2006). L'analyse des variances révèle un effet de la mycorhization et une interaction entre variété et niveau de stress. Par ailleurs, aucune interaction entre mycorhization et stress hydrique n'a été décelée. La mycorhization entraîne la production d'un nombre de feuilles supérieur à celui des feuilles des plantes non mycorhizées et ce indépendamment du niveau de stress hydrique imposé au sol (fig. 2). Lorsqu'on prend en compte le régime d'arrosage, on remarque que le nombre de feuilles augmente graduellement chez les plantes bien alimentées en eau (90 % CC) contrairement aux plants sévèrement stressés (30 % CC) chez lesquelles on a observé une réduction de l'émission des feuilles vers le 10^e jour suivant l'application du stress. Néanmoins, l'apparition des feuilles chez les plantes stressées devient nulle entre le 10^e et le 20^e jour. La réduction du nombre de feuilles est plus élevée chez la variété Pita 21 (22 %). En effet, la variété locale Elat présente chez les témoins sévèrement stressés (30 % CC), une moyenne de 1,0 feuille contre 0,78 pour la variété Pita 21 (fig. 2). À 60 % de la CC, Elat émet un nombre de feuilles significativement supérieur (3,56) à celui émis par Pita 21 (2,67). De façon globale, du fait du stress hydrique, la réduction du nombre de feuilles à 90, 60 et 30 % de la CC est de 5,06 ; 3,11 et 0,89 respectivement. La variété locale Elat tolère mieux la sécheresse que la variété sélectionnée Pita 21. La mycorhization stimule fortement l'efficacité d'utilisation de l'eau chez le bananier plantain qui produit environ deux fois plus de biomasse que les plants non mycorhizés avec la même quantité d'eau (fig. 3 ; Nwaga *et al.*, 2011).

7.2. MYCORHIZATION DU MAIS ET TOLERANCE A L'ACIDITE DES SOLS

Une série d'expérimentations sont réalisées à Ebolowa sur acide présentant une toxicité aluminique. L'inoculation de la variété de maïs sensible à l'acidité (CMS 8501) a entraîné une augmentation de rendement en grain de 59 % supérieur à celui du témoin sur sol à toxicité aluminique d'Ebolowa (Nwaga *et al.*, 2004). Alors que l'inoculation de la variété sensible à

l'acidité (ATP S4 SynY) entraîne seulement 6 % d'augmentation du rendement par rapport au témoin. Ces variétés diffèrent également par rapport à leur réponse à la colonisation racinaire, car l'inoculation permet de passer de 28 % (CMA natifs), à 60 % (CMA sélectionnés) pour la variété CSM 8501 ; et de 20 % (CMA natifs) à 38 % (CMA sélectionnés) pour la variété ATP S4 SynY. Donc, la mycorhization stimule la tolérance à la toxicité aluminique de la variété sensible à l'acidité CMS 8501.

Figure 2. Influence de la mycorhization sur le nombre cumulé de feuilles émises par deux variétés de bananier plantain (Elat, Pita 21) sous stress hydrique (60 à 30% de capacité au champ).

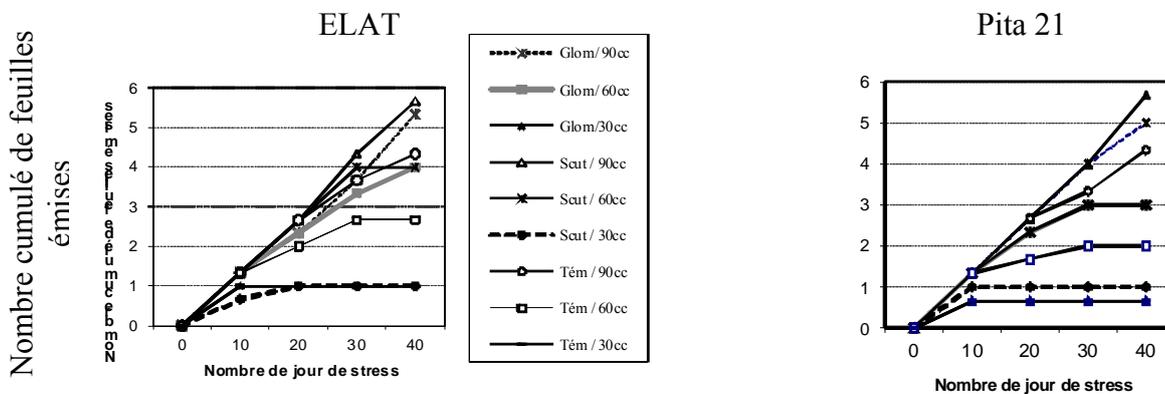


Figure 3. Influence de la mycorhization sur la croissance du bananier plantain sous stress hydrique. De gauche à droite: plant mycorhizé à 60 %, non mycorhizé à 30 % et non mycorhizé à 60 % de la capacité au champ. Noter la chlorose due au stress hydrique.



8. MYCORHIZATION ET TOLERANCE AUX MALADIES ET RAVAGEURS DES CULTURES

Les maladies des plantes causent des pertes importantes, au Cameroun, chez le cacaoyer par exemple les pertes varient de 50 à 70 % de cacao marchand (Nwaga, 1988).

8.1. CMA, MALADIES ET RENDEMENT DE LA TOMATE

Nous avons noté une réduction significative de l'évolution de plusieurs maladies (bactériose, mycose et 'curly top') en champ après inoculation des CMA par rapport au témoin. Cette réduction est plus remarquable sur le flétrissement bactérien causé par *Ralstonia solanacearum* et le mildiou causé par *Phytophthora infestans* (tableau 7 ; Mvele *et al.*, 2002). On obtient l'incidence la plus basse avec 0,8 % pour le traitement mycorhizé contre 12 % pour les plants témoins et 9,3 à 7,4 % respectivement pour les traitements engrais seul ou engrais et pesticides. Ces résultats nous amènent à suggérer que les CMA pourraient jouer un rôle majeur pour la lutte contre le flétrissement bactérien de la tomate, l'une des maladies les plus importantes chez les Solanacées telles que la tomate. La mycorhization entraîne aussi une faible réduction du mildiou (28 à 16 %) ; cette réduction est beaucoup plus importante (28, 4 à 0 %) en présence d'intrants chimiques (engrais et/ou pesticides). Par ailleurs, la mycorhization des plants de tomate en pépinière fournit une augmentation de rendement de 115 %, production équivalente à celle de l'utilisation de l'engrais complet NPKMgS recommandé pour les cultures maraîchères ; mais inférieure à celle obtenue par la combinaison engrais complet-pesticides (337 %). Ces résultats démontrent que l'inoculation des CMA peut constituer un moyen de lutte biologique contre les agents pathogènes telluriques.

8.2. CMA, PSEUDOMONAS, FLAVONOIDE ET PROTECTION DES PLANTS DE PALMIER A HUILE

Pour diminuer le taux de mortalité des plants et raccourcir le cycle de développement des plants en pépinière, le traitement inoculé avec les CMA (*Glomus* sp. et *Gigaspora* sp.) et traités à la quercétine, un composé phénolique ($M^+B^-C^+$) et le traitement inoculé par les CMA et *Pseudomonas fluorescens* ($M^+B^+C^-$) donnent une meilleure protection contre ces maladies par rapport au témoin ($M^-B^-C^-$). La combinaison de la bactérie ou du composé phénolique aux CMA permet donc de mieux protéger le palmier à huile en pépinière contre ces maladies (tabl. 8 ; Ngoumé 2002) car on obtient une réduction des pertes de 42 à 60 % par rapport au témoin. L'utilisation de l'inoculum bactérien ou d'un composé phénolique confirme ainsi les

travaux de Nwaga *et al.* (2007a) sur la lutte contre les maladies racinaires des plants ; le composé phénolique pourrait renforcer l'activité des champignons mycorhiziens.

Tableau 7. Effet des champignons mycorhiziens sur l'incidence du flétrissement bactérien (*Ralstonia solanacearum*), le mildiou (*Phytophthora infestans*) et le rendement de la tomate 90 JAS sur Oxisol à Ebolowa.

Traitement	Flétrissement (%)	Mildiou (%)	Rendement (t/ha)
Témoin	12,0 d	27,8 c	3,2 a
Mycorhizes (M)	0,8 a	15,5 b	7,0 b
Engrais (NPKMgS) (E)	9,3 cd	3,5 a	7,5 b
Engrais + Pesticides (P)	7,4 c	0,0 a	14,2 d
Mycorhizes + Pesticides	3,7 b	0,0 a	11,8 c

T : témoin ; M : inoculation mycorhizienne (*Glomus clarum* et *Gigaspora margarita*) ; E : engrais complet N-P-K-Mg-S (12, 14, 19 + 5) ; P : pesticides (Ridomil et Cypercal). Les données suivies de chiffres différents indiquent une différence significative au seuil de 5 %.

D'autres résultats indiquent que la mycorhization stimule la précocité de la maturation des gousses, réduit la cercosporiose et la rosette de l'arachide (Nwaga *et al.*, 2010).

8.3. MYCORHIZATION ET TOLERANCE AUX RAVAGEURS DES CULTURES

Plusieurs observations sur la mycorhization des cultures ont entraîné une meilleure tolérance aux ravageurs de cultures tels que les insectes (Thrips) du niébé (*Vigna unguiculata*) dans trois zones agroécologiques du Cameroun (Ngakou *et al.*, 2008). Une réduction de 31-49 % des populations d'adultes et de larves est obtenue après inoculation du niébé avec une combinaison de CMA et de rhizobia.

Une étude a porté sur le rôle potentiel de la symbiose CMA-Striga dans la gestion de cette plante parasite tueuse de céréales (Lendzemo, 2004). L'inoculation des CMA (*Glomus clarum* et *Gigaspora margarita*) a réduit de façon significative, le nombre de pousses de Striga fixées sur les racines et le nombre des plants émergés. L'effet est fonction de la quantité d'inoculum

de CMA. Cependant, l'inoculation a provoqué la réduction du nombre des plants de Striga (30 à 50 %) et de sa biomasse (40 à 63 %).

Tableau 8. Influence des champignons mycorhiziens combinés aux Pseudomonas et à un flavonoïde sur la réduction de la mortalité des plants de palmier à huile.

Traitement	Taux de mortalité (%)			Réduction (%)
	Site 1	Site 2	Moyenne	
$M^+ B^+ C^+$	6,25	5,00	5,63	60
$M^+ B^+ C^-$	11,25	6,25	8,75	38
$M^+ B^- C^+$	10,00	6,25	8,13	42
$M^+ B^- C^-$	7,50	5,00	6,25	56
$M^- B^- C^+$	9,37	3,12	6,25	56
$M^- B^- C^-$ (témoin)	15,62	12,50	14,06	-

Légende : Site 1 : Ngoa Ekelle, Site 2 : Oyomabang. M^+ : champignons mycorhiziens, B^+ : Pseudomonas fluorescens, C^+ : quercétine. Les données suivies de chiffres différents indiquent une différence significative au seuil de 5 %.

9. DISCUSSION

Plusieurs essais ont été réalisés avec les CMA au Cameroun sur diverses cultures telles que : céréales, légumineuses, tubercules, fruitiers, cultures de rente, ou cultures maraîchères (Nwaga *et al.*, 2000 ; Nwaga *et al.*, 2004 ; Nwaga *et al.*, 2007b ; Nwaga *et al.*, 2010). Ils montrent bien l'intérêt de ces micro-organismes bénéfiques pour l'agriculture et la sylviculture, la conservation de l'environnement et la santé des sols tropicaux. Au Cameroun, les CMA sélectionnés ont augmenté la productivité chez plus de 12 cultures (arachide, bananier, igname, maïs, mucuna, niébé, palmier à huile, piment, poireau, sorgho, soja, tomate) de l'ordre de 48 à 478 % seuls ou en combinaison avec d'autres intrants agricoles qui stimulent leurs effets (Nwaga *et al.*, 2010). Le développement de ces technologies et leur valorisation pour une éco-agriculture est indispensable en Afrique subsaharienne où la productivité est très faible et les risques d'insécurité alimentaire persistants. Même s'il y a

encore beaucoup à faire, certains travaux ont été réalisés au Cameroun avec les symbioses mycorhiziennes sur les essences forestières (Onguene, 2000), ou *Gnetum* sp., un produit forestier non ligneux important, sur la lutte contre le *Striga* (Lendzemo, 2004) ; la biodiversité (Ngonkeu, 2003) ou la tolérance du maïs aux sols acides (Ngonkeu, 2009) ; la protection contre la pourriture brune des cabosses du cacaoyer (Tchameni *et al.*, 2011), ou contre les nématodes du bananier, les insectes ravageurs des cultures (Ngakou *et al.*, 2008), la valeur alimentaire (Tchameni *et al.*, 2008) ou la conservation des sols (Fokom *et al.*, comm. pers.). Plus de 300 personnes (paysans, vulgarisateurs, étudiants et chercheurs) ont été formées depuis 1991 sur l'utilisation des biofertilisants à base de CMA. Certaines cultures telles que les légumineuses, les arbres fruitiers (agrumes, palmiers à huile, essences), les vitroplants ont une dépendance mycorhizienne élevée et répondent mieux à l'inoculation par les CMA par rapport aux céréales ou certaines cultures maraîchères qui ont une dépendance mycorhizienne moyenne. Les produits forestiers non ligneux tels que les fruitiers sauvages (*Irvingia gabonensis*, *Garcinia* spp.), les cultures d'agrocarburants (*Jatropha*, palmier à huile), les plantes médicinales (*Moringa*) ou alimentaires avec une dépendance mycorhizienne élevée pourraient mieux répondre à la mycorhization. En Afrique subsaharienne et au Cameroun, des travaux ont donné des résultats significatifs sur l'effet des CMA sur la production agricole et horticole (Nwaga *et al.*, 2004 ; Ngonkeu, 2009 ; Nwaga *et al.*, 2010).

10. LES OPPORTUNITES D'APPLICATION ET LES PERSPECTIVES DE VULGARISATION

Les CMA peuvent augmenter l'efficacité d'utilisation des engrais inorganiques, par exemple sur Oxisol, de Yaoundé ; la mycorhization a entraîné une amélioration significative de l'approvisionnement en azote et celle de l'efficacité d'utilisation des nutriments tels que le P chez une légumineuse de couverture (Jemo *et al.*, 2007). Cela est important pour la gestion des engrais inorganiques à faible impact sur l'environnement. Ils peuvent stimuler la qualité des plants ou des essences forestières, améliorer la qualité des fourrages à base de légumineuses pour une meilleure alimentation animale, ou pour la couverture des sols de plantations. Les CMA ont une action durable sur la fertilité du sol ; ils peuvent contribuer à augmenter les bénéfices des produits forestiers non ligneux, ainsi qu'à stocker le carbone dans le sol afin de limiter les effets de la dégradation des sols.

La valorisation des fonctions des CMA pourrait dans une approche intégrée, stimuler la production de plants mieux adaptés aux facteurs écologiques abiotiques défavorables

(sécheresse, acidité, infertilité des sols), réduire les risques liés aux résidus de pesticides ou aux métaux lourds dus aux intrants agricoles. Ils permettent de préserver les potentialités de 'la ressource sol', réduire le gaspillage de l'eau, accroître la productivité en Afrique subsaharienne. Pour développer ces fonctions bénéfiques des CMA, il faudra sensibiliser l'opinion, les professionnels des secteurs sur le rôle majeur de ces organismes sur les changements climatiques, la production d'aliments plus sains et de bonne qualité, et surtout sur leur impact sur l'économie des pays en Afrique subsaharienne. Ce développement dépend aussi de la formation des paysans, des vulgarisateurs, des techniciens, des étudiants, des chercheurs et de spécialistes en biologie du sol. La FAO recommande ces technologies, car elles sont moins chères, plus efficaces et durables ; elles sont déjà adoptées par de nombreux pays en Europe, en Asie et en Amérique latine. La gestion des ressources microbiennes pourrait avoir un impact direct sur la sécurité alimentaire en Afrique subsaharienne et les services environnementaux !

11. REFERENCES

- Abba, M. (2006). Ecologie des microsymbiotes de la rhizosphère du palmier à huile et caractérisation des bactéries solubilisant le phosphore : description, croissance et effets sur les plantes. DEA, Université de Yaoundé I
- Anonyme (2008). Bio-fertilisant mycorhizien, 4^e éd. Centre de Biotechnologie, Université de Yaoundé I, 2 p
- Anonyme (2005). Integrated soil fertility management in the tropics: from knowledge to implementation. TSBF-CIAT strategy and work plan, 2005-2010, TSBF/CIAT, Nairobi, Kenya 56 p
- Bationo, A., Okeyo, J.M., Waswa, B.S. et al. (2010). Innovations as key to the green revolution in Africa : exploring the scientific facts. Abstracts. TSBF, Nairobi, Kenya 271 p
- Duhoux E, Nicole M (2004) Biologie végétale. Associations et interactions chez les plantes. Ed Dunod, Paris, 166 p
- Finlay, R.D. (2004). Mycorrhizal fungi and their functional roles. *Mycologist*, 18(2): 91-96

- Finlay, R.D. (2008). Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on functional diversity of interactions involving the intraradical mycelium. *Journal of Experimental Botany* 59: 1115-1126
- Fokom, R.. Glomalin related soil protein, Carbon, Nitrogen and soil aggregate stability as affected by land use variation in the humid forest zone in south Cameroun. Unpublished data
- Fortin, J.A., Plenchette, C. & Piché, Y. (2008). Les mycorhizes. La nouvelle révolution verte. Ed MultiMondes, 138 p
- Jemo, M., Nolte, C. & Nwaga, D. (2007). Biomass production, N and P uptake of *Mucuna* after bradyrhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi inoculation, and P-application on acid soil of southern Cameroon. In *Advances in Integrated Soil Fertility Management in Sub Saharan Africa: Challenges and Opportunities*. Bationo A et al. (eds), Springer. pp 277-281
- Kinfack, D.M. (2006). Incidence de la mycorhization des vitro plants de bananier/plantain (*Musa sp. L.*) sur la tolérance au stress hydrique. Mémoire de DEA, Université de Yaoundé I
- Lenzemo, V.W. (2004). The tripartite interaction between sorghum, *Striga hermonthica*, and arbuscular mycorrhizal fungi. Ph.D. Thesis, Wageningen University.
- Mayoh, J.F. (2003). La levure de bière comme engrais organique combiné à la mycorhization pour la culture de la tomate (*Lycopersicon esculentum Mill.*): étude préliminaire. Mémoire de DEA, Université de Yaoundé I
- Mbouapouognigni, V. de P. (2006). Effet des biofertilisants mycorrhiziens et d'une fertilisation organique ou chimique sur la croissance et l'absorption minérale de la morelle noire (*Solanum nigrum Mill.*). Mémoire de DEA, Université de Yaoundé I
- Mvele, M.E.C., Nwaga, D., Ambang, Z. & Mfe'e Ze, N. (2002). Comparaison entre les biofertilisants mycorrhiziens et les engrais et pesticides chimiques pour la tolérance aux maladies et le rendement de la tomate *Lycopersicon esculentum Mill.* *Biosciences Proceedings* 9: 91-96

- Newsham, K.K., Fitter, A.H. & Watkinson, A.R. (1995). Multifunctionality and biodiversity in arbuscular mycorrhizas. *Tree* 10: 407-411
- Ngakou, A., Tamò, M., Parh, I.A., Nwaga, D., Ntonifor, N.N., Korie, S. & Nebane, C.L.N. (2008). Management of cowpea flower thrips, *Megalurothrips sjostedti* (Thysanoptera, Thripidae), in Cameroon. *Crop Protection*, 27:481-488
- Ngonkeu, M.E.L. (2003). Biodiversité et potentiel des champignons mycorhiziens à arbuscules de quelques zones agro-écologiques du Cameroun. Thèse de Doctorat 3^e Cycle, Université de Yaoundé I, 258 p
- Ngonkeu, M.E.L. (2009). Tolérance de certaines variétés de maïs aux sols à acidité aluminique et manganique et diversités moléculaire et fonctionnelle des mycorhizes à arbuscules. Thèse de doctorat/PhD, Université de Yaoundé I
- Ngoumé, R. (2002). Tolérance aux maladies et performances des plants de palmiers à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) bio-fertilisés en pépinière sur sol acide. Mémoire de DESS, Université de Yaoundé I, 48 p
- Nwaga, D. (1988). Intérêt du polymorphisme protéique et enzymatique pour la caractérisation des Pythiacées (*Phytophthora* et *Pythium*) et de leur interaction avec le tabac et le haricot. Thèse de Doctorat Unique, Université de Rennes I, France, 263 p
- Nwaga, D. (1997). Production pilote des bio-fertilisants rhizobien et mycorhizien au Cameroun : intérêts et contraintes. *Cameroon Journal of Biological and Biochemical Sciences* 7: 16-23
- Nwaga, D., Ngonkeu, M.E.L., Oyong, M.M., et al. (2000). Soil beneficial micro-organisms and sustainable agricultural production in Cameroon: current research and perspectives. In *The biology and fertility of tropical soils*, TSBF Report 1998, UNESCO-TSBF, Nairobi, Kenya, pp 62-65
- Nwaga, D., The, C., Ambassa-Kiki, R., et al. (2004) Selection of arbuscular mycorrhizal fungi for inoculating maize and sorghum, grown in oxisol/ultisol and vertisol in Cameroon In *Managing nutrient cycles to sustain soil fertility in sub-Saharan Africa*, Bationo A (eds), ASP/TSBF Institute of CIAT; Nairobi, Kenya, pp 467-486

- Nwaga, D., Fankem, H., Essono Obougou, G., Ngo, Nkot L. & Randrianangaly, J.S. (2007a). Pseudomonads and symbiotic micro-organisms as biocontrol agents against fungal disease caused by *Pythium aphanidermatum*. *African Journal of Biotechnology*, 6: 190-197
- Nwaga, D., Hamon, S., Djiéto Lordon, C. et al. (2007b). Biotechnologies et maîtrise des intrants agricoles en Afrique centrale. Réseau 'Biotechnologies végétales: amélioration des plantes et sécurité alimentaire '(BIOVEG)', AUF/IRD/Université de Yaoundé I/IRAD, 77 p
- Nwaga, D., Jansa, J., Abossolo Angue, M. et al. (2010). The potential of soil beneficial micro-organisms for slash-and-burn agriculture in the humid forest zone of Sub Saharan Africa. Chap 5 In *Soil Biology and Agriculture in the Tropics*, P Dion (ed), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp 81-107
- Nwaga, D., Tenkouano, A., Tomekpe, K., et al. (2011). Multi-functional properties of mycorrhizal fungi for crop production: the case study of banana development and drought tolerance. In *Innovations as Key to Green Revolution in Africa: Exploring the Scientific Facts*. Bationo A., et al. (eds.), Life Sciences, Springer, pp 523-531
- Onguene, N.A. (2000). Diversity and dynamics of mycorrhizal associations in Tropical rain forest with different disturbance regimes in south Cameroon. *Tropenbos. Cameroon series 3* Posen en louijen, Wageningen, the Nertherlands 167 p
- Smith, S. & Read, D. (1997). *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, London, UK
- Tchameni, N.S., Omoloko, C., Nana, W.L., et al. (2008). Effets des champignons mycorrhiziens et des flavonoïdes sur les phosphatases, la croissance et la valeur nutritionnelle du haricot vert. *African Journal of Sciences and Technology*, 9: 20-28
- Tchameni, S.N., Nana, L. Wakam, Ngonkeu, M.E.L. et al. (2011). Growth enhancement, amino acid synthesis and susceptibility reduction of *Phytophthora megakarya* by arbuscular mycorrhizal fungi inoculation in cocoa plants (soumis à *Journal of Pathology*)

CHAPITRE 3

**SYMBIOSE MYCORHIZIENNE ET ECOSYSTEMES
TROPICAUX**

EXEMPLES D'ETUDES REALISEES AU SENEGAL

**DIVERSITE DES CHAMPIGNONS ECTOMYCORHIZIENS ET DES ECTOMYCORHIZES
DES ARBRES FORESTIERS NATIFS D'AFRIQUE DE L'OUEST**

par Bâ A. M.^{1,2}, Duponnois R.², Diabaté M.³, Diédhiou A. G.¹, Sanon K.⁴, Nérée, Dreyfus B.²

¹ Laboratoire commun de microbiologie IRD/Ucad/Isra, (LCM), Centre de recherche de Bel
Air. B. P. 1386. C.P. 18524. Dakar. Sénégal

² IRD. UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/AGRO-M/UM2, Laboratoire des symbioses tropicales
et méditerranéennes (LSTM), Campus international de Baillarguet. Montpellier, France.

³ Institut agronomique de Guinée. Conakry. Guinée

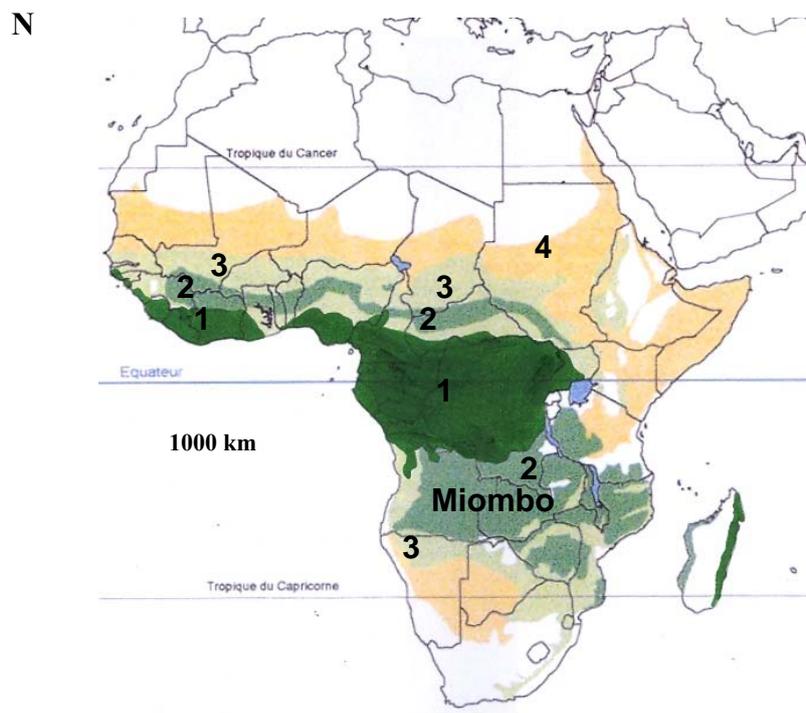
⁴ Institut de l'environnement et de recherches agricoles. Département productions forestières
(Inera/DPF). Ouagadougou 03. Burkina Faso

1. INTRODUCTION

La superficie totale des forêts en Afrique est estimée à 650 millions d'hectares, soit 21,8 % de la surface totale des terres et 16,8 % du couvert forestier mondial (FAO, 2009). La distribution des massifs forestiers est variable en Afrique. L'Afrique du Nord et l'Afrique de l'Ouest sont les moins boisées du continent, principalement à cause de l'aridité de ces régions alors que l'Afrique centrale (ex. : bassin du Congo), très humide avec pour végétation dominante la forêt ombrophile, couvre 40 % des forêts du continent (fig. 1). L'Afrique de l'Ouest ne représente que 14,3 % du couvert forestier du continent, en partie localisé dans la partie côtière humide.

La zone ouest-africaine regroupe 16 pays : Bénin, Burkina Faso, Cap-Vert, Côte d'Ivoire, Gambie, Ghana, Guinée, Guinée-Bissau, Liberia, Mali, Mauritanie, Niger, Nigeria, Sénégal, Sierra Leone et Togo. Elle est située en partie dans la région guinéenne et soudano-zambézienne au sens de White (1983). On y trouve plusieurs types forestiers dont des forêts denses ombrophiles sempervirentes, des forêts semi-décidues, des galeries forestières, des forêts claires, des savanes arborées, des steppes à épineux et de la végétation désertique (Schnell, 1986). La différenciation du couvert végétal résulte des différents climats et des pratiques anthropiques (ex. : coupes abusives, pâturage extensif, agriculture sur brûlis, passages des feux courants). La pression anthropique sur le couvert végétal est très marquée, car les populations sont tributaires des produits forestiers pour leur survie. De plus, les prélèvements forestiers ne sont pas compensés par la régénération naturelle et les plantations forestières. La forte pression démographique entraîne donc une réduction du couvert forestier, une dégradation des ressources en bois d'œuvre et produits non ligneux, ainsi qu'une perte importante de la diversité floristique et faunique. Les sols de forêt étant caractérisés par la grande diversité de leurs micro-organismes, la disparition des forêts entraîne une baisse importante de l'activité biologique et de la fertilité des sols. La disparition irréversible de multiples micro-organismes du sol comprend de nombreuses espèces utiles de champignons et de bactéries. Or la plupart des grands arbres des forêts ouest-africaines sont associés au niveau de leurs racines à des micro-organismes du sol indispensables à leur croissance et à la régénération de la forêt. Parmi ceux-ci, des champignons du sol développent avec les racines des arbres des associations symbiotiques appelées mycorhizes, universellement répandues en particulier dans les forêts tropicales naturelles.

Fig. 1. Subdivisions phytogéographiques du continent africain ; (1) forêts tropicales humides de la région guinéo-congolaise (vert foncé), (2) forêts claires de la région soudano-guinéenne (vert clair), (3) savanes boisées de la région soudano-zambézienne (vert pâle), (4) steppe boisée de la région soudano-sahélienne (orange).



2. STATUT MYCORHIZIEN DES FORETS TROPICALES NATURELLES

La majorité des essences forestières des régions tempérées et boréales vivent en symbiose avec des champignons ectomycorhiziens (Smith et Read, 2008). En revanche, dans les régions tropicales et subtropicales d'Afrique, d'Asie du Sud-Est, d'Australie et d'Amérique où la diversité botanique est très grande, ce sont les champignons mycorhiziens à arbuscules qui prédominent (Redhead, 1977 ; Warcup, 1980 ; Högborg, 1986 ; Malloch *et al.*, 1980 ; Chalermpongse, 1987 ; Béreau *et al.*, 1997 ; Onguene et Kuyper, 2002 ; Wang et Qiu, 2006). Les inventaires sur le statut symbiotique des arbres forestiers des régions tropicales indiquent une nette prédominance des MA (endotrophie) dans 85 % des taxons végétaux par rapport aux ECM qui représentent approximativement moins de 5 % des arbres (Smith et Read, 2008). En Thaïlande, sur 52 arbres examinés 14 sont à ECM et 38 présentent des MA (Chalermpongse, 1987). Au Nigeria, Redhead (1968 a) signale que sur 51 espèces végétales, 3 seulement sont à

ECM. Rambelli (1973) observe également une faible fréquence des espèces à ECM en Côte d'Ivoire. En Tanzanie, Högberg et Nylund (1981) notent que sur 47 espèces indigènes recensées, 40 présentent des MA, 6 des ECM et 1 des ectoendomycorhizes. Au Cameroun, Newbery *et al.* (1988) indiquent que sur 55 espèces végétales examinées, 32 possèdent des MA et 23 sont à ECM. Onguene et Kuyper (2002) confirment également cette tendance au Cameroun. Au Sénégal, Thoen et Bâ (1989) ont inventorié seulement 2 essences forestières indigènes à ECM. Cette rareté des arbres à ECM est également observée dans des forêts sèches du Burkina Faso et dans des forêts humides de Guinée (Thoen et Ducouso, 1989 a ; Sanon *et al.*, 1997 ; Rivière *et al.*, 2007). Dans des forêts néotropicales (ex. : Guyane française, Guyana, Seychelles), les arbres présentent aussi très peu d'espèces à ECM (Béreau *et al.*, 1997 ; Henkel *et al.*, 2002 ; Haug *et al.*, 2004 ; Tedersoo *et al.*, 2007). Cependant, il existe des forêts tropicales où prédominent les ECM : les forêts claires à *Brachystegia*, *Isobertinia* et *Julbernardia* dans le miombo en Afrique de l'Est, les forêts à Dipterocarpaceae du Sud-Est asiatique et les forêts à *Decymbe corymbosa* en Amérique du Sud (de Alwis et Abeynayake, 1980 ; Högberg et Nylund, 1981 ; Henkel *et al.*, 2002 ; McGuire, 2007).

Dans les régions tropicales et subtropicales d'Afrique, d'Asie du Sud-Est, d'Australie et d'Amérique, l'ectotrophie est présente dans des espèces d'arbres, d'arbustes, d'herbacées et de lianes dans les familles et sous-familles suivantes : Fabaceae/Caesalpinioideae (ex. : *A. africana*), Fabaceae/Mimosoideae (ex. : *Acacia holosericea*), Fabaceae/Papilionoideae (ex. : *Pericopsis angolensis*), Myrtaceae (ex. : *Eucalyptus camaldulensis*), Proteaceae (ex. : *Faurea saligna*), Casuarinaceae (ex. : *Casuarina equisetifolia*), Dipterocarpaceae (ex. : *Monotes kerstingii*), Polygonaceae (ex. : *Coccoloba uvifera*), Nyctaginaceae (ex. : *Pisonia grandis*), Lauraceae (ex. : *Cinnamomum zeylanicum*), Rhamnaceae (ex. : *Pomaderris aspera*), Rubiaceae (ex. : *Opercularia varia*), Fagaceae (ex. : *Lithocarpus sundaicus*), Sapotaceae (ex. : *Manilkara* sp.), Sapindaceae (ex. : *Acer campestre*), Sterculiaceae (ex. : *Lasiopetalum behrii*), Thymelaeaceae (ex. : *Pimelia spathulata*), Apiaceae (ex. : *Platysace heterophylla*), Euphorbiaceae (ex. : *Poranthera microphylla*), Phyllanthaceae (ex. : *Uapaca guineensis*), Gnetaceae (ex. : *Gnetum africanum*), Sarcolaenaceae (ex. : *Sarcolaena multiflora*), Asteropeiaceae (ex. : *Asteropeia amblyocarpa*) et Pinaceae (ex. : *Pinus caribaea*) (Mikola, 1970 ; de Alwis et Abeynayake, 1980 ; Warcup, 1980 ; Högberg et Nylund, 1981 ; Alexander et Högberg, 1986 ; Bâ *et al.*, 1987 ; Newbery *et al.*, 1988 ; Le Tacon *et al.*, 1989 ; Thoen et Bâ, 1989 ; Thoen et Ducouso, 1989a ; Béreau *et al.*, 1997 ; Sanon *et al.*, 1997 ; Torti et Coley, 1999 ; Bâ *et al.*, 2000 ; Onguene et Kuyper, 2001 ; Henkel *et al.*, 2002 ; Ducouso *et*

al., 2004 ; Haug *et al.*, 2004 ; Rivière *et al.*, 2007 ; Tedersoo *et al.*, 2007 ; Ducouso *et al.*, 2008).

3. STATUT ECTOMYCORHIZIEN DES ARBRES NATIFS D'AFRIQUE TROPICALE

En Afrique tropicale, les ECM sont présentes dans 9 familles ou sous-familles d'arbres : Caesalpinioideae, Dipterocarpaceae, Phyllanthaceae, Gnetaceae, Papilionoideae, Proteaceae, Sapotaceae, Asteropeiaceae et Sarcolaenaceae (tabl. 1). Parmi les espèces d'arbres à ECM, les Caesalpinioideae sont les plus représentées en nombre d'espèces. Elles comportent des arbres à usages multiples qui jouent un rôle majeur en foresterie et agroforesterie (Thiès, 1995). Ce sont surtout des essences forestières (ex. : *Brachystegia*, *Isoberlinia*, *Afzelia*) à bois d'œuvre et de service à forte valeur ajoutée. Dans cette sous-famille, des ECM sont principalement observées dans la tribu des Amherstieae (14 genres) et des Detarieae (1 genre). C'est aussi le cas en Asie du Sud-Est et en Amérique tropicale où les arbres à ECM sont trouvés dans la tribu des Amherstieae (Chalermpongse, 1987 ; Henkel *et al.*, 2002). Par contre, dans la tribu des Caesalpinieae, des Cassieae et des Cercidieae, seules trois espèces d'arbres, *Erythrophleum succirubrum* (Caesalpinieae), *Cassia garrettiana* (Cassieae) et *Bauhinia malabarica* (Cercidieae) endémiques de Thaïlande, possèdent des ECM (Chalermpongse, 1987).

Des espèces d'arbres à ECM possèdent aussi des MA et (ou) des nodules. Quelques Amherstieae (ex. : *Gilbertiodendron dewevrei*, *Anthonotha fragans* et *Tetraberlinia bifoliolata*) et Detarieae (ex. : *Afzelia bipendensis* et *A. pachyloba*) présentent les deux types de mycorhizes. Toutefois, la majorité des Detarieae est colonisée par des champignons mycorhiziens à arbuscules (Newbery *et al.*, 1988 ; Onguene et Kuyper, 2001). La nodulation des Caesalpinioideae concerne environ 23 % des espèces examinées (Allen et Allen, 1981 ; de Faria *et al.*, 1989). Elle est quasiment absente chez les espèces à ECM appartenant aux Amherstieae, Detarieae et Cercidieae. Elle semble cependant plus fréquente chez les Caesalpinieae et les Cassieae où prédominent les MA. Autrement dit, chez les Caesalpinioideae, la nodulation coexiste exclusivement avec des MA sauf chez l'espèce ectotrophe, *Afzelia quanzensis* (Högberg et Nylund, 1981) dont la nodulation n'a pas été cependant confirmée par des études plus récentes (Munyanziza et Kuyper, 1995 ; Bâ *et al.*, 2002). Le statut symbiotique de la Papilionoideae *Pericopsis angolensis* diffère selon le lieu d'échantillonnage des racines. L'arbre possède des ECM en Zambie (Alexander et Högberg, 1986 ; Högberg et Pearce, 1986), des nodules au Zimbabwe (Corby, 1974), des MA et des

nodules en Tanzanie (Högberg, 1982). Les trois types de symbiose (nodules, MA et ECM) ne semblent pas coexister sur *P. angolensis* comme sur les Mimosoideae (ex. : *Acacia holosericea*) et Casuarinaceae (ex. : *Casuarina equisetifolia*) introduites en Afrique tropicale (Warcup, 1980 ; Reddell *et al.*, 1986 ; Bâ *et al.*, 1987 ; Le Tacon *et al.*, 1989 ; Bâ *et al.*, 1994). Pour ce qui est des autres familles d'arbres à ECM (Dipterocarpaceae, Phyllanthaceae et Sapotaceae), c'est bien la coexistence des deux types de mycorhize qui semblent prévaloir dans la plupart des cas. Il en est de même pour l'arbuste *F. saligna* (Proteaceae) et la liane *G. africanum* (Gnetaceae). La plupart des Sarcolaenaceae et des Asteropeiaceae, deux familles endémiques de Madagascar, possèdent les deux types de mycorhize.

Tableau 1. Statut symbiotique et distribution géographique de quelques espèces d'arbres, d'arbustes, d'herbacées et de lianes natives d'Afrique tropicale. Mycorhizes à arbuscules^(a), ectomycorhizes^(b).

Groupe taxonomique	Nodule	MA ^(a)	ECM ^(b)	Pays
Asteropeiaceae				
<i>Asteropeia amblyocarpa</i> Tul. *	-	nd	+	Madagascar ^{anonyme}
<i>A. densiflora</i> Baker *	-	+	+	Madagascar ^{anonyme}
<i>A. micraster</i> Hallier f. *	-	+	+	Madagascar ³²
<i>A. multifolia</i> Thou *	-	+	+	Madagascar ³²
<i>A. rhopaloïdes</i> (Baker) Baill. *	-	nd	+	Madagascar ^{anonyme}
Dipterocarpaceae				
<i>Marquesia macroura</i> Gilg. *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>M. acuminata</i> (Gilg) R. E. Fr. *	-	+	+	Zambie ¹³
<i>Monotes africana</i> (Welw.) Adc. *	-	-	+	Zambie ¹¹
<i>M. elegans</i> Gilg. *	-	-	+	Zambie ¹¹
<i>M. elegans</i> Gilg. *	-	-	+	Tanzanie ¹⁴
<i>M. kerstingii</i> Gilg. *	-	-	+	Burkina Faso ^{5, 21}
Fabaceae				
<i>Caesalpinioideae</i>				
Detarieae				

<i>Afzelia africana</i> Sm. *	-	-	+	Ghana ¹
<i>Afzelia africana</i> Sm. *	-	-	+	Nigeria ²
<i>Afzelia africana</i> Sm. *	-	-	+	Sénégal ³
<i>Afzelia africana</i> Sm. *	-	+	+	Guinée ⁴
<i>Afzelia africana</i> Sm. *	-	-	+	Burkina Faso ^{5, 21}
<i>A. bella</i> Harms *	-	-	+	RD Congo ⁶
<i>A. bella</i> Harms *	-	-	+	Nigeria ²
<i>A. bella</i> Harms *	-	-	+	Guinée ¹⁶
<i>A. bella</i> Harms *	-	+	+	Cameroun ²²
<i>A. bipendensis</i> Harms *	-	-	+	Cameroun ⁷
<i>A. bipendensis</i> Harms *	-	+	+	Cameroun ⁸
<i>A. bipendensis</i> Harms *	-	+	+	Cameroun ²⁰
<i>A. bracteata</i> T. Vogel. *	-	-	+	Guinée ⁴
<i>A. pachyloba</i> Harms *	-	+	+	Cameroun ^{7, 8}
<i>A. quanzensis</i> Welw. *	+	-	+	Tanzanie ⁹
<i>A. quanzensis</i> Welw. *	-	-	+	Tanzanie ¹⁰
<i>A. quanzensis</i> Welw. *	+	-	-	Zimbabwe ²⁶
<i>A. quanzensis</i> Welw. *	-	-	+	Kenya ²⁰

Amherstieae

<i>Anthonotha cladantha</i> (Harms) Léon. *	-	-	+	Cameroun ⁷
<i>A. crassifolia</i> (Baill.) Léon. *	-	-	+	Guinée ⁴
<i>A. fragans</i> (Bak. f.) Exell & Hillc. *	-	-	+	Cameroun ^{7, 8}
<i>A. fragans</i> (Bak. f.) Exell & Hillc. *	-	+	+	Cameroun ²⁰
<i>A. lamprophylla</i> (Harms) Léon. *	-	-	+	Cameroun ⁷
<i>A. macrophylla</i> P. Beauv. *	-	-	+	Cameroun ⁷
<i>A. macrophylla</i> P. Beauv. *	-	-	+	Cameroun ²⁰
<i>Aphanocalyx margininervatus</i> Léon. *	-	-	+	Cameroun ⁷
<i>A. cynometroides</i> Oliver *	-	-	+	Cameroun ²⁰
<i>Berlinia bracteosa</i> Benth. *	-	-	+	Cameroun ⁷
<i>B. confusa</i> Hoyle *	-	-	+	Cameroun ²⁶
<i>B. crabiana</i> Bak. f. *	-	-	+	Cameroun ⁷
<i>B. grandiflora</i> (Vahl) Hutch. & Dalziel *	-	nd	+	Burkina Faso ³¹

<i>Berlinia</i> sp. *	-	-	+	Cameroun ⁷
<i>Berlinia</i> sp. *	-	+	+	Cameroun ²⁰
<i>Brachystegia allenii</i> Burt Davy & Hutch *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>Brachystegia bohemi</i> Taub. *	-	-	+	Tanzanie ¹¹
<i>Brachystegia bohemi</i> Taub. *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>B. bussei</i> Harms. *	-	-	+	Tanzanie ¹¹
<i>B. bussei</i> Harms. *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>B. cynometroides</i> Harms *	-	+	+	Cameroun ^{8, 25}
<i>B. eurycoma</i> Harms. *	-	-	+	Tanzanie ¹²
<i>B. eurycoma</i> Harms. *	-	-	+	Cameroun ⁸
<i>B. eurycoma</i> Harms. *	-	-	+	Nigeria ²
<i>B. floribunda</i> Benth. *	-	-	+	Zambie ¹¹
<i>B. floribunda</i> Benth. *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>B. glaberrima</i> R. E. Fr. *	-	-	+	Zambie ¹²
<i>B. glaberrima</i> R. E. Fr. *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>B. laurentii</i> (De Wild.) Louis & Hoyle *	-	-	+	RD Congo ⁶
<i>B. longifolia</i> Benth. *	-	-	+	Zambie ¹¹
<i>B. longifolia</i> Benth. *	-	-	+	Tanzanie ¹⁴
<i>B. longifolia</i> Benth. *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>B. manga</i> De Wild. *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>B. microphylla</i> Harms *	-	-	+	Tanzanie ^{11, 14}
<i>B. microphylla</i> Harms *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>B. nigerica</i> Hoyle & A. Jones *	-	-	+	Nigeria ²⁷
<i>B. spiciformis</i> Benth. *	-	-	+	Zambie ¹¹
<i>B. spiciformis</i> Benth. *	-	-	+	Tanzanie ⁹
<i>B. spiciformis</i> Benth. *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>B. taxifolia</i> Harms *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>B. utilis</i> Burt Davy & Hatch *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>B. wangermeeana</i> De Wild. *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>B. zenzeri</i> Harms *	-	-	+	Cameroun ⁸
<i>Cryptosepalum tetraphyllum</i> (Hook. f.) Benth. *	-	nd	+	Guinée ¹⁶
<i>Didelotia africana</i> Baill. *	-	-	+	Cameroun ^{7, 8}

<i>Didelotia africana</i> Baill. *	-	+	+	Cameroun ²⁰
<i>D. letouzeyi</i> Pellegr. *	-	-	+	Cameroun ⁸
<i>D. letouzeyi</i> Pellegr. *	-	-	+	Cameroun ²⁰
<i>Gilbertiodendron brachystegioides</i> (Harms) J. Leonard *	-	-	+	Cameroun ^{7, 8}
<i>G. demonstrans</i> (Baill.) Léon. *	-	-	+	Cameroun ⁷
<i>G. dewevrei</i> (De Wild.) *	-	-	+	RD Congo ¹⁵
<i>G. dewevrei</i> (De Wild.) *	-	-	+	Cameroun ^{7, 8}
<i>G. dewevrei</i> (De Wild.) *	-	+	+	RD Congo ¹⁹
<i>G. limba</i> (Scott Elliot) J. Leonard *	-	-	+	Guinée ¹⁶
<i>G. ogoonense</i> (Pell.) *	-	-	+	Cameroun ⁷
<i>Gilbertiodendron</i> sp. *	-	-	+	Cameroun ⁷
<i>Gilbertiodendron</i> sp. 1 *	-	-	+	Cameroun ²⁰
<i>Gilbertiodendron</i> sp. 2 *	-	+	+	Cameroun ²⁰
<i>Isoberlinia angolensis</i> (Benth. Hogle et Brenan) *	-	-	+	Zambie ⁷
<i>Isoberlinia angolensis</i> (Benth. Hogle et Brenan) *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>I. dalziellii</i> Craib. & Stapf. *	-	-	+	Burkina Faso ⁵
<i>I. doka</i> Craib. & Stapf.	-	-	+	Burkina Faso ⁵
<i>Julbernardia globiflora</i> (Benth.) Troupin *	-	-	+	Tanzanie ¹⁴
<i>Julbernardia globiflora</i> (Benth.) Troupin *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>J. paniculata</i> (Benth.) Troupin *	-	-	+	Zambie ¹¹
<i>J. paniculata</i> (Benth.) Troupin *	-	-	+	Zambie ¹¹
<i>J. seretii</i> (De Wild.) Troupin *	-	-	+	RD Congo ^{17, 18}
<i>J. seretii</i> (De Wild.) Troupin *	-	-	+	Cameroun ^{7, 8}
<i>J. seretii</i> (De Wild.) Troupin *	-	+	+	RD Congo ¹⁹
<i>M. bisulcata</i> A. Chev. *	-	-	+	Cameroun ⁷
<i>M. bisulcata</i> A. Chev. *	-	-	+	Cameroun ²⁰
<i>Monopetalanthus microphyllus</i> Harms *	-	-	+	Cameroun ^{7, 8}
<i>M. letestui</i> Pellegr. *	-	-	+	Cameroun ⁸

<i>Monopetalanthus</i> sp. *	-	-	+	RD Congo ⁶
<i>Monopetalanthus</i> sp. nov. *	-	-	+	RD Congo ⁶
<i>Monopetalanthus</i> sp. *	-	+	+	Cameroun ²⁰
<i>Paraberlinia bifoliolata</i> Pellegr. *	-	-	+	Cameroun ⁸
<i>Paramacrolobium coeruleum</i> (Taub.) Léon *	-	-	+	RD Congo ¹⁸
<i>Paramacrolobium coeruleum</i> (Taub.) Léon *	-	-	+	Guinée ¹⁶
<i>P. flagrans</i> (Bak.) Out. *	-	-	+	RD Congo ⁶
<i>Pelligriniodendron diphyllum</i> (Harms) J. Léonard *	-	-	+	Guinée ¹⁶
<i>Tetraberlinia bifoliolata</i> (Harms.) Hauman *	-	-	+	Cameroun ^{7,8}
<i>Tetraberlinia bifoliolata</i> (Harms.) Hauman *	-	+	+	Cameroun ²⁰
<i>T. moreliana</i> Aubr. *	-	-	+	Cameroun ⁷
<i>T. moreliana</i> Aubr. *	-	-	+	Cameroun ²⁰
<i>Toubaouate brevipaniculata</i> (J. Léonard) Aubr. & Pellegr. *	-	-	+	Cameroun ⁸

Papilionoideae

Sophoraceae

<i>Pericopsis angolensis</i> (Bak.) van Meeuween *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>Pericopsis angolensis</i> (Bak.) van Meeuween *	-	-	+	Zambie ¹¹
<i>Pericopsis angolensis</i> (Bak.) van Meeuween *	+	-	-	Zimbabwe ²⁶
<i>Pericopsis angolensis</i> (Bak.) van Meeuween *	+	-	-	Tanzanie ¹⁴

Phyllanthaceae

<i>Uapaca acuminata</i> (Hutch.) Pax & K.	-	-	+	Cameroun ²⁵
---	---	---	---	------------------------

Hoffn *

<i>U. benguelensis</i> Müll. Arg. *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>U. bojeri</i> Baillon *	-	+	+	Madagascar ^{29, 30}
<i>U. chevalieri</i> Beille *	-	-	+	Guinée ⁴
<i>U. ferruginea</i> Baill. *	-	+	+	Madagascar ³²
<i>U. guineensis</i> Müll. Arg. *	-	+	+	Sénégal ³
<i>U. guineensis</i> Müll. Arg. *	-	+	+	Guinée ⁴
<i>U. guineensis</i> Müll. Arg. *	-	+	+	Burkina Faso ⁵
<i>U. guineensis</i> Müll. Arg. *	-	-	+	Cameroun ⁸
<i>U. kirkinia</i> Müll. Arg. *	-	-	+	Tanzanie ¹¹
<i>U. kirkinia</i> Müll. Arg. *	-	+	+	Zambie ¹⁴
<i>U. kirkinia</i> Müll. Arg. *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>U. littoralis</i> Denis *	-	+	+	Madagascar ³²
<i>U. nitida</i> Müll. Arg. *	-	-	+	Zambie ¹¹
<i>U. nitida</i> Müll. Arg. *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>U. pilosa</i> Hutch. *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>U. robynsii</i> De Wild. *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>U. sansibarica</i> Pax. *	-	-	+	Zambie ¹³
<i>U. somon</i> Aub. Linn. *	-	+	+	Burkina Faso ⁵
<i>U. staudtii</i> Pax. *	-	+	+	Cameroun ⁷
<i>U. staudtii</i> Pax. *	-	+	+	Cameroun ⁰
<i>U. thouarsii</i> Baill. & Denis *	-	+	+	Madagascar ³²
<i>U. togoensis</i> Pax. *	-	-	+	Nigeria ²⁸
<i>U. vanhouttei</i> De Wild. *	-	-	+	Cameroun ²⁵

Gnetaceae

<i>Gnetum africanum</i> Welw. **	-	-	+	RD Congo ²³
<i>Gnetum africanum</i> Welw. **	-	-	+	Cameroun ²⁴
<i>G. buchholzianum</i> Engl. **	-	-	+	Cameroun ²⁵
<i>Gnetum</i> sp. **	-	+	+	Cameroun ²⁵

Proteaceae

<i>Faurea saligna</i> Harv.***	-	-	+	Zambie ¹³
Sapotaceae				
<i>Manilkara</i> sp. *	-	+	+	RD Congo ¹⁹
Sarcolaenaceae				
<i>Leptolaena paucifolia</i> Thouars *	-	+	+	Madagascar ³²
<i>L. multiflora</i> Thouars	-	+	+	Madagascar ³²
<i>Leptolaena</i> sp. 1 *	-	+	+	Madagascar ³²
<i>Leptolaena</i> sp. 2 *	-	+	+	Madagascar ³²
<i>Sarcolaena eriophora</i> Thou. *	-	+	+	Madagascar ³²
<i>S. grandifolia</i> Thou. *	-	+	+	Madagascar ³²
<i>S. multiflora</i> Thouars *	-	+	+	Madagascar ³²
<i>S. oblongifolia</i> F. Gérard *	-	nd	+	Madagascar ^{anonyme}
<i>Schizolaena elongata</i> Lowry *	-	+	+	Madagascar ³²
<i>S. exinvolucrata</i> Lowry *	-	+	+	Madagascar ³²
<i>Schizolaena</i> sp. *	-	+	+	Madagascar ³²
<i>S. microphylla</i> H. Perrier *	-	nd	+	Madagascar ^{anonyme}
<i>Xyloolaena humbertii</i> Cavaco *	-	nd	+	Madagascar ^{anonyme}

+ Présence ; - absence ; nd, non déterminé ; Arbre * ; Liane ** ; Arbuste ***. (Source : ¹ Jenik et Mensah, 1967 ; ² Redhead, 1968a ; ³ Thoen et Bâ, 1989 ; ⁴ Thoen et Ducouso, 1989 a ; ⁵ Sanon *et al.*, 1997 ; ⁶ Fassi et Fontana, 1962 ; ⁷ Newbery *et al.*, 1988 ; ⁸ Onguene et Kuyper, 2001 ; ⁹ Högberg et Nylund, 1981 ; ¹⁰ Munyanziza et Kuyper, 1995 ; ¹¹ Alexander et Högberg, 1986 ; ¹² Redhead, 1979 ; ¹³ Högberg et Pearce, 1986 ; ¹⁴ Högberg, 1982 ; ¹⁵ Peyronnel et Fassi, 1957 ; ¹⁶ Rivière *et al.*, 2007 ; ¹⁷ Fassi et Fontana, 1961 ; ¹⁸ Peyronel et Fassi, 1960 ; ¹⁹ Torti et Coley, 1999 ; ²⁰ Moyersoen et Fitter, 1999 ; ²¹ Ducouso *et al.*, 2004 ; ²² Alexander, 1987 ; ²³ Fassi, 1957 ; ²⁴ Tambe Bechem et Alexander, 2009 ; ²⁵ Onguene, 2000 ; ²⁶ Corby, 1974 ; ²⁷ Redhead, 1968b ; ²⁸ Redhead, 1974 ; ²⁹ Ramanankierana *et al.*, 2007 ; ³⁰ Martin *et al.*, 1998 ; ³¹ Sanon *et al.*, 2009 ; ³² Ducouso *et al.*, 2008).

On estime qu'il y a 90 espèces d'arbres dont le statut ectomycorhizien est avéré parmi les 353 espèces potentiellement ectotrophes, ce qui est très peu par rapport au nombre d'arbres des régions tropicales, mais élevé si on le compare au nombre d'espèces ectotrophes des

régions tempérées (tabl. 1 et 2). Le statut ectomycorhizien n'ayant été examiné que sur 25 % d'espèces d'arbres, beaucoup reste encore à faire en matière de simples observations. Au vu des données récentes de la littérature, les inventaires ne seraient pas exhaustifs et les arbres à ECM ne se limiteraient pas aux seules familles déjà connues. En effet, la découverte récente de deux nouvelles familles d'arbres (Sarcolaenaceae et Asteropeiaceae) et de deux nouveaux genres à ECM dans la sous-famille des Caesalpinioideae (*Cryptosepalum* et *Pelligriniodendron*), respectivement à Madagascar et en Guinée forestière, doit nous amener à reconsidérer une opinion largement répandue selon laquelle l'ectotrophie des arbres tropicaux est rare et spécifique (Bâ *et al.*, 2000 ; Rivière *et al.*, 2007 ; Ducouso *et al.*, 2008). En effet, non seulement le statut ectomycorhizien des arbres reste peu connu dans les forêts tropicales où la diversité en espèces végétales est beaucoup plus riche que dans les forêts tempérées, mais aussi les champignons ectomycorhiziens associés aux arbres tropicaux présentent une grande diversité tout à fait comparable à ce que l'on peut observer dans les forêts tempérées.

Tableau 2. Fréquence des espèces d'arbres, d'arbustes, d'herbacées et de lianes à ECM natives d'Afrique tropicale.

Groupes taxonomiques	Genres	Nbre d'espèces	total	Nbre d'espèces examinées	total	Espèces examinées (%)
Asteropeiaceae	<i>Asteropeia</i>	8		4		50
Dipterocarpaceae	<i>Marquesia</i>	4		2		50
Fabaceae	<i>Monotes</i> *	36		3		8
Caesalpinioideae						
Detarieae	<i>Afzelia</i> *	7		6		86
Amherstieae	<i>Anthonota</i> *	30		5		16
	<i>Aphanocalyx</i>	3		1		33
	<i>Berlinia</i> *	18		3		17

	<i>Brachystegia</i>	36	13	36
	<i>Cryptosepalum</i> *	11	1	9
	<i>Didelotia</i>	12	1	8
	<i>Gilbertiodendron</i> *	28	6	21
	<i>Isoberlinia</i> *	5	3	60
	<i>Julbernardia</i>	11	3	27
	<i>Microberlinia</i>	2	2	100
	<i>Monopetalanthus</i>	20	5	25
	<i>Paramacrolobium</i> *	2	2	100
	<i>Pelligriniodendron</i> *	1	1	100
	<i>Tetraberlinia</i>	3	3	66
	<i>Toubaouate</i>	1	1	100
Papilionoideae	<i>Pericopsis</i>	3	1	33
	<i>Uapaca</i> *	50	11	22
Phyllanthaceae	<i>Gnetum</i>	3	3	100
Gnetaceae	<i>Faurea</i>	18	1	5,5
Proteaceae	<i>Manilkara</i>	20	2	10
Sapotaceae	<i>Leptolaena</i>	6	2	33
Sarcolaenaceae	<i>Sarcolaena</i>	3	2	66
	<i>Schizolaena</i>	7	3	42,8
	<i>Xyloolaena</i>	5	1	20

TOTAL

353

91

25,4

*Genres ayant au moins une espèce à ectomycorhize en Afrique de l'Ouest (Source : récapitulatif du tableau 1).

4. DISTRIBUTION PHYTOGEOGRAPHIQUE DES ARBRES ECTOTROPHES EN AFRIQUE TROPICALE

En Afrique tropicale, les arbres ectotrophes sont distribués principalement dans la région guinéo-congolaise et dans une moindre mesure dans les régions zambézienne et soudanienne au sens de White (1983). La région guinéo-congolaise comporte des forêts denses ombrophiles sempervirentes ou semi-sempervirentes et des galeries forestières (Schnell, 1986). Dans les forêts ombrophiles sempervirentes de basse altitude, les Caesalpinioideae à ECM peuvent constituer des groupements floristiques dominants (Schnell, 1986). C'est le cas des forêts à *Gilbertiodendron dewevrei*, *Julbernardia seretii* et *Brachystegia laurentii* qui constituent 96 % de la strate supérieure du massif forestier congolais. C'est dans cette région que se trouve d'ailleurs le plus grand nombre de Caesalpinioideae à ECM (Thoen, 1993).

La région zambézienne est dominée par des groupements herbeux xériques et des forêts claires (Schnell, 1986). Les forêts claires sont dominées par des Caesalpinioideae arborescentes ectotrophes dont le comportement est souvent grégaire. Au sud de l'équateur (domaine zambézien), les forêts claires du miombo sont plus diversifiées et constituent de vastes massifs forestiers dominés par plusieurs espèces du genre *Brachystegia*, *Isoberlinia*, *Julbernardia*, *Azelia*, *Uapaca*, *Monotes* et *Marquesia* (Schnell, 1986). Au nord de l'équateur (domaine soudanien), les forêts claires sont moins diversifiées et forment des îlots restreints et parfois épars dans les savanes. Elles sont dominées par des essences comme *Isoberlinia*, *Monotes* et *Uapaca*, et couvrent environ 12 % de la surface du continent. Dans d'autres régions du monde, les forêts claires existent notamment en Asie du Sud-Est et sont dominées par des Dipterocarpaceae ectotrophes qui manifestent un grégarisme comparable à celui des Caesalpinioideae ectotrophes des forêts claires d'Afrique tropicale (de Alwis et Abeynayake, 1980 ; Högberg et Nylund, 1981).

Des arbres à ECM sont observés sporadiquement dans les zones de transition des régions phytogéographiques. Par exemple, en Afrique de l'Ouest, *A. africana* et *U. guineensis* sont des espèces de transition entre la zone guinéo-congolaise et la zone soudanienne (Thoen et Bâ, 1989). Les ECM sont absentes de la zone sahélienne où dominent les arbres possédant des MA.

5. MONODOMINANCE DES ARBRES ECTOTROPHES EN AFRIQUE TROPICALE

Dans les écosystèmes forestiers, il semble que la diversité des champignons mycorhiziens ne reflète pas la diversité des types de mycorhizes chez les plantes (Malloch *et al.*, 1980 ; Allen *et al.*, 1995). En effet, l'endotrophie, avec environ 200 espèces de champignons, est répandue dans des forêts tropicales très diversifiées alors que l'ectotrophie, avec plus de 20 000 espèces de champignons, se rencontre plutôt dans des forêts tempérées et boréales relativement pauvres en espèces (Allen *et al.*, 1995). Cela suggère que le type de mycorhize pourrait réguler la diversité des espèces végétales. Dans une expérience en pot où l'on contrôle la composition de la microflore du sol, il a été démontré que la structure de la communauté des Glomales détermine celle d'une douzaine d'espèces végétales calcicoles (van der Heijden *et al.*, 1998). La distribution des deux types de mycorhizes pourrait également suivre le niveau de fertilité des sols (Malloch *et al.*, 1980 ; Janos, 1983 ; Högberg, 1986). L'ectotrophie prédominerait dans les sols riches en matière organique et l'endotrophie serait fréquente dans les sols pauvres (Allen *et al.*, 1995). Cette hypothèse repose sur l'aptitude des champignons ectomycorhiziens à utiliser des formes d'azote et de phosphore organiques inaccessibles aux champignons mycorhiziens à arbuscules (Abuzinadah et Read, 1986 ; Read et Perez-Moreno, 2003 ; Courty *et al.*, 2005). Elle n'est, cependant, pas toujours vérifiée car des champignons ectomycorhiziens sont parfois présents indifféremment dans des sols riches en azote minéral ou organique (Brearley *et al.*, 2005). En effet, les ECM ne diffèrent pas des MA par leur capacité à utiliser différentes sources d'azote organique ou minéral marqué au ^{15}N (Högberg et Alexander, 1995). Dans des forêts néotropicales de Guyana, les ECM ne participent pas directement à la décomposition de la matière organique, mais contribuent significativement à la régénération des semis de l'espèce dominante, *D. corymbosa*, probablement par le biais des réseaux ectomycorhiziens (Mayor et Henkel, 2005 ; McGuire, 2007). Dans des forêts du Sud-Est asiatique, les Dipterocarpaceae à ECM poussent sur des sols pourtant pauvres en matière organique. C'est aussi le cas des Caesalpinioideae africaines (ex. : *Brachystegia* spp.,

Julbernardia spp.) qui dominent en nombre d'individus, mais aussi en surface boisée dans les forêts claires du miombo en Afrique de l'Est (Backéus *et al.*, 2006). En Afrique de l'Ouest, *A. africana* se développe sur des sols pauvres en matière organique, alors que *U. guineensis* qui possède les deux types de symbiose mycorhizienne croît dans des sols hydromorphes riches en litière peu décomposée (Thoen et Bâ, 1989). De plus, la proportion des MA et des ECM sur des Caesalpinioideae est similaire dans différents horizons (organique, minéral, litière) d'un même sol (Moyersoen *et al.*, 1998). La dominance des ECM ne serait donc pas liée à la matière organique du sol des forêts tropicales (Moyersoen *et al.*, 2001). Une autre hypothèse suggère que les Caesalpinioideae auraient un avantage comparatif grâce à une production massive de grosses graines riches en réserves qui faciliteraient l'établissement des plantules en sous-bois (Alexander et Lee, 2005). En plus des réseaux ectomycorhiziens que les plantules établissent avec les adultes, les réserves cotylédonnaires leur confèreraient une aptitude à régénérer en sous-bois où la lumière et les ressources nutritives seraient limitantes pour des espèces à petites graines (Torti *et al.*, 2001 ; Green et Newbery, 2001 ; Mayor et Henkel, 2005 ; McGuire, 2007). C'est le cas notamment de la Caesalpinioideae, *Gilbertiodendron dewevrei*, endémique dans le bassin du Congo. En Afrique centrale, cet arbre à ECM constitue des groupements floristiques homogènes souvent dominants dans les forêts ombrophiles sempervirentes (Schnell, 1986). Il constitue des peuplements monospécifiques qui peuvent occuper localement jusqu'à 90 % de la strate arborescente sur des centaines d'hectares du massif forestier congolais (Hart *et al.*, 1989 ; Hart, 1995). Les forêts à *G. dewevrei* sont entourées de plusieurs types de forêts mixtes comportant des espèces d'arbres et de grands arbustes à MA. *G. dewevrei*, communément appelé « ekobem » au Cameroun, est un arbre qui peut atteindre 30 à 40 m de hauteur. Il a un tempérament d'essence d'ombre, produisant des graines lourdes, ne pouvant régénérer que dans la pénombre des forêts denses et humides. *G. dewevrei* constitue à lui seul des forêts de très grande surface dans la région congolaise centrale et qui s'étend dans l'est du Gabon et dans le sud-est du Cameroun sur de grandes distances en suivant les vallées (Aubréville, 1957). Les déterminants de la monospécificité des peuplements à *G. dewevrei* sont encore peu connus (Hart, 1995 ; Gross *et al.*, 2000 ; Haug *et al.*, 2004). Plusieurs hypothèses ont été proposées pour expliquer la monospécificité des peuplements purs à *G. dewevrei*. Les cimes de cet arbre sont densément feuillues et le sous-bois est sombre. La régénération à partir des graines, en dépit de la faible luminosité, est plus abondante que les rejets de souches. L'environnement de sous-bois (ex. : faible luminosité, litière foliaire épaisse, carence des sols en azote et phosphore minéral) limiterait la concurrence des espèces végétales héliophiles et exigeantes

en nutriments (Torti *et al.*, 2001). *G. dewevrei* possède aussi des graines lourdes (4 à 5 cm de diamètre, 18 à 26 g en poids sec) qui, du fait de ses réserves, s'enracinerait plus facilement à travers la litière épaisse (5 à 13 cm) que les arbres à petites graines. De plus, en période de fructification intense, la production massive des graines lourdes couvrirait les besoins des prédateurs tout en maintenant une abondante régénération (Blacke et Fay, 1997 ; Hart, 1995). On peut concevoir, en effet, que *G. dewevrei*, à graines lourdes, à régénération abondante, peu exigeantes en nutriments, se développant dans des sous-bois sombres, puisse s'établir et limiter la concurrence des essences héliophiles. Dans la pénombre du sous-bois, les plantules de *G. dewevrei* sont colonisées par des champignons ectomycorhiziens (Torti et Coley, 1999). Elles se nourriraient d'abord de leurs cotylédons qui persistent jusqu'à 4 semaines. Une fois ces derniers épuisés de leurs réserves, les plantules deviendraient alors tributaires des nutriments du sol, donc des ECM pour leur croissance. Pour s'alimenter en nutriments, les plantules, grâce aux ECM, pourraient avoir accès aussi bien aux formes d'azote, de carbone et de phosphore organiques que minérales (Courty *et al.*, 2005). Toutefois, Mayor et Henkel (2005) ont montré que les ECM de *Dicymbe Corymbosa*, une autre Caesalpinioideae monospécifique dans les Guyanes, ne mobiliseraient pas les formes organiques des éléments issus de la litière. On peut donc émettre l'hypothèse que les plantules de *G. dewevrei*, pour avoir accès au carbone dans la pénombre des forêts, se connecteraient aux réseaux ectomycorhiziens des arbres mères. Cette hypothèse reste à vérifier.

6. DIVERSITE DES CHAMPIGNONS ECTOMYCORHIZIENS ET DES ECTOMYCORHIZES

D'après des données de la littérature (Buyck *et al.*, 1996), la découverte des premiers champignons potentiellement ectomycorhiziens en Afrique tropicale date des travaux de Hennings (1895). Il existe deux flores de référence sur les champignons d'Afrique tropicale : la *Flore illustrée des champignons d'Afrique centrale* (17 fascicules) qui fait suite à la *Flore iconographique des champignons du Congo* (17 fascicules). Les travaux de Beeli (1935) sur les amanites, de Heinemann (1954, 1959, 1966) sur les bolets, les chanterelles et les tricholomes, de Corner et Heinemann (1967) sur les *Thelephora* et les clavaires, de Heim (1955) sur les lactaires, de Dissing et Lange (1963, 1964) sur les sclérodermes et de Buyck (1993) sur les russules, sont à la base des deux flores fongiques. La plupart des champignons ectomycorhiziens ont été récoltés au voisinage de *Gilbertiodendron* spp., *Brachystegia* spp. et *Julbernardia* spp. (Buyck, 1993). Les ECM ont été décrites un peu plus

tard sur *Gilbertiodendron dewevrei* et *Gnetum africanum* (Fassi, 1957 ; Peyronel et Fassi, 1957). C'est d'ailleurs sur *G. africanum*, espèce lianescente d'un grand intérêt alimentaire, qu'un lien formel a été établi pour la première fois en Afrique tropicale entre des ECM jaune vif et un champignon ectomycorhizien, *Scleroderma* sp. (Fassi, 1957).

Les champignons d'Afrique de l'Ouest ont fait l'objet de beaucoup moins d'attention que ceux d'Afrique centrale même si quelques relevés mycologiques étaient disponibles (Heim, 1955). Il n'existe pas de flore ouest-africaine équivalente à celle des champignons d'Afrique centrale. Depuis 1985, des inventaires mycologiques ont été effectués au voisinage des arbres à ECM dans des forêts du Sénégal, de Guinée et du Burkina Faso (Bâ, 1986 ; Thoen et Bâ, 1987, 1989 ; Thoen et Ducouso, 1989a, b ; Sanon *et al.*, 1997 ; Bâ *et al.*, 2000 ; Rivière *et al.*, 2007 ; Sanon *et al.*, 2009 ; Diédhiou *et al.*, 2010).

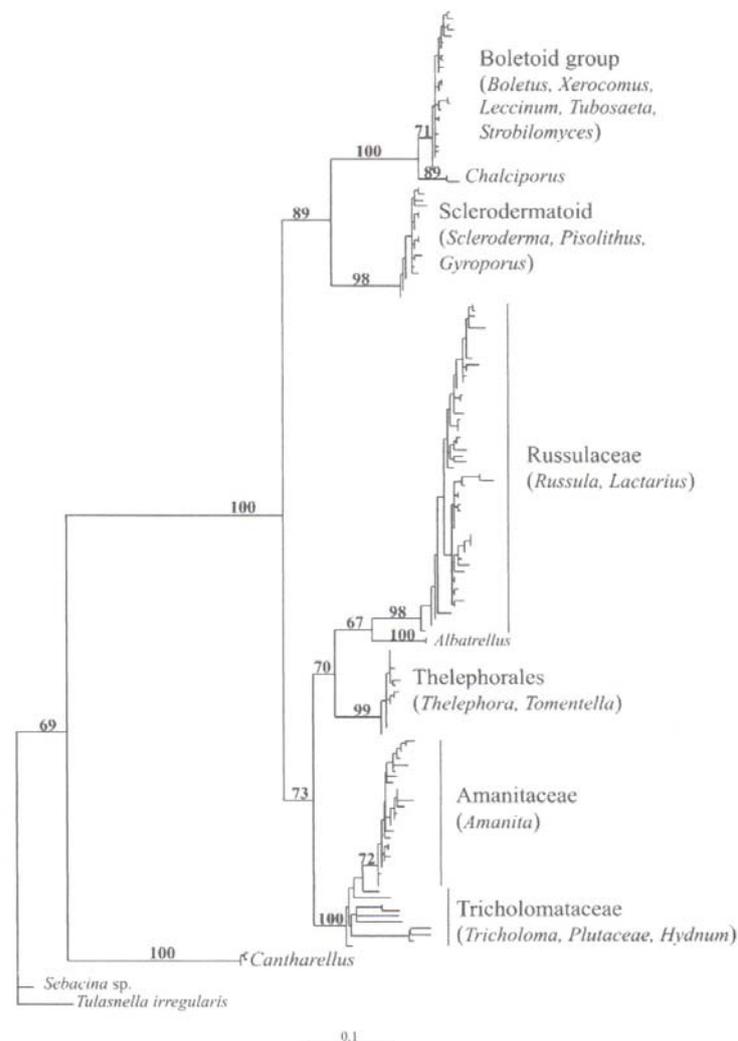
6.1. DIVERSITE DES CHAMPIGNONS ECTOMYCORHIZIENS

Les champignons ectomycorhiziens sont relativement bien connus dans les forêts tempérées et boréales (Smith et Read, 2008). Par contre, on dispose de beaucoup moins d'informations sur les champignons ectomycorhiziens en Afrique tropicale.

En Afrique de l'Ouest, des genres ont été recherchés (ex. : *Russula*, *Lactarius*, *Amanita*, *Boletus*, *Cantharellus*, *Scleroderma*), en particulier ceux qui sont connus pour être ectomycorhiziens en région tempérée et dans d'autres régions tropicales (Trappe, 1962 ; Watling et Lee, 1995 ; Yokota *et al.*, 1996). Il est apparu que le nombre de champignons récoltés était tout à fait remarquable en Afrique de l'Ouest. Nous avons identifié 158 sporophores appartenant à des champignons différents et fructifiant au voisinage des 17 plantes hôtes inventoriées (tabl. 3 et 4). Les sporophores appartiennent à 8 ordres et à 24 genres. La majorité des sporophores a été récoltée en Guinée forestière. La description morphologique des champignons de Guinée forestière est en accord avec les résultats de l'analyse phylogénétique de la région ML5/ML6 de la grande sous-unité de l'ADN mitochondrial (fig. 2). L'arbre phylogénétique comporte six clades (Cortinariales et Hymenochaetales ne sont pas représentés) dans lesquels se trouvent les sporophores décrits macroscopiquement. Les genres les plus représentés sont les *Russula* (33 espèces), *Amanita* (29 espèces) et *Lactarius* (19 espèces). Ces trois genres représentent à eux seuls plus de la moitié des espèces récoltées sous les arbres ectotrophes. Le genre *Russula* comporte le plus

grand nombre d'espèces décrites en Afrique de l'Ouest et certaines d'entre elles ont été également décrites en Afrique de l'Est et du Centre (Buyck *et al.*, 1996). De plus, les russules africaines sont différentes des russules européennes. En considérant le nombre d'espèces décrites en Afrique et les caractères primitifs d'un grand nombre d'entre elles, Buyck (1993) suggère que les russules seraient d'origine africaine.

Fig. 2. Arbre phylogénétique de maximum de vraisemblance des séquences mitochondriales ML5/ML6 des champignons récoltés en Guinée forestière. Les bootstraps supérieurs à 50 % sont représentés (Source : Rivière *et al.*, 2007).



Les champignons récoltés sont généralement épigés, mais il en existe aussi qui sont hypogés comme ceux qui ont été signalés pour la première fois en Afrique tropicale (Thoen et Bâ,

1987, 1989 ; Sanon *et al.*, 1997). Il s'agit des genres *Austrogautiera* et *Elasmomyces* fructifiant uniquement sous *U. guineensis*, alors que le genre *Sclerogaster* est commun aux Caesalpinioideae, Dipterocarpaceae et Phyllanthaceae. Cinq espèces de champignons hypogés ont été récoltées au total, ce qui laisse penser qu'ils sont sans doute mieux représentés en Afrique tropicale qu'on ne l'admettait auparavant (Thoen et Ducouso, 1989a). Cependant, de nombreux champignons restent encore indéterminés en raison du peu d'ouvrages en mycologie sur les champignons ouest-africains. La plupart des champignons constituent sans doute de nouvelles espèces et nécessitent de nouvelles récoltes afin de compléter les descriptions. Trois nouvelles espèces ont été formellement identifiées en Guinée forestière (Bâ *et al.*, 2000 ; Rivière *et al.*, 2007). Il s'agit de *Russula* sect. nov. *Archaeina* sp. (C53), *Russula* sp. nov. aff. *Sesenagula* (C366) et *Lactarius* sect. *Plinthogali* sp. nov. (C13).

Tableau 3. Liste des sporophores et des ectomycorhizes récoltés au Burkina Faso, en Guinée et au Sénégal.

Ordre, Espèce	N° Herb.	N° acc. des séq. ML5/ML6	BF	GF	GFD	SE
Amanitales						
<i>Amanita annulatovaginata</i> Beeli	C72	AM117709	-	+	-	-
<i>A. cf. annulatovaginata</i> Beeli	C7659	-	-	-	+	-
<i>A. baccata</i> (Fr.) Gillet	C7956	-	-	-	+	-
<i>A. crassiconus</i> Bas	C7976	-	-	-	+	+
<i>A. cf. crassiconus</i> Bas	C7664	-	+	-	-	-
<i>A. cf. fulvopulverulenta</i> Beeli	C7957	-	-	-	+	-
<i>A. aff. griseofloccosa</i>	C19	-	-	+	-	-
<i>A. hemibapha</i> (Berk. & Br.) Sacc.	CIR25, C7658	-	+	-	-	+
<i>A. cf. lanosa</i> Bas	C49	AM117686	-	+	-	-
<i>A. cf. lanosula</i> Bas	C7905	-	-	-	+	-
<i>A. aff. rubescens</i> (Pers : Fr.) S. Gray	C7487, C112	-	-	+	-	+
<i>Amanita</i> sp. 1	CIR67	-	+	-	-	-
<i>Amanita</i> sp. 2	CIR26	-	+	-	-	-
<i>Amanita</i> sp. 3	C601 =	AM117697	-	+	-	-

		E19					
<i>Amanita</i> sp. 4	C342	AM117668	-	+	-	-	
<i>Amanita</i> sp. 5	C294	AM117651	-	+	-	-	
<i>Amanita</i> sp. 6	C314	AM117657	-	+	-	-	
<i>Amanita</i> sp. 7	C322	AM117659	-	+	-	-	
<i>Amanita</i> sp. 8	C352	AM117669	-	+	-	-	
<i>Amanita</i> sp. 9	C378	AM117682	-	+	-	-	
<i>Amanita</i> sp. 10	C288	AM117647	-	+	-	-	
<i>Amanita</i> sp. 11	C315	AM117658	-	+	-	-	
<i>Amanita</i> sp. 12	C291	AM117648	-	+	-	-	
<i>Amanita</i> sp. 13	C173	AM117636	-	+	-	-	
<i>Amanita</i> sp. 14	C7907	-	-	-	+	-	
<i>Amanita</i> sp. 15	C7897	-	-	-	+	-	
<i>Amanita</i> sp. 16	C7644	-	-	-	-	+	
<i>Amanita</i> sp. 17	C7648	-	-	-	-	+	
<i>Amanita</i> sp. 18	C7672	-	-	-	-	+	
<i>Amanita</i> sp. 19	C7674	-	-	-	-	+	
Boletales							
<i>Austrogautiera</i> sp.*	CIR29,	-	+	-	-	+	
	C7700						
<i>Boletellus</i> cf. <i>lepidospora</i> Gilb.	C7989	-	-	-	+	-	
<i>Boletellus</i> sp. 1	CIR19	-	+	-	-	-	
<i>Boletellus</i> sp. 2	CIR48	-	+	-	-	-	
<i>Boletellus</i> sp. 3	CIR52	-	+	-	-	-	
<i>Boletellus</i> sp. 4	CIR53	-	+	-	-	-	
<i>Boletellus</i> sp. 5	CIR65	-	+	-	-	-	
<i>Boletellus</i> sp. 6	C7518	-	-	-	-	+	
<i>Boletus</i> sp. 1	C39	AM117683	-	+	-	-	
<i>Boletus</i> sp. 2	C364	AM117675	-	+	-	-	
<i>Boletus</i> sp.	C661	AM117701	-	+	-	-	
<i>Boletus</i> sp. 3	C510	AM117689	-	+	-	-	
<i>Boletus</i> sp. 4	C332	AM117635	-	+	-	-	
<i>Boletus</i> sp. 5	C170	AM117625	-	+	-	-	
Champignon bolétoïde	E160	AM117622	-	+	-	-	
Champignon bolétoïde	E2	AM117627	-	+	-	-	

Champignon bolétoïde	E319	AM117628	-	+	-	-
<i>Chalciporus</i> sp.	C365	AM117676	-	+	-	-
<i>Gyrodon cupreus</i> Heinem	C7460	-	-	-	-	+
<i>G. intermedius</i> (Pat.) Sing.	C7579	-	-	-	-	+
<i>Gyroporus microsporus</i> (Sing.) & Grinl.) Heinem. & Rammeloo var. <i>congolensis</i> (Heinem.) Heinem. & Rammeloo	C7613	-	-	-	-	+
<i>Leccinum</i> sp. 1	C573 = E223	AM117726	-	+	-	-
<i>Leccinum</i> sp. 2	C32 = E32	AM117665	-	+	-	-
<i>Leccinum</i> sp. 3	C570	AM117693	-	+	-	-
<i>Leccinum</i> sp. 4	C59	AM117696	-	+	-	-
<i>Leccinum</i> sp. 5	C7990	-	-	-	+	-
<i>Mucilopilus</i> sp.	C7964	-	-	-	+	-
<i>Porphyrellus niger</i> Heinem. & Gooss	C7875	-	-	-	-	+
<i>Porphyrellus</i> sp.	C7969	-	-	-	+	-
<i>Pulveroboletus</i> aff. <i>Tritinensis</i> Heinem.	C7461	-	-	-	-	+
<i>P. ravenelii</i> (Berk. & Curt.) Murr.	C7977	-	-	-	+	-
<i>Scleroderma dictyosporum</i> Pat.	CIR215, C7906, C7510	AJ509787	+	-	+	+
<i>S. verrucosum</i> Pers.	CIR501, C7921, C7508	AJ509788	+	-	+	+
<i>Scleroderma</i> sp. 1	CIR406	-	+	-	-	-
<i>Scleroderma</i> sp. 2	CIR100	-	+	-	-	-
<i>Scleroderma</i> sp. 3	C156 = E119	AM117611	-	+	-	-
<i>Scleroderma</i> sp. 4	C157 = E17	AM117612	-	+	-	-
<i>Scleroderma</i> sp. 5	C302	AM117653	-	+	-	-
<i>Scleroderma</i> sp. 6	C22	AM117643	-	+	-	-

	= E22						
<i>Scleroderma</i> sp. 7	C109	AM117605	-	+	-	-	
<i>Scleroderma</i> sp. 8	C296	AM117634	-	+	-	-	
Sclerodermataceae	E9	AM117633	-	+	-	-	
Sclerodermataceae	E124	AM117723	-	+	-	-	
Sclerodermataceae	E137	AM117618	-	+	-	-	
Sclerodermataceae	Eb1	AJ509791	-	-	-	+	
Sclerodermataceae	Ea3	AJ509803	-	-	-	+	
Sclerodermataceae	Ea1	AJ509799	-	-	-	+	
Sclerodermataceae	Eb2	AJ509793	-	-	-	+	
<i>Sclerogaster</i> sp. 1 *	CIR34	-	+	-	-	-	
<i>Sclerogaster</i> sp. 2 *	C7958	-	-	-	+	-	
<i>Sclerogaster</i> sp. 3 *	C7660	-	-	-	-	+	
<i>Strobilomyces costatispora</i> (Beeli) Gilb.	C7506	-	-	-	-	+	
<i>S.</i> aff. <i>echinatus</i>	C61	-	-	+	-	-	
<i>S. luteolus</i> Heinem.	C7892	-	-	-	+	-	
<i>Strobilomyces</i> sp. 1	CIR40	-	+	-	-	-	
<i>Strobilomyces</i> sp. 2	C363	AM117674	-	+	-	-	
	= E53						
<i>Strobilomyces</i> sp. 3	C7896	-	-	-	+	-	
<i>Tubosaeta brunneosetosa</i> (Sing.) † Horak	CIR17a,	AM117614	+	+	+	+	
<i>Tylophilus</i> cf. <i>tenuis</i> Heinem.	C7893, C7462, C7891	-	-	-	+	-	
<i>Tylophilus</i> sp.	C7908	-	-	-	+	-	
<i>Xerocomus</i> aff. <i>hypoxanthus</i> Singer	C24, C7491	-	-	+	-	-	
<i>X. spinulosus</i> Heinem. & Goos.	C7514	-	-	-	-	+	
<i>X. subspinulosus</i> Heinem.	CIR66, C7489, C7965	-	+	-	+	+	
<i>X.</i> aff. <i>subspinulosus</i> Heinem.	C40	-	-	+	-	+	
<i>Xerocomus</i> sp. 1	C358	AM117672	-	+	-	-	
<i>Xerocomus</i> sp. 2	C7895	-	-	-	+	-	

<i>Xerocomus</i> sp. 3	C7974		-	-	-	+	-
Cantharellales							
<i>Cantharellus congolensis</i> Beeli	C7879		-	-	-	-	+
<i>C. pseudofriesii</i> Heinem.	CIR28, C7962, C7654		-	+	-	+	+
<i>C. rufopunctatus</i> (Beeli) Heinem.	C7971		-	-	-	+	-
Cortinariales							
<i>Inocybe</i> sp. 1	CIR10		-	+	-	-	-
<i>Inocybe</i> sp. 2	CIR11		-	+	-	-	-
<i>Inocybe</i> sp. 3	C7961		-	-	-	+	-
<i>Inocybe</i> sp. 4	C7978		-	-	-	+	-
<i>Inocybe</i> sp. 5	C7657		-	-	-	-	+
<i>Inocybe</i> sp. 6	C7561		-	-	-	-	+
Champignon cortinarioïde	Ea2	AJ509800		-	-	-	+
Champignon cortinarioïde	Ec4	AJ509797		-	-	-	+
Hymenochaetales							
<i>Coltricia cinnamomea</i> (Pers.) Murr.	C7859		-	+	+	+	+
Russulales							
<i>Elasmomyces</i> sp.*	C7652		-	-	-	-	+
<i>Lactarius annulatoangustifolius</i>	C360	AM117673		-	+	-	-
<i>L. cf. brunnescens</i>	C63	AM117699		-	+	-	-
<i>L. cf. caperatus</i> Heim & Goos.	C8065			-	-	+	-
<i>Lactarius gymnocarpus</i> Heinem.	CIR23, C842, C7966, C7605	AM117717		+	+	+	+
<i>L. goossensiae</i>	C320			-	-	+	-
<i>L. hispidus</i>	C151			-	-	+	-
<i>L. melanogalus</i>	C350			-	-	+	-
<i>L. pelliculatus</i>	C62			-	-	+	-
<i>L. sect. Plinthogali</i> sp. nov.	C13	AM117608		-	+	-	-

	= E13						
<i>L. aff. pulchrispermus</i>	C158	AM117613	-	+	-	-	
<i>L. ruvubuensis</i>	C305	AM117654	-	+	-	+	
<i>L. zenkeri</i> P. Henn.	C7618	-	-	-	-	+	
<i>Lactarius</i> sp. 1	CIR64	-	+	-	-	-	
<i>Lactarius</i> sp. 2	CIR68	-	+	-	-	-	
<i>Lactarius</i> sp. 3	C194	AM117640	-	+	-	-	
<i>Lactarius</i> sp. 4	C703	AM117706	-	+	-	-	
	= E25						
<i>Lactarius</i> sp. 5	C7968	-	-	-	+	-	
<i>Lactarius</i> sp. 6	C7662	-	-	-	-	+	
<i>Lactarius</i> sp. 7	C7606	-	-	-	-	+	
<i>Russula annulata</i> Heinem.	CIR46	-	+	-	-	-	
<i>R. aff. annulata</i> Heinem.	C189	AM117639	-	+	-	-	
<i>R. cellulata</i>	C373	AM117681	-	+	-	-	
<i>R. congoana</i>	C14 =	AM117609	-	+	-	-	
	E20						
<i>R. discopus</i>	C293	AM117650	-	+	-	-	
<i>R. liberiensis</i>	C183	AM117638	-	+	-	-	
<i>R. meleagris</i>	C292	AM117648	-	+	-	-	
<i>R. parasitica</i>	C2	AM117652	-	+	-	-	
<i>R. aff. parasitica</i>	C728	AM117708	-	+	-	-	
<i>R. aff. pruinata</i>	C312	AM117708	-	+	-	-	
<i>R. cf. radicans</i>	C51	AM117690	-	+	-	-	
<i>Russula</i> sect. nov. <i>Archaeina</i> sp.	C53	AM117691	-	+	-	-	
<i>Russula</i> sp. nov. aff. <i>sesenagula</i>	C366	AM117677	-	+	-	-	
<i>Russula</i> sp. 1	CIR14	-	+	-	-	-	
<i>Russula</i> sp. 2	CIR62	-	+	-	-	-	
<i>Russula</i> sp. 3	C597	AM117695	-	+	-	-	
<i>Russula</i> sp. 4	C357	AM117671	-	+	-	-	
<i>Russula</i> sp. 5	C11	AM117606	-	+	-	-	
<i>Russula</i> sp. 6	C621	AM117698	-	+	-	-	
<i>Russula</i> sp. 7	C372	AM117680	-	+	-	-	
<i>Russula</i> sp. 8	C7 =	AM117713	-	+	-	-	
	E121						
<i>Russula</i> sp. 9	C353	AM117670	-	+	-	-	

<i>Russula</i> sp. 10	C6	AM117704	-	+	-	-
<i>Russula</i> sp. 11	C334 = E334	AM117667	-	+	-	-
<i>Russula</i> sp. 12	C7988	-	-	-	+	-
<i>Russula</i> sp. 13	C7970	-	-	-	+	-
<i>Russula</i> sp. 14	C7519	-	-	-	-	+
<i>Russula</i> sp. 15	C7581	-	-	-	-	+
<i>Russula</i> sp. 16	C7633	-	-	-	-	+
<i>Russula</i> sp. 17	C7509	-	-	-	-	+
<i>Russula</i> sp. 18	C7507	-	-	-	-	+
<i>Russula</i> sp. 19	C7580	-	-	-	-	+
<i>Russula</i> sp. 20	C7670	-	-	-	-	+
Champignon russuloïde	E18	AM117623	-	+	-	-

Thelephorales

Champignon thélephoroïde	E21	AM117624	-	+	-	-
Champignon thélephoroïde	E42	AM117629	-	+	-	-
Champignon thélephoroïde	E01	AM117722	-	+	-	-
Champignon thélephoroïde	E128	AM117615	-	+	-	-
Champignon thélephoroïde	E51	AM117630	-	+	-	-
Champignon thélephoroïde	E138	AM117618	-	+	-	-
Champignon thélephoroïde	E130	AM117616	-	+	-	-
Champignon thélephoroïde	E139	AM117620	-	+	-	-
Champignon thélephoroïde	E134	AM117617	-	+	-	-
Champignon thélephoroïde	E148	AM117621	-	+	-	-
Champignon thélephoroïde	E55	AM117631	-	+	-	-
Champignon thélephoroïde	E82	AM117632	-	+	-	-
<i>Tomentella/Thelephora</i>	C30	AM117655	-	+	-	-
Champignon thélephoroïde	Ec3	AJ509796	-	-	-	+
Champignon thélephoroïde	Exm	AJ509789	-	-	-	+
Champignon thélephoroïde	Eb5	AJ509790	-	-	-	+
Champignon thélephoroïde	Ec5	AJ509798	-	-	-	+
Champignon thélephoroïde	Eb4	AJ509794	-	-	-	+
Champignon thélephoroïde	Ea5	AJ509802	-	-	-	+
Champignon thélephoroïde	Eb3	AJ509792	-	-	-	+
Champignon thélephoroïde	Ec2	AJ509795	-	-	-	+

Champignon théléphoroïde	Ea4	AJ509801	-	-	-	+
Tricholomatales						
<i>Tricholoma</i> sp. 1	C331	AM117666	-	+	-	-
<i>Tricholoma</i> sp. 2	C327	AM117662	-	+	-	-
<i>Tricholoma</i> sp. 3	C572	AM117694	-	+	-	-
Champignon tricholomatoïde	C324a	AM117661	-	+	-	-
Champignon tricholomatoïde	C369	AM117678	-	+	-	-
Champignon tricholomatoïde	C323	AM117660	-	+	-	-
Champignon tricholomatoïde	C328	AM117663	-	+	-	-
Total = 193 taxons			27	100	33	58

(+) Présence ; (-) absence. BF = Burkina Faso ; GF = Guinée forestière ; GDF = Guinée Fouta-Djalon ; SE = Sénégal. C = sporophore ; E = ectomycorhize ; (*) Champignons hypogés. (Source : Thoen et Bâ, 1989 ; Thoen et Ducouso, 1989a ; Sanon *et al.*, 1997 ; Bâ *et al.*, 2000 ; Diédhiou *et al.*, 2004 ; Rivière *et al.*, 2007).

Tableau 4. Diversité des sporophores associés aux arbres natifs d’Afrique de l’Ouest (Burkina Faso, Guinée et Sénégal).

Basidiomycète			
Ordre	Famille	Genre	Espèce
Amanitales	Amanitaceae	<i>Amanita</i>	29
Boletales	Boletaceae	<i>Austrogautiera</i>	1
		<i>Boletellus</i>	7
		<i>Boletus</i>	6
		<i>Chalciporus</i>	1
		<i>Gyrodon</i>	2
		<i>Gyroporus</i>	1

		<i>Leccinum</i>	5
		<i>Mucilopilus</i>	1
		<i>Porphyrellus</i>	2
		<i>Pulveroboletus</i>	2
		<i>Scleroderma</i>	11
		<i>Sclerogaster</i>	3
		<i>Strobilomyces</i>	6
		<i>Tubosaeta</i>	1
		<i>Tylopilus</i>	2
		<i>Xerocomus</i>	7
Cantharellales	Cantharellaceae	<i>Cantharellus</i>	3
Cortinariales	Inocybaceae	<i>Inocybe</i>	6
Hymenochaetales	Hymenochetaceae	<i>Coltricia</i>	1
Russulales	Russulaceae	<i>Russula</i>	33
		<i>Lactarius</i>	19
		<i>Elasmomyces</i>	1
Thelephorales	Thelephoraceae	<i>Thelephora/Tomentella</i>	1
Tricholomatales	Tricholomataceae	<i>Tricholoma</i>	7
		Total	158

(Source : Thoen et Bâ, 1989 ; Thoen et Ducouso, 1989a ; Sanon *et al.*, 1997 ; Bâ *et al.*, 2000 ; Rivière *et al.*, 2007 ; Sanon *et al.*, 2009)

Les communautés de champignons ectomycorhiziens ont d'abord été décrites et étudiées sur la base d'inventaires de sporophores dans les régions tempérées et tropicales (Molina *et al.*, 1992 ; Thoen et Bâ, 1989 ; Sanon *et al.*, 1997 ; Sanon *et al.*, 2009). L'avantage de cette approche réside dans la simplicité d'échantillonnage sans trop perturber le milieu et dans l'identification de l'espèce fongique à partir de la description des sporophores. Elle a, cependant, l'inconvénient de nécessiter plusieurs récoltes dans l'année et d'une année à une autre pour prendre en compte les champignons qui ne fructifient pas régulièrement. Par exemple, en Afrique de l'Ouest, des champignons comme les sclérodermes fructifient pendant toute la saison des pluies alors que *C. cinnamomea* fructifie uniquement en fin de saison des pluies (Thoen et Bâ, 1989 ; Sanon *et al.*, 1997). Il existe donc une phénologie dans la fructification de certains champignons sous un climat caractérisé par une saison des pluies très courte et une irrégularité des précipitations dans le temps et dans l'espace. Une bonne connaissance de la dynamique d'apparition des sporophores devrait permettre d'améliorer les conditions de récolte des sporophores dont l'intégrité est nécessaire pour l'identification et l'isolement. La production de sporophores est un processus encore mal compris qui dépend du cumul des précipitations et de l'âge des peuplements forestiers (Fleming, 1985 ; Lilleskov et Bruns, 2003). L'abondance en espèces fongiques récoltées dans les différents sites serait à relier avec le type forestier (ex. : forêt sempervirente), le nombre d'arbres à ectomycorhizes et le climat (ex. : cumul et répartition des précipitations, durée de la saison des pluies). La Guinée forestière est, en effet, plus riche en espèces fongiques que tous les autres sites forestiers. Il faut tout de même rester prudent dans l'interprétation des relevés mycologiques, car les surfaces prospectées et le nombre de jours passés sur le terrain sont différents selon les sites. À cet égard, il est à noter que le nombre d'espèces récoltées dans le Fouta-Djalon est probablement sous-estimé, car les récoltes ont été réalisées pendant une dizaine de jours (Thoen et Ducouso, 1989a).

Les champignons récoltés fructifient exclusivement sous les arbres à ECM (Thoen et Bâ 1987, 1989 ; Thoen et Ducouso, 1989a ; Sanon *et al.*, 1997 ; Bâ *et al.*, 2000 ; Rivière *et al.*, 2007). On peut donc considérer comme probable le caractère ectomycorhizien de ces champignons. On a également observé des variations dans le spectre d'hôtes des champignons ectomycorhiziens (tabl. 5). Par exemple, *R. annulata* présente un spectre d'hôtes très large alors que *X. hypoxanthus* a un spectre limité à *U. guineensis*. Entre ces deux situations extrêmes existent des niveaux intermédiaires de spécificité.

Tableau 5. Champignons communs aux arbres ectotrophes du Burkina Faso, de Guinée et du Sénégal.

Espèces fongiques	Plantes hôtes	Pays
<i>Amanita crassiconus</i> Bas	<i>Aa, Uc</i>	GFD, SE
<i>Amanita hemibapha</i> (Berk. & Br.) Sacc.	<i>Aa, Ida, Ido, Us</i>	BF, SE
<i>Cantharellus pseudofriesii</i> Heinem.	<i>Aa, Ac, Ida, Ido, Mk, Ug, Us</i>	BF, GFD, SE
<i>Coltricia cinnamomea</i> (Pers.) Murr.	<i>Aa, Am, Ct, Ida, Ido, Ug, U sp.</i>	BF, GF, SE
<i>Lactarius gymnocarpus</i> Heim	<i>Aa, Ac, Ida, Ido, Mk, Ug, Uh, Us</i>	BF, GF, GFD, SE
<i>Russula annulata</i> Heim	<i>Ab, Af, Am, Ct, Gl, Pc, Uc, Ue, Ug, Uh</i>	BF, GF, GFD, SE
<i>Russula discopus</i> Heim	<i>Ug, Uh</i>	GF, GFD, SE
<i>Scleroderma dictyosporum</i> Pat.	<i>Aa, Abr, Ac, Ida, Ido, Mk, Ug, Us</i>	BF, GFD, SE
<i>Scleroderma verrucosum</i> Pers.	<i>Aa, Abr, Ac, Ida, Ido, Mk, Ug, Us</i>	BF, GFD, SE
<i>Tubosaeta brunneosetosa</i> (Sing.) Horak	<i>Aa, Ida, Ido, Gl, Pc, Uh, Ug</i>	BF, GF, GFD, SE
<i>Xerocomus hypoxanthus</i> Singer	<i>Ug</i>	GF, SE
<i>Xerocomus subspinulosus</i> Heinem.	<i>Aa, Ac, Ida, Ido, Ug</i>	BF, GFD, SE

BF = Burkina Faso ; GF = Guinée forestière ; GFD = Guinée, Fouta-Djalon ; SE = Sénégal ;
Aa = *Afzelia africana* ; *Ab* = *Afzelia bella* ; *Abr* = *Afzelia bracteata* ; *Ac* = *Anthonotha crassifolia* ; *Af* = *Anthonotha fragans* ; *Am* = *Anthonotha macrophylla* ; *Ct* = *Crysptosepalum tetraphyllum* ; *Gl* = *Gilbertiodendron limba* ; *Ida* = *Isoberlinia dalziellii* ; *Ido* = *Isoberlinia doka* ; *Mk* = *Monotes kerstingii* ; *Pc* = *Paramacrolobium coeruleum* ; *Uc* = *Uapaca chevalieri* ; *Ue* = *Uapaca esculenta* ; *Ug* = *Uapaca guineensis* ; *Uh* = *Uapaca heudelottii* ; *Us* = *Uapaca somon* ; *U sp.* = *Uapaca sp.*

(Source : Thoen et Bâ, 1989 ; Thoen et Ducouso, 1989a ; Sanon *et al.*, 1997 ; Bâ *et al.*, 2000 ; Rivière *et al.*, 2007)

Des observations de terrain ont permis d'établir dans certains cas un lien formel entre le pied des sporophores et les ECM sous-jacentes grâce en particulier à la couleur du mycélium (Thoen et Bâ, 1989). Citons, par exemple, les ECM jaune vif de *U. guineensis* et le champignon hypogé *Austrogautiera* sp. L'observation a été facilitée par la proximité des sporophores hypogés avec les ECM dans la motte de terre prélevée sous *U. guineensis* en forêt marécageuse. Par contre, il n'a pas été possible d'établir des connexions similaires entre des sporophores épigés et des ECM d'*A. africana* dont les racines sont situées plus en profondeur (Thoen et Bâ, 1989 ; Sanon *et al.*, 1997 ; Sanon *et al.*, 2009). Des tests macrochimiques sur le mycélium peuvent aussi constituer un outil pour relier les ECM et les

sporophores. Par exemple, des ECM et des sporophores de *S. dictyosporum* bleussent spécifiquement sous l'action de l'acide sulfurique à 95 % (Bâ, 1990). L'odeur caractéristique des sclérodermes est la même que celle des ECM mais, dans ce cas, on ne peut pas distinguer les différentes espèces de sclérodermes. Cette approche de terrain est certes importante, mais souvent subjective et empirique pour confirmer le statut symbiotique des champignons. Elle est à compléter soit par des synthèses mycorhiziennes, soit par l'utilisation d'outils moléculaires pour relier les sporophores aux ECM. Des synthèses mycorhiziennes ont, en effet, permis de confirmer le statut symbiotique de certains champignons. Cependant, la majorité des champignons (ex. : russules, lactaires, amanites), pour n'en citer que quelques-uns, n'est pas cultivable. De plus, certains champignons comme les Thelephoraceae fructifient peu ou pas. Par conséquent, une étude des communautés de champignons ectomycorhiziens est incomplète si elle est basée uniquement sur la description des sporophores.

La plupart des champignons récoltés en Afrique de l'Ouest présentent une grande distribution en Afrique tropicale (tabl. 6). Par exemple, *S. dictyosporum* et *S. verrucosum* sont répertoriés dans toutes les régions phytogéographiques et dans tous les types forestiers, quel que soit le niveau des précipitations. Ils ont aussi une distribution pantropicale dans des forêts tropicales d'Asie du Sud-Est (Watling, 1993 ; Watling et Lee, 1995 ; Yokota *et al.*, 1996 ; Sims *et al.*, 1999 ; Sanon *et al.*, 2009). Des familles de champignons ectomycorhiziens des régions tempérées sont, par contre, moins représentées en Afrique tropicale. C'est le cas des Tricholomatales représentés par le genre *Tricholoma* et des Cortinariales par les genres *Inocybe* et *Cortinarius* (Thoen et Bâ, 1989 ; Onguene, 2000 ; Rivière *et al.*, 2007). Les deux ordres seraient adaptés aux climats froids (Buyck *et al.*, 1996).

Tableau 6. Distribution africaine, habitats et plantes hôtes de quelques champignons ectomycorhiziens récoltés au Burkina Faso, en Guinée et au Sénégal.

Espèces fongiques	Types forestiers, plantes hôtes	Pays
<i>Amanita annulatovaginata</i> Beeli	Forêt sempervirente ?	Cameroun
<i>Amanita crassiconus</i> Bas	Forêt sempervirente, forêt claire ?	Nigeria
<i>Amanita rubescens</i> (Pers. : Fr.) S. F. Gray	Forêt sempervirente ?	Cameroun
<i>Cantharellus congolensis</i> Beeli	Forêt sempervirente, <i>Macrolobium</i> sp.	RDC, Cameroun
<i>Cantharellus rufopunctatus</i> (Beeli) Heinem.	Forêt sempervirente, <i>Gilbertiodendron dewevrei</i>	RDC
<i>Cantharellus pseudofriesii</i> Heinem.	Forêt sempervirente, <i>Macrolobium</i> sp.	RDC

<i>Coltricia cinnamomea</i> (Pers.) Murr.	Forêt décidue ?	Burundi, Kenya, Sierra Leone, Afrique du Sud, Zambie
<i>Gyrodon cupreus</i> Heinem.	Forêt claire ?	Éthiopie, Kenya, Malawi, Ouganda
<i>Gyroporus microsporus</i> (Sing. & Grinl.) Heinem & Rammeloo var. <i>congolensis</i>	Forêt sempervirente, <i>Macrolobium</i> sp., Forêt claire, <i>Brachystegia</i> sp.	Burundi, Zambie, RDC, Cameroun
<i>Lactarius annulatoangustifolius</i> Beeli	Forêt sempervirente ?	Cameroun
<i>Lactarius pulchrispermus</i> Beeli	Forêt sempervirente ?	Cameroun
<i>Lactarius gymnocarpus</i> Heim	Forêt sempervirente, forêt claire ?	Cameroun, RDC, Tanzanie, Côte d'Ivoire
<i>Lactarius zenkeri</i> P. Henn.	Forêt sempervirente ?	Cameroun
<i>Porphyrellus niger</i> Heinem. & Goos.	Forêt sempervirente, <i>Macrolobium</i> sp.	RDC
<i>Russula annulata</i> Heim	Forêt sempervirente, forêt claire ?	Guinée, RDC, Tanzanie
<i>Russula discopus</i> Heim	Forêt sempervirente ?	Cameroun
<i>Russula liberiensis</i> Sing.	Forêt sempervirente ?	Cameroun, Liberia
<i>Russula pseudopurpurea</i> Buyck	Forêt sempervirente ?	Cameroun
<i>Scleroderma dictyosporum</i> Pat.	Forêt semi-décidue, forêt claire ?	Ghana, RDC
<i>Scleroderma verrucosum</i> Pers.	Forêt semi-décidue, forêt claire ?	Ghana, Sierra Leone, RDC, Cameroun, RCA, Afrique du Sud, Zimbabwe
<i>Strobilomyces costatispora</i> (Beeli) Gilb.	Forêt sempervirente, <i>Macrolobium</i> sp.	RDC
<i>Strobilomyces echinatus</i> Beeli	Forêt sempervirente ?	Cameroun
<i>Strobilomyces luteolus</i> Heinem.	Forêt sempervirente ?	RDC
<i>Tubosaete brunneosetosa</i> (Singer) Horak	Forêt sempervirente, forêt claire, <i>Paramacrolobium</i> sp., <i>Brachystegia</i> spp., <i>Marquesia</i> <i>macroua</i> , <i>Uapaca guineensis</i> , <i>Gilbertiodendron dewevrei</i>	Cameroun, Liberia
<i>Xerocomus spinulosus</i> Heinem. & Goos.	Forêt sempervirente ?	RDC
<i>Xerocomus subspinulosus</i> Heinem.	Forêt sempervirente ?	RDC, Tanzanie

(?) Plantes hôtes non signalées dans les pays de récolte ; RDC, République démocratique du Congo ; RCA, République centrafricaine.

(Source : Thoen et Bâ, 1989 ; Thoen et Ducouso, 1989a ; Buyck *et al.*, 1996 ; Bâ *et al.*, 2000 ; Onguene, 2000)

6.2. DIVERSITE DES ECTOMYCORHIZES

L'inventaire des ECM est une approche qui permet aussi d'accéder à la composition des communautés fongiques (Agerer, 1991). En Afrique tropicale, les premiers morphotypes ectomycorhiziens ont été décrits sur *Gilbertiodendron dewevrei* et *Gnetum africanum* dans des forêts sempervirentes de la République démocratique du Congo (Fassi, 1957, 1960). Plusieurs morphotypes ectomycorhiziens ont ensuite été décrits sur *Brachystegia laurentii*, *Afzelia bella*, *Anthonotha macrophylla*, *Paramacrolobium* spp. et *Julbernardia seretii* (Fassi et Fontana 1961, 1962). Jenik et Mensah (1967) ont décrit pour la première fois sur *Afzelia africana* deux morphotypes différenciés par la couleur du manteau fongique. Högberg et Nylund (1981) puis Alexander et Högberg (1986) ont également décrit plusieurs morphotypes sur des Caesalpinioideae et Dipterocarpaceae africaines. Les morphotypes ont été caractérisés par un manteau fongique relativement épais qui les différencie des ECM de zones tempérées. Ces auteurs suggèrent que l'importance du manteau fongique confère aux champignons une plus grande aptitude à stocker des nutriments et à protéger les racines contre la dessiccation en saison sèche. Des observations effectuées au Sénégal et en Guinée révèlent également une grande diversité de morphotypes sur *A. africana* et *Uapaca guineensis* (Thoen et Bâ, 1989 ; Thoen et Ducouso, 1989a). Une description anatomique de 23 morphotypes ectomycorhiziens sur *U. guineensis* et *A. africana* montre que le diamètre moyen des ECM et l'épaisseur du manteau fongique sont sensiblement identiques chez les deux arbres (tabl. 7). C'est pourquoi le pourcentage de surface occupée par le manteau fongique par rapport à la surface des ECM est comparable en moyenne chez les deux espèces. La profondeur de pénétration du réseau de Hartig est à peu près la même chez les deux arbres. Les cellules épidermiques forment ainsi une assise palissadique dont le contenu est riche en composés phénoliques notamment chez *U. guineensis* (Thoen et Bâ, 1989). La plupart des ECM possèdent des cordons mycéliens dont le rôle serait important dans le transfert de l'eau et des minéraux (Horton *et al.*, 1999 ; He *et al.*, 2004). La morphologie et la structure des ECM d'*A. africana* et de *U. guineensis* sont très proches de celles des ECM des régions tempérées (Garbaye *et al.*, 1986 ; Thoen et Bâ, 1989).

Basée uniquement sur des caractères morphologiques, l'identification des ECM reste très aléatoire d'autant que la couleur du manteau peut changer en fonction de l'âge de la plante hôte ou de l'environnement (Thoen et Bâ, 1989 ; Bâ *et al.*, 1991 ; Wurzbürger *et al.*, 2001). Pour identifier la composante fongique des ECM, on peut relier les profils RFLP de l'ITS des ECM à ceux des sporophores (fig. 3).

Figure 3. Profils RFLP communs des ITS de sporophores et d'ectomycorhizes digérés par les enzymes de restriction *Taq I* et *Hinf I* ; puits 1 et 6, *Russula* sect. *Archaeinae* sp. nov. C53 ; puits 2 et 7, ectomycorhizes E53 ; puits 3 et 8, *Lactarius* sect. *Plinthogali* sp. nov. C13 ; puits 4 et 9, ectomycorhizes E13 ; M = marqueur de poids moléculaire (Source : Bâ *et al.*, 2000).

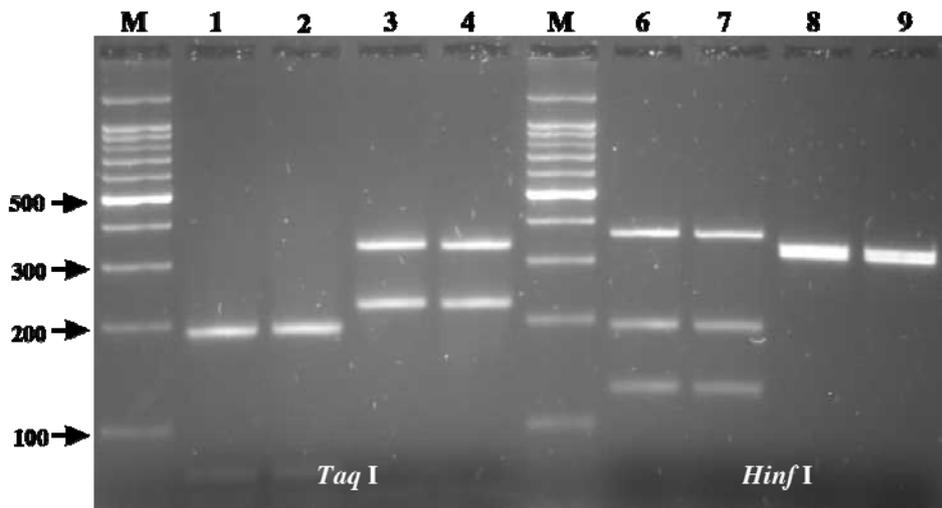


Tableau 7. Description des morphotypes ectomycorhiziens d'*Afzelia africana* et de *Uapaca guineensis*.

Ectomycorhizes	<i>A. africana</i> (n = 10)	<i>U. guineensis</i> (n = 13)
Diamètre des ectomycorhizes (m)	236-466	390-640
Moyenne (m)	328	488
Écart-type (m)	88	79
Coefficient de variation (%)	27	16
Épaisseur du manteau fongique (m)	14-85	18-80
Moyenne (m)	50	47
Écart-type (m)	24	16
Coefficient de variation (%)	48	34

Surface du manteau fongique (en % de la surface de l'ectomycorhize)	20-65	17-54
Moyenne (%)	50	35
Écart-type (%)	14	9
Coefficient de variation (%)	28	26
Profondeur du réseau de Hartig (m)	18-30	15-68
Diamètre de racines (m)	166-314	304-550
Moyenne (m)	226	393
Écart-type (m)	51	70
Coefficient de variation (%)	22	18
Nombre de couches de cellules corticales	2-3	4-5
Nombre de pôles de xylème	2	3-4

(Source : Thoen et Bâ, 1989)

Sur les 193 taxons identifiés en Afrique de l'Ouest, seulement 12 ont été communs aux ECM et sporophores (tabl. 3). La plupart des ECM ne formeraient pas de sporophores (cas des Thelephoraceae) et ces derniers (cas des Amanitaceae) en majorité ne seraient pas reliés aux ECM. Les Thelephoraceae sont les champignons les plus représentés parmi les ECM non reliées aux sporophores, ce qui signifie qu'ils fructifient peu ou pas. Nous avons d'ailleurs récolté jusqu'ici un seul sporophore de Thelephoraceae bien que des inventaires mycologiques réalisés au Bénin montrent qu'on peut trouver plusieurs espèces de sporophores de Thelephoraceae (*Tomentella furcata*, *T. capitata*, *T. africana* et *T. brunneocystidia*) au voisinage d'arbres potentiellement ectomycorhiziens (Yorou et Agerer, 2007 ; Yorou *et al.*, 2007 ; Yorou et Agerer, 2008). Les Thelephoraceae investiraient davantage dans la croissance végétative que dans la reproduction sexuée. Les Amanitaceae, les plus représentées parmi les sporophores, sont absentes sur les racines de la plante hôte à l'exception d'une espèce. Ces champignons investiraient plus dans la reproduction sexuée que dans la reproduction par voie végétative. Quoi qu'il en soit, la diversité des sporophores ne reflète pas la diversité des ECM dans des forêts tropicales humides et sèches d'Afrique. Ce résultat est en accord avec les études de diversité sur les communautés de champignons ectomycorhiziens dans les régions tempérées et dans des forêts du Sud-Est asiatiques (Gardes et Bruns, 1996 ; Peay *et al.*, 2009).

Outre les études de diversité, l'inventaire des ECM permet d'étudier la spécificité des taxons fongiques en vérifiant dans quelle mesure les arbres mères et plantules de différentes espèces peuvent partager un cortège ectomycorhizien commun et échanger des nutriments *via* des réseaux ectomycorhiziens dans un écosystème forestier. Dans cette optique, Diédhiou *et*

al. (2010) ont analysé la diversité des ECM de cinq arbres (*A. fragans*, *A. macrophylla*, *C. tetraphyllum*, *P. coeruleum* et *U. esculenta*) et de leurs plantules vivant en communauté dans une parcelle de 1 600 m² de la forêt humide de Ziama en Guinée forestière (fig. 4). L'objectif principal de cette étude visait à montrer que les arbres et leurs jeunes plantules partageaient le même cortège mycorhizien et échangeaient des nutriments (C et N). L'analyse de la région ITS de l'ADNr nucléaire de 293 ECM a permis de distinguer 39 taxons appartenant à sept groupes fongiques (tabl. 8 et 9). Sur ces 39 taxons, 19 sont des champignons à hôtes multiples (champignons dits généralistes), identifiés au moins sur deux espèces de plantes, 9 sont des champignons à hôte simple (champignons dits spécialistes au moins deux fois), et 11 sont des singletons (champignons dits spécialistes rencontrés une seule fois). Les champignons à hôtes multiples sont plus abondants (89 %) que les champignons à hôte simple (7 %) et les singletons (4 %) réunis (fig. 5). Parmi les champignons à hôtes multiples, le taxon Russulaceae #16 représente à lui seul 47 % des ECM analysées alors que les autres espèces fongiques ne dépassent guère 7 %. De plus, ce champignon et d'autres à hôtes multiples sont répertoriés au moins sur 3 espèces d'arbres et leurs jeunes plants vivant dans le même voisinage, ce qui suggère que ces derniers établiraient des réseaux ectomycorhiziens entre les différentes espèces d'arbres et leurs jeunes plants. Cependant, on ne peut pas exclure l'existence de plusieurs genets chez ces champignons. L'utilisation de marqueurs moléculaires intraspécifiques, comme les microsatellites plus discriminants que le séquençage de l'ITS, devrait le confirmer. Par ailleurs, l'abondance de certains champignons ne reflète pas leur statut d'hôte simple ou multiple. Basidiomycota #3, par exemple, est peu abondant (2 %), alors qu'il colonise toutes les espèces de plantes hôtes. En considérant les champignons de tous les groupes confondus et pour chaque espèce de plante hôte, les analyses de raréfaction révèlent que les jeunes plants ont une diversité plus grande que les arbres, sauf pour *Uapaca esculenta* (fig. 6 et 7). L'analyse factorielle des correspondances montre que les Boletaceae, Clavulinacea et Thelephoraceae tendent à s'associer de préférence avec *A. fragans*, alors que les Russulaceae ne montrent pas de préférence (fig. 8). En considérant uniquement les champignons à hôtes multiples et en combinant les 5 espèces de plantes, il apparaît que les jeunes plants ont une plus grande diversité de champignons comparés aux arbres. Par contre, si on considère uniquement les champignons à hôte simple, les arbres présentent une plus grande diversité de champignons que les jeunes plants. On pourrait donc considérer la forêt de Ziama comme une « nursery » où les jeunes plants auraient tendance à favoriser leurs associations avec des champignons à hôtes multiples de manière à profiter du plus grand nombre d'espèces d'arbres. Les arbres à

leur tour favoriseraient plus les champignons à hôte simple, afin de supporter un nombre raisonnable de jeunes plants. Cela suggère également une spécialisation des plantes avec l'âge : champignons généralistes au stade de jeune plant et champignons spécialistes au stade arbre. L'existence de réseaux ectomycorhiziens suggère également des transferts potentiels de C et de N des arbres vers des jeunes plants dans la pénombre des forêts. Or cette hypothèse n'a pas été vérifiée dans le cadre de cette étude. En effet, l'absence de différence entre delta ^{13}C et ^{15}N des arbres et jeunes plants suggère l'absence de transfert de C et N *via* les réseaux ectomycorhiziens. Néanmoins, ces résultats doivent être interprétés avec prudence, car la variabilité des signatures isotopiques est si forte que les éventuels faibles flux de nutriments n'auraient pas été détectés.

Tableau 8. Nombre de racines échantillonnées, d'ectomycorhizes (ECM) analysées, et de séquences ITS obtenues des arbres (a) et des jeunes plants (p) des cinq espèces d'arbres (*Anthonotha fragrans*, *A. macrophylla*, *Cryptosepalum tetraphyllum*, *Paramacrolobium coeruleum*, et *Uapaca esculenta*).

	<i>A. fragrans</i>		<i>A. macrophylla</i>		<i>C. tetraphyllum</i>		<i>P. coeruleum</i>		<i>U. esculenta</i>	
	a	p	a	p	a	p	a	p	a	p
Nombre d'individus échantillonnés	1	24	3	37	2	33	3	30	3	24
Nombre de racines prélevées	30	34	30	37	30	46	30	41	30	32
Nombre d'ECM analysées	34	36	31	39	33	49	32	43	30	35
Nombre d'ECM séquencées	32	30	21	27	22	40	26	38	25	32
Nombre de séquences ITS obtenues	32	31	22	28	22	41	26	41	28	32
Nombre de taxons identifiés	8	10	8	10	6	13	7	15	11	8

Nombre de taxons après raréfaction à 22 7,4 8,7 8,0 8,4 6,0 9,0 6,6 10,1 9,4 6,9

(Source : Diédhiou *et al.*, 2010)

Figure 4. Positions des cinq espèces d'arbres (carré) et de leurs jeunes plants (cercle) ; *A. macrophylla* (jaune), *U. esculenta* (vert), *A. fragans* (gris), *P. coeruleum* (bleu), *C. tetraphyllum* (rouge), et sur 16 parcelles de 100 m² (A à P) dans la forêt de Ziama en Guinée forestière. Les carrés barrés représentent les arbres sur lesquels les ectomycorhizes ont été échantillonnées. La distribution spatiale des ectomycorhizes a été analysée seulement dans 4 de ces parcelles (B, G, L et O) (Source : Diédhiou *et al.*, 2010).

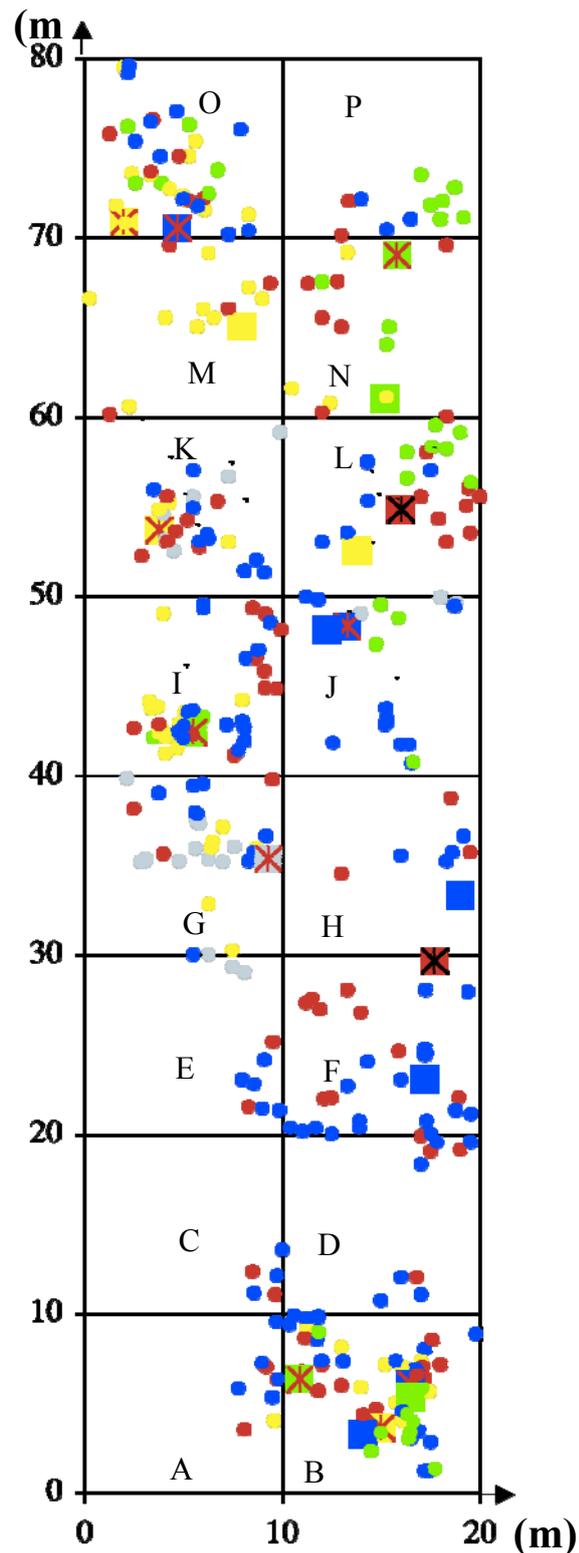


Tableau 9. Taxons fongiques identifiés des ectomycorhizes prélevées dans la forêt de Ziama en Guinée forestière. Le résultat du BLAST indique le taxon le plus proche du champignon dont la séquence d'ADN a été analysée.

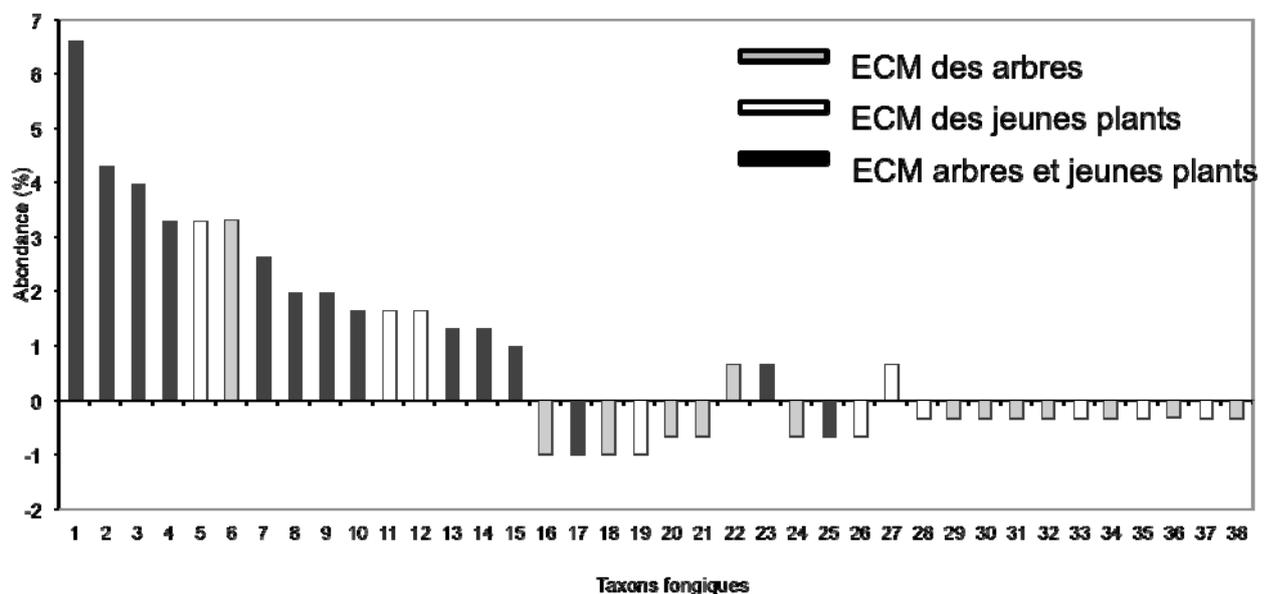
Taxon	N° d'accession dans Genbank	Résultat du BLAST dans Genbank	Plantes hôtes	Arbres	Jeunes plants
Basidiomycota #1	AM113461	Basidiomycota	<i>Am, Ct</i>	+	+
Basidiomycota #2	AM113462	Basidiomycota	<i>Ue</i>	+	-
Basidiomycota #3	AM113463	Basidiomycota	<i>Af, Am, Ct, Pc, Ue</i>	+	+
Boletaceae #1	AM113453	<i>Xerocomus</i>	<i>Af, Am, Pc, Ue</i>	+	+
Boletaceae #2	AM113454	Boletaceae	<i>Af, Pc</i>	+	+
Boletaceae #3	AM113455	<i>Leccinum</i>	<i>Af</i>	+	-
Clavulinaceae #1	AM113459	<i>Clavulina</i>	<i>Af, Ct</i>	-	+
Clavulinaceae #2	AM113460	Clavulinaceae	<i>Af</i>	-	+
Russulaceae #1	AM113427	<i>Russula</i>	<i>Am, Ct, Pc, Ue</i>	+	+
Russulaceae #2	AM113428	<i>Russulales</i>	<i>Af, Pc</i>	+	-
Russulaceae #3	AM113429	<i>Russula</i>	<i>Ct</i>	+	-
Russulaceae #4	AM113430	<i>Russula</i>	<i>Am, Pc</i>	-	+
Russulaceae #5	AM113431	Russulales	<i>Am, Ct, Pc</i>	+	+
Russulaceae #6	AM113432	Russulales	<i>Ue</i>	+	-
Russulaceae #7	AM113433	<i>Russula</i>	<i>Pc</i>	+	-

Russulaceae #8	AM113434	Russulales	<i>Ct</i>	+	+
Russulaceae #9	AM113435	Russulales	<i>Ue</i>	+	-
Russulaceae #10	AM113436	<i>Lactarius</i>	<i>Ue</i>	+	-
Russulaceae #11	AM113437	Russulales	<i>Pc</i>	+	+
Russulaceae #12	AM113438	Russulales	<i>Ue</i>	+	-
Russulaceae #13	AM113439	Russulales	<i>Pc, Ue</i>	+	+
Russulaceae #14	AM113440	Russulales	<i>Ue</i>	-	+
Russulaceae #15	AM113441	<i>Lactarius</i>	<i>Af, Am, Ct,</i> <i>Pc, Ue</i>	-	+
Russulaceae #16	AM113442	Russulales	<i>Af, Am, Ct,</i> <i>Pc, Ue</i>	+	+
Sclerodermataceae #1	AM113464	<i>Scleroderma</i>	<i>Am, Ct,</i> <i>Ue</i>	-	+
Sclerodermataceae #2	AM113465	<i>Scleroderma</i>	<i>Af, Am, Ct,</i> <i>Pc, Ue</i>	+	+
Thelephoraceae #1	AM113443	<i>Tomentella</i>	<i>Af</i>	+	-
Thelephoraceae #2	AM113444	<i>Tomentella</i>	<i>Am, Pc</i>	-	+
Thelephoraceae #3	AM113445	Thelephoraceae	<i>Ct, Pc</i>	+	+
Thelephoraceae #4	AM113446	Thelephoraceae	<i>Ct</i>	-	+
Thelephoraceae #5	AM113447	<i>Tomentella</i>	<i>Ct</i>	+	-
Thelephoraceae #6	AM113448	Thelephoraceae	<i>Af, Am, Ct,</i> <i>Pc, Ue</i>	+	+
Thelephoraceae #7	AM113449	Thelephoraceae	<i>Af</i>	-	+
Thelephoraceae #8	AM113450	Thelephoraceae	<i>Af, Am</i>	+	-

Thelephoraceae #9	AM113451	<i>Tomentella</i>	<i>Pc</i>	-	+
Thelephoraceae #10	AM113452	<i>Thelephora</i>	<i>Af, Am, Ct, Pc, Ue</i>	+	+
Tricholomataceae #1	AM113456	Tricholomataceae	<i>Ue</i>	+	-
Tricholomataceae #2	AM113457	<i>Tricholoma</i>	<i>Pc</i>	-	+
Tricholomataceae #3	AM113458	<i>Mycena</i>	<i>Am</i>	+	-

(+) Présence ; (-) absence ; *Anthonotha fragrans* (*Af*), *Anthonotha macrophylla* (*Am*), *Cryptosepalum tetraphyllum* (*Ct*), *Paramacrolobium coeruleum* (*Pc*), et *Uapaca esculenta* (*Ue*). (Source : Diédhiou *et al.*, 2010)

Figure 5. Abondance des taxons fongiques à hôtes multiples (valeurs au-dessus de zéro), des taxons fongiques à hôte simple et des singletons (valeurs en dessous de zéro) sur les arbres et les jeunes plants seuls ou en commun. Pour des raisons de commodité, le taxon le plus abondant, Russulaceae #16 (47 %), n'est pas représenté. (Source : Diédhiou *et al.*, 2010)



1, Théléphoroïde #6 ; 2, Théléphoroïde #10 ; 3, Sclérodermatoïde #2 ; 4, Russuloïde #1 ; 5, Russuloïde #15 ; 6, Théléphoroïde #8 ; 7, Bolétoïde #1 ; 8, Bolétoïde #2 ; 9, Théléphoroïde #3 ; 10, Basidiomycota #3 ; 11, Cantharelloïde #1 ; 12, Sclérodermatoïde #1 ; 13, Russuloïde #5 ; 14, Russuloïde #13 ; 15, Basidiomycota #1 ; 16, Russuloïde #3 ; 17, Russuloïde #8 ; 18, Théléphoroïde #1 ; 19, Théléphoroïde #9 ; 20, Basidiomycota #2 ; 21, Bolétoïde #3 ; 22, Russuloïde #2 ; 23, Russuloïde #4 ; 24, Russuloïde #7 ; 25, Russuloïde #11 ; 26, Russuloïde #14 ; 27, Théléphoroïde #2 ; 28, Cantharelloïde #2 ; 29, Russuloïde #6 ;

30, Russuloïde #9 ; 31, Russuloïde #10 ; 32, Russuloïde #12 ; 33, Théléphoroïde #4 ; 34, Théléphoroïde #5 ; 35, Théléphoroïde #7 ; 36, Trichlolomatoïde #1 ; 37, Trichlolomatoïde #2 ; 38, Trichlolomatoïde #3.

Figure 6. Courbes d'accumulation des taxons fongiques et leurs intervalles de confiance à 95 % (pointillé) des ectomycorhizes prélevées des arbres. (Source : Diédhiou *et al.*, 2010)

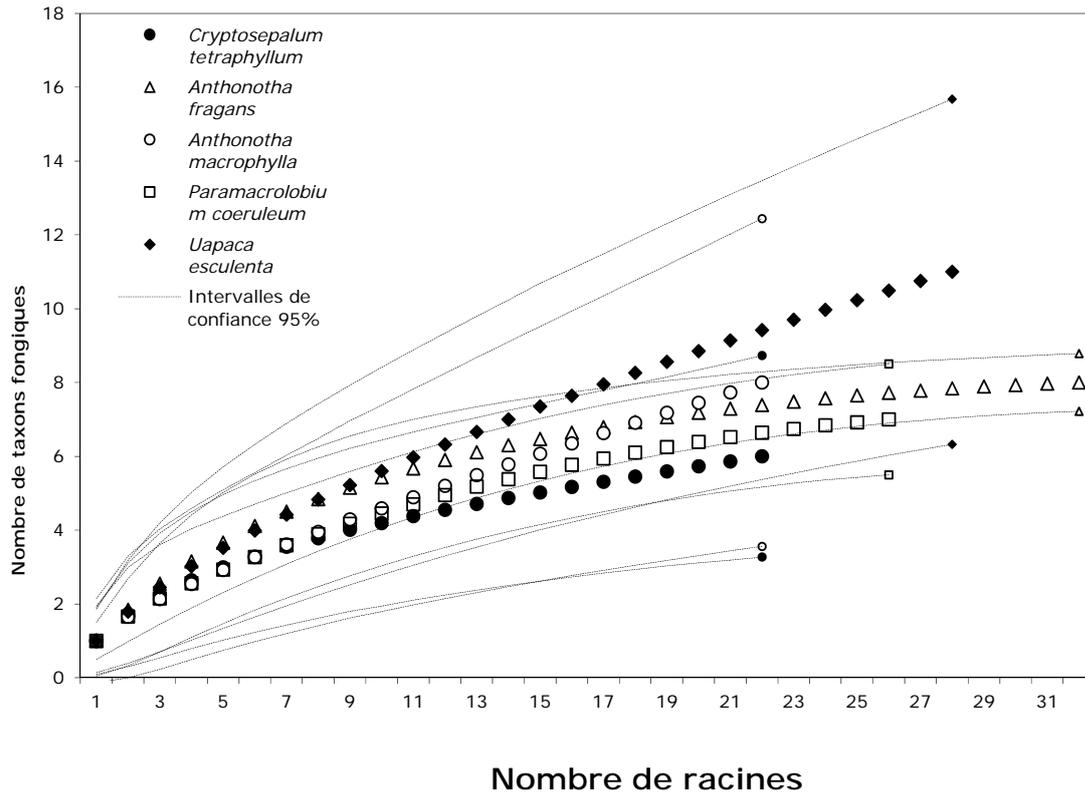


Figure 7. Courbes d'accumulation des taxons fongiques et leurs intervalles de confiance à 95 % (pointillé) des ectomycorhizes prélevées des jeunes plants. (Source : Diédhiou *et al.*, 2010)

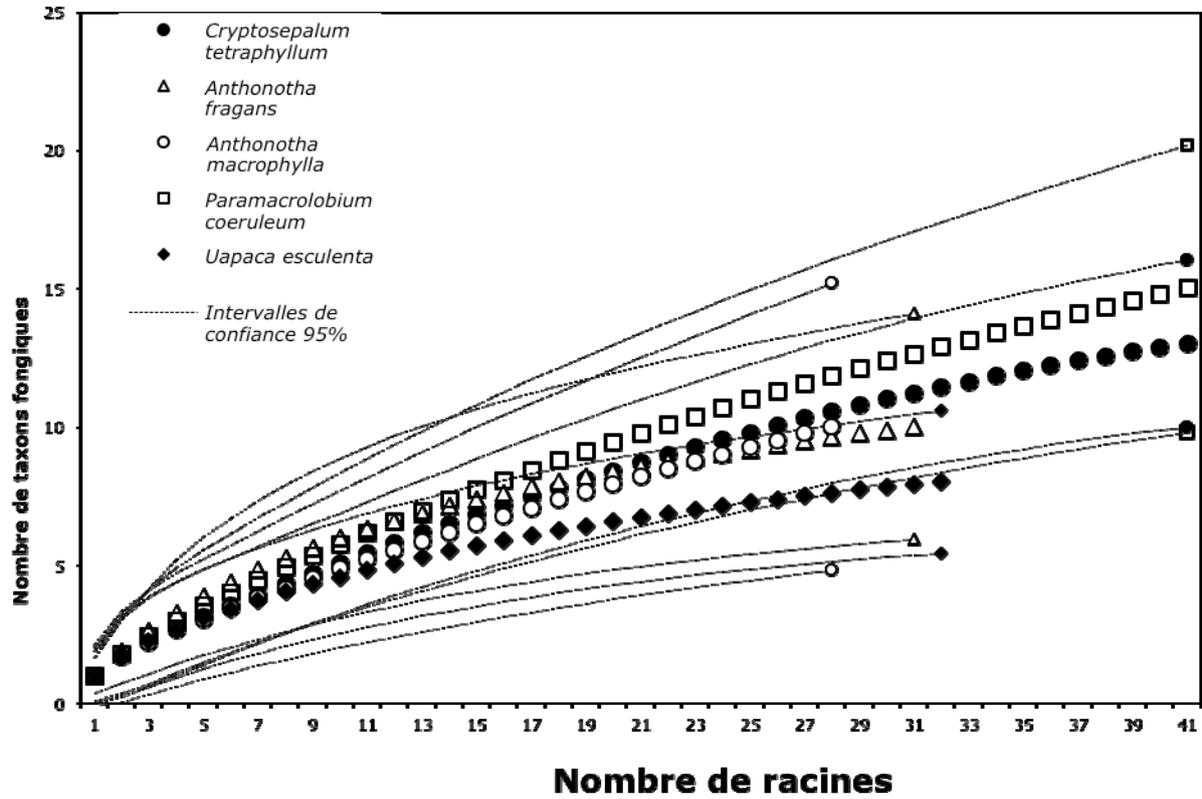
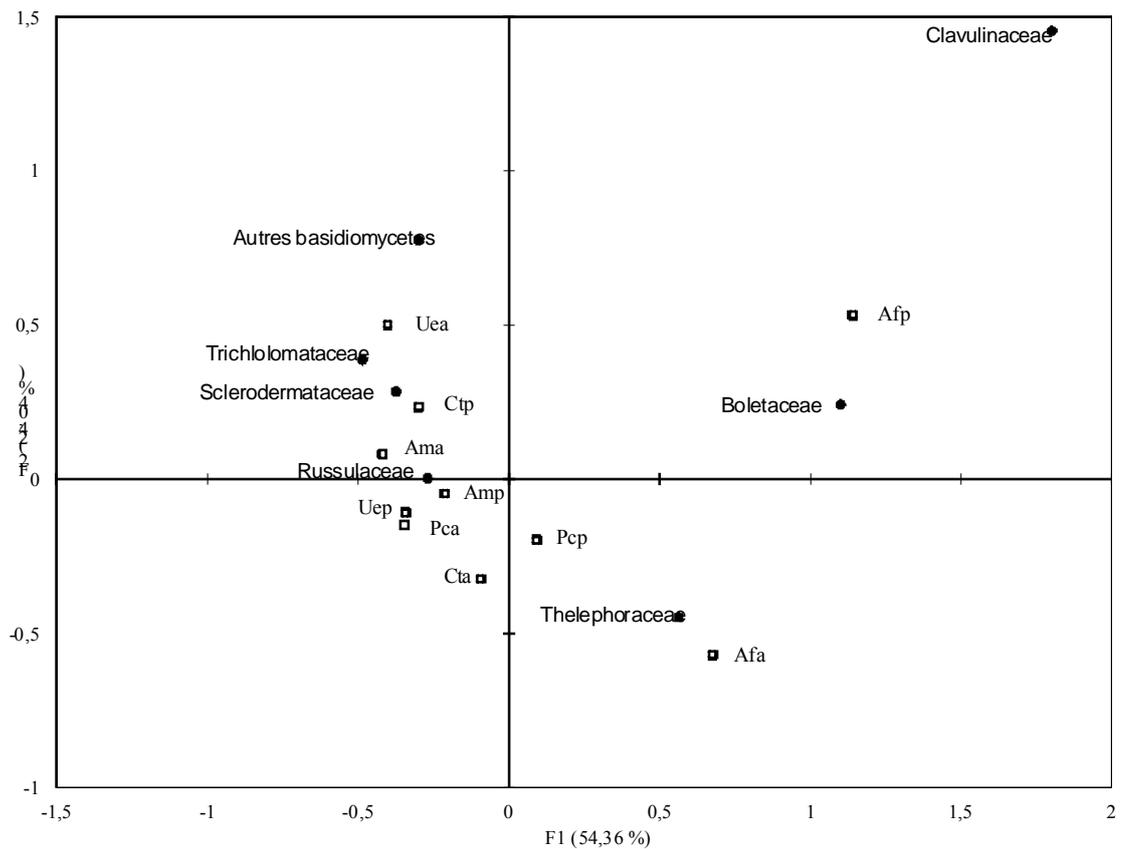


Figure 8. Analyse factorielle des correspondances entre les taxons fongiques (cercle plein), les adultes et jeunes plants (carré) des 5 plantes hôtes ; les axes F1 et F2 représentent respectivement 54,4 % et 24 % de la variabilité. Afa, *A. fragans* adulte ; Afp, *A. fragans* jeune plant ; Ama, *A. macrophylla* adulte ; Amp, *A. macrophylla* jeune plant ; Cta, *C. tetraphyllum* adulte ; Ctp, *C. tetraphyllum* jeune plant ; Pca, *P. coeruleum* adulte ; Pcp, *P. coeruleum* jeune plant ; Uea, *U. esculenta* adulte ; Uep, *U. esculenta* jeune plant. (Source : Diédhiou *et al.*, 2010)



7. CONCLUSION

Nous avons révélé une richesse et une diversité de champignons ectomycorhiziens et d'ECM tout à fait exceptionnelles et jusqu'ici insoupçonnées au voisinage de plus de six essences forestières à ECM en mélange dans des forêts d'Afrique de l'Ouest. Il est difficile de trouver plus de diversité végétale à ECM en zone tempérée. De nombreux champignons sont encore indéterminés et pourraient être de nouvelles espèces. Contrairement à une opinion très

répandue, la richesse spécifique et la diversité des communautés de champignons ectomycorhiziens en Afrique de l'Ouest sont comparables à celles des forêts tempérées. Comme dans les forêts tempérées, les sporophores sont de mauvais marqueurs de la diversité réelle des ECM. Encore, comme dans les forêts tempérées, les groupes dominants des champignons ectomycorhiziens sont les mêmes, avec par exemple une prépondérance des Russulaceae et Thelephoraceae dans les forêts tropicales sèches et humides d'Afrique de l'Ouest. Les fréquences d'occurrence des champignons à hôtes multiples sur les différents arbres et leurs jeunes plants suggèrent des connexions entre générations *via* des réseaux ectomycorhiziens. Ces derniers pourraient jouer un rôle important non seulement comme source d'inoculum pour les jeunes plants en régénération naturelle, mais aussi dans les transferts de nutriments des arbres vers les plantules dans la pénombre de la forêt.

8. REFERENCES

- Abuzinadah, R.A. & Read, D.J. (1986). The role of proteins in the nitrogen nutrition of ectomycorrhizal plants. I. Utilization of peptides and proteins by ectomycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 103 : 481-493.
- Agerer, R. (1991). « Characterization of ectomycorrhizae ». In Norris J. R., Read D. J., Varma A. K. (eds.) : *Methods in Microbiology Techniques for the Study of Mycorrhiza*, London, Academic Press : 25-73.
- Alexander, I.J. & Högborg, P. (1986). Ectomycorrhizas of tropical angiosperm trees. *New Phytologist*, 102 : 541-549.
- Alexander, I.J. (1987). Ectomycorrhizas in indigenous lowland tropical forest and woodland. In: Sylvia, D.M., Hung, I.L., Graham, J.H. (eds): *Mycorrhizae in the last Decade*, NACOM 7, IFAS, Univ. of Florida, Gainesville, May 3-8: 15.
- Alexander, I. J. & Lee, S.S. (2005). « Mycorrhizas and ecosystem processes in tropical rain forest: implications for diversity ». In Burslem D. F. R. P., Pinard M. A., Hartley S. E. (eds.) : *Biotic interactions in the Tropics: their role in the maintenance of species diversity*, UK, Cambridge University Press : 165-203.
- Allen, E.B. & Allen M.F. (1981). *The Leguminosae. A source of Book of Characteristics, Uses and Nodulation*. London, Basingstoke, Macmillan.

- Allen, E.B., Allen, M.F., Helm, D.J., Trappe, J.-M., Molina, R. & Rincon E. (1995).
Patterns and regulation of mycorrhizal plant and fungal diversity. *Plant and Soil*, 170: 47-62.
- Aubréville, A. (1957). Échos du Congo belge. *Bois et Forêts des Tropiques*, 51 : 28-39.
- Bâ, A.M. (1986). « Premiers résultats sur l'infection ectomycorhizienne chez deux essences forestières du sud du Sénégal : *Afzelia africana* Sm. et *Uapaca guineensis* Mull. Arg. ». In : Les arbres fixateurs d'azote et l'amélioration biologique de la fertilité du sol, CRDI/NFTA/IFS/Orstom, Dakar 17-25 mars : 243-255.
- Bâ, A.M. (1990). Contribution à l'étude de la symbiose ectomycorhizienne chez deux essences forestières d'Afrique intertropicale : *Afzelia africana* et *Uapaca guineensis*. Thèse doct., Univ. Montpellier-II, 193 p.
- Bâ, A.M., Sougoufara, B. & Thoen, D. (1987). « The triple symbiosis of *Casuarina equisetifolia* in Senegal ». In Sylvia D. M., Hung L. L., Graham J. H. (eds.): *Mycorrhizae in the next decade*, USA, Gainesville, Univ. of Florida : 121.
- Bâ, A.M., Garbaye, J. & Dexheimer, J. (1991). Influence of fungal propagules during the early stage of the time sequence of ectomycorrhizal colonization on *Afzelia africana* Sm. seedlings. *Canadian Journal of Botany*, 66: 2442-2447.
- Bâ, A.M., Balaji, B. & Piché, Y. (1994). Effect of time inoculation on in vitro ectomycorrhizal colonization and nodule initiation in *Acacia holosericea* seedlings. *Mycorrhiza*, 4: 109-119.
- Bâ, A.M., Buyck, B., Deschères, P., Eyssartier, G., Ifolno, F.G., Ducouso, M., Wey, J., Giraud, E., Fontana, A., Diallo, M.A.K. & Dreyfus, B. (2000). Diversity and use of ectomycorrhizal fungi in Guinea tropical rain forest. In Garbaye J., Lugtenberg B., Sørensen J. (eds.) : *Selection strategies for plant-beneficial microorganisms*, Nancy, 3-5 avril.
- Bâ, A.M., Sanon, K.B. & Duponnois, R. (2002). Influence of ectomycorrhizal inoculation on *Afzelia quanzensis* Welw. seedlings in a nutrient-deficient soil. *Forest Ecology and Management*, 161: 215-219.

- Backéus, I., Pettersson, B., Strömquist, L. & Ruffo, C. (2006). Tree communities and structural dynamics in Miombo (*Brachystegia-Julbermadia*) woodland, Tanzania. *Forest Ecology and Management*, 230: 179-185.
- Beeli, M. (1935). Genres *Aminata* et *Volvaria*. *Flore Iconographique des Champignons du Congo*, 1 (17) : 5-45.
- Béreau, M., Gazel, M. & Garbaye, J. (1997). Les symbioses mycorhiziennes des arbres de la forêt tropicale humide de Guyane française. *Canadian Journal of Botany*, 75: 711-716.
- Blacke, S. & Fay, J.M. (1997). Seed production by *Gilbertiodendron dewevrei* in the Nouabalé-Ndoki National Park, Congo and its implications for large mammals. *Journal of Tropical Ecology*, 14: 885-891.
- Brearley, F.Q., Scholes, J.D. & See, L.S. (2005). Nitrogen nutrition and isotopic discrimination in tropical ectomycorrhizal fungi. *Research in Microbiology*, 156: 184-190.
- Buyck, B. (1993). *Russula* I (Russulaceae). *Flore illustrée des Champignons d'Afrique Centrale*, 15 : 335-408.
- Buyck, B., Thoen, D. & Walting, R. (1996). Ectomycorrhizal fungi of the Guinea-Congo region. *Proceedings of the Royal Society of Edinburg*, 104: 313-333.
- Chalermpongse, A. (1987). « Mycorrhizal survey of drydeciduous and semi-evergreen dipterocarp forest ecosystems in Thailand ». In Kostermans A. C. J. H. (ed.) : *Proceedings of the Third Round Table Conference on Dipterocarps, East Kalimantan, Mulawarman University*: 81-103.
- Corby, H.D.L. (1974). Systematic implications of nodulation among Rhodesian Legumes. *Kirkia*, 9: 301-329.
- Corner, E.J.H. & Heinemann, P. (1967). *Clavaires et Thelephora*. *Flore Iconographique des Champignons du Congo*: 309-322, pl. 50-51.
- Courty, P.E., Pritsch, K., Schloter, M., Hartmann, A. & Garbaye, J. (2005). Activity profiling of ectomycorrhiza communities in two forest soils using multiple enzymatic tests. *New Phytologist*, 174: 240-243.

- de Alwis, D.P. & Abeynayake, K. (1980). « A survey of mycorrhizae in some forest trees of Sri Lanka ». In Mikola P. (ed.) : Tropical Mycorrhiza Research, Oxford, Clarendon Press : 146-153.
- de Faria, S.M., Lewis, G.P., Sprent, J.I., Sutherland, J.M. (1989). Occurrence of nodulation in the Leguminosae. *New Phytologist*, 111: 607-619.
- Diédhiou, A.G., Verpillot, F., Guèye, O., Dreyfus, B., Duponnois, R. & Bâ, A.M. (2004). Do concentrations of glucose and fungal inoculum influence the competitiveness of two early-stage ectomycorrhizal fungi in *Azelia Africana* seedlings. *Forest Ecology and Management*, 203: 187-194.
- Diédhiou, A.G., Selosse, M.-A., Galiana, A., Diabaté, M., Dreyfus, B., Bâ, A.M., de Faria, S. M. & Béna, G. (2010). Multi-host ectomycorrhizal fungi are predominant in a Guinean tropical rainforest and shared between canopy trees and seedlings. *Environmental Microbiology* DOI : 10.1111/j.1462-2920.2010.02183.x.
- Dissing, H., Lange M. (1963). Gasteromycetales I. Flore Iconographique des Champignons du Congo : 215-232.
- Dissing H. & Lange, M. (1964). Gasteromycetales II. Flore Iconographique des Champignons du Congo : 233-252.
- Ducouso, M., Béna, G., Bourgeois, C., Buyck, B., Eyssartier, G., Vincelette, M., Rabevohitra, R., Randrihasipara, L., Dreyfus, B. & Prin, Y. (2004). The last common ancestor of Sarcolaenaceae and Asian dipterocarp trees was ectomycorrhizal before the India-Madagascar separation, about 88 million years. *Molecular Ecology*, 13: 231-236.
- Ducouso, M., Ramanankierana, H., Duponnois, R., Rabévohitra, R., Randrihasipara, Vincelette, M., Dreyfus, B. & Prin, Y. (2008). Mycorrhizal status of native trees and shrubs from eastern Madagascar littoral forests with special emphasis on one new ectomycorrhizal endemic family, the *Asteropeiaceae*. *New Phytologist*, 178: 233-238.
- FAO (2009). Situation des forêts du monde. Éditions FAO, 145 p.
- Fassi, B. (1957). Ectomycorhize chez le *Gnetum africanum* Welw. due à *Scleroderma* sp. *Bulletin de la Société Mycologique de France*, 73 : 280-285.

- Fassi, B. (1960). The distribution of ectotrophic mycorrhizae in the litter and upper soil layer of *Gilbertiodendron dewevrei* (Caesalpiaceae) forest in the Congo. In: Mycorrhizae, Internationales Mycorrhizas symposium, Ed. DEU : 297-302.
- Fassi, B. & Fontana, A. (1961). Micorrize ectotrofiche di *Julbernadia seretii*, Caesalpiaceae del Congo. *Allionia*, 7: 131-157.
- Fassi, B. & Fontana, A. (1962). Micorrize ectotrofiche di *Brachystegia laurentii* e di alcune altre di Caesalpiaceae minori del Congo. *Allionia*, 8: 121-131.
- Fleming, L.V. (1985). Experimental study of sequences of ectomycorrhizal fungi on birch (*Betula* sp.) seedling root systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 17: 591-600.
- Garbaye, J., Menez, J. & Wilhelm, M.E. (1986). Les mycorrhizes des jeunes chênes dans les pépinières et les régénérations naturelles du Nord-Est de la France. *Acta Oecologia*, 7: 87-96.
- Gardes, M. & Bruns, T.D. (1996). « ITS-RFLP matching for identification of fungi ». In Clapp J. P. (ed.) : *Methods in Molecular Biology, Species Diagnostics Protocols: Pcr and Other Nucleic Acid Methods*, New Jersey, Totowa, Humana Press Inc., 50 : 177-186.
- Green, J.J. & Newbery, D.M. (2001). Light and seed size affect establishment of grove-forming ectomycorrhizal rain forest tree species. *New Phytologist*, 151: 271-289.
- Gross, N.D., Torti, S.D., Feener, D.H. & Coley, P.D. (2000). Monodominance in an African rain forest: is reduced herbivory important? *Biotropica*, 32: 430-439.
- Hart, T.B. (1995). Seed, seedling and sub-canopy survival in monodominant and mixed forests of the Ituru forest, Africa. *Journal of Tropical Ecology*, 11: 443-459.
- Hart, T.B., Hart, J.A. & Murphy, P.G. (1989). Monodominant and species-rich forests of the humid tropics: causes for their co-occurrence. *American Naturalist*, 133: 613-633.
- Haug, I., Weiss, M., Homeier J., Oberwinkler F. & Kottke I. (2004). Russulaceae and Thelephoraceae form ectomycorrhizas with members of the Nyctaginaceae (Caryophyllales) in the tropical mountain rain forest of southern Ecuador. *New Phytologist*, 165: 923-936.

- He, X.H., Critchley, C., Ng, H. & Bledsoe, C. (2004). Reciprocal N (NH_4^+)- N^{15} or (NO_3^-)- N^{15} transfer between non N_2 -fixing *Eucalyptus maculata* and N_2 -fixing *Casuarina cunninghamiana* linked by the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus* sp. *New Phytologist*, 163: 629-640.
- Heim, R. (1955). Les Lactaires d'Afrique intertropicale (Congo belge et Afrique Noire française). *Bulletin du Jardin Botanique de l'État Bruxelles*, 25 : 1-91.
- Heinemann, P. (1954). Boletineae. *Flore iconographique des champignons du Congo*, 3 : 50-80, pl. 9-12.
- Heinemann, P. (1959). Cantharellineae. *Flore iconographique des champignons du Congo*, 8 : 153- 165, pl. 26-28.
- Heinemann P. (1966). Hygrophoraceae, Laccaria et Boletineae II (compléments). *Flore iconographique des champignons du Congo*, 15 : 279-308, pl. 47-49.
- Henkel, T.W., Terborgh, J. & Vilgalys, R. (2002). Ectomycorrhizal fungi and their leguminous hosts in the Pakaraima Mountains of Guyana. *Mycological Research*, 106: 515-531.
- Hennings, P. (1895). *Fungi austro-africani*. *Hedwigia*, 34: 325-327
- Högberg, P. (1982). Mycorrhizal associations in some woodland and forest trees and shrubs in Tanzania. *New Phytologist*, 92: 407-415.
- Högberg, P. (1986). Soil nutrient availability, root symbioses and tree species composition in tropical Africa: a review. *Journal of Tropical Ecology*, 2: 359-372.
- Högberg, P. & Alexander, I.J. (1995). Role of root symbioses in African woodland and forest: evidence from ^{15}N abundance and foliar analysis. *Journal of Ecology*, 83: 217-224.
- Högberg, P. & Nylund, J.E. (1981). Ectomycorrhizae in coastal Miombo woodland of Tanzania. *Plant and Soil*, 63: 283-289.
- Högberg, P. & Pearce, G.D. (1986). Mycorrhizas in Zambian trees in relation to host taxonomy, vegetation type and successional patterns. *Journal of Ecology*, 74: 775-785.
- Horton T. R., Bruns T. D., Parker V. T., 1999

- Ectomycorrhizal fungi associated with *Arctostaphylos* contribute to *Pseudotsuga menziesii* establishment. *Canadian Journal of Botany*, 77 : 93-102.
- Janos, D.P. (1983). « Tropical mycorrhizae, nutrients cycles and plant growth ». In Sutton S. L., Whitmore T. C., Chadwick A. C. (eds.) : *Tropical Rain Forest*, Oxford, Blackwell : 327-345.
- Jenik, J. & Mensah, K.O.A. (1967). Root system of tropical trees. I. Ectotrophic mycorrhizae of *Afzelia africana* Sm. *Preslia*, 39: 59-65.
- Le Tacon, F., Garbaye, J., Bâ, A.M., Beddiar, A.F., Diagne, O., Diem, H.G. (1989). « L'importance des symbioses racinaires pour les arbres forestiers en zone tropicale sèche et en zone tropicale humide ». In : *Trees for Development in Sub-Saharan Africa*, Kenya, Nairobi, Éd. ICRAF HQ : 302-318.
- Lilleskov, E.A. & Bruns, T.D. (2003). Root colonization dynamics of two ectomycorrhizal fungi of contrasting life history strategies are mediated by addition of organic nutrient patches. *New Phytologist*, 159: 141-151.
- Malloch, D.W., Pirozynski, A.K. & Raven, P.H. (1980). « Ecological and evolutionary significance of mycorrhizal symbioses in vascular plants (A Review) ». In : USA, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 77 : 2113-2118.
- Martin, F., Delaruelle, C. & Ivory, M. (1998). Genetic variability in intergenic spacers of ribosomal DNA in *Pisolithus* isolates associated with pine, eucalyptus and *Afzelia* in lowland Kenyan forests. *New Phytologist*, 139: 341-352.
- Mayor, J.R. & Henkel, T.W. (2005). Ectomycorrhizal influence on leaf litter decomposition within a monodominant *Dicymbe corymbosa* forest in Guyana. *New Phytologist*, 169: 579-588.
- McGuire, K.L. (2007). Common ectomycorrhizal networks may maintain monodominance in a tropical rain forest. *Ecology*, 88: 567-574.
- Mikola, P. (1970). Mycorrhizal inoculation in afforestation. *International Review of Forestry Research* : 123-196.
- Molina, R., Massicotte, H. & Trappe, J.-M. (1992). Specificity phenomena in mycorrhizal symbioses: community-ecological consequences and practical implications. In Allen M.

- F. (ed.) : Mycorrhizal functioning : an integrative plant-fungal process, New York, Chapman and Hall : 357-423.
- Moyersoen, B., Alexander, I.J. & Fitter, A.H. (1998). Phosphorus nutrition of ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal tree seedlings from a lowland tropical rain forest in Korup National Park, Cameroon. *Journal of Tropical Ecology*, 14: 47-61.
- Moyersoen, B. & Fitter, A.H. (1999). Presence of arbuscular mycorrhizas in typically ectomycorrhizal host species from Cameroon and New Zealand. *Mycorrhiza*, 8: 247-253.
- Moyersoen, B., Becker, P. & Alexander, I.J. (2001). Are ectomycorrhizas more abundant than arbuscular mycorrhizas in tropical heath forests? *New Phytologist*, 150: 591-599.
- Munyanziza, E. & Kuyper, T.W. (1995). Ectomycorrhizal synthesis on seedlings of *Azelia quanzensis* Welw. using various types of inoculum. *Mycorrhiza*, 5: 283-287.
- Newbery, D.M., Alexander, I.J., Thomas, D.W. & Gartlan, J.S. (1988). Ectomycorrhizal rain-forest legumes and soil phosphorus in Korup National Park, Cameroon. *New Phytologist*, 109: 433-455.
- Onguene, N.A. (2000). Diversity and Dynamics of Mycorrhizal Associations in Tropical Rain Forests with different Disturbance Regimes in South Cameroon. *Tropenbos-Cameroon Series*, 3, 167 p.
- Onguene, N.A. & Kuyper, T.W. (2001). Mycorrhizal associations in the rain forest of South Cameroon. *Forest Ecology and Management*, 140: 277-287.
- Onguene, N.A. & Kuyper, T.W. (2002). Importance of the ectomycorrhizal network for seedling survival and ectomycorrhiza formation in rain forests of south Cameroon. *Mycorrhiza*, 12: 13-17.
- Peay, K., Kennedy, P.G., Davies, S.J., Tan, S. & Bruns T. (2009). Potential link between plant and fungal distributions in a dipterocarp rain-forest: community and phylogenetic structure of tropical ectomycorrhizal fungi across a plant and soil ecotone. *New Phytologist*, 185: 525-538.
- Peyronel, B. & Fassi, B. (1957). Micorrize ectotrofiche in una *Caesalpinia* del Congo Belga. *Atti Accademia delle Scienze di Torino*, 91: 569-576.

- Peyronel, B. & Fassi, B. (1960). Nuovi casi de simbiosi ectomicorrizica in Leguminose della famiglia delle Caesalpiniaceae. *Atti Accademia delle Scienze di Torino*, 94: 36-38.
- Ramanankierana, N., Ducouso, M., Rakotoarimanga, N., Prin, Y., Thioulouse, J., Randrianjohany, E., Ramarason, L., Kisa, M., Galiana, A. & Duponnois, R. (2007). Arbuscular mycorrhizas and ectomycorrhizas of *Uapaca bojeri* L. (Euphorbiaceae): sporophore diversity patterns of root colonization and effects on seedling growth and soil microbial catabolic diversity. *Mycorrhiza*, 17: 195-208.
- Rambelli, A. (1973). « The rhizosphere of mycorrhizae ». In Marks G. C., Kozlowski T. T. (eds.) : *Ectomycorrhizae: Their Ecology and Physiology*, New York, Academic Press : 229-343.
- Read, D.J. & Perez-Moreno, J. (2003). Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems, a journey towards relevance? *New Phytologist*, 157: 475-492.
- Reddell, P., Bowen, G.D. & Robson, A.D. (1986). Nodulation of Casuarinaceae in relationship to host species and soil properties. *Australian Journal of Botany*, 34: 435-444.
- Redhead, J.F. (1968 a). Mycorrhizal associations in some Nigerian forest trees. *Transactions of the British Mycological Society*, 51: 377-387.
- Redhead, J.F. (1968 b). *Inocybe* sp. associated with ectotrophic mycorrhiza on *Afzelia bella* in Nigeria. *Commonwealth Forestry Review*, 47: 63-65.
- Redhead, J.F. (1974). Aspects of the biology of mycorrhizal associations occurring on tree species in Nigeria. Ph. D. thesis, Univ. of Ibadan, Nigeria.
- Redhead, J. F. (1977). Endotrophic mycorrhizas in Nigeria : species of the Endogonaceae and their distribution. *Transactions of the British Mycological Society*, 69: 275-280.
- Redhead, J.F. (1979). « Soil mycorrhiza in relation to soil fertility and productivity ». In Mongi H. M., Huxley P. A. (ed.) : *Soils Research in Agroforestry*, Tech., David Spurgeon, ICRAF: 175-204.
- Rivière, T., Diedhiou, A.G., Diabate, M., Senthilarasu, G., Natarajan, K., Verbeken, A., Buyck, B., Dreyfus, B., Bena, G. & Bâ, A.M. (2007). Genetic diversity of

- ectomycorrhizal basidiomycetes from African and Indian tropical forests. *Mycorrhiza*, 17: 415-428.
- Sanon, K.B., Bâ, A.M. & Dexheimer, J. (1997). Mycorrhizal status of some fungi fruiting beneath indigenous trees in Burkina Faso. *Forest Ecology and Management*, 98: 61-69.
- Sanon, K.B., Bâ, A.M., Delaruelle, C., Duponnois, R. & Martin, F. (2009). Morphological and molecular analyses in *Scleroderma* species associated with some Caesalpiniaceae, Dipterocarpaceae and Phyllanthaceae trees in southern Burkina Faso. *Mycorrhiza*, 19: 571-584.
- Schnell, R. (1986). *Flore et végétation de l'Afrique tropicale*. Édition Gauthier-Villars, 468 p.
- Sims, K.P., Sen, R., Watling, R. & Jeffries, P. (1999). Species and population structures of *Pisolithus* and *Scleroderma* identified by combined phenotypic and genomic marker analysis. *Mycological Research*, 103: 449-458.
- Smith, S. & Read, J. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis*. Ed. Hardcover, 800 p.
- Tambe Bechem, E.E. & Alexander, I. (2009). Inoculum production and inoculation rooted cuttings using a range mycorrhizal fungi. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 3: 23-32.
- Tedersoo, L., Suvi, T., Beaver, K. & Kõljalg, U. (2007). Ectomycorrhizal fungi of the Seychelles: diversity patterns and hosts shift from the native *Vateriaopsis seychellarum* (Dipterocarpaceae) and *Intsia bijuga* (Caesalpinioideae) to the introduced *Eucalyptus robusta* (Myrtaceae), but not *Pinus caribea* (Pinaceae). *New Phytologist*, 175: 321-333.
- Thiès, E. (1995). Principaux ligneux (agro)forestiers de la Guinée. Zone de transition. *Schriftenreihe der GTZ*, n°253, 544 p.
- Toen, D. (1993). « Looking for ectomycorrhizal trees and ectomycorrhizal fungi in tropical Africa ». In : *Aspects of tropical mycology*, Cambridge University Press : 193-205.
- Toen, D. & Bâ, A.M. (1987). « Observations on the fungi and the ectomycorrhizae of *Azelia africana* and *Uapaca guineensis* in southern Senegal ». In Sylvia D. M., Hung L. L., Graham J. H. (eds.) : *Mycorrhizae in the Next Decade*, NACOM 7, IFAS, Univ. of Florida, Gainesville, May 3-8 : 132.

- Thoen, D. & Bâ, A.M. (1989). Ectomycorrhizas and putative ectomycorrhizal fungi of *Afzelia africana* Sm. and *Uapaca guineensis* Müll. Arg. in southern Senegal. *New Phytologist*, 113: 549-559.
- Thoen, D. & Ducouso, M. (1989 a). Champignons et ectomycorhizes du Fouta-Djalon. *Bois et Forêts des Tropiques*, 221 : 45-63.
- Thoen, D. & Ducouso, M. (1989 b). Mycorrhizal habit and sclerogenesis of *Phlebopus sudanicus* (Gyrodontaceae) in Senegal. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 28: 519-521.
- Torti, S. D. & Coley, P.D. (1999). Tropical monodominance: a preliminary test of the ectomycorrhizal hypothesis. *Biotropica*, 31: 220-228.
- Torti, S.D., Coley, P.D. & Kursar, T.A. (2001). Causes and consequences of monodominance in tropical lowland forests. *American Naturalist*, 157: 141-153.
- Trappe, J.-M. (1962). Fungus associates of ectotrophic mycorrhiza. *Botanical Review*, 28: 538-606.
- van der Heijden, M.G.A., Boller, T., Wiemken, A. & Sanders, I.R. (1998). Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. *Ecology*, 76: 2082-2091.
- Wang, B. & Qiu, Y.-L. (2006). Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza*, 16: 299-363.
- Warcup, J.H. (1980). The mycorrhizal relationships of Australian orchids. *New Phytologist*, 87: 371-381.
- Watling, R. (1993). « Comparison of the macromycete biotas in selected tropical areas of Africa and Australia ». In Isaac S., Frankland J. C., Watling R., Whalley A. J. S. (eds.) : *Aspects of tropical mycology*, Cambridge University Press : 171-191.
- Watling, R. & Lee, S.S. (1995). Ectomycorrhizal fungi associated with members of the Dipterocarpaceae in peninsular Malaysia I. *Journal of Tropical Forest Science*, 7: 657-669.
- White, F. (1983). *The vegetation of Africa*. Unesco, 356 p.

- Wurzburger, N., Bidartondo, M.I. & Bledsoe, C.S. (2001). Characterization of *Pinus* ectomycorrhizas from mixed conifer and pygmy forests using morphotyping and molecular methods. *Canadian Journal of Botany*, 79: 1211-1216.
- Yokota, A., Neda, H. & Erdy S. (1996). « Ectomycorrhizal fungi in an Indonesian Dipterocarpus forest in Laut Island, South Kalimantan province ». In : Abstracts of the 48th Annual Meeting of the Kanto Branch of the Japanese Forestry Society, 48 : 35.
- Yorou, S.N. & Agerer, R. (2007). *Tomentella furcata*, a new species from Benin (West Africa) with basidia forming internal hyphae. *Mycological Progress*, 6: 239-247.
- Yorou, S.N. & Agerer, R. (2008). *Tomentella africana*, a new species from Benin (West Africa) identified by morphological and molecular data. *Mycologia*, 100: 68-80.
- Yorou, S.N., Kõljalg, U., Sinsin, B. & Agerer, R. (2007). Studies in African theleporoid fungi. I. *Tomentella capitata* and *Tomentella brunneocystidia*, two news species from Benin (West Africa) with capitate cystidia. *Mycological Progress*, 6: 7-18.

**EFFET DE L'INOCULATION AVEC DES SOUCHES DE *MESORHIZBIUM* SP. ET/OU
DES CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS A ARBUSCULES SUR LA CROISSANCE ET LA
NUTRITION MINERALE DE PLANTS D'*A. SEYAL* DEL.**

par Diouf D.^{1,2}, Fall D.^{1,2}, Kane A.^{1,2}, Bakhoun N.^{1,2}, Ba A. T.^{1,3}, Ba A. M.²,
Duponnois R.^{2,4}

¹ Département de biologie végétale. Université Cheikh Anta Diop. Dakar. Sénégal

² Laboratoire commun de microbiologie IRD/Isra/Ucad. Dakar. Sénégal

³ Université de Ziguinchor. Ziguinchor. Sénégal

⁴ IRD. UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/SUP-AGRO/UM2, Laboratoire des symbioses
tropicales et méditerranéennes (LSTM). Campus international de Baillarguet. Montpellier.
France

1. INTRODUCTION

La salinisation des terres est un problème environnemental majeur et croissant, particulièrement dans les zones arides et semi-arides du monde. Environ 800 millions d'hectares de terres à travers le monde sont affectées par le sel (Munns, 2005). Au Sénégal, 6 % des terres, principalement dans les zones côtières, sont affectées par le phénomène de salinisation (Barbiero *et al.*, 2004). Les changements climatiques, notamment le déficit pluviométrique de ces dernières années, ont contribué à accentuer les effets de la salinité en aval des quatre principaux bassins versants du territoire, à savoir le Sénégal, le Sine, le Saloum et la Casamance (Zeng, 2003).

Le phénomène de salinisation des sols est un facteur de désertification. Il provoque une dégradation des propriétés biologiques, chimiques et physiques des sols (Qadir et Schubert, 2002). Cette dégradation des propriétés des sols a pour conséquence la diminution de leur fertilité, qui entraîne une réduction des rendements des cultures et l'abandon des terres, et parfois la disparition du couvert végétal naturel remplacé par d'immenses étendues de zones salées (ou Tannes) (Boivin et Job, 1988). Ainsi, l'offre de services provenant des forêts naturelles devient insuffisante pour satisfaire la demande, accentuant alors la pauvreté en milieu rural.

La remise en état de vastes zones de terres salines à travers le monde semble difficile en raison de contraintes économiques et climatiques. Cependant, l'utilisation de plantes tolérantes au sel se présente comme une approche intégrée et appropriée de gestion des terres salées (Singh, 2009). La réintroduction de plantes autochtones, associées à une bonne gestion des communautés de symbiotes microbiens, est un outil biotechnologique efficace pour la reconstitution des écosystèmes dégradés (Dommergues, 1995 ; Requena *et al.*, 2001 ; Thrall *et al.*, 2005). Ces associations symbiotiques sont d'une importance capitale pour l'agriculture (Saxena *et al.*, 2006 ; Yang *et al.*, 2009 ; Zahran, 1999). Les études menées sur les *Acacia* ont montré que ces espèces produisent non seulement du fourrage pour le bétail et du bois de chauffage, mais ont également l'avantage supplémentaire d'apporter de l'engrais naturel au sol grâce à l'association symbiotique avec des rhizobiums compatibles et des champignons mycorrhiziens (Allen et Allen, 1981 ; Dommergues, 1995). Les rhizobiums d'*Acacia* spp. ont une tolérance au sel plus élevée que celle de la plupart des rhizobiums (Fall *et al.*, 2008 ; Odee *et al.*, 1997 ; Zhang *et al.*, 1991). Les champignons mycorrhiziens à arbuscules (CMA)

ont également été observés dans des environnements salins où ils améliorent la tolérance au sel des plants en début de croissance (Juniper et Abbott, 1993 ; Ruiz-Lozano et Azcón, 2000).

Dans les basses vallées du Sine et du Saloum, la salinisation a eu pour conséquence de fortes pressions sur les terres cultivables et la disparition de la végétation sur de grandes superficies. Cependant, au sein de ces écosystèmes particuliers se développent de grandes plaines à graminées dominées par des espèces de *Sporobolus* sp. et de *Leptochloa fusca*, souvent associées à des îlots d'*A. seyal* (fig. 1). Cette légumineuse tropicale, hautement fixatrice d'azote (Ndoye *et al.*, 1995), s'associe également à des champignons mycorhiziens (Manga *et al.*, 2007) et pourrait jouer un important rôle dans le cycle de l'azote. De plus, *A. seyal* est une espèce modérément tolérante au sel (Fall *et al.*, 2009). Ces adaptations naturelles font qu'elle est potentiellement utile pour des applications écologiques, en matière d'agroforesterie, d'aménagement paysager ou de réhabilitation des écosystèmes dégradés.

Figure 1 : Un arbre d'*Acacia seyal* dans une tanne entouré de graminées (*Sporobolus* sp.) dans les basses vallées du Sine (Foundiougne-région de Fatick). © D. Diouf



L'inoculation avec des souches de rhizobiums tolérantes pourrait améliorer la tolérance au sel de leurs hôtes (Zou *et al.*, 1995). Les champignons MA permettent de réduire les pertes de rendement des cultures dans des sols salins (Al-Karaki, 2006). Cet effet serait dû à une absorption accrue de nutriments à faible mobilité, tels que P, Fe, Cu et Zn (Colla *et al.*, 2008 ; Garg et Manchanda, 2008), et une diminution de l'absorption de Na (Al-Karaki, 2000 ; Giri *et*

al., 2007). En outre, les champignons MA peuvent améliorer les processus physiologiques tels que la capacité d'absorption d'eau des plantes en augmentant la conductivité hydraulique des racines et en ajustant favorablement l'équilibre osmotique et la teneur en hydrates de carbone (Palmieri et Swatzell, 2004 ; Sheng *et al.*, 2008 ; Smith et Read, 1997). Pour faire face aux problèmes osmotiques induits par la contrainte saline, les plantes s'adaptent par la synthèse de *novo* des solutés organiques compatibles agissant comme osmolytes. Parmi eux, la proline sert en tant que puits de stockage de carbone et d'azote et réservoir de radicaux libres. Il stabilise les structures subcellulaires (membranes et protéines) et tamponne le potentiel redox cellulaire en conditions de stress salin (Garg et Manchanda, 2009 ; Yokota, 2003).

Des résultats positifs ont été obtenus par la co-inoculation d'acacias avec les CMA et les rhizobiums en conditions contrôlées (André *et al.*, 2003 ; Diouf *et al.*, 2005 ; Hatimi, 1999 ; Weber *et al.*, 2005). Toutefois, peu de travaux de recherche ont porté sur les effets des combinaisons des rhizobia et des champignons mycorrhiziens sur la croissance des acacias sahéliens en conditions de stress salin. En outre, il existe peu d'informations sur les effets de la salinité sur l'efficacité de la fixation d'azote et l'absorption de P, et des accumulations d'osmoprotectants des légumineuses inoculées avec des CMA et/ou des rhizobiums. Une croissance efficace des plantes en conditions de stress salin nécessite à la fois une tolérance au sel et un apport suffisant de nutriments tels que N et P, par une meilleure fixation de l'azote et une absorption efficace de P. Par conséquent, les recherches en biochimie et de réactions physiologiques des plantes inoculées sont nécessaires pour améliorer la performance de la plante hôte dans un environnement dégradé (Al-Karaki *et al.*, 2004 ; Giri *et al.*, 2003).

L'objectif de la présente étude était de déterminer les effets de trois niveaux de salinité sous forme de concentrations croissantes de solutions de chlorure de sodium (NaCl) sur l'efficacité de l'inoculation microbienne des plants d'*A. seyal* avec des souches *Mesorhizobium* sp. et/ou un cocktail de CMA du genre *Glomus*. Nous déterminerons l'effet de l'inoculation microbienne sur la croissance, l'absorption des éléments nutritifs minéraux, et la stratégie de tolérance au stress osmotique de plants d'*A. seyal* cultivés en serre sous contrainte saline pendant 4 mois sur un sol non désinfecté.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. MATERIEL VEGETAL ET CONDITIONS DE CULTURE DES PLANTS

Les graines d'*A. seyal* ont été fournies par l'Institut sénégalais de recherches agricoles/Centre national de la recherche forestière (Isra/CNRF). La scarification, la stérilisation superficielle et la germination des graines ont été réalisées comme décrit plus haut. Les plants d'*A. seyal* ont été repiqués individuellement dans des sacs en plastique contenant 1 kg de sol sableux (sol de Sangalkam) pauvre en azote et en phosphore. Ce sol est très riche en rhizobiums, mais avec un faible potentiel mycorhizien (Duponnois *et al.*, 2002). Les caractéristiques physico-chimiques de ce sol sont les suivantes : pH (H₂O) 6,5 ; argile (3,6 %) ; limon fin (7,4 %) ; limon grossier (25,4 %) ; sable fin (36,6 %) ; sable grossier (21,55 %) ; C total (0,54 %) ; azote total (0,06 %) ; C/N, 8,5 ; P total (39 ppm), et Olsen P (4,8 ppm) (Olsen *et al.*, 1954). Les plants cultivés en serre en lumière naturelle (30 °C le jour, 25 °C la nuit, avec une photopériode de 14 h) ont été régulièrement arrosés à l'eau distillée.

2.2. PRODUCTION D'INOCULUM DE CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS ARBUSCULAIRES ET DE RHIZOBIUM

Trois isolats de champignons mycorhiziens à arbuscules *Glomus intraradices*, *G. mosseae* et *G. verruculosum* ont été propagés en serre sur des racines de plants de maïs (*Zea mays*) cultivés sur un substrat TerraGreen (argile calcinée) pendant 12 semaines (Plenchette *et al.*, 1989). Les plants de maïs ont ensuite été récoltés et les racines ont été délicatement lavées et coupées en morceaux de 0,5 cm (contenant environ 250 vésicules/cm). Les quatre souches de *Mesorhizobium* sp. (ORS 3324, ORS 3356, ORS 3359 et ORS 3365) ont été isolées à partir de nodules de racines d'*A. seyal*, comme décrit par Diouf *et al.* (2007). Ces souches ont été choisies sur la base des résultats de leur performance symbiotique et de leur tolérance au sel (Diouf *et al.*, 2008). Les souches ont été cultivées sur milieu YEM pendant 2 jours à 28 °C sous agitation orbitale dans des flacons en verre.

2.3. INOCULATION MICROBIENNE ET TRAITEMENTS SALES

Avant le repiquage, un trou de 1 cm de diamètre et 5 cm de profondeur a été préparé dans chaque pot et rempli avec 1 g de fragments de racines de maïs mycorhizées. Des racines de maïs non mycorhizées, préparées comme décrit ci-dessus, ont servi pour les traitements témoin sans inoculation CMA. Les trous ont été recouverts avec le même sol sableux non désinfecté. Les jeunes plants d'*A. seyal* ont été inoculés au moment du repiquage avec 5 ml de la suspension des quatre souches (10^9 cellules bactériennes) ou 5 ml du milieu de culture sans bactéries dans le cas des traitements témoins. Le même volume d'inoculum bactérien a été ajouté dans les traitements combinant ORS 3324, ORS 3356, ORS 3359 et ORS 3365. Les traitements ont été définis par une combinaison factorielle de trois niveaux de salinité (non salé et deux niveaux de salinité) et quatre traitements microbiens [plants témoins non inoculés (C), inoculés avec *Mesorhizobium* sp. (R), inoculés avec CMA (M), inoculés avec *Mesorhizobium* sp. et CMA (RM)]. Les plants ont été disposés en blocs aléatoires complets avec neuf répétitions par traitement combiné. Les solutions salines 170 mM NaCl et 340 mM NaCl ont des valeurs de conductivité électrique (CE) de 16,75 $\mu\text{S}/\text{cm}$ et 30,40 $\mu\text{S}/\text{cm}$, respectivement. Le témoin non salé (0 mM de NaCl) a été réalisé avec de l'eau distillée (CE-1,8 $\mu\text{S}/\text{cm}$). Pour augmenter la salinité dans le sol, deux solutions différentes (170 mM et 340 mM de NaCl) ont été ajoutées aux sacs en plastique. Les solutions salines ont été appliquées une seule fois au début de l'expérience pour chaque traitement de sel pour simuler le lessivage du sel de la surface du sol durant la saison des pluies. Pour éviter les effets du sel sur l'établissement des symbioses rhizobiennes et mycorhiziennes, l'application de sel a été effectuée trois semaines après l'inoculation. Afin de minimiser le choc du stress salin, les semis ont été progressivement exposés au NaCl. La teneur en sel a été incrémentée de 25 mM par jour jusqu'à ce que les concentrations finales aient été atteintes. Par la suite, les plants ont été irrigués à l'eau distillée tout au long de l'expérience.

2.4. EVALUATION DE LA NODULATION, DE LA COLONISATION MYCORHIZIENNE ET DE L'EFFECTIVITE DES SYMBIOSES RHIZOBIENNES ET MYCORHIZIENNES

Les effets relatifs de l'inoculation sur la croissance des plants ont été comparés en mesurant la hauteur des plants au bout de 4 mois. Les plants ont été récoltés et leur système racinaire soigneusement rincé. Des aliquotes ont été conservés pour l'évaluation de la colonisation par

les champignons. L'infectivité des rhizobiums a été évaluée par le décompte du nombre de nodules. Tous les tissus végétaux ont été séchés à l'étuve à 80 °C pendant 72 h pour la détermination de la biomasse totale (parties aériennes et racines). La colonisation des racines par des champignons mycorhiziens a été déterminée sur les mêmes plants échantillonnés.

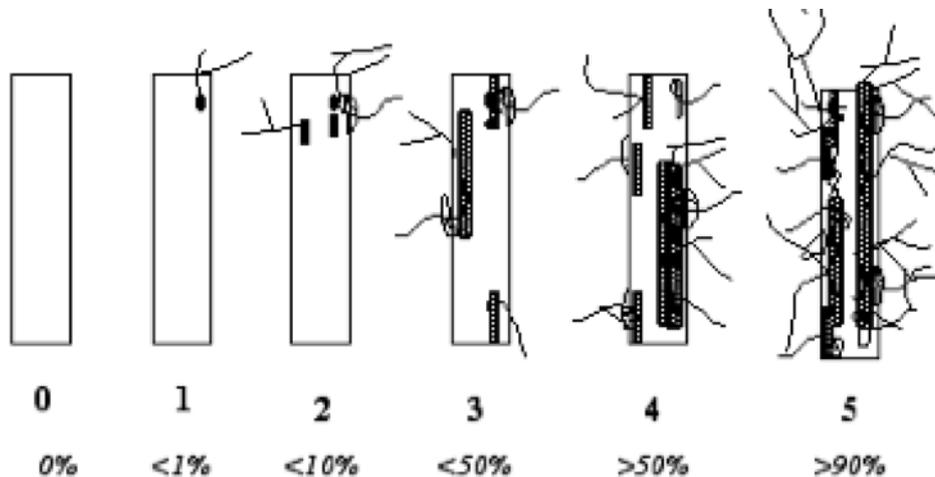
Les racines préalablement prélevées et conservées dans de l'alcool ont été étudiées au laboratoire. Elles ont été colorées au bleu trypan 0,05 % (v/v) dans lactophénol selon la méthode de Phillips et Hayman (1970) modifiée. Les racines ont d'abord été rincées soigneusement à l'eau de robinet, mises dans des tubes à essai contenant une solution de KOH à 10 % et l'ensemble porté à ébullition dans un bain-marie à 90 °C pendant 1 h. Cette opération permet de vider les cellules de leur contenu cytoplasmique. Afin de les éclaircir davantage, les racines ont été rincées et trempées dans de l'eau de javel diluée au 1/10 (10 ml d'eau de javel ramenée à 100 ml avec de l'eau déminéralisée) pendant 3 min. Après un rinçage à l'eau courante, elles ont été trempées dans une solution de bleu trypan (0,05 %) et les tubes placés à nouveau au bain-marie à 90 °C pendant 30 min. Au terme de cette opération, le colorant a été égoutté et les racines trempées dans de l'eau de robinet. La coloration au bleu trypan permet d'observer la colonisation du système racinaire des plants par les champignons MA.

Vingt (20) fragments de racines fines d'environ 1 cm de long sont prélevés à différents niveaux de chaque échantillon coloré puis monté entre lame et lamelle dans du glycérol. Le taux d'endomycorhization du système racinaire ou fréquence d'infection (F %), ainsi que l'intensité d'endomycorhization des racines (I %) ont été évalués au microscope optique (fig. 2), comme décrit par Trouvelot *et al.* (1986). Le taux de colonisation endomycorhizienne de chaque fragment a été estimé selon un barème constitué de six classes notées de zéro (0) à cinq (5). La fréquence et l'intensité de mycorhization ont été calculées selon les formules suivantes :

$$F \% = (\text{nombre de fragments mycorhizés} / \text{nombre total de fragments observés}) \times 100$$

$$I \% = (95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1) / \text{nombre total de fragments observés}$$

Figure 2 : Notation de l'infection mycorhizienne (classe 0 à classe 5) selon Trouvelot *et al.* (1986).



n5 = nombre de fragments notés 5, n4 = nombre de fragments notés 4, n3 = nombre de fragments notés 3, n2 = nombre de fragments notés 2, n1 = nombre de fragments notés 1.

2.5. ANALYSE DES TENEURS MINÉRALES DES FEUILLES ET DES RACINES

Les teneurs en proline des feuilles ont été mesurées par colorimétrie à 520 nm (Monnevaux et Nemmar, 1986). Un échantillon de 100 mg de matière fraîche des feuilles a été mélangé avec 2 ml de méthanol 40 % (v/v). Le mélange a ensuite été porté au bain-marie à 85 °C pendant 1 h. Après refroidissement à température ambiante, 1 ml de ninhydrine acide 2,5 % (v/v) dans de l'acide acétique, 1 ml d'un réactif (constitué de 60 ml d'acide acétique glacial, 16 ml d'acide phosphorique et 24 ml d'eau) ont été ajoutés à 1 ml du surnageant. Le mélange a ensuite été chauffé dans un bain d'eau bouillante pendant 30 min, puis refroidi à température ambiante et extrait avec 5 ml de toluène. La phase de toluène a été recueillie et déshydratée avec du sulfate de sodium anhydre. La densité optique de la phase de toluène a été mesurée à 520 nm en se servant du toluène pur comme blanc. La teneur en proline a été déterminée à partir d'une gamme étalon en $\mu\text{mole/g}$ de poids de matière fraîche. Les teneurs en N (Kjeldhal), P total, K et Na des parties aériennes et des racines ont été mesurées au laboratoire LAMA, ISO 9001-2000, Dakar, US IMAGO, IRD, www.lama.ird.sn.

2.6. ANALYSES STATISTIQUES

Les données métriques des plants, ainsi que le nombre de nodules ont été traités à l'aide du logiciel SuperANOVA™ (Abacus Concepts, Berkeley, Inc, en Californie, 1989). Les moyennes obtenues ont été comparées sur la base du test Student-Newman-Keuls ($P < 0,05$).

3. RESULTATS

3.1. COLONISATION MICROBIENNE DES RACINES DE PLANTS D'*A. SEYAL* EN CONDITIONS DE STRESS SALIN

La présente étude a montré une influence positive de l'inoculation microbienne sur la colonisation des racines par les champignons mycorhiziens à arbuscules et les rhizobiums, quel que soit le niveau du stress salin (tabl. 1). Toutefois, le taux de nodulation et le niveau de colonisation des racines varient avec le traitement microbien et la concentration en sel. Il est intéressant de noter que les CMA et les rhizobiums colonisent avec succès les racines d'*A. seyal*, même en présence de NaCl (fig. 3).

Les plus forts taux de mycorhization (fréquence et intensité) et de nodulation ont été observés sur les racines des plants avec une double inoculation par les CMA et les rhizobiums (RM). Aucune structure mycorhizienne n'a été enregistrée sur les traitements non inoculés avec les CMA (C et R). En revanche, une faible nodulation a été observée sur des plants témoins non inoculés. Contrairement à la salinité, l'inoculation microbienne a un effet significatif sur la nodulation, qui augmente 2 fois pour les plants avec les rhizobiums seuls ou les CMA seuls (R, M) et 2,9 fois pour les plants doublement inoculés (RM), en comparaison aux plants témoins non inoculés. Il est à noter la corrélation négative entre les niveaux de salinité des sols et la mycorhization des racines des plants (fréquence et intensité). La colonisation mycorhizienne des racines décroît avec l'augmentation du niveau de salinité. Pour les plants doublement inoculés (RM), la fréquence de mycorhization diminue, passant de 100 % pour les plants qui poussent sur un milieu dépourvu de NaCl à 70 % pour ceux qui sont cultivés en présence de NaCl à 340 mM (fig. 4).

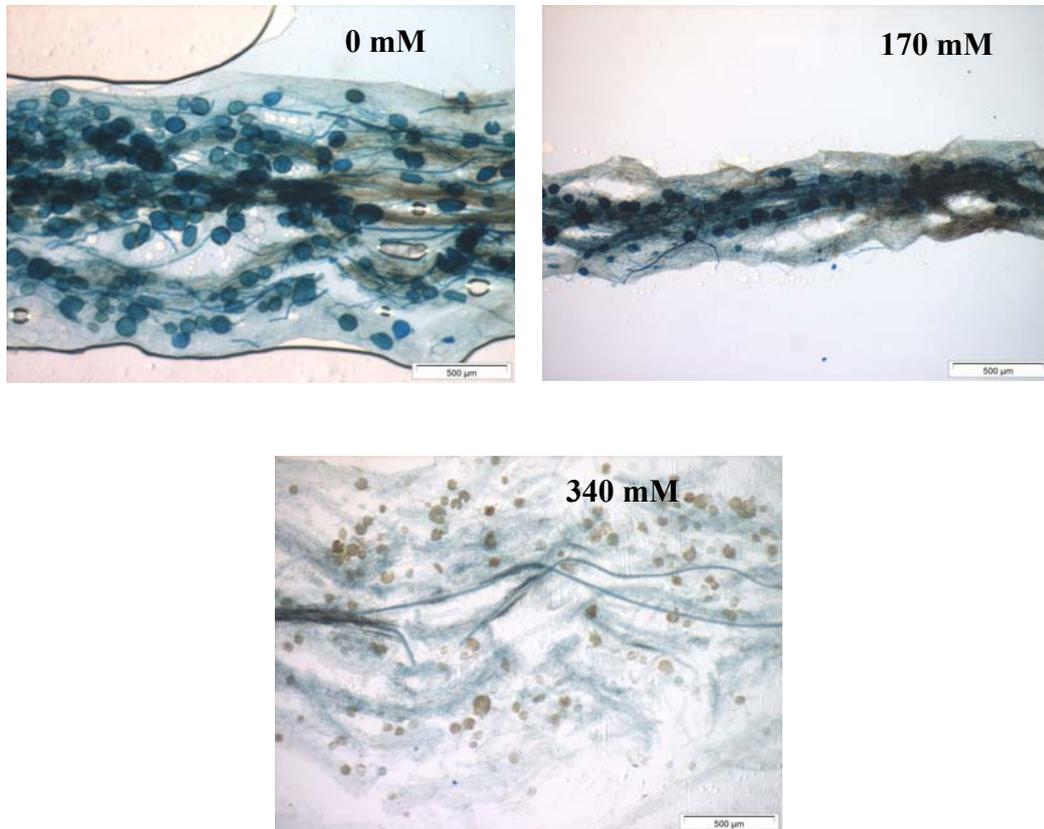
Tableau 1 : Effet de l'inoculation microbienne avec *Rhizobium* et/ou les champignons mycorhiziens à arbuscules sur la production de biomasse (g/plant) et le nombre de nodules de plants d'*A. seyal* cultivés pendant 4 mois sur un sol non désinfecté. Les plants ont été soumis à 0, 170 ou 340 mM NaCl

Traitements	Biomasse aérienne	Biomasse racinaire	Biomasse totale	Nombre de nodules
Dose de NaCl				
(mM)				
0	0,586 (0,026) ⁽¹⁾ a	0,638 (0,032) a	1,223 (0,047)a	18,4 (1,741) ab
170	0,576 (0,026) a ⁽²⁾	0,850 (0,032) b	1,426 (0,046)b	16,7 (1,504) a
340	0,699 (0,024) a	0,699 (0,03) a	1,249 (0,047)a	22,2 (1,793) b
Inoculation				
C	0,451 (0,021) a	0,616 (0,031) a	1,067 (0,036)a	9,8 (1,154) a
R	0,578 (0,030) b	0,783 (0,047) b	1,361 (0,066)b	17,8 (1,415) b
M	0,622 (0,028) b	0,732 (0,040) b	1,354 (0,056)b	20,7 (1,057) b
RM	0,632 (0,023) b	0,784 (0,033) b	1,416 (0,035)b	28,1 (2,079) c
Signification ⁽³⁾				
Salinité (S)	NS	**	**	NS
Inoculation (Inoc,)	**	**	**	**
S x Inoc,	*	**	**	NS

C, plants témoins non inoculés ; R, plants inoculés avec *Mesorhizobium* spp. ; M, plants inoculés avec *Glomus* spp. ; RM, plants inoculés avec *Mesorhizobium* spp. et *Glomus* spp.

⁽¹⁾ Erreur standard. ⁽²⁾ Pour chaque facteur, les valeurs (moyennes de 24 répétitions pour le traitement inoculation microbienne et 32 répétitions pour le traitement salinité) suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-Keuls. ⁽³⁾NS, *, ** : Non significatif, significatif à $P < 0,05$, ou à $P < 0,001$, respectivement.

Figure 3 : Racines mycorhizées de plants d'*A. seyal* inoculés avec des champignons mycorhiziens à arbuscules et cultivés pendant 4 mois sur un sol non désinfecté. Les plants ont été soumis à 0,170 ou 340 mM de NaCl.

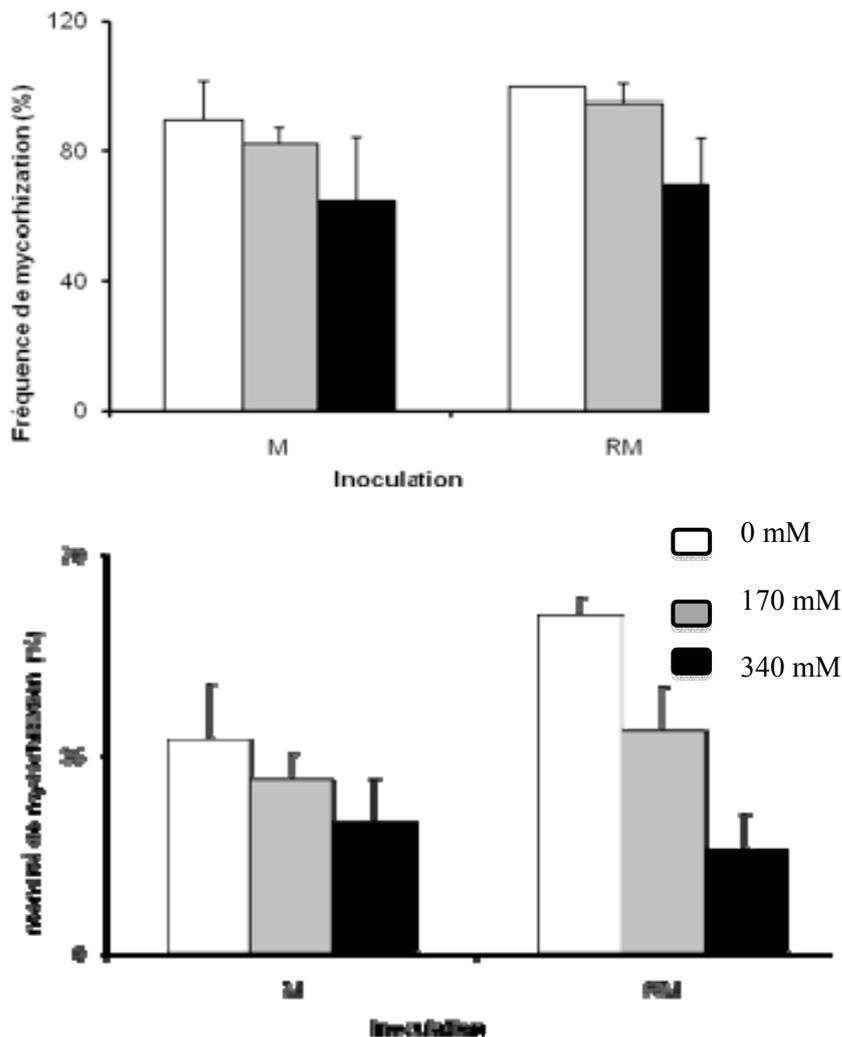


3.2. L'INOCULATION MICROBIENNE AMELIORE LA CROISSANCE DES PLANTS D'*A. SEYAL* EN CONDITIONS DE STRESS SALIN

L'inoculation microbienne améliore la croissance des plants d'*A. seyal*, quel que soit le niveau de salinité. Cependant, l'effet de l'inoculation microbienne sur la croissance des plants varie en fonction de l'inoculum utilisé. Les poids de matières sèches des racines et des parties aériennes sont significativement plus élevés chez les plants d'*A. seyal* inoculés avec les CMA et les rhizobiums (RM) par rapport aux plants témoins non inoculés ($P < 0,05$) (tabl. 1). La double inoculation augmente la production de biomasse, indépendamment du niveau de salinité. Les taux d'augmentation de la biomasse par rapport aux plants témoins non inoculés sont de 28 % (R), 27 % (M) et 33 % (RM). Contrairement à l'inoculation microbienne, la contrainte saline appliquée n'a pas d'effet significatif sur la masse de matière sèche produite

et le nombre de nodules. Par contre, la croissance et la production de biomasse sont significativement affectées par l'interaction des deux traitements : Inoculation x Salinité.

Figure 4 : Taux (fréquence et intensité) de mycorhization de plants d'*A. seyal* inoculés avec des champignons mycorhiziens à arbuscules et cultivés pendant 4 mois sur un sol non désinfecté. Les plants ont été soumis à 0,170 ou 340mM de NaCl.



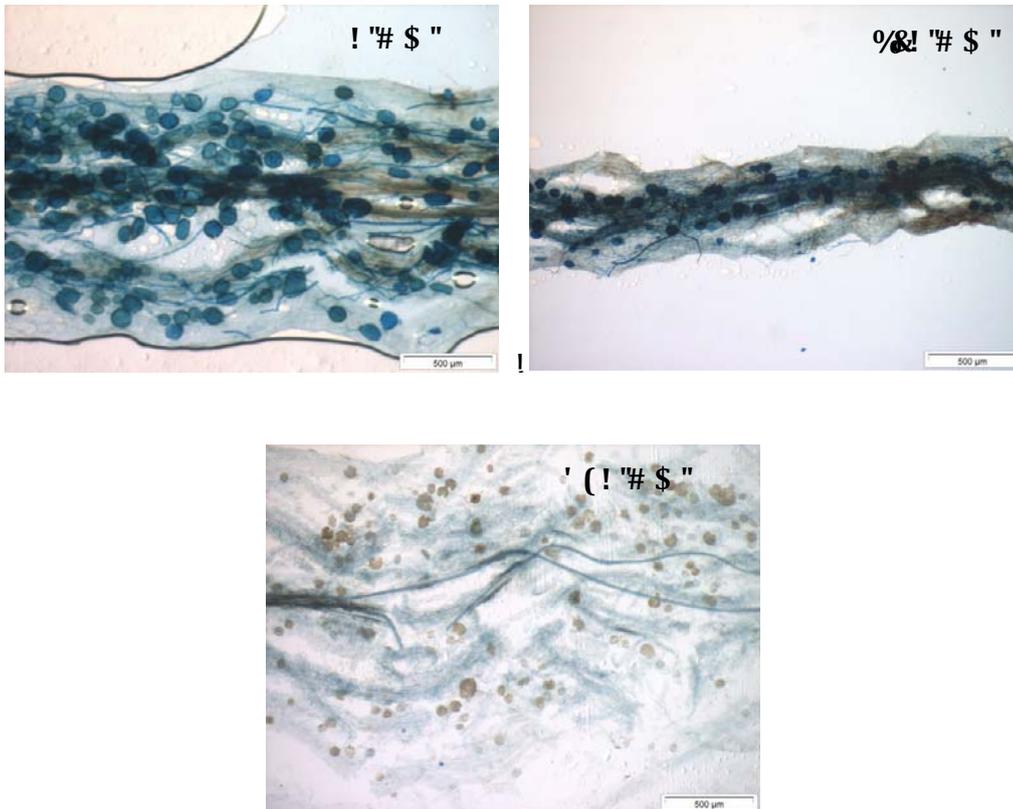
3.3. EFFET DE L'INOCULATION SUR LA NUTRITION MINÉRALE DES PLANTS EN RELATION AVEC LA SALINITE

L'inoculation microbienne a une influence positive significative sur la nutrition des plants, même pour des niveaux de salinité élevés ($P < 0,05$) (fig. 5 et 6). À l'exception du Na, les teneurs en éléments minéraux (N, P et K) des plants sont relativement plus élevées dans les

parties aériennes par rapport aux racines. Les plants inoculés accumulent plus de N, P, K et Na à la fois dans les racines et les parties aériennes que les plants non inoculés, quel que soit le niveau de salinité. En outre, l'effet de l'inoculation microbienne sur l'absorption des éléments minéraux est significativement plus élevé en conditions de stress salin qu'en absence de sel. En présence de NaCl à 340 mM, les plants mycorhizés (M et RM) ont une teneur en N dans les racines significativement plus élevée que celle des plants non mycorhizés. Les teneurs en azote des parties aériennes et des racines des plants doublement inoculés (RM) à 340 mM de NaCl sont respectivement 1,7 fois et 1,6 fois plus élevées que celles des plants témoins non inoculés. En absence de sel, l'inoculation microbienne a un léger effet sur la concentration de P dans les parties aériennes et les racines. En revanche, en conditions de stress salin, l'inoculation microbienne augmente de façon significative l'absorption de P. Les traitements mycorhiziens, en particulier, ont un important effet sur l'absorption de P de plants stressés. À un niveau élevé de NaCl (340 mM), la concentration de P dans les parties aériennes des plants inoculés par les champignons mycorhiziens seuls (M) augmente de 37 % par rapport à celle des plants témoins non inoculés.

De même que la teneur en P, l'inoculation microbienne augmente la concentration en K dans les racines et les parties aériennes des plants en conditions de stress salin. En outre, les plants mycorhizés (M et RM) accumulent une plus forte concentration de K dans les racines et les parties aériennes, quel que soit le niveau de salinité. Ainsi, la concentration en K dans les plants doublement inoculés en présence de 340 mM de NaCl augmente de 71 % et 49 %, respectivement dans les racines et les parties aériennes par rapport aux mêmes organes des plants témoins. La concentration en Na des racines est supérieure à celle des parties aériennes, quel que soit le niveau de salinité. En conditions de stress salin, l'inoculation microbienne augmente légèrement les concentrations en Na. Les champignons MA ont un effet positif dans l'augmentation de l'absorption du Na. Les parties aériennes ont un rapport K/Na plus élevé que les racines, quel que soit le niveau de salinité (données non présentées). Toutefois, le rapport K/Na des parties aériennes diminue avec l'augmentation de la salinité des sols. En revanche, le rapport K/Na des racines n'est pas corrélé aux doses de sel appliquées dans le milieu de culture.

Figure 5 : Teneur foliaire en N, P, K et Na de plants d'*A. seyal* inoculés avec des rhizobiums et/ou des champignons mycorhiziens à arbuscules et cultivés pendant 4 mois sur un sol non désinfecté. Les plants ont été soumis à 0, 170 ou 340 mM de NaCl. Pour chaque dose de NaCl, les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-Keuls ($P < 0,05$).



!

3.4. TENEUR EN PROLINE DES FEUILLES EN RAPPORT AVEC LA SALINITE

À l'exception des plants inoculés avec des rhizobiums, les concentrations en proline des feuilles sont faibles chez les plants cultivés dans des conditions non salines (fig. 7). Chez les plants inoculés avec des rhizobiums dans des conditions non salines, la teneur en proline des feuilles atteint $11 \mu\text{mol/g}$ de matière fraîche et le niveau de salinité ne modifie pas significativement sa concentration. En revanche, pour les autres traitements la teneur en proline foliaire augmente avec le stress salin. La concentration en proline des feuilles est plus élevée pour les plants d'*A. seyal* non inoculés ou inoculés avec des rhizobiums. En présence de NaCl à 340 mM, les plants colonisés par les CMA (M) accumulent respectivement 8 % et 22 % de proline en moins que les plants témoins non inoculés (C) et les plants inoculés avec des rhizobiums (R).

4. DISCUSSION

4.1. COLONISATION MICROBIENNE DES RACINES DE PLANTS D'*A. SEYAL* EN CONDITIONS DE STRESS SALIN

Parmi les nombreuses études consacrées à la tolérance au sel des légumineuses, très peu de recherches traitent de la réponse des légumineuses ligneuses à la double inoculation par des champignons mycorhiziens et des rhizobiums en conditions de stress salin (Diouf *et al.*, 2005 ; Hatimi, 1999). La présente étude évalue les aspects physiologiques et biochimiques liés à la tolérance au sel de plants d'*A. seyal* inoculés ou non avec des champignons mycorhiziens à arbuscules et/ou des rhizobiums et soumis à un stress salin. Les plants inoculés montrent une plus grande tolérance au stress de sel que les plants non inoculés, comme le montrent l'augmentation de la production de biomasse et l'amélioration de la nutrition minérale.

Nos résultats montrent une influence positive de l'inoculation microbienne sur la colonisation des racines par les CMA et/ou les rhizobiums, quel que soit le niveau de salinité. Dans nos conditions expérimentales, les CMA et les rhizobiums colonisent avec succès les racines d'*A. seyal*, montrant que ces symbiotes microbiens survivent dans des conditions de stress salin. Le taux de mycorhization (intensité et fréquence) et le nombre de nodules des plants inoculés ont sensiblement augmenté, même si les systèmes racinaires des plants ont été soumis à un stress salin. Toutefois, le niveau de colonisation des racines varie avec le traitement microbien. L'absence de mycorhization des plants témoins non inoculés pourrait être due à des facteurs combinés tels que la faible densité de propagules infectieux des champignons mycorhiziens signalée précédemment dans le sol utilisé (Duponnois *et al.*, 2002) et/ou des facteurs environnementaux tels que la présence d'antagonistes des CMA dans la microflore (Oliveira *et al.*, 1997).

Figure 6 : Teneur racinaire en N, P, K et Na de plants d'*A. seyal* inoculés avec des rhizobiums et/ou des champignons mycorhiziens à arbuscules et cultivés pendant 4 mois sur un sol non désinfecté. Les plants ont été soumis à 0,170 ou 340 mM de NaCl. Pour chaque dose de NaCl, les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-Keuls ($P < 0,05$).

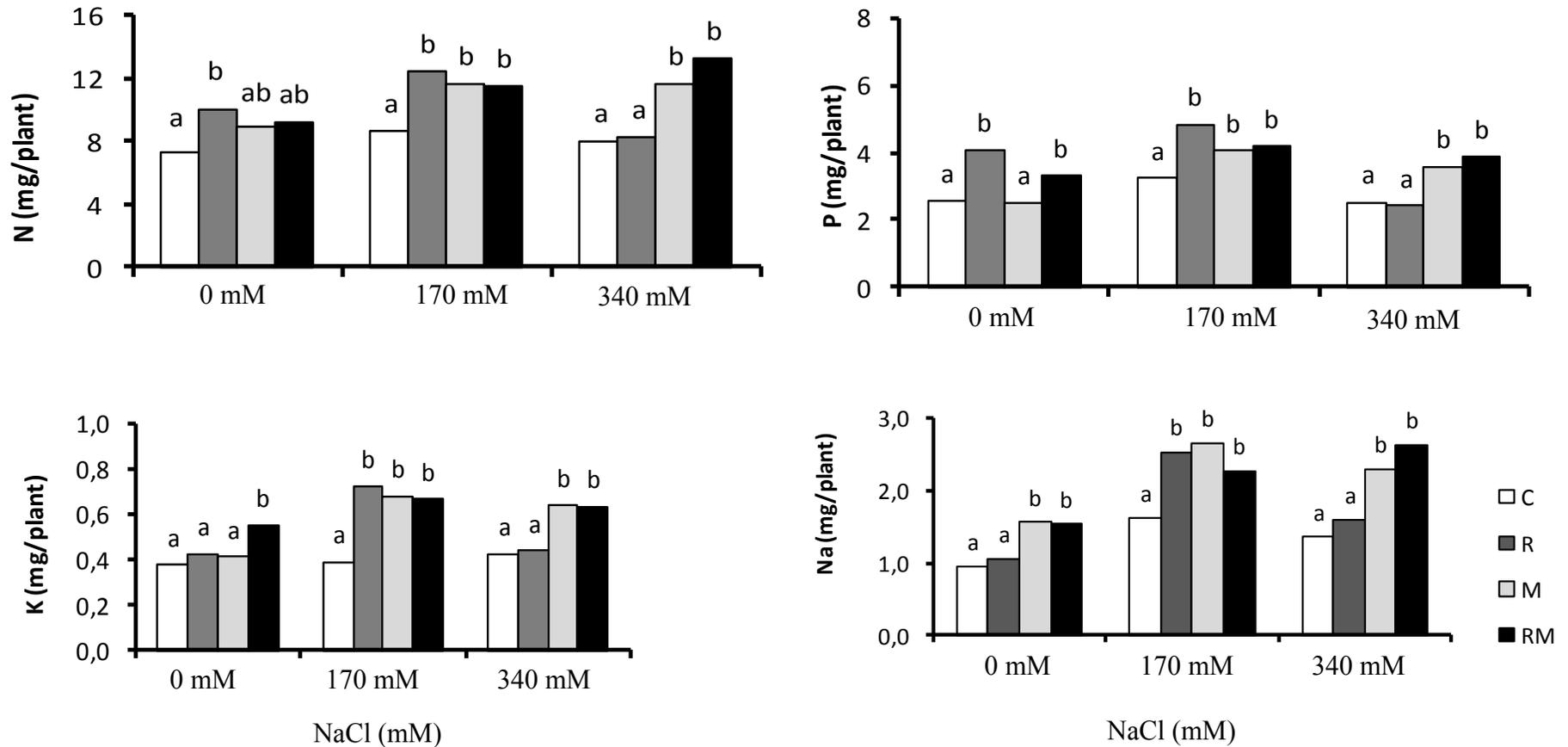
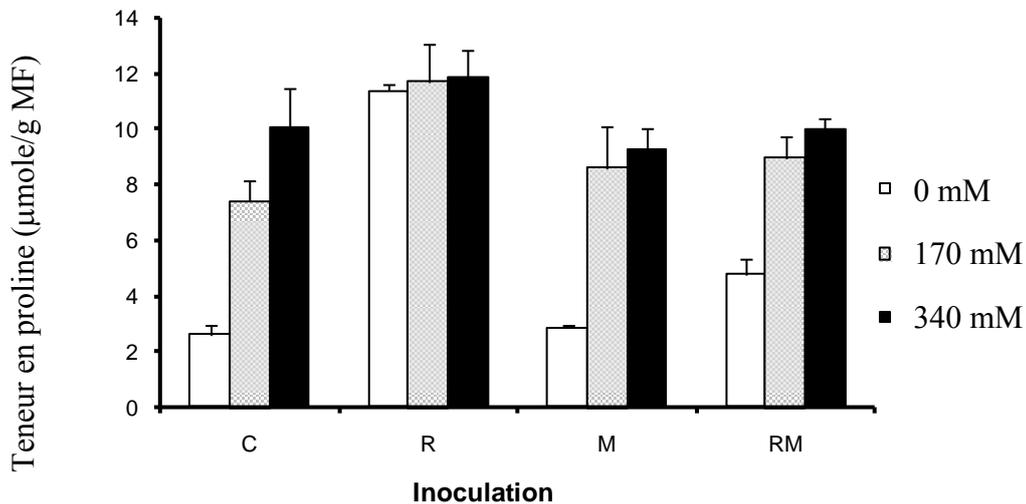


Figure 7 : Teneur foliaire en proline ($\mu\text{mole/g}$ matière fraîche) de plants d'*A. seyal* inoculés avec des rhizobiums et/ou des champignons mycorhiziens à arbuscules et cultivés pendant 4 mois sur un sol non désinfecté. Les plants ont été soumis à 0,170 ou 340 mM de NaCl.



La mycorhization s'est produite quelle que soit l'intensité du stress salin. Cependant, les fortes concentrations de NaCl entraînent une réduction de la colonisation mycorhizienne. La mycorhization a été plus importante en l'absence de NaCl que dans des conditions de sols salés (Al-Karaki *et al.*, 2001 ; Aliasgharzadeh *et al.*, 2001). La réduction de la mycorhization en conditions de stress salin pourrait être due à un effet direct de NaCl sur les champignons, probablement par la diminution de leur capacité à germer et à croître en présence de NaCl dans la solution du sol (Juniper et Abbott, 2006). Comme pour les plants d'*A. auriculiformis* et d'*A. mangium* inoculés avec des souches de *Bradyrhizobium* spp. et de *G intraradices* (Diouf *et al.*, 2005), la mycorhization des plants d'*A. seyal* est plus fortement affectée que la nodulation par les traitements salés (170 mM et 340 mM). Contrairement à l'inoculation microbienne, les doses de sel testées n'ont pas d'effet significatif sur la nodulation des plants (Cordovilla *et al.*, 1999). Il est intéressant de noter que le nombre de nodules a augmenté en conditions de stress salin chez les plants inoculés, ce qui pourrait expliquer le niveau plus élevé de leur fixation d'azote. Il pourrait également s'agir d'une réaction symbiotique à l'augmentation du sel. Des résultats antérieurs ont montré que l'exposition de plantes de *Cajanus cajan* à un stress salin stimulait la formation des nodules. Cependant, la croissance

des nodules était affectée et une réduction de la biomasse nodulaire a été notée (Garg et Manchanda, 2008).

Quelques nodules se sont formés sur les racines des plants témoins non inoculés, indiquant que le sol contenait des souches autochtones capables de former des nodules sur les racines d'*A. seyal*. Cette faible nodulation observée sur les racines des plants témoins non inoculés pourrait aussi être due à des contaminations microbiennes du moment que l'expérience a été réalisée sur un sol non désinfecté et en conditions naturelles en serre. D'autant plus que nos résultats antérieurs ont confirmé la promiscuité de l'espèce *A. seyal*. Cependant, la faible croissance des plants témoins non inoculés a montré que les souches autochtones sont moins efficaces que les souches de *Mesorhizobium* sp. utilisées comme inoculum dans cette étude. Des résultats similaires ont été observés avec *A. mangium* et *A. auriculiformis* sur le même sol (Diouf *et al.*, 2005) et suggèrent la nécessité d'inoculer le sol avec des rhizobiums sélectionnés pour améliorer la tolérance au sel de cette légumineuse ligneuse, largement répandue au Sahel.

4.2. L'INOCULATION MICROBIENNE PEUT AMELIORER LA TOLERANCE AU STRESS SALIN DES PLANTS D'*A. SEYAL*

Le poids de matière sèche des plants a été utilisé comme critère pour évaluer la tolérance relative des plantes au sel (Cordovilla *et al.*, 1999). Nos résultats montrent que les effets du sel sur la croissance et la productivité des plants ne sont pas toujours négatifs. Une dose de NaCl de 170 mM dans le milieu de culture stimule le développement du poids de matière sèche des racines des plants. Des résultats similaires ont été précédemment rapportés (Anthraper et DuBois, 2003 ; Hussain *et al.*, 1995). En effet, certaines légumineuses ligneuses telles que *Prosopis* spp. et *Acacia* spp., peuvent contracter des relations symbiotiques avec des rhizobium et fixer l'azote même en conditions de forte salinité (Zahran, 1999 ; Zhang *et al.*, 1991). Cela indique que la sensibilité de la symbiose au stress salin n'est pas un phénomène universel (Cordovilla *et al.*, 1999). La présente étude montre que, dans un sol salin, une inoculation avec des souches de *Mesorhizobium* sp. et de *Glomus* spp. peut favoriser l'installation des plants et stimuler leur croissance. En conditions de stress salin, la biomasse sèche totale des plants inoculés augmente significativement comparativement à celle des plants non inoculés. Ce résultat appuie les conclusions

précédentes qui démontrent que les plants inoculés avec des CMA et/ou des rhizobiums croissent mieux en conditions de stress salin que les plants non inoculés (Al-Karaki, 2000 ; Diouf *et al.*, 2005 ; Giri *et al.*, 2007 ; Serraj, 2002). Nos résultats montrent une relation synergique en conditions de stress salin entre les rhizobiums et les CMA. En fait, la réaction d'une plante à une double ou triple inoculation peut conduire à des effets antagonistes ou synergiques en fonction des souches bactériennes et fongiques utilisées ou du biovar de la plante hôte. Ces effets entraînent des effets dépressifs ou stimulants sur la croissance des plants. Des effets antagonistes ont été notés chez *Dalbergia nigra* entre souches de champignons (*Gigaspora* sp. et *Glomus* sp.) et de *Bradyrhizobium* sp. (Santiago *et al.*, 2002). Alors que la double inoculation de plants d'*A. mangium* avec des souches de *Bradyrhizobium* sp. et de *G. intraradices* a stimulé la croissance des plants en cultures aéroponiques (Weber *et al.*, 2005) et sur sol en pépinière (Diouf *et al.*, 2005). Ces effets antagonistes seraient liés à une compétition trophique entre les symbiotes pour l'approvisionnement en squelettes carbonés (Weber *et al.*, 2005).

4.3. EFFET DE L'INOCULATION SUR LA NUTRITION MINERALE DES PLANTS SOUS CONTRAINTE SALINE

La croissance des plants et l'acquisition des éléments minéraux sont stimulées par la double inoculation au même titre que la mycorhization et la nodulation des plants. Des résultats similaires ont été signalés sur des cultivars de soja (Meghvansi *et al.*, 2008) et des plants d'*A. cyanophylla* (Hatimi, 1999) inoculés avec des rhizobiums et des CMA. Il semble que le cocktail de souches de CMA, non seulement améliore la nodulation et la fixation d'azote, mais pourrait aussi modifier le développement des inoculum bactériens le long du système racinaire, ce qui suggère que les relations spécifiques peuvent survenir durant le développement de la symbiose tripartite, aux niveaux physiologiques et moléculaire (André *et al.*, 2003 ; Garg et Manchanda, 2008).

Les concentrations en éléments nutritifs (N, P, Na et K) ont augmenté de façon significative dans les organes des plants inoculés par rapport aux plants non inoculés. Une meilleure assimilation des éléments nutritifs (N et P) des plants inoculés peut améliorer leur croissance en conditions de stress salin et réprimer les effets néfastes du stress salin. Les souches de bactéries et les champignons mycorhiziens contribuent à la croissance des plants sous stress

salin par un approvisionnement accru, respectivement en azote et en phosphore. Nos résultats montrent que les concentrations en N et en P des racines et des parties aériennes sont plus élevées chez les plants inoculés par rapport à des plants témoins non inoculés, quel que soit le niveau du stress salin. L'amélioration de la nodulation et la fixation d'azote par les CMA sont universellement reconnues. Nos résultats montrent que l'effet positif de la double inoculation avec les rhizobiums et les CMA sur la nutrition des plants est plus évident en conditions de stress salin (Diouf *et al.*, 2005 ; Hatimi, 1999).

Contrairement aux résultats obtenus sur des plants d'*A. nilotica* inoculés avec des CMA, *Glomus fasciculatum* par Giri *et al.* (2007), la concentration en Na des racines et des parties aériennes est plus élevée chez les plants inoculés par rapport aux plants témoins non inoculés. Les concentrations en Na et K des racines et des parties aériennes augmentent avec les niveaux de salinité. Des concentrations élevées en K dans les parties aériennes et les racines des plants en conditions de stress salin, pourraient être bénéfiques pour maintenir un rapport K/Na élevé et ainsi influencer l'équilibre ionique du cytoplasme (Founoune *et al.*, 2002). La littérature rapporte qu'en général, l'augmentation de la concentration de Na dans les parties aériennes et les racines est due en premier lieu à une augmentation du transport (Rogers *et al.*, 2003). Toutefois, cette augmentation de concentrations dans les parties aériennes peut avoir des effets néfastes sur la croissance et la survie des plantes (Barrett-Lennard, 2003).

4.4. TENEUR EN PROLINE DES FEUILLES EN RAPPORT AVEC LA SALINITE

La présence de NaCl dans le substrat d'enracinement a provoqué une importante accumulation de proline dans les feuilles, avec cependant une différence en fonction du traitement microbien. Les valeurs les plus élevées ont été enregistrées chez les plants inoculés avec des rhizobiums. Dans les autres traitements microbiens, l'augmentation de la teneur en proline des feuilles est positivement corrélée à la dose de sel appliquée, même si le stress salin n'a pas significativement affecté la croissance des plants. Une teneur en proline 20 fois plus importante a été notée dans les feuilles de plants halophytes de *Plantago crassifolia* traités avec 500 mM NaCl (Vicente *et al.*, 2004). La concentration en proline de nombreuses halophytes a été jugée plus élevée que celle des glycophytes (Ashraf et Harris, 2004). Ces tendances laissent penser que la proline est impliquée dans la tolérance au sel des plants

d'*A. seyal* en assurant un rôle protecteur des tissus en conditions de stress salin élevé (Jain *et al.*, 2001 ; Vicente *et al.*, 2004). Cependant, il existe une grande controverse sur l'accumulation de proline, qui semble être plus un symptôme de vulnérabilité au stress qu'une réponse adaptative (Cordovilla *et al.*, 1996), et son utilisation comme critère de sélection pour la tolérance au sel est remise en cause (Ashraf et Harris, 2004).

En effet, le taux d'accumulation de la proline dans la plante varie en fonction des organes (Silveira *et al.*, 2001). Des études antérieures ont montré que le taux d'accumulation de la proline dans les feuilles et les racines n'était pas lié au niveau de tolérance au sel chez les espèces d'acacias australiens et donc ne pouvait pas servir comme indice de tolérance au sel pour ces espèces d'acacias, même si une corrélation positive a été notée entre le niveau du stress salin et le taux d'accumulation de proline (Yokota, 2003).

5. RÉFÉRENCES

- Al-Karaki, G., McMichael, B. & Zak, J. (2004). Field response of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress. *Mycorrhiza*, 14: 263-269.
- Al-Karaki, G.N. (2000). Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. *Mycorrhiza*, 10: 51-54.
- Al-Karaki, G.N. (2006). Nursery inoculation of tomato with arbuscular mycorrhizal fungi and subsequent performance under irrigation with saline water. *Science Horticultura*, 109: 1-7.
- Al-Karaki, G.N., Hammad, R. & Rusan, M. (2001). Response of two tomato cultivars differing in salt tolerance to inoculation with mycorrhizal fungi under salt stress. *Mycorrhiza*, 11: 43-47.
- Aliasgharzadeh, N., Rastin, N.S., Towfighi, H. & Alizadeh, A. (2001). Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in saline soils of the Tabriz Plain of Iran in relation to some physical and chemical properties of soil. *Mycorrhiza*, 11: 119-122.
- Allen, O.N. & Allen, E.K. (1981). *The Leguminosae: A source book of characteristics, uses and nodulation*. The University of Wisconsin Press, Madison. 812 p.

- André, S., Neyra, M. & Duponnois, R. (2003). Arbuscular mycorrhizal symbiosis changes the colonization pattern of *Acacia tortilis* spp. *raddiana* rhizosphere by two strains of rhizobia. *Microbial Ecology*, 45: 137-144.
- Anthraper, A. & DuBois, J.D. (2003). The effect of NaCl on growth, N₂ fixation (acetylene reduction), and percentage total nitrogen in *Leucaena leucocephala* (Leguminosae) var. K-8. *American Journal of Botany*, 90: 683-692.
- Ashraf, M. & Harris, P.J.C. (2004). Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, 166: 3-16.
- Barbiero, L., Mohamedou, A.O., Laperrousaz, C., Furian, S. & Cunnac, S. (2004). Polyphasic origin of salinity in the Senegal delta and middle valley. *Catena*, 58: 101-124.
- Barrett-Lennard, E.G. (2003). The interaction between waterlogging and salinity in higher plants: causes, consequences and implications. *Plant and Soil*, 253: 35-54.
- Boivin, P. & Job, J.O. (1988). Conductivimétrie électromagnétique et cartographie automatique des sols salés. *Cahiers ORSTOM de Pédologie* 24.
- Colla, G., Roupael, Y., Cardarelli, M., Tullio, M., Rivera, C. & Rea, E. (2008). Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal in zucchini plants grown at low and high phosphorus concentration. *Biology and Fertility of Soils*, 44: 501-509.
- Cordovilla, M.D.P., Berrido, S.I., Ligeró, F. & Lluch, C. (1999). Rhizobium strain effects on the growth and nitrogen assimilation in *Pisum sativum* and *Vicia faba* plant growth under salt stress. *Journal of Plant Physiology*, 154: 127-131.
- Cordovilla, M.P., Ligeró, F. & Lluch, C. (1996). Growth and nitrogen assimilation in nodules in response to nitrate levels in *Vicia faba* under salt stress. *Journal of Experimental Botany*, 47: 203-210.
- Diouf, D., Duponnois, R., Ba, A.T., Neyra, M. & Lesueur, D. (2005). Symbiosis of *Acacia auriculiformis* and *Acacia mangium* with mycorrhizal fungi and *Bradyrhizobium* spp. improves salt tolerance in greenhouse conditions. *Functional Plant Biology*, 32: 1143-1152.

- Diouf, D., Ndoye, I., Fall, D., Kane, A., Ba, A.T. & Neyra, M. (2008). Caractérisation phénotypique et symbiotique de souches de *Mesorhizobium* spp. nodulant *Acacia seyal* Del. Journal des Sciences et Technologies, 7: 1-10.
- Diouf, D., Samba-Mbaye, R., Lesueur, D., Ba, A.T., Dreyfus, B., de Lajudie, P. & Neyra, M. (2007). Genetic diversity of *Acacia seyal* Del. rhizobial populations indigenous to Senegalese soils in relation to salinity and pH of the sampling sites. Microbial Ecology, 54: 553-566.
- Dommergues, Y.R. (1995). Nitrogen fixation by trees in relation to soil nitrogen economy. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 42: 215-230.
- Duponnois, R., Founoune, H. & Lesueur, D. (2002). Influence of the controlled dual ectomycorrhizal and rhizobal symbiosis on the growth of *Acacia mangium* provenances, the indigenous symbiotic microflora and the structure of plant parasitic nematode communities. Geoderma, 109: 85-102.
- Fall, D., Diouf, D., Neyra, M., Diouf, O. & Diallo, N. (2009). Physiological and biochemical responses of *Acacia seyal* (Del.) seedlings under salt stress conditions. Journal of Plant Nutrition, 32: 1122 -1136.
- Fall, D., Diouf, D., Ourarhi, M., Faye, A., Abdelmounen, H., Neyra, M., Sylla, S.N. & Missbah El Idrissi, M. (2008). Phenotypic and genotypic characteristics of *Acacia senegal* (L.) Willd. root-nodulating bacteria isolated from soils in the dryland part of Senegal. Letters in Applied Microbiology, 47: 85-97.
- Founoune, H., Duponnois, R., Ba, A.M. & El Bouami, F. (2002). Influence of the dual arbuscular endomycorrhizal/ectomycorrhizal symbiosis on the growth of *Acacia holosericea* (A. Cunn. ex G. Don) in glasshouse conditions. Annals of Forest Science, 59: 93-98.
- Garg, N. & Manchanda, G. (2008). Effect of Arbuscular Mycorrhizal inoculation on salt-induced nodule senescence in *Cajanus cajan* (Pigeonpea). Journal of Plant Growth Regulation, 27: 115-124.
- Garg, N. & Manchanda, G. (2009). Role of Arbuscular Mycorrhizae in the alleviation of Ionic, osmotic and oxidative stresses induced by salinity in *Cajanus cajan* (L.) Millsp. (pigeonpea). Journal of Agronomy and Crop Science, 195: 110-123.

- Giri, B., Kapoor, R. & Mukerji, K.G. (2003). Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and salinity on growth, biomass, and mineral nutrition of *Acacia auriculiformis*. *Biology and Fertility of Soils*, 38: 170-175.
- Giri, B., Kapoor, R. & Mukerji, K. (2007). Improved tolerance of *Acacia nilotica* to salt stress by arbuscular mycorrhiza, *Glomus fasciculatum* may be partly related to elevated K/Na ratios in root and shoot tissues. *Microbial Ecology*, 54: 753-760.
- Hatimi, A. (1999). Effect of salinity on the association between root symbionts and *Acacia cyanophylla* Lind.: growth and nutrition. *Plant and Soil*, 216: 93-101.
- Hussain, G., Al-Jaloud, A., Al-Shammery, S. & Karimulla, S. (1995). Effect of saline irrigation on the biomass yield, and the protein, nitrogen, phosphorus, and potassium composition of alfalfa in a pot experiment. *Journal of Plant Nutrition*, 18: 2389-2408.
- Jain, M., Mathur, G., Koul, S. & Sarin, N.B. (2001). Ameliorative effects of proline on salt stress-induced lipid peroxidation in cell lines of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Plant Cell Reports*, 20: 463-468.
- Juniper, S. & Abbott, L. (1993). Vesicular-arbuscular mycorrhizas and soil salinity. *Mycorrhiza*, 4: 45-57.
- Juniper, S. & Abbott, L.K. (2006). Soil salinity delays germination and limits growth of hyphae from propagules of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 16: 371-379.
- Manga, A., Diop, T.A., van Tuinen, D. & Neyra, M. (2007). Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Acacia seyal* in a semiarid zone of Senegal. *Sécheresse*, 18: 129-133.
- Meghvansi, K.M., Prasad, K., Harwani, D. & Mahna, S. (2008). Response of soybean cultivars toward inoculation with three arbuscular mycorrhizal fungi and *Bradyrhizobium japonicum* in the alluvial soil. *European Journal of Soil Biology*, 44: 316-323.
- Monneveux, P. & Nemmar, M. (1986). Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et le blé dur (*Triticum durum* Desf.) Etude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. *Agronomie*, 6: 583-590.

- Munns, R. (2005). Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist*, 167: 645-663.
- Ndoye, I., Gueye, M., Danso, S.K.A. & Dreyfus, B. (1995). Nitrogen fixation in *Faidherbia albida*, *Acacia raddiana*, *Acacia senegal* and *Acacia seyal* estimated using the ¹⁵N isotope dilution technique. *Plant and Soil*, 172: 175-180.
- Odee, D.W., Sutherland, J.M., Makatiani, E.T., McInroy, S.G. & Sprent, J.I. (1997). Phenotypic characteristics and composition of rhizobia associated with woody legumes growing in diverse Kenyan conditions. *Plant and Soil*, 188: 65-75.
- Oliveira, V.L., Schmidt, V.D.B. & Bellei, M.M. (1997). Patterns of arbuscular- and ectomycorrhizal colonization of *Eucalyptus dunnii* in southern Brazil. *Annales des Sciences Forestières*, 54: 473-481.
- Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S. & Dean, L.A. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. *In* USDA Circular 939. U.S. Department of Agriculture, Washington D.C.
- Palmieri, M. & Swatzell, L.J. (2004). Mycorrhizal fungi associated with the fern *Cheilanthes lanosa*. *Northeastern Naturalist*, 11: 57-66.
- Phillips, J.M. & Hayman, D.S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55: 158-161.
- Plenchette, C., Perrin, R. & Duvert, P. (1989). The concept of soil infectivity and method for its determination as applied to endomycorrhizas. *Canadian Journal of Botany*, 67: 12-115.
- Qadir, M. & Schubert, S. (2002). Degradation processes and nutrient constraints in sodic soils. *Land Degradation & Development*, 13: 275-294.
- Requena, N., Perez-Solis, E., Azcon-Aguilar, C., Jeffries, P. & Barea, J-M. (2001). Management of indigenous plant-microbe symbioses aids restoration of desertified ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 495-498.

- Rogers, M.E., Grieve, C.M. & Shannon, M.C. (2003). Plant growth and ion relations in lucerne (*Medicago sativa* L.) in response to the combined effects of NaCl and P. *Plant and Soil*, 253: 187-194.
- Ruiz-Lozano, J.M. & Azcón, R. (2000). Symbiotic efficiency and infectivity of an autochthonous arbuscular mycorrhizal *Glomus* sp. from saline soils and *Glomus deserticola* under salinity. *Mycorrhiza*, 10: 137-143.
- Santiago, G.M., Garcia, Q. & Scotti, M.R. (2002). Effect of post-planting inoculation with *Bradyrhizobium* sp and mycorrhizal fungi on the growth of Brazilian rosewood, *Dalbergia nigra* Allem. ex Benth., in two tropical soils. *New Forests*, 24: 15-25.
- Saxena, A., Shende, R. & Grover, M. (2006). Interactions among beneficial microorganisms. *In* *Microbial Activity in the Rhizosphere*. pp 121-137.
- Serraj, R. (2002). Response of symbiotic nitrogen fixation to drought and salinity. *Physiology and Molecular Biology of Plant*, 8: 77-86.
- Sheng, M., Tang, M., Chen, H., Yang, B., Zhang, F. & Huang, Y. (2008). Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza*, 18: 287-296.
- Silveira, J.A.G, Melo, A.R.B., Viégas, R.A. & Oliveira, J.T.A (2001). Salinity-induced effects on nitrogen assimilation related to growth in cowpea plants. *Environmental and Experimental Botany*, 46: 171-179.
- Singh, G. (2009). Salinity-related desertification and management strategies: Indian experience. *Land Degradation & Development*, 20: 367-385.
- Smith, S. & Read, D. (1997). *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, New York.
- Thrall, P.H., Millsom, D.A., Jeavons, A.C., Waayers, M., Harvey, G.R., Bagnall, D.J. & Brockwell, J. (2005). Seed inoculation with effective root-nodule bacteria enhances revegetation success. *Journal of Applied Ecology*, 42: 740-751.
- Trouvelot, A., Fardeau, J.C., Planchette, C., Gianinazzi, S. & Gianinazzi-Pearson, V. (1986). Nutritional balance and symbiotic expression in mycorrhizal wheat. *Physiologie Vegetale*, 24: 300.

- Vicente, O., Boscain, M., Naranjo, M.A., Estrella, E., Bellé, J.M. & Soriano, P. (2004). Responses to salt stress in the halophyte *Plantago crassifolia* (Plantaginaceae). *Journal of Arid Environments*, 58: 463-481.
- Weber, J., Ducouso, M., Tham, F.Y., Nourissier-Mountou, S., Galiana, A., Prin, Y. & Lee, S.K. (2005). Co-inoculation of *Acacia mangium* with *Glomus intraradices* and *Bradyrhizobium* sp. in aeroponic culture. *Biology and Fertility of Soils*, 41: 233-239.
- Yang, J., Kloepper, J.W. & Ryu, C-M. (2009). Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in Plant Science*, 14: 1-4.
- Yokota, S. (2003). Relationship between salt tolerance and proline accumulation in Australian acacia species. *Journal of Forest Research*, 8: 89-93.
- Zahran, H.H. (1999). Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63: 968-989.
- Zeng, N. (2003). Atmospheric science. Drought in the Sahel. *Science*, 302: 999-1000.
- Zhang, X., Harper, R., Karsisto, M. & Lindström, K. (1991). Diversity of rhizobium bacteria isolated from the root nodules of leguminous trees. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 41: 104-113.
- Zou, N., Dart, P.J. & Marcar, N.E. (1995). Interaction of salinity and rhizobial strain on growth and N₂-fixation by *Acacia ampliceps*. *Soil Biology and Biochemistry*, 27: 409-413.

BIOTECHNOLOGIE ET MYCORHIZATION CONTROLEE EN MILIEU TROPICAL

Par Duponnois R.¹, Bâ A. M.², Galiana A.³, Baudoin E.¹, Sanguin H.³, Lebrun M.¹, Prin Y.³

¹ IRD. UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/SUP-AGRO/UM2. Laboratoire des symbioses tropicales et méditerranéennes (LSTM). Campus international de Baillarguet. Montpellier Cedex 5. France

² Laboratoire commun de microbiologie IRD/Isra/Ucad. Centre de recherche de Bel Air. Dakar. Sénégal

³ CIRAD. UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/SUP-AGRO/UM2.. Laboratoire des symbioses tropicales et méditerranéennes (LSTM). TA A-82/J, Campus international de Baillarguet. Montpellier Cedex 5. France

1. INTRODUCTION

La surexploitation des ressources forestières résultant d'activités industrielles (industrie papetière, etc.) ou de pratiques assurant les besoins des populations locales (ex : bois de chauffe, bois d'œuvre, etc.) a abouti à une déforestation significative au cours de ces dernières décennies dans les régions tropicales et méditerranéennes (Piéri, 1991). Une des conséquences de cette paupérisation du couvert forestier est l'accélération de la dégradation des sols et des processus de désertification qui en découlent et qui entraînent une perte ou une réduction des propriétés physico-chimiques et biologiques des sols (Requena *et al.*, 2001). Cette dégradation de la strate épigée contribue significativement au renforcement des processus d'érosion hydrique et éolienne aboutissant à une baisse de la fertilité tellurique et à des dysfonctionnements dans le fonctionnement biologique des sols (Garcia *et al.*, 1997). Parmi les composantes microbiennes particulièrement sensibles à ces dégradations environnementales figurent les champignons mycorhiziens dont la diversité et l'abondance dans le sol diminuent fortement dans de telles conditions (Duponnois *et al.*, 2001 ; Azcon-Aguilar *et al.*, 2003). Ce constat est d'autant plus pertinent que l'établissement de la symbiose mycorhizienne mobilise et facilite le transfert d'éléments nutritifs (N, P) vers la plante, améliore l'aggrégation des sols érodés et enfin entraîne une meilleure résistance des plantes aux déficits hydriques (Smith et Read, 1997).

Les champignons mycorhiziens sont présents dans pratiquement tous les écosystèmes terrestres et sont considérés comme des éléments clés dans les processus biologiques régissant le fonctionnement des principaux cycles biogéochimiques terrestres et l'évolution spatio-temporelle du couvert végétal (van der Heijden *et al.*, 1998 ; Requena *et al.*, 2001 ; Schreiner *et al.*, 2003). Deux types principaux d'associations mycorhiziennes sont distingués : les mycorhizes à arbuscules (MA) et les ectomycorhizes (ECM). La symbiose mycorhizienne à arbuscules est majoritairement présente dans le règne végétal et intéresse les ptéridophytes, les gymnospermes et les angiospermes (Read *et al.*, 2000). Ces symbiotes fongiques sont associés à environ 80-90 % des plantes terrestres dans les écosystèmes et agrosystèmes (Brundrett, 2002). Les ectomycorhizes sont observées au niveau des racines d'arbres, arbustes et parfois d'herbacées pérennes (ex : *Helianthemum* spp.) et résultent de l'association d'Homobasidiomycètes avec environ 20 familles de plantes (Smith et Read, 1997). Ces espèces végétales contractent des relations symbiotiques avec une grande diversité de champignons ectomycorhiziens évaluée entre 4 000 et 6 000 espèces, principalement des Basidiomycètes et Ascomycètes (Allen *et al.*, 1995 ; Valentine *et al.*, 2004). La distribution

des champignons ectomycorhiziens n'est pas uniforme au niveau spatial et temporel en termes d'abondance et de diversité. Cette répartition hétérogène au sein de l'écosystème est un facteur important à prendre en compte dans les opérations de reboisement, plus particulièrement lorsque la végétation présentant un statut ectotrophe s'est raréfiée (Marx, 1991) ou lorsque le potentiel ectomycorhizien des sols a subi de profondes dégradations à la suite d'événements d'origine naturelle (Terwilliger et Pastor, 1999) ou anthropique (Jones *et al.*, 2003).

La carence en structures ectomycorhiziennes au sein des racines des arbres est la cause principale des dysfonctionnements observés dans l'évolution spatio-temporelle des écosystèmes forestiers tant au niveau de la structure et de la productivité du couvert végétal que de sa capacité de résilience envers divers stress environnementaux. De nombreuses études ont montré que des champignons ectomycorhiziens spécifiques sont capables d'améliorer la croissance juvénile de certaines espèces forestières et d'atténuer les effets de la crise de transplantation (Castellano et Molina, 1989 ; Kropp et Langlois, 1990 ; Marx *et al.*, 1991 ; Castellano, 1996 ; Roldan *et al.*, 1996 ; Garbaye et Churin, 1997 ; Duponnois *et al.*, 2005, 2007). Comme il est estimé que la symbiose mycorhizienne est présente chez 95 % des espèces végétales au sein d'un couvert végétal non ou peu perturbé et que ce pourcentage sera uniquement de 1 % dans le cas d'écosystèmes perturbés, le potentiel mycorhizien des sols doit être rétabli afin de valoriser l'effet « symbiose » pour améliorer la croissance de la plante hôte et ainsi optimiser la performance d'opérations de reboisement. Une des voies d'action pour atteindre cet objectif est d'inoculer en masse au substrat de culture des propagules mycorhiziennes afin d'assurer le transfert en milieu naturel de plants « outillés » (en termes d'intensité de colonisation des racines par le symbiote fongique) pour supporter la crise de transplantation et présenter une croissance optimale dans des sols carencés en éléments nutritifs. Cependant, l'effet positif sur la croissance de la plante de l'association mycorhizienne est fonction du ou des symbiotes fongiques inoculés et de la plante hôte (Guelh *et al.*, 1990 ; Bâ *et al.*, 2002 ; Duponnois et Planchette, 2003). Cette variabilité dans la réponse de la plante à l'inoculation mycorhizienne dépend de plusieurs facteurs comme le degré de compatibilité entre les deux composantes de la symbiose (plante/symbiote fongique), la dépendance mycorhizienne de la plante hôte, l'efficacité du champignon en termes d'effet sur la croissance de la plante en rapport avec les caractéristiques biotiques et abiotiques du milieu (Garbaye, 1988). Afin d'augmenter la performance des programmes de reboisement, il est nécessaire que les pépinières forestières produisent des plants mycorhizés par des souches fongiques performantes et adaptées aux conditions écologiques rencontrées au niveau du site

de plantation. En fonction de ces paramètres pris en considération, différentes méthodes d'inoculation contrôlée sont susceptibles d'être identifiées afin d'optimiser l'effet fongique sur la croissance de la plante hôte.

Le principal objectif de cette contribution est de présenter différentes méthodes basées sur une production en masse d'inocula fongiques performants et de synthétiser les données disponibles montrant l'intérêt de recourir à la mycorhization contrôlée pour améliorer les performances d'opérations de reboisement en milieu tropical et méditerranéen.

2. CRITERES DETERMINANT LE CHOIX DU TYPE DE FORMULATION DE L'INOCULUM FONGIQUE

Les critères principaux permettant d'identifier le type d'inoculum fongique à utiliser peuvent être résumés de la façon suivante :

- le degré de l'impact de la souche fongique sélectionnée sur la croissance et l'état sanitaire des espèces forestières utilisées dans les projets de plantation ;
- la capacité des propagules fongiques à conserver leur viabilité après différents temps de conservation et maintenir ainsi leur efficacité sur la croissance de la plante au moment de l'inoculation du substrat ;
- le coût de la production et de la formulation de l'inoculum fongique qui doit être compatible avec les capacités socio-économiques des utilisateurs potentiels.

3. LES SPORES FONGIQUES COMME SOURCE D'INOCULUM MYCORHIZIEN

Les spores collectées à partir de fructifications peuvent être utilisées comme inoculum naturel mycorhizien. Cette pratique a été largement développée dans les pépinières forestières (Castellano, 1994). Cependant, l'inoculation basée sur l'introduction des spores dans le substrat de culture est particulièrement dépendante du symbiote fongique et est limitée à certains champignons tels que *Pisolithus* et *Scleroderma*.

3.1. INOCULUM DE TYPE « SPORES » ET EFFET SUR LA CROISSANCE DE LA PLANTE HOTE

Il existe différentes formulations d'inocula fongiques de type « spores ». Quelle que soit la formulation finale de l'inoculum, la première étape du processus repose sur la collecte de carpophores soigneusement identifiés et conservés dans des sacs en papier. Ces carpophores sont ensuite brossés afin d'éliminer les éléments indésirables (fragments de racines, traces de sol, etc.) puis mis à incuber dans l'obscurité à 35 °C environ. Le matériel ainsi séché est broyé dans des sacs en plastique puis tamisé à 200-500 µm. Ce produit séché est ensuite mélangé à différents types de substrat inerte pour aboutir aux formulations suivantes :

– La poudre de spores est mélangée à un sable fin préalablement stérilisé (140 °C, 20 min) au ratio de 1 pour 100 (m/m). Les supports cultureux sont ensuite remplis par le substrat de culture amendé par l'inoculum fongique ou l'inoculum fongique est placé dans le trou de plantation du jeune semis.

– La poudre de spores est incluse dans un support inerte (ex : argile) pour obtenir des granules qui seront placés dans le trou de plantation de la jeune plantule (de la Cruz *et al.*, 1990). Turjaman *et al.* (2005) ont évalué l'effet de différents champignons ectomycorhiziens sur la croissance de plusieurs espèces de diptérocarpacées dans une expérience réalisée en conditions contrôlées. Des carpophores prélevés en milieu naturel ont été broyés manuellement dans des sacs en plastique afin de minimiser la perte de spores et d'éventuelles contaminations entre les souches fongiques testées (de la Cruz *et al.*, 1990). Les carpophores broyés ont ensuite été mélangés à une argile pour former des granules au ratio de 1 pour 100 (m/m). L'inoculation a été réalisée 10 jours après la germination des graines. Un trou a été matérialisé dans chaque pot pour y introduire l'inoculum fongique (0,4 g) à environ 1 cm en dessous de la surface du sol à proximité de la racine.

– Un autre processus d'inoculation, basé sur l'utilisation de spores ectomycorhiziennes, repose sur l'enrobage des graines par un mélange de spores et d'un agent collant comme l'argile (Marx *et al.*, 1984).

Les effets positifs sur la croissance de la plante résultant de l'inoculation ectomycorhizienne dans des conditions de pépinières forestières, ont été fréquemment publiés (tabl. 1). Toutefois, cette technique souffre de limites qui sont résumées de la façon suivante :

– difficultés de collecter de grandes quantités de carpophores pour certaines espèces fongiques,

Tableau 1. Impact de l'inoculation par des spores de champignons ectomycorhiziens sur la croissance de la plante hôte en pépinière.

Ref. ⁽¹⁾	Souche	Plante	Formulation Inoculum	Effets sur la croissance (%) et l'infection ectomycorhizienne			
				Hauteur	BA ⁽²⁾	BR ⁽³⁾	IE (%) ⁽⁴⁾
A	<i>Pisolithus arhizus</i>	<i>Shorea pinanga</i>	Granules	+ 46,1 ⁽⁵⁾	+ 66,7	nd ⁽⁶⁾	87
A	<i>Scleroderma</i> sp.	<i>S. pinanga</i>	Granules	+ 41,3	+ 60,5	nd	86
B	<i>P. tinctorius</i>	<i>Acacia mangium</i>	Granules	nd	+ 29,1	+ 40,7	52
C	<i>Rhizopogon roseolus</i>	<i>Pinus halepensis</i>	Suspension sporale	- 30,1	nd	nd	48
C	<i>Suillus collinitus</i>	<i>Pinus halepensis</i>	Suspension sporale	+ 27,8	nd	nd	75
D	<i>Scleroderma albidum</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>	Suspension sporale	+ 32,1	+ 19,7	+ 42,5	nd
D	<i>S. areolatum</i>	<i>E. globulus</i>	Suspension sporale	+ 17,5	+ 9,1	+ 33,5	nd
D	<i>S. cepa</i>	<i>E. globulus</i>	Suspension sporale	+ 30,8	+ 8,8	+ 2,0	nd
D	<i>S. albidum</i>	<i>E. urophylla</i>	Suspension sporale	- 3,6	+ 3,1	- 0,7	nd
D	<i>S. areolatum</i>	<i>E. urophylla</i>	Suspension sporale	+ 7,2	+ 4,9	+ 4,0	nd
D	<i>S. cepa</i>	<i>E. urophylla</i>	Suspension sporale	+ 6,3	+ 13,0	+ 1,4	nd
E	<i>P. tinctorius</i>	<i>P. halepensis</i>	Spore suspension	+ 37,1	+ 44,9	+ 41,7	55,4
E	<i>R. roseolus</i>	<i>P. halepensis</i>	Suspension sporale	+ 38,3	+ 44,6	+ 28,6	39,5
E	<i>Suillus collinitus</i>	<i>P. halepensis</i>	Suspension sporale	+ 35,1	+ 28,2	+ 30,6	28,9

⁽¹⁾ Ref. : Référence : A : Turjaman *et al.* (2005). B : Aggangan *et al.* (2010). C : Rincon *et al.* (2007). D : Chen *et al.* (2006). E : Torres et Honrubia (1994). ⁽²⁾ Biomasse aérienne. ⁽³⁾ Biomasse racinaire. ⁽⁴⁾ Infection ectomycorhizienne. ⁽⁵⁾ (valeur moyenne des plants mycorhizés – valeur moyenne des plants non mycorhizés) x 100 (valeur moyenne des plants mycorhizés). ⁽⁶⁾ nd : non déterminé.

– efficacité limitée de ce type d'inoculum fongique due à la germination lente des spores ou la faible viabilité des spores.

Malgré ces quelques critiques, ce processus d'inoculation est facile à mettre en œuvre et reste une technique efficace pour le transport et la conservation des spores pour certains champignons ectomycorhiziens tels que *Pisolithus* or *Scleroderma*.

4. INOCULUM FONGIQUE DE TYPE « VEGETATIF »

Cette formulation d'inoculum requiert des cultures pures de souches de champignons ectomycorhiziens généralement obtenues à partir de carpophores de champignons ectomycorhiziens collectés en milieu naturel, mais également en utilisant des racines ectomycorhizées, des sclérotés, des rhizomorphes et des spores (Molina et Palmer, 1982). Dans ce chapitre, les techniques visant à obtenir des cultures pures de champignons ectomycorhiziens seront décrites.

4.1. ISOLEMENT DE SOUCHES FONGIQUES A PARTIR DE CARPOPHORES

Cette procédure est généralement considérée comme la méthode la plus performante pour obtenir des cultures pures de champignons ectomycorhiziens. Les carpophores sont brossés à l'aide d'une brosse fine pour éliminer les éléments indésirables susceptibles d'introduire des contaminants microbiens (fragments de racines, particules de sol, etc.) puis divisés en deux parties en conditions axéniques dans une hotte à flux laminaire pour faire apparaître la chair pilérique du carpophore. Un petit fragment de chair pilérique (5 x 5 x 5 mm environ) est alors prélevé à l'aide d'un scalpel et placé dans une boîte de Petri remplie avec un milieu nutritif gélosé. Étant donné que les besoins nutritionnels varient en fonction de l'espèce fongique isolée, différents milieux nutritifs peuvent être utilisés (tabl. 2). Les cultures fongiques sont mises à incuber à 25 °C dans l'obscurité et différents repiquages successifs seront opérés jusqu'à l'élimination finale de tous contaminants microbiens indésirables. Les souches sont conservées en pratiquant des repiquages toutes les 6 à 12 semaines en fonction de la souche fongique cultivée.

Tableau 2. Composition de milieux nutritifs généralement utilisés dans les procédés d'isolement et de culture des champignons ectomycorhiziens (d'après Brundrett *et al.*, 1996).

Composition	Milieux nutritifs		
	MMN ⁽¹⁾	Pachlewski ⁽²⁾	FDA ⁽³⁾
Nutriments (mg.l⁻¹)			
(NH ₄) ₂ HPO ₄	250		
NH ₄ Cl			500
C ₄ H ₁₂ N ₂ O ₆ ⁽⁴⁾		500	
KH ₂ PO ₄	500	1000	500
MgSO ₄ 7H ₂ O	150	500	500
CaCl ₂ 2H ₂ O	50	50	
NaCl	25		
Fe EDTA	20	20	
H ₃ BO ₃		2,8	
MnCl ₂ 2H ₂ O		3,0	
ZnSO ₄ 7H ₂ O		2,3	
CuCl ₂ 2H ₂ O		0,63	
Na ₂ Mo ₄ 2H ₂ O		0,27	
Hydrates de C (g.l⁻¹)			
Maltose		5	
Glucose	10	20	20
Malt extract	3		
Vitamines (µg.l⁻¹)			
Thiamine HCl	0,1	0,1	
Agar (g.l⁻¹)	20	20	20
pH			
pH ajusté à	5,8	5,4	5,0

⁽¹⁾ MMN : Modified Menin Norkrans medium (Marx, 1969). ⁽²⁾ Pachlewski medium (Pachlewski et Pachlewski, 1974). ⁽³⁾ Ferry et Das (1968). ⁽⁴⁾ Ammonium tartrate.

4.2. FORMULATION D'INOCULA DE TYPE « VEGETATIF » ET EFFET SUR LA PLANTE HOTE

Ces formulations sont uniquement réalisables avec des souches fongiques capables de se multiplier rapidement et à grande échelle sur différents substrats de culture. Deux principaux supports inertes sont utilisés : la production de mycélium sur un mélange tourbe/vermiculite et la formulation d'inocula ectomycorhizien par inclusion des propagules fongiques dans une matrice formée par un hydrogel tel que l'alginate de calcium.

4.2.1. INOCULA TOURBE – VERMICULITE (Marx et Bryan, 1975)

Des bocaux en verre (1,6 l) remplis par 1,3 l d'un mélange tourbe/vermiculite (4:5-1:5, v:v, pH = 5,5) sont autoclavés (120 °C, 20 min). Un mélange basé sur un ratio tourbe/vermiculite peut également être retenu (2:3-1:3), mais des substances gazeuses émises à partir de la tourbe suite à la désinfection du substrat, peuvent être toxiques pour le champignon et ralentir son développement. En conséquence, le mélange (4:5-1:5, v:v) est généralement appliqué. Le substrat est ensuite humidifié à la capacité au champ avec 600 ml d'une solution nutritive (tabl. 2). Les bocaux sont obturés par un couvercle percé par un trou de 1 cm de diamètre, lui-même bouché par un morceau de coton cardé afin de permettre les échanges gazeux entre le milieu extérieur et l'intérieur du bocal, mais en évitant l'entrée de contaminants microbiens indésirables. Les bocaux ainsi conçus sont de nouveau autoclavés (120 °C, 20 min). Après le refroidissement du substrat de culture, environ 8 implants prélevés à la périphérie de colonies fongiques cultivées sur un milieu nutritif dans des boîtes de Petri, sont introduits dans le bocal à la surface du substrat en conditions axéniques. En fonction de la souche fongique utilisée, le mycélium colonise généralement la totalité du substrat après 6 à 10 semaines d'incubation à 25 °C à l'obscurité. Pour accélérer la multiplication du champignon, le substrat colonisé après 1 à 2 semaines de culture, peut être fragmenté en agitant le bocal et ainsi homogénéiser la distribution du mycélium au sein du substrat de culture dans chaque bocal. Ce type d'inoculum fongique ainsi conditionné peut être conservé pendant environ 6 mois à 4 °C sans que le symbiote perde sa viabilité et son infectivité.

4.2.2. ENCAPSULATION DES PROPAGULES MYCORHIZIENNES DANS DES BILLES D'ALGINATE (Mauperin *et al.*, 1987)

Ce processus permettant l'inclusion de fragments de mycélium dans un gel polymérisé (plus particulièrement l'alginate de calcium) a été décrit par Dommergues *et al.* (1979) et Le Tacon

et al. (1983, 1985). Ce type de formulation est plus efficace que celle basée sur l'utilisation de la tourbe/vermiculite (Mortier *et al.*, 1988), car le mycélium est protégé au sein des gels des différents stress d'origine abiotique (stress hydrique) et biotique (compétition avec d'autres microorganismes du sol). Avec cette technique, il est également possible de déterminer précisément la quantité de mycélium apportée au sol, ainsi que le nombre de propagules viables et efficaces. Différentes méthodes ont été testées pour mesurer la quantité de mycélium présente dans un substrat type tourbe/vermiculite [(Mesure des teneurs en ergostérol, Martin *et al.* (1990) ; Mesure des teneurs en chitine, Vignon *et al.* (1986)], mais aucune n'a donné de résultats fiables et reproductifs, car les substances émises par la tourbe en milieu aqueux interfèrent avec les mesures colorimétriques.

En utilisant une souche fongique capable de se multiplier en milieu liquide sous agitation, une suspension mycélienne est produite dans des flacons de type Erlenmeyer ou dans des fermenteurs remplis par un milieu nutritif liquide approprié. Après une durée de culture dépendante du symbiote fongique utilisé, le mycélium est lavé avec de l'eau distillée afin d'éliminer les résidus de composés nutritifs issus du milieu de culture et finement broyés pour obtenir une masse homogène de propagules fongiques (quelques articles d'hyphes par propagule) et enfin resuspendus dans de l'eau distillée. Le contenu en mycélium de l'inoculum est apprécié en mesurant la biomasse fongique sèche par millilitre ou en dénombrant le nombre de propagules viables (méthode de suspension/dilution et étalement dans des boîtes de Petri contenant un milieu nutritif). Puis la suspension de propagules fongiques est mélangée (1:1, v:v) à une solution contenant 20 g.l⁻¹ d'alginate de sodium et 50 g.l⁻¹ de poudre de tourbe préalablement stérilisée. La suspension finale est injectée dans un tube percé par des trous de 2 mm permettant de laisser goutter la suspension dans un bain de solution de chlorure de calcium (100 g.l⁻¹ CaCl₂). La présence de chlorure de calcium entraîne la polymérisation de l'alginate de Na sous forme d'alginate de calcium formant ainsi des billes solides (Mauperin *et al.*, 1987). Ces billes sont immergées pendant 24 h dans le bain de chlorure de calcium, puis récupérées et lavées à l'eau du secteur pour éliminer les traces de chlorure de calcium et enfin conservées dans des bidons à 4 °C. Ce type d'inoculum peut être conservé en l'état pendant 9 mois sans présenter une perte de qualité. Ces billes sont préparées en utilisant 1 à 2 g de mycélium (poids sec) par litre (Mortier *et al.*, 1988).

4.2.3. ECTOMYCORHIZATION CONTROLEE EN SERRE, PEPINIERE ET EN CONDITIONS DE PLANTATION

Ces procédures ont pour objectifs de tester différentes souches fongiques pour déterminer leur compatibilité avec la plante hôte retenue et de mesurer l'impact du symbiote fongique sur un paramètre donné (ex : effet sur la croissance de la plante) afin de sélectionner les souches les plus performantes susceptibles d'être utilisées dans les opérations de reboisement. Ces approches scientifiques et techniques seront illustrées par les résultats obtenus en milieu tropical avec différentes espèces d'*Acacia* australiens.

4.2.3.1. SELECTION DE SOUCHES FONGIQUES EFFICIENTES EN CONDITIONS CONTROLEES

De jeunes plantules sont cultivées dans un sol préalablement tamisé et désinfecté ou non à la chaleur (120 °C, 20 min) ou dans un substrat inerte de type tourbe/vermiculite (1:1, v:v). Différents types de supports cultureux peuvent être retenus en fonction de l'objectif de l'expérience. L'inoculation ectomycorhizienne est ensuite réalisée en mélangeant l'inoculum au substrat de culture. Le traitement témoin (sol non inoculé par le symbiote) est réalisé en mélangeant avec le sol un mélange tourbe/vermiculite humidifié par la solution nutritive (10/1 ; v:v). De nombreux résultats montrent l'intérêt d'inoculer des souches fongiques performantes quant à leur effet sur la croissance de la plante hôte et le potentiel de cette pratique culturale dans des opérations de reboisement à grande échelle en milieu tropical et méditerranéen (tabl. 3). Malheureusement force est de constater que cette innovation n'est réalisée qu'avec un nombre limité de champignons appartenant généralement aux genres *Laccaria*, *Hebeloma*, *Paxillus*, *Pisolithus*, *Scleroderma*, *Suillus* ou *Rhizopogon* (Castellano, 1996).

4.2.3.2. INOCULATION CONTROLEE AU CHAMP

Il est maintenant parfaitement admis que l'inoculation mycorhizienne contrôlée améliore de façon significative la croissance d'essences forestières dans des milieux particulièrement dégradés. Cependant, la plupart de ces expériences a été réalisée en conditions de serre et peu de résultats attestent de l'effet durable de l'impact du champignon sur le développement de la plante hôte en conditions naturelles non contrôlées, plus particulièrement en milieu sahélien.

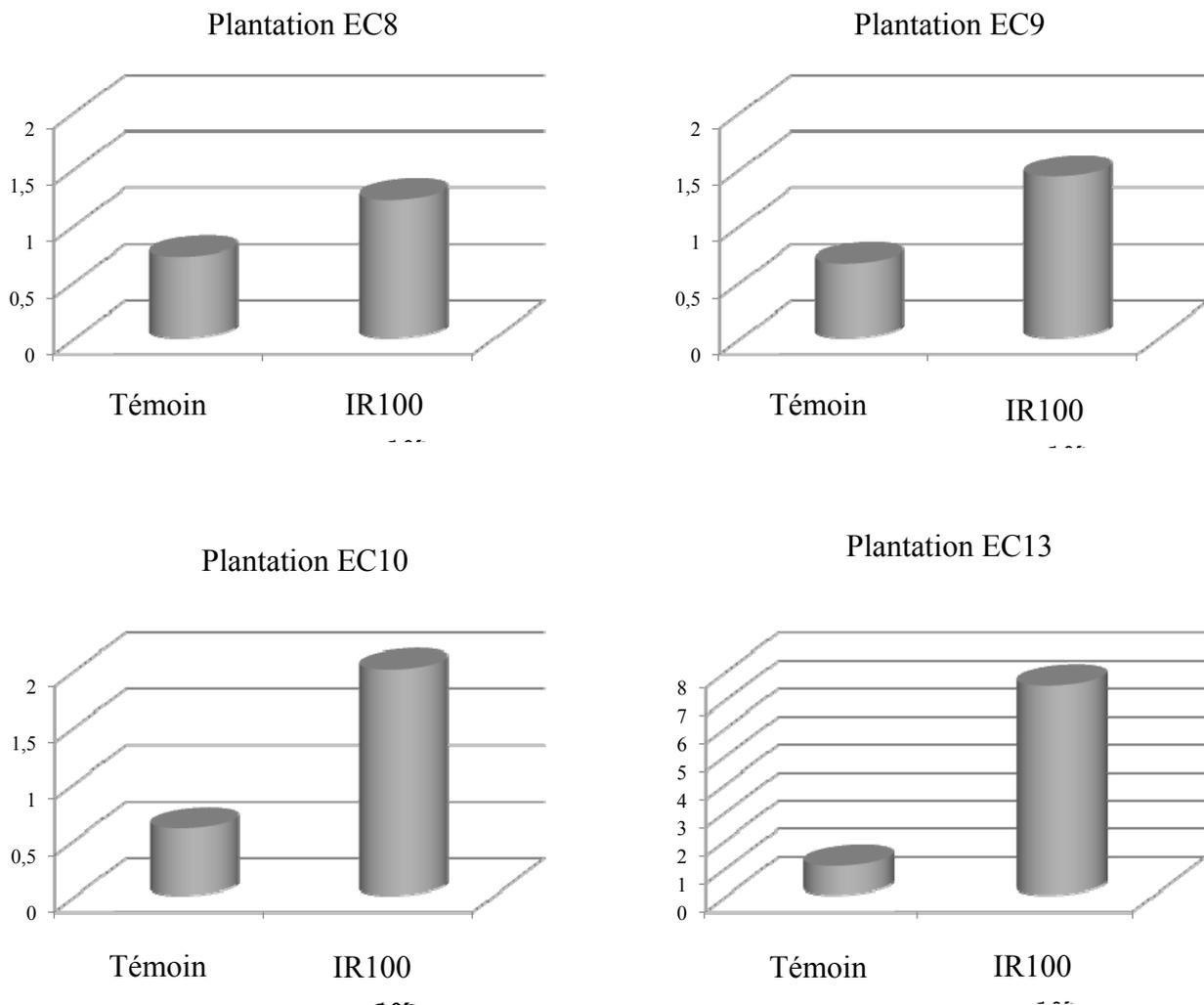
Tableau 3. Croissance de quelques espèces d'Acacia australiens inoculées par différentes souches de champignons ectomycorhiziens (Inoculum type tourbe/vermiculite) après 4 mois de culture en conditions contrôlées.

Souches fongiques	Espèces d' <i>Acacia</i>	Effets sur la croissance (%) et l'infection ectomycorhizienne			Références
		BA ⁽¹⁾	BR ⁽²⁾	IE ⁽³⁾ (%)	
<i>Pisolithus albus</i> IR100	<i>A. auriculiformis</i>	+ 42,1 ⁽⁴⁾	+ 38,6	45,2	A ⁽⁵⁾
<i>P. albus</i> IR100	<i>A. mangium</i>	+ 35,9	+ 44,1	20,1	A
<i>P. albus</i> IR100	<i>A. platycarpa</i>	+ 43,1	+ 9,8	31,6	A
<i>Pisolithus</i> sp. SL2	<i>A. holosericea</i>	+ 56,7	+ 10,6	48,3	A
<i>P. albus</i> COI007	<i>A. holosericea</i>	+ 55,6	+ 25,3	43,8	A
<i>P. albus</i> COI024	<i>A. holosericea</i>	+ 50,4	+ 17,1	10,8	A
<i>Pisolithus</i> sp. COI032	<i>A. holosericea</i>	+ 54,9	+ 12,6	15,0	A
<i>P. albus</i> IR100	<i>A. holosericea</i>	+ 57,1	+ 48,9	25,2	A
<i>P. tinctorius</i> GEMAS	<i>A. holosericea</i>	+ 57,8	+ 14,1	43,1	A
<i>Scleroderma dictyosporum</i> IR109	<i>A. holosericea</i>	+ 52,9	+ 21,0	53,4	A
<i>S. verrucosum</i> IR500	<i>A. holosericea</i>	+ 64,4	+ 14,1	13,8	A
<i>P. tinctorius</i> GEMAS	<i>A. crassicarpa</i>	+ 77,1	+ 52,3	49,4	B
<i>P. albus</i> COI024	<i>A. mangium</i>	+ 54,5	+ 52,1	41,7	C
<i>Scleroderma</i> sp. IR408	<i>A. holosericea</i>	+ 82,1	+ 89,6	13,8	D
<i>S. dictyosporum</i> IR412	<i>A. holosericea</i>	+ 72,9	+ 82,6	12,5	D

⁽¹⁾ Biomasse aérienne. ⁽²⁾ Biomasse racinaire. ⁽³⁾ Infection ectomycorhizienne. ⁽⁴⁾ (valeur moyenne des plants mycorhizés – valeur moyenne des plants non mycorhizés) x 100/(valeur moyenne des plants mycorhizés). ⁽⁵⁾ A : Duponnois et Planchette (2003). B : Lesueur et Duponnois (2005). C : Duponnois *et al.* (2002). D : Duponnois *et al.* (2006).

Des plantations de mycorhization contrôlée ont été réalisées au Sénégal en utilisant une espèce d'Acacia australien, *A. holosericea*, et un champignon ectomycorhizien *Pisolithus albus* isolat IR100 (Duponnois *et al.*, 2007). Le développement de cette essence forestière à croissance rapide a été amélioré dans toutes les plantations (fig. 1). Ces résultats suggèrent que dans des sols carencés en phosphore, la présence de symbiotes fongiques compatibles et efficaces constitue un facteur majeur pour assurer le succès de la plantation tant au niveau de sa productivité que de sa durabilité (Dommergues *et al.*, 1999). Toutefois et pour évaluer correctement la robustesse de cette technique de mycorhization contrôlée, ce type d'expérience doit être reproduit dans d'autres conditions environnementales en utilisant d'autres couples Essence forestière/symbiote fongique.

Figure1. Croissance de *A. holosericea* (exprimée en tonne de biomasse ligneuse par hectare avec une densité de plantation de 1 200 plants à l'hectare) inoculé ou non par *Pisolithus albus* isolat IR100 après 18 mois de plantations au Sénégal (d'après Duponnois *et al.*, 2007).



5. CONCLUSION

De nombreux travaux ont mis en évidence l'intérêt indéniable de valoriser les ressources fongiques symbiotiques pour améliorer la performance d'opérations de reboisement dans des milieux hostiles (sols carencés en éléments nutritifs, déficit en eau, etc.). Parallèlement, de nombreuses études ont été entreprises afin de minimiser le coût de production de l'inoculum fongique considéré comme le principal facteur limitant l'utilisation à grande échelle de la mycorhization contrôlée. Toutefois, la majeure partie de ces résultats ont été obtenus en conditions contrôlées et beaucoup reste à faire pour vulgariser cette technique culturale vis-à-vis des hommes du métier (pépiniéristes) qui, comme en attestent les résultats présentés dans ce chapitre, pourrait améliorer de manière significative les performances des opérations de reboisement et de réhabilitation des zones dégradées en milieu méditerranéen et tropical.

6. REFERENCES

- Aggangan, N.S., Moon, H.K. & Han, S.H. (2010). Growth response of *Acacia mangium* Willd. seedlings to arbuscular mycorrhizal fungi and four isolates of the ectomycorrhizal fungal *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker and Couch. *New Forests*, 39: 215-230
- Allen, E.B., Allen, M.F., Helm, D.J., Trappe, J.M., Molina, R. & Rincon, E. (1995). Patterns and regulation of mycorrhizal plant and fungal diversity. *Plant and Soil*, 170: 47-62
- Azcon-Aguilar, C., Palenzuela, J., Roldan, A., Bautista, S., Vallejo, R. & Barea, J.M. (2003). Analysis of the mycorrhizal potential in the rhizosphere of representative plant species from desertification-threatened Mediterranean shrublands. *Applied Soil Ecology*, 14: 165-175
- Bâ, A.M., Sanon, K.B. & Duponnois, R. (2002). Influence of ectomycorrhizal inoculation on *Azelia quanzensis* Welw. Seedlings in a nutrient-deficient soil. *Forest Ecology and Management*, 161: 215-219
- Brundrett, M.C. (2002). Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist*, 154: 275-304
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T. & Malajczuk, N. (1996). Working with mycorrhizas in Forestry and Agriculture. *ACIAR Monograph*. 373 p
- Castellano, M.A. (1994). Current status of outplanting studies using ectomycorrhiza-inoculated forest trees. In: Pflieger F and Linderman B (ed). A reappraisal of

- Mycorrhizae in Plant Health. The American Phytopathological Society, St Paul, 261-281.
- Castellano, M.A. (1996). Outplanting performance of mycorrhizal inoculated seedlings. *In* Concepts in Mycorrhizal Research. Mukerji KG (ed). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp 223-301
- Castellano, M.A. & Molina, R. (1989). Mycorrhizae. *In*: The Biological Component: Nursery Pest and Mycorrhizae Manual, Vol. 5. Landis TD (ed). Agric. Handbook 674. USDA Forest Service, Washington, DC, pp 101-167
- Chen, Y.L., Dell, B. & Malajczuk, N. (2006). Effect of *Scleroderma* spore density and age on mycorrhiza formation and growth of containerized *Eucalyptus globulus* and *E. urophylla* seedlings. *New Forests*, 31: 453-467
- de la Cruz, R.E., Lorilla, E.B. & Aggrangan, N.S. (1990). Ectomycorrhizal tablets for *Eucalyptus* species. *In*: Werner D and Muller P (ed). Fast growing trees and nitrogen fixing trees. Gustav Fisher Verlag, Stuttgart, 371
- Dommergues, R., Diem, H.G. & Divies, C. (1979). Microbiological process for controlling the productivity of cultivated plants. US Pat No 4.155.737, May 22, 1979
- Dommergues, Y.R., Duhoux, E. & Diem, H.G. (1999). Les arbres fixateurs d'azote, Editions Espaces 34. ORSTOM, FAO, Montpellier, 501 pp.
- Duponnois, R., Plenchette, C., Thioulouse, J. & Cadet, P. (2001). The mycorrhizal soil infectivity and arbuscular mycorrhizal fungal spore communities in soils of different aged fallows in Senegal. *Applied Soil Ecology*, 17: 239-251
- Duponnois, R., Founoune, H. & Lesueur, D. (2002). Influence of the controlled dual ectomycorrhizal and rhizobial symbiosis on the growth of *Acacia mangium* provenances, the indigenous symbiotic microflora and the structure of plant parasitic nematode communities. *Geoderma*, 109: 85-102
- Duponnois, R. & Plenchette, C. (2003). A mycorrhiza helper bacterium (MHB) enhances ectomycorrhizal and endomycorrhizal symbiosis of Australian *Acacia* species. *Mycorrhiza* 13: 85-91
- Duponnois, R., Founoune, H., Masse, D. & Pontanier, R. (2005). Inoculation of *Acacia holosericea* with ectomycorrhizal fungi in a semi-arid site in Senegal: growth response and influences on the mycorrhizal soil infectivity after 2 years plantation. *Forest Ecology and Management*, 207: 351-362
- Duponnois, R., Assigbetse, K., Ramanankierana, H., Kisa, M., Thioulouse, J. & Lepage, M. (2006). Litter-forager termite mounds enhance the ectomycorrhizal symbiosis between

- Acacia holosericea* A. Cunn. Ex G. Don and *Scleroderma dictyosporum* isolates. *FEMS Microbiology Ecology*, 56: 292-303
- Duponnois, R., Plenchette, C., Prin, Y., Ducouso, M., Kisa, M., Bâ, A.M. & Galiana, A. (2007). Use of mycorrhizal inoculation to improve reforestation process with Australian *Acacia* in Sahelian ecozones. *Ecological engineering*, 29: 105-112
- Ferry, B.W. & Das, M. (1968). Carbon nutrition of some mycorrhizal *Boletus* species. *Transactions of the British Mycological Society*, 51: 795-798
- Garbaye, J. (1988). Les plantations forestières tropicales: un champ d'application privilégié pour la mycorrhization contrôlée. *Revue Bois et Forêts des Tropiques*, 216: 23-34
- Garbaye, J. & Churin, J.L. (1997). Growth stimulation of young oak plantations inoculated with the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* with special reference to summer drought. *Forest Ecology and Management*, 98: 221-228
- Garcia, C., Roldan, A. & Hernandez, T. (1997). Changes in microbial activity after abandonment of cultivation in a semi-arid Mediterranean environment. *Journal of Environmental Quality*, 26: 285-291
- Guehl, J.M., Mousain, D., Falconnet, G. & Gruez, J. (1990). Growth, carbon dioxide assimilation capacity and water-use efficiency of *Pinus pinea* L. seedlings inoculated with different ectomycorrhizal fungi. *Annales des Sciences Forestières*, 47:91-100
- Jones, M.D., Durall, D.M. & Cairney, J.W.G. (2003). Ectomycorrhizal fungal communities in young forest stands regenerating after clearcut logging. *New Phytologist*, 157: 399-422
- Kropp, B.R. & Langlois, C.G. (1990). Ectomycorrhizae in reforestation. *Canadian Journal of Forest Research*, 20: 438-451
- Le Tacon, F., Jung, G., Michelot, P. & Mugnier, J. (1983). Efficacité en pépinière forestière d'un inoculum de champignon ectomycorhizien produit en fermenteur et inclus dans une matrice de polymères. *Annales des Sciences Forestières*, 40: 165-176
- Le Tacon, F., Jung, G., Mugnier, J., Michelot, P. & Mauperin, C. (1985). Efficiency in a forest nursery of an ectomycorhizal fungus inoculums produced in a fermentor and entrapped in polymeric gels. *Canadian Journal of Botany*, 63: 1664-1668
- Lesueur, D. & Duponnois, R. (2005). Relations between rhizobial nodulation and root colonization of *Acacia crassicarpa* provenances by an arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus intraradices* Schenk and Smith or an ectomycorrhizal fungus, *Pisolithus tinctorius* Coker & Couch. *Annals of Forest Sciences*, 62: 467-474
- Martin, F., Delaruelle, C. & Hilbert, J.L. (1990). An improved ergosterol assay to estimate the fungal biomass in ectomycorrhizas. *Mycological Research*, 94: 1069-1074

- Marx, D.H. (1969). The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. *Phytopathology*, 59: 153-163
- Marx, D.H. (1991). The practical significance of ectomycorrhizae in forest establishment. *Ecophysiology of Ectomycorrhizae of Forest Trees*, Marcus Wallenberg Foundation Symposia Proceedings 7: 54-90
- Marx, D.H. & Bryan, W.C. (1975). Growth and ectomycorrhizal development of Loblolly pine seedlings in fumigated soil infested with the fungal symbiont *Pisolithus tinctorius*. *Forest Sciences*, 21: 242-254
- Marx, D.H., Jarl, K., Ruehle, J.L. & Bell, W. (1984). Development of *Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizae on pine seedlings using basidio-encapsulated seed. *Forest Sciences*, 30: 897-907
- Marx, D.H., Ruehle, J.L. & Cordell, C.E. (1991). Methods for studying nursery and field response of trees to specific ectomycorrhiza. In: *Methods in Microbiology*. Vol. 23. Techniques for the study of mycorrhiza. Norris JR, Read DJ, Varma AK (ed). Academic Press, London, pp 383-411
- Mauperin, C., Mortier, F., Garbaye, J., Le Tacon, F & Carr, G. (1987). Viability of an ectomycorrhizal inoculum produced in a liquid medium and entrapped in a calcium alginate gel. *Canadian Journal of Botany*, 65: 2326-2329
- Molina, R. & Palmer, J.G. (1982). Isolation, maintenance and pure culture manipulation of ectomycorrhizal fungi. In: Schenck NC (ed). *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. The American Phytopathological Society, St Paul, 115-129
- Mortier, F., Le Tacon, F. & Garbaye, J. (1988). Effect of inoculum type and inoculation dose on ectomycorrhizal development, root necrosis and growth of Douglas fir seedlings inoculated with *Laccaria laccata* in a nursery. *Annales des Sciences Forestières*, 45: 301-310
- Pachlewski, R. & Pachlewski, J. (1974). *Studies on Symbiotic Properties of Mycorrhizal Fungi of Pine (Pinus silvestris L.) with the Aid of the Method of Mycorrhizal Synthesis in Pure Culture on Agar*. Forest Research Institute. Warsaw. Poland
- Piéri, C. (1991). Les bases agronomiques de l'amélioration et du maintien de la fertilité des terres de savanes au sud Sahara. In: *Savanes d'Afrique, terre fertile? Actes des Rencontres Internationales*, 10-14 December 1990, Montpellier, France, pp 43-74

- Read, D.J., Duckett, J.G., Francis, R., Ligrone, R. & Russell, A. (2000). Symbiotic fungal associations in “lower” land plants. *Philos Trans R Soc Lond Ser B-Biol Sci* 355: 815-830
- Requena, N., Perez-Solis, E., Azcon-Aguilar, C., Jeffries, P. & Barea, J.M. (2001). Management of indigenous plant–microbe symbioses aids restoration of desertified ecosystems. *Applied Environmental Microbiology*, 67: 495-498
- Rincon, A., de Felipe, M.R. & Fernandez-Pascual, M. (2007). Inoculation of *Pinus halepensis* Mill. with selected ectomycorrhizal fungi improves seedling establishment 2 years after planting in a degraded gypsum soil. *Mycorrhiza*, 18: 23-32
- Roldan, A., Querejeta, I., Albadalejo, J. & Castillo, V. (1996). Growth response of *Pinus halepensis* to inoculation with *Pisolithus arhizus* in a terraced rangeland with urban refuse. *Plant and Soil*, 179: 35-43
- Schreiner, R.P., Mihara, K.L., McDaniel, K.L. & Bethlenfalvay, G.J. (2003). Mycorrhizal fungi influence plant and soil functions and interactions. *Plant and Soil*, 188: 199-209
- Smith, S.E. & Read, D.J. (1997). *Mycorrhizal Symbiosis*. 2nd edn. UK: Academic Press.
- Terwilliger J, Pastor J (1999) Small mammals, ectomycorrhizae, and conifer succession in beaver meadows. *Oikos* 85, 83-94
- Torres, P. & Honrubia, M. (1994). Inoculation of containerized *Pinus halepensis* (Miller) seedlings with basidiospores of *Pisolithus arhizus* (Pers) Rauschert, *Rhizopogon roseolus* (Corda) and *Suillus collinitus* (Fr) O Kuntze. *Annales des Sciences Forestières*, 51: 521-528
- Turjaman, M., Tamai, Y., Segah, H., Limin, S.H., Cha, J.Y., Osaki, M. & Tawaraya, K. (2005). Inoculation with the ectomycorrhizal fungi *Pisolithus arhizus* and *Scleroderma* sp. improves early growth of *Shorea pinanga* nursery seedlings. *New Forests*, 30: 67-73
- Valentine, L.L., Fieldler, T.L., Hart, A.A., Petersen, C.A., Berninghausen, H.K. & Southworth, D. (2004). Diversity of ectomycorrhizas associated with *Quercus garryana* in southern Oregon. *Canadian Journal of Botany*, 82: 123-135
- van der Heijden, M.G.A., Klironomos, J.N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Wiemken, A. & Sanders, I.R. (1998). Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity ecosystem variability and productivity. *Nature*, 396: 69-72
- Vignon, C., Plassard, C., Moussain, D. & Salsac, L. (1986). Assay of fungal chitin and estimation of mycorrhizal infection. *Physiologie Végétale*, 24: 201-207

PARTIE 2

SYMBIOSE MYCORHIZIENNE ET ECOSYSTEMES MEDITERRANEENS

CHAPITRE 1

**SYMBIOSE MYCORHIZIENNE ET ECOSYSTEMES
MEDITERRANEENS
EXEMPLES D'ETUDES REALISEES EN ALGERIE**

**STATUT SYMBIOTIQUE DES PRINCIPALES ESSENCES FORESTIERES ET DE
L'OLIVIER CULTIVE DU NORD-EST ALGERIEN**

par Beddiar A., Meddad-Hamza A., Adouane M., Azzouz F.

Laboratoire de biologie végétale et environnement. Dépt. de biologie. Université Badji
Mokhtar. BP 12. 2300 Annaba. Algérie

1. INTRODUCTION

Dans le Nord-Est algérien, les écosystèmes forestiers jouent un rôle socio-économique, écologique et récréatif de premier ordre (Messaoudène *et al.*, 1996). Cependant, chaque année, la superficie de ces forêts se réduit sérieusement en raison de nombreux facteurs tels que la longue saison sèche, le surpâturage, les incendies répétés et la surexploitation.

Les services forestiers s'inquiètent et s'interrogent quant aux conséquences de cet impact permanent sur ces écosystèmes et soulignent la nécessité de renforcer les programmes de prévention, de lutte et de reboisement. Actuellement, un intérêt particulier est accordé à la recherche scientifique permettant d'établir des stratégies efficaces et de proposer des solutions à l'aménagement durable de la forêt tout en tenant compte des facteurs socio-économiques et écologiques, ainsi que de la compréhension du processus régulant son fonctionnement.

Alors que les produits fournis par la forêt (bois, liège) sont bien connus, tant sur leurs propriétés qualitatives que quantitatives, peu d'informations sont disponibles sur les facteurs qui régissent la croissance des arbres, favorisent la régénération naturelle des forêts et maintiennent la biodiversité. C'est au niveau de la rhizosphère (zone de sol influencée par les racines des plantes) qu'est régulé en permanence le délicat équilibre entre les flux de matière qui déterminent la pérennité et la production primaire de tout écosystème forestier. Or, il est établi qu'au niveau de l'interface sol-plantes, les fines racines absorbantes de 90 % des plantes terrestres contractent des associations symbiotiques avec certains champignons telluriques et forment des mycorhizes (Fortin *et al.*, 2008). Ces mycorhizes permettent à la plante de compenser son immobilité grâce au mycélium du champignon, par une augmentation de l'espace de prospection des racines et de puiser ainsi dans un volume plus grand de sol. La recherche dans le monde a permis de mettre en lumière leur rôle de biofertilisant, de bioprotecteur et de biorégulateur (Gianinazzi *et al.*, 2010).

En outre, les champignons mycorhiziens ne sont pas les seuls acteurs de la rhizosphère, il existe aussi des bactéries du sol (*Rhizobium*, *Frankia*) respectivement symbiotiques de la plupart des Fabacées et d'autres angiospermes en dehors des Fabacées (Duhoux et Nicole, 2004). Ces symbioses racinaires jouent par conséquent un rôle majeur pour le développement du végétal et présentent une application potentielle dans la restauration et le maintien de la fertilité des sols (Guerbault, 2009). Elles permettent de pallier les problèmes du choc

transplantation, de mieux résister aux effets drastiques du climat, au manque de nutriments provenant du sol et aux attaques parasitaires (Dommergues *et al.*, 1999).

L'étude des associations symbiotiques, particulièrement des associations mycorhiziennes chez les arbres forestiers et également chez les arbres fruitiers, devrait donc revêtir une importance capitale dans tous les programmes d'aménagement et de plantations en Algérie. Or, très peu de travaux sont disponibles actuellement sur les mycorhizes des espèces ligneuses algériennes (Nezzar-Hocine *et al.*, 1996 ; Adjoud-Sadadou et Halli-Harrgas., 2000 ; Chafi et Fortas, 1999 ; Meddad-Hamza *et al.*, 2010).

Dans le présent article, nous présentons une étude préliminaire visant à établir le statut symbiotique des principales essences forestières spontanées ou introduites dans la wilaya d'El Tarf (Nord-Est algérien). Parallèlement, un inventaire des macromycètes se développant sous ces essences s'est avéré indispensable.

Nous présentons également une étude plus détaillée relative au statut mycorhizien de l'olivier cultivé et sa caractérisation en fonction de l'âge des plants, de la variété et des étages bioclimatiques. Cette étude dans les conditions naturelles constitue pour nous une étape indispensable avant de procéder à des essais de sélection de souches et d'inoculations contrôlées en pépinières.

2. ETAT SYMBIOTIQUE DES PRINCIPALES ESSENCES FORESTIERES SPONTANEEES OU INTRODUITES DANS LE NORD-EST ALGERIEN

2.1. LA ZONE ET LES STATIONS D'ETUDE

Afin de rechercher les symbiotes mycorhiziens et les symbiotes fixateurs d'azote associés aux principales espèces forestières et de réaliser l'inventaire fongique, l'étude s'est déroulée dans la région d'El Tarf. Il s'agit de la zone située à l'extrême nord-est de l'Algérie, elle est limitée au nord par la mer Méditerranée, par les collines de l'Atlas tellien au sud et à l'ouest et par la frontière tunisienne à l'est. Une grande partie de cette zone est incluse dans le parc national d'El-Kala qui couvre près de 80 000 hectares. C'est une zone à vocation forestière qui possède également divers sites humides (lacs et marais) classés sites d'importance internationale par la convention de Ramsar de 1971.

Dans cette zone, selon les données de la station météorologique calculées de la ville d'El Kala pour la période 2000-2010, la pluviométrie moyenne est de 910 mm/an et la température maximale moyenne autour de 18 °C. Les mois les plus froids sont janvier et février, alors que juillet et août sont les plus chauds. La saison sèche dure près de 4 mois et l'humidité atmosphérique est comprise entre 69 et 74 %. D'après le climagramme d'Emberger (1955), la région d'El Tarf s'étend de l'étage bioclimatique de végétation subhumide à hiver chaud à l'étage humide frais (de Belair, 1990). Dans cette zone, l'altitude varie du niveau de la mer jusqu'à 1 202 m. Dix stations y ont été choisies (fig. 1, tabl. 1) et ont concerné des écosystèmes forestiers de plaine, de dune et de montagne, ainsi que les écosystèmes rupicoles.

Tableau 1. Localisation et caractéristiques des différentes stations de prélèvement

Numéro de la station	Description sommaire de la station
S1	Maquis de chêne kermès sur dune littorale. Altitude : 20 m, commune de Ben Mhidi, 2 km après l'oued Mafragh.
S2	Reboisement de pin maritime, alt. : 50 m, Righia, commune de Berrihane
S3	Forêt de chêne-liège. Alt. : 50 m, Righia, commune de Berrihane, 18 km après le village Righia, en direction d'El-Kala
S4	Forêt de chêne-liège. Alt. : 100 m, commune d'El-Koursi, à l'ouest du lac Mellah
S5	Forêt de chêne-liège dégradée. Alt. : 87 m, commune d'El Kala, réserve naturelle de Braptia, plein sud du lac Mellah
S6	Reboisement à base d'Eucalyptus et Acacia., Alt. : 50 m, commune d'El Kala
S7	Mélange d'espèces d'introduction. Alt. : 50 m, commune de Souarak, arboretum du Tonga
S8	Forêt mixte de chêne-liège-chêne-zeen. Alt. : 260 m, commune de Bougous, 500 m après le village Bougous
Sç	Forêt de chêne-zeen de Ghorra. Alt. : 850 m, Djebel Ghorra, commune de Bougous, 2 km après le village Bougous vers la frontière tunisienne
S10	Rangées brise-vent de diverses espèces de <i>Casuarina</i>
B	Oliveraie de Bekkouche Lakhdar
P	Pépinière de Belkheir
G	Oliveraie de Bouchegouf

2.2. LES SYMBIOSES DES PRINCIPALES ESPECES FORESTIERES DU NORD-EST ALGERIEN

Afin de rechercher la colonisation mycorhizienne, rhizobienne ou actinorhizienne chez les arbres ou arbustes de chaque station retenue, des échantillons de racines ont été prélevés à partir d'une dizaine d'individus de chaque espèce présente dans le peuplement.

Figure 1 : Localisation des stations d'étude : ▽ stations d'échantillonnage pour les arbres forestiers, ◻ stations d'échantillonnage pour l'olivier (échelle : 1/1 000 000).



Une partie de chaque échantillon a été observée directement au stéréomicroscope afin de rechercher les ectomycorhizes, d'en distinguer les différents morphotypes et d'en déterminer le taux de colonisation par la méthode des intersections des lignes et des colonnes (Giovanetti et Mosse, 1980 ; Brundrett *et al.*, 1996). La description des ectomycorhizes a été effectuée selon les critères d'Agerer (1987-2002) et Ingleby *et al.* (1990). Sur l'autre partie de l'échantillon, la colonisation endomycorhizienne à arbuscules (MA) a été évaluée par la méthode de Trouvelot *et al.* (1986) après éclaircissement et coloration au noir de Chlorazol ou au bleu Trypan selon la technique de Phillips et Hayman (1970). Quant à la colonisation par *Rhizobium* ou par *Frankia*, elle a concerné les espèces de Fabacées, de Casuarinacées et *Alnus glutinosa* de la famille des Bétulacées. Elle a été estimée par la présence ou l'absence de nodules racinaires.

Les résultats présentés dans le tableau 2 montrent l'existence de symbioses mutualistes chez toutes les espèces prospectées. Que ce soit les essences principales (chêne-liège, chêne-zeen et pin maritime), les essences secondaires (châtaignier, merisier, laurier...) ou les espèces introduites (eucalyptus, acacia, cyprès.), elles sont toutes porteuses soit d'ectomycorhizes, soit d'endomycorhizes à arbuscules, soit des deux à la fois. Les communautés ectomycorhiziennes y sont riches et diversifiées.

Tableau 2. Type de symbioses contractées par les espèces forestières du Nord-Est algérien. ECM : ectomycorhizes, MA : mycorhizes arbusculaires, R : colonisation rhizobienne, F : colonisation actinorhizienne, les nombres entre parenthèses indiquent les taux d'infection à l'automne de l'année 2008

Famille végétale	Espèces végétales et stations d'échantillonnage (S)	Type de symbiose et taux d'infection	Nombre de morphotypes ectomycorhiziens
Pinaceae	<i>Pinus maritima</i> Lam, S2	ECM (82,12)	10
	<i>Pinus pinea</i> L., S8	ECM (64,22)	4
	<i>Pinus radiata</i> L., S8	ECM (33,35)	2
Cupressaceae	<i>Juniperus oxycedrus</i> L., S6	MA (19,22)	-
	<i>Cupressus sempervirens</i> L., S6	ECM (58,64), MA (29,2)	3
Taxodiaceae	<i>Taxodium disticum</i> L., S8	MA (26,22)	-
Casuarinaceae	<i>Casuarina equisetifolia</i> Forst., S1	MA (58,02), F	-
	<i>C. cunningamiana</i> Miq.	MA (50,66), F	-
	<i>C. obesa</i> Miq.	MA (44,35), F	-
Fagaceae	<i>Quercus suber</i> L., S3, S4, S5, S6	ECM (68,71), MA (09,00)	14
	<i>Quercus faginea</i> L., S4, S7,	ECM (62,32)	9
	<i>Quercus coccifera</i> L., S1	ECM (49,13)	2
	<i>Castanea sativa</i> L., S7	ECM (50,42), MA (41,15)	7
Betulaceae	<i>Alnus glutinosa</i> L. Gaertn, S2, S8	ECM (61,43), MA (25,52)	8
Salicaceae	<i>Populus alba</i> L., S5	ECM (28,40), MA (31,86)	4
	<i>Salix pedicellata</i> L., S5	MA (25,03)	-
	<i>Salix babylonica</i> L., S2, S8	MA (23,62)	-
Corylaceae	<i>Corylus avellana</i> L., S7	MA (29,24)	8

Rosaceae	<i>Cerasus avium</i> L., S7	MA (44,09)	-
	<i>Crataegus monogyna</i> Jacq., S5	MA (38,64)	-
	<i>Rubus ulmifolius</i> L., S5	MA (58,37)	-
Lauraceae	<i>Laurus nobilis</i> L., S5	MA (63,05)	-
Oleaceae	<i>Fraxinus oxyphylla</i> L., S8	MA (40,42)	-
	<i>Olea europaea</i> L., S1, S5	MA (51,56)	-
	<i>Olea oleaster</i> Link., S1, S5	MA (44,32)	-
	<i>Phillyrea media</i> L., S1, S5, S4	MA (65,62)	-
Anacardiaceae	<i>Pistacia lentiscus</i> L., S1, S5	MA (35,39)	-
Myrtaceae	<i>Myrtus communis</i> L., S3, S5	MA (63,54)	-
	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill., S6, S8	ECM (36,80), MA (12,96)	3
	<i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh, S6	ECM (30,72), MA (15,06)	3
Fabaceae	<i>Ceratonia siliqua</i> L., S7	MA (35,44)	-
	<i>Calycotome villosa</i> Link. S5	MA (60,00)	-
	<i>Genista ferox</i> L., S6	MA (30,39)	-
	<i>Genista numidica</i> L., S6	MA (29,35)	-
	<i>Cytisus triflorus</i> L'Herit., S6	MA (29,12)	-
	<i>Acacia cyanophylla</i> Benth., S8	MA (68,20), R	-
	<i>Acacia decurrens</i> Willd., S8	MA (72,75), R	-
	<i>Acacia melanoxylon</i> R., S8	MA (61,23), R	-
	<i>Acacia retinoides</i> Willd., S8	MA (42,26), R	-
	<i>Retama monosperma subsp. bovei</i> Spach (Maire), S1	MA (08,77), R	-
Cistaceae	<i>Cistus monspelliensis</i> L. S2, S3, S5	ECM (09, 75), MA (18,77)	1
	<i>Halimium halimifolium</i> (L) Wilk	MA (42,42)	-

Parmi les essences prospectées, le chêne-liège et le pin maritime semblent être les espèces présentant le plus grand nombre de morphotypes ectomycorhiziens et leur système racinaire est colonisé à plus de 75 %. Au moins 15 morphotypes différents ont été décrits chez le chêne-liège (fig. 2), lequel forme également des endomycorhizes arbusculaires (fig. 3a). Ces dernières restent toutefois très peu abondantes et leur taux d'infection ne dépasse guère les 10 %. L'identification morpho-anatomique des ectomycorhizes reste une démarche difficile et ne permet pas l'identification du champignon partenaire de la mycorhize. L'utilisation de l'outil moléculaire est par conséquent nécessaire à moins de passer par les longues étapes de l'isolement du champignon, sa multiplication et la synthèse de la mycorhize sur la plante étudiée.

Figure 2 : Les morphotypes ectomycorhiziens du chêne-liège.

- a : ectomycorhize de couleur noir simple ou ramifiée une seule fois, manteau pseudoparenchymateux dont la surface est granuleuse, munie d'hyphes radiantes de la même couleur, hyphes cloisonnées, couche tannifère mince, réseau de Hartig profond.
- b : ectomycorhize blanche bleuâtre simple à manteau lisse plectenchymateux.
- c : ectomycorhize jaune clair à brun ocre avec feutrage blanc argenté, pouvant dépasser 1 cm de longueur, simple ou irrégulièrement pennée, présentant des rhizomorphes de la même couleur, avec un mycélium extramatriciel très lâche, manteau pseudoparenchymateux et réseau de Hartig profond jusqu'à l'endoderme, présentant une couche de cellules à tannin de formes irrégulières.
- d : ectomycorhize de couleur brun clair à foncé avec feutrage blanc argenté, irrégulièrement pennée, très proche de l'ectomycorhize c.
- e : ectomycorhize beige jaunâtre, simple, manteau présentant une texture densément cotonneuse ou laineuse de couleur beige ou blanc crème, ne dépassant pas les 3 mm.
- f : ectomycorhize marron foncé presque noire, simple ou monopodiale pennée, manteau pseudoparenchymateux dont la surface est densément granuleuse avec un mycélium frangeant en toile d'araignée, réseau de Hartig atteignant les trois lignes des cellules corticales.
- g : ectomycorhize jaune clair blanchâtre à ocre, irrégulièrement pennée, munie de rhizomorphes de même couleur très abondants, manteau plectenchymateux, le réseau de Hartig ne pénètre pas au-delà de la première couche de cellules corticales.
- h : ectomycorhize marron monopodiale ou pyramidale pennée, courte, mycélium frangeant lâche et laineux, manteau épais.
- i : ectomycorhize jaune à orangée, légèrement ramifiée, monopodiale pennée à pyramidale, légèrement cotonneuse et veloutée, manteau plectenchymateux, le réseau de Hartig ne pénètre pas au-delà de la première ligne de cellules corticales, couche tannifère mince.
- j : ectomycorhize brun-jaunâtre ou ocre, irrégulièrement pennée, longue, cotonneuse, munie de rhizomorphes très abondants blanchâtres de plusieurs centimètres de long, manteau plectenchymateux, réseau de Hartig profond atteignant l'endoderme.
- k : ectomycorhize jaune ocre à orangée, monopodiale pennée à manteau pseudoparenchymateux.
- l : ectomycorhize beige à brun clair, simple ou monopodiale pennée, avec des extrémités gonflées et cotonneuses.
- m : ectomycorhize marron, simple, monopodiale pennée ou monopodiale pyramidale, légèrement laineuse avec des hyphes extramatricielles marron rougeâtre.

n : ectomycorhize jaunâtre à brun foncé avec feutrage jaune citrin à la sortie du sol qui disparaît peu après, ramifiée une seule fois, mycélium frangeant en feutrage très dense de couleur jaune citrin doré, munie de rhizomorphes de couleur claire.

o : ectomycorhize beige jaunâtre à ocre souvent simple et parfois monopodiale pennée, cellules corticales visibles, mycélium frangeant presque inexistant.

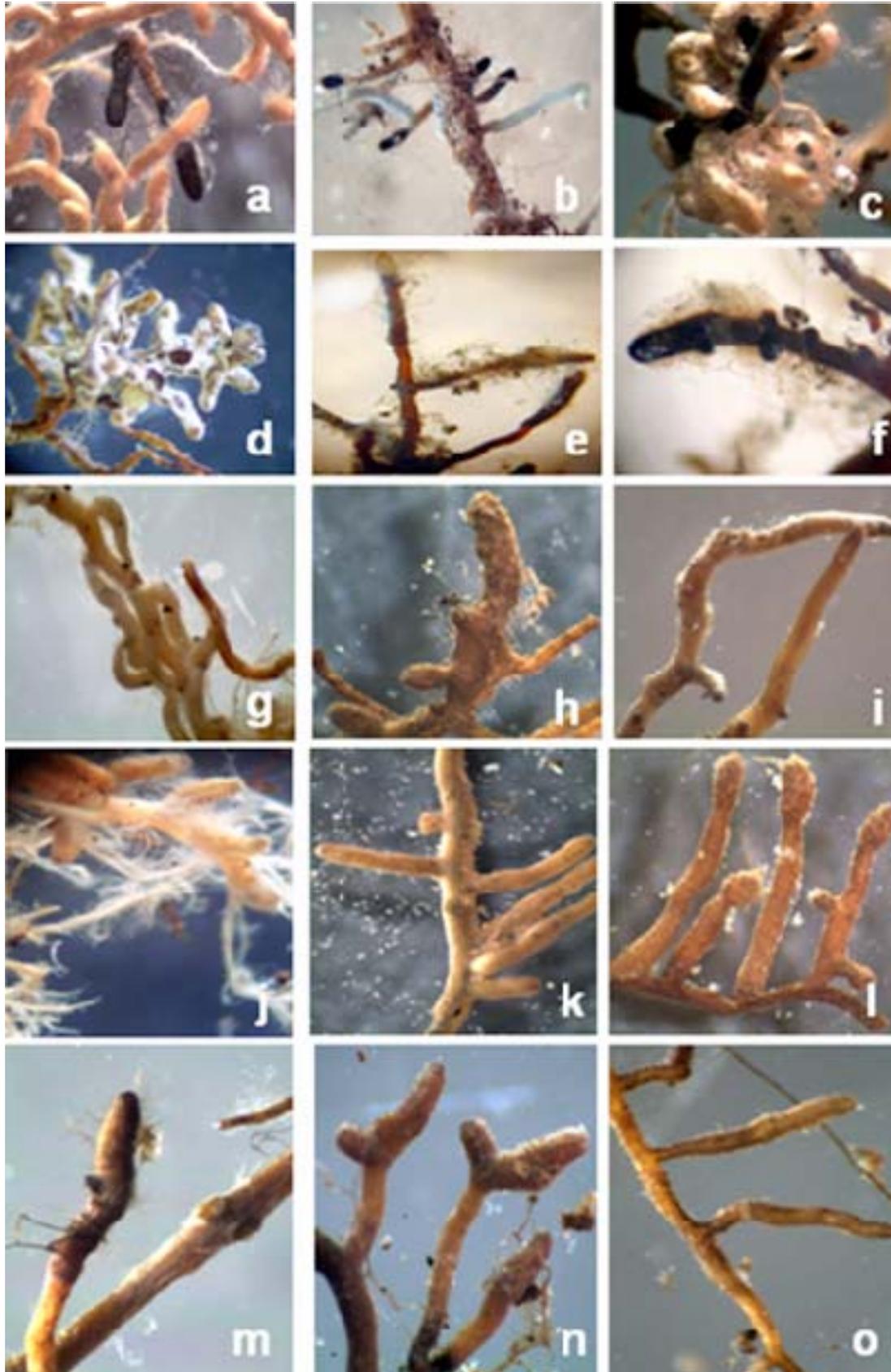
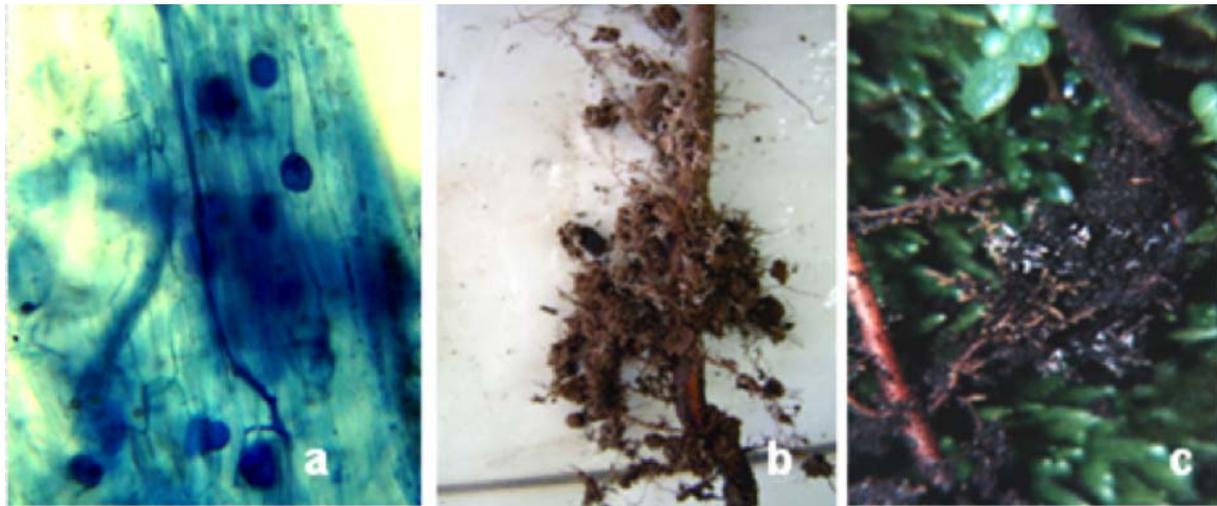


Figure 3 : Fragments racinaires de : (a) *Quercus suber* colonisé par des mycorhizes arbusculaires, (b et c) de *Pinus pinaster* et *Quercus faginea* envahis par des ectomycorhizes.



Dans les peuplements naturels, les espèces du genre *Quercus* sont connues pour être capables de s'associer avec un nombre considérable d'espèces fongiques. Trappe (1962) en cite 124 et Garbaye *et al.* (1986) parlent d'au moins 50 espèces sans compter les formes de fructifications hypogées comme les *Tuber* et les *Elaphomyces* qui seraient très abondantes. Le chêne-zeen (*Quercus faginea*), qui relaie le chêne-liège en altitude a également un système racinaire fortement mycorhizé (fig. 3c) par au moins une dizaine de champignons différents.

Le pin maritime est de loin, l'espèce dont le système racinaire est le plus envahi (82 %) par les champignons ectomycorhiziens (fig. 3b). Deux morphotypes parmi les 10 rencontrés y prédominent, ils correspondraient d'après les critères d'Agerer à l'ectomycorhize du genre *Lactarius* et celle de *Russula*. En faisant le recoupement avec l'inventaire des champignons dans la pinède (tabl. 3), *Lactarius deliciosus* et plusieurs espèces du genre *Russula* sont effectivement des champignons très fréquents dans cet écosystème.

Parmi les morphotypes ectomycorhiziens observés, la mycorhize de *Cenococcum geophilum* (fig. 2a, fig. 4), facilement reconnaissable, est très majoritaire et omniprésente aussi bien chez les chênes que chez les pins et autres arbres (châtaignier, eucalyptus). *Cenococcum geophilum* est un champignon qui a une grande capacité à infecter des arbres d'espèces différentes et dans des conditions écologiques variées (Le Tacon, 1997). Lorsque le stress hydrique s'établit (en été), beaucoup de mycorhizes sont détruites, celles de *Cenococcum geophilum* sont cependant plus résistantes (Garbaye et Guehl, 1997). Son omniprésence chez la plupart des espèces forestières étudiées révèle des conditions environnementales difficiles. En effet, la forêt méditerranéenne constitue un écosystème soumis à de fortes contraintes d'origines

édaphique et climatique, ce qui stimule *Cenococcum geophilum* à proliférer dans ce type de milieu. Selon Selosse et Le Tacon (1999), cette espèce que l'on rencontre majoritairement dans tous les écosystèmes naturels à ectomycorhizes de la planète, contribuerait probablement universellement, à la survie des arbres forestiers à ectomycorhizes pendant les périodes de stress hydrique.

Figure 4 : Fragments racinaires de jeunes plants de *Quercus suber* fortement colonisés par l'ectomycorhize de *Cenococcum geophilum* (X 35).



Les espèces forestières secondaires de la forêt de chêne, qu'elles soient spontanées (merisier, laurier, aulne, peuplier...) ou introduites (noisetier, noyer, eucalyptus...) présentent un taux de colonisation MA compris entre 25 et 70 % selon les cas (tabl. 2). Ce taux est faible (< 20 %) chez l'aulne glutineux et l'eucalyptus dont les systèmes racinaires sont surtout envahis par les ectomycorhizes. Ce résultat, confirmé par Adjoud-Sadadou et Halli-Harrgas (2000) pour l'eucalyptus et par Beddiar (1984) pour l'aulne glutineux indique que ces deux espèces qui sont à la fois endo et ectomycorhiziennes conservent leurs deux symbiotes tout au long de leur vie, mais avec une prédominance des endomycorhizes à l'état juvénile et celle des ectomycorhizes à l'état adulte. La prospection du système racinaire de l'aulne glutineux dans

les ripisylves au niveau des stations S3, S7 révèle la présence de nodules actinorhiziens dont le diamètre peut atteindre plusieurs centimètres.

L'aulne glutineux, seule espèce de son genre en Algérie, forme dans les écosystèmes humides du Nord-Est du pays des peuplements représentant les dernières stations conservées d'une végétation euro-sibérienne très rare en Afrique du Nord. Il est parfaitement mycorhizé et nodulé, cependant il est fortement menacé par la surexploitation de son bois, le surpâturage et par les fluctuations du niveau de la nappe phréatique (Beddiar et Mekadem, 2008). L'exploitation de ses symbiotes mycorhiziens et ses symbiotes actinorhiziens en pépinière permettrait d'obtenir des plants de bonne qualité susceptibles d'être utilisés dans les reboisements des milieux humides dégradés.

Les acacias ainsi que les casuarinas, bien qu'espèces introduites en Algérie, présentent en plus d'une colonisation endomycorhizienne arbusculaire typique une infection par des bactéries fixatrices d'azote respectivement par *Rhizobium* et par *Frankia*. Cependant, aucune colonisation par les champignons ectomycorhiziens n'a été détectée. Or, dans leur aire d'origine, la Tasmanie, la Nouvelle-Zélande et l'Indonésie pour les casuarinas et l'Australie pour les acacias, ces arbres forment également des ectomycorhizes (Reddel et Warren, 1987 ; Theodorou et Reddell, 1991 ; Frioni *et al.*, 1999). L'absence totale de ces structures dans le Nord-Est algérien est vraisemblablement due à un problème d'incompatibilité des endophytes présents dans leur rhizosphère.

Concernant les cistacées, malheureusement, seules les espèces *Cistus monspeliensis* et *Halimium halimifolium* ont été explorées. Il serait important d'étendre l'exploration aux autres espèces de cistacées qui sont nombreuses dans la région et qui forment comme le confirment Comandini *et al.* (2006), un groupe de plantes connues pour leurs spécifiques adaptations à la sécheresse estivale et les fréquentes perturbations du milieu comme le feu et le surpâturage en région méditerranéenne. Une attention particulière devrait leur être réservée vu leur rôle écologique (coexistence avec d'autres plantes sclérophylles non ectomycorhiziennes comme les oléastres, les phyllaires, les bruyères et aussi comme élément de sous-bois dans les chênaies et pinèdes colonisant les clairières et les surfaces ouvertes) et également pour la production de fructifications comestibles : les terfèzes appréciées des populations locales.

La recherche des spores des Glomales par tamisage humide (Gerdemann et Nicolson, 1963) dans la rhizosphère de *Olea oleaster*, *Olea europaeae*, *Acacia decurrens*, *Eucalyptus*

camaldulensis et *Casuarina equisetifolia* a révélé une diversité morphotypique très importante. Quelques espèces ont été identifiées telles que *Glomus mosseae*, *G. rubiformeae*, *G. intraradices*, *G. constrictum*, *G. fasciculatum*, *G. microagregatum*. *G. rubiformeae*, et aussi des spores de *Antrophospora infrequens*, de *Gigaspora* sp., et de *Scutellospora* sp. Plusieurs autres morphotypes de spore appartenant au genre *Glomus* n'ont pu être identifiés. Ce dernier semble être le genre prédominant.

2.3. DIVERSITE DES MACROMYCETES DANS LES PEUPELEMENTS DE CHENE-LIEGE, DE PIN MARITIME ET DANS LES PLANTATIONS A EUCALYPTUS ET ACACIA

L'inventaire fongique a consisté en un échantillonnage exhaustif des champignons à sporophores épigés ou hémi-épigés. Les champignons lignicoles et saprophytes n'ont pas été prélevés. La récolte des sporophores a été réalisée en automne, au début de l'hiver et au printemps de l'année 2007 et en automne et en hiver de l'année 2008 dans les peuplements de chêne-liège (fig. 1 : S3, S4, S5, S8), de pin maritime (fig. 1 : S2) et dans les reboisements à base d'*Eucalyptus camaldulensis* et *Acacia decurrens* (fig. 1 : S6). Chaque espèce a été récoltée, photographiée et identifiée grâce à des clés et des guides de champignons (Romagnesi, 1970 ; Lamaison, 1988 ; Lemoine, 1996 ; Polese, 2000 ; Eyssartier *et al.*, 2004 ; Courtecuisse et Duhem, 2007).

Le tableau 3 donne un aperçu de la diversité spécifique remarquable dans les différents peuplements et permet de constater que la subéraie demeure l'écosystème où la biodiversité fongique est la plus importante avec plus de 65 espèces, suivie de la pinède avec une cinquantaine d'espèces et enfin le reboisement d'eucalyptus et acacia dans lequel la macroflore fongique chute d'environ de moitié. Parmi les différentes espèces de champignons rencontrées, seules quatre espèces (*Cortinarus glandicolor*, *Pisolithus tinctorius*, *Russula fellea* et *Scleroderma geaster*) sont communes aux trois types de peuplements, cependant, plus d'une quarantaine d'espèces sont propres à la subéraie, une vingtaine à la pinède et seulement sept espèces qui sont confinées à la plantation d'eucalyptus et acacia. Comme le confirme Abourouh (1995), en forêts naturelles, les champignons sont plus abondants et plus diversifiés que dans les forêts artificielles.

Cet inventaire n'est pas complet, car il existe un grand nombre d'espèces non identifiées qui ont été omises. En Algérie, très peu d'études ont concerné les macromycètes de la région et les anciennes références ne sont pas disponibles. Il est à noter que de nombreux champignons récoltés ont déjà été décrits comme champignons mycorrhizogènes par plusieurs auteurs (Voiry, 1981 ; Molina et Trappe, 1982 ; Orson et Miller, 1987 ; Molina *et al.*, 1992 ; Abourouh, 1996 ; Smith et Read, 2008).

Tableau 3. Diversité spécifique des champignons épigés et héli-épigés récoltés durant les années 2007 et 2008. S : subéraie, P : pinède, R : reboisements

Champignons récoltés	S	P	R	Champignons récoltés	S	P	R
<i>Agaricus arvensis</i> Schaef.	-	-	+	<i>Hygrocybe conica</i> (Scop. : Fr.)	+	-	-
<i>A. campestris</i> L. Fr.	+	-	-	Kumm	-	+	-
<i>A. silvaticus</i> Sch. : Fr.	+	+	-	<i>H. conica</i> Var. <i>cloroides</i>	-	-	+
<i>Agrocybe praecox</i> (Pers.) Fay	-	+	-	(Malençon) Bon	-	+	-
<i>Aleuria aurantia</i> (Pers.: Fr.) Fuck.	+	-	+	<i>H. nivea</i> (Scop.)	+	-	-
<i>Amanita caesarea</i> (Scop.: Fr.) Pers.	+	-	-	<i>Hygrophorus chrysodon</i> (Batch.Fr.)	-	+	+
<i>A. citrina</i> (Schaef. : Fr.) Gray.	+	-	-	Fr.	+	-	-
<i>A. phalloides</i> (Vaill. Fr.) Link	+	+	-	<i>H. coccineus</i> (Schaeff.)	-	-	+
<i>A. pantherina</i> (D.C.: Fr.) Kromb	+	-	-	<i>H. marzuolus</i> (Fr.) Bresadola	+	+	-
<i>A. virosa</i> (Fr.) Lam.	+	-	-	<i>H. niveus</i> (Wulf. : Fr.) Kov	-	+	+
<i>Armillaria mellea</i> (Vahl : Fr.) Kumm	+	-	+	<i>Inocybe cookei</i> Bres	+	+	-
<i>Boletus aurantiacus</i> Bull. : Fr.	+	-	-	<i>I. geophylla</i> (Sow. ex Fr.) Kumm.	+	+	-
<i>B. badius</i> (Fr.) Fr.	+	-	-	<i>I. lilacina</i> Fr.	-	+	-
<i>B. edulis</i> Bull. : Fr.	+	-	-	<i>I. maculata</i> Boud.	+	-	-
<i>B. luridus</i> Sch. : Fr.	+	-	-	<i>Laccaria laccata</i> (Scop. : Fr.) Cook.	-	+	-
<i>B. satanas</i> Lenz	+	-	-	<i>Lactarius blennius</i> Fr.	+	-	-
<i>B. variegatus</i> Fr ex Swartz	+	-	-	<i>L. chrysorrheus</i> Fr.	+	+	-
<i>B. viscidus</i> L.	+	-	-	<i>L. deliciosus</i> (L. ex Fr.) S. F. Gray	-	+	-
<i>Bovista plumbea</i> Pers.	-	-	+	<i>L. pallidus</i> Pers. ex Fr.	+	-	+
<i>Calvatia utriformis</i> (Bull. Pers)	-	+	-	<i>L. mastoidea</i> Fr.	-	+	+
= <i>C. Bovista</i>	-	+	-	<i>L. volemus</i> Fr.	-	+	-
<i>Cantharellus aurantiacus</i> Krombh.	+	+	-	<i>Lepiota cristada</i> A. Schw. ex Fr.	+	-	+
<i>C. cibarius</i> Fr.	-	+	-	<i>L. gracilentia</i>	+	+	-
<i>C. xanthopus</i> (Pers.) Duby	-	+	+	<i>L. mastoidea</i> Fr.	+	-	-
<i>Clathrus ruber</i> (Mich.) Pers.	+	-	-	<i>Lepista inversa</i> (Scop.) Pat.	+	-	-
<i>Clavaria aurea</i> (Schaeff : Fries)	+	-	-	<i>L. nuda</i> (Bull. : Fr.) Cook.	+	-	+
Quél.	+	-	-	<i>L. procera</i> Scop. ex Fr.	-	+	+
<i>C. ochraceovirens</i> (Jungh.)	-	+	-	<i>L. rhacodes</i> Vitt.	+	-	+
<i>C. vermicularis</i> Sw. : Fr.	+	+	-	<i>L. rickenii</i> Sing.	+	-	-
<i>Clitocybe dealbata</i> (Sow. Fr.)	-	+	+	<i>Lycoperdon depressum</i> Bon.	+	-	-
Kummer	-	+	-	<i>L. perlatum</i> Pers. = <i>L. gemmatum</i>	-	+	-
<i>C. decembris</i> = <i>dicolor</i> Sing	-	+	-	<i>L. piriforme</i> (Schaef.) Pers.	-	+	-
<i>C. gibba</i> (Pers. : Fr.) Kumm.	+	-	+	<i>Inocybe patouillardii</i> (Bres.)	+	-	-
<i>C. odora</i> (Bull. Fr.) Quel	-	+	-	<i>I. lilacina</i> Fr.	+	-	-
<i>C. vibecina</i> (Fr.) Quel	+	-	-	<i>I. tigrina</i> Heim	-	+	-
<i>Collybia butyracea</i> var. <i>asema</i>	+	-	-	<i>Macrolepiota mastoidea</i> (Fr.) Singer	-	+	-
(Fr.Fr.) Quel	-	-	+	<i>M. procera</i> (Scop. : Fr.) Sing.	+	-	-
<i>C. fusipes</i> (Bull.) Quél	-	+	-	<i>Mycena galericulata</i> (Scop. Fr.)	-	+	+

<i>Coprinus comatus</i> (Mull. : Fr.) Pers.	-	+	-	Gray	+	-	+
<i>C. disseminatus</i> (Pers. : Fr.) Gray	+	+	+	<i>M. vulgaris</i> (Pers. Fr.) Kumm	+	+	+
<i>C. micaceus</i> Bull. : Fr.	+	+	-	<i>Otidia umbrina</i>	+	-	+
<i>Cortinarius praestans</i> Cordier	+	-	-	<i>Paxillus involutus</i> (Batsch : Fr.) Fr.	+	+	-
<i>C. humicolus</i> (Quél.) Maire	+	-	-	<i>Phallus impudicus</i> L. : Pers.	+	-	-
<i>C. glandicolor</i> Fr.	+	-	-	<i>Pisolithus tinctorius</i> (Scop.) Raush	+	-	-
<i>C. splendens</i> R. Henry	+	-	-	<i>Psalliota arvensis</i> Schaef. ex Fr.	+	+	+
<i>C. torvus</i> Fr.	+	-	-	<i>Rhizopogon obtextus</i> (Spreng.)	-	+	-
<i>Craterellus cornucopioides</i> (L. : Fr)	+	-	-	Rausch.	-	+	-
Pers.	-	-	+	<i>Rhodophyllus mammosus</i> (Lin. ex	-	+	+
<i>Crucibulum laeve</i> (Huds.) Kam	-	+	+	Fr.) Quél.	+	+	+
<i>Cyathus striatus</i> (Huds. Pers.)	+	-	+	<i>Rozites caperata</i> (Pers. ex Fr.)	+	-	-
<i>Entoloma rhodopolium</i> (Fr.) Kumm	-	+	-	Karst.	-	+	-
<i>E. sericeum</i> (Bull. : Fr) Quél.	+	+	-	<i>R. fellea</i> Fr.	+	+	-
<i>Geastrum rufescens</i> Pers.	+	-	-	<i>R. lepida</i> Fr.	+	-	-
<i>G. triplex</i> (Jungh.)	-	-	+	<i>R. torulosa</i> Bres			
<i>Hebeloma mesophaeum</i> (Pers. ex				<i>Scleroderma citrinum</i> Pers.			
Fr.)				= <i>C. vulgare</i>			
Quél. <i>H. leucosarx</i> Orton				<i>S. geaster</i> (Gmel.) Pers.			
<i>Hydnum umbellicatum</i> Peck				<i>S. verrucosum</i> (Bull.) Pers.			
<i>Hygrocybe acutoconica</i> (Clem.)				<i>Tricholomacolumbetta</i> Scaef. ex Fr.			
Singer				<i>T. saponaceum</i> (Fr.) Kumm			
<i>H. coccinea</i> (Schaeff. : Fr.) Kummer				<i>Volvaria gloiocephala</i> (D.C. : Fr.)			
				Boek. End			

Parmi les espèces rencontrées, nombreuses sont également des espèces comestibles de valeur, abondantes dans la subéraie et la pinède. Peuvent être cités *Cantharellus cibarius*, *Craterellus cornucopioides*, *Cortinarius praestans*, *Hydnum umbilicatum*, etc. (fig. 5).

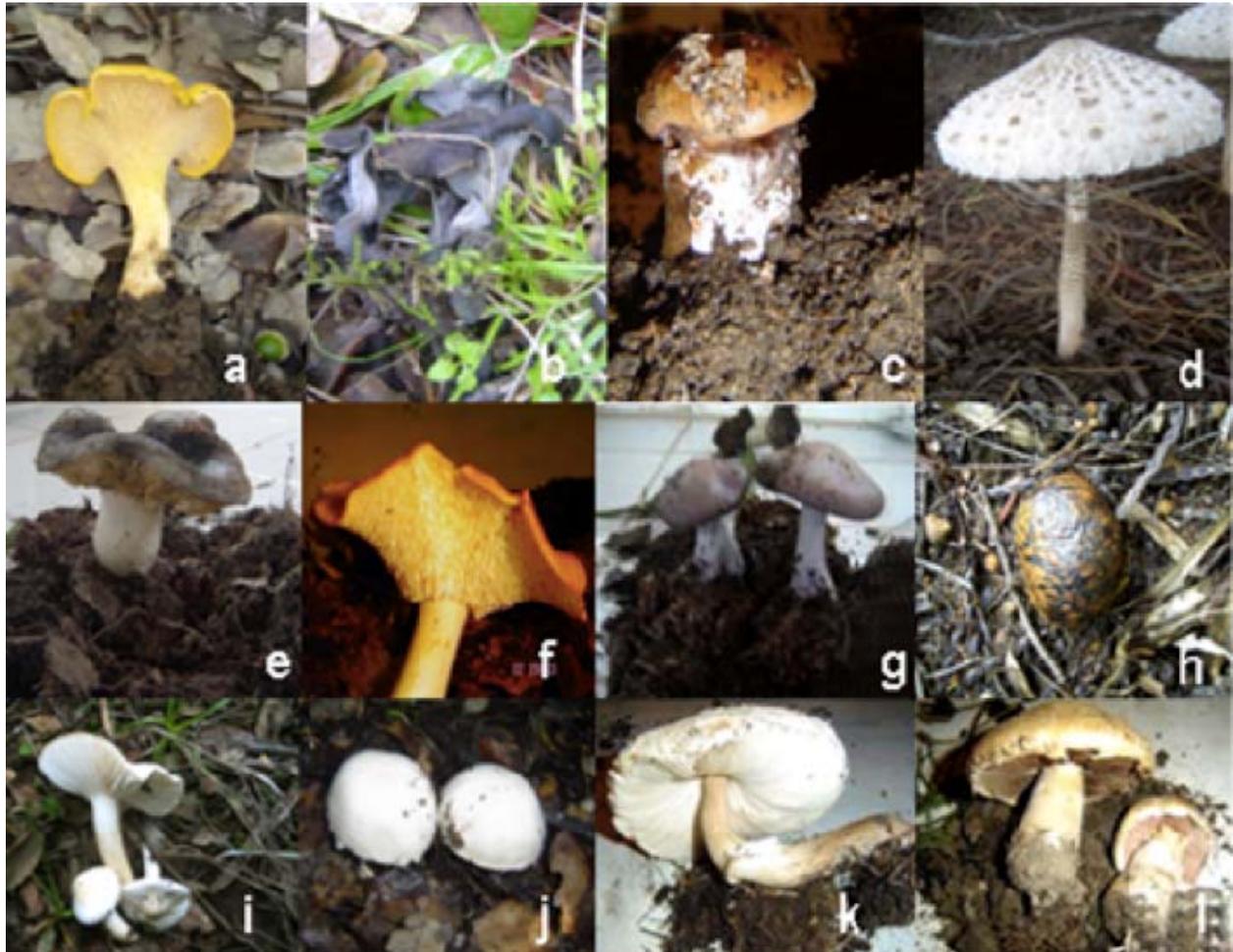
Certaines espèces sont très dangereuses par leur caractère vénéneux telles que *Amanita phalloides*, d'autres présentent un grand intérêt comme *Pisolithus tinctorius*, l'un des champignons mycorhiziens les plus versatiles, adapté à des conditions difficiles du milieu, température élevée, pH faible, sol peu fertile et pauvre en matière organique (Marx et Bryan, 1971 ; Momoh et Gbadegesin, 1980). Ses sporophores sont abondants pendant une bonne partie de l'année renfermant un nombre très élevé de spores. Il est très abondant dans les peuplements d'eucalyptus, mais aussi dans la pinède et la subéraie.

Les champignons en Algérie ne rentrent pas beaucoup dans les habitudes alimentaires des populations. Cependant, avec la médiatisation de l'information et l'accès à la télévision câblée, ces produits suscitent de plus en plus d'intérêt et commencent à être recherchés par les populations riveraines des milieux naturels qui les récoltent sans aucun contrôle. Un des objectifs de cet inventaire est de réaliser un atlas des champignons du Nord-Est algérien afin de faire connaître ces produits et d'attirer l'attention non seulement sur leur caractère

symbiotique, sur leurs vertus médicinales et culinaires, mais aussi sur les dangers potentiels que peuvent présenter certaines espèces.

Figure 5 : Quelques champignons fréquents dans le Nord-Est algérien.

(a) *Cantharellus cibarius*, (b) *Craterellus cornucopioides*, (c) *Cortinarius spraestans*, (d) *Macrolepiota procera*, (e) *Hygrophorus marzuolus*, (f) *Hydnum umbilicatum*, (g) *Lepista nuda*, (h) *Pisolithus tinctorius*, (i) *Tricholoma columbetta*, (j) *Agaricus arvensis*, (k) *Macrolepiota mastoidea*, (l) *Agaricus silvaticus*.



La liste des espèces fongiques récoltées lors de cette présente investigation n'est qu'indicative de la richesse de la zone d'étude en champignons à sporophore susceptibles de s'associer symbiotiquement aux arbres forestiers du Nord-Est algérien. Cependant, il faut souligner que s'il est vrai que la majorité des champignons qui forment des sporophores sont ectomycorhizogènes (Smith et Read, 2008), il existe également un grand nombre de champignons inférieurs (Phycomycètes, zygomycètes) capables de contracter des symbioses ectomycorhiziennes et qui échappent à notre inventaire.

Comme le suggèrent Guinberteau et Courtecuisse (1997), les champignons, par leur mode de vie et leurs particularités biologiques, constituent un règne très difficile d'accès, lorsqu'on veut en aborder une étude sous l'angle des évaluations quantitatives ou qualitatives. Les raisons sont multiples, entre autres, les sporophores, seuls témoins de la présence d'une espèce donnée, apparaissent d'une manière fugace dans la plupart des cas, car ils ont une durée de vie de quelques heures à quelques jours seulement. Selon les mêmes auteurs, cette apparition des sporophores est l'objet d'une périodicité régie par des cycles biologiques complètement méconnus (une espèce donnée peut être l'objet de fluctuations considérables influencées par des cycles non biologiques, incontrôlables et imprévisibles). Quoiqu'il en soit, il ressort de cette étude préliminaire que les forêts du Nord-Est algérien sont riches en champignons à sporophores lesquels sont en majorité ectomycorhiziens. Il convient donc d'essayer d'isoler certains d'entre eux et de les cultiver puis de vérifier leur infectivité et leur effectivité afin de sélectionner les plus performants. Il sera alors possible d'en produire des inocula susceptibles d'être testés pour leur rôle et leurs actions sur l'écologie et la physiologie des différents arbres.

3. LES MYCORHIZES DE L'OLIVIER (*OLEA EUROPAEA* L.) : ASPECTS ECOLOGIQUES

3.1 LA MYCORHIZATION NATURELLE DE L'OLIVIER DANS LE BASSIN OLEICOLE DE GUELMA

L'olivier est un arbre rustique qui occupe une place importante dans l'arboriculture fruitière algérienne. Actuellement, il est considéré comme un élément majeur de l'économie agricole du pays. Outre l'olive de table qu'il fournit, son huile est réputée pour ses vertus nutritives et curatives vu qu'elle est utilisée en consommation directe et aussi en médecine traditionnelle et en cosmétologie. Cependant, le verger oléicole national en général et le verger guelmois en particulier, quoique importants par leur surface, offrent des rendements en deçà de leurs aspirations, car les arbres sont vieillissants, souffrants de nombreuses maladies et occupent en général des terres pauvres et caillouteuses.

La valorisation de l'oléiculture dans la wilaya de Guelma et la mise en place d'un dispositif adéquat pour la protection, le développement et la promotion du secteur oléicole sont les objectifs recherchés dans les programmes socio-économiques des pouvoirs publics.

Dans ce contexte, la présente étude a été effectuée en vue d'apporter une contribution à la connaissance des relations symbiotiques entre cet arbre et les champignons mycorhizogènes de sa rhizosphère : étape préliminaire indispensable à la production de plants mycorhizés susceptibles d'être utilisés dans le rajeunissement des vergers.

L'étude a eu lieu dans la wilaya de Guelma pour établir le statut mycorhizien de l'olivier cultivé et voir comment évolue la symbiose mycorhizienne en fonction des paramètres âge des plants, variétés de l'olivier et des saisons.

Dans cette zone qui limite la région d'El Tarf (voir paragraphe 2.1) par son côté sud-ouest, trois stations ont été choisies (voir fig. 1, tabl. 1) : un verger centenaire en pleine production, situé dans la commune de Bekkouche Lakhdar (B), un deuxième verger situé dans la commune de Bouchegouf (G) où les oliviers sont âgés de 6 à 7 ans, ils sont en leur début de production. La troisième station est une pépinière (P) située dans la commune de Belkheir où les plants sont âgés de un an. Les trois stations sont cultivées par les variétés Blanquette et Rougette de l'olivier, greffées sur l'oléastre. Le choix des sites est basé sur la présence de ces deux variétés qui coexistent en mélange dans ces stations et bénéficient de conditions édaphiques et climatiques semblables. C'est-à-dire un climat méditerranéen avec des précipitations moyennes allant jusqu'à près de 900 mm/an, des sols de texture limono-sableuse, basiques, moyennement riches en matière organique, et pauvres en phosphore.

Les observations des racines colorées de l'olivier cultivé dans les trois stations du bassin de Guelma ont montré que ce dernier présentait un système racinaire colonisé par des endomycorhizes arbusculaires typiques produisant beaucoup de vésicules et arbuscules quelle que soit la station (fig. 6). Le suivi de la colonisation durant une année a permis de noter une variation significative de l'intensité de la colonisation (M%) en fonction des saisons. En effet, ces estimations révèlent en moyenne, comme indiqué dans la figure 7, des taux nettement élevés au printemps (60,73 %) et en automne (58,27 %), ceux-ci diminuent significativement en hiver (42,65 %) et deviennent très faibles en été (17,34 %). Cette dynamique saisonnière de la colonisation mycorhizienne arbusculaire a été également observée dans la région de Boghni en Algérie (Khelfan-Goucem, 2001) et en Espagne (Roland-Fajardo et Barea, 1986) pour l'olivier et pour d'autres espèces (Sanders et Fitter, 1992 ; Muthukumar et Udaiyan, 2002).

Fig. 6 : Racines d'olivier colonisées par des CMA.

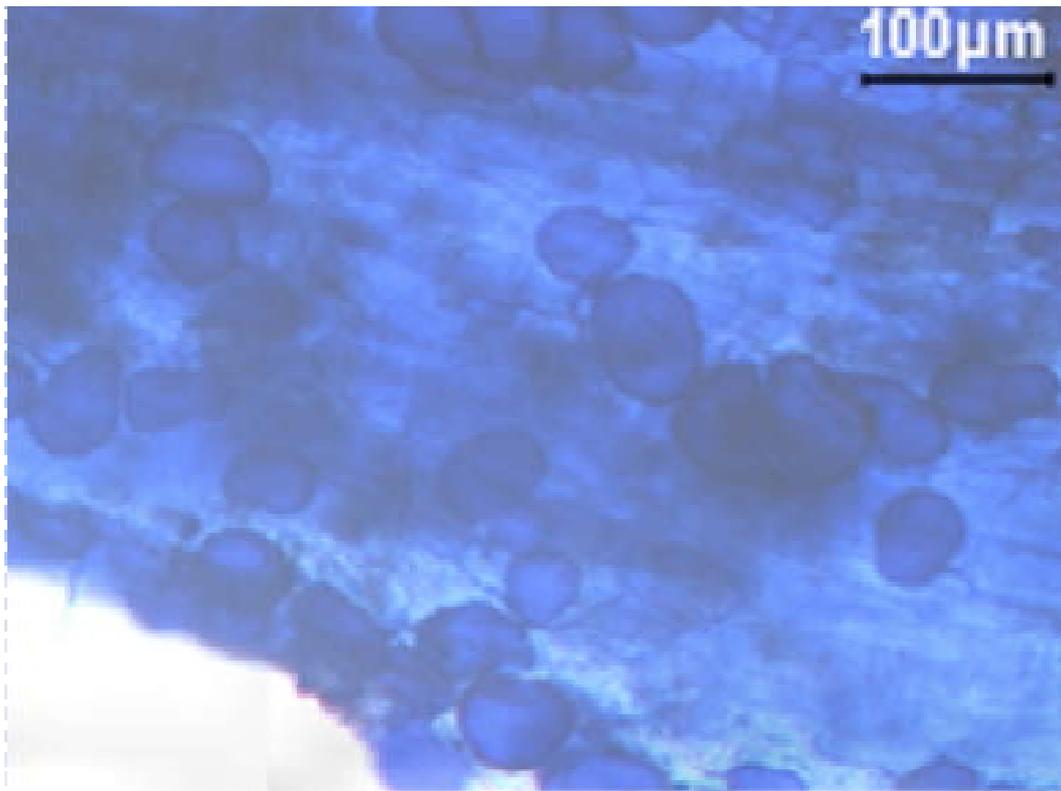
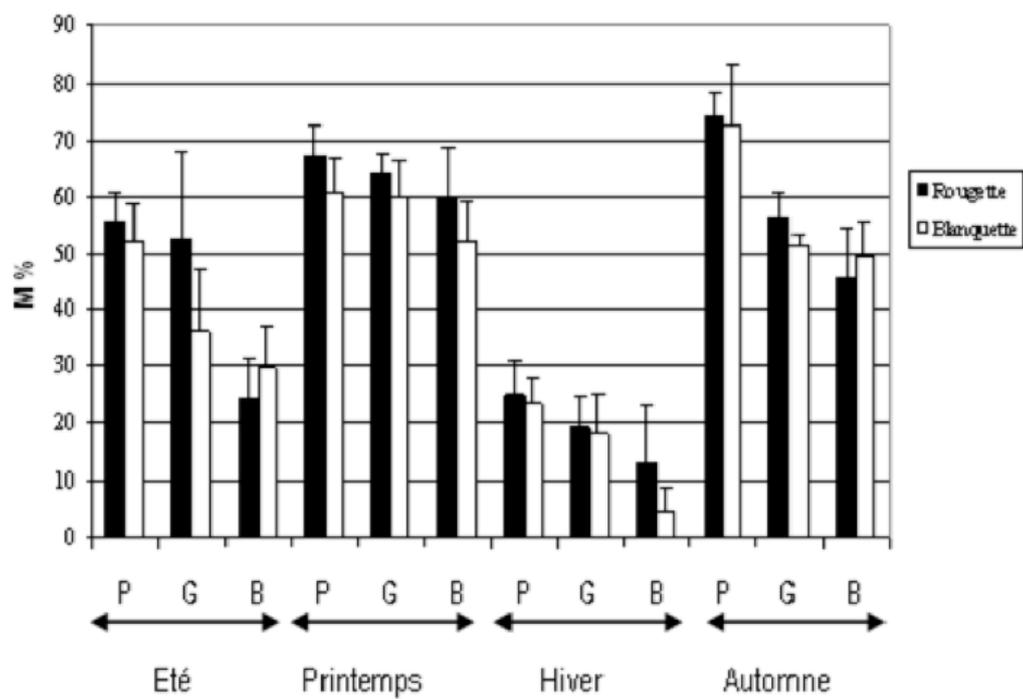


Fig. 7 : Évolution saisonnière de l'intensité de la mycorhization dans les systèmes racinaires de l'olivier.



Boullard (1968) rapporte que l'abondance des mycorhizes au niveau d'un système racinaire dépend de nombreux facteurs intriqués tels que l'âge de l'espèce hôte, les propriétés physico-chimiques des sols et également la position géographique. En effet, l'âge des plants semble exercer un effet sur le taux de mycorhization (M%) puisque les plants de pépinières sont plus colonisés que les plants âgés, avec un taux de mycorhization dépassant 70 %. Cependant, l'impact variétal ne semble pas agir. En effet, les variétés Rougette et Blanquette sont cultivées depuis fort longtemps dans le bassin de Guelma. Elles coexistent dans la plupart des vergers du nord-est de l'Algérie et sont soumises aux mêmes conditions environnementales telles que les propriétés physico-chimiques des sols, notamment la teneur en phosphore et le pH. Par conséquent, il était attendu de trouver des valeurs similaires au niveau des paramètres de mycorhization étudiés : ceux-ci évoluent chez les deux variétés de manière équivalente au cours de l'année. Il semble que l'intensité de la mycorhization soit en étroite relation, d'une part, avec les conditions climatiques qui conditionnent l'activité végétative dépendante de la photosynthèse et, d'autre part, avec le cycle de développement de l'olivier qui s'effectue en deux vagues : la vague de printemps qui est la plus importante dans la croissance annuelle et celle de l'automne (Argenson *et al.*, 1999). La mycorhization semble corrélée à cette dynamique saisonnière de la croissance puisque les taux les plus élevés s'observent également au printemps et en automne.

Les populations de champignons MA sont similaires dans les différentes stations étudiées (Bekkouche Lakhdar, Bouchegouf et pépinière de Belkheir) et forment une communauté caractéristique de la rhizosphère oléicole du bassin de Guelma.

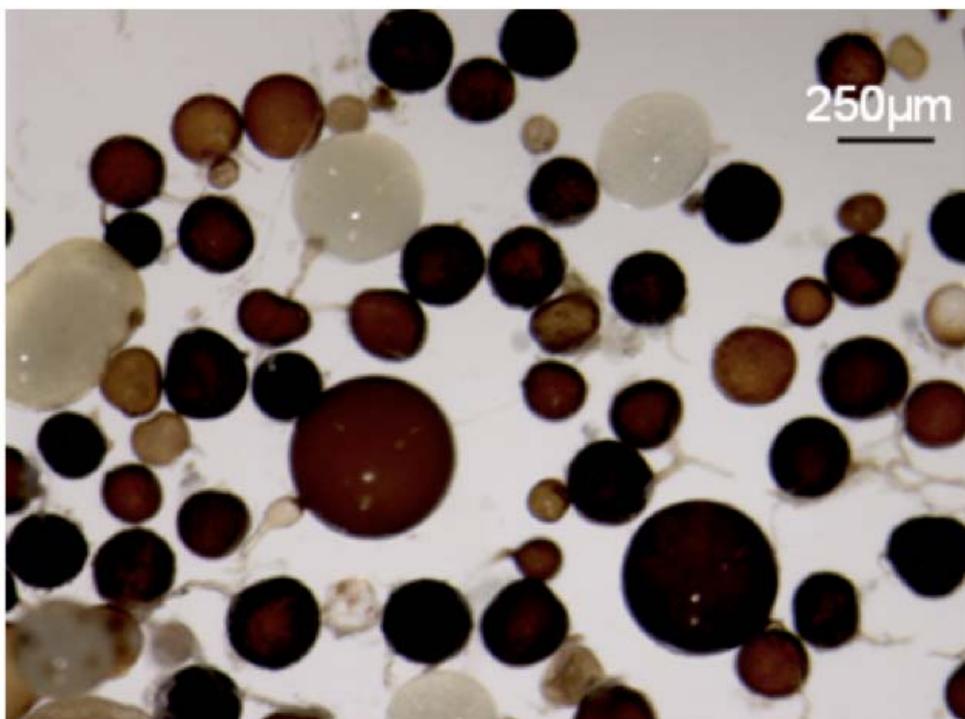
Ces spores appartiennent aux genres *Glomus*, *Gigaspora*, *Scutellospora* et *Entrophospora*. Il est à noter la nette prédominance du genre *Glomus* en nombre et en morphotypes (fig. 8, 9).

3.2 LA MYCORHIZATION NATURELLE DE L'OLIVIER EN FONCTION DES ETAGES BIOCLIMATIQUES DE VEGETATION

L'objectif principal de cette partie de la recherche était de voir si l'olivier qui est présent également dans les zones semi-arides et arides de l'Est algérien pouvait contracter des symbioses mycorhiziennes. Pour ce faire, une prospection de la mycorhization en fonction des étages bioclimatiques a été entreprise. Quatre stations ont été choisies à travers un transect allant de l'étage humide au nord vers le Saharien au sud. Il s'agit d'une oliveraie dans la

wilaya de Bejaïa (36° 43' N, 5°4' E) qui fait partie de l'étage humide avec jusqu'à 1 300 mm/an, d'une deuxième dans la wilaya de Annaba (Boucheouf, 36° 20' N, 7° 43' E) située dans l'étage subhumide avec 960 mm/an, d'une troisième dans la wilaya de Tébessa (35° 29' N, 8° 8' E) pour l'étage semi-aride avec 400 mm/an et enfin de l'oliveraie d'El Oued (33° 30' N, 6° 7' E) pour l'étage aride avec moins de 100 mm de pluie/an. Ces stations sont cultivées par les variétés Chemlel et Rougette de l'olivier et les arbres y sont tous productifs. Ces stations sont également caractérisées par la présence de l'olivier sauvage ou oléastre (*Olea oleaster*) sur de vastes territoires.

Figure 8 : Divers morphotypes de spore de la rhizosphère de *Olea europaea*.



Cette étude a permis de noter la présence évidente de la colonisation MA aussi bien chez les variétés Chemlel et Rougette que chez l'oléastre. L'isolement des spores a permis aussi de retrouver les trois mêmes genres rencontrés dans le bassin de Guelma, à savoir les genres *Glomus*, *Gigaspora* et *Entrophospora*.

Le tableau 4 montre que *Glomus mosseae*, *G. intraradices*, *G. constrictum*, *G. sp1* et *G. sp3* sont les espèces présentes dans tous les étages bioclimatiques, mais leur abondance est variable d'une station à l'autre. *G. intraradices* se montre dominant de l'étage humide au semi-aride tout comme *G. constrictum*, alors que *Glomus mosseae* semble fréquent plutôt dans les étages humide et subhumide. Dans ces mêmes stations, ont été retrouvés également

les genres *Entrophospora* et *Gigaspora*. Ce dernier avec *Scutellospora* sp, domine dans la station aride d'El Oued. Dans la station semi-aride de Tébessa, on ne note que la présence du genre *Glomus*.

La station d'El Oued s'est montrée la plus diversifiée, avec au moins sept morphotypes de *Glomus*, une espèce de *Gigaspora* et une espèce de *Scutellospora*. Ce qui conforte les résultats de Uhlmann *et al.* (2006) selon lesquels en milieu aride, il peut exister une grande diversité des CMA contrairement à ce qui est généralement admis.

Ainsi, tous les sols prospectés renferment des spores denses et diversifiées, mais sont-elles aptes à générer une mycorhization ? Dans ce cas, le potentiel mycorhizogène qui traduit la richesse du sol en propagules infectives (spores, mycélium, morceaux de racines colonisées) a été estimé par la technique du nombre le plus probable (Most Probable Number : MPN) (Alexander, 1965).

Cette technique adaptée aux champignons MA par Potter (1979) est basée sur l'utilisation d'une série de dilutions successives de sol, à raison de 10 pour épuiser progressivement le milieu et cerner ainsi la dilution limite dans laquelle il n'y aura plus de propagules. Les dilutions sont préparées en prenant soin de bien mélanger le sol d'origine et le même sol stérilisé à l'autoclave. À l'aide de la table de Cochran (1950), le nombre le plus probable de propagules présentes dans chaque sol a été calculé. Cette étude a été réalisée sur les sols rhizosphériques des variétés Chemlel et Rougette de l'olivier cultivé et sur celui de l'oléastre.

Dans l'étage humide représenté par la station de Bejaïa, le MPN est le plus élevé quel que soit le sol rhizosphérique utilisé (fig. 10). La comparaison des sols rhizosphériques entre eux montre que le MPN du sol de l'oléastre semble le moins pourvu en propagules infectives.

D'une manière générale, les MPN de toutes les stations étudiées se sont montrés relativement moyens à faibles. Ces résultats nous laissent suggérer la nécessité de renforcer les populations mycorhiziennes existantes par l'introduction d'un inoculum efficace en termes d'amélioration de la culture oléicole en Algérie. Guerbault (2009) note que les champignons mycorhizogènes choisis pour concevoir un inoculum peuvent être sélectionnés à partir de sols où prospèrent naturellement la plante, car ils sont sûrement les mieux adaptés.

Tableau 4. Tableau synthétique présentant la diversité et l'abondance sporale dans les différentes stations à olivier

+++ : Dominant, ++ : Fréquent, + : Présent

	Bejaïa	Bouhegouf	Tébessa	El Oued
	humide	subhumide	semi-aride	aride
<i>Glomus mosseae</i>	++	++	+	+
<i>Glomus intraradices</i>	+++	+++	+++	+
<i>Entrophospora infrequens</i>	++	+	-	-
<i>Glomus constrictum</i>	+++	+++	++	+
<i>Glomus</i> sp1	+	++	+	+
<i>Glomus</i> sp2	+	++	-	-
<i>Glomus</i> sp3	+	++	+	+
<i>Glomus</i> sp4	-	-	+	+
<i>Gigaspora</i> sp.	++	+	-	+++
<i>Scutellospora</i> sp.	+	+	-	+++

Figure 9 : Les morphotypes de spores de la rhizosphère de l'olivier dans le bassin de Guelma.

(a, b) *Glomus mossea* (respectivement sporocarpe et spore), (c) *Glomus* sp1, (d, e) *Glomus intraradices* (agrégat de spore et spore), (f) *Glomus* sp2, (g, h) *Glomus constrictum* (spore et contenu sporal), (i) *Gigaspora* sp., (j, k) *Glomus* sp 3 (spore et sporocarpe), (l) sporocarpe non identifié, (m, n) *Scutellospora* sp. (spore et boucle de germination), (o) *Entrophospora infrequens* (spore avec saccule).

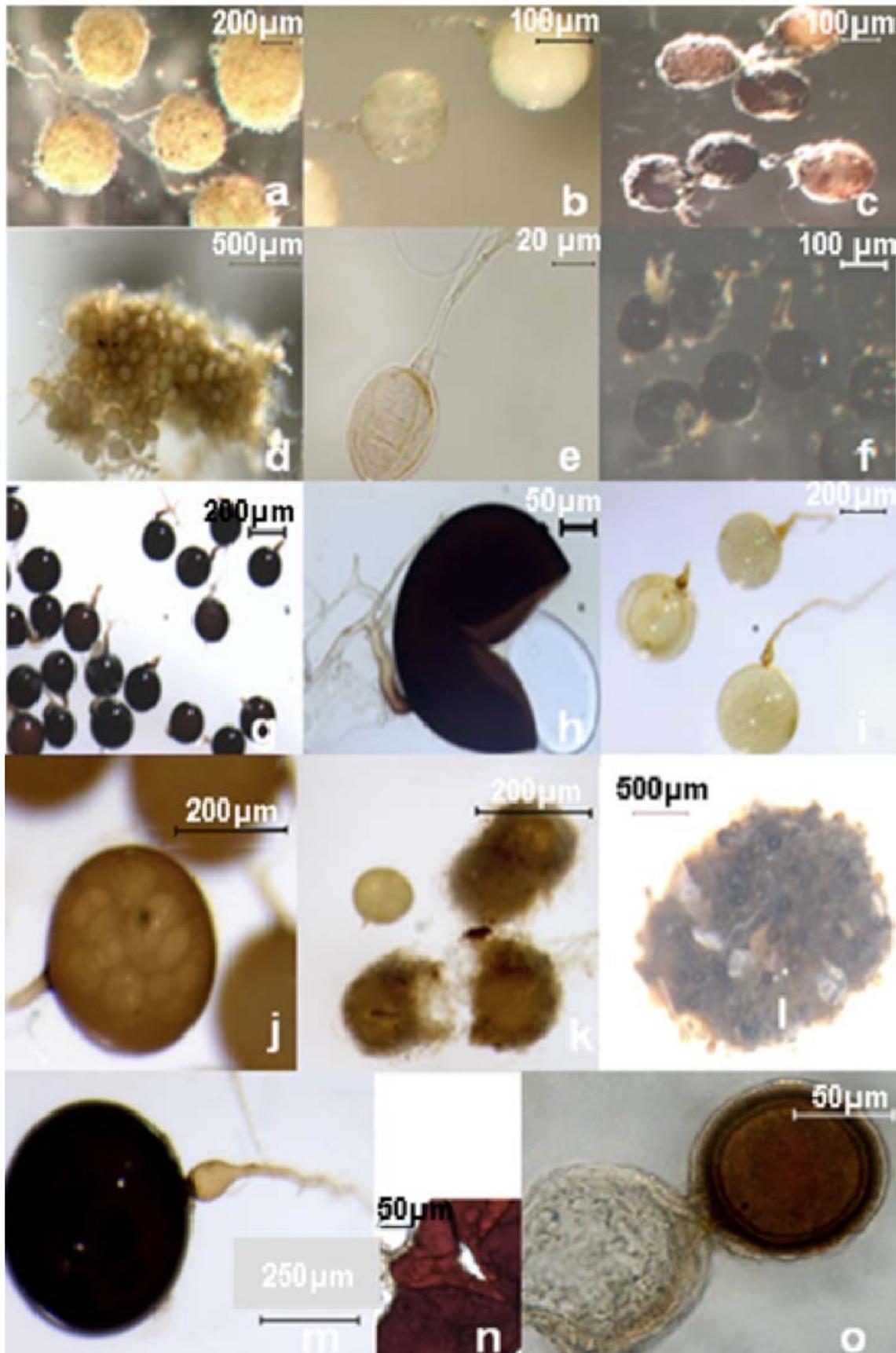
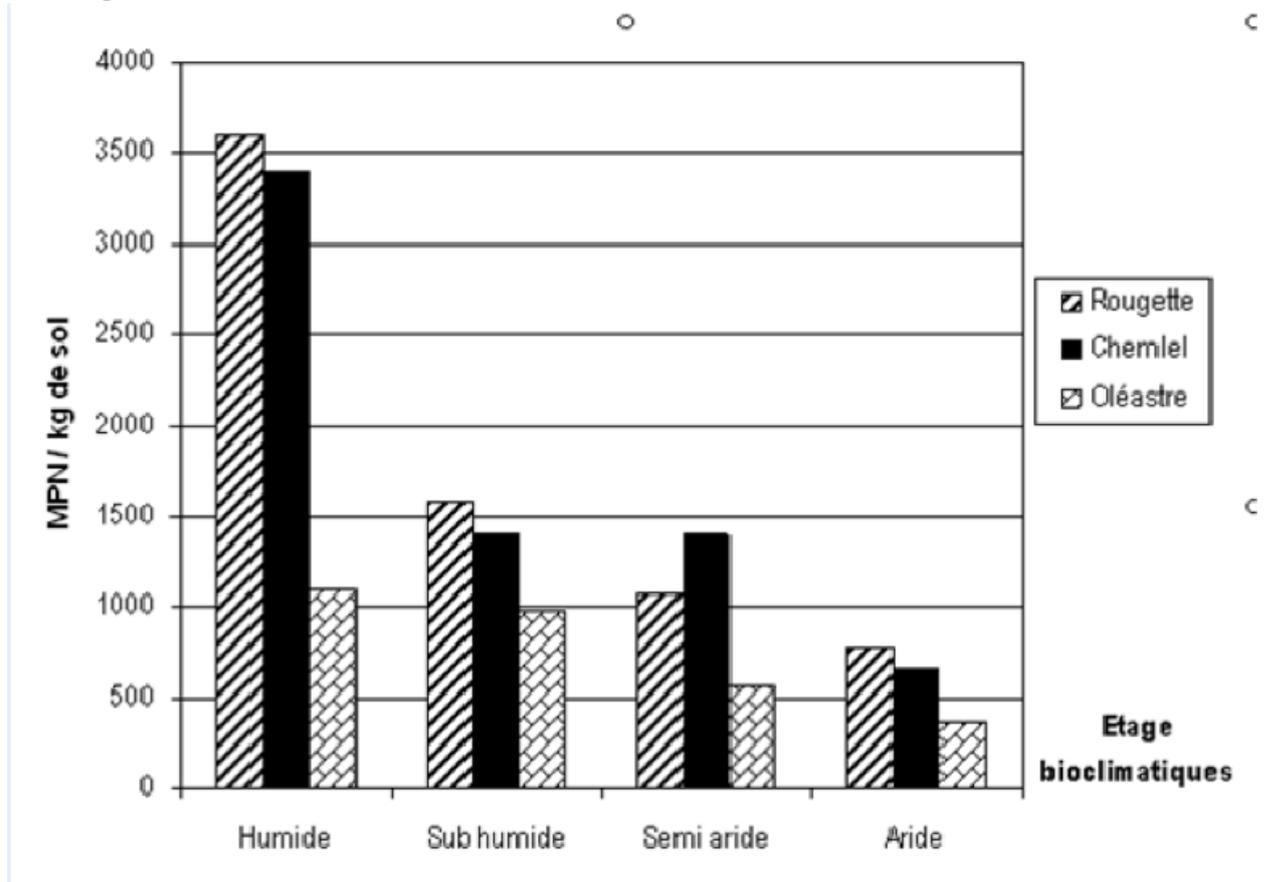


Figure 10 : Potentiel mycorhizogène des sols rhizosphériques en fonction des étages bioclimatiques.



4. CONCLUSION

L'objectif de ce présent travail était d'apporter une contribution à la connaissance des relations symbiotiques entre les différentes espèces forestières et leurs symbiotes telluriques possibles dans le Nord-Est algérien, de réaliser un inventaire fongique et d'étudier l'écologie des mycorhizes de l'olivier.

Les résultats de cette étude préliminaire permettent de retenir qu'en milieu naturel, la mycorhization est une réalité écologique.

Dans le Nord-Est algérien, tous les arbres et arbustes sont mycorhizés. Les ectomycorhizes qui sont importantes en nombre de morphotypes et en bons colonisateurs des racines méritent des études plus approfondies afin d'identifier les champignons impliqués. En effet, nos résultats restent peu rigoureux et nécessitent d'être renforcés par d'autres études

complémentaires, l'outil moléculaire dans ces conditions devient un moyen sûr tant sur le plan rapidité que sur le plan fiabilité.

Chacune des essences forestières joue un rôle dans l'équilibre physique et biologique de l'écosystème. Cependant, certaines ont un rôle supplémentaire, elles contribuent à l'essor économique du pays soit par la production de liège, soit par le bois d'œuvre ou d'énergie ou de pâte à papier, ou encore par son rôle de fixateur du sol ou comme brise-vent. Des études d'écologie et de biotechnologie des symbioses pour chacune d'elles devraient être entreprises, car nous pensons que la microflore symbiotique native joue certainement un rôle principal en matière de survie des espèces vu le climat souvent drastique, le sol souvent squelettique et l'exploitation souvent abusive, mais, en matière de rendement, la nécessité de l'inoculation, au stade pépinière, avec des champignons sélectionnés serait un procédé efficace.

L'exploitation du champignon *Cenococcum geophilum* serait également une voie importante à explorer.

Des isolements de souches et des inoculations en pépinières devraient être pratiqués, tout en tenant compte de l'importance de l'effet synergique qui peut résulter des doubles inoculations chez les espèces actinorhiziennes ou rhizobiennes.

Il serait ainsi possible de produire des plants de bonne qualité et de réaliser des plantations réussies pour pallier le problème de régénérations naturelles (cas du chêne-liège), pour améliorer la production en biomasse (liège, bois) et pour augmenter la résistance des arbres indigènes aux agressions biotiques et abiotiques.

Chez l'olivier, les spores de champignons arbusculaires les plus représentées appartiennent au genre *Glomus* principalement et au genre *Gigaspora* secondairement. La colonisation endomycorhizienne est présente quels que soient l'âge et la variété. Elle suit une dynamique saisonnière qui semble être corrélée avec la période active de la végétation.

L'inventaire fongique, l'abondance sporale et le calcul du potentiel mycorhizogène permettent de conclure que les rhizosphères de l'olivier dans le bassin de Guelma sont peuplées par des communautés de champignons MA denses et diversifiées. Elle forme une communauté caractéristique dominée surtout par le genre *Glomus*.

En considérant la distribution des stations selon les étages bioclimatiques de végétation, les taux de colonisation racinaires sont plus importants dans les stations humide et subhumide. La

station aride bénéficie de la diversité sporale la plus importante, mais avec le potentiel mycorhizogène le plus faible.

D'une manière générale, il ressort de cette étude concernant l'olivier, l'existence d'une communauté mycorhizienne commune aux rhizosphères oléicoles de l'Est algérien dotée d'un pouvoir mycorhizogène relativement moyen à faible, à l'exception de la station humide de Bejaïa. Ce résultat justifie la nécessité de renforcer le complexe mycorhizien existant par un inoculum sélectionné dans les processus de culture de l'olivier en Algérie afin d'améliorer son développement.

En ce qui concerne l'inventaire des macromycètes, nous avons dressé une liste de plus d'une centaine d'espèces fongiques se développant sous le chêne-liège, le pin maritime et les plantations à eucalyptus et acacia. La plupart des espèces identifiées ont déjà été décrites comme espèces mycorhizogènes. Cependant, cette liste nécessite d'être complétée car notre inventaire n'a été réalisé que durant deux années, or pour avoir des résultats plus complets, il est recommandé de répéter l'opération durant plusieurs années. Arnolds (1995) suggère 7 à 12 années d'observation pour évaluer la mycoflore d'un site donné. Néanmoins, il ressort de cette étude que nos subéraies et nos pinèdes sont très riches en champignons supérieurs et que la diversité spécifique des populations naturelles y est très importante. Les champignons sont parmi les moins connus des hêtres vivants. En Algérie, très peu d'études leur sont consacrées. Jones *et al.* (2003) soulignent que la composition et la diversité des champignons méritent une attention particulière vu leur impact potentiel sur le développement des sols forestiers.

Il est donc important d'intensifier les programmes d'inventaire de la biodiversité fongique sur plusieurs années afin de répertorier les espèces propres à chaque région et à chaque domaine d'application. Leur connaissance est un préalable à toute recherche d'application tant dans les domaines de biotechnologies des mycorhizes que dans les domaines culinaire et pharmacologique.

5. REFERENCES

Abourouh, M. (1995). Mycorhizes et mycorhization des principales essences forestières du Maroc. Thèse de doctorat d'état es-Sciences, spécialité mycologie. Université Mohamed V. Rabat, Maroc

- Abourouh, M. (1996). Les ectomycorhizes du Chêne-liège. Caractéristiques et rôle possible dans la régénération. Actes du séminaire méditerranéen sur la régénération des forêts de Chêne-liège. Tabarka du 22 au 24 octobre 1996. Annales de l'INGREF, numéro spécial.
- Adjoud-Sadadou, D. & Halli-Harrgas, R. (2000). Occurrence of arbuscular mycorrhiza on aged Eucalyptus. *Mycorrhiza*, 9: 287-290
- Agerer, R. (1987-2002) Colour Atlas of Ectomycorrhizae. 1st-12th delivery. 13 Einhorn-Verlag, Schwäbisch Gmünd
- Alexander, M. (1965). Most Probable Number method for microbial populations In: Black CA, (Ed), *Methods of soil analysis, part 2, chemical and microbiological properties*. American soc. Agron. Madison, Wis) Baylis, G. TS pp. 1467-72.
- Argenson, C., Regis, S., Jordman, J.M. & Vayesse, P. (1999). L'olivier. Edn. CTIFEL.
- Arnolds, E. (1995). Problems in measurements of species diversity of macrofungi In: *Microbial Diversity and Ecosystem Function (Chapter 19)* / Allsopp D. Colwell R.R. Hawksworth D.L (eds) pp 337-353.
- Beddiar, A. (1984). Les possibilités d'associations symbiotiques de l'aulne glutineux (*Alnus glutinosa* L. Gaertn) dans divers sols de l'Est de la France. Mémoire de D.E.A., université de Nancy I. U.E.R. P.C.B.- C.R.F. INRA. Nancy.
- Beddiar, A. & Mekadem, M. (2008). *Alnus glutinosa* (L. Gaertn), un arbre précieux à sauvegarder dans les écosystèmes humides du Nord-est algérien. *Sciences et Technologie C N°28* : 46-52
- Belair, de G. (1990). Structure, fonctionnement et perspectives de gestion de quatre complexes lacustres et marécageux (El-Kala Est algérien). Thèse de doctorat de l'Université des Sciences et Technologie du Languedoc, Montpellier pp193 + annexes.
- Boullard, B. (1968). Les mycorhizes. Masson et Cie (Edn), Collection de monographie de Botanique et de Biologie Végétale.
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Gave, T. & Malajczuk, N. (1996). Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. Australian Center for International Agricultural Research Monograph 32, Canberra. pp374. ISBN 1 86320 181 5

- Chafi, M.E. & Fortas, Z. (1999). Les mycorhizes des plantes des zones arides algériennes. *Bois et Forêts des Tropiques* 262 (4) :77-79
- Cochran, W.G. (1950). Estimation of bacterial densities by means of the (Most Probable Number). *Biometrics*, 6: 105-116
- Comandini, O., Contu, M. & Rinaldi, A.C. (2006). An overview of *Cistus* ectomycorrhizal fungi *Mycorrhiza*, 16: 381-395
- Courtecuisse, R. & Duhem, B. (2007). Guide des champignons de France et d'Europe. Edn. Delachaux et Niestlé. 476p.
- Dommergues, Y., Duhoux, E. & Diem, H.G. (1999). Les arbres fixateurs d'azote. Caractéristiques fondamentales et rôle dans l'aménagement des écosystèmes méditerranéens et tropicaux. CIRAD, Espace, FAO et IRD (eds). 499p.
- Duhoux, E. & Nicole, M. (2004). Biologie végétale, Association et interactions chez les plantes. IRD (Edn). 166 p.
- Emberger, L. (1955). Une classification biogéographique des climats. *Rec. Trav. Lab. Oecol. Zool., Fac. Sci. Montpellier Ser. Bot* 7 : 1-43.
- Eyssartier, G., Masson-Deblaise, I. & Joly, P. (2004). Larousse des champignons. (Edn). Larousse. 408p.
- Fortin, J.A., Plenchette, C. & Piché, Y. (2008). Les Mycorhizes : La nouvelle révolution verte. Quae (Edn) et Multimondes (Edn), Québec. 131 p
- Frioni, L., Minasian, H. & Volfovicz, R. (1999). Arbuscular mycorrhizae and ectomycorrhizae in native tree legumes in Uruguay. *Forest Ecology and Management*, 115: 41-47
- Garbaye, J. & Guehl, J.M. (1997). Le rôle des ectomycorhizes dans l'utilisation de l'eau par les arbres forestiers. *Revue Forestière Française*, n° spécial : 106-120.
- Garbaye, J., Menez, J. & Wilhelm, M.E. (1986). Les mycorhizes des jeunes chênes dans les pépinières et les régénérations naturelles du nord-est de la France. *Acta Oecologica Plantarum*, 7: 87-96

- Gerdemann, J.W. & Nicholson, T.H. (1963). Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, 46: 235-244.
- Gianinazzi, S., Golotte, A., Binet, M.N., van Tuinen, D., Redecker, D. & Wipf, D. (2010). Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza*, 20 : 519-530
- Giovanetti, M. & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84: 489-500
- Guebault, S. (2009). Les mycorhizes outils d'une horticulture et d'une agriculture durables. *Jardins de France*, 497: 19-25.
- Guinberteau, J. & Courtecuisse, R. (1997). Diversité des champignons (surtout mycorrhiziens) dans les écosystèmes forestiers actuels. *Revue Forestière Française*, n° spécial : 25- 39.
- Ingleby, K, Mason, P.A., Last, F.T. & Fleming, L.V. (1990). Identification of ectomycorrhizas. I.T. E. Natural Environment Research Council. Controller of H. M. S. O. 110 p
- Jones, M.D., Durall, D.M. & Cairney, J.W.G. (2003). Ectomycorrhizal fungal communities in young forest stands regenerating after clearcut logging. *New Phytologist*, 157: 399–422.
- Khelfan-Goucem, K. (2001). Contribution à l'étude des endomycorhizes à arbuscules chez l'olivier dans la région de Boghni Willaya Tizi Ouzou : Etude de l'efficacité des champignons endomycorhizogènes sur la croissance. Mémoire de Magistère en écologie et biologie des populations, université de Tizi Ouzou, Algérie.
- Lamaison, J.L. (1988). *Le livre des champignons*. (Edn) Solar, 350p.
- Le Tacon, F. (1997). Vers une meilleure prise en compte des champignons mycorrhiziens dans la gestion forestière. *Revue Forestière Française*, n° spécial : 245- 255
- Lemoine, C. (1996). *Nouveau guide des champignons*. (Edn). Ouest-France. 447p.
- Marx, D.H. & Bryan, W.C. (1971). Influence of ectomycorrhizae on survival and growth of aseptic seedlings of loblolly pine at high temperature. *Forest Sciences*, 17: 37-41

- Meddad-Hamza, A., Beddiar, A., Golotte, A., Lemoine, M.C., Kuszala, C. & Gianinazzi, S. (2010). Arbuscular mycorrhizal fungi improve the growth of olive trees and their resistance to transplantation stress. *African Journal of Biotechnology*, 9: 1159-1167
- Messaoudène, M., Metna, B. & Djouaher, N. (1996). La régénération de *Quercus suber* (L) dans la forêt domaniale de Beni-gobri (Algérie). Actes du séminaire méditerranéen sur la régénération des forêts de Chêne-liège. Tabarka du 22 au 24 Oct. 1996. *Annales de l'INRF*
- Molina, R. & Trappe, J.M. (1982). Patterns of ectomycorrhizal host specificity and potential among pacific North West conifers and fungi. *Forest sciences*, 3: 423-458
- Molina, R., Massicotte, H. & Trappe, J.M. (1992). Specificity phenomena in mycorrhizal symbiosis: community-ecological-consequences and practical implications on mycorrhizal functioning. Chapman et Hall (eds), Vol. 11: 357-423.
- Momoh, Z.O. & Gbadegesin, S.R.A. (1980). Field performance of *Pisolithus tinctorius* as a mycorrhizal fungus of pines in Nigeria. In *Tropical mycorrhizal research*. Mikola P (Ed.). Oxford Univ. Press: 72-79.
- Muthukumar, T. & Udaiyan, K. (2002). Seasonality of vesicular-arbuscular mycorrhizae in sedges in a semi-arid tropical grassland. *Acta Oecologica*, 23: 337-347
- Nezzar-Hocine, H., Bouteville, R.J., Halli-Hargas, R. & Chevalier, G. (1996). La macroflore fongique de *Cedrus atlantica* (Endl.) Manetti ex Carrière. II. Les champignons ectomycorhiziens d'une cédraie du massif du Djurdjura (Algérie). *Cryp. Mycol.*, 19: 139-162.
- Orson K, Miller JR (1987) Taxonomy of ecto and ectendomycorrhizal fungus, in *Methods and principals of Florida*, American phytopathological society (edn): St Paul. Minnesota.
- Phillips, J.S. & Hayman, D.S. (1970). Improved procedures for cleaning roots and staining parasitic and VAM fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55: 158-161
- Polese, J.M. (2000). *Le mini-guide des champignons*. Ed. Kônemann, 381p

- Poter, W.M. (1979). The "most probable number" method for enumerating infective propagules of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Australian Journal of Soil Research*, 17: 515-519
- Reddel, P. & Warren, R. (1987). Inoculation of acacias with mycorrhizal fungi: potential benefits. In: Turnbull JW (ed) *Australian acacias in developing countries*, pp 50-55; Canberra: ACIAR
- Roland-Fajardo, B.E. & Barea, J.M. (1986) Mycorrhizal dependency in the olive tree (*Olea europaea* L.). In Gianinazi-Pearson V et Gianinazzi S, the 1st European Symposium on Mycorrhizae, Physiology and genetics aspects of mycorrhizae, Paris. 323-326.
- Romagnesi, H. (1970). *Petit Atlas des champignons Tome I, II, III. Série Bordas, Société mycologique de France* (ed).
- Sanders, I.R. & Fitter, A.H. (1992). The ecology and functioning of vesicular arbuscular mycorrhizas in co-existing grass land species. I. Seasonal patterns of mycorrhizal occurrence and morphology. *New Phytologist*, 120: 517-524
- Selosse M.A. & Le Tacon, F. (1999). Les champignons dopent la forêt. *La recherche* 319, pp 33-35.
- Smith, S.E. & Read, D.J. (2008). *Mycorrhizal Symbioses*. Third edition Academic Press, London, UK. 769p
- Theodorou, C. & Reddell, P. (1991). In vitro synthesis of ectomycorrhizas on Casuarinaceae with a range of mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 118: 279-288
- Trappe, J.M. (1962). *Cenococcum graniforme: its distribution, morphology, mycorrhiza formation and inherent variation*. Ph D Thesis, University of Washington, Seattle USA: 148 p
- Trouvelot A, Kough JL, Gianinazzi-Pearson V (1986) Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: physiology and genetics aspects of mycorrhizae. Gianinazzi-Pearson V et Gianinazzi S (Eds), 1st ESM, INRA Press, Paris: 217-221
- Uhlmann, E., Görke, C., Petersen, A. & Oberwinkler, F. (2006). Arbuscular mycorrhizae from arid parts of Namibia. *Journal of Arid Environment*, 64: 221-237

Voiry, H. (1981). Classification morphologique des ectomycorhizes du chêne et du hêtre dans le nord-est de la France. *European Journal of Forest Pathology*, 11: 284-299

**LES SYMBIOSES VEGETALES, UN ATOUT POUR LA REVEGETALISATION DES SOLS
DEGRADES : CAS DES SABLIERES DE TERGA ET SIDI LAKHDAR (ALGERIE)**

par Ighilhariz Z., Benguesmia R., Benelhadj Djelloul S., Sekour S., Mansouri M. L.,
Bekki A. E. K.

Laboratoire de biotechnologie des rhizobiums et amélioration des plantes (LBRAP), faculté
des sciences. Université d'Oran Es Sénia.

1. INTRODUCTION

En Algérie, l'accroissement démographique nécessite de nombreux aménagements notamment en matière d'habitat et de réseaux routiers, pour répondre à des besoins économiques et sociaux. De ce fait, les carrières de sable du littoral algérien sont la principale source d'approvisionnement en sable et selon un rapport officiel élaboré en 2010 par ENG (Entreprise nationale des granulats), 120 carrières de sable sont recensées à travers le littoral algérien. Les dommages liés à cette activité ne sont pas sans conséquences sur l'écosystème.

Pour réduire l'ampleur de l'activité extractive sur l'environnement littoral, l'Algérie comme de nombreux pays, a encadré l'exploitation des carrières par une législation rigoureuse, imposant le réaménagement et la réhabilitation du milieu après exploitation par la mise en place d'une couverture végétale sur tout ou une partie de la sablière.

Les actions de réhabilitation par revégétalisation doivent être entreprises pour reconstruire l'écosystème afin de réduire les impacts de l'action de l'homme dans le paysage et de limiter les risques d'érosion (Le Roux, 2002). L'un des problèmes majeurs auquel sont confrontés les aménageurs de ces sites est la pauvreté de leurs sols après exploitation. Ce sont principalement des sols stériles du point de vue organique et biologique (absence d'humus, de microfaune et de microflore). Ce sont des sols pauvres en éléments nutritifs, en particulier l'azote qui n'excède jamais 0,5 g/kg, de fortes carences en phosphore, une capacité d'échange en cations très faible et de fortes contraintes climatiques (Brunel *et al.*, 2007). Dans de telles situations, la colonisation spontanée d'espèces végétales reste très limitée. De plus, l'utilisation de terre de découverte ou l'apport de terre végétale présente de nombreux inconvénients : pertes d'une partie de ses propriétés biologiques lors du stockage, prolifération de végétaux exogènes indésirables issus de graines présentes dans le matériau importé et qui sont les responsables majeurs de l'appauvrissement de la biodiversité (Brunel *et al.*, 2007).

La recherche de végétaux adaptés à ces contraintes notamment les légumineuses, leur multiplication et leur réintroduction dans ces milieux sont une alternative efficace. Les symbioses végétales (rhizobiennes et mycorhiziennes) sont une composante fondamentale de la stabilité et la durabilité des écosystèmes et leur introduction dans les sites dégradés est primordiale pour réussir l'installation de plants en milieu défavorable. En effet, de nombreuses études montrent l'importance de microorganismes symbiotiques fixateurs d'azote

(rhizobia) et mycorhiziens sur le développement des plantes et sur le fonctionnement du sol (Duponnois *et al.*, 2005a, 2005b).

C'est dans ce contexte qu'une première expérience de revégétalisation est menée en 2007 par notre laboratoire (Laboratoire de biotechnologie des rhizobiums et amélioration des plantes) en collaboration avec les services des forêts de la wilaya de Mostaganem sur une carrière d'extraction de sable à Sidi Lakhdar (Mostaganem).

2. ESSAI DE REVEGETALISATION DE LA CARRIERE DE SIDI LAKHDAR (MOSTAGANEM)

Cette première expérience de revégétalisation est effectuée par l'introduction d'un couple symbiotique *Acacia saligna-Rhizobium*.

Le choix d'*Acacia saligna* est basé sur sa faculté à établir une symbiose tripartite légumineuse-Rhizobium-mycorhizes qui jouent un rôle fondamental dans la restauration et la revégétalisation des sols dégradés (Jeffries et Barea, 2001 ; Le Roux, 2002). Il pousse sur différents types de sols essentiellement faiblement acides ou calcaire-sableux et tolère les sols salés et alcalins (Bell, 1999 ; El Euch, 2000 ; Burley, 2004).

Cette espèce est la plus utilisée dans les programmes de réhabilitation des parcours et couvre en Tunisie 72,5 % des superficies des plantations sylvo-pastorales (Zaafouri, 1993). Il est utilisé pour la restauration des sols, des versants de montagnes et des collines érodées, ainsi que dans la stabilisation des sables mobiles (Crompton, 1992), pour la fixation des dunes littorales et continentales (Albouchi *et al.*, 2001). Selon ces auteurs, *Acacia saligna* est parmi les essences forestières les plus employées dans le reboisement des zones arides et semi-arides vu sa capacité à pousser sur différents sols.

2.1. CARACTERISTIQUES PHYSICOCHIMIQUES DU SOL DE LA SABLIERE

Les analyses physicochimiques du sol de la sablière destiné à être revégétalisé montrent qu'il s'agit d'un sol à texture sablonneuse, alcalin (51,22 % de calcaire), non salé (CE = 0,06 mS), faible matière organique et pauvre en éléments nutritifs (Sekkour, 2008). Ce sont des conditions défavorables qui constituent une contrainte à la végétation et entravent le

développement de la flore microbienne du sol indispensable pour la croissance et la nutrition des plantes, d'où l'intérêt de sélectionner des souches performantes.

2.2. CHOIX DE L'INOCULUM BACTERIEN

Avant son introduction sur le site, nous avons procédé dans un premier temps à la sélection de 18 isolats obtenus à partir de nodules racinaires d'*Acacia saligna* provenant de dunes du littoral oranais stabilisées par cette espèce. Ces isolats présentent une morphologie comparable à celle des Rhizobia connus et une bonne résistance à la température jusqu'à 45 °C, à la salinité jusqu'à 5 % et au pH allant de pH4 à pH11. Parmi ces souches, trois sont sélectionnées : **ASB13** (*Rhizobium* sp.) **ASB5** (*Sinorhizobium* sp.) et **ASB7** (non identifiée), et servent d'inoculum sur la base de leur efficacité en conditions contrôlées (capacité à former des nodules et à fixer l'azote atmosphérique) et de leur résistance aux conditions extrêmes. La croissance des plantes inoculées est plus importante comparée au témoin non inoculé (fig. 1). C'est la souche **ASB13** qui a montré une efficacité très élevée pour la croissance et la nutrition azotée des jeunes plants d'*A. saligna* après 4 mois de transplantation sur site dégradé de la sablière (fig. 2).

Figure 1 : Effet souche sur le poids sec de la partie aérienne (PA) et la partie racinaire (PR) des plants d'*Acacia saligna* inoculés après 4 mois de croissance.

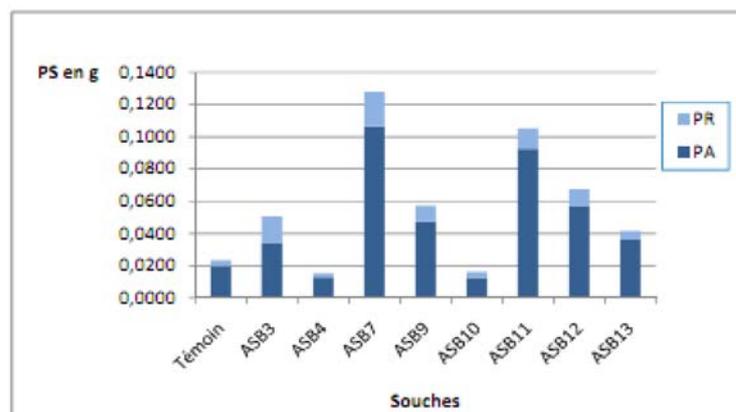


Figure 2 : Transfert des plants sur champs (a) et aspect d'*Acacia saligna* inoculée par la souche ASB13 après 4 mois de transplantation sur champs de la sablière de Sidi Lakhdar.



Dans l'objectif de favoriser la biodiversité originelle de cette région, l'introduction d'une essence forestière le Pin d'Alep associé à *Acacia saligna* est tentée. Néanmoins après deux ans, nos observations sur le site révèlent l'échec de l'implantation de cette espèce dû essentiellement à l'absence totale de mycorhizes, d'où la nécessité d'associer ce troisième partenaire de la symbiose végétale. L'absence de ces champignons dans le site nous a amenés à introduire un inoculum fongique isolé d'une région limitrophe, la forêt de Stidia plage. Ce travail est mené dans le cadre du projet jeune équipe SYMED associé à l'IRD.

3. DIVERSITE DES CHAMPIGNONS ENDOMYCORHIZIENS DANS LA FORET DE STIDIA PLAGE (ZONE COTIERE DE L'OUEST ALGERIEN)

Notre choix a porté sur deux essences forestières présentes dans la forêt de Stidia. Il s'agit de *Tetraclinis articulata* (Thuya) et *Retama monosperma* (Rétame) afin de mettre en évidence l'importance de l'association mycorhizienne dans l'amélioration de la croissance des arbres forestiers pour leur utilisation dans la réhabilitation des sols *via* la revégétalisation du milieu. Le Thuya joue essentiellement un rôle de protection des sols contre l'érosion hydrique et le Rétame dans l'équilibre du milieu naturel et la lutte contre la désertification.

3.1. METHODOLOGIE UTILISEE

3.1.1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS

L'échantillonnage est effectué sur dix parcelles réparties dans la forêt de Stidia (fig. 3). Environ deux kilogrammes de sol rhizosphérique sont prélevés de chaque parcelle autour des arbres choisis (tabl. 1) sur une profondeur de 20 centimètres. Les dix parcelles sont choisies en fonction de la structure du couvert forestier et sa structure arbustive et herbacée allant d'un état très dégradé (parcelles 1, 2, 10 avec un couvert diffus et absence de régénérations naturelles) à un état de formation forestière très riche (parcelles 5, 6, 7, 8 avec un couvert végétal dense, abondant et présence de régénérations naturelles).

De la même manière et en même temps, de fines racines secondaires sont prélevées sous le rétame (*Retama monosperma*) et le Thuya (*Tetraclinis articulata*). Les racines sont nettoyées afin d'éliminer les particules adhérentes et traitées comme précédemment décrit pour l'estimation du degré d'infection.

Tableau 1. Relevé botanique et données GPS des parcelles d'expérimentation

Route nationale N° 11	N° de parcelle	Type de végétation	Données GPS
	↓ Stidia plage	1	<i>Pinus pinea</i>
2		<i>Juniperus thurifera</i>	30 765049 E ; 3966145 N ; ALT 82 ^F _T
3		<i>Pinus pinea</i>	30 765060 E ; 3966239 N ; ALT 78 ^F _T
4		<i>Juniperus phænicea</i>	30 765005 E ; 3966250 N ; ALT 75 ^F _T
5		<i>Tetraclinis articulata</i>	30 765061 E ; 3966280 N ; ALT 90 ^F _T
6		<i>Juniperus phænicea</i>	30 765143 E ; 3966371 N ; ALT 79 ^F _T
7		<i>Tetraclinis articulata</i>	30 765155 E ; 3966458 N ; ALT 90 ^F _T
8		<i>Tetraclinis articulata</i>	30 765232 E ; 3966552 N ; ALT 91 ^F _T
9		<i>Tetraclinis articulata</i>	30 7656522 E ; 3966744 N : ALT 90 ^F _T
10		<i>Tetraclinis articulata</i> <i>Retama monosperma</i>	30 660721 E ; 3923530 N : ALT 90 ^F _T

E : Est

N : Nord

ALT : Altitude au niveau de la mer

Figure 3 : Vue générale de la forêt de Stidia plage et les différents sites de prélèvement
a : La forêt de Stidia-plage de la wilaya de Mostaganem, b, c : bordures de la forêt caractérisées par un couvert végétal dégradé et d : le milieu de la forêt caractérisé par un couvert végétal très dense



3.1.2. DETERMINATION DU POTENTIEL MYCORHIZIEN ET EVALUATION DE LA DIVERSITE FONCTIONNELLE DE LA MICROFLORE ASSOCIEE DANS LES DIFFERENTES PARCELLES

3.1.2.1. PIEGEAGE DES CHAMPIGNONS ENDOMYCORHIZIENS

Afin de déterminer la capacité du sol de la forêt de Stidia à initier la formation de l'association mycorhizienne et d'évaluer sa diversité en champignons endomycorhiziens, nous avons utilisé comme plante mycotrophe le maïs (*Zea mays*) pour le piégeage de ces champignons (Morton, 1992 ; Walker, 1992).

La mise en évidence de l'infection racinaire est réalisée par la coloration des racines des plantes prélevées selon la méthode de Phillips et Hayman (1970). Le taux de mycorhization

des racines est estimé selon la méthode décrite par Trouvelot *et al.* (1986) qui permet de calculer deux paramètres de l'infection, à savoir la fréquence de la mycorhization (F%) et l'intensité de la colonisation du cortex racinaire (M%).

Le substrat utilisé pour le piégeage est composé de dix dilutions de sol de la forêt de Stidia mélangé à une quantité déterminée de sable utilisé comme support et préalablement stérilisé à 140 °C pendant 40 min pour éliminer tout risque de contamination par d'autres champignons (tabl. 2). Pour déterminer le taux de mycorhization des plants de maïs, nous avons utilisé la méthode décrite par Trouvelot *et al.* (1986). Cette méthode permet d'apprécier l'état de la mycorhization et reflète l'importance de l'infection du système racinaire par les champignons endomycorhiziens.

Les graines de maïs sont désinfectées avec de l'hypochlorite de sodium à 13 °C pendant 15 min et rincées 10 fois avec de l'eau distillée stérile. Les graines sont ensuite transférées dans des boîtes de Petri contenant de l'eau gélosée à 1 %, puis placées dans un incubateur à l'obscurité et à 28 °C pendant 2 jours. Les graines germées sont transférées dans les pots de 150 ml contenant les sols dilués (tabl. 2) à raison de trois graines par pot avec trois répétitions et un arrosage quotidien de 5 ml d'eau distillée stérile par pot.

Tableau 2. Les différents substrats utilisés pour le piégeage des champignons mycorhiziens par le maïs

Les dilutions	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Quantité de sol non stérilisé en g	0	1	3	5	10	20	40	60	80	100
Quantité de sable stérilisé en g	100	99	97	95	90	80	60	40	20	0
%	0	1	3	5	10	20	40	60	80	100

100 g de sol non stérilisé

3.1.2.2. EXTRACTION ET DENOMBREMENT DES SPORES

Afin d'évaluer la diversité des champignons endomycorhiziens des différents sols, nous avons également procédé à une estimation du nombre de spores par la méthode de tamisage humide

décrite par Gerdermann et Nicolson (1963). L'estimation du nombre de spores est faite par comptage sous loupe binoculaire, le nombre moyen de spores est exprimé pour 100 g de sol sec. Une observation au microscope photonique d'un montage d'une suspension sporale entre lame et lamelle est effectuée pour une identification des espèces endomycorhiziennes. Cette identification est basée sur les caractéristiques phénotypiques comme la couleur, la taille, la forme et la structure de la paroi (Walker, 1983). L'identification des genres se base sur leur comparaison avec la description de la collection de référence dans l'INVAM (International Culture Collection Of Arbuscular and Vesicular Mycorrhizal Fungi) (<http://www.invam.caf.wvu.edu>) où chaque spécimen est photographié

3.1.3. ETUDE DE L'EFFET DE L'INOCULUM MYCORHIZIEN SUR LA CROISSANCE DE *RETAMA MONOSPERMA* ET *TETRACLINIS ARTICULATA*

Des racines sont récoltées au niveau de la forêt de Stidia, découpées en fragments de 1 à 2 cm de longueur et rincées soigneusement avec de l'eau distillée. Ces fragments sont mélangés à une suspension de sol issu du même lieu de prélèvement (1 :10 ; v:v) puis utilisés comme inoculum. Ces racines présentent un taux de mycorhization important révélé au préalable selon la méthode de Phillips et Hayman (1970) et peuvent donc être utilisées comme inoculum fongique.

Les graines pré-germées de chaque espèce sont mises dans des pots (1 litre) contenant du sol rhizosphérique de chaque parcelle préalablement tamisé et stérilisé à 120 °C pendant 1 h. Chaque plantule est inoculée après une semaine de croissance par 100 ml de la suspension de sol et racines préparées, à raison de 4 pots de 1 l pour chaque traitement d'inoculation et trois plantes par pot (tabl. 3).

Dans le cas de *Retama monosperma*, fixateur d'azote, un broyat de nodules est également utilisé après désinfection des nodules avec l'hypochlorite de sodium pendant une minute, suivie d'un rinçage répété à l'eau distillée stérile puis 3 à 4 nodules sont écrasés à l'aide d'une pince stérile dans un Eppendorff dans 1 ml à 1,5 ml d'eau distillée stérile. Douze répétitions sont effectuées pour chaque traitement d'inoculation. Cet inoculum fongique et bactérien est considéré comme représentatif de la microflore symbiotique et saprophyte de chaque parcelle.

Tableau 3. Les différents traitements d'inoculation appliqués pour *Retama monosperma* et *Tetraclinis articulata*

	<i>Retama monosperma</i>	<i>Tetraclinis articulata</i>
Témoin	-	-
Inoculation avec 100 ml de la suspension de sol et de racines	+	+
Inoculation avec le broyat des nodules	+	-
Double inoculation	+	-

+ inoculé ; - non inoculé

Les plantes sont régulièrement arrosées avec la solution nutritive sans azote (Broughton et Dillworth, 1971) et chaque quinzaine avec la suspension sol-racines mycorhizées. Après trois mois de culture, les plantes sont dépotées et leur biomasse sèche est déterminée. D'autres racines sont utilisées pour évaluer l'état de la mycorhization chez les deux espèces et la nodulation chez *Retama monosperma*.

4. RESULTATS

4.1. CARACTERISTIQUES PHYSICOCHIMIQUES DES SOLS

La majorité des parcelles présentent une composition granulométrique d'aspect limoneux-sableux, un pH alcalin variant entre 8,09 et 8,38, une teneur importante en matière organique, favorisant ainsi toute activité microbienne et la teneur en azote total des sols des 10 parcelles est satisfaisante et oscille entre 0,053 % et 0,112 %. La concentration en phosphore est faible pour les parcelles 1, 3, 9 et 10, satisfaisante pour les parcelles 4, 6, 7 et 8 et très élevée dans les parcelles 5 et 2 (tabl. 4).

Tableau 4. Les caractéristiques pédologiques des sols des 10 parcelles

N° de Parcelle	pH	Calcaire total	N (%)	P (mg/Kg)	Rapport C\N	Calcaire actif	Carbone	Matière organique
1	8,16	24	0,087	76	4,25	2,63	0,37	0,74
2	8,22	10,8	0,059	102	11,52	4	0,68	1,38
3	8,38	2	0,098	21,5	13,16	0	1,29	2,58
4	8,09	2	0,078	38	34,74	0	2,71	5,42
5	8,09	5	0,112	145,4	12,05	0,88	1,35	2,70
6	8,16	9,60	0,156	51	7,6	1	1,17	2,34
7	8,10	2	0,056	43,7	3,21	0	0,18	0,38
8	8,19	4	0,053	53,7	13,39	0	0,71	1,42
9	8,26	8,40	0,054	37	0	1,38	0	0
10	8,14	18	0,084	12,6	0,71	2,38	0,06	0,12

4.2. TAUX DE MYCORHIZATION DES RACINES DE *ZEAMAYS*

L'observation microscopique des racines de maïs colorées au bleu de Trypan révèle la présence importante de structures mycorhiziennes de type vésicules, ce qui confirme la mycotrophie des racines de *Zea mays*. Les dilutions 8, 9 et 10 favorisent l'initiation d'une symbiose mycorhizienne et les racines présentent un nombre important de vésicules alors qu'on note leur absence pour les dilutions 1, 2, 3 et 4. Le même profil est observé quant à la fréquence de mycorhization et l'intensité de la colonisation du cortex racinaire (tabl. 5). Elles sont élevées pour les dilutions 8, 9 et 10, relativement faibles pour les dilutions 5, 6 et 7 et nulles pour les quatre premières dilutions. La fréquence de mycorhization (F%) qui se situe entre 70 % et 90 % reflète l'importance de l'infection du système racinaire et le pourcentage observé de l'intensité de la colonisation du cortex racinaire (M%) située entre 30 % et 59 % dans les trois dernières dilutions indique que les racines révèlent un bon établissement de la mycorhization. Une fréquence (90 %) et une intensité (59 %) maximales sont observées dans le cas de la dilution 10 qui contient 100 % de sol de la forêt de *Stidia* non stérilisé, ce qui indique que ce sol peut initier la formation de l'association mycorhizienne et que les inoculum naturels présents dans ce sol peuvent former des vésicules et réinfecter les racines d'autres plantes. Le piégeage des champignons endomycorhiziens des sols de forêt par le maïs

et leur utilisation pour l'amélioration des pépinières de reboisement sont également rapportés par Houngnandan *et al.* (2009).

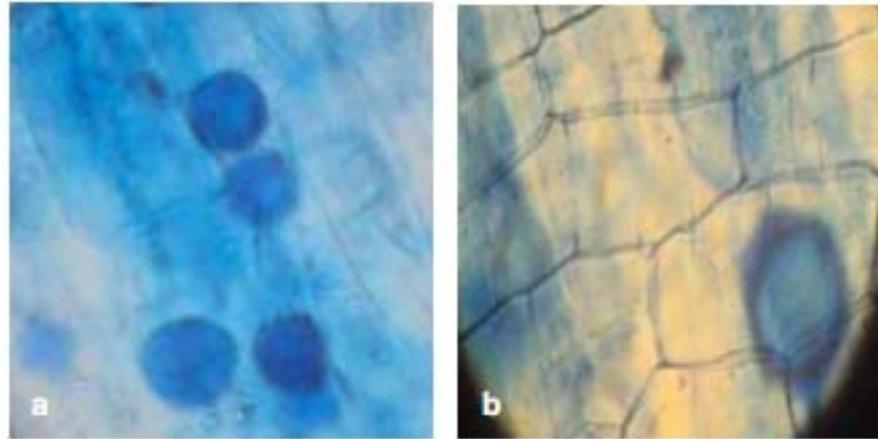
Tableau 5. Les pourcentages des différents paramètres d'infection des plantes mycorhizées de *Zea mays* pour chaque dilution du sol

Dilution du sol	Fréquence de mycorhization (F%)	Intensité de la colonisation du cortex (M%)
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	1,5	0,2
6	46	27,7
7	50	29,5
8	83	45
9	70	30
10	90	59,1

4.3. TAUX DE MYCORHIZATION DES RACINES DE *RETAMA MONOSPERMA* ET *TETRACLINIS ARTICULATA*

L'observation microscopique des racines du rétame et du thuya récoltées *in natura* révèle la présence de structures endomycorhiziennes telles les vésicules qui sont de forme sphérique à ovale (fig. 4). La fréquence de l'infection mycorhizienne varie dans le cas du Thuya entre 85 % à 100 % avec une intensité de colonisation du cortex racinaire de 19 % à 79 %.

Figure 4 : Mise en évidence de la mycorhization dans les racines de *Tetraclinis articulata* (a) et *Retama monosperma* (b) Gx400



4.4. DENOMBREMENT ET IDENTIFICATION DES SPORES

Le nombre de spores est variable dans les différentes parcelles (fig. 5). Ce sont celles qui sont caractérisées par la présence d'un couvert végétal dense et un état de formation forestière très riche qui présentent le nombre de spores le plus élevé (parcelles 5 et 6) avec respectivement 475 et 531 spores par 100 grammes de sol. Ce nombre est par contre réduit entre 125 et 121 spores respectivement dans les parcelles 1 et 10 qui bordent la forêt et qui sont caractérisées par un couvert végétal dégradé. Les secteurs dégradés montrent souvent de faibles densités de propagules mycorrhiziennes (Sieverding, 1991). Ces résultats révèlent une étroite relation entre la densité du couvert végétal et le nombre de spores. En effet, selon Cardoso *et al.* (2006), la richesse du sol en spores est en interaction directe avec la densité du couvert végétal.

Sur le plan phénotypique (fig. 6), toutes les parcelles présentent le même type de spores. Nos observations indiquent que la population des champignons endomycorhiziens de la forêt de Stidia est composée de trois genres, *Glomus*, *Acaulospora* et *Scutellospora*. Cette identification est basée sur la comparaison de ces résultats avec la description de la culture de référence dans l'INVAM, basée sur les caractéristiques morphologiques.

Figure 5 : Dénombrement des spores dans les différentes parcelles de la forêt de Stidia plage

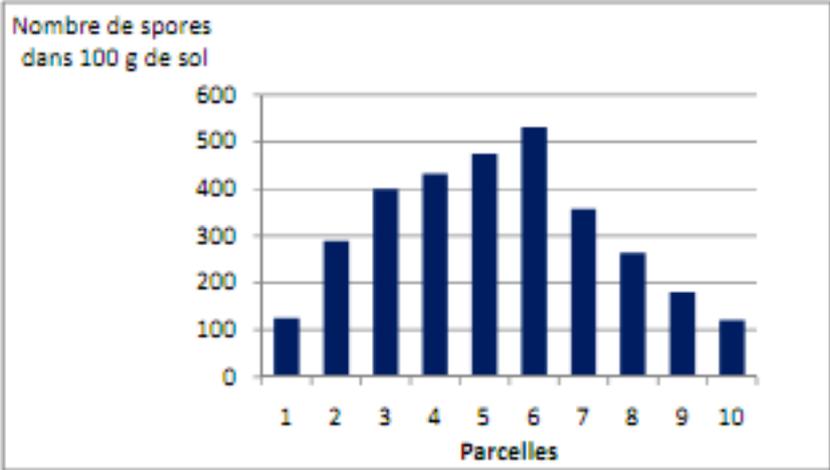
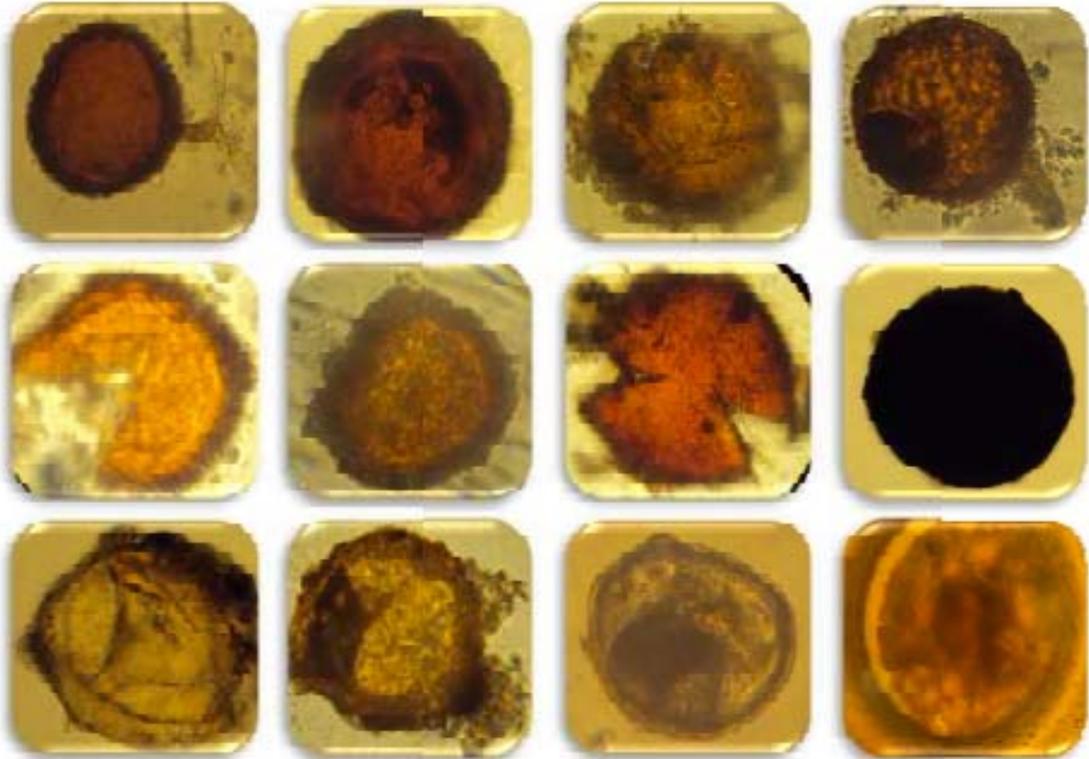


Figure 6 : Les différents morphotypes de spores du sol de la forêt de Stidia plage



Bakkali-Yakhlef *et al.* (2011) signalent la diversité des champignons mycorhiziens arbusculaires dans les racines de *Tetraclinis articulata* et *Lavandula multifida* qui existent dans les régions boisées marocaines, et que la plus grande diversité est trouvée dans les racines de *T. articulata* et appartient à la famille des *Gigasporaceae* et celle des *Glomaceae*. On remarque aussi une dominance du genre *Glomus* dans presque toutes les parcelles, plusieurs auteurs ont signalé cette dominance dans la majorité des écosystèmes (Meddad-hamza *et al.*, 2005 ; Beddiar *et al.*, 2008). Le nombre, la forme, la taille et la couleur des spores varient considérablement entre les espèces de champignons endomycorhiziens et au sein d'un même genre. Il est important de noter que toutes ces caractéristiques morphologiques de la spore jouent jusqu'à présent un rôle très important dans l'identification, le description et la classification des espèces de champignons endomycorhiziens (Giovannetti et Gianinazzi-Pearson, 1994 ; Dalpé, 1995).

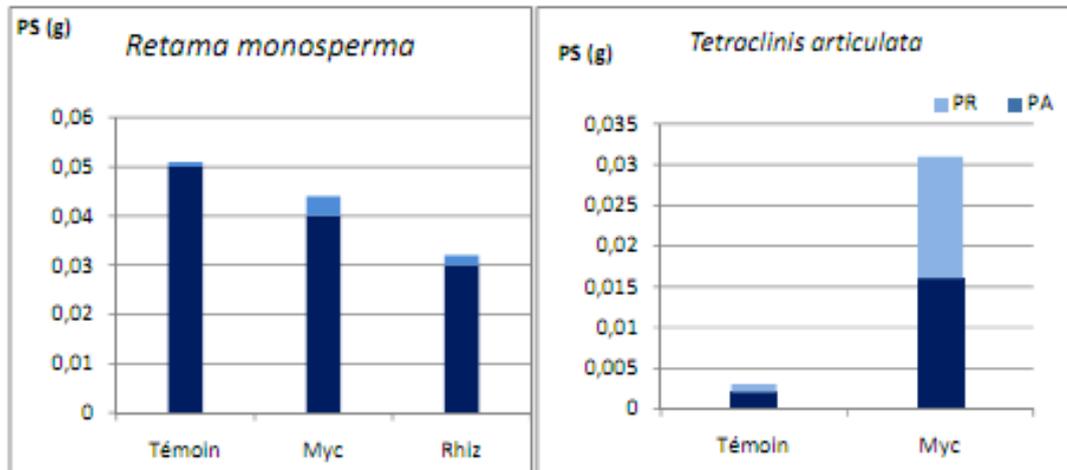
Les résultats des deux techniques d'estimation utilisées confirment la richesse et la diversité de la forêt de Stidia-plage en spores de champignons endomycorhiziens et le bon établissement de la mycorhization. Le dénombrement de spores par 100 g de sol pourrait en effet expliquer le potentiel mycorhizogène de ce sol et aussi la capacité de ces propagules de champignons de s'associer avec d'autres racines.

4.5. EFFET DE LA MYCORHIZATION SUR LA CROISSANCE DE *RETAMA MONOSPERMA* ET *TETRACLINIS ARTICULATA*

L'inoculation mycorhizienne a amélioré d'une manière significative la croissance de *Retama monosperma* et *Tetraclinis articulata* (fig. 7). La simple et la co-inoculation n'ont aucune influence sur la nodulation de *Retama monosperma*.

L'activité mycorhizienne se traduit généralement par une augmentation de la croissance des plantes, car elle assure une meilleure assimilation des nutriments principalement celle du phosphore et d'azote qui peuvent être multipliés par deux ou trois lorsque la plante est mycorhizée (Hodge, 2000 ; Jones *et al.*, 2004 ; Smith et Read, 2008). Nos résultats ont mis en évidence l'effet positif de l'inoculation mycorhizienne sur la biomasse sèche de *T. articulata*.

Figure 7 : Effet de l'inoculation mycorhyzienne (Myc) et rhizobienne (Rhiz) sur la croissance de *Retama monosperma* et de *Tetraclinis articulata*



La présence de vésicules dans ces racines explique la différence dans la biomasse totale sèche des plantes inoculées et non inoculées. La stimulation de la croissance est fortement corrélée avec la richesse du sol en propagules fongiques (nombre de fragments racinaires mycorhizés inoculés) par rapport au témoin non inoculé. Morte et Honrubia (1996) montrent l'effet de la mycorhization arbusculaire sur la croissance et la survie de *T. articulata* inoculée avec deux types d'inoculum de *Glomus fasciculatum*. Diaz et Honrubia (1993) ont également signalé cet effet chez *T. articulata* dans des conditions de pépinière, sur sol stérilisé et inoculé avec différents champignons mycorhiziens dont *Glomus mosseae* qui a eu une stimulation maximale de la croissance. Ces auteurs montrent que le pourcentage d'infection mycorhizienne qui est de 0 % pour des plantules de 1 mois atteint 72 % pour les plantules de 17 mois. De plus, Abbas *et al.* (2006) signalent qu'il existe une diversité des champignons arbusculaires dans les forêts de *T. articulata* au Maroc et que l'examen microscopique de racines a révélé la présence de champignons endomycorhiziens dans tous les échantillons avec un taux d'infection très élevé (plus de 80 %).

Le même profil est observé dans le cas de la légumineuse ligneuse *Retama monosperma* avec la présence de structures endomycorhiziennes après inoculation fongique et co-inoculation. Le

taux de mycorhization est plus élevé dans le cas de plantules traitées par 100 ml de la suspension sol-racine et plus faible dans le cas de la co-inoculation. Cette dernière n'a pas favorisé l'établissement d'une symbiose rhizobienne, mais a eu un effet positif sur la croissance des plantules durant trois mois et les vésicules observées constituent le lieu d'échange de nutriments entre la plante et le champignon mycorhizien (Offre *et al.*, 2007). Cette association bénéfique permet également au champignon de former un réseau mycélien externe, permanent, reliant les plantes entre elles et leur permettant de mieux exploiter les ressources nutritives surtout en conditions défavorables (carences en élément nutritif cas des sols dégradés (Chiarello *et al.*, 1982 ; Arvieu *et al.*, 2003). Ces résultats confirment l'effet majeur des champignons mycorhiziens dans l'amélioration de la croissance des plantes mycorhizées par rapport aux plantes non mycorhizées (Karagiannidis et Hadjisavva-Zinoviadi, 1998 ; Bansal *et al.*, 2000).

Hatimi *et al.* (1997) confirment que les champignons endomycorhiziens jouent un rôle important dans l'amélioration de la croissance et de la nutrition de trois légumineuses arborescentes (*R. monosperma*, *A. cyanophylla*, *A. cyclops*) inoculées par trois espèces de *Glomus* et que l'efficacité symbiotique est liée d'une part, au type fongique et d'autre part, à la plante hôte. L'échec de l'établissement de la symbiose rhizobienne suite à l'utilisation d'un broyat nodulaire peut être expliqué par les conditions de culture non optimisées, mais également par les souches bactériennes probablement peu efficaces avec la plante hôte (une efficacité symbiotique faible). En effet, l'absence de microorganismes convenables constitue un facteur limitant la nodulation et la fixation d'azote. La microflore du sol est l'un des facteurs limitant la production végétale et tient une place importante, car elle a une capacité d'agir d'une façon nette sur la production végétale comme le cas des mycorhizes qui agissent sur la nutrition des plantes.

D'une manière générale, les différents traitements ont permis une production de biomasse sèche importante chez *Tetraclinis articulata* comparé au *Retama monosperma*. Ces stimulations dépendraient beaucoup plus de l'efficacité du champignon mycorhizien. De nombreuses études ont montré que la symbiose mycorhizienne stimulait la croissance de plantes herbacées (Van der Heijden *et al.*, 1998) et ligneuses (Charest *et al.*, 1993 ; Duponnois *et al.*, 2000 ; Duponnois *et al.*, 2005a et b). La présence des champignons mycorhiziens est sans doute à la base de l'amélioration de la croissance des plantes. Notons également que l'alcalinité du sol convient à l'assimilation des éléments nutritifs et que l'absorption du

phosphore, du potassium et de l'azote est d'autant plus difficile que le pH s'abaisse (Mathieu et Pieltain, 2009).

Cette étude de la réponse de deux essences forestières *Retama monosperma* et *Tetraclinis articulata* de la forêt de Stidia aux communautés de champignons mycorhiziens nous a permis, dans nos conditions de travail, de bien montrer l'importance de cet outil biologique dans l'amélioration de la croissance des plantules après trois mois d'inoculation. Le sol du site d'étude est caractérisé par un potentiel mycorhizien important et sa richesse en champignons endomycorhiziens est confirmée. La population de champignons endomycorhiziens est composée de trois genres, *Glomus*, *Acaulospora* et *Scutellospora*.

Étant donné l'importance de champignons mycorhiziens dans les écosystèmes, il serait nécessaire de caractériser ces communautés par des techniques de biologie moléculaire afin de mieux comprendre leur fonctionnement et de réaliser des essais à plus grande échelle dans des conditions de pépinière avant leur transplantation sur les sites dégradés et l'usage des mycorhizes doit être considéré comme une stratégie biologique pour la production et la protection des végétaux.

Suite aux résultats obtenus précédemment, une deuxième expérience de revégétalisation est menée dans une carrière de sable du littoral ouest algérien (sablère de Terga ; Ain Temouchent).

5. ESSAI DE REVEGETALISATION DE LA SABLIERE DE TERGA (AIN TEMOUCHENT)

La stratégie de revégétalisation proposée se base sur la valorisation des propriétés biologiques d'associations plantes-microorganismes. L'utilisation de légumineuses locales et l'inoculation en pépinière avec des bactéries fixatrices d'azote sélectionnées sont les premiers éléments du succès de l'installation rapide de ces végétaux dans les milieux fortement carencés en azote. Le troisième élément du succès est l'exploitation de la symbiose mycorhizienne pour un développement optimal du système racinaire et la formation de nombreuses nodosités fixatrices d'azote.

L'assemblage de ces trois éléments conduit à la constitution d'un système biologique plantes-microorganismes qui agit comme un catalyseur favorisant la survie et le développement des végétaux après leur transfert dans les conditions fortement contraignantes caractérisées par

une saison estivale sèche et chaude. Ce travail est réalisé dans le cadre du projet Tassili qui associe notre laboratoire LBRAP, le Laboratoire des symbioses tropicales et méditerranéennes et la sablière de Terga. Il consiste en la production d'inoculum de *Rhizobium* et de champignons endomycorhiziens locaux sélectionnés pour améliorer la productivité d'*Acacia saligna* dans le but de revégétaliser et réhabiliter cette sablière.

Nous avons effectué l'isolement et la purification des souches à partir de nodules prélevés *in natura* sur le site ciblé et leur performance symbiotique est évaluée dans les conditions contrôlées. L'inoculum fongique est obtenu *in natura* par l'utilisation de racines d'*Acacia saligna* chez qui le taux de mycorhization préalablement évalué au niveau de deux sites (campus universitaire d'Oran IGMO et sablière de Terga) est égal à 100 % dans le cas du premier site.

Après sélection des souches rhizobiennes performantes, nous avons testé différentes combinaisons bactériennes et fongiques (tabl. 6) pour élire le meilleur couple symbiotique.

Tableau 6. Les différents traitements d'inoculation appliqués à *Acacia saligna*

Traitement	<i>Acacia saligna</i>
Inoculation bactérienne simple	5 ml d'une culture pure d'une seule souche de rhizobium de 15×10^8 bactéries/ml dans le sol au moment du repiquage des plantules obtenues après 5 jours de germination
Inoculation fongique simple (Myc)	Application contre la radicule d' <i>Acacia saligna</i> d'environ 1 g de poids frais de fragments de racines mycorhizées
Inoculation double (D)	Une souche de <i>Rhizobium</i> et racines mycorhizées dans les mêmes conditions précédentes
Inoculation mixte (Mix)	Trois souches sélectionnées et 1 g de racines fraîches
Témoin	Aucune inoculation

Le substrat utilisé est constitué d'un mélange de 25 % de sable provenant de la sablière et 75 % de tourbe. La culture est menée en pépinière dans des sachets en plastique

(17 cm x 9,5 cm), puis les plants sont transférés sur champ après 8 mois d'entreposage. Pour chaque traitement, deux cent plants sont réalisés.

25 souches sont isolées parmi lesquelles 3 sont retenues pour les essais (S10, S14 et S24) sur la base uniquement de leur performance symbiotique dans les conditions contrôlées, étant donné que les analyses physicochimiques n'ont révélé aucune contrainte au développement des rhyzobiums (sol à pH neutre et non salé) et d'*Acacia saligna* (sol de texture sablonneuse), et d'autre part sur la concentration de l'inoculum afin de pallier le problème de compétitivité avec les souches locales.

Après huit mois de culture en pépinière (fig. 8), les résultats obtenus (fig. 9) montrent que les témoins non inoculés se sont révélés mycorhizés avec les champignons présents dans le substrat de la pépinière. De plus, l'effet positif de la simple inoculation avec les *Rhizobia* sur la croissance des plants d'acacia par rapport au témoin et à la simple inoculation avec les mycorhizes s'est révélé nettement marqué. La biomasse sèche d'*Acacia saligna* s'est améliorée grâce à la double inoculation *Rhizobium*/endomycorhizes versus simple inoculation mycorhyzienne ou rhizobienne.

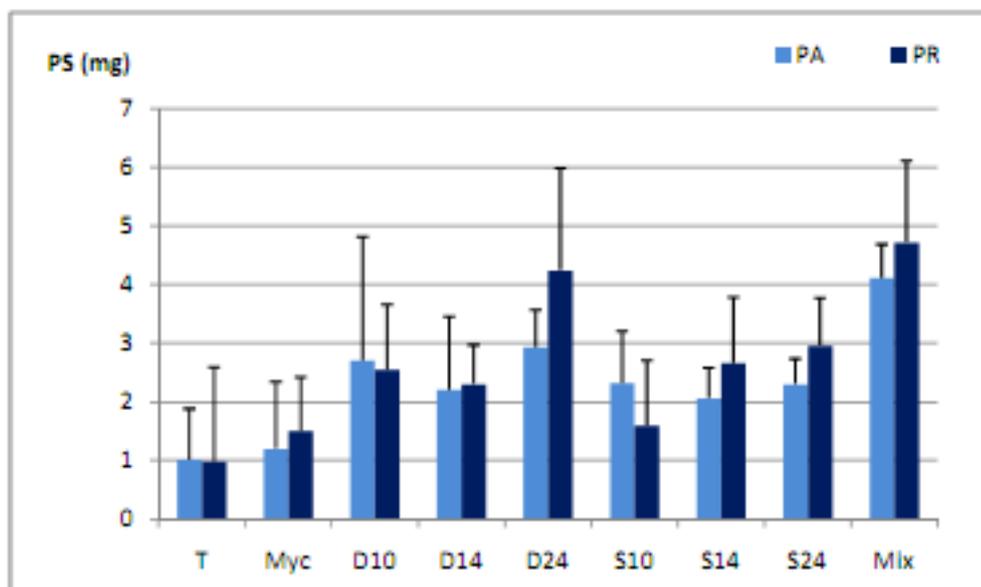
Sur les trois souches testées, la souche 24 s'est montrée la plus efficiente et le meilleur rendement est obtenu grâce à l'inoculation mixte des trois souches et des mycorhizes.

Dans le cadre de la valorisation des symbioses végétales et suite aux résultats obtenus dans le cadre de la réhabilitation des sites dégradés de Sidi Lakhdar et de Terga, nous avons suivi le développement d'*Acacia saligna* et *Retama monosperma* en présence de champignons mycorhiziens provenant du biotope des plantes étudiées. Ce travail a pour but de valoriser les partenaires de cette symbiose et sélectionner les plus efficaces à proposer dans les programmes de revégétalisation.

Figure 8 : Vue d'ensemble des plants d'*Acacia saligna* en pépinière âgés de 8 mois et inoculés par différents traitements.



Figure 9 : Rendement des plantes après les différents traitements



6. VALORISATION DE LA SYMBIOSE MYCORHIZIENNE CHEZ *RETAMA MONOSPERMA* ET *ACACIA SALIGNA*

6.1. METHODOLOGIE UTILISEE

6.1.1. LES ISOLATS FONGIQUES

Deux isolats fongiques sont utilisés. Le premier prélevé directement de racines fines mycorhizées d'*Acacia saligna* et de *Retama monosperma* et le second de racines de maïs mycorhizées suite à leur culture sur sol provenant de la rhizosphère des deux espèces étudiées. Le sol est prélevé à 20 cm de profondeur de chaque plante.

6.1.2. EVALUATION DU POTENTIEL MYCORHYZIEN ET LA DIVERSITE SPORALE DES DEUX SOLS RHIZOSPHERIQUES

La mise en évidence des mycorhizes, l'évaluation des paramètres de l'infection fongique (fréquence et intensité), le dénombrement des spores et leur diversité sont déterminés selon les protocoles déjà décrits précédemment.

Afin de déterminer le potentiel infectieux des deux sols, nous avons réalisé le piégeage des champignons endomycorhiziens par le maïs (*Zea maïs*). Le sol est prélevé dans la région de Terga à 20 cm de profondeur de chaque plante (*Acacia saligna* et *Retama monosperma*). Des pots en plastique sont remplis avec 200 g de sol non stérile (10 pots pour chaque sol). Des témoins sont réalisés dans les mêmes conditions, mais les pots sont remplis avec 200 g de sol stérile. Les plantules obtenues (2 cm) sont repiquées sur les différents sols à raison de 10 pots pour chaque sol et 3 plantes par pot. Les pots sont arrosés avec l'eau distillée stérile tous les deux jours.

6.1.3. CULTURE ET INOCULATION « *IN VITRO* » DES PLANTULES D'*ACACIA SALIGNA* ET *RETAMA MONOSPERMA*

Après germination des graines, des plantules obtenues dont la longueur ne dépasse pas 2 cm, sont transférées dans des pots contenant 250 g de sable stérilisé par autoclavage 2 fois à

intervalle de 24 h entre chaque stérilisation à 120 °C pendant 1 h et placés dans une chambre de culture sous une photopériode de 16 h. Chaque espèce est inoculée au moment du semis avec 1 g de racines fraîches mycorhizées récoltées *in natura*. Les plantules sont arrosées tous les deux jours avec la solution nutritive de Broughton et Dillworth (1972) dépourvue d'azote. Des plantes non inoculées et cultivées dans les mêmes conditions servent de témoin. Pour chaque traitement, trois répétitions sont effectuées à raison de trois plantes par pot.

6.2. RESULTATS

6.2.1. EVALUATION DU POTENTIEL MYCORHYZIEN ET LA DIVERSITE SPORALE DES DEUX SOLS RHIZOSPHERIQUES

Après extraction des spores des sols prélevés de la région de Terga par le tamisage humide, nous avons procédé à leur observation à la loupe binoculaire. Différents types de spores sont observés qui diffèrent par la couleur, la forme et la taille (fig. 10). L'examen microscopique des spores a permis de révéler la présence de plusieurs genres : *Glomus* sp. et *Gigaspora* sp., plusieurs autres spores n'ont pu être identifiées.

6.2.2. VERIFICATION DE LA COLONISATION ENDOMYCORHIZIENNE DU SYSTEME RACINAIRE DE LA PLANTE PIEGE

Les racines des plantes de maïs âgées d'un mois présentent une bonne colonisation endomycorhizienne (présence des vésicules et des hyphes) (fig. 11) comparée aux racines des plantes témoins cultivées sur sol stérile qui ne présentent aucune colonisation fongique. Les hyphes du champignon endomycorhyzien des fragments de racine de maïs sont fins et linéaires. Les vésicules ont une forme arrondie, ovale à oblongue. Aucune structure arbusculaire n'est observée dans ces racines.

Figure 10 : Observation microscopique des différents types des spores. La barre d'échelle correspond à 30 μm

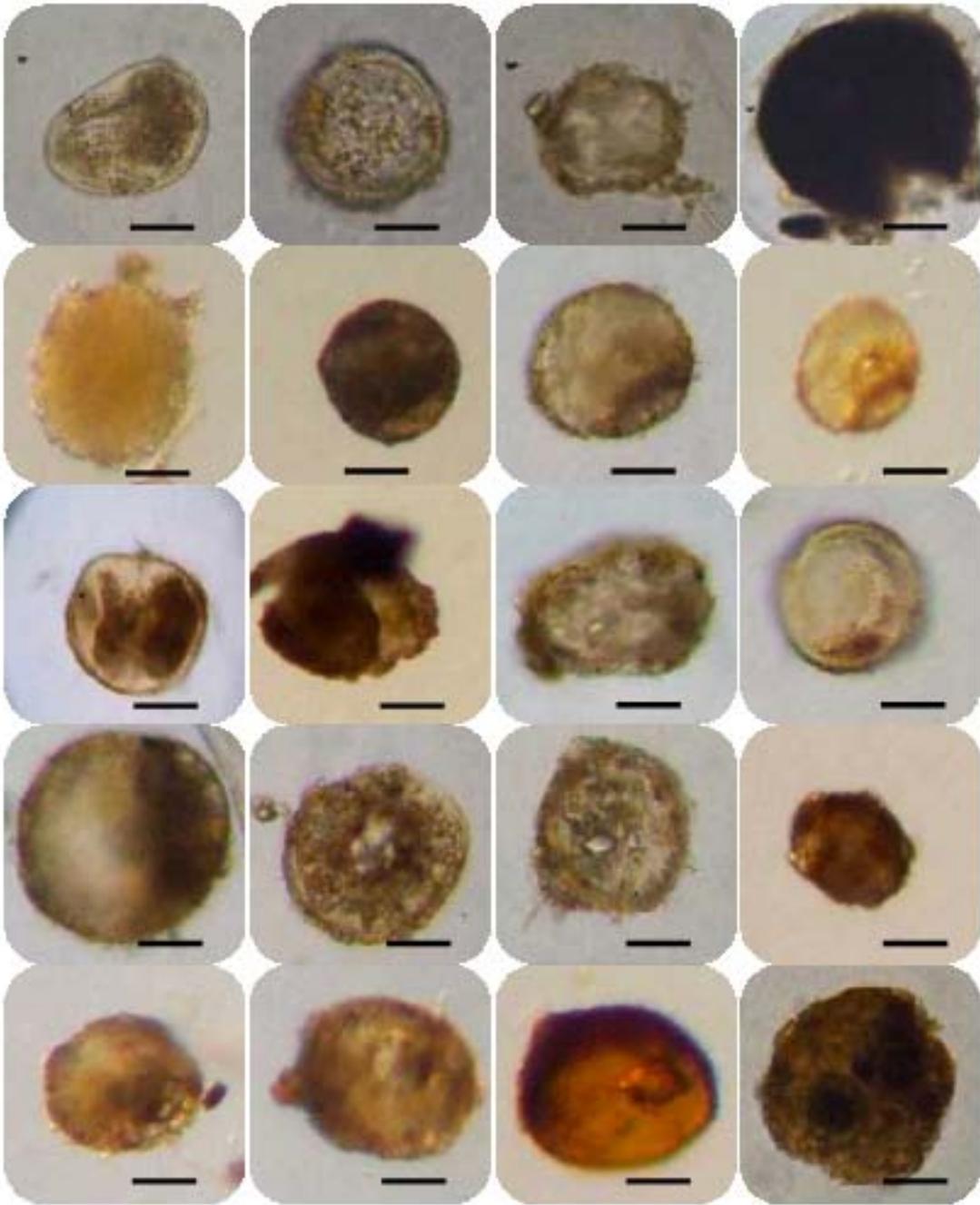
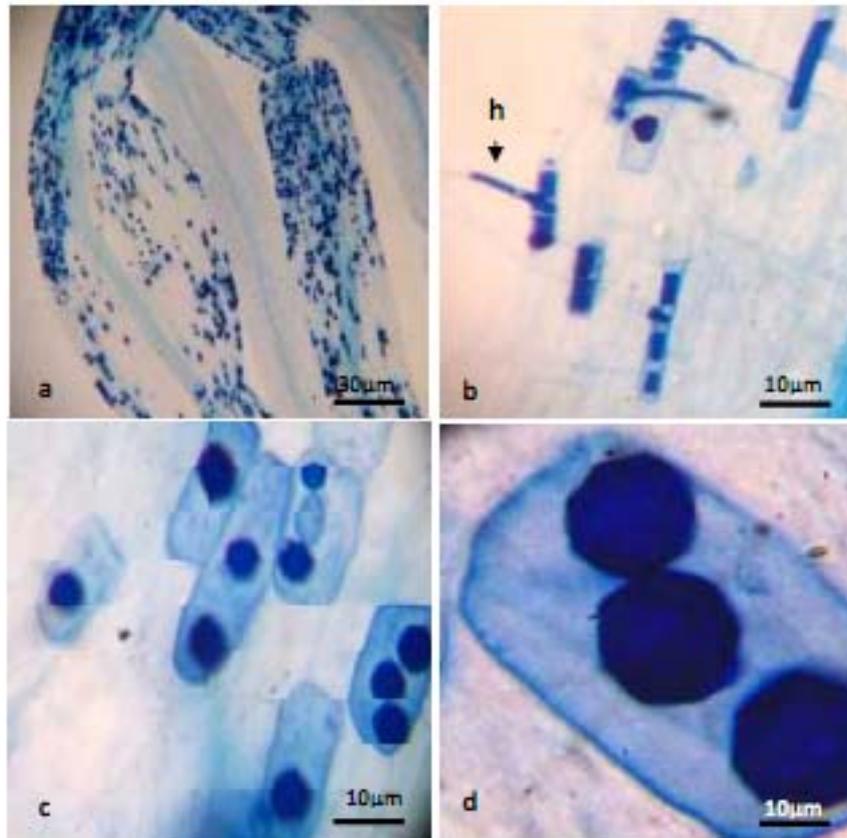


Figure 11 : Observation microscopique des structures endomycorhiziennes dans les racines de maïs après un mois de culture sur sol de la région de Terga : v : vésicule ; h : hyphe



6.2.3. VERIFICATION DE LA COLONISATION ENDOMYCORHIZIENNE DU SYSTEME RACINAIRE DE *RETAMA MONOSPERMA* ET *ACACIA SALIGNA* RÉCOLTE *IN NATURA*

L'étude microscopique des racines d'*Acacia saligna* et de *Retama monosperma* prélevées au niveau du site de Terga et colorées au bleu de Trypan révèlent la présence importante de structures endomycorhiziennes (fig. 12). La fréquence de mycorhization est supérieure à 80 % pour les deux espèces, ce qui en fait un bon matériel pour l'utiliser comme inoculum mycorhizien (tabl. 7).

Figure 12 : Observation microscopique des structures endomycorhiziennes dans les racines d'*Acacia saligna* (a et b) et de *Retama monosperma* (c et d) récoltées de la région de Terga

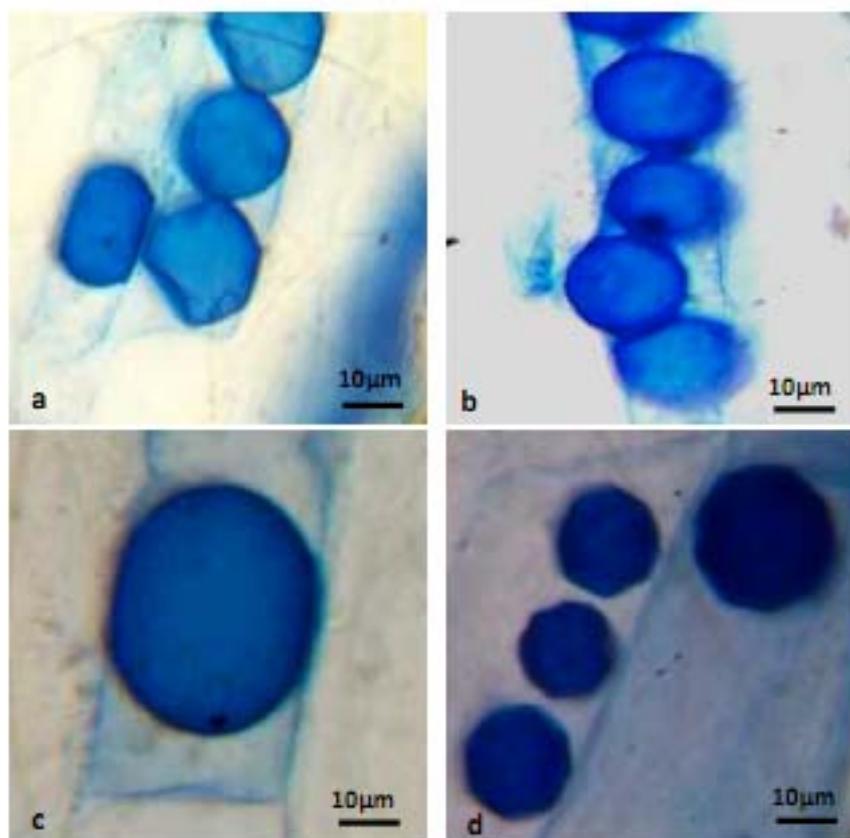


Tableau 7. Fréquence de mycorhization et intensité de colonisation du cortex des racines récoltées *in natura*

Espèces	Fréquence de mycorhization	Intensité de colonisation du cortex
<i>Acacia saligna</i>	86 %	72 %
<i>Retama monosperma</i>	80 %	65 %

6.2.4. EFFET DE L'INOCULATION MYCORHIZIENNE SUR LA CROISSANCE D'*ACACIA SALIGNA* ET DE *RETAMA MONOSPERMA*

L'inoculation des plants d'*Acacia saligna* et de *Retama monosperma* par des fragments de racines hautement mycorhizées récoltées *in natura* a amélioré la croissance des plantes

comparée au témoin non inoculé (fig. 13, 14). Cette augmentation est plus marquée dans le cas d'*Acacia saligna*, mais les différences observées ne sont pas significatives.

L'observation microscopique des racines révèle la présence de vésicules et d'hyphes caractéristiques de l'infection mycorhizienne (fig. 15). La fréquence mycorhizienne est de 70 % pour *Acacia saligna* et 80 % pour *Retama monosperma* avec une intensité de colonisation respective du cortex racinaire de 60 % et 62 %. Ces taux sont légèrement inférieurs comparés aux taux des racines récoltées *in natura*.

Figure 13 : Effet de l'inoculation mycorhizienne sur la croissance de *Retama monosperma* (a) et d'*Acacia saligna* (b) âgées de 90 jours inoculées (Myc) et non inoculées (T)



Figure 14 : Effet de l'inoculation mycorhizienne (Myc) sur le poids sec total (PS) après 3 mois de culture d'*Acacia saligna* et de *Retama monosperma*

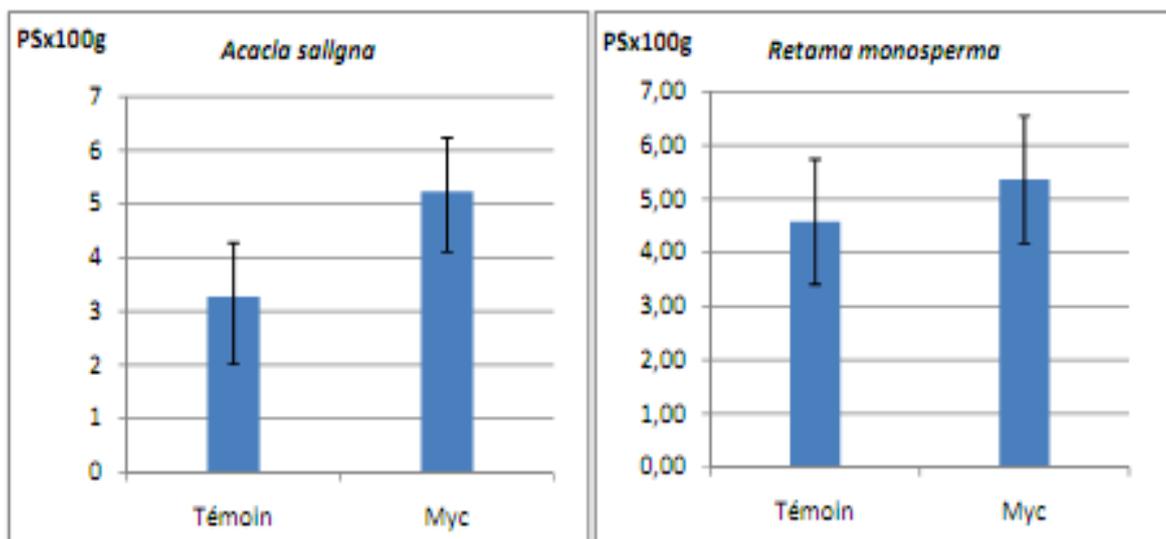
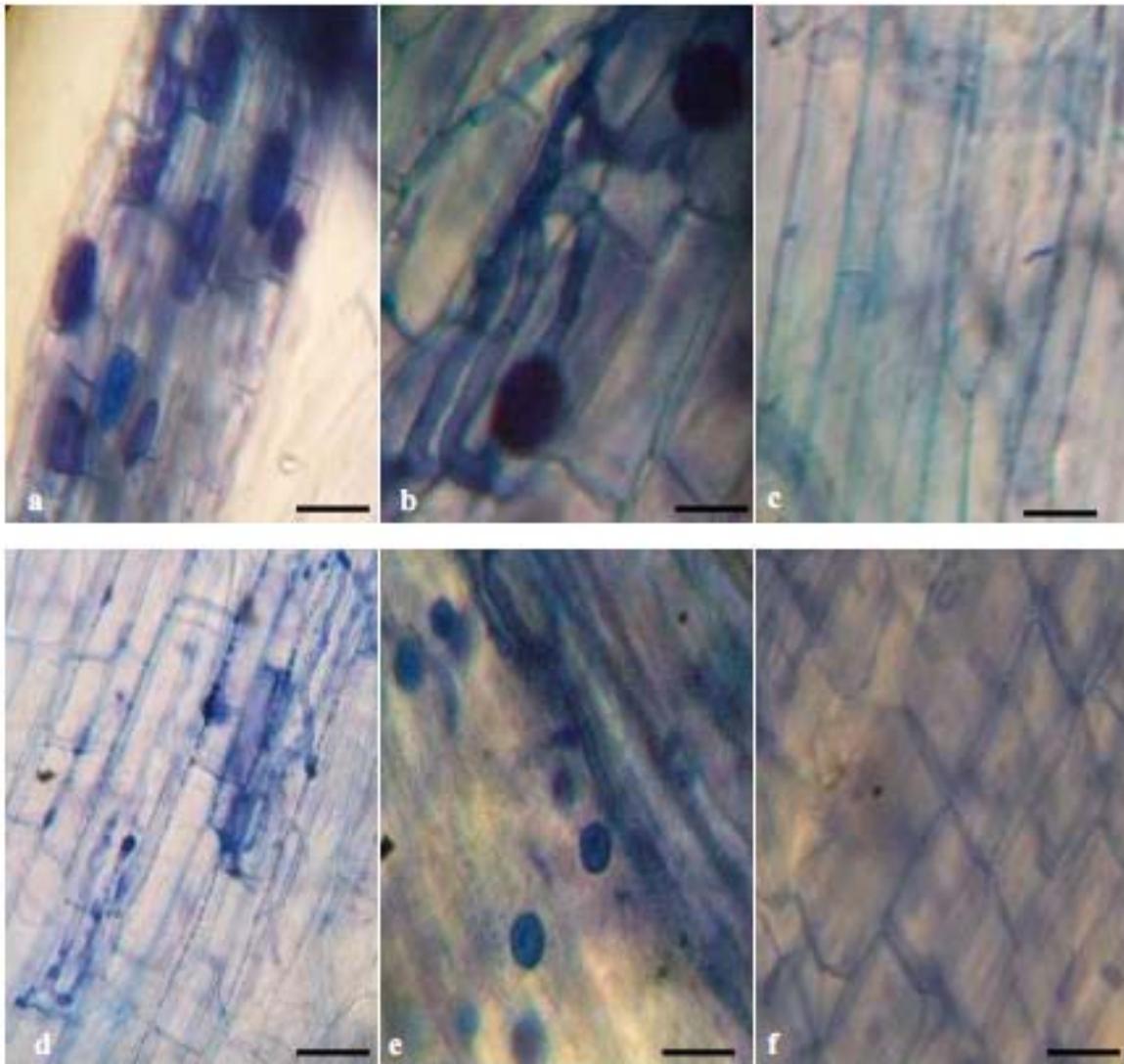


Figure 15 : Observation microscopique des structures endomycorhiziennes dans les racines d'*Acacia saligna* inoculées (a, b) et le témoin (c), et les racines de *Retama monosperma* inoculées (d, e) et le témoin (f). (la barre : 10 μ m)



Il est admis que l'inoculation mycorhizienne améliore significativement la hauteur des espèces ligneuses, ainsi que la croissance du système racinaire des plantes (Ndiaye, 2006 ; Laminou Manzo *et al.*, 2009). En effet, les plantes mycorhizées augmentent leur capacité d'absorption d'éléments minéraux, essentiellement le phosphore (Holevas, 1966), ce qui stimule la croissance des plantes (Garbaye, 1991 ; Hamel et Plenchette, 2007). L'observation

microscopique des racines d'*Acacia saligna* et de *Retama monosperma* après la coloration avec le bleu de Trypan a montré la présence de vésicules et des hyphes caractéristiques de l'infection mycorhizienne. Cette inoculation a amélioré d'une manière générale la croissance des plantes. Le nombre élevé de vésicules chez les deux espèces reflète probablement une importante activité symbiotique (Tchameni *et al.*, 2008) et l'absence de structures mycorhiziennes arbusculaires serait due selon Hause et Fester (2005) à leur durée de vie limitée qui ne dépasse pas dix jours.

7. CONCLUSION

La stratégie de revégétalisation proposée pour réhabiliter deux sablières dans l'Ouest algérien est basée sur la valorisation des propriétés biologiques des associations plantes-microorganismes. Elle consiste en la production d'inoculum de *Rhizobium* et de champignons endomycorhiziens locaux sélectionnés pour améliorer la productivité d'*Acacia saligna*. En effet, l'utilisation de légumineuses locales et l'inoculation en pépinière avec des bactéries fixatrices d'azote sélectionnées sont les premiers éléments du succès de l'installation rapide de ces végétaux dans les milieux fortement carencés en azote. Le troisième élément du succès est l'exploitation de la symbiose mycorhizienne pour un développement optimal du système racinaire et la formation de nombreuses nodosités fixatrices d'azote. Étant donné leur grande diversité dans les régions du littoral ouest algérien et leur rôle dans l'amélioration de la biomasse sèche des plantes introduites dans les deux sites, leur association dans les inoculums destinés à revégétaliser les sols dégradés s'avère nécessaire. C'est ainsi que l'usage des mycorhizes doit être considéré comme une stratégie biologique pour la production et la protection des végétaux dans de tels milieux. Il s'avère que les sols du littoral ouest algérien sont caractérisés par un potentiel mycorhizien important et sa richesse en champignons endomycorhiziens est confirmée. La population de champignons endomycorhiziens est composée de trois genres, *Glomus*, *Acaulospora* et *Scutellospora* ainsi que d'autres morphotypes de champignons mycorhiziens non identifiés.

Le choix des deux autres partenaires de la symbiose s'avère aussi d'une importance capitale pour la réussite de tels programmes. L'assemblage de ces trois éléments conduit à la constitution d'un système biologique plantes-microorganismes qui agit comme un catalyseur

favorisant la survie et le développement des végétaux après leur transfert dans les conditions fortement contraignantes caractérisées par une saison estivale sèche et chaude.

Étant donné l'importance de champignons mycorhiziens dans les écosystèmes, il serait nécessaire de compléter cette étude par la caractérisation de ces communautés par des techniques de biologie moléculaire plus poussées afin de mieux cerner leur fonctionnement pour réaliser des essais à plus grande échelle dans des conditions de pépinière avant leur transplantation sur les sites dégradés.

8. REFERENCES

- Abbas, Y., Ducoussou, M., Abourough, M., Azcon-Aguilar, R. & Duponnois, R. (2006). Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in moroccan *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters forests. *Annals of Forest Sciences*, 63: 285-291.
- Albouchi, A., Sebeïb, H., Meznic, M.Y. & Hédi El Aounid, M. (2001). Influence de la durée d'acclimatation sur l'endurcissement à la sécheresse d'*Acacia cyanophylla* Lindl. *Annals of Forest Sciences*, 58: 519-528.
- Arvieu, J.C., Leprince, F. & Plassard, C. (2003). Release of oxalate and protons by ectomycorrhizal fungi in response to P-deficiency and calcium carbonate in nutrient solution. *Annals of Forest Sciences*, 60: 815-821.
- Bakkali-Yakhlef, S.E., Abbas, Y., Prin, Y., Abourouh, M., Perrineau, M. & Duponnois, R. (2011). Effective arbuscular mycorrhizal fungi in the roots of *Tetraclinis articulate* and *Lavandula multifida* in Moroccan *Tetraclinis* woodlands. *Mycology*, 2: 79-86.
- Bansal, M., Chamola, N., Sarwar, N. & Mukerji, K.G. (2000). Mycorrhizosphere: interaction between rhizosphere microflora and VAM fungi. In Mukerji KG, Chamola BP, Singh J (eds) *Mycorrhizal biology*. Kluwer Academic, Plenum Publishers, New York, pp 143-152.
- Beddiar, A., Mekahlia, M.N. & Meddad-Hamza, A. (2008). Réponse de l'Oleastre (*Olea Oleaster*) et Sorgho (*Sorghum valgare* L.) à l'inoculation par quelques morphotypes de genre *Glomus* extraits de sols Algérien. Journées Francophones Mycorhizes. Plante Microbe Environnement, 4-5 Septembre, Dijon, France. 29p.
- Bell, D.T. (1999). Australian trees for the rehabilitation of waterlogged and salinity-damaged landscapes. *Australian Journal of Botany*, 47: 697-716.

- Broughton, W.J. & Dillworth, M.J. (1971). Control of leghemoglobine synthesis in Snake beans. *B J* 125:1075-1080.
- Broughton, W.J., Dilworth, M.J. & Godfrey, C.A. (1972). Molecular properties of lupin and serradella leghaemoglobins. *Biochem. J.* 127,309-314.
- Brunel, B., Dommergue, O., Maure, L., Brahic, P., Galiana, A., Josa, R., de Lajudie, P., Attallah, T., Risk, H., El-Hajj, S. & Cleyet-Marel, J.C. (2007). Potentialité des associations symbiotiques plantes-microorganismes pour réhabiliter des sites fortement dégradés en milieu méditerranéen. Étude originale : Pression sur les ressources et développement durable. *Cahiers Agricultures. Edn JL Eurotext* 16(4): 324-329.
- Burley, J. (2004). *The Acacia tree: a sustainable resource for Africa*. Oxford Forestry Institute, NERC University of Dundee.
- Cardoso, I.M. & Kuyper, T.W. (2006). Mycorrhizas and tropical soil fertility. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 116:72-84.
- Charest, C., Dalpé, Y. & Brown, A. (1993). Mycorrhiza: The effect of vesicular arbuscular mycorrhizae and chilling on two hybrids of *Zea mays* L. *Springer* 4:89-92. doi: 10.1007/BF00204064
- Chiarello, N., Hickman, J.C. & Mooney, H.A. (1982). Endomycorrhizal role for interspecific transfer of phosphorus in a community of annual plants. *Science*, 217: 941-943.
- Cornet, F., Diem, H.G. & Dommergues, Y.R. (1982). Effet de l'inoculation avec *Glomus mosseae* sur la croissance d'*Acacia holosericea* en pépinière et après transplantation sur le terrain. In: *Les mycorhizes: biologie et utilisation*, edn INRA publ, Dijon, pp 287-293.
- Crompton, H. (1992). *Acacia saligna* for dryland fodder and soil stabilization. A quick guide to useful nitrogen fixing trees from around the world. *NFT Highlight. NFTA.* 92(3):1-2.
- Dalpé, Y. (1995). Systématique des endomycorhizes à arbuscules: De la mycopaléontologie à la biochimie. *Orbis Press*, pp 1-20.
- Diaz, G. & Honrubia, M. (1993) Arbuscular mycorrhizae on *Tetraclinis articulata* (Cupressaceae): development of mycorrhizal colonization and effect of fertilization and inoculation. *Agronomie plant genetics and breeding* 13(4): 267-274.
- Duponnois, R., Founoune, H., Bâ, A.M., Plenchette, C., El Jaafari, S., Neyra, M. & Ducousso, M. (2000) Ectomycorrhization of *Acacia holosericea* A. Cunn. ex G. Don by *Pisolithus spp.* in Senegal: effect on plant growth and on the rootknot nematode *Meloidogyne javanica*. *Annals of Forest Sciences*, 57: 345-350.

- Duponnois, R., Colombet, A., Hien, V. & Thioulouse, J. (2005a). The mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendment influence plant growth and microbial activity in the rhizosphere of *Acacia holosericea*. *Soil Biology and Biochemistry*, 37:1460-1468.
- Duponnois, R., Founoune, H., Masse, D. & Pontanier, R. (2005b). Inoculation of *Acacia holosericea* with ectomycorrhizal fungi in a semi-arid site in Senegal: growth response and influences on the mycorrhizal soil infectivity after two years plantation. *Forest Ecology and Management*, 207:351-362.
- El Euch, F. (2000). Rôle de l'*Acacia cyanophylla* dans l'alimentation du cheptel en Tunisie. Ministère de l'Agriculture Direction Générale des Forêts Tunis, Tunisie. CIHEAM 431-434.
- Garbaye J (1991) Utilisation des mycorrhizées en sylviculture. In: Strullu DG, Garbaye J, Perrin P, Plenchette C eds. Les mycorrhizes des arbres et plantes cultivées. Paris: Lavoisier, pp 197-248.
- Gerdermann, J.W. & Nicolson, T.H. (1963). Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, 46: 235-244.
- Giovannetti, M. & Gianinazzi-Pearson, V. (1994). Biodiversity in arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycological Research*, 98(7): 705-715.
- Hamel, C. & Plenchette, C. (2007). *Mycorrhizae in Crop Production*. Haworth Food and Agricultural Products Press, Binghamton, NY, USA. doi:10.1017/S001447970800736
- Hatimi, A. (1999). Effect of salinity on the association between root symbionts and *Acacia cyanophylla* Lind. : Growth and nutrition. *Plant Soil*, 216: 93-101.
- Hatimi, A., Achouri, M. & Oihabi, A. (1997). Endomycorhization de légumineuses fixatrice des dunes: croissance et nutrition phosphatée. *Science et changement planétaire/Sécheresse*. 8(2): 99-102.
- Hause, B. & Fester, T. (2005). Accumulation of reactive oxygen species in arbuscular mycorrhizal roots. *Mycorrhiza*, 15:373-379.
- Hodge, A. (2000). Microbial ecology of the arbuscular mycorrhiza. *FEMS Microbiology Ecology*, 32:91-96.
- Holevas, C.D. (1966) The effect of VA mycorrhiza on the uptake of soil phosphorus by strawberry (*Fragaria* sp., var. Cambridge Favourite). *Journal of Horticultural Sciences*, 41:57-64.

- Houngnandan, P., Yemadj, P.G.H., Kane, Boeckx P. & Van Cleemput, O. (2009). Les glomales indigènes de la forêt Claire à *Isoberlinia doka* (Craib et Staph) à Wari-Marou au centre du Bénin. *Tropicultura*, 27(2): 83-87.
- Jeffries, P. & Barea, J.M. (2001). Arbuscular Mycorrhiza - a key component of sustainable plant-soil ecosystems. In: Hock B (ed.) *Fungal associations*, Vol 9. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, *The Mycota*, pp 95-113.
- Jones, D.L., Hodge, A. & Kuzyakov, Y. (2004). Plant and mycorrhizal regulation of rhizodeposition. *New Phytologist*, 163: 459-480.
- Karagiannidis, N. & Hadjisavva-Zinoviadi, S. (1998). The mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* enhances growth, yield and chemical composition of a durum wheat variety in 10 different soils. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 52:1-7.
- Kebaili, H. (2006). L'étude de la biodiversité de la rhizosphère des *Acacias sp* prospectés dans les wilayas d'Adrar et de Tamanrasset. Mémoire d'ingénieur en Biotechnologie. Université d'Oran.
- Ouahmane, L., Hafidi, M., Planchette, C., Kisa, M., Boumezzough, A., Thioulouse, J. & Duponnois, R. (2006). *Lavandula* species as accompanying plants in *Cupressus* replanting strategies: Effect on plant growth, mycorrhizal soil infectivity and soil microbial catabolic diversity. *Applied Soil Ecology*, 34: 190-199.
- Laminou Manzo, O., Ibrahim, D., Campanella, B. & Paul, R. (2009). Effects of mycorrhizal inoculation of the substrate on growth and water stress tolerance of five sand dune fixing species: *Acacia raddiana Savi* ; *Acacia nilotica* (L.) Willd. Ex Del. var. *adansonii*; *Acacia senegal* (L.) Willd; *Prosopis chilensis* Stunz. and *Bauhinia rufescens* Lam. *Geography Ecology Tropical* 33:115-124.
- Le Roux, C. (2002). La réhabilitation des mines et carrières à ciel ouvert. *Bois et Forêts des Tropiques*, 272(2): 5-19.
- Mathieu, C. & Pieltain, F. (2009). Analyse chimique des sols, méthodes choisies. Tec & Doc (Edn), Lavoisier, Paris.
- Meddad-Hamza, A., Beddiar, A., Lemoine, M.C., Gollotte, A., Binet, M.N. & Gianinazzi, S. (2005). Effet de la mycorhization arbusculaire sur le développement racinaire de l'olivier (*Olea europea* L.) et sa tolérance au stress. Journées Francophones Mycorhizes. Plante Microbe Environnement, 4-5 Septembre. Dijon, France, pp 34-35.
- Morte, M.A. & Honrubia, M. (1996). *Tetraclinis articulata* (cartagena cypress), Trees IV. In: Bajaj YPS (Ed) *Biotechnology in Agriculture and forestry*, Vol 35. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp 407-423.

- Morton, J.B. (1992). Problems and solutions for integration of glomalean taxonomy, systematic biology, and the study endomycorrhizal phenomena. *Mycorrhiza*, 2: 97-109.
- Ndiaye, M. (2006). Biotisation en serre et au champ de deux espèces sylvoles productrices de gomme : *Acacia senegal* (L.) et *Sterculia setigera* Del. Mémoire de DEA Université Cheikh Anta Diop Dakar.
- Offre, P., Pivato, B., Siblot, S., Gamalero, E., Corberand, T., Lemanceau, P. & Mougél, C. (2007). Identification of bacterial groups preferentially associated with mycorrhizal roots of *Medicago truncatula*. *Applied and Environmental Microbiology*, 73:913-921.
- Phillips, J.M. & Hayman, D.S. (1970). Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55:158-161.
- Plenchette, C., Perrin, R. & Duvet, P. (1989). The concept of soil infectivity and method for its determination as applied to endomycorrhizas. *Canadian Journal of Botany*, 67: 112-115.
- Sekkour, S. (2008). Essai d'introduction d'un couple symbiotique *Rhizobium- Acacia saligna* pour la revégétalisation de la Sablière de Sidi Lakhdar (Wilaya de Mostaganem). Mémoire de magister Université d'Oran.
- Sieverding, E. (1991). VAM management in tropical agrosystems, Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ). Eschborn, Germany.
- Smith, S.E. & Read, D.J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis* (3rd edn). Academic Press, San Diego
- Tchameni, N., Omoloko, C., Nana, W. & Tchana, N. (2008). Effets des champignons mycorrhiziens et des flavonoïdes sur les phosphatases, la croissance et la valeur nutritionnelle de l'haricot vert. *Science and Engineering*, 9:20-28.
- Trouvelot, A., Kouch, J. & Gianinazzi-Pearson, V. (1986). Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire : Recherche de méthode d'estimation ayant une signification fonctionnelle. *Les mycorrhizes : Physiologie et Génétique*. 1^{er} Séminaire. INRA (Edn), Dijon, Paris, pp 217-221.
- Van der Heijden, M.G.A., Klironomos, J.N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Wiemken, A. & Sanders, I.R. (1998). Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 396:69-72.
- Walker, C. (1983). Taxonomic concepts in the *Endogonaceae*. I: Spore wall characteristics in species descriptions. *Mycotaxon*, 18: 443-455.

Walker, C. (1992). Systematics and taxonomy of the arbuscular mycorrhizal fungi. *Agronomie*, 12: 887-897.

Zaafouri, M.S. (1993). Contraintes du milieu et réponses de quelques espèces arbustives exotiques introduites en Tunisie pré saharienne. Thèse Doctorat. Ecole Universitaire Aix Marseille III.

CHAPITRE 2

**SYMBIOSE MYCORHIZIENNE ET ECOSYSTEMES
MEDITERRANEENS**

EXEMPLES D'ETUDES REALISEES AU MAROC

**LA SYMBIOSE MYCORHIZIENNE DES ECOSYSTEMES
FORESTIERS MAROCAINS : DIVERSITE NATURELLE ET
PERSPECTIVES D'APPLICATION**

PAR BAKKALI Y. S. E.*, ABAS Y, ABOUROUH M.

*Centre de recherche forestière, Avenue Omar Ibn Al Khattab, BP. 763, Agdal Rabat, Maroc

1. INTRODUCTION

Le Maroc, de par sa situation géographique entre l'océan Atlantique, la mer Méditerranée et le Sahara et du fait de la présence de nombreuses chaînes montagneuses, présente une grande diversité écologique.

Le pays est caractérisé par une grande diversité des reliefs. Il est en grande partie couvert de zones montagneuses à côté desquelles se trouvent de grandes étendues formées de plaines et de plateaux dans la région atlantique et de plates-formes et petits massifs montagneux dans l'oriental et le Sahara. Les différentes barrières montagneuses, dont certaines culminent à 4 000 m d'altitude, le divise en deux parties de physionomie opposée : les plaines et versants de montagnes ouverts aux vents de l'océan et où se regroupent les forêts et se trouve la presque totalité des agarics et les zones orientales et méridionales sèches ou désertiques où seuls quelques groupes de champignons, Gastérolés et Hypogés, y sont représentés.

Sur le plan de la diversité biogéographique, on y constate un éventail très large des types de bioclimats ; du perhumide au saharien, en passant par l'humide, le subhumide, le semi-aride et l'aride. Les moyennes annuelles des précipitations sont comprises entre 30 mm dans les zones sahariennes et plus de 2 000 mm dans le Rif centro-occidental. La température du mois le plus froid (janvier en général) peut varier de - 9 °C dans les Atlas à + 10 °C dans le littoral méditerranéen, tandis que la température maximale du mois le plus chaud (juillet-août) peut dépasser + 40 °C. Toutes les variantes bioclimatiques, de chaude, tempérée, fraîche, froide, très froide à extrêmement froide sont représentées. Le Maroc reste cependant soumis à des conditions climatiques sévères puisque la majeure partie de son territoire se caractérise par l'aridité (Aafi, 2003). En effet, 92,9 % de son territoire est d'un bioclimat semi-aride, aride ou désertique avec respectivement 14,9 % pour le semi-aride, 16,4 % pour l'aride et 61,6 % pour le désertique. Les précipitations sont irrégulières et ne dépassent guère les 300 mm/an en zones arides et moins de 100 mm/an en zones désertiques.

La diversité du climat et du relief correspond à une grande diversité biologique, les écosystèmes forestiers naturels comportent toute la gamme des étages de végétation définis en zone méditerranéenne. La biodiversité écosystémique et paysagère est traduite par l'existence d'un très grand nombre de types d'écosystèmes naturels et d'écocomplexes méditerranéens ou sahariens (Benabid, 2000). Les formations forestières naturelles et les nappes alfatières

couvrent environ 12,6 % du territoire national. Ce taux reste malheureusement inférieur au taux moyen mondial qui est de l'ordre de 18 à 22 % (AEFCS, 1996).

Les formations forestières, situées en majeure partie, dans les climats semi-aride, subhumide et humide, couvrent une surface de 5 719 000 ha. Elles sont constituées de 66 % d'essences feuillues (chêne vert, chêne-liège, arganier, acacias sahariens), de 18 % d'essences résineuses (cèdre de l'Atlas, Thuya, pin d'Alep et pin maritime, genévriers, cyprès de l'Atlas et sapin du Maroc), de 9 % de plantations artificielles et 7 % est occupé par des formations basses, plus ou moins ouvertes, de type matorral et essences secondaires résultant souvent de la dégradation des forêts.

Ces espaces représentent presque la totalité de nos richesses naturelles, contiennent d'importantes ressources floristiques et faunistiques, y compris les champignons, et préservent et conservent d'une manière fiable la diversité biologique.

Ces territoires abritent plus de 4 500 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires dont 800 sont endémiques. La contribution des différents écosystèmes forestiers à l'économie et à la société est extrêmement importante sur le plan de l'emploi, des biens et services, des ressources et de l'environnement. Les forêts marocaines produisent chaque année environ 600 000 m³ de bois de construction et de bois rond industriel, soit 30 % des besoins nationaux. Elles offrent également environ 10 000 000 m³ de bois de feu. D'autres services et Produits forestiers non ligneux (PFNL) sont également fournis par ces habitats.

2. PROBLEMATIQUE DE LA REGENERATION DES ESSENCES FORESTIERES ET STRATEGIE DE REVEGETATION

Malgré leurs précieuses fonctions sociale, économique et écologique, les forêts marocaines sont soumises à un inquiétant processus de dégradation et de perte de diversité biologique ; 31 000 hectares en moyenne disparaissent annuellement. Cette situation est due à plusieurs facteurs, comme la sécheresse, le surpâturage, la récolte excessive du bois et de PFNL et les incendies.

La dégradation de la diversité biologique, l'élimination du sous-bois sur de grandes superficies, le tassement du sol, l'érosion dans les bassins versants qui se traduit par l'envasement des barrages, l'avancement de la désertification et l'absence de la régénération

naturelle ont été à l'origine de la perturbation des conditions écologiques des différents écosystèmes.

Sur le pourtour méditerranéen, « l'analyse des lacunes », réalisée par WWF (2001), estime que la couverture forestière originelle présentait environ 82 % de la surface totale des pays méditerranéens. Actuellement, il ne reste que 17 % de ce patrimoine forestier souvent considéré comme profondément dégradé dans les pays du Sud. La situation actuelle est qualifiée de dramatique dans les divers pays d'Afrique du Nord et seuls des programmes ambitieux de gestion écologique intégrée permettront de sauver les lambeaux de forêts qui subsistent, ou de préserver quelques zones qui sont encore restées miraculeusement à l'abri de ces destructions (Quézel et Médail, 2003). Des travaux d'aménagement et traitements sylvicoles, malheureusement inadaptés, ont été appliqués aux principaux écosystèmes marocains depuis les premiers aménagements de 1954, ce qui est, en grande partie, à l'origine de leur dégradation (Benabid, 1989). Ces écosystèmes, très simplifiés, en dysfonctionnement et perturbés ne sont à présent représentés qu'au niveau de la strate arborescente et par conséquent, leur avenir n'est pas du tout assuré. De même, les opérations de nettoyage et de débroussaillage mal dosées ont été à l'origine de la disparition des strates arbustives sur de grandes superficies.

À partir de 1970, une politique de reboisement a été élaborée par l'Administration des eaux et forêts et de la conservation des sols (AEFCS) dans le cadre tout d'abord du Plan national de reboisement (PNR) et puis après du Plan directeur de reboisement (PDR) (AEFCS, 1996). Ce dernier prévoit la plantation en 10 ans de 500 000 hectares. Jusqu'à ce jour, l'impact de ce programme reste insuffisant pour maintenir un équilibre environnemental. Une carence dans l'adaptation des plants au choc de transplantation, lors du passage de la pépinière au site de reboisement choisi et aux conditions de ce milieu, peut en effet entraîner une mortalité importante ou une réduction de croissance inacceptable (Biro, 1991).

Dans toutes les opérations de reboisement, le rôle de la microflore tellurique sur le cycle végétatif des essences forestières a rarement été pris en compte. Or, il est maintenant parfaitement établi que certains de ces microorganismes interviennent significativement dans tous les stades de développement des espèces forestières (Jasper, 1994). Parmi ces microorganismes, ceux qualifiés de symbiotiques, sont considérés comme le groupe microbien « clé » dans le fonctionnement des écosystèmes terrestres, en particulier pour leur capacité à promouvoir le développement des plantes dans des milieux dégradés. C'est

pourquoi il a été important d'intensifier les programmes d'inventaire de la biodiversité, dont la connaissance est un préalable à toute recherche fondamentale ou appliquée crédible. Pour mieux comprendre, donc pour mieux protéger, voire pour mieux réhabiliter un écosystème, qu'il soit forestier ou autre, il est indispensable d'en connaître les composantes, d'un point descriptif, puis d'un point de vue fonctionnel et interrelationnel. C'est pour cette raison que plusieurs chercheurs de l'espace méditerranéen ont mené des recherches sur le statut mycorhizien des principales essences forestières et de certaines espèces arbustives autochtones qui leur sont associés, dans la perspective de déterminer son rôle dans les programmes de révégétation (Herrera *et al.*, 1993 ; Requena *et al.*, 1996, 1997 ; Azcon-Aguillar *et al.*, 2003 ; Caravaca *et al.*, 2003 a et b ; Ouahmane, 2007 ; Bakkali *et al.*, 2008b).

3. STATUT MYCORHIZIEN DES PRINCIPALES ESSENCES FORESTIERES ET DES ARBUSTES ASSOCIES

Dans la nature, on distingue du point de vue morfo-anatomique trois types de mycorhizes (Mousain, 1983) : les endomycorhizes sur environ 90 % de l'ensemble des taxons végétaux, les ectomycorhizes qui ne concernent que 3 % des espèces végétales, surtout des ligneux et les ectendomycorhizes qui présentent des caractères des deux types précédemment cités, à savoir des formations intra-racinaires et un manteau fongique peu épais. On dénombre plusieurs milliers d'espèces de champignons mycorhiziens associées à un large spectre d'hôtes (Molina *et al.*, 1992 ; Smith et Read, 1997), ce qui peut conduire un seul arbre hôte à posséder de nombreux types de mycorhizes (Taylor *et al.*, 2000 ; Dahlberg, 2001). Le statut mycorhizien des principales essences forestières du Maroc est donné dans le tableau 1.

4. DIVERSITE DES CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS

L'étude de la présence et de l'abondance des symbiotes mycorhiziens dans un sol est une étape primordiale pour appréhender la richesse et la diversité des peuplements fongiques. Leur identification et leur caractérisation s'avèrent nécessaires pour le choix des souches les plus efficaces dans la stimulation de la croissance de la plante hôte.

Tableau 1. Statut symbiotique de quelques essences forestières marocaines

Endomycorhizes	Ectomycorhizes	Ectendomycorhizes
<i>Casuarina</i>	<i>Acacia</i>	<i>Cistus</i>
<i>Argania</i>	<i>Cedrus</i>	<i>Eucalyptus</i>
<i>Tetraclinis</i>	<i>Quercus</i>	<i>Populus</i>
<i>Cupressus</i>	<i>Pinus</i>	
<i>Taxus</i>		
<i>Araucaria</i>		
<i>Lavandula</i>		

La grande majorité des espèces décrites à ce jour reposent sur le concept morphologique d'espèce, par une analyse des traits phénotypiques (morphologiques et/ou biochimiques) (Taylor, 2000 ; Guarro *et al.*, 1999).

L'application récente du concept phylogénétique de l'espèce, qui décrit l'espèce comme un groupe monophylétique au sein duquel le taux d'homologie entre séquences est élevé, a été favorisée par les progrès des techniques d'analyses moléculaires, et tend à être massivement employée en mycologie (Mishler et Brandon, 1987).

L'essor des techniques moléculaires depuis les années 1990, notamment le développement de la technique de PCR (Polymerase Chain Reaction), a permis l'étude des champignons à l'échelle de la spore, mais aussi sur de très petites quantités d'ADN, ce qui a permis d'identifier les espèces réticentes à la culture (Taylor, 2000). Un gène ou marqueur moléculaire fongique est sélectivement amplifié à l'aide d'amorces spécifiques des champignons, puis le gène est séquencé. Le concept phylogénétique de l'espèce consiste à comparer les séquences d'ADN entre plusieurs individus afin de comparer les substitutions nucléotidiques.

Les champignons peuvent être également décrits selon leurs habitats, leurs localisations géographiques, selon le concept écologique de l'espèce (Taylor, 2000).

Au Maroc, ces différentes approches ont été entreprises pour élucider la variabilité génétique des champignons mycorrhiziens associés aux principales essences forestières.

4.1. DIVERSITE DES CHAMPIGNONS ENDOMYCORHIZIENS

Les endomycorhizes à arbuscules représentent le type mycorrhizien le plus ancestral et le plus répandu dans la flore actuelle (Smith et Read, 1997), classés dans le phylum des Glomeromycota (Schüssler *et al.*, 2001) avec quatre ordres, dix familles et approximativement 200 espèces décrites (Raab et Redecker, 2006). Il est estimé que l'apparition des premières endomycorhizes arbusculaires auraient eu lieu 400 millions d'années auparavant (Simon *et al.*, 1993).

Selon Stürmer et Bellei (1994) et Morton *et al.* (1995), les spores sont parmi les moyens disponibles pour mesurer la richesse et la diversité des champignons MA dans un sol.

Bien que la spore soit l'unité fondamentale dans l'étude des CMA, cette unité morphologique peut avoir plusieurs centaines, voire des milliers de noyaux qui peuvent même avoir des origines différentes (Gianinazzi Pearson *et al.*, 2001). Ceci pourrait être la cause d'une grande variabilité entre les copies de l'ADN ribosomique, y compris celles présentes dans une spore (Sanders *et al.*, 1995 ; Hijri *et al.*, 1999 ; Sanders, 1999 ; Clapp *et al.*, 2001). Par ailleurs, l'identification des CMA inféodés directement aux plantes-hôtes a toujours été un obstacle dans l'étude de la dynamique des communautés de ces champignons au niveau des écosystèmes. Ainsi, l'outil de la biologie moléculaire a permis de remédier en partie à toutes ces contraintes en complétant l'étude de la diversité des CMA jusqu'au niveau de distinction taxonomique correcte entre espèces. D'ailleurs, c'est grâce à ces techniques que toute la classification des CMA a été revue et corrigée.

4.1.1. COMMUNAUTES DES CMA CHEZ QUELQUES ESSENCES FORESTIERES

Les études menées au niveau de sept tétraclinaies marocaines (Abbas *et al.*, 2006) ont montré que leurs rhizosphères abritent une certaine diversité des CMA, six à huit morphotypes, qui varient en nombre et en quantité selon les régions choisies. La plupart des morphotypes sont communs aux différents sites. Ce résultat corrobore des études antérieures sur la richesse des CMA au niveau des sites dégradés en environnements arides et semi-arides (Azcon-Aguilar *et*

al., 2003 ; Stutz et Morton, 1996). Toutes les spores décrites appartiennent aux familles des Glomaceae et Acaulosporaceae. La structure mycorhizienne « Paris-type » est la seule retrouvée chez le thuya. Cette structure a été rapportée dans d'autres études sur les gymnospermes (Smith et Smith, 1997), incluant la famille des Cupressaceae (Stockey *et al.*, 2001). Elle est caractérisée par l'absence des hyphes intercellulaires (fig. 1 et 2). Quant à l'analyse de la communauté des spores de CMA détectées sous le cyprès de l'Atlas, Ouahmane *et al.* (2006a) ont montré qu'elle est formée essentiellement du genre *Glomus* : *G. fasciculatum*, *G. maninotis*, *G. aggregatum* et *G. monosporum*, et des spores du genre *Acaulospora* et *Scutellospora*, qui sont représentés par une espèce chacune (Ouahmane *et al.*, 2006a).

Figure 1. Fragment de racine de thuya mycorhizé (obj. 40).

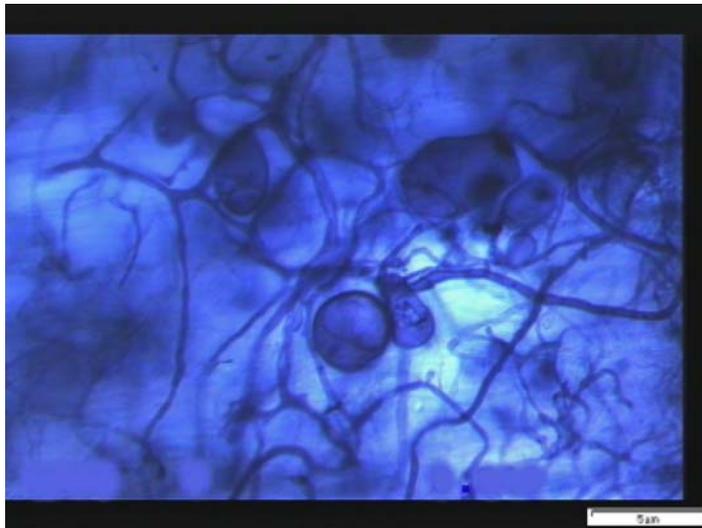
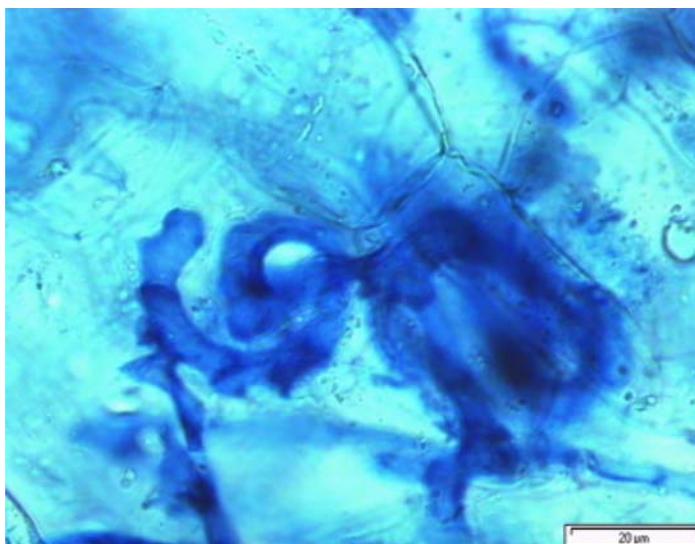


Figure 2. CMA au niveau des racines de thuya (obj. 100).



Cependant, l'analyse des spores des CMA isolées à partir du sol ne reflète pas nécessairement la diversité des champignons colonisant les racines des plantes (Clapp *et al.*, 1995 ; Kjoller et Rosendahl, 2001). La difficulté d'identifier les CMA dans les racines des plantes a toujours été un obstacle à l'étude de la dynamique des communautés de ces champignons dans les écosystèmes forestiers. La discrimination morphologique peut être possible au niveau du genre lorsque la morphologie des hyphes est suffisamment différente entre les champignons (Merryweather et Fitter, 1998). Les techniques moléculaires ont été développées pour discriminer les CMA coexistant à l'intérieur des racines des plantes.

Par Nested PCR du gène de la sous-unité ribosomique (LSU), Bakkali *et al.* (2011a) ont montré que les racines de thuya peuvent héberger une grande diversité de CMA. Sept phylotypes distincts ont été identifiés. Il s'agit des espèces du genre *Glomus*, *Scutellospora* et *Gigaspora*.

4.1.2. EFFET DE LA COEXISTENCE DES PLANTES SUR LA DYNAMIQUE DES CMA : CAS DE L'ASSOCIATION THUYA-LAVANDE

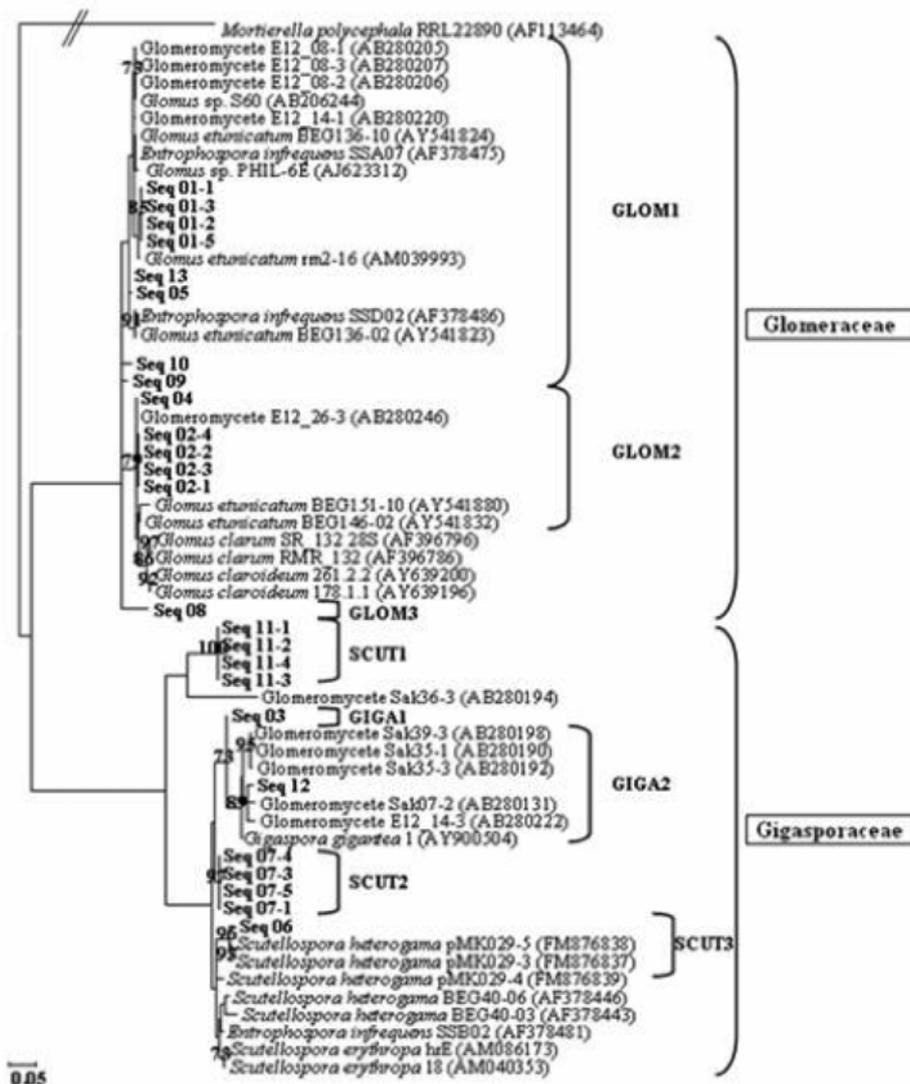
Les tétraclinaies marocaines possèdent un fonds d'espèces végétales qui lui est remarquablement fidèle, suivant les régions géographiques, et contribue au façonnement de ses paysages. Il s'agit en particulier de : *Ceratonia siliqua*, *Pistacia lentiscus*, *Pistacia atlantica*, *Olea europea*, *Ebenus pinnata*, *Cistus villosus*, *Brachypodium ramosum*, *Viola arborescens*, *Jasminum fruticans*, *Clamatis cirrhosa*, *Genista tricuspidata*, *Lavandula multifida*, *Lavandula dentata*, etc. (Rübel et Lüdi, 1939 ; Benabid, 2000).

Pour utiliser des arbustes dans les itinéraires sylvicoles adoptés dans les programmes de reboisement ou de régénération du thuya, la diversité génétique des CMA colonisant les racines de *Tetraclinis articulata* et *Lavandula multifida* existants, seul ou coexiste, dans les tétraclinaies marocaines a été caractérisée par les techniques moléculaires (Bakkali *et al.*, 2011a). Les analyses phylogénétiques ont montré que ces CMA correspondent à huit phylotypes : cinq appartenaient à la famille des Gigasporaceae et trois à celle des Glomeraceae (fig. 3).

En outre, les indices de diversité des CMA ont été mesurés pour les racines de chaque type de plante en présence ou en absence de la plante voisine. Le niveau de diversité, comme indiqué par les indices de diversité de Shannon, a été très élevé pour *T. articulata* seule, suivie par les

associés *T. articulata*-*L. multifida* et enfin *L. multifida* seule. Cela pourrait s'expliquer par les différences d'âge et la nature des plantes. Il a été établi que l'intensité de la colonisation des racines du jeune plant, par les champignons Glomales, augmente en fonction de l'âge des plantes et des niveaux atteints par les bulbes dans des horizons du sol où le phosphore (P) est très déficient et les mycorhizes sont essentielles (Merryweather et Fitter, 1995). Toutefois, les indices de diversité similaires dans les racines des plantes cibles (*T. articulata* et *L. multifida*) voisins suggèrent l'impact de l'interaction des plantes sur la communauté de CMA (fig. 4). Il a été établi l'existence d'une pression de sélection sur la plante et le champignon pour être plus sélectif dans leur choix de partenaires (Sanders et Fitter, 1992 ; Bever *et al.*, 1996.).

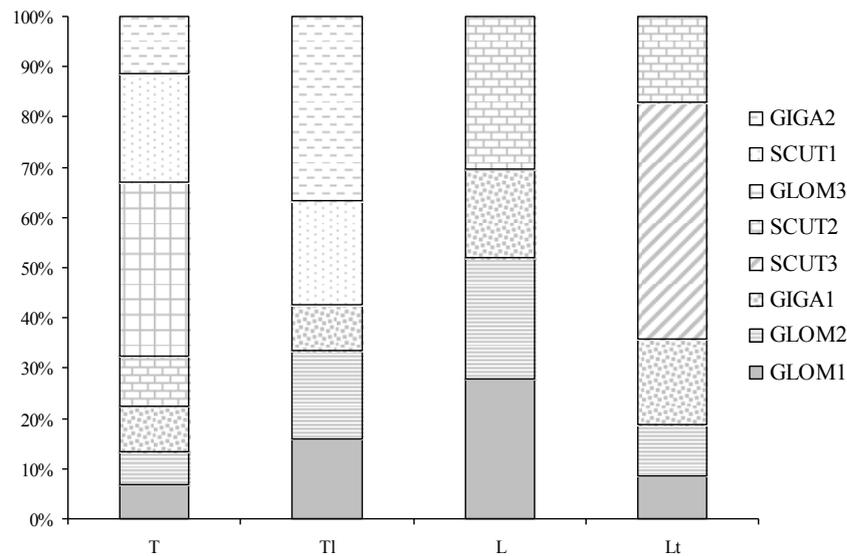
Figure 3. Arbre phylogénétique des CMA colonisant les racines de thuya et de lavande.



En outre, l'analyse en composantes principales (ACP) a montré clairement que la communauté des CMA colonisant *T. articulata* différait sensiblement de celle colonisant

L. multifida (fig. 5). Par ailleurs, ces résultats ont apporté des preuves concrètes de l'impact des interactions plantes sur la communauté des CMA colonisant leurs racines.

Figure 4. Communautés de CMA colonisant les racines de *T. articulata* et de *L. multifida*. T et T₁ : racines de *T. articulata* respectivement seule ou en association avec *L. multifida* ; L et L_t : racines de *L. multifida* respectivement seule ou en association avec *T. articulata*.

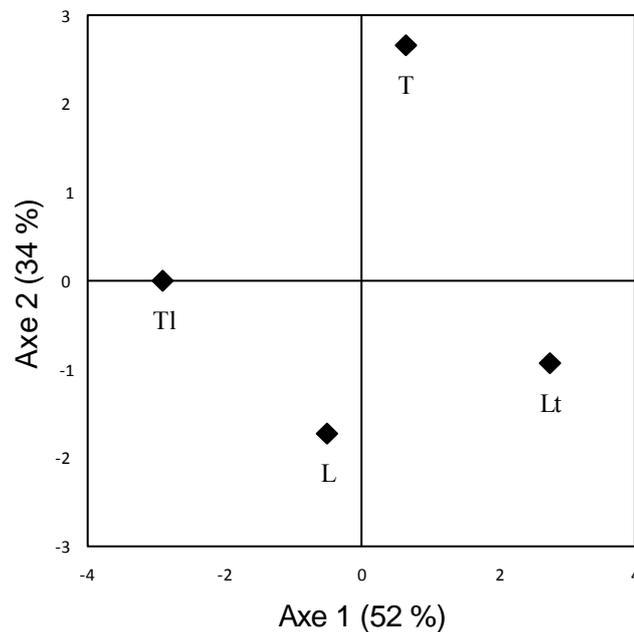


L'évaluation moléculaire des populations de CMA dans les racines est donc une approche prometteuse pour identifier les champignons indigènes qui colonisent effectivement les racines des plantes dans les sites potentiels de révégétation. Désormais, ces CMA peuvent être isolés et sélectionnés comme inoculum pour la restauration du couvert végétal de ces milieux avec des espèces végétales appropriées.

4.2. DIVERSITE DES CHAMPIGNONS ECTOMYCORHIZIENS

Les champignons ectomycorhiziens (CEM), apparus grâce à la baisse de température qui suivit le début du Tertiaire (LePage *et al.*, 1997), appartiennent au groupe des Basidiomycètes et des Ascomycètes. Ils touchent moins d'espèces végétales que les champignons endomycorhiziens, mais celles qui sont concernées par ce type de symbiose sont d'une très grande importance écologique et économique pour la forêt marocaine. Molina *et al.* (1992) estiment qu'il existerait entre 5 000 et 6 000 espèces de champignons capables de former des ectomycorhizes.

Figure 5. Analyse en composantes principales des communautés de CMA colonisant les racines de *T. articulata* et *L. multifida*.



L'approche classique de l'étude de communautés de CEM consiste à recueillir tous les carpophores présents en surface. Plusieurs auteurs (Mehus, 1986 ; Brandbrud, 1987 ; Kalamees et Silvers, 1988 ; Arnolds, 1991 ; Brunner *et al.*, 1992 ; Egli et Ayer, 1997 ; Gardes et Bruns, 1996) ont utilisé cette technique aisée, peu destructive et à identification relativement facile.

Cependant, une première contrainte s'impose puisque plusieurs champignons ectomycorhiziens, de type Asco- ou Basidiomycètes, produisent des carpophores hypogés tels que les truffes et les *Rhizopogon*. Leur prise en compte est toutefois possible (Fogel, 1981), quoique plus laborieuse et plus dommageable pour le sol. De plus, la fructification est un processus complexe qui est dépendante de plusieurs facteurs et dont le déterminisme varie selon les espèces (Vogt *et al.*, 1992 ; Gardes et Bruns, 1996 ; Dahlberg *et al.*, 1997 ; Gehring *et al.*, 1998 ; Jonsson *et al.*, 1999). De nombreuses études comparatives ont démontré que les carpophores reflètent mal les populations souterraines (Henrion *et al.*, 1994 ; Mehmman *et al.*, 1995 ; Gardes et Bruns, 1996 ; Karen, 1997 ; Pritsch *et al.*, 1997). Elles ont découvert que plusieurs espèces fructifient abondamment, mais forment peu de mycorhizes (Gardes et Bruns, 1996), alors que d'autres ne semblent fructifier que très peu ou pas du tout, comme le *Cenococcum geophilum* qui malgré cela, est un champignon cosmopolite et très présent sous

forme de mycorhizes (Danielson et Pruden, 1989 ; Abourouh, 1991). La collecte des ectomycorhizes est plus destructive et beaucoup plus fastidieuse que la récolte des carpophores. Par contre, elle permet de visualiser directement la composition des communautés (Visser, 1995 ; Karen et Nylund, 1996 ; Horton et Bruns, 2001).

Au Maroc, les travaux sur les champignons ectomycorhiziens sont très limités (Lepoutre, 1963a, b ; Abourouh, 1983, 1987, 1990, 1991, 1992, 1994, 1996, 2000 ; Abourouh et Najim, 1995, 1998 ; Abourouh *et al.*, 1995 ; Boukcim, 1999). Les inventaires mycologiques qui ont été réalisés dans des cédraies, chênaies, pinèdes et sous eucalyptus ont rendu compte de la diversité et de la spécificité de la flore mycologique des écosystèmes forestiers marocains (Abourouh, 2000).

Ces études ont révélé la présence de plusieurs champignons ectomycorhiziens appartenant aux genres *Amanita*, *Boletus*, *Cantharellus*, *Cenococcum*, *Hebeloma*, *Laccaria*, *Russula*, *Scleroderma*, *Pisolithus*, etc.

Compte tenu du fait que la biologie moléculaire constitue actuellement un moyen d'investigation extrêmement précis, nous l'avons adopté tout récemment pour confirmer ou infirmer des identifications d'espèces, mais surtout pour poursuivre et étendre les études de la biodiversité inter- et intraspécifique des champignons symbiotiques.

4.2.1. DIVERSITE DES COMMUNAUTES FONGIQUES EN RELATION AVEC LA SPECIFICITE DE L'HÔTE

- CAS DU CHENE-LIEGE (*QUERCUS SUBER*)

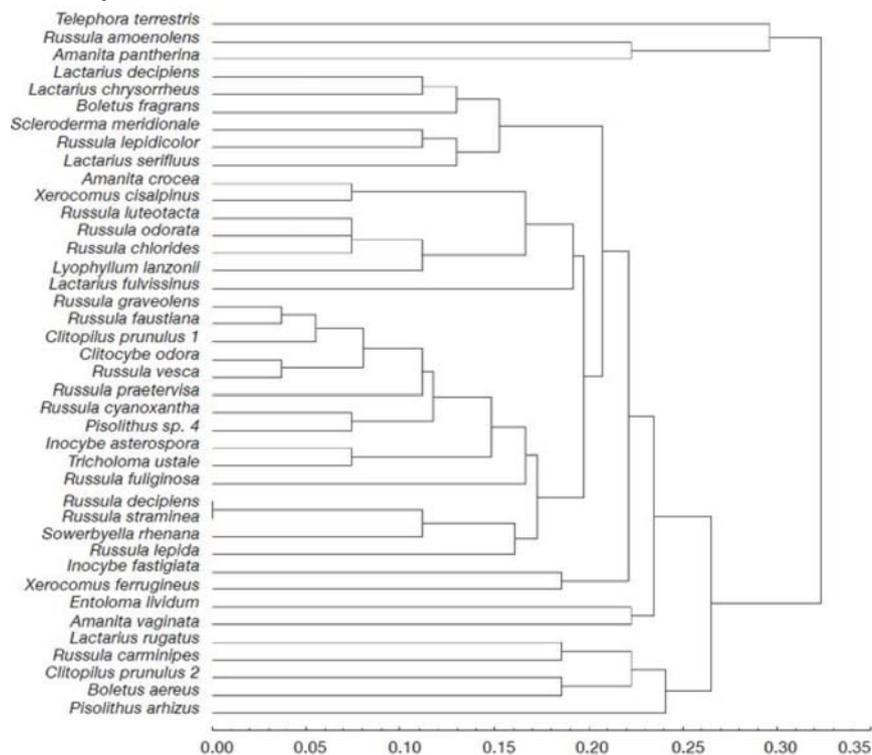
Au Maroc, les subéraies, peuplements à base de *Quercus suber*, s'étendent sur une superficie de 377 482 ha, avec 51 % en plaine et 49 % en montagne. Ces formations sont localisées dans les étages bioclimatiques humide et subhumide, mais aussi semi-aride en cas d'humidité atmosphérique suffisante. Certaines forêts de plaines, comme celles de la Maamora et de la région de Larache, sont suffisamment denses et vastes. Le cortège floristique de ce trésor national représente 21 % de la flore marocaine et plus de 900 taxons avec une dominance des Ericacées ou des Cistacées. Les subéraies correspondent souvent à des formations à trois strates : arborée, arbustive et herbacée.

La diversité interspécifique et intraspécifique des champignons des subéraies en l'occurrence de la Maamora et du Rif du Maroc a été largement étudiée. Certains de ces travaux ont été menés par notre équipe dans le cadre de conventions de coopération maroco-française (Projets de recherche agronomique pour le développement).

Bakkali *et al.* (2010) ont étudié la taxonomie et la biologie des basidiomes (= appareil reproducteur des champignons basidiomycètes) dans les subéraies du Rif occidental. Les relevés réalisés, depuis 2002, ont montré la richesse de la subéraie en espèces fongiques, caractéristique des chênaies sclérophylles. Les champignons mycorrhiziens, dont les russules, ont constitué l'essentiel de cette diversité.

Parallèlement, la variabilité interspécifique des fructifications des champignons des subéraies a été évaluée par l'analyse du Polymorphisme de longueur de fragments de restriction (RFLP) de l'espaceur interne transcrit (ITS) de l'ADN ribosomique (Bakkali *et al.*, 2009a). Une base de données moléculaire ITS-RFLP des champignons collectés a été établie. Les résultats obtenus ont montré l'importance de cette analyse pour la caractérisation moléculaire et l'identification des champignons ectomycorhiziens et leur suivi dans les programmes d'inoculation artificielle (fig. 6).

Figure 6. Dendrogramme généré par UPGMA des relations génétiques entre les 40 espèces de champignons ectomycorhiziens.

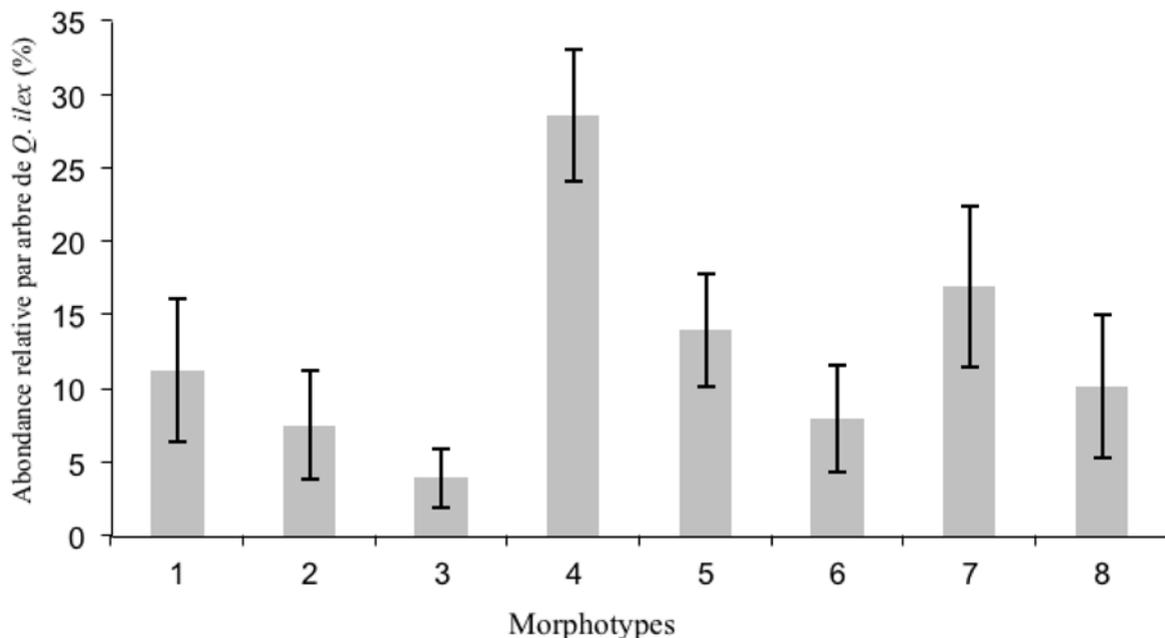


- CAS DU CHENE VERT (*QUERCUS ROTUNDIFOLIA*)

Les iliciaies, forêts de chêne vert, occupent la première place du point de vue superficie, estimée à 1 415 201 ha, soit environ 29 % de la superficie forestière totale. Ces peuplements, qui jouent un rôle écologique très important, correspondent à des taillis de faible productivité et sont souvent très dégradés. Le chêne vert, caractérisé par une plasticité écologique remarquable, une bonne résistance aux mutilations et un grand dynamisme, est répandu sur tous les types de substrats, dans les bioclimats humides, subhumide et semi-aride, tempérés, frais et froids ; sa tranche altitudinale se trouve entre 300 et 2 700 m.

Dans le cadre du projet Jeunes Équipes associées à l'Institut de recherche pour le développement (IRD, France), Bakkali *et al.* (2009a) ont analysé la diversité phénotypique et moléculaire des champignons ECM du chêne vert du Moyen Atlas. L'analyse phénotypique des ectomycorhizes a montré l'existence de 8 morphotypes (MT). Dans cette étude, *C. geophilum* a été de loin le morphotype le plus abondant avec une abondance relative de 28,5 % (fig. 7).

Figure 7. Abondance relative des différents morphotypes.



Ceci peut être expliqué par sa forte concurrence et sa tolérance à la sécheresse (Molina *et al.*, 1992 ; LoBuglio, 1999). Il a de ce fait une meilleure adaptation aux écosystèmes méditerranéens. La plupart des études sur les communautés ECM, publiées à ce jour,

rappellent que cette espèce est la plus abondante avec une abondance relative allant de 11 à 29 % (Abourouh et Najim, 1995 ; Petkovsek Al Sayegh et Kraigher, 2000 ; Dahlberg *et al.*, 1997). Alors que les MT de *Pisolithus*, avec la plus faible abondance relative (4 %), correspondaient aux *P. arrhizus*, champignon versatile, adapté aux conditions marginales.

Tous les MT observés ont fait l'objet d'une analyse moléculaire par PCR/RFLP et séquençage de l'ITS de l'ADN ribosomique. L'interprétation des séquences ITS obtenues a permis d'identifier des champignons appartenant aux deux phyla, Ascomycota et Basidiomycota. Aussi, l'analyse phylogénétique a permis d'identifier, outre *C. geophilum* et *P. arrhizus*, des champignons ectomycorhiziens des genres : *Phaeangium*, *Sebacina*, *Rhizopogon*, *Suillus*, *Tomentella* et *Tuber*.

Q. ilex semble constituer un véritable réservoir de biodiversité fongique. Certaines espèces ont été identifiées pour la première fois au niveau des forêts de *Q. ilex* (*Tuber*, *Suillus*, *Phaeangium*). L'étude écologique et biologique des espèces ainsi recensées et décrites permet d'aborder des programmes de gestion forestière et surtout de réhabilitation de sites dégradés et, plus généralement, de reforestation.

- SPECIFICITE DU GENRE *PISOLITHUS*

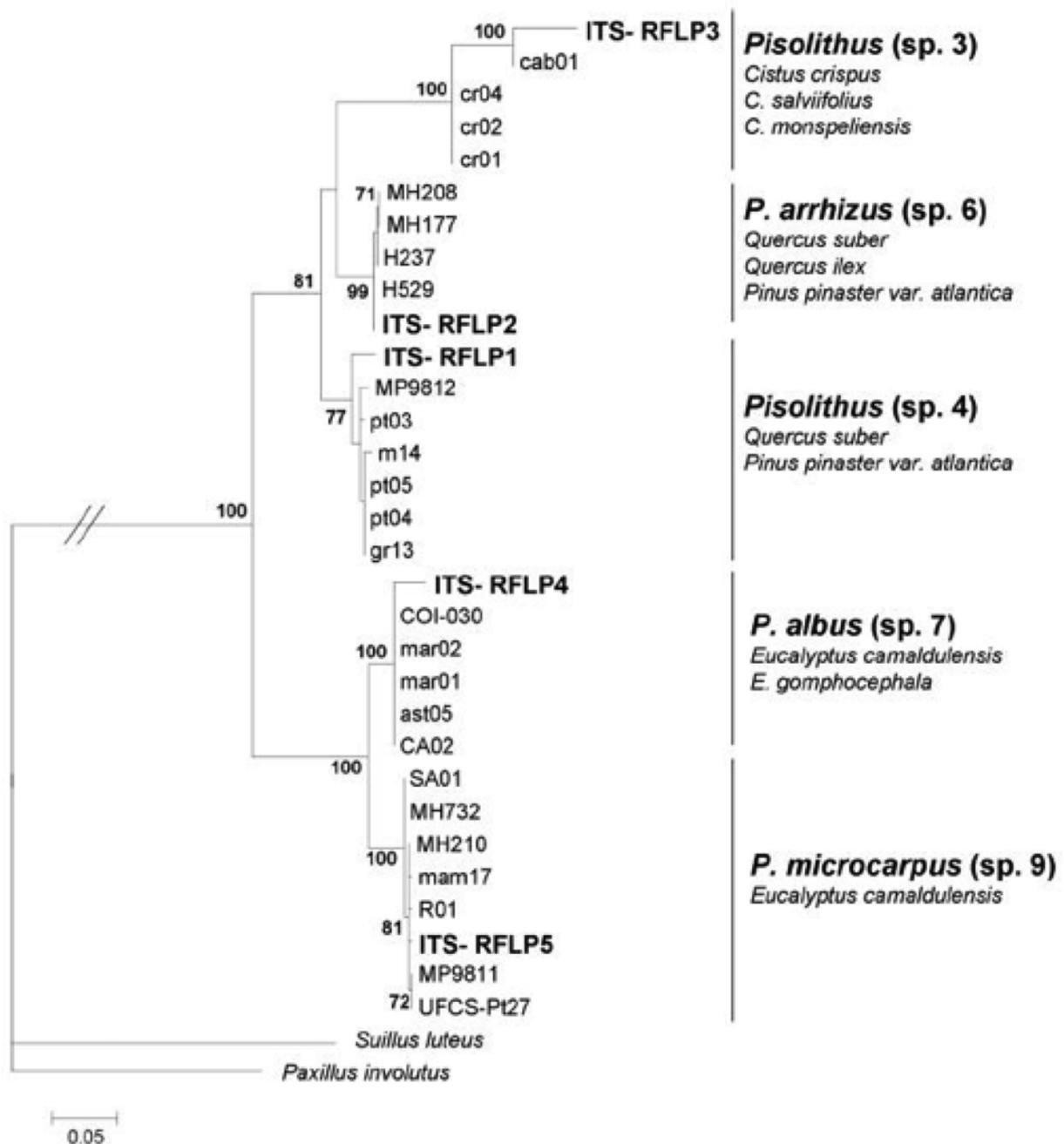
Les isolats de ce champignon, compte tenu de sa capacité à s'associer à une très large diversité d'espèces (Marx, 1977), sont largement utilisés dans les programmes de mycorhization artificielle des arbres forestiers (Garbaye *et al.*, 1988 ; Duponnois et Ba, 1999).

Il y a une vingtaine d'années, les chercheurs ont remarqué que les capacités à former des ectomycorhizes variaient considérablement entre les souches de *Pisolithus* ; ainsi, les souches isolées sous les pins ne sont pas compatibles avec les souches isolées sous les Eucalyptus et inversement (Malajczuk *et al.*, 1990).

Bakkali *et al.* (2009b) ont montré l'existence de 5 espèces distinctes de *Pisolithus* en fonction de la plante hôte (fig. 8). L'analyse phylogénétique a montré que les basidiomes de *Pisolithus* récoltés dans les forêts de *Pinus* et *Quercus* correspondent à *P. arrhizus* et *P. sp. 4* de Martin *et al.* (2002). Ceux collectés dans les forêts d'eucalyptus, en particulier *E. gonphocephala* et *E. camaldulensis*, correspondent à *P. albus* et *P. microcarpus*. Enfin, ceux collectés sous les

cistes, *Cistus crispus*, *C. monspeliensis* et *C. salviifolius*, sont tous identifiés comme des espèces de *Pisolithus* sp. 3.

Figure 8. Dendrogramme phylogénétique des cinq espèces de *Pisolithus* rencontrées dans les écosystèmes forestiers marocains.



Cette étude a montré la diversité importante des espèces de *Pisolithus* au Maroc, et a confirmé la spécificité des taxons de ce genre suggérée par plusieurs études antérieures (Diez *et al.*, 2001 ; Martin *et al.*, 2002). Aussi, outre l'acquisition de données scientifiques fondamentales,

les résultats de cette recherche pourront contribuer significativement à l'amélioration des itinéraires sylvicoles préconisés pour une gestion durable des formations forestières du pourtour méditerranéen.

4.2.2. INFLUENCE DU COUVERT VEGETAL SUR LA DIVERSITE DES CHAMPIGNONS ECM : CAS DE L'ASSOCIATION CHENE-LIEGE-CISTES

À l'instar des travaux réalisés en Espagne, la gestion du potentiel mycorhizogène « *in situ* » de la couverture végétale de cet écosystème, en l'occurrence des espèces du genre *Cistus*, pourrait promouvoir la mycorhization des jeunes plants de chêne-liège et en conséquence, améliorer leur établissement après transplantation sur le terrain.

Dans ce contexte, Bakkali *et al.* (2008a) ont étudié la diversité des champignons ECM de l'association chêne-liège-cistes. Aussi, l'impact du couvert arboré sur le statut mycorhizien de différentes espèces du genre *Cistus* – *C. salviifolius*, *C. crispus* et *C. monspeliensis* – a été analysé. Cette étude a confirmé le statut mycorhizien double, endo- et ectomycorhizien de ces espèces (fig. 9, 10).

Figure 9. Coupe transversale d'une ECM de ciste.

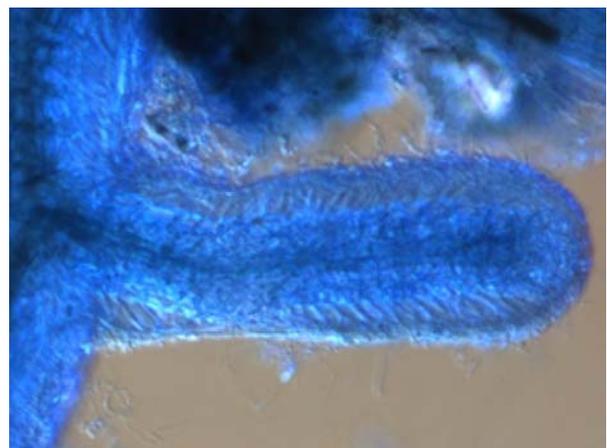
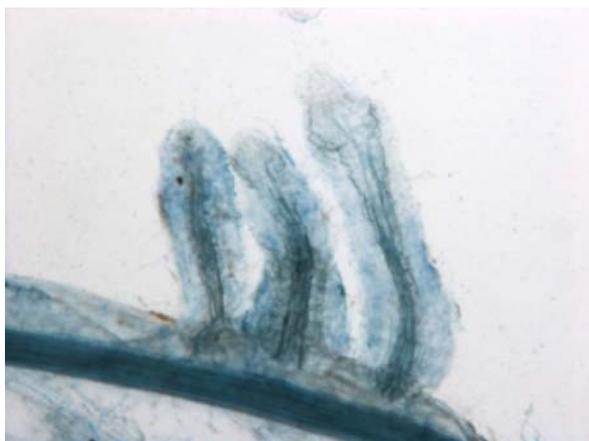


Figure 10. ECM de *Cenococcum geophilum* ; spore de CMA de ciste.



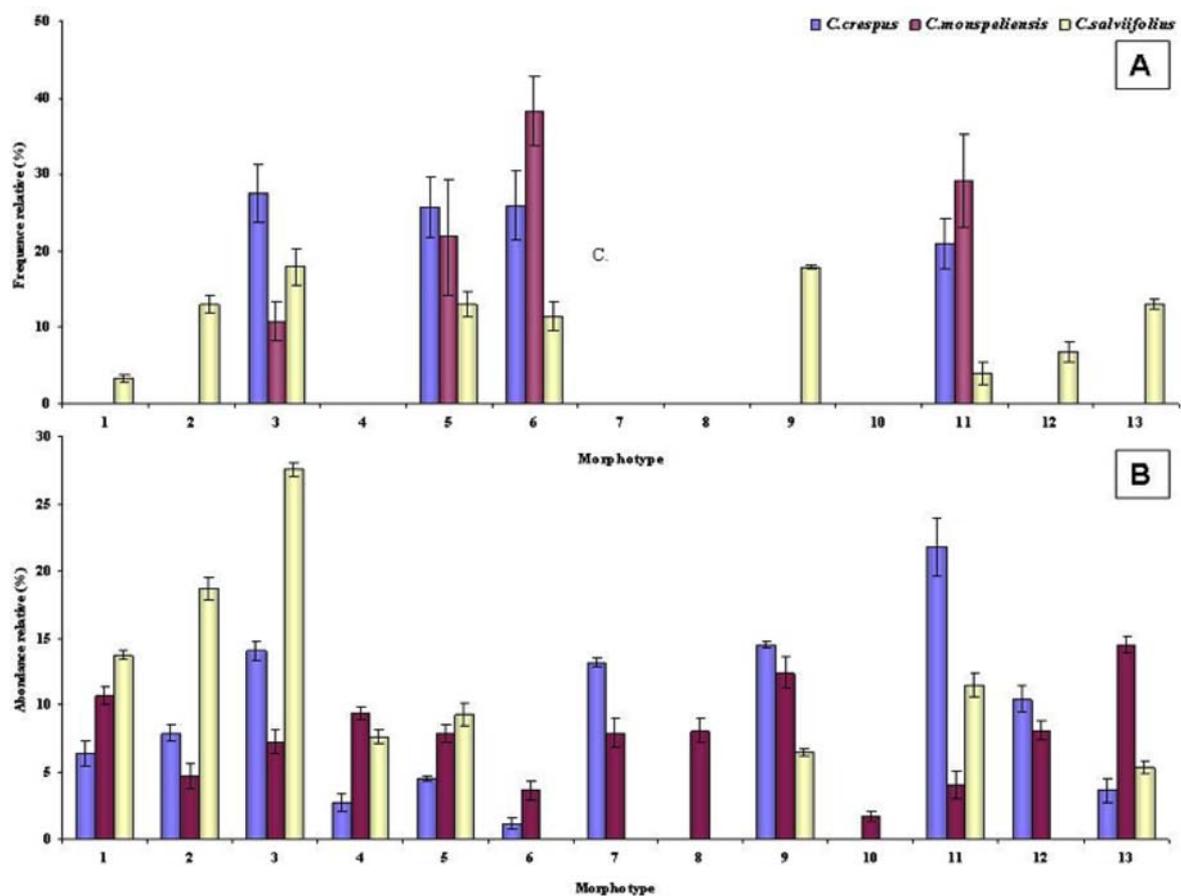
L'analyse phénotypique des ectomycorhizes observées a montré l'existence de 13 morphotypes (MT) différents dont l'abondance est fortement dépendante du degré du recouvrement du milieu par la strate arborée et arbustive (fig. 11).

Dans un écosystème forestier surexploité où la densité d'arbres adultes est faible et où l'érosion des sols est importante, la structure des communautés fongiques est profondément altérée (Marx, 1991). Par ailleurs, tous les MT s'observent aussi bien chez le chêne-liège que chez les cistes. Des études de l'impact des espèces de *Cistus* sur les caractéristiques physico-chimiques, de la diversité génétique et fonctionnelle de la microflore des sols et le développement précoce des jeunes plantules de chêne-liège sont en cours (PRAD 04/10).

4.2.3. FACTEUR EDAPHIQUE ET DIVERSITE DES CHAMPIGNONS ECM, CAS DE *PISOLITHUS* SP.

Les caractéristiques du sol peuvent être un facteur important de structuration des communautés fongiques. L'étude a porté sur l'impact des caractéristiques physicochimiques du sol dans une plantation de *Quercus suber* (Maamora, Maroc) et sur la variabilité génétique du *Pisolithus* sp. (Bakkali *et al.*, 2011b). L'analyse moléculaire PCR-RFLP et séquençage de l'ITS des basidiomes collectés a montré que 97 % des fructifications correspondent à *P. arhizus* et les 3 % restants correspondent à *P. sp. 4* de Martin *et al.* (2002). L'analyse multivariée (ACP) a montré que la structure de ces deux espèces était fortement corrélée avec les caractéristiques du sol (fig. 12).

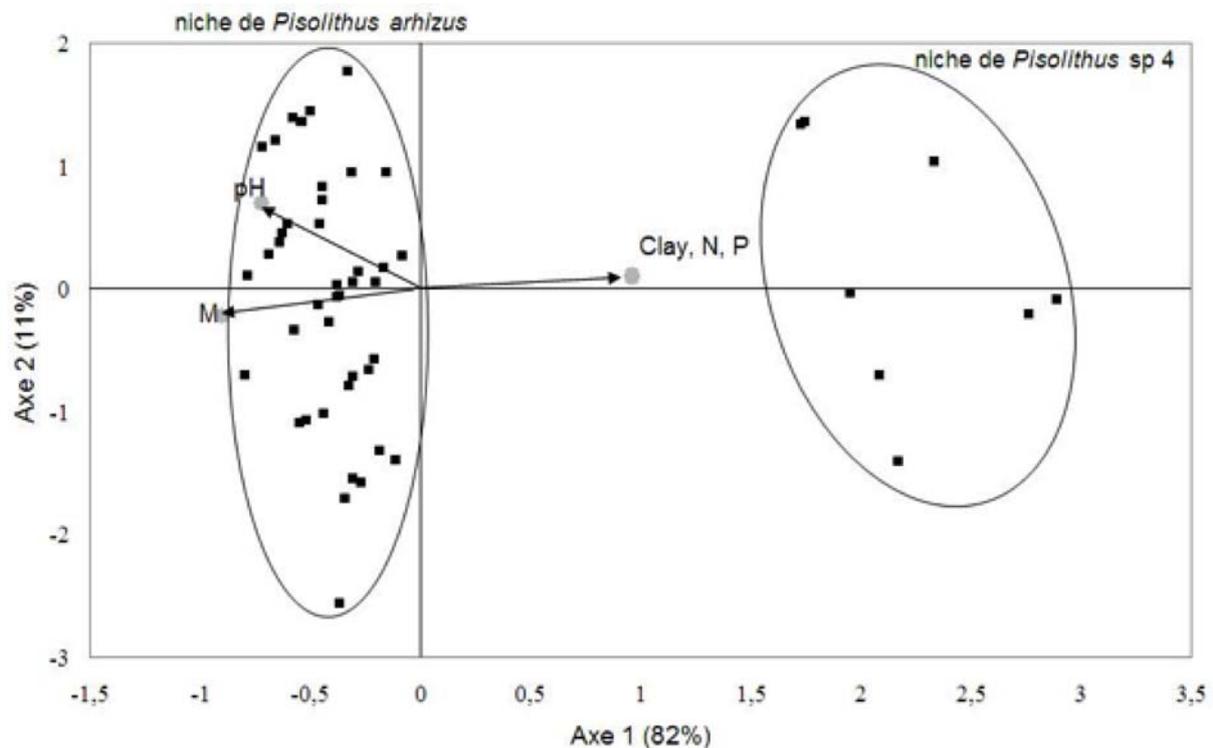
Figure 11. Abondance relative des MT dans M. dégradé (A) et M. non dégradé (B).



Les basidiomes de *P. arhizus* se trouvaient souvent dans la partie orientale de la parcelle à faible teneur en argile molassic, en N et P, tandis que les espèces de *P. sp. 4*, ont été recueillies dans la partie occidentale à teneur élevée en argile rouge, N et P. La distribution restreinte de *P. arhizus* à la niche pauvre en nutriment corrobore avec les résultats d'études antérieurs ayant rapporté que ce champignon est bien adapté aux sites perturbés (McAfee et Fortin, 1988).

Pour déterminer si cette variabilité des basidiomes concorde avec celle souterraine, les techniques morpho-anatomiques et moléculaires ont été utilisées pour caractériser les ectomycorhizes de *Pisolithus* sp. Seules les ectomycorhizes de *P. arhizus* ont été identifiées sur le site pauvre en nutriment et disparaissent complètement sur le site riche où aucune ectomycorhize de *P. sp. 4* n'a été trouvée.

Figure 12. Analyse en composantes principales des deux espèces de *Pisolithus*.



Le genre *Pisolithus*, comme plusieurs autres espèces de champignons ectomycorhiziens, est capable de croître saprophytiquement (Maijala *et al.*, 1991) ; il est probable que *Pisolithus* sp. (espèce 4) est un partenaire ectomycorhizien incompatible de *Quercus suber* dans les sols acides, pouvant former des fructifications irrégulières, mais pas d'ectomycorhize typique de *Pisolithus* « like ». Une telle situation a déjà été rapportée pour *Paxillus involutus* pouvant avoir un mode saprophytisme, mais a besoin de liaisons avec une plante hôte pour produire des fructifications (Laiho, 1970). Ces résultats montrent l'impact à l'échelle locale de l'hétérogénéité naturelle spatiale sur un genre de champignons ECM.

5. MYCORHIZATION CONTROLÉE EN PÉPINIÈRE : UN FERTILISANT BIOLOGIQUE AU SERVICE DE LA REVEGETATION

La grande variabilité inter- et intraspécifique des ECM dans l'exploitation des ressources du sol (Wagner *et al.*, 1988 ; Nguyen *et al.*, 1992) et dans leur façon d'affecter positivement l'hôte (Wong et Fortin, 1990) a mené à la sélection de souches prenant en compte l'espèce-hôte (Rosado *et al.*, 1994) et/ou les caractéristiques des sites de transplantation (Trappe, 1977 ; Kropp et Langlois, 1990 ; Grove et Le Tacon, 1993). Cependant, plusieurs chercheurs

optent pour l'approche qui veut que les souches les mieux adaptées au terrain, sont celles qui sont indigènes (Trappe, 1977 ; Navratil, 1988 ; Perry *et al.*, 1987). La mycorhization contrôlée, par l'utilisation de souches de champignons performantes, a constitué ces dernières décennies un outil remarquable dans la production de plants de qualité, caractérisés sur le plan morphologique par un système racinaire bien ramifié porteur d'un grand nombre de racines courtes absorbantes et sur le plan physiologique par un appareil racinaire capable de prendre rapidement contact avec le sol à l'intérieur duquel il est introduit lors du reboisement (Kropp et Langlois, 1990).

Au Maroc, les premiers essais de mycorhization contrôlé en pépinière ont été réalisés au CRF, Rabat (Abourouh, 2000). Plusieurs champignons ectomycorhiziens sont obtenus en culture pure à partir d'ectomycorhizes, de fragments de sporophores ou de sclérotés. Ils appartiennent aux genres *Amanita*, *Cenococcum*, *Hebeloma*, *Rhizopogon*, *Paxillus*, *Pisolithus*, *Scleroderma*, *Suillus*, *Thelephora* et *Tricholoma*. Les espèces des genres *Boletus*, *Cantharellus*, *Laccaria*, *Lactarius*, *Russula* et *Tuber* n'ont pu être isolées à cause de leur inaptitude à se développer sur les milieux de culture employés ou bien en raison de la prolifération des contaminants, le plus souvent des bactéries, mais parfois aussi des champignons surtout inférieurs comme *Penicillium* et *Trichoderma*. Les fragments de sporophores de *Cantharellus cibarius*, de *Laccaria laccata* et de *Tuber* spp. se contaminent tous par des bactéries ; des contaminations fatales condamnant toutes possibilités d'isolement (Abourouh, 2000).

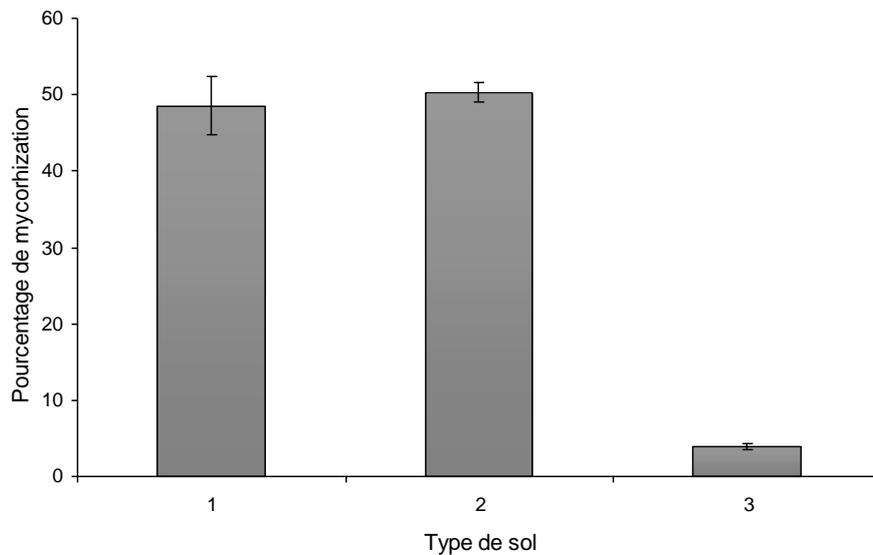
Au cours de ces travaux, il a été également constaté qu'il est plus facile d'isoler à partir d'ectomycorhizes de pins qu'à partir de celles du cèdre. Les ectomycorhizes du chêne-liège et des eucalyptus sont très sensibles aux produits de désinfection probablement à cause de leur petite taille.

Il a aussi été rapporté que la vitesse de croissance des cultures pures varie d'une espèce à une autre, mais aussi d'une souche à une autre. Ces isolements ont débouché sur la constitution d'une mycothèque au sein du Centre de recherche forestière de Rabat.

Les cultures pures obtenues ont été testées systématiquement quant à leur aptitude à former des ectomycorhizes avec leurs plantes-hôtes respectives. Les essais de mycorhization contrôlée ont permis la production de plants de pins et du chêne-liège mycorhizés par *Pisolithus arhizus*, *Rhizopogon* spp. ou *Hebeloma mesophaeum*... (Abourouh, 2000).

Par ailleurs, cet effet « mycorhizien » peut être obtenu par la gestion du Potentiel infectieux mycorhizogène (PIM) *in situ* (Duponnois *et al.*, 2001). Récemment, Bakkali *et al.* (2008a) ont montré, en pépinière, l'effet promoteur du sol collecté sous cistes sur le pourcentage de mycorhization des plants de chêne-liège (fig. 13).

Figure 13. Effets des différents types de sols sur la mycorhization des plants de chêne-liège (1 : sol sous chêne-liège, 2 : sol sous cistes et 3 : sol nu).

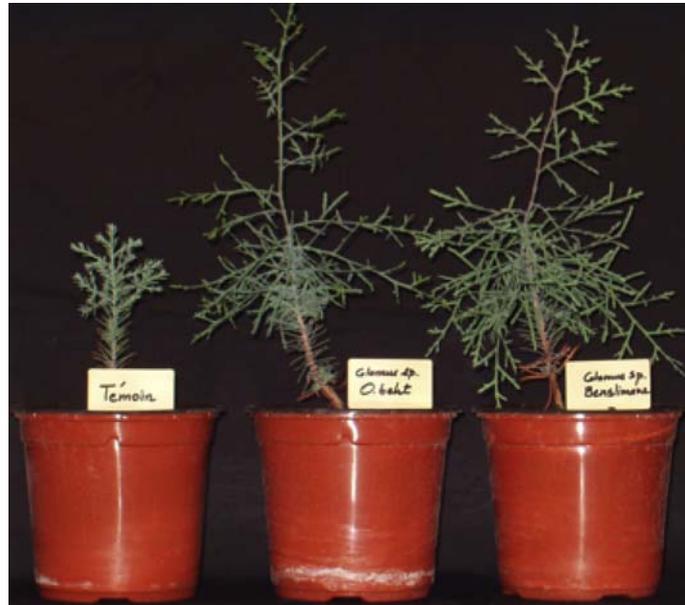


Quant aux CMA, ce sont des symbiotes obligatoires, leurs connexions avec une plante-hôte ne sont pas spécifiques, mais leurs interactions sont énormément compatibles aussi bien au niveau structural que physiologique. Cette compatibilité dépend de la plante, du champignon et des facteurs environnants (Plenchette *et al.*, 1983 ; Koïde et Scheiner, 1992).

En pépinières forestières, le thuya s'est montré très réceptif à la mycorhization contrôlée, confirmant ainsi nos résultats sur la dépendance de cette essence forestière aux CMA (Abbas *et al.*, 2006). En Espagne, Diaz et Honrubia (1993) ont observé que l'espèce *Glomus fasciculatum* est la plus effective en matière de colonisation racinaire et impact sur la croissance des jeunes plantules de thuya. Au Maroc, différents inocula du genre *Glomus*, indigènes des tétraclinaies naturelles ou artificielles, ont été testés en microcosme afin de rechercher les meilleures associations à appliquer dans le programme de production des plants de thuya en pépinières forestières. L'analyse des résultats a montré que, malgré les inégalités

observées en matière de colonisation racinaire du thuya, l'infection par les CMA produit un effet significatif sur la croissance et le développement de cette essence (fig. 14).

Figure 14. Comparaison entre plants de thuya non inoculés et inoculés par des CMA indigènes.



Par contre en matière de nutrition, seuls quelques isolats fongiques des peuplements naturels ont permis une bonne fixation du phosphore, d'azote et de potassium. En conséquence, la mycorhization contrôlée est une technique qui reste inhérente au type d'isolats fongiques utilisés comme inoculum. Il a été remarqué que même si différentes espèces de CMA peuvent coloniser, de la même manière, une espèce hôte spécifique, l'efficacité symbiotique en termes de croissance peut varier considérablement (Burleigh *et al.*, 2002 ; Smith *et al.*, 2004).

5.1. DESCRIPTION DE QUELQUES ESSAIS EXPERIMENTAUX DE MYCORHIZATION REALISES DANS LES SITES DE REBOISEMENT

Dans cette partie nous présenterons quelques essais de régénération effectués sur le genévrier, le thuya, et le cèdre (Ouahmane, 2007 ; Guedira, 2008 ; Abbas, 2009). Nous évaluerons le potentiel de mycorhization de quelques arbustes comme composante principale dans la gestion rationnelle des écosystèmes forestiers marocains, ainsi que le rôle des champignons mycorhiziens en tant qu'éléments favorisant l'établissement de nouvelles plantations et participant à l'augmentation de la biodiversité dans ces écosystèmes. Les objectifs assignés à

toutes ces expérimentations émanent du concept que la régénération des écosystèmes dégradés est non seulement une plantation destinée à révégétaliser un milieu, mais aussi une amélioration des propriétés physicochimiques et biologiques du sol.

En général, au niveau des écosystèmes méditerranéens le potentiel mycorhizogène existant n'est pas suffisant pour assurer le développement des espèces forestières, la gestion de ce Potentiel infectieux mycorhizogène (PIM) *in situ* (Duponnois *et al.*, 2001) s'avère nécessaire. Cette approche consiste donc à produire un inoculum fongique *in situ* composé par les symbiotes fongiques naturellement présents dans le sol de plantation des espèces cibles à réimplanter. Le succès de cette technique repose sur l'utilisation de plantes (herbacées, arbustes) susceptibles de promouvoir rapidement la multiplication des champignons mycorhiziens dans le sol (plantes hautement mycotrophes) et de se développer en association avec la plante hôte. Or, il est connu que la flore endémique des régions méditerranéennes est surtout composée par des arbustes typiques des zones arides comme l'armoise (*Artemisia herba-alba*), plusieurs espèces de *Stipa* (ex. : *S. tenacissima*), *Anthyllis cytisoides*, *Retama sphaerocarpa*, *Lavandula* spp., *Thymus* spp., etc. et que ces espèces arbustives sont très mycotrophes (Requena *et al.*, 1996 ; Azcon et Barea, 1997 ; Requena *et al.*, 2001 ; Azcon-Aguilar *et al.*, 2003).

Ces arbustes se développent typiquement en touffes qui constituent des îlots de fertilité (Garner et Steinberger, 1989 ; Schlesinger *et al.*, 1996) facilitant la régénération d'autres espèces ligneuses (Callaway, 1995, 1997).

Dans cette optique, les travaux réalisés sur le cyprès de l'Atlas au Grand Atlas marocain par Ouahmane (2007) ont montré que son inoculation par des CMA indigènes améliore significativement la croissance des plants et qu'après un an de transplantation, les teneurs foliaires en N et en P étaient significativement supérieures chez les plants de cyprès inoculés par rapport à ceux du témoin.

Cette amélioration était plus significative, lorsque le même auteur a réalisé des études sur le statut mycorhizien de quelques espèces représentatives de l'écosystème cyprès comme *Lavandula* spp. et *Thymus satureioides*. Les résultats de ces essais ont révélé que le nombre de propagules mycorhiziennes dans les sols rhizosphériques originaires des différentes espèces testées a été significativement plus élevé que dans le sol témoin. Le nombre le plus probable des propagules mycorhiziennes par 100 grammes de sol sec varie de 7,82 (sol témoin) à 179,7 (*Lavandula dentata* et *Cupressus atlantica*) et 244,5 (*Lavandula stoechas* et

Thymus satureioides) (Ouahmane *et al.*, 2006a). En conséquence, la coexistence des espèces végétales dans une même niche écologique paraît un choix inéluctable qu'il faut gérer et recommander dans les programmes de régénération des espèces forestières au Maroc. En effet, dans une expérience de co-culture de *Lavandula multifida* L., préinoculée par *Glomus intraradices*, et de *Cupressus arizonica* L., la croissance et la colonisation de chacune des deux espèces étaient plus élevées que lorsque chaque plante était cultivée seule. Ces résultats montrent bien le rôle de la lavande en tant qu'îlots de fertilité dans la régénération des espèces arborescentes telles que *Cupressus* spp. (Ouahmane *et al.*, 2006b).

Au niveau de l'écosystème tétraclinaie, une double inoculation du thuya par les CMA et les Rhizobactéries de promotion de la croissance des plantes indigènes et sélectionnées a été réalisée en 2006 lors d'un essai de plantation au plateau central marocain (région de Benslimane) (Abbas, 2009). Les résultats de cette expérimentation a montré que les microorganismes mycorhiziens ou bactériens jouaient un rôle prépondérant dans la croissance, le développement et la survie des plants de thuya. D'un côté, ils ont permis à ces plants d'acquérir un avantage à la sortie de la pépinière et par suite supporter le choc de transplantation (fig. 15 a et b), et de l'autre, ils ont amélioré leur développement après plantation. Mais le meilleur résultat de cette amélioration a été observé en 3^e année lorsque le thuya est inoculé à la fois par les CMA et les bactéries sélectionnées : la hauteur des plants a été stimulée d'environ 3 fois par rapport à celle des plants non inoculés.

Concernant le succès de la plantation, la symbiose améliore la capacité du thuya à s'établir et faire face au stress environnemental occasionné au niveau du site de plantation (fig. 16). En effet, le taux de mortalité a été réduit à environ 50 % lorsque les plants ont été inoculés à la fois par les CMA et B2 (fig. 17). Ce qui laisse supposer que la rareté des propagules microbiennes dans les écosystèmes peut être un sérieux handicap pour l'établissement des plantes et leur survie.

Dans un autre essai réalisé dans le Grand Atlas associant les cytises et le cèdre, Guedira (2008) a remarqué que la fertilité du sol est importante sous couvert de cytise et qu'une couverture de 42 % de ces légumineuses est la meilleure pour le développement du cèdre. En haute altitude, la forte densité des cytises a servi de protection du cèdre contre le vent, le gel et le drainage du sol (fig. 18).

Figure 15. Hauteur (a) et diamètre basal (b) du thuya inoculé ou non après 3 ans de plantation (C : témoin ; CMA : Complexe de champignons mycorhiziens arbusculaires sélectionnés ; B2 : Bactérie sélectionnée).

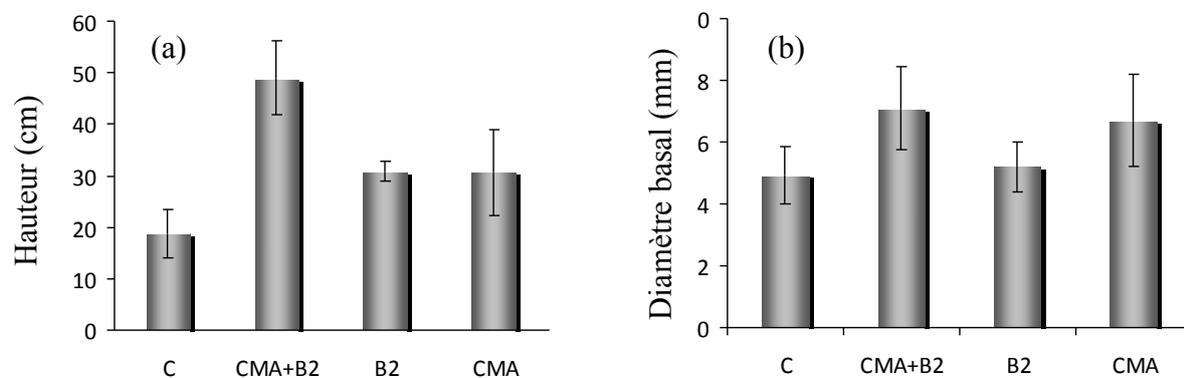


Figure 16. Exemple de plantation de thuya dans la région de Benslimane.



Figure 17. Cumul des taux de mortalité observés chez le thuya dans l'essai au champ (région de Benslimane).

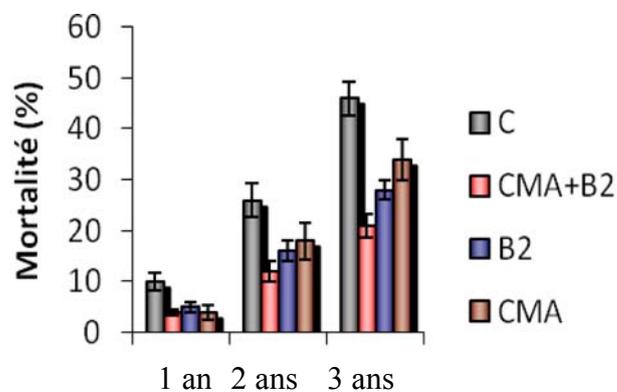


Figure 18. Plantation de cèdres en association avec les cytises au Grand Atlas du Maroc.



6. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Dans tout programme de révégétation, l'ultime objectif reste toujours le rétablissement d'un écosystème stable, biodiversifié avec un fonctionnement optimum des processus de cycle des nutriments dans lequel les micro-organismes du sol jouent un rôle prépondérant. Au Maroc, l'intérêt porté à l'introduction des symbioses racinaires dans les programmes de reboisement reste encore dans son état embryonnaire, malgré les études réalisées jusqu'à présent et qui ont prouvé que les échecs de plantations des espèces forestières peuvent être défiés par une bonne gestion des ressources microbiennes telluriques. Cette approche peut être adoptée soit par un meilleur choix des symbiotes indigènes à utiliser, soit par la réimplantation des espèces arbustives autochtones les mieux adaptées aux conditions édapho-climatiques locales. En conséquence, toute amélioration des propriétés physico-chimiques et biologiques opérée au niveau de la rhizosphère des écosystèmes forestiers marocains, participera certainement à l'installation de conditions prospères pour l'établissement et le développement de nouvelles plantes, notamment celles arborées.

7. REFERENCES

Aafi, A. (2003). Richesse et diversité floristique du Parc National de Talassemtane. Revue du Muséum d'Histoire Naturelle de Marrakech, *Naturalia Maroccana*, 1: 45-48

- Abbas, Y. (2009). Intérêt des Mycorhizes à arbuscules des tetraclinaies marocaines dans la ré-implantation du thuya. Revue d'Activité du CRF, Maroc, 2007-2008.
- Abbas, Y., Ducouso, M., Abourouh, M., Azcon, R. & Duponnois, R. (2006). Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters woodlands in Morocco. *Annals of Forest Sciences*, 63:285-291
- Abourouh, M. (1983). Essai de mycorhization en pépinière de *Cedrus atlantica* Manetti (Cèdre de l'Atlas). Thèse de 3ème Cycle, Université Claude Bernard Lyon I, Villeurbanne, France : 125 p
- Abourouh, M. (1987). *Cenococcum graniforme* (Sow), champignon ectomycorhizien de *Quercus suber* dans la forêt de la Mamora (Maroc occidental). Dans "les arbres fixateurs d'Azote. L'amélioration biologique de la fertilité du sol". Actes des Séminaires, 17-25 Mars, Dakar, Sénégal. Edition ORSTON: pp 256-261
- Abourouh, M. (1990). Artificial mycorrhization in nursery with *Pisolithus tinctorius* (Pers). Coker & Couch basidiospores ; effects in the field. In « Fast growing trees and nitrogen fixing trees ». (Werner D. and Muller P. Eds.). Gustav Fisher Verlag : pp 318-320
- Abourouh, M. (1991). La distribution au Maroc de *Cenococcum geophilum* Fr. *Annales de la Recherche Forestière au Maroc*, 25: 30-40
- Abourouh, M. (1992). Les plantes forestières: normes de qualité et techniques culturales. Actes de la 1ère journée nationale sur les plants forestiers, pp 17-33
- Abourouh, M. (1994). Les ectomycorhizes du Cèdre de l'Atlas : état des connaissances et perspectives. *Annales de la Recherche Forestière au Maroc*, 27: 337-348
- Abourouh, M. (1996). Les évaluations quantitatives des mycorhizes en pépinière et sur le terrain. *Cahier Options Méditerranéennes, CIHEAM*, 20: 51-61
- Abourouh, M. (2000). Ectomycorhizes et mycorhization des principales essences forestières du Maroc. Thèse d'Etat, Facultés des Sciences de Rabat : 170 pages.
- Abourouh, M. & Najim, L. (1995). Les différents types d'ectomycorhizes naturelles de *Cedrus atlantica* Manetti au Maroc. *Cryptogamie Botanique*, 5: 332-340
- Abourouh, M. & Najim, M. (1998). Les différents types d'ectomycorhizes naturelles de *pinus halepensis* mill au maroc. *Annales de la recherche forestière au Maroc*, 31 : 1-16

- Abourouh, M., Lamhamdi, M.S. & Fortin, J.A. (1995). Techniques de mycorhization en pépinière des plants des forestiers. Centre National de Recherches Forestières Rabat : 38p
- AEFCS, (1996) Actes du colloque national sur la forêt, du 21 au 23 mars 1996 à Ifrane. AEFCS, Rabat. 120 p
- Arnolds, E. (1991). Decline of ectomycorrhizal fungi in Europe. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 35: 209-244
- Azco-Aguilar, C. & Barea, J.M. (1997). Arbuscularmycorrhizas and biological control of soil born pathogens. An overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza*, 6: 457-464.
- Azcon-Aguilar, C., Palenzuela, J., Roldan, A., Bautista, S., Vallejo, R. and Barea, J.M. (2003) Analysis of the mycorrhizal potential in the rhizosphere of representative plant species from desertification-threatened Mediterranean shrublands. *Applied Soil Ecology*, 14: 165–175.
- Bakkali Yakhlef, S., Chakir, S., Kerdouh, B., Mousain, D., Duponnois, R. & Abourouh, M. (2008a). Analyse phénotypique et moléculaire du potentiel mycorrhizogène in situ des cistes associés au Chêne-liège au Maroc. Journées Francophones Mycorhizes. 04 et 05 septembre 2008, Dijon, France
- Bakkali Yakhlef, S., Abbas, Y., Chakir, S., Abourouh, M. & Duponnois, R. (2008b). Analyse de la diversité génétique des champignons mycorrhiziens arbusculaires dans l'écosystème à arar. V^{ème} Journées Nationales de Biodiversité « Biodiversité au service du développement durable », 18 au 20 décembre 2008. Fès, Maroc.
- Bakkali Yakhlef, S., Kerdouh, B., Mousain, D., Ducouso, M., Duponnois, R. & Abourouh, M. (2009a). Phylogenetic diversity of Moroccan Cork oak woodlands fungi. *Biotechnologie Agronomie Société Environnement*, 13(4): 521-528
- Bakkali Yakhlef, S, Mousain, D., Duponnois, R., Ducouso, M., Belkouri, A., Kerdouh, B., Perrineau, M. & Abourouh, M. (2009b). Molecular phylogeny of *Pisolithus* species from Moroccan forests woodlands. *Symbiosis*, 49 (3): 157-162
- Bakkali Yakhlef, S., Abourouh, M., Moreau, P.A., Richard, F. & Mousain, D. (2010). Diversité des champignons basidiomycètes dans les subéraies du Rif occidental. Société

- d'horticulture et d'histoire naturelle de l'Herault. Les Rencontres du Cent cinquantaire Colloque Forestiers / Naturalistes. 21 octobre 2010, Montpellier, France
- Bakkali Yakhlef, S., Abbas, Y., Prin, Y., Abourouh, M. & Duponnois, R. (2011a). Effective AMF population in roots of *Tetraclinis articulata* and *Lavandula multifida* in Moroccan Tetraclinis woodlands. *Mycology*, 2: 79-86
- Bakkali Yakhlef, S., Abourouh, M., Ducouso, M., Duponnois, R., Delaruelle, C. & Mousain, D. (2011b). Intraspecific variability of *Pisolithus* spp. as a response of soil characteristic change in a Moroccan cork oak plantation. *Mycology* (sous presse).
- Benabid, A. (1989). Ecologie, conservation et restauration des subéraies. Formation continue à l'ENFI
- Benabid, A. (2000). Flore et écosystèmes du Maroc : 2valuation et préservation de la biodiversité. Edition Ibis Press, Paris, p. 359
- Bever, J.D., Morton, J.B., Antonovics, A. & Schultz, P.A. (1996). Host-dependent sporulation and species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in mown grassland. *Journal of Ecology*, 84: 71-82
- Birot, Y. (1991). Boisement et reboisement. In "Actes du 10^{ème} Congrès Forestier Mondial 1991". *Revue Forestière Française*, 5: 9-19
- Boukcim, H. (1999). Essai d'optimisation de la mycorhization contrôlée du Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti), Thèse de Doctorat, École Nationale du Génie Rural des Eaux et des Forêts, Paris, France, 224 p
- Brandbrud, T.E. (1987). Mycorrhizal fungi in 30 years old, oligotrophic spruce (*Picea abies*) plantation in SE Norway. A one-year permanent plot study. *Agarica* 8: 48-58
- Brunner, I., Brunner, F. & Laursen, G.A. (1992). Characterization and comparaison of macrofungal communities in an *Alnus tenuifolia* and an *Alnus crispa* forest in Alaska. *Canadian Journal of Botany*, 70: 1247-1258
- Burleigh, S.H., Cavagnaro, T. & Jakobsen, I. (2002). Functional diversity of arbuscular mycorrhizas extends to the expression of plant genes involved in P nutrition. *Journal of Experimental Botany*, 53: 1593-1601
- Callaway, R.M. (1995). Positive interactions among plants. *Botanical Review*, 6: 306-349

- Callaway, R.M. (1997). Positive interactions in plant communities and the individualistic continuum concept. *Oecologia*, 112: 143-149
- Caravaca, F., Alguacil, M.M., Figueroa, D., Barea, J.M. & Roldán, A. (2003a). Re-establishment of *Retama sphaerocarpa* as a target species for reclamation of soil physical and biological properties in a semiarid Mediterranean land. *Forest Ecology and Management*, 182: 49-58
- Caravaca, F., Barea, J.M., Palenzuela, J., Figueroa, D., Alguacil, M.M. & Roldán, A. (2003b). Establishment of shrub species in a degraded semiarid site after inoculation with native or allochthonous arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied Soil Ecology*, 22: 103-111
- Clapp, J.P., Rodriguez, A. & Dodd, J.C. (2001). Inter- and intra-isolate rRNA large subunit variation in *Glomus coronatum* spores. *New Phytologist*, 149: 539-554
- Clapp, J.P., Young, J.P.W., Merryweather, J.W. & Fitter, A.H. (1995). Diversity of fungal symbionts in arbuscular mycorrhizas from a natural community. *New Phytologist*, 130: 259-265.
- Dahlberg, A. (2001). Community ecology of ectomycorrhizal fungi: an advancing interdisciplinary field. *New Phytologist*, 150 (3): 555-562
- Dahlberg, A., Jonsson, L. & Nylund, L.E. (1997). Species diversity and distribution of biomass above and belowground among ectomycorrhizal fungi in an old-growth Norway spruce forest in south Sweden. *Canadian Journal of Botany*, 75: 1323-1335
- Danielson, R.M. & Pruden, M. (1989). The ectomycorrhizal status of urban spruce. *Mycologia*, 81: 335-341
- Diaz, G. & Honrubia, M. (1993). Arbuscular mycorrhiza on *Tetraclinis articulata* (Cupressaceae) : development of mycorrhizal colonization and effect of fertilization and inoculation. *Agronomie*, 13: 267-274
- Diez, J., Anta, B., Manjon, J.L. & Honrubia, M. (2001). Genetic variability of *Pisolithus* isolates associated with native hosts and exotic eucalyptus in the western Mediterranean region. *New Phytologist*, 149: 577-587
- Duponnois, R. & Bâ, A.M. (1999). Growth stimulation of *Acacia mangium* Willd. by *Pisolithus* sp. in some Senegalese soils. *Forest Ecology and Management*, 119: 209-215

- Duponnois, R., Plenchette, C., Thioulouse, J. & Cadet, P. (2001). The mycorrhizal soil infectivity and arbuscular mycorrhizal fungal spore communities in soils of different aged fallows in Senegal. *Applied Soil Ecology*, 17/3: 239-251
- Egli, S. & Ayer, F. (1997). Est-il possible d'améliorer la production de champignons comestibles en forêt ? L'exemple de la réserve mycologique de La Chenéaz en Suisse. *Revue Forestière Française*, 49: 235-243
- Fogel, R. (1981). Quantification of sporocarps produced by hypogeous fungi. In *The fungal community* (1ere édition par GC. Carroll & DT. Wicklow). M. Decker, New-York, p. 553-567
- Garbaye, J., Delwaulle, J.C. & Diangana, D. (1988). Growth response of eucalyptus in the Congo to ectomycorrhizal inoculation. *Forest Ecology and Management*, 24: 151-157
- Gardes, M. & Bruns, T.D. (1996). Community structure of ectomycorrhizal fungi in a *Pinus muricata* forest: above- and below-ground views. *Canadian Journal of Botany*, 74: 1572-1583
- Garner, W. & Steinberger, Y. (1989). A proposed mechanism for the formation of "fertile islands" in the desert ecosystem. *Journal of Arid Environments*, 16: 257-262
- Gehring, C.A., Theimer, T.C., Whitham, T.G. & Keim, P. (1998). Ectomycorrhizal fungal community structure of pinyon pines growing in two environmental extremes. *Ecology*, 79: 1562-1572
- Gianinazzi-Pearson, V., van Tuinen D., Dumas-Gaudot, E., Dulieu, H. (2001). Exploring the genome of glomalean fungi. In : *The Mycota IX "Fungal Associations"* Hock B. (ed), Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 3-17.
- Grove, T.S. & Le Tacon, F. (1993). Mycorrhiza in plantation forestry. *Advances in Plant Pathology*, 23:191-227
- Guarro, J., Gené, J. & Stchigel, A.M. (1999). Developments in Fungal Taxonomy. *Clinical Microbiology Reviews*, 12: 454-500
- Guedira, M. (2008). Etude des intérêts des cytises dans la réhabilitation des milieux dégradés : cas de *Cytisus grandiflorus* (Brot.) DC. Dans le bassin versant d'Ourika. Thèse de Doctorat National Université Ibn Tofaïl Kénitra. 190p

- Henrion, B., Di Battista, C., Bouchard, D., Vairelles, D., Thompson, B.D., Le Tacon, F. & Martin, F. (1994). Monitoring the persistence of *Laccaria bicolor* as an ectomycorrhizal symbiont of nursery-grown Douglas-fir by PCR of the rDNA intergenic spacer. *Molecular Ecology*, 3: 571-580
- Herrera, M.A., Salamanca, C.P. & Barea, J.M. (1993). Inoculation of woody legumes with selected arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia to recover desertified Mediterranean ecosystems. *Applied Environmental Microbiology*, 59: 129-133
- Hijri, M., Hosny, M., van Tuinen, D. & Dulieu, H. (1999). Intraspecific ITS polymorphism in *Scutellospora castanea* (Glomales, Zygomycota) is structured within multinucleate spores. *Fungal Genetics and Biology*, 26: 141-151
- Horton, T.R. & Bruns, T.D. (2001). The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box. *Molecular Ecology*, 10: 1855-1871
- Jasper, D.A. (1994). Management of mycorrhiza in revegetation. In: Robson, A.D., Abbot, L.K., Malajczuk, N. (Eds.), *Management of Mycorrhizas in Agriculture, Horticulture and Forestry*. Kluwer Academic Press, Dordrecht, The Netherlands, pp 211-219
- Jonsson, L., Dahlberg, A., Nilsson, M.C., Karén, O. & Zackrisson, O. (1999). Continuity of ectomycorrhizal fungi in self-regenerating boreal *Pinus sylvestris* forests studied by comparing mycobiont diversity on seedlings and mature trees. *New Phytologist*, 142: 151-162
- Kalamees, K. & Silvers, S. (1988). Fungal productivity of pine heaths in North-West Estonia. *Acta Botanica Fennica*, 136: 95-98
- Karen, O. (1997). Effects of air pollution and forest regeneration methods on the community structure of ectomycorrhizal fungi. Thèse de l'Université d'Uppsala, Suède, 53 p
- Karen, O. & Nylund, J.E. (1996). Effects of N-free fertilization on ectomycorrhiza community structure in Norway spruce stands in Southern Sweden. *Plant and soil*, 181: 295-305
- Kjoller, R. & Rosendahl, S. (2001). Molecular diversity of Glomalean (arbuscular mycorrhizal) fungi determined as distinct *Glomus* specific DNA sequences from roots of field grown peas. *Mycological Research*, 105 (9): 1027-1032

- Koide, A.G. & Scheiner, K. (1992). Regulation of the VAM symbiosis. *Annals Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 43: 557-581
- Kropp, B.P. & Langlois, C.F. (1990). Ectomycorrhizae in reforestation. *Canadian Journal of Forest Research*, 20: 438-451
- Laiho, O. (1970). *Paxillus involutus* as a mycorrhizal symbiont of forest trees. *Acta Forestalia Fennica*, 106: 1-73
- LePage, B.A., Currah, R.S., Stockey, R.A. & Rothwell, G.W. (1997). Fossil ectomycorrhizae from the middle Eocene. *American Journal of Botany*, 84: 410-412
- Lepoutre, B. (1963a). Suite d'observation sur le mécanisme de régénération du cèdre par taches. *Annales de la Recherche Forestière au Maroc*, 7: 1-20
- Lepoutre, B. (1963b). Premier essai de synthèse sur le mécanisme de régénération du cèdre dans le Moyen Atlas Marocain. *Annales de la Recherche Forestière au Maroc*, 7: 55-63
- LoBuglio, K.F. (1999). *Cenococcum*. In: Cairney JWG, Chambers SM (eds) *Ectomycorrhizal fungi. Key genera in profile*. Springer, Berlin Heidelberg, New York, pp 287-310
- Maijala, P., Fagerstedt, K.V. & Raudaskoski, M. (1991). Detection of extracellular cellulolytic and proteolytic activity in ectomycorrhizal fungi and *Heterobasidion annosum* (Fr.) *Bref. New Phytologist*, 117: 643-648
- Malajczuk, N., Lapeyrie, F. & Garbaye, J. (1990). Infectivity of pine and eucalypt isolates of *Pisolithus tinctorius* on the roots of *Eucalyptus urophylla in vitro*. *New Phytologist*, 114: 627-631
- Martin, F., Diez, J., Dell, B. & Delaruelle, C. (2002). Phylogeography of the ectomycorrhizal *Pisolithus* species as inferred from nuclear ribosomal DNA ITS sequences. *New Phytologist*, 153: 345-357
- Marx, D.H. (1977). Tree host range and world distribution of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius*. *Canadian Journal of Microbiology*, 23: 217-233
- Marx, D.H. (1991). The practical significance of ectomycorrhizae in forest establishment. In: *Proc. of the Seventh Marcus Wallenberg Foundation Symposia: Ecophysiology of Ectomycorrhizae of Forest Trees*. Sept. 27, 1991, Stockholm, Sweden, pp 54-90

- McAfee, B.J. & Fortin, J.A. (1988). Comparative effects of the soil microflora on ectomycorrhizal inoculation of conifer seedlings. *New Phytologist*, 108: 443-449
- Mehmann, B., Egli, S., Braus, G.H. & Brunner, I. (1995). Coincidence between molecularly or morphologically classified ectomycorrhizal morphotypes and fruitbodies in a spruce forest. In *Biotechnology of ectomycorrhizae. Molecular Approaches*. V. Stocchi, P. Bonfante & M. Nuti (Ed). Plenum Press, New-york, pp 41-52
- Mehus, H. (1986). Fruit body production of macrofungi in some North Norwegian forest types. *Nordic Journal of Botany*, 6: 679-701
- Merryweather, J.W. & Fitter, A.H. (1995). Arbuscular mycorrhiza and phosphorus as controlling factors in the life history of *Hyacinthoides non-scripta* (L.) Chouard ex Rothm. *New Phytologist*, 129: 619-627
- Merryweather, J. & Fitter, A.H. (1998). The arbuscular mycorrhizal fungi of *Hyacinthoides non-scripta* I. Diversity of fungal taxa. *New Phytologist*, 138: 117-129
- Mishler, B.D. & Brandon, R.N. (1987). Individuality, pluralism, and the phylogenetic species concept. *Biology and Philosophy*, 2: 397-414.
- Molina, R., Massicotte, H.B. & Trappe, J.M. (1992). Ecological role of specificity phenomena in ectomycorrhizal plant communities: potentials for interplant linkages and guild development. In: *Mycorrhizas in Ecosystems* / D.J. Read, D.H. Lewis, A.H. Fitter, I.J. Alexander Eds. Oxon (UK): CAB International, pp 106-112
- Morton, J.B., Franke, M. & Bentivenga, S.P. (1995). Developmental foundations for morphological diversity among endomycorrhizal fungi in Glomales. In: A. Varma and B. Hock (Editors), *Mycorrhiza Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology*. Springer, Heidelberg, pp 669-683
- Mousain, D. (1983). Aspects écologiques de la symbiose mycorrhizienne. Extrait des *Annales de la Société d'Horticulture et d'Histoire Nationale de l'Hérault*, 123 (3): 41-48
- Navratil, S. (1988). The state of the art in mycorrhizal research in Alberta and Saskatchewan. In *Proceedings of the Canadian Workshop on Mycorrhizae in Forestry*, May 1-4, 1988. M. Lalonde & Y. Piché (Ed). Centre de recherche en biologie forestière, Faculté de foresterie et géodésie, Université Laval, Ste-Foy, Qc

- Nguyen, C., Yan, F., Le Tacon, F. & Lapeyrie, F. (1992). Genetic variability of phosphate solubilizing activity by monocaryotic and dicaryotic mycelia of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* (Maire) P.D. Orton. *Plant and Soil*, 143: 193-199
- Ouahmane, L. (2007). Rôle des mycorhizes et des plantes compagnes (lavande et thym) sur la croissance du cyprès de l'Atlas (*Cupressus atlantica* G.) : conséquences sur la biodiversité rhizosphérique et la réhabilitation des sites dégradés. Thèse de Doctorat National, Uni. Cadi Ayyad, Fac Sc Sémlalia Marrakech, 227p
- Ouahmane, L., Duponnois, R., Hafidi, M., Kisa, M., Boumezzough, A., Thioulouse, J. & Plenchette, C. (2006a). Some Mediterranean plant species (*Lavandula* spp. and *Thymus satureioides*) act as potential 'plant nurses' for the early growth of *Cupressus atlantica*. *Plant Ecology*, 185: 123-134
- Ouahmane, L., Hafidi, M., Plenchette, C., Kisa, M., Boumezzough, A., Thioulouse, J. & Duponnois, R. (2006b). *Lavandula* species as accompanying plants in *Cupressus* replanting strategies: effect on plant growth, mycorrhizal soil infectivity and soil microbial catabolic diversity. *Applied Soil Ecology*, 34: 190-199
- Perry, P.D., Molina, R. & Amaranthus, M.P. (1987). Mycorrhizae, mycorrhizospheres and reforestation. *Canadian Journal of Forest Research*, 17: 929-940
- Petkovsek Al Sayegh, S. & Kraigher, H. (2000). Types of ectomycorrhizae from Kocevska Reka. - *Phyton* (Horn, Austria), 40 (4): 37-42
- Plenchette, C., Fortin, J. & Furlan, V. (1983). Growth responses plant species to mycorrhizae in soil of moderate P-fertility. I- Mycorrhizal dependency under field conditions. *Plant and Soil*, 70: 199-209
- Pritsch, K., Boyle, H., Munch, J.C. & Buscot, F. (1997). Characterization and identification of black alder ectomycorrhizas by PCR/RFLP analyses of the rDNA internal transcribed spacer (ITS). *New Phytologist*, 137: 357-369
- Quézel, P. & Médail, F. (2003). *Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen*. Elsevier, Paris, 592 p
- Raab, P. & Redecker, D. (2006). Phylogeny of the Glomeromycota (arbuscular mycorrhizal fungi): recent developments and new gene markers. *Mycologia*, 98: 885-895

- Requena, N., Jeffries, P. & Barea, J.M. (1996). Assessment of natural mycorrhizal potential in a desertified semiarid ecosystem. *Applied Environmental Microbiology*, 62: 842-847
- Requena, N., Jimenez, I., Toro, M. & Barea, J.M. (1997). Interactions between plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR), arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium* spp. in the rhizosphere of *Anthyllis cytisoides*, a model legume for revegetation in Mediterranean semiarid ecosystems. *New Phytologist*, 136: 667-677
- Requena, N., Pérez-Solis, E., Azcón-Aguilar, C., Jeffries, P. & Barea, J.M. (2001). Management of Indigenous Plant-Microbe Symbioses Aids Restoration of Desertified Ecosystems. *Applied Environmental Microbiology*, 67(2): 495-498
- Rosado, S.C.S., Kropp, B.R. & Piché, Y. (1994). Genetics of ectomycorrhizal symbiosis. II. Fungal variability and heritability of ectomycorrhizal traits. *New Phytologist*, 126: 111-117
- Rübel, E. & Lüdi, W. (1939). Ergebnisse der internationalen pflanzengeographischen exkursion durch Marokko und Westalgerien. Verlag Hans Huber, Bern, pp 71-81
- Sanders, I.R. (1999). No sex please, we are fungi. *Nature*, 399: 737-738
- Sanders, I.R., Alt, M., Groppe, K., Bolier, T. & Wiemken, A. (1995). Identification of ribosomal DNA polymorphisms among and within spores of the Glomales: application to studies on the genetic diversity of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *New Phytologist*, 130: 419-427
- Sanders, I.R. & Fitter, A.H. (1992). The ecology and functioning of vesicular–arbuscular mycorrhizas in co-existing grassland species. I. Seasonal patterns of mycorrhizal occurrence and morphology. *New Phytologist*, 120: 517-524
- Schlesinger, W.H., Raikes, J.A., Hartley, A.E. & Cross, A.F. (1996). On the spatial patterns of soil nutrients in desert ecosystems. *Ecology*, 77: 364-374
- Schüssler, A., Schwarzott, D. & Walker, C. (2001). A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, 105: 1413-1421
- Simon, L., Bousquet, J., Lévesque, R.C. & Lalonde, M. (1993). Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature*, 363: 67-69

- Smith, S.E. & Read, D.J. (1997). *Mycorrhizal Symbiosis*. 2nd edn. UK: Academic Press.
- Smith, F.A. & Smith, S.E. (1997). Structural diversity in (vesicular) – arbuscular mycorrhizal symbiosis, *New Phytologist*, 137: 373-388
- Smith, S.E., Smith, F.A. & Jakobsen, I. (2004). Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth and total P uptake. *New Phytologist*, 162: 511-524.
- Stockey, R.A., Rothwell, G.W., Addy, H.D. & Currah, R.S. (2001). Mycorrhizal association of the extinct conifer (*Metasequoia milleri*). *Mycological Research*, 105: 202-205
- Sturmer, S.L. & Bellei, M.M. (1994). Composition and seasonal variation of spore populations of AM fungi in dune soils on the Island of Santa Catarina, Brazil. *Canadian Journal of Botany*, 72: 359-363
- Stutz, J.C. & Morton, J.B. (1996). Successive pot cultures reveal high species richness of arbuscular mycorrhizal fungi in arid ecosystems. *Canadian Journal of Botany*, 74: 1883-1889
- Taylor, J.W. (2000). A Quantile Regression Neural Network Approach to Estimating the Conditional Density of Multiperiod Returns *Journal of Forecasting* 19, pp 299-311
- Taylor, A.F.S., Martin, F. & Read, D.J. (2000). Fungal diversity in ectomycorrhizal communities of Norway spruce [*Picea abies* L. Karst.] and beech (*Fagus sylvatica* L.) along North-South transects in Europe. *Carbon and Nitrogen Cycling in European Forest Ecosystems*. Ed. E D Schulze. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany. pp 343-365
- Trappe, J.M. (1977). Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nursery. *Annual Review of Phytopathology*, 15: 203-222
- Visser, S. (1995). Ectomycorrhizal fungal succession in jack pine stands following wildfire. *New Phytologist*, 129: 389-401
- Vogt, K.A., Bloomfield, J., Ammirati, J.F. & Ammirati, S.R. (1992). Sporocarp production by basidiomycetes with emphasis on forest ecosystems. In *The fungal community* (2e édition par GC. Carroll & DT. Wicklow). M. Decker, New-York, pp 563-579

- Wagner, F., Gay, G. & Debaud, J.C. (1988). Genetic variability of glutamate dehydrogenase activity in monocaryotic and dicaryotic mycelia of the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum*. *Applied Microbiology Biotechnology*, 28: 566-576
- Wong, K.K.Y. & Fortin, J.A. (1990). Root colonization and intraspecific mycobiont variation in ectomycorrhiza. *Symbiosis*, 8: 197-231
- W.W.F. (2001) Nouvelle stratégie de conservation. Italie 15 p.

**PLANTE NURSE : VECTEUR DE PROPAGATION DE CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS
POUR OPTIMISER LES PERFORMANCES DES OPERATIONS DE REBOISEMENT AU
MAROC**

Manaut N.¹, Hafidi M.¹, Ouahmmou A.¹, Baudoin E.², Chaffii K.¹, Prin Y.³, Ouahmane L.¹,
Sanguin H.³, Galiana A.³, Boumezzough A.¹, Duponnois R.^{1,2}

¹ Laboratoire Écologie et Environnement (Unité associée au CNRST, URAC 32). Faculté des sciences Semlalia. Université Cadi Ayyad. Marrakech. Maroc.

² IRD. UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/AGRO-M/UM2. Laboratoire des symbioses tropicales et méditerranéennes (LSTM). Campus international de Baillarguet. Montpellier. France.

³ Cirad. UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/AGRO-M/UM2. Laboratoire des symbioses tropicales et méditerranéennes (LSTM). Campus international de Baillarguet. Montpellier. France.

1. INTRODUCTION

Les écosystèmes méditerranéens présentent de graves dégradations résultant de longues périodes de sécheresse, de précipitations aléatoires et d'une surexploitation des ressources naturelles (surpâturage, déforestation, etc.) (Bauer, 1991 ; Perevolotsky *et al.*, 2005). Ces altérations ont entraîné une baisse significative de la surface du couvert forestier et permis l'apparition d'une strate arbustive abondante indiquant différents niveaux de dégradation de l'écosystème (Grove et Rackham, 2001). Ces conditions environnementales entravent l'évolution spatio-temporelle normale de la strate épigée et réduisent la capacité de l'écosystème à recouvrir ses propriétés originelles (Blondel et Aronson, 1999 ; Pickett *et al.*, 2001). En conséquence, l'intervention de l'homme est généralement nécessaire pour faciliter le déroulement des différentes successions végétales et ainsi aboutir à la reconstruction du couvert arboré. Les opérations de reboisement sont fréquentes en milieu méditerranéen, mais leurs performances restent faibles du fait d'une importante mortalité au moment de la plantation (crise de transplantation) (Garcia-Salmeron, 1995 ; Ouahmane *et al.*, 2007). Les arbustes évoluant au sein de la zone à reboiser sont généralement éliminés afin d'éviter tous phénomènes de compétition avec les plants forestiers transplantés (Meson et Montoya, 1993 ; Savill *et al.*, 1997). Cependant, il a été démontré que, dans des environnements hostiles, certaines plantes pionnières ou rudérales peuvent faciliter le développement d'autres espèces végétales (Pugnaire *et al.*, 1996 ; Bellingham *et al.*, 2001). Ce type d'interactions positives (ou facilitatrices) interspécifiques a été relaté par de nombreuses études dans une large gamme de conditions montrant ainsi l'importance de ce type de processus dans la dynamique des communautés végétales, la structure de la strate épigée (diversité, abondance), etc. (Boucher, 1985 ; Callaway, 1995 ; Bertness et Leonard, 1997 ; Stachowicz, 2001). En milieu méditerranéen, les dégradations d'origine anthropique au niveau du couvert végétal engendrent des modifications dans la structure, la dynamique et la diversité spécifique de la strate épigée (Barea et Jeffries, 1995). De plus, les propriétés physico-chimiques et biologiques des sols sont fréquemment altérées (Albaladejo *et al.*, 1998 ; Requena *et al.*, 2001). Dans ces conditions, le développement des plants peut être facilité par la présence d'arbustes pionniers qui vont matérialiser autour des jeunes plants forestiers un microhabitat qui va les protéger des radiations, des variations de température et améliorer la fertilité des sols (Callaway, 1995). Ces espèces arbustives facilitent la germination et la croissance juvénile des essences forestières, plus particulièrement dans les écosystèmes de type méditerranéen (Bruno *et al.*, 2003). Ce type d'interaction a été nommé « effet plante nurse »

(nurse plant effect) (Franco et Nobel, 1989 ; Tewksbury et Lloyd, 2001 ; Scarano, 2002). De nombreuses études ont mis en exergue l'importance de ce phénomène dans les processus de recolonisation par la végétation des milieux ouverts (Guevara *et al.*, 1992 ; Callaway, 1995 ; Holl, 2002) et, plus particulièrement, lors de l'installation d'un couvert forestier sur un sol dégradé. En conséquence, il serait pertinent de gérer ce potentiel offert par la strate arbustive pionnière pour améliorer les performances des opérations de reboisement.

Les plantes nurses améliorent le développement d'autres plantes en matérialisant des microhabitats favorables à la germination des semences et/ou aux besoins des plantes. Elles améliorent les conditions environnementales (température, lumière, humidité du sol, fertilité du sol, etc.), permettant ainsi l'installation d'espèces végétales moins tolérantes aux stress d'origine abiotique (Bruno *et al.*, 2003 ; Padilla et Pugnaire, 2006). Cet effet « nurse » (ou facilitateur) est d'une importance toute particulière en milieu méditerranéen où le renforcement des processus d'érosion (hydrique et éolien) et de désertification entraîne des dysfonctionnements au niveau des activités microbiennes du sol (Garcia *et al.*, 1997). De nombreuses études ont montré que dans de telles conditions de dégradation, le potentiel mycorhizien des sols (représentant l'abondance et la diversité des propagules infectieuses de champignons mycorhiziens à arbuscule) est très faible (Duponnois *et al.*, 2001a ; Palenzuela *et al.*, 2002 ; Azcon-Aguilar *et al.*, 2003). Les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) sont considérés comme des éléments clés dans les processus biologiques régissant la durabilité des écosystèmes (van der Heijden *et al.*, 1998 ; Requena *et al.*, 2001 ; Schreiner *et al.*, 2003 ; Caravaca *et al.*, 2005), plus particulièrement dans les écosystèmes arides et semi-arides (Carpenter et Allen, 1988 ; Requena *et al.*, 2001). Cette association symbiotique plante/champignon mobilise et achemine des nutriments (ex. : N, P) jusqu'à la plante, améliore l'agrégation du sol (Querejeta *et al.*, 1998 ; Caravaca *et al.*, 2002) et minimise l'impact du stress hydrique sur la croissance de la plante (Augé, 2001).

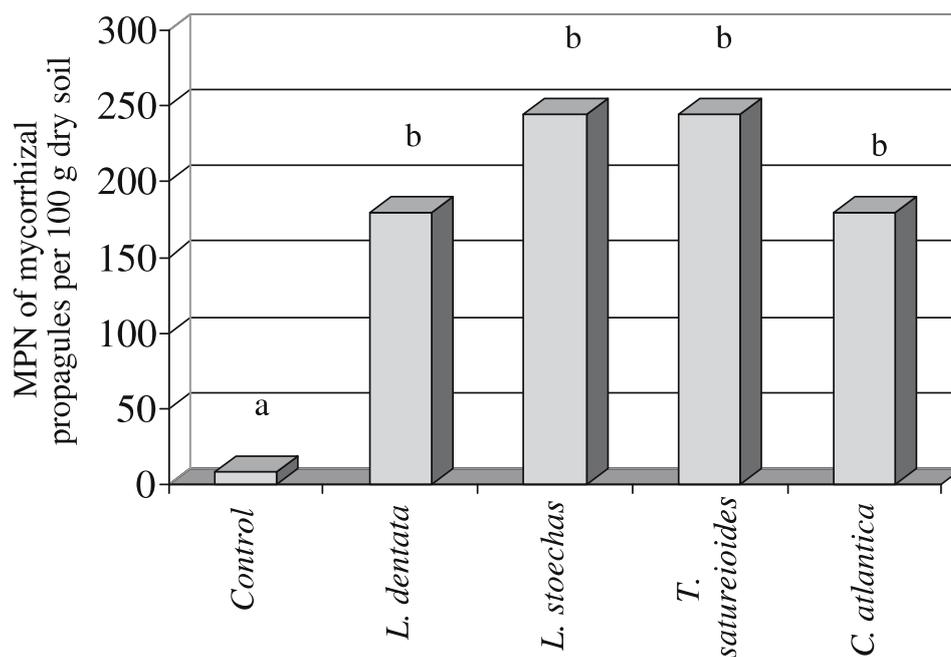
Ce chapitre a pour principal objectif de répertorier les exemples de valorisation de l'effet « plante nurse » dans des opérations de réhabilitation de formations forestières méditerranéennes en insistant plus particulièrement sur l'impact de ces espèces végétales au niveau des caractéristiques microbiennes telluriques et du potentiel infectieux mycorhizogène.

2. SELECTION DES PLANTES NURSES

Des enquêtes en milieu naturel doivent être réalisées afin de sélectionner les espèces végétales susceptibles de promouvoir la croissance (et plus particulièrement la croissance juvénile) des essences forestières ciblées. Comme il l'a été souligné précédemment, les dégradations du milieu se manifestent en particulier par une baisse significative de l'abondance et de la diversité des propagules mycorhiziennes entraînant une réduction du potentiel infectieux mycorhizogène du sol (Jasper *et al.*, 1991 ; Herrera *et al.*, 1993 ; Mc Lellan *et al.*, 1995). Ce déficit en propagules mycorhiziennes peut freiner le déroulement du processus de revégétalisation, qu'il soit naturel ou artificiel (Requena *et al.*, 2001). Au niveau des schémas de revégétalisation du milieu couplés à une amélioration de l'abondance des propagules mycorhiziennes, deux stratégies principales peuvent être envisagées : (i) soit une inoculation en masse par des symbiotes préalablement sélectionnés pour un paramètre donné (ex. : effet fongique sur la croissance de la plante) au cours de la phase d'élevage en pépinière (Duponnois *et al.*, 2005), et/ou (ii) soit une gestion du potentiel infectieux mycorhizogène résiduel *via* des espèces végétales tolérantes aux stress environnementaux (ex. : plantes pionnières), natives du milieu à réhabiliter et hautement mycotrophiques (Duponnois *et al.*, 2001b ; Azcon-Aguilar *et al.*, 2003). Les écosystèmes méditerranéens dégradés présentent une couverture végétale hétérogène formée par des poches de végétation (ou patches). Ces taches de végétation constituent des îlots de fertilité (fertility islands' (Garner et Steinberger, 1989 ; Schlesinger *et al.*, 1996) qui peuvent promouvoir le développement de différentes espèces végétales natives du milieu (Callaway, 1995, 1997). Certaines plantes méditerranéennes présentent une grande dépendance mycorhizienne et ont la faculté de promouvoir la multiplication des propagules mycorhiziennes dans le sol (Azcon-Aguilar *et al.*, 2003). Les légumineuses sont généralement considérées comme potentiellement « nurses » dans les milieux arides et semi-arides pour faciliter la survie et le développement de certaines essences forestières en améliorant la teneur en azote des sols mais également, du fait de leur haute mycotrophie, en contribuant au maintien du potentiel mycorhizien (Duponnois *et al.*, 2001b). Au Maroc, plusieurs études ont montré que les caractéristiques microbiologiques et chimiques des sols étaient favorablement influencées par des espèces arbustives telles que *Lavandula* spp. ou *Thymus satureioides* au sein d'une formation dégradée de *Cupressus atlantica* (Ouahmane *et al.*, 2006). En comparant ces données avec celles d'un sol nu (non recouvert par la végétation), les résultats montrent que le potentiel mycorhizien est beaucoup plus élevé dans le sol issu de ces poches de végétation colonisées par les espèces arbustives

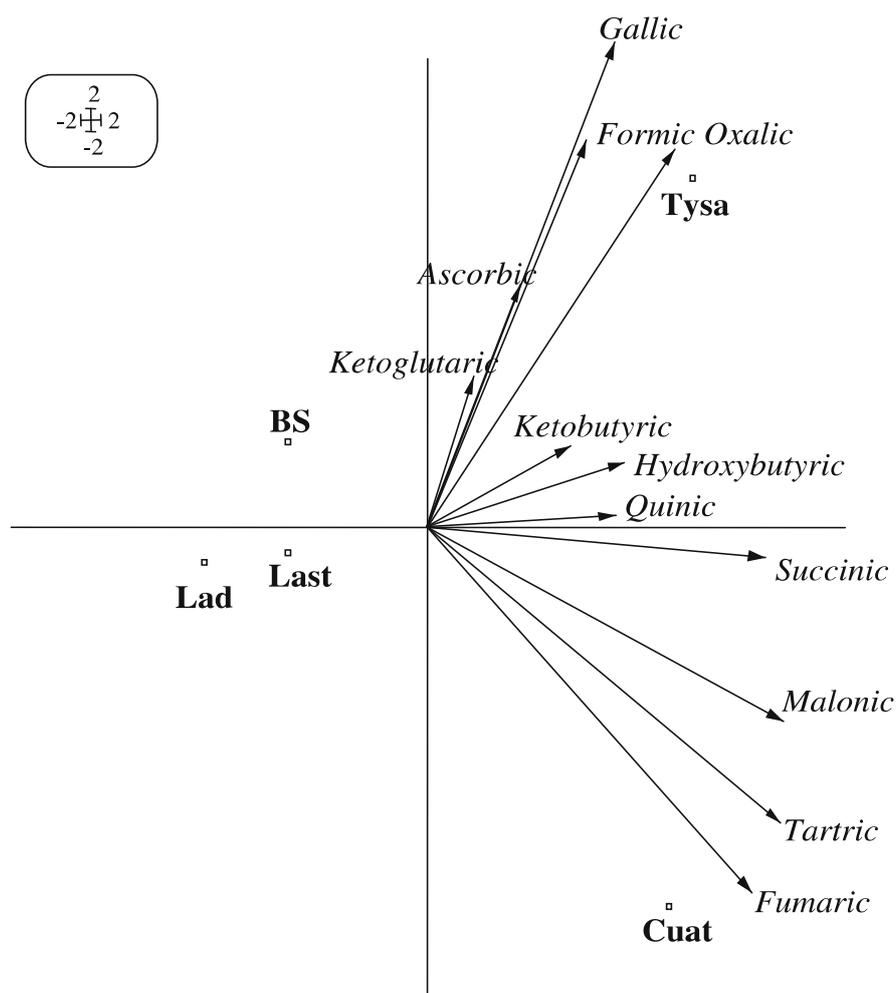
étudiées. Ces observations confirment les résultats de travaux antérieurs montrant que, en milieu méditerranéen, la majeure partie des espèces végétales sont hautement mycotrophes (Requena *et al.*, 1996, 1997). Azcon et Barea (1997) ont montré que les racines de lavande sont infectées par des CMA et que cette plante présente une dépendance mycorhizienne élevée. La lavande a été classée comme « mycorhizienne obligatoire » (Brundrett, 1991) ou comme « hautement dépendante de la symbiose mycorhizienne » (Habte et Manjunath, 1991). Les caractéristiques microbiennes du sol influencé par les plantes nurses sont significativement différentes de celles du sol nu. L'essence forestière (*Cupressus atlantica*) et les 3 espèces arbustives potentiellement facilitatrices stimulent la multiplication des propagules fongiques mycorhiziennes dans le sol. Le potentiel infectieux mycorhizogène (PIM) est en conséquence plus élevé sous les espèces végétales étudiées (fig. 1). Le nombre probable de propagules mycorhiziennes pour 100 g de sol est compris entre 7,82 (sol nu), 179,7 (*L. dentata* et *C. atlantica*) et 244,5 (*L. stoechas* et *T. satureioides*).

Figure 1. Nombre le plus probable de propagules mycorhiziennes dans les sols prélevés sous les espèces de plantes étudiées et dans le sol nu (témoin). Les colonnes indexées par une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p < 0,05$). D'après Ouahmane *et al.* (2006).



Dans le sol, les CMA se trouvent sous forme de spores, d'hyphes ou de fragments de racines mycorhizées. Toutes ces propagules sont considérées comme des sources d'inoculum fongique (Duponnois *et al.*, 2001a). De plus, la diversité fonctionnelle de la microflore tellurique est variable selon l'origine du sol comme le montre clairement la figure 2.

Figure 2. Analyse inter-groupe des résultats de la respirométrie induite par différents substrats organiques réalisée dans les sols prélevés sous les espèces de plantes étudiées et dans le sol nu (témoin). *L. stoechas* (Last), *L. dentata* (Lade), *T. satureioides* (Tysa), *C. atlantica* (Cuat), et sol nu (BS). D'après Ouahmane *et al.* (2006).



Les échantillons de sol analysés peuvent être répartis suivant 3 groupes allant du sol prélevé sous *Thymus* (haut, droite), sous *Cupressus* (bas, droite), et le sol nu (témoin) et ceux sous *Lavandula* (gauche). Les acides organiques pouvant être catabolisés par la microflore présente dans le sol sous *Cupressus* sont les acides fumarique, tartrique et malonique, alors que dans le sol sous *Thymus*, les acides majoritairement catabolisés sont les acides gallique, formique et oxalique. Dans le sol nu et ceux prélevés sous *Lavandula*, les acides organiques testés (6) sont catabolisés dans une moindre mesure que dans les autres sols (fig. 2). Ce type d'étude a aussi été réalisée avec le caroubier (*Ceratonia siliqua*) et *Retama sphaerocarpa*, une légumineuse arbustive fréquemment observée dans les régions méditerranéennes en climat semi-aride (fig. 3). Cette légumineuse développe un système racinaire profond (Haase *et al.*, 1996) et fixe l'azote atmosphérique *via* la symbiose avec *Rhizobium* (Espigares *et al.*, 2004). Les résultats corroborent ceux obtenus avec *Lavandula* spp., *T. saturoioides* et *C. atlantica* puisque les teneurs en N, P et C sont supérieures dans le sol influencé par *R. sphaerocarpa* comparé au sol nu (tabl. 1).

3. L'EFFET « PLANTE NURSE » ET LE DÉVELOPPEMENT JUVENILE DES ESSENCES FORESTIÈRES MEDITERRANEENNES

3.1. EXPERIENCES EN SERRE

Des études ont été réalisées en conditions contrôlées afin de déterminer l'impact de certaines espèces arbustives sur la croissance juvénile de plusieurs essences forestières méditerranéennes telles que *Cupressus atlantica*, *Ceratonia silica* et *Acacia raddiana*. Ouahmane *et al.* (2006) ont montré que la hauteur, le diamètre au collet, les teneurs en N, P et K des feuilles, l'intensité de mycorhization des racines de jeunes plantules de *C. atlantica* étaient significativement plus élevés lorsque les semis de *C. atlantica* étaient plantés dans des sols prélevés sous *T. saturoioides*, *Lavandula* spp., et *C. atlantica* que dans le sol nu après 6 mois de culture en serre (tabl. 1). Concernant les croissances aérienne et racinaire, un effet positif des sols prélevés sous les espèces précédemment citées a également été observé (tabl. 1). Le développement des plants de caroubier a également été stimulé par le sol collecté sous *Retama* sp. (fig. 4) (données non publiées). En testant des sols prélevés sous différentes espèces arbustives des zones arides du Sud marocain, l'effet nurse a également été mesuré sur le développement de *A. raddiana* en conditions contrôlées (données non publiées).

Figure 3. Quelques plantes nurses méditerranéennes. (A) *Lavandula* sp., (B) *Retama* sp., (C) *Artemisia alla*, (D) *Ononix natrix*, (E) *Haloxylon scoparium*, (F) *Farsetia aegyptiaca*. Photos : M. Hafidi.

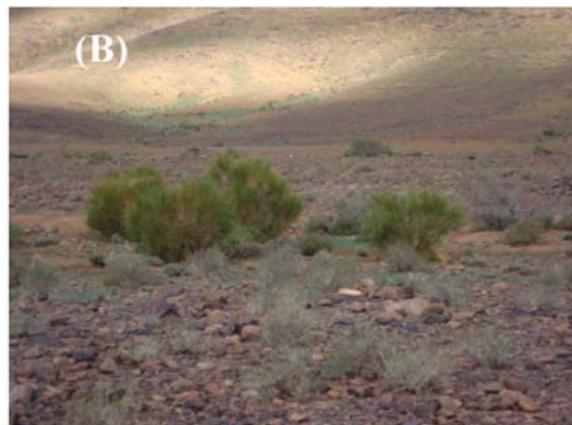


Tableau 1. Croissance et colonisation mycorhizienne des plants de *C. atlantica* se développant dans des sols collectés sous *L. dentata*, *L. stoechas*, *T. saturoioides*, *C. atlantica* et dans un sol nu après 6 mois de plantation en serre. D'après Ouahmane *et al.* (2006).

	Témoïn	Espèces végétales			
		<i>L. dentata</i>	<i>L. stoechas</i>	<i>T. saturoioides</i>	<i>C. atlantica</i>
Hauteur (cm)	14,2 a ⁽¹⁾	18,6 b	21,0 cd	23,0 d	19,4 bc
Diamètre au collet (mm)	2,02 a	2,72 bc	2,72 bc	2,94 c	2,54 b
Biomasse aérienne (mg poids sec)	330 a	634 bc	738 c	666 bc	486 ab
Biomasse racinaire (mg poids sec)	76 a	176 c	157 bc	115 abc	104 ab
N (mg par plant)	0,785 a	1,559 b	1,823 c	2,029 d	1,480 b
P (mg par plant)	0,033 a	0,107 c	0,115 c	0,147 d	0,090 b
K (mg par plant)	3,71 a	9,54 b	26,53 c	25,16 c	8,58 b
Colonisation mycorhizienne (%)	35 a	48 b	50 b	75 c	54 b

⁽¹⁾ Les données d'une même ligne suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes d'après l'analyse de variance à un facteur contrôlé ($p < 0,05$).

Figure 4. Effet des sols prélevés sous *Retama* sp. et dans une zone sans végétation sur la croissance du caroubier après 4 mois de culture. Photo Manaut 2007.



3.2. EXPERIENCES AU CHAMP

L'effet facilitateur de quelques espèces arbustives sur des essences forestières méditerranéennes a été essentiellement étudié en conditions contrôlées mais, à notre connaissance, peu de données sont disponibles sur ce type d'interaction entre plantes en milieu naturel et en milieu méditerranéen. Une expérience en milieu naturel a été réalisée dans le Haut Atlas marocain afin de tester l'hypothèse que l'association plante nurse/essence forestière améliorerait la croissance de l'espèce forestière, mais également des caractéristiques microbiennes du sol de plantation et du PIM comparé aux performances des itinéraires sylvicoles classiques (Duponnois *et al.*, 2011). Après 2 années de plantation, les résultats montrent que le dispositif associant les 2 espèces végétales améliore la croissance des plants de *C. atlantica* et les caractéristiques microbiennes telluriques. Le réseau mycélien formé par les CMA, l'activité microbienne totale, l'activité deshydrogénase, l'abondance des bactéries solubilisatrices de phosphates inorganiques et la nutrition en N et P des plants de *C. atlantica*, sont significativement plus élevés en présence de *L. stoechas* que dans les autres traitements (tabl. 2). En conséquence, une plante nurse comme *L. stoechas* peut stimuler le développement de jeunes plants de cyprès en améliorant les caractéristiques microbiennes et le PIM du sol.

4. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'ensemble des résultats présentés dans ce chapitre montre que les plantes nurses offrent un réel potentiel pour améliorer les performances des opérations de reboisement dans des conditions environnementales diverses du paysage méditerranéen (tabl. 3). Cependant des expériences complémentaires doivent être réalisées afin d'évaluer l'effet nurse sur des durées de plantation plus longues, mais les informations scientifiques acquises restent pertinentes du fait que les principales limites des programmes de reboisement et des processus de régénération naturelle sont principalement observées au cours des premières années de plantation (Herrera *et al.*, 1994). Comme la plupart de ces espèces arbustives sont capables d'améliorer la croissance juvénile et la survie de jeunes plants forestiers, cette technique pourrait être utilisée pour optimiser des programmes de reboisement à objectifs multiples. L'introduction des plantes nurses dans les itinéraires sylvicoles peut être entreprise suivant deux phases successives en simulant les événements naturels à savoir, (i) la plantation d'espèces végétales susceptible de protéger les jeunes plants forestiers des radiations (effet physique), des variations de température (effet tampon) et de leur assurer un environnement tellurique favorable (PIM élevé, activités microbiennes élevées, etc.) et (ii) l'utilisation d'autres espèces végétales supportant l'impact du pâturage et ainsi minimiser l'impact du bétail sur le développement des jeunes plants forestiers.

En prenant en considération les résultats présentés dans ce chapitre, il est recommandé de ne pas éliminer totalement la strate arbustive présente sur le milieu à reboiser, comme il est couramment pratiqué dans les itinéraires sylvicoles classiques. De plus, et comme l'effet « nurse » se manifeste d'autant plus que les conditions environnementales sont hostiles au bon développement des essences forestières, cette pratique culturelle associant la plante nurse et l'essence forestière doit être encouragée dans un contexte de variation climatique future sur le pourtour du milieu méditerranéen (IPCC, 2001).

Tableau 2. Caractéristiques biochimiques des sols et teneurs en azote et en phosphore des feuilles dans les traitements (i) plants de *C. atlantica* non inoculés et (ii) plants de *C. atlantica* associé à *L. stoechas*.

	Non inoculé	Associé à <i>L. stoechas</i>
Teneur en N des feuilles (g g ⁻¹ poids sec)	4,76 (0,32) ⁽¹⁾ a ⁽²⁾	6,25 (0,19) b
Teneur en P des feuilles (g g ⁻¹ poids sec)	0,343 (0,028) a	0,415 (0,036) b
Activité microbienne totale (mg de fluorescein diacetate hydrolyse h ⁻¹ g ⁻¹ de sol)	12,4 (0,33) a	23,2 (2,5) b
Activité dehydrogénase (mg INTF g ⁻¹ sol h ⁻¹)	36,9 (1,69) a	51,9 (6,5) b

⁽¹⁾ Erreur standard de la moyenne. ⁽²⁾ Les données d'une même ligne suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes d'après le test de Newman Keul (p < 0,05).

Tableau 3. Liste des espèces nurses préconisées pour la régénération naturelle de certaines essences forestières au Maroc.

ARBRES	<i>Acacia raddiana</i>	<i>Rhus tripartitum</i>	<i>Pistacia atlantica</i>	<i>Pinus halepensis</i>	<i>Quercus rotundifolia</i>	<i>Fraxinus dimorpha</i>	<i>Juniperus phoenicea</i>	<i>Juniperus thurifera</i>
ESPECES NURSES								
<i>Adenocarpus anagyriifolius</i> var. <i>leiocarpus</i>					X	X	X	
<i>Adenocarpus bacquei</i>				X	X	X	X	
<i>Alyssum spinosum</i>					X	X		X
<i>Anarrhinum fruticosum</i> ssp. <i>demnatense</i>				X	X	X	X	
<i>Anvillea radiata</i>	X	X						
<i>Arenaria pungens</i> ssp. <i>parviflora</i>								X
<i>Artemisia atlantica</i> ssp. <i>maroccana</i>				X	X	X	X	
<i>Artemisia inculta</i>			X	X			X	
<i>Artemisia mesatlantica</i>					X	X	X	
<i>Artemisia negrei</i>					X	X		X
<i>Astragalus armatus</i> ssp. <i>tragacanthoides</i>							X	
<i>Atriplex halimus</i>			X				X	
<i>Berberis hispanica</i>					X	X		X
<i>Bupleurum atlanticum</i>					X	X	X	
<i>Bupleurum spinosum</i>					X	X	X	X
<i>Buxus balearica</i>					X	X	X	
<i>Calligonum comosum</i>	X	X						
<i>Carthamus fruticosus</i>			X	X	X	X	X	
<i>Chamaerops argentea</i>			X				X	
<i>Convolvulus trabutianus</i>		X	X					

<i>Cytisus balansae</i>					X	X		X
<i>Erinacea anthyllis</i>								X
<i>Genista demnatensis</i>				X	X	X	X	
<i>Genista retamoides</i>				X			X	
<i>Genista scorpius</i> ssp. <i>myriantha</i>				X	X	X	X	
<i>Globularia nainii</i>				X			X	
<i>Marrubium litardierei</i>					X	X		X
<i>Ononis angustissima</i>			X	X			X	
<i>Ononis antiquorum</i>					X	X		
<i>Ononis atlanticum</i>					X	X	X	
<i>Ormenis scariosa</i>					X	X	X	
<i>Panicum turgidum</i>	X							
<i>Pennisetum dichotomum</i>	X							
<i>Prunus prostrata</i>					X	X		X
<i>Retama dasycarpa</i>	X		X					
<i>Retama raetam</i>	X							
<i>Retama sphaerocarpa</i>			X				X	
<i>Ribes uva-crispa</i>					X	X		X
<i>Santolina rosmarinifolia</i> var. <i>canescens</i>				X	X	X	X	
<i>Stipa tenacissima</i>			X	X			X	
<i>Teucrium malenconianum</i>				X			X	
<i>Thymus commutatus</i>				X			X	
<i>Vella mairei</i>								X
<i>Ziziphus lotus</i>	X	X	X					

6. RÉFÉRENCES

Albaladejo, J., Martinez-Mena, M., Roldan, A. & Castillo, V. (1998). Soil degradation and desertification induced by vegetation removal in a semiarid environment. *Soil Use and Management*, 14: 1-5

- Augé, R.M. (2001). Water relations, drought and vesicular- arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11: 3-42
- Azcon, R. & Barea, J.M. (1997). Mycorrhizal dependency of a representative plant species in mediterranean shrublands (*Lavandula spica* L.) as a key factor to its use for revegetation strategies in desertification-threatened areas. *Applied Soil Ecology*, 7: 83-92
- Azcon-Aguilar, C., Palenzuela, J., Roldan, A., Bautista, S., Vallejo, R. & Barea, J.M. (2003). Analysis of the mycorrhizal potential in the rhizosphere of representative plant species from desertification-threatened Mediterranean shrublands. *Applied Soil Ecology*, 14: 165-175
- Barea, J.M. & Jeffries, P. (1995). Arbuscular mycorrhizas in sustainable soil plant systems. In: Hock B. and Varma A. (eds.), *Mycorrhiza Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology.*, Springer-Verlag, Heidelberg, pp. 521-559
- Bauer, E. (1991). *Los montes de Espana en la historia*. Second edition. Ministerio de Agricultura y Pesca, Madrid. Spain.
- Bellingham, P.J., Walker, L.R. & Wardle, D.A. (2001). Differential facilitation by a nitrogen-fixing shrub during primary succession influences relative performance of canopy tree species. *Journal of Ecology*, 89: 861-875
- Bertness, M.D. & Leonard, G.H. (1997). The role of positive interactions in communities: lessons from intertidal habitats. *Ecology*, 78: 1976-1989
- Blondel, J. & Aronson, J. (1999). *Biology and wildlife in the Mediterranean region*. Oxford University Press. Oxford. UK
- Boucher, D.H. (1985). The idea of mutualism, past and future. In: *The Biology of Mutualism: Ecology and Evolution* (Boucher DH, ed.), pp. 1-27, Oxford University Press
- Brundrett, M.C. (1991). Mycorrhizas in natural ecosystems. In: Macfayden A, Begon M, Fitter AH (eds), *Advances in Ecological Research*, Vol. 21. Academic Press Ltd., London, pp. 171 –313.
- Bruno JF, Stachowicz JJ, Bertness MD (2003) Inclusion of facilitation into ecological theory. *TRENDS in Ecology and Evolution*, 18: 119-125
- Bruno, J.F., Stachowicz, J.J. & Bertness, M.D. (2003). Inclusion of facilitation into ecological theory. *Trends in Ecology & Evolution*, 18 : 119-125.

- Callaway, R. (1995). Positive interactions among plants. *Botanical Review*, 61: 306-349
- Callaway, R.M. (1997). Positive interactions in plant communities and the individualistic-continuum concept. *Oecologia*, 112: 143-149
- Caravaca, F., Barea, J.M., Figueroa, D. & Roldan, A. (2002). Assessing the effectiveness of mycorrhizal inoculation and soil compost addition for reafforestation with *Olea europaea* subsp. *sylvestris* through changes in soil biological and physical parameters. *Applied Soil Ecology*, 20: 107-118
- Caravaca, F., Alguacil, M.M., Barea, J.M. & Roldan, A. (2005). Survival of inocula and native AM fungi species associated with shrubs in a degraded Mediterranean ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry*, 37: 227-233
- Carpenter, A.T. & Allen, M.F. (1988). Responses of *Hedysarum boreale* Nutt. to mycorrhizas and Rhizobium: plant and soil nutrient changes in a disturbed shrub-steppe. *New Phytologist*, 109: 125-132
- Duponnois, R., Plenchette, C., Thioulouse, J. & Cadet, P. (2001a). The mycorrhizal soil infectivity and arbuscular mycorrhizal fungal spore communities in soils of different aged fallows in Senegal. *Applied Soil Ecology*, 17: 239-251
- Duponnois, R., Plenchette, C. & Bâ, A.M. (2001b). Growth stimulation of seventeen fallow leguminous plants inoculated with *Glomus aggregatum* in Senegal. *European Journal of Soil Biology*, 37: 181-186
- Duponnois R, Founoune H, Masse D, Pontanier R (2005) Inoculation of *Acacia holosericea* with ectomycorrhizal fungi in a semiarid site in Senegal: growth response and influences on the mycorrhizal soil infectivity after 2 years plantation. *Forest Ecology and Management* 207: 351-362
- Duponnois, R., Ouahmane, L., Kane, A., Thioulouse, J., Hafidi, M., Boumezzough, A., Prin, Y, Baudoin, E., Galiana, A. & Dreyfus, B. (2011). Nurse shrubs increased the early growth of Cupressus seedlings by enhancing belowground mutualism and microbial soil functionalities. *Soil Biology & Biochemistry*, 43: 2160-2168
- Espirages, T., Lopez-Pintor, A. & Rey Benayas, J.M. (2004). Is the interaction between *Retama sphaerocarpa* and its understorey herbaceous vegetation always reciprocally

- positive? Competition-facilitation shift during *Retama* establishment. *Acta Oecologica*, 26: 121-128
- Franco, A.C. & Nobel, P.S. (1989). Effect of nurse plants on the microhabitat and growth of cacti. *Journal of Ecology*, 77: 870-886
- Garcia, C., Roldan, A. & Hernandez, T. (1997). Changes in microbial activity after abandonment of cultivation in a semi-arid Mediterranean environment. *Journal of Environment Quality*, 26: 285-291
- Garcia-Salmeron, J. (1995). Manual de repoblaciones forestales II. Escuela Tecnica Superior de Ingenieros de Montes, Madrid, Spain
- Garner, W. & Steinberger, Y. (1989). A proposed mechanism for the formation of fertile islands in the desert ecosystem. *Journal of Arid Environment*, 16: 257-262
- Gomez-Aparicio, L., Zamora, R., Gomez, J.M., Hodar, J.A., Castro, J. & Baraza, E. (2004). Applying plant facilitation to forest restoration: a meta-analysis of the use of shrubs as nurse plants. *Ecological Applications*, 4: 1128-1138
- Grove, A.T. & Rackham, O. (2001). The nature of Mediterranean Europe: an ecological history. Yale University Press, London, UK.
- Guevara, S., Meave, J., Moreno-Casasola, P. & Laborde, J. (1992). Floristic composition and structure of vegetation under isolated trees in pastures in a tropical rainforest. *Conservation Biology*, 14: 1693-1703
- Haase, P., Pugnaire, F.I., Fernandez, E.M., Puigdefabregas, J., Clark, S.C. & Incoll, L.D. (1996). Investigation of rooting depth in the semi-arid shrub *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss. by labeling of ground water with a chemical tracer. *Journal of Hydrology*, 170: 23-31.
- Habte, M. & Manjunath, A. (1991). Categories of vesicular-arbuscular mycorrhizal dependency of host species. *Mycorrhiza*, 1: 3-12
- Herrera, M.A., Salamanca, C.P. & Barea, J.M. (1993). Inoculation of woody legumes with selected arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia to recover desertified Mediterranean ecosystems. *Applied Environmental Microbiology*, 59: 129-133

- Herrera, C.M., Jordano, P., Lopez-Soria, L & Amat, J.A. (1994). Recruitment of a mast-fruited, bird-dispersed tree: bridging frugivore activity and seedling establishment. *Ecological monographs*, 64: 315-344.
- Holl, K.D. (2002). Effect of shrubs on tree seedling establishment in an abandoned tropical pasture. *Journal of Ecology*, 90: 179-187
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 2001. *Climate Change 2001: third assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (WG I & II)*. Cambridge University Press, Cambridge, UK
- Jasper, D.A., Abbot, L.K. & Robson, A.D. (1991). The effect of soil disturbance on vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soils from different vegetation types. *New Phytologist*, 118: 471-476
- Mc Lellan, A.J., Fitter, A.H. & Law, R. (1995). On decaying roots, mycorrhizal colonization and the design of removal experiments. *Journal of Ecology*, 83: 225-230
- Meson, M. & Montoya, M. (1993). *Selvicultura mediterranea*. Mundi Prensa. Madrid. Spain
- Ouahmane, L., Duponnois, R., Hafidi, M., Kisa, M., Boumezzough, A., Thioulouse, J. & Plenchette, C. (2006). Some Mediterranean plant species (*Lavandula* spp. and *Thymus satureioides*) act as potential "plant nurses" for the early growth of *Cupressus atlantica*. *Plant Ecology*, 185:123-134.
- Ouahmane, L., Hafidi, M., Thioulouse, J., Ducouso, M., Kisa, M., Prin, Y., Galiana, A., Boumezzough, A. & Duponnois, R. (2007). Improvement of *Cupressus atlantica* Gaussen growth by inoculation with native arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Applied Microbiology*, 103: 683-690
- Padilla, F.M. & Pugnaire, F.I. (2006). The role of nurse plants in the restoration of degraded environments. *Frontiers in Ecology and Environment*, 4: 196-202
- Palenzuela, J., Azcon-Aguilar, C., Figueroa, D., Caravaca, F., Roldan, A. & Barea, J.M. (2002). Effects of mycorrhizal inoculation of shrubs from Mediterranean ecosystems and composted residue application on transplant performance and mycorrhizal developments in a desertified soil. *Biology and Fertility of Soils*, 26: 170-175

- Perevolotsky, A., Shachak, M. & Pickett, S.T.A. (2005). Management for biodiversity: Human and landscape effects on dry environments. In: Biodiversity in Drylands: Towards a Unified Framework, Shachak M, Gosz JR, Pickett STA, Perevolotsky A (eds). Oxford University Press: New York; 286-304
- Pickett, S.T.A., Cadenasso, M.I. & Bartha, S. (2001). Implications from the Buell-Small succession study for vegetation restoration. *Applied Vegetation Science*, 4: 41-52
- Pugnaire, F.I., Haase, P. & Puigdefabregas, J. (1996). Facilitation between higher plant species in a semiarid environment. *Ecology*, 77: 1420-1426
- Querejeta, J.I., Roldan, A., Albaladejo, J. & Castillo, V. (1998). The role of mycorrhizae, site preparation, and organic amendment in the afforestation of a semi-arid Mediterranean site with *Pinus halepensis*. *Forest Science*, 43: 203-211
- Requena, N., Jeffries, P. & Barea, J.M. (1996). Assessment of natural mycorrhizal potential in a desertified semiarid ecosystem. *Applied Environmental Microbiology*, 62: 842-847
- Requena, N., Jimenez, I., Toro, M. & Barea, J.M. (1997). Interactions between plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR), arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium* spp. in the rhizosphere of *Anthyllis cytisoides*, a model legume for revegetation in Mediterranean semiarid ecosystems. *New Phytologist*, 136: 667-677
- Requena, N., Perez-Solis, E., Azcon-Aguilar, C., Jeffries, P. & Barea, J.M. (2001) Management of indigenous plant-microbe symbioses aids restoration of desertified ecosystems. *Applied Environmental Microbiology*, 67: 495-498
- Savill, P., Evans, J., Auclair, D. & Falck, J. (1997). *Plantation silviculture in Europe*. Oxford University Press. Oxford. UK
- Scarano, F.R. (2002). Structure, function and floristic relationships of plant communities in stressful habitats marginal to the Brazilian Atlantic Rainforest. *Annals of Botany*, 90: 517-524
- Schlesinger, W.H., Raikes, J.A., Hartley, A.E. & Cross, A.F. (1996). On the spatial pattern of soil nutrients in desert ecosystems. *Ecology*, 7: 364-374
- Schreiner, R.P., Mihara, K.L., Mc Daniel, H. & Bethenfalvay, G.J. (2003). Mycorrhizal fungi influence plant and soil functions and interactions. *Plant and Soil*, 188: 199-209

- Stachowicz, J.J. (2001). Mutualism, facilitation, and the structure of ecological communities. *Bioscience*, 51: 235-246
- Tewksbury, J.J. & Lloyd, J.D. (2001). Positive interactions under nurse-plants: spatial scale, stress gradients and benefactor size. *Oecologia*, 127: 425-434
- van der Heijden, M.G.A., Klironomos, J.N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Wiemken, A. & Sanders, I.R. (1998). Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity ecosystem variability and productivity. *Nature*, 396: 69-72

PARTIE 3

SYMBIOSE MYCORHIZIENNE ET ECOSYSTEMES INSULAIRES

CHAPITRE 1

**SYMBIOSE MYCORHIZIENNE ET ECOSYSTEMES
INSULAIRES**

EXEMPLES D'ETUDES REALISEES A MADAGASCAR

**COMMUNAUTÉS MYCORHIZIENNES : STRUCTURE ET FONCTIONNEMENT SELON
L'ÉTAT DE DÉGRADATION DES ÉCOSYSTÈMES FORESTIERS DU HAUT PLATEAU
ET DE LA RÉGION EST DE MADAGASCAR**

Par Ramanankierana H.¹, Randriambanona H.¹, Baohanta R. H.^{1, 2}, Sanon A.³,
Andrianandrasana D. M.², Rajaonarimamy E.², Duponnois R.⁴

¹ Laboratoire de microbiologie de l'environnement. Centre national de recherches sur l'environnement. Antananarivo. Madagascar

² Laboratoire de biotechnologie. Microbiologie, département de Biochimie fondamentale et appliquée. Université d'Antananarivo, Madagascar

³ IRD. Laboratoire commun de microbiologie IRD/Isra/Ucad. Centre de recherche de Bel Air. Dakar. Sénégal

⁴ IRD. UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/AGRO-M/UM2. Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (LSTM). Campus International de Baillarguet. Montpellier. France.

1. INTRODUCTION

Madagascar est classé parmi les pays qualifiés de « hottest-hotspots » de biodiversité (Myers *et al.*, 2000 ; Mittermeier *et al.*, 2004) grâce à son taux d'endémisme avoisinant 80 % pour la faune et la flore (Goodman et Benstead, 2003). Durant ces dernières années, une vitesse alarmante de dégradation de la couverture forestière menace cette diversité unique au monde. Entre 2000 et 2005, la Grande Île a perdu 236 560 ha de forêts avec un taux de déforestation de 0,53 % par an (MEFT, USAID et CI, 2009). Vers la fin de l'année 2005, la couverture forestière malgache n'était plus que de 9 216 617 ha (Rasolohery *et al.*, 2007), soit 15 % du territoire.

Depuis plusieurs décennies, la majorité des études sur la forêt et les écosystèmes forestiers sont focalisées essentiellement sur l'inventaire biologique à Madagascar (Goodman et Razafindratsita, 2001 ; Rakotondrainibe, 2002 ; Phillipson *et al.*, 2006). Peu d'études traitent ainsi le fonctionnement et la dynamique des écosystèmes impliquant les microorganismes du sol. Particulièrement pour les champignons mycorrhiziens, bien que leur présence au sein de la flore de Madagascar ait déjà été signalée (Heims, 1937 ; Ducouso *et al.*, 2004), les travaux de recherche visant à comprendre l'implication de ces microorganismes symbiotiques dans la conservation des ressources forestières malgaches n'ont commencé que vers les années 2000 (Ramanankierana *et al.*, 2007 ; Ducouso *et al.*, 2008). Pourtant, il a déjà été clairement démontré que la gestion de la symbiose ectomycorhizienne associée aux espèces forestières indigènes, grâce à son impact sur le développement de la plante hôte et sur certaines caractéristiques physico-chimiques du sol pourrait faciliter la recolonisation du milieu par ces arbres et ainsi, outre la préservation d'essences ligneuses surexploitées, réhabiliter ces sols dégradés (Duponnois *et al.*, 2001, 2005 ; Founoune *et al.*, 2002).

Ce chapitre se propose de présenter les principaux résultats obtenus à Madagascar relatifs (i) à la description du statut symbiotique des espèces d'arbres et d'arbustes natives de la région orientale et centrale de Madagascar, (ii) à l'importance des arbustes ectotrophes (*Leptolaena bojeriana* et *Sarcolaena oblongifolia* F. Gérard) sur la régénération des espèces ligneuses endémiques des hauts plateaux malgaches, (iii) aux impacts de la prolifération d'une espèce exotique *Grevillea banksii* sur le fonctionnement des symbiotes fongiques associés à *Dalbergia trichocarpa*, un arbre de valeur socio-économique et environnementale endémique malgache.

2. LES ECOSYSTEMES FORESTIERS ETUDIES

Les résultats présentés dans ce chapitre ont été obtenus dans deux types d'écosystèmes forestiers malgaches situés respectivement sur le haut plateau et dans la forêt orientale de basse altitude.

Les hauts plateaux malgaches sont caractérisés par une grande étendue de formations herbeuses, classifiée par Humbert et Cours Darne (1965), de savane et de savane arborée. À part quelques lambeaux forestiers souvent isolés dans des endroits loin des habitations, les forêts naturelles y sont rares. Par contre, des formations forestières naturelles restent encore éparpillées dans différents endroits de la partie orientale de Madagascar. Toutes ces catégories de forêts naturelles subissent pourtant des pressions d'origine différente dont les plus connus proviennent des activités humaines (feux de brousse, culture sur abatis brûlés, exploitation illicite des arbres...).

2.1. LA FORET SCLEROPHYLLE A TAPIA DU HAUT PLATEAU MALGACHE

C'est une forêt basse sclérophylle des pentes occidentales (Humbert et Cours Darne, 1965). Elle couvre une superficie de 1 319 km², une surface qui a diminué de 43 % depuis les années 1970 (Moat et Smith, 2007). Cette formation forestière est localisée sur les pentes occidentales des hauts plateaux sur une altitude de 800 à 1 300 m où la saison sèche dure jusqu'à sept mois. Elle repose sur du grès et du socle avec gneiss, quartzite, schiste.

Cette formation végétale présente une canopée sempervirente d'une hauteur de 6 à 10 m constituée par *Uapaca bojeri* (Euphorbiaceae) avec un sous-bois constitué de buissons éricoïdes (*Erica* aff. *gracilis*, *E. cryptoclada* (Baker) Dorr & E.G.H. Oliv., *Erica trichoclada* Guthrie & Bolus) et une strate herbacée dominée par des graminées (*Aristida rufescens* Steud., *Sporobolus festivus* Hochst. ex A. Rich.). L'*Uapaca bojeri*, appelé localement *tapia*, est l'espèce ligneuse dominante de la strate arborée. Cette essence ligneuse endémique de Madagascar joue un rôle socio-économique important dans cette zone étant donné qu'elle fournit des graines comestibles et des bois de chauffe à pouvoir calorifique élevé et qu'elle fait partie des rares plantes hôtes du ver à soie (*Boroceras madagascariensis*).

Selon la répartition de deux espèces arbustives ectotrophes [*Leptolaena bojeriana* (Bail) cavaco et *Sarcolaena oblongifolia* F. Gérard] dominantes de la forêt, deux endroits ont fait l'objet de cette étude. En effet, *L. bojeriana* est dominante dans la strate arbustive de la partie nord de la forêt, tandis qu'elle est remplacée par *S. oblongifolia* dans la partie centrale et centre-sud.

La forêt de tapia étudiée est située à 50 km à l'ouest d'Antananarivo, dans la commune rurale d'Arivonimamo II (S 19° 00' 15'', E 47° 07' 00'', 1 279 m). Cette commune a une superficie de 312 km² et est couverte à 8 % de forêts de tapia, soit sur 2 500 ha environ (Randrianarisoa *et al.*, 2008). Des communautés de base ont été créées en 2000 afin de protéger la forêt. Mais la menace pèse toujours sur cette forêt à cause de diverses pressions anthropiques telles que la collecte de bois d'œuvre, la fabrication de charbon...

2.2. LA FORET ORIENTALE

Les forêts littorales sont situées à moins de 800 m d'altitude sur la côte est de Madagascar. Elles sont sous l'influence de l'alizé austral qui souffle en permanence et déverse des masses d'eau abondantes sur la côte orientale durant toute l'année. De ce fait, cette région ne compte aucun mois sec. Moat et Smith (2007) rapportent que ces forêts littorales sont les plus touchées par la déforestation ayant perdu 22,5 % de sa superficie depuis les années 1970. La conversion de la forêt en terres agricoles par la culture sur brûlis est la principale cause de cette déforestation. Or cet écosystème forestier recèle beaucoup d'espèces endémiques de valeur telles que *Dalbergia trichocarpa* Baker (Fabaceae), une espèce de palissandre caractérisée par la qualité de son bois ; *Intsia bijuga* (Colebr.) Kuntze (Fabaceae), une espèce utilisée à différentes fins (construction de case et de pirogue...).

L'étude a été menée dans la forêt littorale d'Ianjomara (S 19° 07' 59,5'', E 48° 54' 51,4'', 86 m) située à 200 km à l'est d'Antananarivo. Cette forêt est actuellement fragmentée. Mais les reliques forestières gardent encore la structure des forêts naturelles, avec plusieurs strates distinctes et des émergents comme *Dalbergia madagascariensis* Vatke, *Symphonia fasciculata* (Noronha ex Thouars) Vesque qui peuvent atteindre 12 m.

La forêt d'Analalava (S 17° 42' 30,4'', E 49° 27' 25'', 71 m) présente la même structure que celle d'Analalava. Elle porte les stigmates des anciennes activités anthropiques (culture sur brûlis, prélèvement de bois). *Ravenala madagascariensis* (Strelitzaceae) est l'espèce d'arbre la plus abondante.

3. ASSOCIATION MYCORHIZIENNE AU SEIN DES ESPECES D'ARBRES ET D'ARBUSTES DOMINANTES DE LA REGION ORIENTALE ET CENTRALE DE MADAGASCAR

3.1. APPROCHE D'ETUDE

La description du statut symbiotique des plantes a concerné toutes les espèces dominantes des trois types de formation forestière (Analalava et Ianjomara dans la partie est et Arivonimamo

dans la partie centrale de Madagascar). Afin de s'assurer de l'identité des échantillons, le prélèvement a été effectué selon la méthode de suivi racinaire dans des endroits les moins dégradés de chaque forêt durant la saison pluvieuse en décembre 2007, février 2008 et mars 2009. Pour chaque espèce de plante, 1 à 5 g de racines fines fraîches ont été prélevées et conservées dans un volume égal d'eau, d'éthanol et de glycérol pour des observations histologiques au laboratoire (Ducouso *et al.*, 2004). L'identification des plantes a été basée sur les caractères morphologiques de la tige, des feuilles et si possible des fruits en se référant aux herbiers de référence du parc botanique et zoologique de Tsimbazaza (Antananarivo).

Les échantillons de racines ont été préparés et colorés selon la méthode de Phillips et Hayman (1970) pour observer la présence de champignons mycorhiziens. Pour chaque échantillon, 30 fragments racinaires longs de 10 mm ont été examinés sous microscope. Les racines sont considérées MA dès qu'on observe des structures arbusculaires et/ou vésiculaires et/ou des fragments d'hyphes intracellulaires. Le degré d'infection des racines a été évalué selon quatre niveaux : ND lorsqu'on n'est pas arrivé à établir le statut symbiotique, faiblement mycorhizées ou (MA) lorsque seulement un à trois fragments racinaires présentent des structures arbusculaires, colonisées par MA (désigné sous le terme MA) pour les échantillons dont 4 à 29 fragments présentent des structures arbusculaires et MA+ pour les échantillons où les 30 fragments racinaires présentent des structures arbusculaires.

3.2. STATUT MYCORHIZIEN DES ESPECES D'ARBRES ET D'ARBUSTES DOMINANTES DE LA REGION ORIENTALE ET CENTRALE DE MADAGASCAR

Le statut mycorhizien des espèces d'arbres et arbustes dans les deux formations forestières de la partie orientale et la forêt sclérophylle du haut plateau de Madagascar est donné dans le tableau 1. Seulement quatre espèces (*Mascarenhasia arborescens* et *Tabernaemontana coffeoides* pour la forêt d'Analalava, *Landolphia* sp. et *Voacanga thouarsii* pour la forêt d'Ianjomara) n'ont présenté aucune structure mycorhizienne au niveau de leur système racinaire. Ces quatre espèces de plantes appartiennent toutes à la famille des Apocynaceae. Parmi les 111 espèces observées, 12 sont faiblement mycorhizées (MA), 62 espèces présentent des structures bien visibles de symbiose mycorhizienne à arbuscules, 27 espèces sont fortement mycorhizées et 6 sont associées à la fois avec des champignons mycorhiziens à arbuscules et des champignons ectomycorhiziens.

Dans la famille des Sarcolaenaceae, une famille botanique entièrement endémique de Madagascar, les données obtenues sur les trois espèces étudiées confirment les résultats de Ducouso *et al.* (2008) qui ont établi pour la première fois le statut symbiotique de cette

famille. En effet, ces trois espèces sont à la fois associées avec des champignons mycorhiziens à arbuscules et des champignons ectomycorhiziens.

Tableau 1. Statut symbiotique des espèces d'arbres et arbustes dominantes dans les trois sites d'étude : Analalava, Ianjomara et Arivonimamo

Espèces de plante	Famille	Sites	Statut symbiotique
<i>Amyrea</i> sp. (?)	Euphorbiaceae	Ana.	MA
<i>Anthostema madagascariense</i> Baill. (E)	Euphorbiaceae	Ana.	MA
<i>Breonia havilandiana</i> Homolle (?)	Rubiaceae	Ana.	MA
<i>Canarium madagascariense</i> Engl. (E)	Burseraceae	Ana.	MA
<i>Casearia nigrescens</i> Tul. (E)	Salicaceae	Ana.	MA
<i>Cynometra capuronii</i> Du Puy et R. Rabev. (E)	Fabaceae	Ana.	MA
<i>Clitoria lasciva</i> Bojer ex Benth. (E)	Fabaceae	Ana.	MA
<i>Colubrina</i> sp. (?)	Rhamnaceae	Ana.	MA
<i>Conchopetalum madagascariense</i> Radlk. (E)	Sapindaceae	Ana.	MA
<i>Croton lepidotus</i> Aug. DC. (E)	Euphorbiaceae	Ana.	MA+
<i>Cryptocarya acuminata</i> Schinz (?)	Lauraceae	Ana.	MA
<i>Dicoryphe</i> sp. (?)	Hamamelidaceae	Ana.	MA
<i>Dillenia triquetra</i> (Rottb.) Gilg (?)	Dilleniaceae	Ana.	MA
<i>Diospyros bernieri</i> Hiern (?)	Ebenaceae	Ana.	MA+
<i>Diospyros</i> sp. (?)	Ebenaceae	Ana.	MA+
<i>Dracaena reflexa</i> Lam. (n)	Asparagaceae	Ana.	MA+
<i>Dypsis</i> sp. (?)	Arecaceae	Ana.	MA
<i>Ellipanthus madagascariensis</i> (G. Schellenb.) Capuron ex Keraudren (E)	Connaraceae	Ana.	MA
<i>Erythroxylum</i> sp. (?)	Erythroxylaceae	Ana.	MA+
<i>Eugenia louvelii</i> H. Perrier (?)	Myrtaceae	Ana.	MA+
<i>Fernelia</i> sp. (?)	Rubiaceae	Ana.	MA
<i>Ficus cocculifolia</i> Baker (n)	Moraceae	Ana.	MA+
<i>Ficus lutea</i> Vahl. (n)	Moraceae	Ana.	MA+
<i>Gaertnera macrostipula</i> Baker (?)	Rubiaceae	Ana.	MA
<i>Harungana madagascariensis</i> Lam. ex Poir. (?)	Hypericaceae	Ana.	MA+
<i>Homalium involucratum</i> (DC.) O. Hoffm. (E)	Salicaceae	Ana.	MA
<i>Landolphia nitens</i> Lassia (E)	Apocynaceae	Ana.	(MA)
<i>Leptolaena multiflora</i> Thouars (E)	Sarcocaulaceae	Ana.	MA & ECM
<i>Macaranga cuspidata</i> Boivin ex Baill. (?)	Euphorbiaceae	Ana.	MA+
<i>Macphersonia madagascariensis</i> Blume (E)	Sapindaceae	Ana.	MA
<i>Malleastrum minutifoliolatum</i> J.-F. Leroy (E)	Meliaceae	Ana.	MA
<i>Mascarenhasia arborescens</i> A. DC. (n)	Apocynaceae	Ana.	ND
<i>Memecylon xiphophyllum</i> R. D. Stone (?)	Memecylaceae	Ana.	MA
<i>Nesogordonia macrophylla</i> Arènes (E)	Malvaceae	Ana.	MA
<i>Paropsia madagascariensis</i> (Mast.) H. Perrier (E)	Passifloraceae	Ana.	MA
<i>Psiadia</i> sp. (?)	Asteraceae	Ana.	MA+

<i>Psidium cattleianum</i> Sabine (n) (n)	Myrtaceae	Ana.	(MA)
<i>Psorospermum lanceolatum</i> (Choisy) Hochr. (E)	Hypericaceae	Ana.	MA
<i>Ravenala madagascariensis</i> Sonn. (E)	Strelitzaceae	Ana.	(MA)
<i>Ravenea julietiae</i> Beentje (E)	Arecaceae	Ana.	MA
<i>Rhodocolea racemosa</i> (Lam.) H. Perrier (E)	Bignoniaceae	Ana.	MA
<i>Rhopalocarpus thouarsianus</i> Baill. (E)	Sphaerosepalaceae	Ana.	MA
<i>Saldinia proboscidea</i> Hochr. (E)	Rubiaceae	Ana.	MA
<i>Suregada boiviniana</i> Baill. (?)	Euphorbiaceae	Ana.	MA
<i>Symphonia tanalensis</i> Jum. & H. Perrier (E)	Clusiaceae	Ana.	MA
<i>Syzygium emirnense</i> (Baker) Labat & G. E. Schatz (?)	Myrtaceae	Ana.	MA
<i>Tabernaemontana coffeoides</i> Bojer ex A. DC. (n)	Apocynaceae	Ana.	ND
<i>Tambourissa purpurea</i> (Tul.) A. DC. (E)	Monimiaceae	Ana.	MA
<i>Tina fulvinervis</i> Radlk. (E)	Sapindaceae	Ana.	MA
<i>Uapaca louvelii</i> Denis (E)	Euphorbiaceae	Ana.	MA & ECM
<i>Vepris</i> sp. (?)	Rutaceae	Ana.	MA
<i>Zanthoxylum tsihanimposa</i> H. Perrier (E)	Rutaceae	Ana.	MA
<i>Aphloia theiformis</i> (Vahl) Benn. (n)	<u>Aphloiaceae</u>	Ian.	MA+
<i>Aristida similis</i> Steud. (?)	Poaceae	Ian.	MA+
<i>Burasaia madagascariensis</i> DC. (E)	Menispermaceae	Ian.	MA
<i>Cinnamum camphoratum</i> Blume (n)	Lauraceae	Ian.	MA+
<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume (n)	Lauraceae	Ian.	MA+
<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don (n)	Melastomataceae	Ian.	(MA)
<i>Colubrina decipiens</i> (Baill.) Capuron (n)	Rhamnaceae	Ian.	MA
<i>Commelina</i> sp. (?)	Commelicaceae	Ian.	MA+
<i>Dactyloctenium</i> sp. (?)	Poaceae	Ian.	MA
<i>Dalbergia madagascariensis</i> Vatke (E)	Fabaceae	Ian.	MA+
<i>Dombeya dolichophylla</i> Arènes (?)	Malvaceae	Ian.	MA
<i>Dracaena reflexa</i> Lam. (n)	<u>Asparagaceae</u>	Ian.	(MA)
<i>Dichapetalum leucosia</i> (Spreng.) Engl. (E)	Dichapetalaceae	Ian.	MA
<i>Dyopsis</i> sp. (?)	Arecaceae	Ian.	(MA)
<i>Dyopsis nodifera</i> Mart. (E)	Arecaceae	Ian.	(MA)
<i>Agelaea pentagyna</i> (Lam.) Baill. (?)	Connaraceae	Ian.	MA
<i>Gaertnera macrostipula</i> Baker (?)	Rubiaceae	Ian.	MA
<i>Gaertnera obovata</i> Baker (?)	Rubiaceae	Ian.	MA
<i>Grevillea banksii</i> R. Br. (n)	Proteaceae	Ian.	(MA)
<i>Harungana madagascariensis</i> Lam. Ex Poir.	Hypericaceae	Ian.	MA+
<i>Hugonia</i> sp. (?)	Linaceae	Ian.	MA
<i>Landolphia myrtifolia</i> (Poir.) Markgr. (E)	Apocynaceae	Ian.	MA
<i>Landolphia</i> sp. (?)	Apocynaceae	Ian.	ND
<i>Landolphia gummifera</i> (Poir.) K. Schum. (E)	Apocynaceae	Ian.	(MA)
<i>Macaranga cuspidata</i> Boivin ex Baill. (?)	<u>Euphorbiaceae</u>	Ian.	MA+
<i>Macarisia lanceolata</i> Baill. (?)	Rhizophoraceae	Ian.	MA
<i>Machaerina flexuosa</i> (Boeckeler) J. Kern (?)	<u>Cyperaceae</u>	Ian.	MA
<i>Macphersonia madagascariensis</i> Blume (E)	Sapindaceae	Ian.	MA
<i>Merremia tridentata</i> (L.) Hallier f. (n)	Convolvulaceae	Ian.	MA
<i>Noronhia emarginata</i> (Lam.) Thouars (E)	<u>Oleaceae</u>	Ian.	MA+

<i>Osmunda regalis</i> L. (?)	Osmondaceae	Ian.	MA
<i>Ouratea</i> sp. (?)	Ochnaceae	Ian.	MA
<i>Panicum luridum</i> Hack. (?)	Poaceae	Ian.	MA
<i>Phyllanthus amarus</i> Schumach. & Thonn. (n)	Phyllanthaceae	Ian.	(MA)
<i>Poupartia chapelieri</i> (Guillaumin) H. Perrier (E)	Anacardiaceae	Ian.	MA+
<i>Psidium cattleianum</i> Sabine (n)	<u>Myrtaceae</u>	Ian.	(MA)
<i>Psorospermum fanerana</i> Baker (E)	Clusiaceae	Ian.	MA
<i>Ravenala madagascariensis</i> Sonn. (E)	Strelitzaceae	Ian.	(MA)
<i>Rubus</i> sp. (?)	Rosaceae	Ian.	MA+
<i>Sauvagesia erecta</i> L. (n)	Ochnaceae	Ian.	MA
<i>Scolopia maoulidae</i> S. Hul, Labat & O. Pascal (?)	Salicaceae	Ian.	MA
<i>Streblus dimepate</i> (Bureau) C. C. Berg (?)	Moraceae	Ian.	MA
<i>Symphonia fasciculata</i> (Noronha ex Thouars) Vesque (E)	Clusiaceae	Ian.	MA
<i>Tacca leontopetaloides</i> (L.) Kuntze (?)	Discoreaceae	Ian.	MA
<i>Trema orientalis</i> (L.) Blume (?)	<u>Cannabaceae</u>	Ian.	MA+
<i>Tristemma virusanum</i> Juss. (n)	Melastomataceae	Ian.	MA
<i>Trophis montana</i> (Leandri) C. C. Berg (?)	Moraceae	Ian.	MA
<i>Uapaca ferruginea</i> Baill. (E)	<u>Euphorbiaceae</u>	Ian.	MA & ECM
<i>Urena lobata</i> L. (n)	Malvaceae	Ian.	MA
<i>Voacanga thouarsii</i> Roem. & Schult. (n)	Apocynaceae	Ian.	ND
<i>Uapaca bojeri</i> L. (E)	Euphorbiaceae	Ariv	MA & ECM
<i>Leptolaena bojeriana</i> (E)	Sarcolaenaceae	Ariv	MA & ECM
<i>Trema</i> sp. (n)	Ulmaceae	Ariv	MA
<i>Aphloia theaeformis</i> (Vahl.) Benn. (n)	Flacourtiaceae	Ariv	MA+
<i>Rhus taratana</i> (Baker.) H. Perrier (n)	Anacardiaceae	Ariv	MA+
<i>Helychrysum rusillonii</i> Hochr. (?)	Asteraceae	Ariv	MA+
<i>Psiadia altissima</i> (D. C.) Drake. (?)	Asteraceae	Ariv	MA+
<i>Rubus apetalus</i> Poir. (n)	Rosaceae	Ariv	MA

(E) : endémique, (n) : non endémique, (?) : pas d'information, Sites : **Ana** : Analalava, **Ian.** : Ianjomara, **Ariv** : Arivonimamo, **AM** : mycorhize à arbuscules, **(MA)** : faiblement mycorhizé, **MA+** : fortement mycorhizé, **MA & ECM** : coexistence de mycorhize à arbuscule et d'ectomycorhize, **ND** : non déterminé.

Pour le genre africano-malgache *Uapaca*, les deux types de symbiose mycorhizienne ont été également observés en même temps au niveau des systèmes racinaires des trois espèces étudiées (*U. bojeri*, *U. louvelii*, *U. ferruginea*). Par ailleurs, nos résultats illustrent l'abondance de la structure mycorhizienne à arbuscule au sein de la flore malgache et plus particulièrement au niveau de la flore endémique. En effet, les 42 espèces étudiées et identifiées endémiques sont associées aux champignons mycorhiziens. De plus, les données rapportées dans cette partie qui concernent trois écosystèmes forestiers différents montrent que la plupart des espèces arbres et d'arbustes dans ces écosystèmes sont associées aux

champignons mycorhiziens. Ces résultats constituent ainsi une base solide des stratégies de conservation ou de gestion durable de la riche diversité floristique de Madagascar.

4. FACILITATION DE L'ÉTABLISSEMENT ET DU DÉVELOPPEMENT DES PLANTULES DE *UAPACA BOJERI* PAR LES ARBUSTES PIONNIERS DES ZONES DÉGRADÉES DU HAUT PLATEAU MALGACHE : IMPORTANCE DE LA SYMBIOSE ECTOMYCORHIZIENNE

L'établissement et le développement des plantules des essences forestières peuvent être inhibés ou stimulés par les espèces arbustives pionnières qui colonisent en premier lieu les zones dégradées et/ou perturbées par les espèces exotiques. Un cas de ces phénomènes a été observé dans l'écosystème de la forêt sclérophylle à *Uapaca bojeri* du haut plateau de Madagascar. En effet, deux espèces arbustives (*Sarcolaena oblongifolia* F. Gérard et *Leptolaena bojeriana* (Baill.) Cavaco) endémiques se sont montrées capables de favoriser le développement des plantules d'*U. bojeri* dans différents endroits de la forêt et surtout dans les zones dégradées ou anciennement envahies par *Eucalyptus camaldulensis* ou *Pinus Patula*. Dans ce phénomène de facilitation du développement des plantules, la communauté de champignons ectomycorhiziens hébergée par le système racinaire des deux arbustes a été fortement impliquée.

Les investigations ont été effectuées dans l'écosystème forestier d'Arivonimamo et d'Ambatofinandrahana où les deux arbustes cités ci-dessus sont respectivement dominants. L'objectif principal étant de décrire le comportement de ces deux espèces arbustives vis-à-vis à la fois des conditions pédoclimatiques des sols dégradés ou perturbés par la propagation des espèces exotiques et du développement des plantules d'*U. bojeri*. Deux dispositifs expérimentaux ont été ainsi établis.

4.1. EXPERIMENTATION (1) : PARTAGE DE SYMBIOTES ECTOMYCORHIZIENS ENTRE *S. OBLONGIFOLIA* ET *U. BOJERI IN SITU*

La communauté de champignons ectomycorhiziens associée à *U. bojeri* et à *S. oblongifolia* a été décrite en adoptant des critères morphologiques tels que la couleur du manteau, la ramification et la profondeur du réseau de hartig et des analyses moléculaires des représentants de chaque groupe morphologique ou morphotype. Le dispositif d'échantillonnage est donné par le tableau 2. Il s'agit de récolter des morphotypes d'ectomycorhize associés uniquement à *U. bojeri* ou *S. oblongifolia* dans un premier temps et des morphotypes associés aux deux plantes par la suite.

Tableau 2. Dispositif d'échantillonnage et diversité de champignons ectomycorhiziens au niveau du système racinaire d'*U. bojeri* et de *S. oblongifolia*

	Origines		
	<i>U. bojeri</i>	<i>S. oblongifolia</i>	Végétation mixte
Nombre d'échantillons de sol	5	5	5
Nombre de bouts racinaires ectomycorhizés	665	580	780
Nombre de types RFLP (Sans comparaison des sols)	38	46	53
Pourcentage des taxons* identifiés et partagés par les deux plantes hôtes (%)	60	58,33	76,92
Indice de diversité de Simpson	6,75	10,58	11,22
Indice d'information de Shannon-Wiener	0,87	1,05	1,07

*Les taxons ont été identifiés comme types RFLP en se basant sur la similarité de la région ITS par rapport aux séquences disponibles dans la banque de donnée GenBank.

Les échantillons, composés par le système racinaire de chaque plante prélevé avec le sol rhizosphérique, ont été collectés en décembre 2006 dans les trois microhabitats différents ci-après selon la composition de la plante hôte : (i) une population homogène d'*U. bojeri*, (ii) une population homogène de *S. oblongifolia* et (iii) une formation mixte des deux plantes ou des plantules d'*U. bojeri*. Pour chaque composition de plante hôte, cinq points de prélèvement ont été identifiés dans cinq endroits différents et chaque échantillon a été prélevé à l'aide d'une tarière de 10 cm de diamètre enfoncée à 30 cm de profondeur à partir de l'humus. Afin d'éviter le mélange des échantillons provenant de plantes hôtes différentes, l'indésirable plante hôte la plus proche est située à au moins 25 m du point de prélèvement. Pour la végétation mixte, l'échantillon a été prélevé avec une plantule d'*U. bojeri* poussant entre deux ou trois pieds de *S. oblongifolia*. Au total, 15 échantillons ont été prélevés et classés en trois groupes selon la composition de la plante hôte. Les critères morphologiques établis par Agerer (1987-1996) ont été adoptés pour grouper les bouts racinaires ectomycorhizés dans différents morphotypes. Ces critères concernent la structure et la couleur du manteau, la ramification des racines mycorhizées et les caractères des rhizomorphes. Trois ectomycorhizes ont été prélevées au hasard dans chaque morphotype pour des analyses RFLP en ciblant la région ITS de l'ADN mitochondrial du champignon et en utilisant les enzymes de restriction *HaeIII* et *HinfI*. Pour les échantillons provenant de la végétation mixte, l'identification de la plante hôte a été réalisée par séquençage du gène chloroplastique ribulose-biphosphate carboxylase (*rbcL*) selon la méthode de Käss et Wink (1997). La position taxonomique de chaque type RFLP identifié a été établie par séquençage de la même région ITS fongique.

Au total, 2 025 fragments de racines ectomycorhizées ont été récoltés et classés en 165 morphotypes d'ectomycorhizes à partir des 15 échantillons. Entreprises sur 496 ectomycorhizes, l'extraction d'ADN et l'analyse RFLP ont donné 137 types RFLP sans mélanger les échantillons (tabl. 2). Après comparaison des types RFLP de la même composition de plante hôte, 10 types RFLP ont été récoltés chez *U. bojeri*, 12 sur *S. oblongifolia* et 13 au niveau de la végétation mixte. Parmi ces différents types RFLP, 21 individus ont été identifiés en se basant sur la similarité de la séquence de la région ITS avec des séquences dans la GenBank (tabl. 3). Sauf pour un type RFLP identifié comme Theleporoid mycorrhizal, les types RFLP ont été identifiés au niveau genre (3 types RFLP) ou au niveau espèce (17 types RFLP) (fig. 1). Au niveau genre, *Russula* a été le plus dominant avec 8 types RFLP suivi par *Bondarcevomyces* (5 types RFLP), *Scleroderma* (2 types RFLP) et *Amanita*, *Topinella* et *Tomentella* avec respectivement un type RFLP.

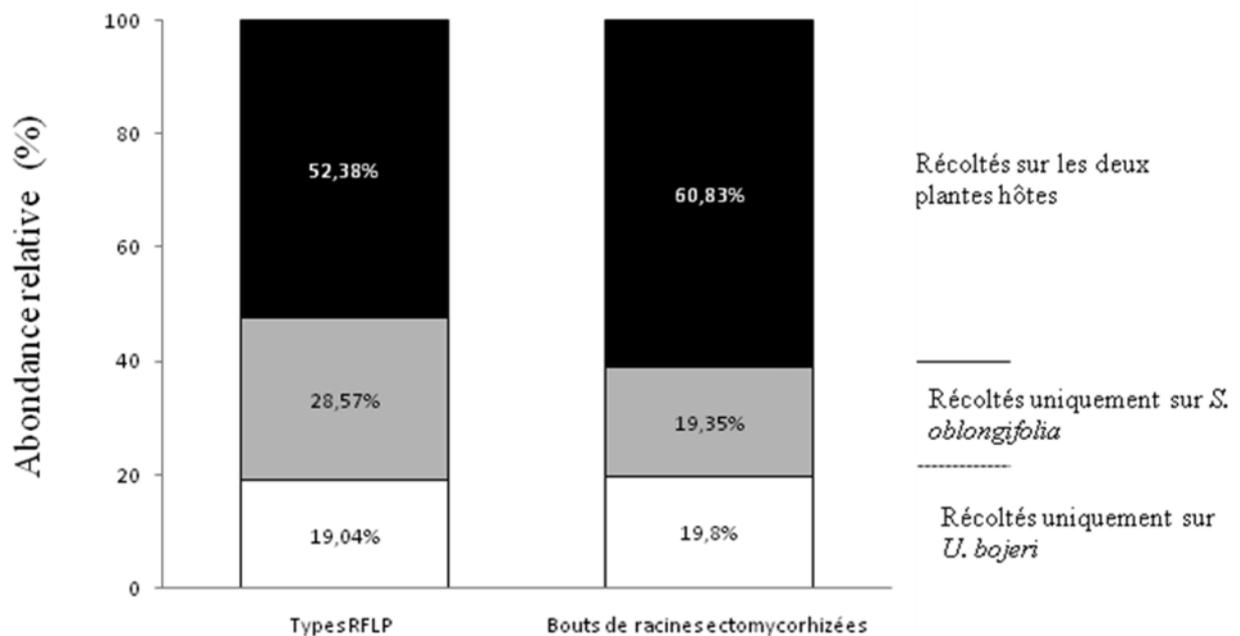
Tableau 3. Identification par séquençage de la région ITS des principaux types RFLP récoltés sur *U. bojeri* et/ou *S. oblongifolia*

Types RFLP	Espèce la plus proche au GenBank	Numéro d'accèsion au GenBank	Valeur attendue du BLAST	Plante hôte identifiée
Ja c	<i>Russula earlei</i>	AF518722	2e-142	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>
Bl c	<i>Amanita</i> sp. C322	AM116759	0,0	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>
Ja a	<i>Boletellus projectellus</i>	DQ534582	0,0	<i>U. bojeri</i>
Br a	<i>Bondarcevomyces taxi</i>	DQ534583	2e-169	<i>S. oblongifolia</i>
Mr d	<i>Bondarcevomyces taxi</i>	DQ534583	0,0	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>
Mr e	<i>Bondarcevomyces taxi</i>	DQ534583	0,0	<i>S. oblongifolia</i>
Nr b	<i>Bondarcevomyces taxi</i>	DQ534583	0,0	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>
Nr a	<i>Bondarcevomyces taxi</i>	DQ534583	0,0	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>
Br b	<i>Boletellus projectellus</i>	DQ534582	0,0	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>
Bl b	<i>Scleroderma dictyosporum</i>	AJ509787	2e-175	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>
Bl a	<i>Scleroderma citrinum</i>	AF393149	2e-175	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>
	<i>Tapinella panuoides</i>	DQ534594	2e-98	<i>S. oblongifolia</i>
Ja f	<i>Russula exalbicans</i>	AY293269	9e-167	<i>U. bojeri</i>
Mr c	<i>Russula fulvo-ochrascens</i>	AM117671	2e-169	<i>S. oblongifolia</i>
Ja b	<i>Russula earlei</i>	AF518722	9e-154	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>
Ja d	<i>Russula earlei</i>	AF518722	7e-143	<i>U. bojeri</i>
Mr a	<i>Russula earlei</i>	AF518722	2e-144	<i>U. bojeri</i>
Bl d	<i>Russula</i> sp. C353gn	AM117670	2e-110	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>

Bl e	<i>Russula earlei</i>	AF518722	4e-158	<i>S. oblongifolia</i>
Mr b	<i>Tomentella</i> sp.	U86859	1e-152	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>
Ja g	<i>Thelephoroid mycorrhizal</i> sp.	AJ509798	3e-154	<i>S. oblongifolia</i>

Plus de 52,38 % des types RFLP identifiés ont été associés à la fois avec les systèmes racinaires d'*U. bojeri* et *S. oblongifolia* (fig. 1). Les autres types RFLP restant ont été trouvés soit avec *U. bojeri* (19,04 %), soit avec *S. oblongifolia* (28,57 %). Au niveau de la diversité de symbiotes fongiques, l'arbuste *S. oblongifolia* et la végétation mixte ont présenté des indices de diversité de Simpson similaires. Par contre, cet indice de diversité a été faible pour *U. bojeri* suggérant que cet arbre héberge une communauté mycorhizienne moins riche en diversité en population homogène qu'en population mixte. Une similarité entre les trois compositions de plante hôte a été révélée par l'indice de diversité de Shannon-Wiener (tabl. 2).

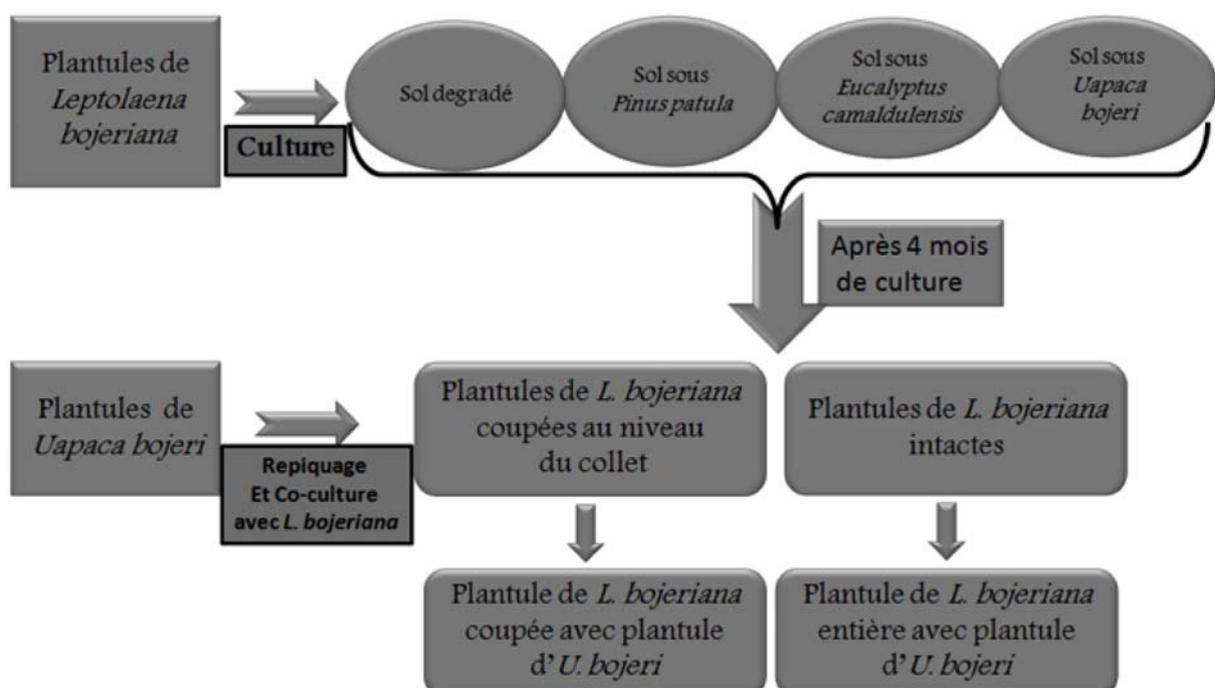
Figure 1. Distribution des symbiotes ectomycorhiziens entre *Uapaca bojeri* et *Sarcolaena oblongifolia* exprimés par le pourcentage de types RFLP et par le pourcentage du nombre total des bouts racinaires ectomycorhizés.



4.2. EXPERIMENTATION (2) : STIMULATION DU DEVELOPPEMENT DES PLANTULES DE *U. BOJERI* PAR DES SYMBIOTES ECTOMYCORHIZIENS FOURNIS PAR LES DEUX ESPECES ARBUSTIVES

Les échantillons de sol ont été prélevés dans la partie nord et centre-sud de la forêt sclérophylle à *U. bojeri* pour les expérimentations respectivement avec *L. bojeriana* et *S. oblongifolia*. Les expérimentations avec *L. bojeriana* ont été réalisées sur trois types de sol préconditionnés respectivement par *Eucalyptus camaldulensis*, *Pinus patula* et *U. bojeri*. Le sol témoin a été constitué par un sol dégradé prélevé en dehors de la forêt et sans influence des plantes ectotrophes. Après le développement de l'arbuste dans chaque type de sol pendant 4 mois, des graines prégermées d'*U. bojeri* y ont été repiquées en présence ou non de l'arbuste selon le dispositif expérimental donné par la figure 2. Les paramètres suivants ont été évalués après cinq mois de développement des plantes : biomasse aérienne et racinaire et taux d'ectomycorhization des plantules d'*U. bojeri*, activité microbienne globale et activité des enzymes phosphatasiques du sol. Au niveau du système racinaire des plantules, une étude comparative des morphotypes d'ectomycorhizes observés chez les plantules d'*U. bojeri* de chaque type de sol a été effectuée par séquençage de la région ITS de chaque type RFLP.

Figure 2. Dispositif expérimental de co-culture visant à décrire les impacts de *L. bojeriana* sur le développement des plantules d'*U. bojeri*, sur le fonctionnement de la communauté microbienne du sol.



Des expérimentations similaires ont été entreprises avec *S. oblongifolia* où les sols de culture ont été prélevés à différentes distances (0, 1, 5, 10 et 20 m) d'un pied adulte d'*U. bojeri* situé à la périphérie de la forêt. Le choix de ces points de prélèvement a été basé sur la variation de la composition du couvert végétal. En effet, les sols à 0 et à 1 m sont sous l'influence du pied adulte d'*U. bojeri*, tandis qu'à 5 et à 10 m, la couverture végétale est constituée par des touffes de *S. oblongifolia*. Cette couverture végétale est généralement transformée en prairie à 20 m de la périphérie de la forêt. Le sol témoin a été prélevé en dehors de la forêt et loin de toute autre végétation. Des graines prégermées d'*U. bojeri* ont été repiquées dans chaque type de sol à raison d'une graine par pot et 25 répétitions ont été établies par traitement. Les expérimentations ont été menées sous serre (arrosage 2 fois par semaine à l'aide de l'eau du robinet, photopériode 12 h, température environ 15 °C la nuit et 25 °C le jour). Le développement des plantules, le taux d'ectomycorhization et la diversité de communauté ectomycorhizienne associée aux plantules d'*U. bojeri* ont été évalués après cinq mois de culture dans chaque type de sol.

La précolonisation du sol par *L. bojeriana* suivie de la co-culture avec cet arbuste a eu beaucoup d'impacts sur le développement des plantules d'*U. bojeri*. En effet, le développement aérien des plantules d'*U. bojeri*, le taux d'ectomycorhization, la quantité d'azote et de phosphate minéral dans la partie aérienne des plantes sont tous significativement élevés par rapport à ceux enregistrés dans les traitements témoins (sans la pré-culture et la co-culture) dans tous les types de sols utilisés (tabl. 4). Particulièrement, la co-culture d'*U. bojeri* avec *L. bojeriana* dépourvue de sa partie aérienne a favorisé le développement des plantules de l'arbre et le taux de colonisation des racines par les champignons ectomycorhiziens. Des profondes modifications du fonctionnement de la communauté microbienne du sol ont également été enregistrées chez les traitements avec *L. bojeriana*. À l'exception du sol dégradé et du sol prélevé sous *U. bojeri* où l'activité des phosphatases alcalines a été similaire chez les trois traitements, la co-culture d'*U. bojeri* avec *L. bojeriana* a provoqué des augmentations significatives de l'activité microbienne globale et de l'activité des enzymes phosphatasiques du sol. Les résultats ont montré que ces activités microbiennes et enzymatiques ont été fortement affectées par le traitement avec *L. bojeriana* sans la partie aérienne.

Les mêmes tendances de résultats ont été obtenues avec *S. oblongifolia*. Le développement des plantules d'*U. bojeri* a été fortement stimulé sur le sol anciennement colonisé par l'arbuste *S. oblongifolia* (sol 5 et 10 m) (tabl. 5). Ce bon développement des plantules a été

accompagné par un taux d'ectomycorhization significativement élevé et un taux de mortalité faible (fig. 3) par rapport à ceux enregistrés sur les autres types de sol. Après cinq mois de culture, le nombre de plantules mortes diminue du sol prélevé à 5 m au sol témoin dans le sens : sol 5 m < sol 10 m < sol 1 m < sol 0 m < sol 20 m < sol témoin.

Au niveau de la composition des symbiotes ectomycorhiziens, une richesse taxonomique nettement plus élevée a été enregistrée chez les plantules d'*U. bojeri* du sol de 5 et 10 m par rapport aux plantules des autres types de sol. Tous ces résultats suggèrent que le partage de symbiotes fongiques entre les deux plantes, décrit lors de la première expérimentation, est à l'origine de cette facilitation de l'établissement et stimulation du développement des plantules d'*U. bojeri*. Ce phénomène de facilitation « plante-plante » par l'intermédiaire des symbiotes fongiques partagés a déjà été mentionné par certains auteurs qui ont travaillé dans des écosystèmes forestiers tempérés (Dickie *et al.*, 2004 ; Borchers et Perry, 1990 ; Horton *et al.*, 1999).

Figure 3. Taux de mortalité des plantules d'*Uapaca bojeri* sur des sols récoltés à différentes distances d'un pied adulte de cette plante après 5 mois de culture (● : témoin ; Δ : sol prélevé à 20 m ; × : sol prélevé à 10 m ; ▲ : sol prélevé à 5 m ; ■ : sol prélevé à 1 m ; ◆ : sol prélevé à 0 m).

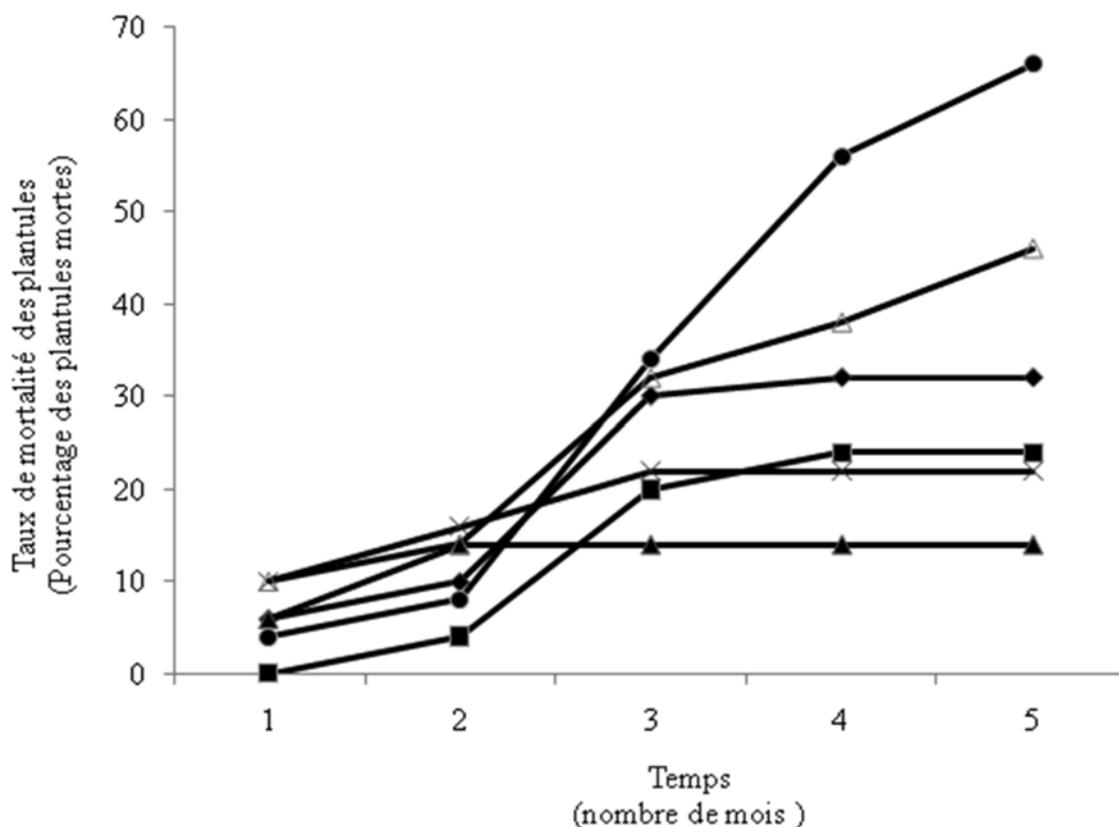


Tableau 4. Poids sec (en g) de la biomasse aérienne et racinaire et taux d'ectomycorhization d'*U. bojeri* sur les quatre types de sol avec ou sans la co-culture après cinq mois de culture

Traitements	BA ⁽⁴⁾	BR ⁽⁵⁾	RB : BA ⁽⁶⁾	N ⁽⁷⁾	P ⁽⁸⁾	ECM ⁽⁹⁾
Sol dégradé						
Témoin ⁽¹⁾	131 (11) ⁽¹⁰⁾ a ⁽¹¹⁾	113 (12) a	0,88 (0,13) b	0,89 (0,06) a	71,1 (7,3) a	36 (2,1) a
<i>L. bojeriana</i> ⁽²⁾	277 (11) b	140 (10) ab	0,51 (0,04) a	3,02 (0,12) b	253,4 (10,9) b	42 (6) a
<i>L. bojeriana</i> SA ⁽³⁾	309 (26) b	166 (3) b	0,55 (0,04) ab	3,08 (0,27) b	332,1 (29,1) b	90,3 (3,2) b
Sol d'<i>U. bojeri</i>						
Témoin	125 (15) a	295 (35) a	2,37 (0,16) b	0,85 (0,1) a	94,1 (9,9) a	73,7 (3,2) a
<i>L. bojeriana</i>	222 (38) ab	242 (38) a	1,21 (0,33) a	2,14 (0,32) b	197,7 (34,1) b	78 (2,1) a
<i>L. bojeriana</i> SA	332 (19) b	219 (39) a	0,67 (0,14) a	3,58 (0,19) c	303,9 (14,1) c	90,7 (2,4) b
Sol d'<i>E. camaldulensis</i>						
Témoin ⁽¹⁾	83 (0,9) a	27 (4) a	0,34 (0,08) a	0,65 (0,07) a	62,3 (7,3) a	16,3 (2,4) a
<i>L. bojeriana</i> ⁽²⁾	233 (41) b	99 (6) b	0,45 (0,09) a	2,30 (0,41) b	194,6 (35,5) b	65,3 (3,3) b
<i>L. bojeriana</i> SA ⁽³⁾	250 (42) b	129 (12) b	0,57 (0,17) a	3,17 (0,57) b	268,6 (44,9) b	79,3 (4,1) b
Sol de <i>P. patula</i>						
Témoin	85 (12) a	119 (10) a	1,42 (0,12) b	0,65 (0,09) a	58,9 (8,7) a	29,3 (5,5) a
<i>L. bojeriana</i>	233 (9) b	146 (27) a	0,62 (0,11) a	2,28 (0,10) b	181,3 (5,7) b	30,3 (2,4) a
<i>L. bojeriana</i> SA	333 (66) b	127 (7) a	0,41 (0,08) a	3,90 (0,78) b	278,1 (53,9) b	65,3 (1,5) b

⁽¹⁾ *U. bojeri* sans la pré-culture et la co-culture de *L. bojeriana*. ⁽²⁾ Précolonisation de *L. bojeriana* and co-culture avec des plantules de *L. bojeriana* avec la partie aérienne. ⁽³⁾ Précolonisation de *L. bojeriana* et co-culture avec des plantules de *L. bojeriana* sans la partie aérienne. ⁽⁴⁾ Biomasse aérienne (mg de poids sec). ⁽⁵⁾ Biomasse racinaire (mg de poids sec). ⁽⁶⁾ Rapport biomasse racinaire/biomasse aérienne. ⁽⁷⁾ Taux d'azote minéral dans les feuilles (mg par plante). ⁽⁸⁾ Taux de phosphate minéral dans les feuilles (mg par plante) ⁽⁹⁾ Pourcentage d'ectomycorhization (%). ⁽¹⁰⁾ Écart type par rapport à la moyenne. ⁽¹¹⁾ Les données dans la même colonne, pour chaque type de sol, suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-Keuls ($p < 0,05$).

Tableau 5. Développement et taux d'ectomycorhization des plantules d'*U. bojeri* après 5 mois de culture sur des sols prélevés à différentes distances d'un pied adulte de cette plante

	Témoin	Distances à partir d'un pied adulte d' <i>U. bojeri</i>				
		20 m	10 m	5 m	1 m	0 m
Développement des plantules						
Biomasse aérienne (mg par plante)	92 a ⁽¹⁾	120 a	313 c	335 c	199 b	183 b
Biomasse racinaire (mg par plante)	61 a	75 a	168 bc	211 c	128 b	137 b
Biomasse totale (mg par plante)	154 a	195 a	481 c	546 c	328 b	320 b
Rapport biomasse aérienne/racinaire	1,53 ab	1,65 ab	1,86 b	1,59 ab	1,64 ab	1,42 a
Nombre de bouts racinaires par mg de biomasse racinaire	0,83 b	0,73 b	0,51 ab	0,39 a	0,63 ab	0,49 a
Taux d'ectomycorhization (%)	3,19 a	5,88 ab	21,06 c	22,05 c	11,70 bc	10,49 bc
Diversité ectomycorhizienne						
Richesse taxonomique (exprimée comme types RFLP)	0,5 a	0,8 a	3 c	3,5 c	1,6 ab	2 b

⁽¹⁾ Les données dans la même ligne suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-Keuls ($p < 0,05$).

Dans cette partie, il est clairement établi que la communauté de champignons ectomycorhiziens est fortement impliquée dans le phénomène de facilitation qui s'est déroulé entre deux espèces arbustives, d'une part et une espèce d'arbre toutes endémiques de Madagascar, d'autre part. Pourtant, il a également été signalé que les espèces arbustives qui colonisent en premier lieu les zones dégradées, contribuent à l'amélioration physico-chimique et biologique du sol (Aguilera *et al.*, 1999) ou à la stimulation de l'activité microbienne globale et de l'activité des phosphatases du sol (Gómez-Aparicio *et al.*, 2005a, b). Dans notre cas, l'espèce arbustive *L. bojeriana* a pu modifier les conditions pédoclimatiques des sols anciennement envahis par les espèces exotiques (*Eucalyptus* sp. et *Pinus patula*) au profit du développement des plantules d'*U. bojeri*. Ce qui fait de cet arbuste un candidat potentiel pour la restauration des sites envahis par les plantes exotiques et pour la plantation des arbres natifs. Dans ce sens, l'incompatibilité de symbiotes fongiques des plantes exotiques avec les espèces de plantes natives a déjà été démontrée (Saunders et Norton, 2001) et cette situation constitue souvent un handicap dans les programmes de plantation des essences natives.

5. FRAGILITE DE LA FLORE MALGACHE ET INVASION BIOLOGIQUE

L'invasion des plantes exotiques est actuellement responsable de la perte de biodiversité, de la réduction de la productivité et la dégradation des habitats naturels, le déplacement des plantes natives et l'altération du fonctionnement des écosystèmes (Simberloff, 2005 ; Masters et Sheley, 2001). Selon le MEED en 2004, l'introduction d'espèces allogènes est aujourd'hui considérée comme la deuxième cause directe de déséquilibre de la structure végétale au niveau mondial après la destruction de l'habitat. Les espèces invasives constituent dans le monde et plus particulièrement sur les îles une menace pour tous les composants d'un milieu, pour les processus à l'échelle de l'écosystème (Vitousek et Walker, 1989), elles peuvent également influencer la répartition spatiale de la biodiversité (Brown et Gurevitch, 2004) et modifier la structure des communautés végétales et animales (Gratton et Denno, 2005). La flore insulaire est donc fragile. Les causes cette fragilité sont d'ordre génétique et démographique : (i) elle relève en premier lieu de la séparation avec la population d'origine et de la colonisation par un certain nombre restreint d'individus ne possédant qu'une partie de la variabilité génétique, (ii) les espèces ont évolué dans un système fermé pendant plusieurs millions d'années en l'absence de sélection exercée par les prédateurs, les grands herbivores, les maladies ou les perturbations (incendie), en effet, elles ne possèdent pas un système d'adaptation élevé pour la compétition et résistent mal à l'entrée d'éléments nouveaux, (iii) la

petite superficie terrestre ne permet pas aux peuplements de s'étendre et de diversifier, il y a un grand risque d'extinction.

Madagascar n'est pas épargné par ce fléau mondial. Depuis quelques années les espèces envahissantes dans différents écosystèmes de la Grande Île commencent à attirer l'attention des scientifiques (Binggeli, 2003 ; Kull *et al.*, 2007 ; Carrière *et al.*, 2008). Ainsi, une liste de quelques espèces exotiques envahissantes (*Opuntia* sp., *Psidium cattleianum* Sabine, *Grevillea banksii* R. Br., *Lantana camara*...) qui menacent la flore malgache a été dressée par Binggeli (2003) dont certaines d'entre elles ont fait l'objet récemment d'études plus approfondies (Carrière *et al.*, 2008).

5. 1. PROPAGATION DE *GREVILLEA BANKSII* R. BR. ET SES IMPACTS SUR LA COMMUNAUTE DE CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS

5.1.1. DESCRIPTION DE LA STRUCTURE DE LA COMMUNAUTE DE CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS

À Madagascar, dans les années 1950, certains auteurs ont déjà signalé la menace d'invasion des espèces exotiques (Aubreville, 1953). Cependant, les risques liés à leurs caractères invasifs sur les ressources forestières endémiques n'ont pas été considérés. Cette partie décrit les impacts de la propagation de *G. banksii* dans la partie orientale de Madagascar sur le développement d'une essence forestière de cette zone, à savoir *D. trichocarpa*. Il est à rappeler que *G. banksii* (Proteaceae) est une espèce introduite qui figure dans la liste des espèces envahissantes à Madagascar, notamment sur la côte est (Binggeli, 2003). Dans différents endroits des zones envahies ou non par cet arbre exotique, la structure de la communauté de champignons mycorhiziens a été déterminée par la description morphologique et le dénombrement des spores, ainsi que par la mesure du nombre le plus probable de propagules. Les spores et les propagules de champignons mycorhiziens à arbuscule (CMA) ont été extraites à partir du sol rhizosphérique de *G. banksii* (prélevé dans la zone envahie par cette plante), du sol rhizosphérique de *D. trichocarpa* (sol forestier), une essence forestière native et du sol témoin (prélevé sous la prairie en dehors des formations forestières) selon la méthode de centrifugation sur saccharose (Sieverding, 1991). Les spores ont été dénombrées sous stéréomicroscope et groupées selon les caractéristiques morphologiques observées sous microscope optique. L'identification des spores jusqu'au niveau genre a été basée principalement sur leur taille et couleur, aspect du contour et la forme des hyphes (Walker, 1983 ; INVAM, 1997).

5.1.2. STRUCTURE DES COMMUNAUTÉS DE CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS DANS LE SOL SOUS L'INFLUENCE OU NON DE *G. BANKSII*

La structure des communautés de champignons mycorhiziens à arbuscules dans trois types de sols envahis ou non par *G. banksii* est présentée dans le tableau 6. Le nombre total de spores observées autour du système racinaire de *G. banksii* est significativement élevé par rapport à ceux enregistrés dans le sol témoin et le sol rhizosphérique de *D. trichocarpa* (tabl. 6). Par contre, aucune différence significative n'a été observée entre le nombre total de spores de CMA dans le sol témoin et le sol rhizosphérique de l'essence native. Trois genres de CMA (*Scutellospora*, *Glomus*, *Entrophospora*) ont été récoltés dans les trois types de sol (tabl. 6). Chaque type de sol présente chacun au moins un genre de CMA caractéristique en considérant la différence entre le nombre des spores de chaque genre. Le nombre de spores de *Scutellospora* est significativement élevé dans le sol rhizosphérique de *D. trichocarpa* et le sol rhizosphérique de *G. banksii* comparé à celui enregistré dans le sol témoin. Par contre, seul le sol rhizosphérique de *G. banksii* a présenté un nombre significativement élevé de spores de *Glomus* sp. par rapport aux deux autres types de sol. Le sol témoin est caractérisé par le genre *Entrophospora* dont le nombre de spores a été nettement élevé comparé à ceux observés dans les deux autres types de sol.

La tendance des résultats est totalement inversée pour le nombre de propagules de CMA dans les trois types de sol. En effet, le nombre de ces propagules observées dans le sol rhizosphérique de *D. trichocarpa* est de 6 fois et de 10 fois plus élevé par rapport à ceux enregistrés respectivement dans le sol rhizosphérique de *G. banksii* et le sol témoin (tabl. 6). Pour un gramme de sol sec, ce nombre a été de 28,54 (pour le sol forestier), de 4,497 (pour le sol rhizosphérique de *G. banksii*) et de 2,716 (pour le sol témoin).

Tableau 6. Abondance des spores et nombres les plus probables de propagules de CMA dans les sols envahis ou non par *G. banksii*

	Sol de la forêt	Sol sous <i>G. banksii</i>	Sol témoin
Nombre total des spores de CMA (g ⁻¹ de sol)	(*)6,110 a	9,906 b	3,533 a
<i>Scutellospora</i> sp. (%)	75,921 b	54,486 b	33,213 a
<i>Entrophospora</i> sp. (%)	19,1902a	16,255 a	54,56 b
<i>Glomus</i> spp. (%)	4,851a	29,257 b	12,225ab
NPP de propagules de CMA (g ⁻¹ de sol sec)	28,54 b	4,497 a	2,716 a

(*) Les données dans la même ligne suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-Keuls ($p < 0,05$).

5.2. PROPAGATION DE *G. BANKSII* R. BR. ET SES IMPACTS SUR LE DEVELOPPEMENT DE *D. TRICHOCARPA*, UNE ESSENCE FORESTIERE ENDEMIQUE DE MADAGASCAR

5.2.1. DISPOSITIF EXPERIMENTAL

Les expérimentations ont été réalisées sur trois types de sols récoltés respectivement dans les 3 situations suivantes : sol de la forêt récolté sous des pieds adultes de *D. trichocarpa*, une des essences endémiques de la forêt (sol de la forêt), sol sous l'influence de *G. banksii* (sol sous *G. banksii*) et sol témoin récolté sous la prairie en dehors de la forêt. Dans chaque type de sol, 20 pots de 1 litre ont été préparés et des graines prégermées de *D. trichocarpa* y ont été plantées. Après quatre mois d'élevage en serre (photopériode 12 heures, température 14 °C la nuit et 25 °C le jour), 10 plantules ont été prélevées au hasard pour chaque type de sol. Le pourcentage de colonisation des racines par les CMA a été calculé pour au moins 100 morceaux de racines fines d'environ 2 cm de long préalablement colorées selon la méthode de Phillips et Hayman (1970) pour chaque plantule. Le taux de mycorhization pour chaque traitement est calculé selon la méthode de Plenchette (1983). Le développement des plantes a été évalué par la mesure de la biomasse aérienne et racinaire. Parallèlement, l'activité microbienne globale et l'activité des enzymes phosphatasiques ont été décrites pour chaque type de sol respectivement en suivant l'hydrolyse de la fluorescéine diacétate et du *p*-nitrophényl phosphate.

5.2.2. DEVELOPPEMENT DE *D. TRICHOCARPA* SUR LES SOLS ENVAHIS OU NON PAR *G. BANKSII*

La propagation de *G. banksii* a fortement inhibé le développement des plantules de *D. trichocarpa*. La quantité de biomasse totale de cette plante produite dans les trois types de sol varie dans le sens : sol de la forêt > sol témoin > sol sous *G. banksii* (tabl. 7). Au niveau du système racinaire des plantes, la même tendance a été observée concernant le nombre de nodules formés. Aucun nodule n'a été observé sur le système racinaire des plantules élevées sur le sol envahi par *G. banksii*. Travaillant sur d'autres espèces de plantes invasives (*Gmelina arborea* et *Eucalyptus camaldulensis*), des auteurs ont déjà signalé que la propagation de ces espèces inhibe le développement de la communauté microbienne endogène (Sanon *et al.*, 2009 ; Kisa *et al.*, 2007). Ce qui a été également confirmé par les résultats relatifs aux taux de mycorhization des plantules de *D. trichocarpa*. En effet, le pourcentage de racines mycorhizées des plantules de *D. trichocarpa* a été significativement plus élevé dans le sol de la forêt par rapport à ceux enregistrés dans le sol témoin et le sol anciennement envahi par la plante exotique.

Tableau 7. Activités enzymatiques et développement de *D. trichocarpa* sur des sols envahis ou non par *G. banksii*

	Sol de la forêt	Sol sous <i>G. banksii</i>	Sol témoin
Biomasse aérienne de <i>D. trichocarpa</i>	(*)0,12 b	0,05 a	0,07 ab
Biomasse racinaire de <i>D. trichocarpa</i>	0,04 a	0,04 a	0,04 a
Biomasse totale de <i>D. trichocarpa</i>	0,16 b	0,1 a	0,12 ab
Taux de nodulation de <i>D. trichocarpa</i> (nombre de nodules par plante)	2,71 b	0 a	2,66 b
Taux de mycorhization de <i>D. trichocarpa</i> (% de racines mycorhizées par plante)	54,66 b	23,33 a	17,03 a
Activité microbienne globale (μg de di acétate de fluorescéine hydrolysée $\text{h}^{-1}\text{g}^{-1}$ de sol sec)	18,51 a	14,07 a	12,22 a
Activité de la phosphatase alcaline (μg de p-nitrophénol. $\text{h}^{-1}.\text{g}^{-1}$ de sol sec)	44,84 a	63,01 a	99,04 b
Activité de la phosphatase acide (μg de p-nitrophénol. $\text{h}^{-1}.\text{g}^{-1}$ de sol sec)	127,30 b	85,317 a	110,95 b

(*) Les données dans la même ligne suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-Keuls ($p < 0,05$).

Entre le sol témoin et le sol envahi par *G. banksii*, le taux de mycorhization des plantules reste similaire avec une légère augmentation dans le sol de *G. banksii* bien que la différence ne soit pas significative. Globalement, la propagation de la plante exotique suivie de la plantation de *D. trichocarpa* n'a pas provoqué d'importante modification au niveau de l'activité microbienne du sol. Les activités microbiennes globales observées dans les trois types de sol ont été similaires après la culture de *D. trichocarpa*. Par contre, la précolonisation du sol par *G. banksii* a fortement inhibé l'activité des phosphatases alcalines. Sur ce dernier point, certains auteurs ont déjà mentionné que la propagation des plantes exotiques induit la réduction du Ph du sol et limite ainsi l'activité de certains enzymes du sol (Kourtev *et al.*, 2002a ; 2002b ; 2003 ; Ehrenfeld *et al.*, 2001).

6. DISCUSSION GENERALE

Les deux écorégions concernées, à savoir l'écorégion du Centre et l'écorégion de l'Est, sont parmi les plus diversifiées des écorégions de Madagascar. Parmi les composantes biologiques de ces écosystèmes, les microorganismes du sol et plus particulièrement les champignons mycorhiziens, sont fortement impliqués dans la dynamique et la conservation du couvert végétal. En effet, une grande diversité de champignons mycorhiziens sont associés avec des nombreuses espèces d'arbres forestiers de haute importance socio-économique et avec des espèces arbustives natives des écosystèmes étudiés. Par ailleurs, des formes d'interaction positive s'observent également entre les différentes espèces végétales qui coexistent, notamment entre les espèces arbustives et les espèces ligneuses qui semblent avoir des difficultés à s'adapter sur les milieux dégradés et/ou perturbés. Cependant, certaines espèces végétales peuvent avoir des impacts négatifs sur le fonctionnement biologique d'un écosystème comme c'est le cas de *Grevillea banksii*, une espèce d'arbre exotique envahissante dans la partie orientale de la Grande Île. La propagation de cette plante entraîne une réduction significative de la diversité et de l'efficacité des champignons mycorhiziens du sol au détriment des espèces autochtones dont le cycle de développement est principalement régi par la symbiose mycorhizienne (Ramanankierana *et al.*, 2007). En effet, les espèces végétales sont susceptibles de générer, *via* des «*feedbacks*» (rétroactions) positifs ou négatifs, des «*niches écologiques*» distinctes lors de leur développement. Ces niches écologiques générées peuvent soit favoriser la coexistence entre les espèces végétales (cas de *Uapaca bojeri* et de *Leptolaena bojeriana*), soit inhiber la croissance des autres espèces végétales et/ou à terme permettre la mise en place d'un peuplement végétal dominé par une seule espèce (cas des plantes invasives).

De ce fait, d'un côté la structure et le fonctionnement des communautés de champignons mycorhiziens dans le sol sont fortement reliés au type de végétation épigée et d'un autre côté, les espèces fongiques actives dans le sol influencent le cycle de développement des plantes et en même temps le bon déroulement de la succession végétale (Martineau et Saugier, 2006 ; Randriambanona, 2008). En effet, il y a le transfert ou le partage des symbiotes fongiques d'une plante à une autre qui tend à favoriser l'installation ou la régénération d'autres espèces végétales. Les espèces arbustives pionnières des zones dégradées sont parmi les principaux

acteurs en stimulant les microorganismes bénéfiques *via* l'amélioration de la qualité physico-chimique et microbiologique du sol (Pidwirny, 2006).

Il convient alors dans ce cas de gérer d'une manière rationnelle les communautés de champignons mycorhiziens dans leur milieu naturel et de favoriser des pratiques susceptibles de maintenir ou de restaurer le potentiel infectieux mycorhizogène des sols *via* la couverture végétale. La valorisation des plantes mycotrophes autochtones ou la technologie d'inoculation mycorhizienne est à prioriser afin d'éviter les risques d'invasion biologique par les espèces non endogènes. Dans ce sens, l'utilisation des espèces arbustives pionnières dans la restructuration des propriétés microbiologiques et chimiques du sol et dans la revégétalisation préliminaire des zones perturbées et/ou dégradées constitue une option intéressante. Cette technique pourrait être utilisée pour la conception de reboisements « multispécifiques », et permettrait d'éviter ainsi les problèmes issus des plantations « monospécifiques » ou l'appauvrissement des sols. Par la même occasion, elle augmenterait la diversité et l'hétérogénéité de la forêt restaurée et améliorerait aussi les processus de revégétalisation des zones dégradées.

7. REFERENCES

- Agerer, R. (1987-1996). Color atlas of ectomycorrhizae. Schwäbisch Gmünd: Einhorn-Verlag Eduard Dietenberger
- Aguilera, L.E., Gutiérrez, J.R. & Meserve, P.L. (1999). Variation in soil micro-organisms and nutrients underneath and outside the canopy of *Adesmia bedwellii* (Papilionaceae) shrubs in arid coastal Chile following drought and above average rainfall. *Journal of Arid Environment*, 42(1): 61-70
- Aubreville, A. (1953). Il n'y aura pas de guerre de l'*Eucalyptus* à Madagascar. *Bois et Forêts des Tropiques*, 30: 3-7
- Binggeli, P. (2003). Introduced and invasive plants. In: Goodman SM, Benstead JP (ed). *The natural history of Madagascar*. The University of Chicago Press, Chicago, pp 257-268
- Borchers, S.L. & Perry, D.A. (1990). Growth and ectomycorrhiza formation of Douglas-fir seedlings grown in soils collected at different distances from pioneering hardwoods in southwest Oregon clear-cuts. *Canadian Journal of Forest Research*, 20:712-721
- Brown, K.A. & Gurevitch, J. (2004). Long term impacts of logging on forest diversity in Madagascar. *Proceeding of the National Academic Sciences USA*, 101:6045-6049

- Carrière, S.M., Randrianasolo, E. & Hennenfent, J. (2008). Aires protégées et lutte contre les bioinvasions : des objectifs antagonistes? Le cas de *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae) autour du parc national de Ranomafana à Madagascar. *Vertigo*, 8(1):1-14
- Dickie, I.A., Guza, R.C., Krazewski, S.E. & Reich, P.B. (2004). Shared ectomycorrhizal fungi between a herbaceous perennial (*Helianthemum bicknellii*) and oak (*Quercus*) seedlings. *New Phytologist*, 164: 375-382
- Ducouso, M., Béna, G., Bourgeois, C., Buyck, B., Eyssartier, G., Vincelette, M., Rabevohitra, R., Randrihasipara, L., Dreyfus, B. & Prin, Y. (2004). The last common ancestor of Sarcoleanaceae and Asian dipterocarp trees was ectomycorrhizal before the Indian – Madagascar separation, about 88 million years ago. *Molecular Ecology*, 13: 231-236
- Ducouso, M., Ramanankierana, H., Duponnois, R., Rabévohitra, R., Randrihasipara, L., Vincelette, M., Dreyfus, B. & Prin, Y. (2008). Mycorrhizal status of native trees and shrubs from eastern Madagascar littoral forests with special emphasis on one new ectomycorrhizal endemic family, the Asteropeiaceae. *New Phytologist*, 178: 233-238
- Duponnois, R., Founoune, H., Masse, D. & Pontanier, R. (2005). Inoculation of *Acacia holosericea* with ectomycorrhizal fungi in a semi-arid site in Senegal: growth response and influences on the mycorrhizal soil infectivity after 2 years plantation. *Forest Ecology and Management*, 207: 351-362
- Duponnois, R., Plenchette, C. & Bâ, A.M. (2001). Growth stimulation of seventeen fallow leguminous plants inoculated with *Glomus aggregatum* in Senegal. *European Journal of Soil Biology*, 37: 181-186
- Ehrenfeld, J.G., Kourtev, P. & Huang, W. (2001). Changes in soil functions following invasions of exotic understory plant in deciduous forests. *Ecological Applications*, 11: 1287-1300
- Founoune, H., Duponnois, R., Bâ, A.M., Sall, S., Branget, I., Lorquin, J., Chotte, J.L. & Neyra, M. (2002). Evidence of Mycorrhization Helper Bacteria associated with the ectomycorrhizal symbiosis of *Acacia holosericea* with *Pisolithus albus* in West Africa. *New Phytologist*, 153: 81-90
- Gómez-Aparicio, L., Gómez, J.M., Zamora, R. & Boettinger, J.L. (2005a). Canopy vs. soil effects of shrubs facilitating tree seedlings in Mediterranean montane ecosystems. *Journal of Vegetation Sciences*, 16(2): 191-198

- Gómez-Aparicio, L., Valladares, F., Zamora, R. & Quero, J.L. (2005b) Response of tree seedlings to the abiotic heterogeneity generated by nurse shrubs: an experimental approach at different scales. *Ecography* 28:757-768
- Goodman, S.M. & Benstead, J.P. (2003). The natural history of Madagascar. The University of Chicago Press. Chicago
- Goodman, S.M. & Razafindratsita, V.R. (2001). Inventaire biologique du Parc National de Ranomafana et du couloir forestier qui la relie au Parc National d'Andringitra. Antananarivo, Madagascar, CIDST. Recherches pour le développement n°17
- Gratton, C. & Denno, R.F. (2005). Restoration of anthropoid assemblages in a *Spartina* salt marsh following removal of the invasive plant, *Phragmites australis*. *Restoration Ecology*, 13: 358-372
- Heims, R. (1937). Les Lactario-Russulées du domaine oriental de Madagascar. Prodrôme à une flore mycologique de Madagascar. Supplément de la revue de Mycologie. t.i. fasc.4. Paris
- Horton, T.R., Bruns, T.D. & Parker, V.T. (1999). Ectomycorrhizal fungi associated with *Arctostaphylos* contribute to *Pseudotsuga menziesii* establishment. *Canadian Journal of Botany*, 77: 93-102
- Humbert, H. & Cours Darné, G. (1965). Note de la carte de Madagascar. Travaux de la section scientifique et technique de l'Institut français de Pondichéry, Hors série n°6
- INVAM (1997). [www:http://invam.caf.wvu.edu](http://invam.caf.wvu.edu)
- Käss, E. & Wink, M. (1997). Phylogenetic relationships in the Papilionoideae (family Leguminosae) based on nucleotide sequences of cpDNA (*rbcL*) and ncDNA (*ITS1* and 2). *Molecular Phylogenetic Evolution*, 8: 65-88
- Kisa, M., Sanon, A., Thioulouse, J., Assigbetse, K., Sylla, S., Spichiger, R., Dieng, L., Berthelin, J., Prin, Y., Galiana, A., Lepage, M. & Duponnois, R. (2007). Arbuscular mycorrhizal symbiosis can counterbalance the negative influence of the exotic tree species *Eucalyptus camaldulensis* on the structure and functioning of soil microbial communities in a sahelian soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 62 (1): 32-44
- Kourtev, P.S., Ehrenfeld, J.G. & Haegglblom, M. (2002a). Exotic plant species alter the microbial community structure and function in the soil. *Ecology*, 83(11): 3152-3166
- Kourtev, P.S., Ehrenfeld, J.G. & Huang, W.Z. (2002b). Enzyme activities during litter decomposition of two exotic and two native plant species in hardwood forests of New Jersey. *Soil Biology and Biochemistry*, 34: 1207-1218

- Kourtev, P.S., Ehrenfeld, J.G. & Haggblom, M. (2003). Experimental analysis of the effect of exotic and native plant species on the structure and function of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 35: 895-905
- Kull, C.A., Tassin, J. & Rangan, H. (2007). Multifunctional, Scrubby, and Invasive Forests? Wattles in the Highlands of Madagascar. *Mt Research and Development*, 27 (3): 224-231
- Martineau, Y. & Saugier, B. (2006). Comportement contre-intuitif d'un modèle mécaniste de succession végétale. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Biologie*, 329: 21-30
- Masters, R.A. & Sheley, R.L. (2001). Principles and practices for managing rangeland invasive plants. *Journal of Rangeland Management*, 54: 502-517
- MEDD (2004). Stratégie nationale pour la biodiversité : enjeux, finalités, orientations, Ministère de l'Ecologie et du développement Durable. République Française, Paris
- MEFT, USAID, CI (2009). Evolution de la couverture de forêts naturelles à Madagascar, 1990-2000-2005
- Mittermeier, R.A., Robles, G.P., Hoffmann, M., Pilgrim, J., Brooks, T., Mittermeier, C.G., Lamoreux, J. & Da Fonseca, GAB. (2004). Hotspots Revisited. Garza Garcia N.L. Mexico: CEMEX.)
- Moat, J. & Smith, P. (2007). Atlas de la végétation de Madagascar. Royal Botanic Garden, Kew, UK
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Da Fonseca, G.A.B. & Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403: 853-858
- Phillips, J.M. & Hayman, D.S. (1970). Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55:158-161
- Phillipson, P.B. et al. (2006). A catalog of the vascular plants of Madagascar. In: Ghazanfar A, Beentje HJ (eds) *Taxonomy and ecology of African plants, their conservation and sustainable use*. Proceedings of the 17th AETFAT Congress, Addis Ababa, Ethiopia. Royal Botanical Gardens, Kew, pp 613-627
- Pidwirny, M. (2006). "Plant Succession". *Fundamentals of Physical Geography*, 2nd Edition
- Plenchette, C. (1983). Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. *Plant and Soil*, 70: 199-209
- Rakotondrainibe, F. (2002). Liste commentée des ptéridophytes de la Reserve Spéciale de Manongarivo, Madagascar. In: Gautier L et Goodman SM (eds) *Inventaire*

- floristique et faunistique de la Réserve spéciale de Manongarivo (NW Madagascar). *Boissiera*, 59: 81-104
- Ramanankierana, H., Ducouso, M., Rakotoarimanga, N., Prin, Y., Thioulouse, J., Randrianjohany, E., Ramaroson, L., Kisa, M., Galiana, A. & Duponnois, R. (2007). Arbuscular mycorrhizas and ectomycorrhizas of *Uapaca bojeri* L (Euphorbiaceae): sporophore diversity, patterns of root colonisation, and effects on seedlings growth and soil microbial catabolic. *Mycorrhiza*, 17:195-208
- Randriambanona, H.A. (2008). Successions écologiques dans les plantations de Pinus, D'acacia et dans les forêts naturelles de la région Nord-Ouest du corridor de Fianarantsoa (Madagascar). Thèse de Doctorat en Sciences de la vie (Biologie et Ecologie Végétales). Faculté des Sciences Université d'Antananarivo Madagascar
- Randrianarisoa, A., Raharinaivosoa, E. & Kollf, H.E. (2008). Des effets de la gestion forestière par les communautés locales de base a Madagascar: Cas d'Arivonimamo et de Merikanjaka sur les Hautes Terres de Madagascar. Workshop on Forest Governance & Decentralization in Africa. 8-11 April 2008, Durban, South Africa
- Rasolohery, A., Steininger, M., Ramaroson, B., Ranaivosoa, R. & Razafindramanga, M. (2007) Madagascar, changement de la couverture des forêts naturelles 1990-2000-2005. Carte : 1/1300000. Minenvf & USAID, Madagascar
- Sanon, A., Béguiristain, T., Cébron, A., Berthelin, J., Ndoye, I., Leyval, C., Sylla, S. & Duponnois, R. (2009). Changes in soil diversity and global activities following invasions of the exotic invasive plant, *Amaranthus viridis* L. decrease the growth of native sahelian Acacia species. *FEMS Microbiology Ecology*, 70:118-131
- Saunders, A. & Norton, D.A. (2001). Ecological restoration at Mainland Islands in New Zealand. *Biological Conservation*, 99(1) :109-119
- Scott, N.A., Tate, K.R., Ford, R.J., Giltrap, D.J. & Smith, C.T. (1999). Soil carbon storage in plantation forests and pastures: land-use change implications. *Tellus Series B Chemical and Physical Meteorology*, 51:326-335
- Sieverding (1991). Vesicular Arbuscular Mycorrhiza Management in Tropical Agrosystems. GTZ, Eschborn, Germany
- Simberloff, D. (2005) Non-native species do threaten the natural environment. *J Agric Environ Ethic* 18:595-607
- Vitousek, P.M. & Walker, L.R. (1989). Biological invasion by *Myrica faya* in Hawaii: plant demography, nitrogen fixation, ecosystem effects. *Ecological Monographs*, 59: 247-265

Walker, C. (1983). Taxonomic concepts in the Endogonaceae. I. Spore wall characteristics in species description. *Mycotaxon*, 18: 443-445

CHAPITRE 2

**SYMBIOSE MYCORHIZIENNE ET ECOSYSTEMES
INSULAIRES**

**EXEMPLES D'ETUDES REALISEES EN
NOUVELLE-CALÉDONIE**

**DIVERSITE DES SYMBIOSES ECTOMYCORHIZIENNES DANS LES ECOSYSTEMES
FORESTIERS NATURELS SUR SOLS ULTRAMAFIQUES DE NOUVELLE-
CALEDONIE**

PAR PRIN Y.^{1*}, DUCOUSSO M.¹, TASSIN J.^{2,3}, BENA G.⁴, JOURAND P.⁵, DUMONTET V.⁶,
MOULIN L.⁴, CONTESTO C.⁴, AMBROSI J. P.^{5,7}, CHAINTREUIL C.⁴, DREYFUS B.⁴, LEBRUN M.⁴,

5

Dédié à la mémoire de notre ami Nicolas Perrier

¹ Cirad UMR LSTM, 34398 Montpellier Cedex 5, France.

² IAC, Forêt, F-98800 Nouméa, Nouvelle-Calédonie.

³ Cirad, UPR Dynamique des forêts naturelles, 34398 Montpellier Cedex 5.

⁴ IRD, UMR LSTM, F-34398 Montpellier Cedex 5, France.

⁵ IRD, F-98848 Nouméa, Nouvelle-Calédonie.

⁶ CNRS, Laboratoire des plantes médicinales, 98848 Nouméa Cedex, Nouvelle-Calédonie.

⁷ CNRS UMR CEREGE, F-13545 Aix-en-Provence, France.

1. INTRODUCTION

La Nouvelle-Calédonie est un groupe relativement restreint d'îles (20 000 km²), situé dans l'océan Pacifique sud. Son histoire géologique est directement liée à celle du supercontinent Gondwana jusqu'à 80 millions d'années lorsque la marge orientale du Gondwana a commencé à se briser (Veevers, 1986 ; Veevers *et al.*, 1991). Une histoire géologique complexe a conduit à la mise en place de grands gisements de minerai de nickel situés dans le régolithe latéritique, ce qui, selon l'International Nickel Study Group, place cette île au 4^e rang mondial pour la production de minerai de nickel sur la période 1993-2001.

Le massif du Koniambo est l'un de ces gisements de minerai, tous relativement isolés les uns des autres, dans la province du Nord. Il est en cours d'exploitation par le groupe minier KNS (Xtrata et SMSP consortium) pour établir une mine de nickel à ciel ouvert. Les sols présents sur le massif du Koniambo peuvent être classés comme oxisols fortement altérés, formés d'une majorité (50 à 85 %) d'oxydes de fer nodulaire. Ces sols sont caractérisés par une carence en éléments nutritifs majeurs (N, P, K), des concentrations élevées de métaux lourds toxiques : Fe, Ni, Cr, Co, Mn (Perrier *et al.*, 2006a) et un fort déséquilibre du ratio Ca/Mg.

La flore de Nouvelle-Calédonie comprend environ 3 300 espèces, dont 74,5 % sont endémiques à l'île (Jaffré *et al.*, 2001). Ce taux d'endémisme atteint 90 % sur les terrains ultramafiques, avec environ 1 840 espèces (Jaffré, 1974).

Dans ces conditions édaphiques particulièrement drastiques, les sociétés minières ont la contrainte de procéder à la restauration écologique des sites miniers après exploitation, ce qui est un défi majeur, compte tenu du manque de connaissances sur ces écosystèmes, leur flore et leurs symbioses associées. Ces symbioses, qu'elles soient ectomycorhiziennes (ECM) ou à arbuscules (AM) sont essentielles dans l'adaptation des plantes aux conditions de sol (Jentschke et Godbold, 2000 ; Stahl *et al.*, 1988). En ce qui concerne les symbioses AM, Perrier *et al.* (2006b) ont décrit le statut (fréquence de la colonisation mycorhizienne et intensité) de 10 espèces différentes de plantes dans le massif du Koniambo. Pour les ECM dans ces écosystèmes, quelques informations fragmentaires étaient disponibles soit pour certaines des espèces de plantes étudiées par Perrier *et al.* (2006b), soit à travers la description d'une espèce nouvelle, *Cantharellus garnierii* par

Ducouso *et al.* (2004). Cependant, la diversité et la répartition des symbioses ECM à l'échelle des différents écosystèmes de la végétation endémique restaient à explorer.

L'objectif de cette étude est (i) d'étudier la composition floristique des écosystèmes dans une zone identifiée par la compagnie minière comme étant typique des sites exploités, (ii) de caractériser la diversité des champignons ECM naturellement associés aux plantes ECM au sein de ces écosystèmes.

2. MATERIELS ET METHODES

2.1. ETUDE DU SITE

Le massif du Koniambo est l'un des massifs ultramafiques isolés sur la côte ouest de Nouvelle-Calédonie (fig. 1 A et B). Il a une superficie totale de 381 km² et culmine à 930 m. Le climat sur le massif du Koniambo peut être défini par deux saisons différentes, une saison humide allant de janvier à avril (en moyenne 250 mm de précipitations mensuelles) et une saison sèche de mai à décembre (en moyenne 100 mm de précipitations mensuelles).

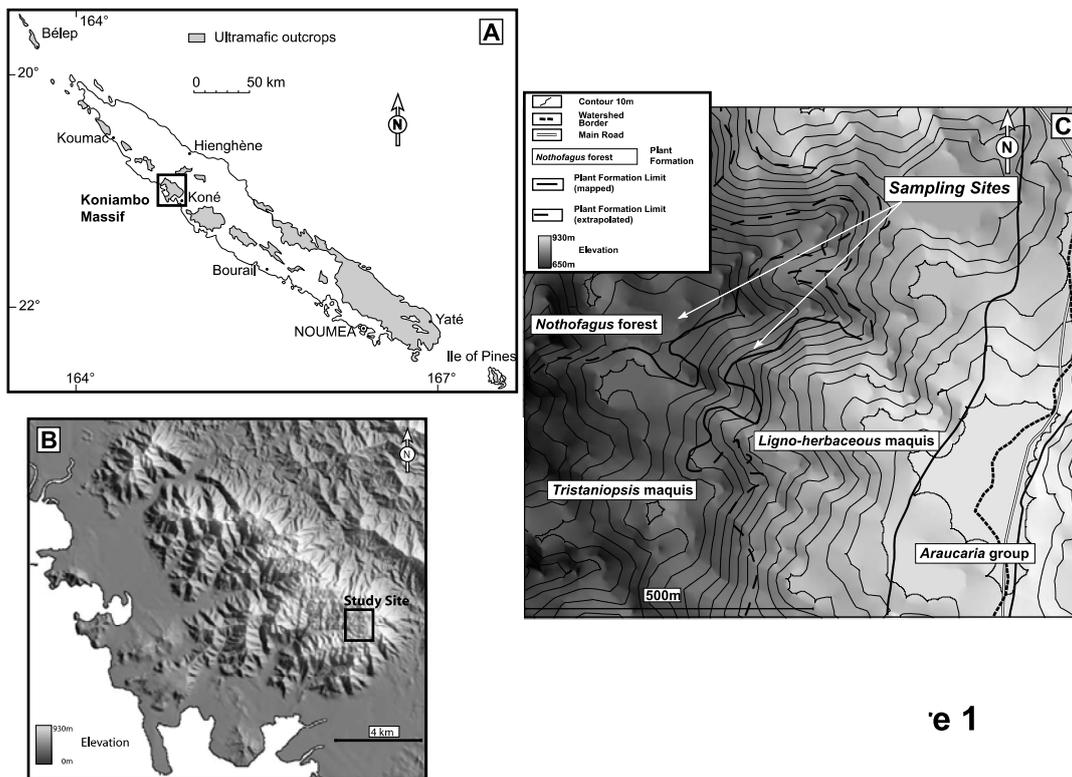
Le régime des vents est généralement constitué par les alizés soufflant selon une direction ESE. La température moyenne du Koniambo varie (à 900 m d'altitude) de 22 °C dans les mois d'été (janvier-mars) à 14 °C en hiver (juillet à septembre).

Le substrat de ce massif est principalement composé d'harzburgite (un type de péridotite formé d'olivine, de minéraux et d'orthopyroxène) avec des inclusions de dunite et de gabbro. L'altération latéritique de ce substrat a conduit à la formation d'un régolithe épais et riche en nickel.

Le site d'échantillonnage est situé dans le bassin versant de la rivière Pandanus sur une pente allant de 883 à 700 m (21° 00' 32" S, 164° 50' 17" E et 21° 00' 25" S, 164° 49' 45" E).

Dans une analyse floristique de l'ensemble du massif, Jaffré (1974) répertorie 650 espèces de plantes réparties en 12 communautés végétales différentes.

Figure 1 : (A) Carte des zones ultramafiques de Nouvelle-Calédonie (en gris), (B) Carte en relief du massif du Koniambo avec le site expérimental, (C) Carte en relief du bassin versant de la rivière Pandanus dans le massif du Koniambo avec localisation des communautés floristiques et des sites d'échantillonnage.



e 1

La végétation est un assemblage de maquis et de forêts. Les maquis peuvent être de différents types, dominés, en dessous de 500 m, par des angiospermes arbustives ou arborescentes (hauteur de 6-10 m) comme *Gymnostoma chamaecyparis* (Poiss. LAS Johnson) ou, de 400 à 900 m, par des espèces arbustives du genre *Tristaniopsis*. Dans les vallées à plus de 600 m, les forêts tropicales sont dominées par *Nothofagus balansae* (Baill.) Steenis et *Nothofagus codonandra* (Baill.) Steenis. La nomenclature botanique est utilisée selon The International Plant Index (2008).

2.2. ANALYSES FLORISTIQUES

Les inventaires floristiques ont été réalisés sur 80 parcelles de 100 m², situées au hasard le long d'un gradient altitudinal allant du plateau, à 882 m, au talweg, à 700 m, et incluant

différents types de végétation. Soixante parcelles étaient situées dans le maquis et 20 dans la forêt. Le nombre de parcelles dans chaque type de communauté végétale était approximativement proportionnel à leur surface relative (fig. 1C). L'échelle d'abondance-dominance de Braun-Blanquet a été utilisée pour décrire l'abondance des espèces dans chaque parcelle. Les fréquences ont été déduites des pourcentages de chaque classe selon Braun-Blanquet (Braun-Blanquet *et al.*, 1932). Les données ont été traitées en analyse de correspondances (Greenacre, 1984), à l'aide du logiciel ADE4 (Thioulouse *et al.*, 1997).

2.3. SYMBIOSES ECTOMYCORHIZIENNES

Les sporocarpes de champignons ectomycorhiziens (ECM) ont été prélevés à quatre dates différentes (juin et juillet 2002, juillet et décembre 2003), sous les espèces d'arbres identifiés, et tous situés dans les communautés floristiques 3 et 4, dans le même site du bassin de la rivière Pandanus. Chaque sporocarpe a été photographié et répertorié. Un petit fragment de chair ($\approx 0,5 \text{ cm}^3$) de chaque échantillon a été réparti dans 10 tubes en plastique, en présence de Silicagel (Prolabo, France) pour séchage rapide et conservé à température ambiante pour l'extraction d'ADN. Les sporocarpes ont ensuite été séchés à l'air à 40 °C, et déposés à l'herbier de Paris Cryptogamie (PC) (Paris, France). L'identification a été basée sur les caractères macroscopiques et microscopiques des basidiomes. Pour la plupart des spécimens, l'identification n'a pas été possible au niveau de l'espèce (limitée au niveau du genre), les écosystèmes d'origine ayant été très peu étudiés par les taxonomistes (Horak et Mouchacca, 1998). En complément, différents morphotypes (couleur, forme) d'apex ECM de chacune des quatre espèces de plantes ECM ont été prélevés au hasard à partir des racines superficielles. Afin de déterminer leur plante-hôte, ces apex ont été suivis *via* leur racine porteuse jusqu'au tronc de l'arbre porteur. Pour l'extraction d'ADN, les échantillons ECM ont été rapidement séchés en présence de Silicagel (Prolabo, France) et conservés à température ambiante. Des échantillons de même origine et morphotype ont été fixés dans le mélange glycérol/éthanol/eau (1:1:1, V/V/V) pour les observations morphologiques et microscopiques. Pour les racines ECM, des sections ont été réalisées à main levée, puis éclaircies avec une solution d'hypochlorite de sodium à 20 %, rincées à l'eau, et colorées au rouge Congo et observées au microscope. Les racines ont été considérées comme ECM quand elles présentaient un manteau fongique et un réseau de

Hartig. Des échantillons de sol agrégé par du mycélium ont également été récoltés et conservés à 4 °C jusqu'à l'extraction d'ADN. Des nodules d'oxyde de fer, constituant le sol, et colonisés par du mycélium ont été récoltés.

2.4. CARACTERISATION MOLECULAIRE

Les extractions d'ADN ont été réalisées à partir de chair de sporocarpes séchés, à partir d'une seule pointe ECM, à partir du mycélium du sol ou d'une particule d'oxyde de fer unique à l'aide du DNeasy Plant Mini kit selon les recommandations du fabricant (Qiagen, Courtaboeuf, France). Un fragment d'environ 600 pb de l'espace ribosomique transcrit (ITS) incluant l'ADNr 5,8 S a été amplifié en utilisant les amorces spécifiques ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') et ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al.*, 1990). La réaction PCR a été faite dans un volume total de 25 µl, comprenant de 1 µl d'ADN génomique, 1 uM de chaque amorce, 1,5 unité de Taq ADN polymérase (Amersham Pharmacia Biotech), 200 uM de chaque dNTP, 10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl et 1,5 mM de MgCl₂. L'amplification a été réalisée avec une machine PCR (GenAmp PCR System 2400, Perkin Elmer) programmée comme suit : 1 passage de 5 min à 95 °C, suivi de 35 cycles : 94 °C pendant 30 s, 50 °C pendant 30 s, 72 °C pendant 1 min 30 s, puis une extension finale à 72 °C pendant 7 min. Les produits de PCR ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose (Sigma) dans un tampon TAE 1 % (poids/volume), coloré au bromure d'éthidium à 10 pg/ml dans le tampon. Les bandes d'ADN ont été visualisées par fluorescence sous lumière UV et photographiés.

2.5. SEQUENÇAGE ET PHYLOGENIE

Le séquençage a été réalisé avec chacune des 2 amorces ITS1 et ITS4. Chaque produit de PCR a été extrait du gel d'agarose et purifié en utilisant le kit QIA (Quick Gel Extraction) suivant les recommandations du fabricant. Le séquençage a été réalisé avec le kit ABI Prism BigDye Terminator (Applied Biosystems, Foster City, Californie) sur un séquenceur Applied Biosystems modèle 310 (Applied Biosystems, Foster City, Californie). Les

séquences d'ADN ont été déposées dans la base de données NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) sous les numéros FJ656000 à FJ656047.

2.6. ANALYSES PHYLOGENETIQUES

Les séquences ITS obtenues ont été comparées à la base de données Genbank en utilisant l'algorithme BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). Des alignements multiples ont été effectués avec Clustal X (Thompson *et al.*, 1997) ou Muscle 3,6 (Edgar, 2004), et corrigés manuellement avec le logiciel Genedoc (Nicholas et Nicholas, 1997). L'analyse phylogénétique a porté sur les séquences ITS complètes (ITS1-5.8S-ITS2) des espèces du genre *Cortinarius* (genre le plus représenté) et ajoutées à l'alignement de Peintner *et al.* (2001) disponible sur Treebase (numéro d'accèsion S636 : M988-990), enrichi de quelques séquences de *Cortinarius* issues de l'hémisphère sud (voir tableau 1).

Tableau 1. Liste des séquences de référence et des numéros d'accèsion GenBank utilisés. Les noms et sous-genres utilisés sont ceux de Peintner *et al.* (2001, 2004).

Genre/Espèce	Origine géogr.	Sous-genre	access. GenBank
<i>Cortinarius acutus</i>	Europe	<i>Acutus</i>	AF325578
<i>Cortinarius albocanus</i>	Chili	<i>Myxotelamonia</i>	AF325599
<i>Cortinarius alboviolaceus</i> 1	USA	<i>Telamonia</i>	AF325597
<i>Cortinarius alboviolaceus</i> 2	Europe	<i>Telamonia</i>	AF325596
<i>Cortinarius allutus</i>	Europe	<i>Allutus</i>	AF325585
<i>Cortinarius amoenus</i>	Chili	<i>Icterinula</i>	AF539721
<i>Cortinarius anomalus</i> 1	Europe	<i>Anomali</i>	AF325581
<i>Cortinarius anomalus</i> 2	Europe	<i>Anomali</i>	AJ236071
<i>Cortinarius armeniacus</i> 1	Europe	<i>Telamonia</i>	AF325595

<i>Cortinarius armeniacus</i> 2	Europe	<i>Telamonia</i>	AJ236074
<i>Cortinarius armillatus</i>	Europe	<i>Telamonia</i>	AJ236075
<i>Cortinarius austrovenetus</i>	Europe	<i>Dermocybe</i>	AF112147h
<i>Cortinarius bigelowii</i>	USA	<i>Phlegmacium</i>	AF325617
<i>Cortinarius brunneus</i> 1	Europe	<i>Telamonia</i>	AF325590
<i>Cortinarius brunneus</i> 2	Europe	<i>Telamonia</i>	AJ236076
<i>Cortinarius caelicolor</i>	Chili	<i>Phlegmacium</i>	AF539715
<i>Cortinarius callochrous</i>	Europe	<i>Calochroi</i>	AF325619
<i>Cortinarius campbellae</i> 1	Australie	<i>Purpurascetes</i>	AF325558
<i>Cortinarius campbellae</i> 2	Australie	<i>Phlegmacium</i> Specimen	ref Tr 18323
<i>Cortinarius caninus</i>	USA	<i>Anomali</i>	U56024
<i>Cortinarius caperatus</i> 1	Europe	<i>Rozites</i>	AJ238033
<i>Cortinarius caperatus</i> 2	Europe	<i>Rozites</i>	AF325614
<i>Cortinarius carneolus</i>	Chili	<i>Telamonia</i>	AF539712
<i>Cortinarius cinereobrunneus</i>	Argentine	<i>Myxotelamonia</i>	AF325600
<i>Cortinarius citriolens</i>	USA	<i>Phlegmacium</i>	AF325607
<i>Cortinarius collinitus</i>	Europe	<i>Myxacium</i>	AF325565
<i>Cortinarius corrosus</i>	Europe	<i>Phlegmacium</i>	AF325618
<i>Cortinarius corrugatus</i>	USA	<i>Corrugatus</i>	AF325611
<i>Cortinarius cupreorufus</i>	Europe	<i>Phlegmacium</i>	AY174831
<i>Cortinarius delibutus</i> 1	Europe	<i>Delibuti</i>	AJ236065
<i>Cortinarius delibutus</i> 2	Europe	<i>Delibuti</i>	AF325580

<i>Cortinarius elaiochrous</i>	Nelle-Zélande	<i>Cuphocybe</i>	AY033100
<i>Cortinarius elaphinus</i>	Chili	<i>Telamonia</i>	AF539725
<i>Cortinarius elegantior</i>	Europe	<i>Calochroi</i>	AF325622
<i>Cortinarius evernius</i>	Europe	<i>Telamonia</i>	AJ236077
<i>Cortinarius favrei</i>	Europe	<i>Myxacium</i>	AF325575
<i>Cortinarius flavaurora</i>	USA	<i>Calochroi</i>	AF325621
<i>Cortinarius fragilis</i>	Australie	<i>Purpurascetes</i>	AF325559
<i>Cortinarius fraudulentus</i>	Europe	<i>Phlegmacium</i>	AF325605
<i>Cortinarius gentilis 1</i>	Europe	<i>Telamonia</i>	AF325589
<i>Cortinarius gentilis 2</i>	USA	<i>Telamonia</i>	U56026
<i>Cortinarius glaucopus</i>	Europe	<i>Phlegmacium</i>	AF325604
<i>Cortinarius globuliformis</i>	Australie	<i>Dermocybe</i>	AF325582
<i>Cortinarius hercynicus</i>	Europe	<i>Cortinarius</i>	AF062631
<i>Cortinarius humicola</i>	Europe	<i>Telamonia</i>	AF325594
<i>Cortinarius laniger 1</i>	Europe	<i>Telamonia</i>	AF325592
<i>Cortinarius laniger 2</i>	Europe	<i>Telamonia</i>	AF325591
<i>Cortinarius leucopus</i>	Europe	<i>Telamonia</i>	AF325593
<i>Cortinarius limonius 1</i>	Europe	<i>Limonius</i>	U56028
<i>Cortinarius limonius 2</i>	Europe	<i>Limonius</i>	AF325588
<i>Cortinarius lividochrascens</i>	Europe	<i>Myxacium</i>	AF325565
<i>Cortinarius luteistriatulus</i>	Chili	<i>Dermocybe</i>	AF539707
<i>Cortinarius magnivelatus</i>	USA	<i>Calochroi</i>	AF325615

<i>Cortinarius mucifluus</i>	USA	<i>Myxacium</i>	AF182795
<i>Cortinarius mucosus</i>	USA	<i>Myxacium</i>	AF325574
<i>Cortinarius muscigenus</i>	USA	<i>Myxacium</i>	AF182800
<i>Cortinarius obscuroliveus</i>	Chili	<i>Dermocybe</i>	AF539708
<i>Cortinarius obtusus</i>	Europe	<i>Acutus</i>	AJ238035
<i>Cortinarius odorifer</i>	Europe	<i>Calochroi</i>	AF325620
<i>Cortinarius olivaceobubalinus</i>	Chili	<i>Dermocybe</i>	AF539736
<i>Cortinarius olivaceopictus</i> 1	USA	<i>Dermocybe</i>	U56049
<i>Cortinarius olivaceopictus</i> 2	USA	<i>Dermocybe</i>	U56050
<i>Cortinarius paragaudis</i>	USA	<i>Telamonia</i>	U56030
<i>Cortinarius parahumilis</i>	Chili	<i>Telamonia</i>	AF539731
<i>Cortinarius pavelekii</i>	USA	<i>Myxacium</i>	AF325564
<i>Cortinarius pholideus</i>	Europe	<i>Sericeocybe</i>	AJ236072
<i>Cortinarius pingue</i> 1	USA	<i>Myxacium</i>	AF325570
<i>Cortinarius pingue</i> 2	USA	<i>Myxacium</i>	AF325571
<i>Cortinarius piriforme</i>	Australie	<i>Myxacium</i>	AF325569
<i>Cortinarius porphyroides</i> 1	Nelle-Zélande	<i>Thaxterogaster</i>	AF325576
<i>Cortinarius porphyroides</i> 2	Nelle-Zélande	<i>Myxacium</i>	AF325577
<i>Cortinarius porphyropus</i> 1	Europe	<i>Purpurascetes</i>	AF325560
<i>Cortinarius porphyropus</i> 2	Europe	<i>Purpurascetes</i>	AJ236069
<i>Cortinarius pseudosalor</i>	USA	<i>Myxacium</i>	AF182792
<i>Cortinarius pugionipes</i>	Chili	<i>Phlegmacium</i>	AF539713

<i>Cortinarius rapaceus</i> 1	Chili	<i>Phlegmacium</i>	AF539723
<i>Cortinarius rapaceus</i> 2	Chili	<i>Phlegmacium</i>	AF539724
<i>Cortinarius saginus</i>	Europe	<i>Phlegmacium</i>	AF325608
<i>Cortinarius salor</i>	Europe	<i>Delibuti</i>	AF325579
<i>Cortinarius scaurus</i> 1	Europe	<i>Purpurascetes</i>	AJ236070
<i>Cortinarius scaurus</i> 2	Europe	<i>Purpurascetes</i>	AF325562
<i>Cortinarius scaurus</i> 3	Europe	<i>Purpurascetes</i>	AF325563
<i>Cortinarius</i> sp.	USA	<i>Phlegmacium</i>	AF325606
<i>Cortinarius squamiger</i>	Chili	<i>Telamonia</i>	AF539729
<i>Cortinarius subfoetidus</i>	USA	<i>Phlegmacium</i>	AF325609
<i>Cortinarius talus</i>	Europe	<i>Allutus</i>	AF325586
<i>Cortinarius tenellus</i>	Chili	<i>Telamonia</i>	AF539728
<i>Cortinarius traganus</i> 1	Europe	<i>Telamonia</i>	AF037224
<i>Cortinarius traganus</i> 2	Europe	<i>Telamonia</i>	AF325598
<i>Cortinarius trivialis</i>	Europe	<i>Myxacium</i>	AJ236066
<i>Cortinarius umbilicatus</i>	USA	<i>Telamonia</i>	U56032
<i>Cortinarius vanduzerensis</i>	USA	<i>Myxacium</i>	AF182793
<i>Cortinarius varicolor</i>	Europe	<i>Phlegmacium</i>	AJ238082
<i>Cortinarius vernicosus</i>	USA	<i>Myxacium</i>	AF182799
<i>Cortinarius verrucisporus</i>	USA	<i>Phlegmacium</i>	AF325616
<i>Cortinarius vibratilis</i> 1	Europe	<i>Ochroleuci</i>	AJ238032
<i>Cortinarius vibratilis</i> 2	USA	<i>Ochroleuci</i>	AF325584

<i>Cortinarius violaceus</i> 1	Europe	<i>Cortinarius</i>	AJ236059
<i>Cortinarius violaceus</i> 2	Europe	<i>Cortinarius</i>	AF325601
<i>Cortinarius violaceus</i> 3	USA	<i>Cortinarius</i>	AF389130
<i>Cortinarius viridibasalis</i>	Chili	<i>Telamonia</i>	AF539717
<i>Cuphocybe melliolens</i>	Nelle-Zélande	<i>Cuphocybe</i>	AF325610
<i>Dermocybe cinnamomea</i>	Europe	<i>Dermocybe</i>	AJ238030
<i>Dermocybe crocea</i>	Europe	<i>Dermocybe</i>	AJ238031
<i>Dermocybe malicoria</i>	USA	<i>Dermocybe</i>	U56045
<i>Dermocybe phoenicea</i>	Europe	<i>Dermocybe</i>	U56055
<i>Dermocybe splendida</i>	Nelle-Zélande	<i>Dermocybe</i>	AF325583
<i>Hebeloma circinans</i>			AF124699
<i>Hebeloma crustuliniforme</i>			AF124716
<i>Hebeloma fastibile</i>			AF325643
<i>Hymenogaster remyi</i>	Europe	<i>Phlegmacium</i>	AF325602
<i>Hymenogaster sublilacinus</i>	USA	<i>Phlegmacium</i>	AF325603
<i>Protoglossum luteum</i>	Australie	<i>Corrugatus</i>	AF325612
<i>Protoglossum</i> sp. 1	Nelle-Zélande		AF325613
<i>Protoglossum</i> sp. 2	Australie	<i>Acutus</i>	AF325561
<i>Quadrispora oblongispora</i>	Australie	<i>Myxacium</i>	AF325566
<i>Quadrispora</i> sp.	Australie	<i>Myxacium</i>	AF325567
<i>Thaxterogaster redactus</i>	Australie	<i>Myxacium</i>	AF325568
<i>Thaxterogaster</i> sp.	USA	<i>Myxacium</i>	AF325572

<i>Thaxterogaster violaceum</i> 1	Argentine	<i>Thaxterogaster</i>	AF325556
<u><i>Thaxterogaster violaceum</i> 2</u>	<u>Argentine</u>	<u><i>Thaxterogaster</i></u>	<u>AF325557</u>

L'analyse par maximum de vraisemblance (ML) a été établie à partir du modèle le mieux adapté selon le Model test (Posada et Crandall, 1998) sous le critère d'information d'Akaike (TRN + I + G: transition seulement, estimation des sites invariants, distribution gamma). Les gaps internes ont été traités comme des données valides (cinquième base). Les analyses de maximum de vraisemblance (ML) ont été réalisées avec le programme informatique PAUP 4.0b5, (recherches heuristiques, ajout de séquence "TEL QUEL" et méthode TBR). Les tests de « Bootstrapping » ont été effectués en ligne à l'aide de « PHYML » sur 100 répétitions, à l'aide d'un modèle GTR + I + G (NST = 6, sites invariants, distribution Gamma). La phylogénie des Cortinariaceae a également été estimée par une approche bayésienne (Huelsenbeck *et al.*, 2001), en utilisant MrBayes 3.1.2 (Ronquist et Huelsenbeck, 2003) avec quatre Monte Carlo Markov Chains (MCMC) (3 millions générations, avec une fréquence d'impression et de la température de la chaîne mise à 50 000 et 0,2, respectivement, et les longueurs de branches maintenues). Les prior utilisés pour l'inférence bayésienne ont été estimés par Modeltest (TrN+I+G). La congruence entre la topologie des arbres obtenus par ML et les inférences bayésiennes des séquences ITS des Cortinariaceae a été évaluée en utilisant le test de Shimodaira-Hasegawa (test SH avec 1 000 répétitions de bootstrap-RELL) (Shimodaira et Hasegawa, 1999), à l'aide de PAUP4. La congruence entre les arbres a été obtenue par les deux méthodes (-ln L = 12183 par ML ; -ln L = 12200 par MrBayes ; test SH valeur P = 0,254).

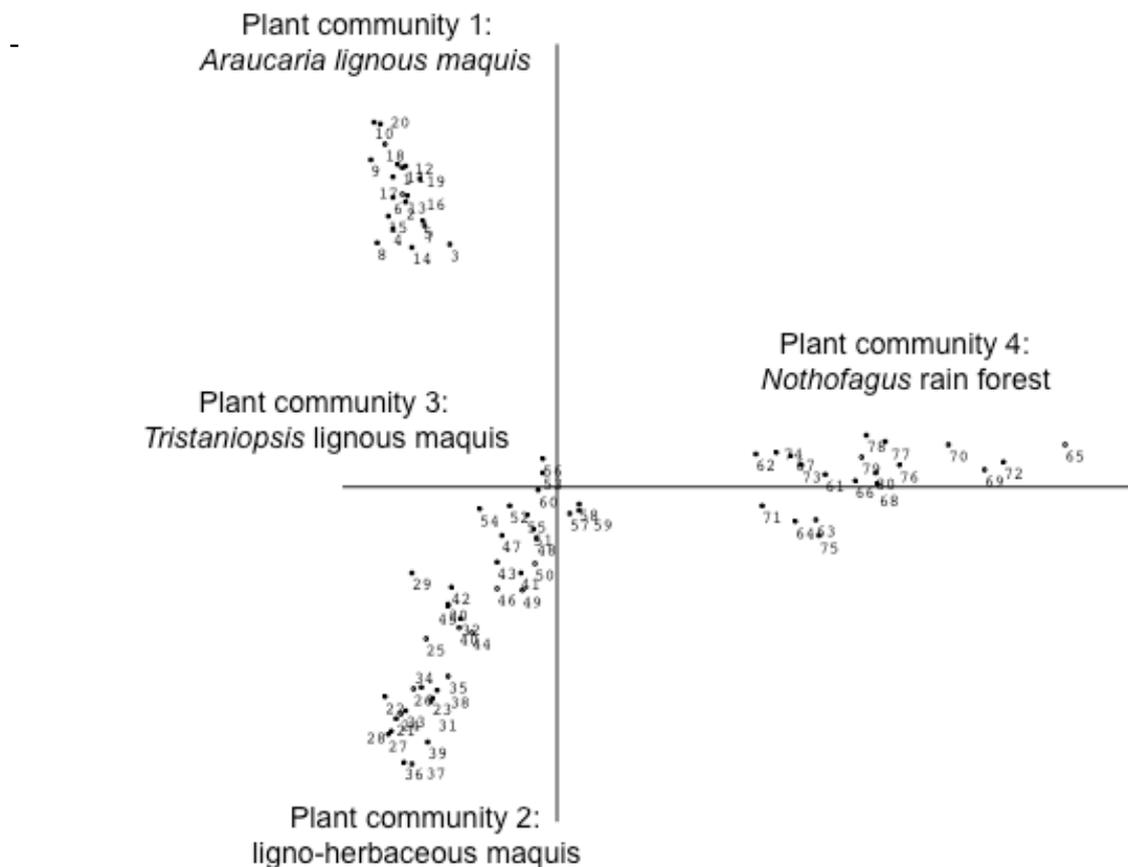
3. RESULTATS

3.1. DISTRIBUTION DE LA VEGETATION LE LONG DU GRADIENT ALTITUDINAL

Du plateau situé à 882 m au talweg à 700 m, le site présente quatre communautés végétales différentes parmi les douze groupes définis par Jaffré (1974). Les analyses statistiques confirment les changements drastiques dans la composition floristique entre les différentes

communautés de plantes, à l'exception des communautés 2 et 3 où la discontinuité est moins marquée. Les communautés végétales à *Araucaria montana* Brongn. & Gris et *Nothofagus* sont fortement isolées sur le graphe de coordination (fig. 2). La biodiversité floristique augmente nettement du haut vers la base de la toposéquence.

Figure 2 : Analyse factorielle de correspondance illustrant les changements de composition des communautés floristiques tout au long de la toposéquence, depuis le plateau (communauté floristique 1) jusqu'au talweg (communauté floristique 4).



– Communauté floristique 1 : sur le plateau, la communauté végétale est dominée par *Araucaria montana*, et 53 autres espèces de plantes ont été répertoriées. La strate ligneuse est la plus abondante (33,9 %), avec *Codia montana* JR Forst. & G. Forst. (15,7 %), *Tristaniopsis guillainii* Viell. ex Brongn. & Gris (5,7 %), *Araucaria montana* (4,3 %) et *Dracophyllum verticillatum* (Labill.) (3,5 %). La strate herbacée est moins abondante

(27,3 %), avec les ptéridophytes *Dicranopteris linearis* J. Underw. (15,0 %) et *Pteridium esculentum* (G. Forster) Cockayne (13,9 %).

– Communauté floristique 2 : sur la pente, la communauté végétale dominante est un maquis ligno-herbacé où 58 espèces de plantes ont été répertoriées. La strate herbacée est la plus abondante (85,0 %) avec *Costularia nervosa* Raynal (60,1 %), *Dicranopteris linearis* (24,8 %), *Pteridium esculentum* (15,0 %), *Schoenus neocaledonicus* (CB Clarke) (11,8 %) et *Lepidosperma perteres* CB Clarke (9,8 %). La strate ligneuse est moins abondante (55,1 %), et elle est principalement formée de *Codia montana* (35,9 %), *Dracophyllum ramosum* Pancher ex Brongn. & Crassifolius Gris (9,7 %) et *Myodocarpus* (Dubard & R. Viguier) (7,0 %).

– Communauté floristique 3 : sur la partie inférieure de la pente, la communauté végétale dominante est un maquis, avec 72 espèces de plantes. La strate ligneuse est la plus abondante (80,0 %), et est principalement formée de *Tristaniopsis guillainii* (50,5 %), *Tristaniopsis callobuxus* Brongn. & Gris (27,0 %) et *Codia montana* (23,5 %). La strate herbacée est moins abondante (34,5 %) avec *Costularia nervosa* (22,2 %) et *Lepidosperma perteres* (12,13 %).

– Communauté floristique 4 : dans le talweg, la communauté végétale est une forêt tropicale dominée par 2 espèces de *Nothofagus* et 81 autres espèces ont été répertoriées. L'espèce végétale dominante est *Nothofagus balansae* (62,5 %) qui représente la plus haute strate, *Callophylum caledonicum* (Vieill.) (8,9 %) fait également partie de la plus haute strate. *Nothofagus codonandra* est présent dans cette communauté, mais en « patches », sous une forme monodominante, avec seulement un léger chevauchement entre les deux espèces de *Nothofagus*. La strate moyenne est hétérogène, les espèces les plus abondantes sont *Styphelia pancheri* [Brongn. & Gris) F. Muell.] (11,7 %), *Basselinia gracilis* (Brongn. & Gris) Vieill.) (6,45 %), *Pancheria ferruginea* (Brongn.) (3,3 %) et *Rapanea assymetrica* (Mez). La strate herbacée est représentée essentiellement par *Lepidosperma perteres* (7,23 %) et *Costularia arundinacea* (1,5 %).

3.2. ARBRES ECTOMYCORHIZIENS

Les systèmes racinaires des plantes de chaque communauté végétale ont été observés au microscope afin de caractériser les associations symbiotiques. Dans le groupe *Araucaria montana* sur le plateau (communauté floristique 1) et les maquis ligno-herbacées sur la pente (communauté floristique 2), toutes les plantes sont à mycorhizes arbusculaires, ce qui confirme les observations de Perrier *et al.* (2006b) et aucune symbiose ECM a été observée. Dans le maquis à *Tristaniopsis* (communauté floristique 3) et la forêt à *Nothofagus* (communauté floristique 4), l'ectomycorhization est limitée aux espèces végétales dominantes (*Tristaniopsis guillainii*, *T. calobuxus*, *Nothofagus balansae* et *N. codonandra*, respectivement) présentant au microscope les structures typiques du manteau fongique autour des racines et un réseau de Hartig (fig. 3E).

3.3. DIVERSITE FONGIQUE

Un total de 48 échantillons ont été analysés, 11 de la communauté floristique 3 et 37 à partir de la communauté floristique 4. Vingt-huit échantillons sont des sporocarpes dont seulement 2 sont issus de la communauté floristique 3. La figure 3A à D présente certains des sporocarpes récoltés dans les communautés végétales 3 et 4. Douze échantillons sont des apex mycorhiziens dont 3 et 9 sont issus des communautés floristiques 3 et 4, respectivement. Le dernier type d'échantillons est constitué d'agrégats de sol et de mycélium récoltés dans la communauté 3, comme illustré sur la figure 4A avec un mycélium jaune d'or en continuité avec le sporocarpe K66C de *Pisolithus albus*. L'aspect caractéristique (en petites billes) de l'oxyde de fer qui compose le sol est bien visible. Un examen plus approfondi de ces billes d'oxyde de fer sous la loupe binoculaire est présenté figure 4B et C, avec des liens mycéliens non identifiés entre les billes. D'autres échantillons de sol, avec différentes couleurs de mycélium, ont également été récoltés dans les communautés végétales 3 et 4. Six échantillons ont été analysés à partir de la communauté floristique 3 et 2 de la communauté floristique 4. L'extraction a été réalisée soit sur un fragment de mycélium ou de rhizomorphes, (2 de la communauté 3 et 2 de la communauté 4). Quatre échantillons étaient des billes d'oxyde de fer colonisées par du mycélium, comme illustré par la figure 4B et C et analysées individuellement.

Figure 3 : A to D : Sporocarpes ECM des communautés floristiques 3 et 4. A : *Pisolithus albus* K66C, associé à *Tristaniopsis guillainii*, dans la communauté floristique 3. B : *Cortinarius* sp. nov. K12C, associé à *Nothofagus balansae* dans la communauté floristique 4. C : *Russula aurantiophylla* K18C, associé à *Nothofagus balansae* dans la communauté floristique 4. D : *Tricholoma* sp. nova ff *ustale* K10C, associé à *Nothofagus balansae* dans la communauté floristique 4. E : Coupe d'un apex ECM de *Tristaniopsis guillainii* (communauté floristique 3), coloré au Bleu Trypan, présentant un manteau fongique et un réseau de Hartig.

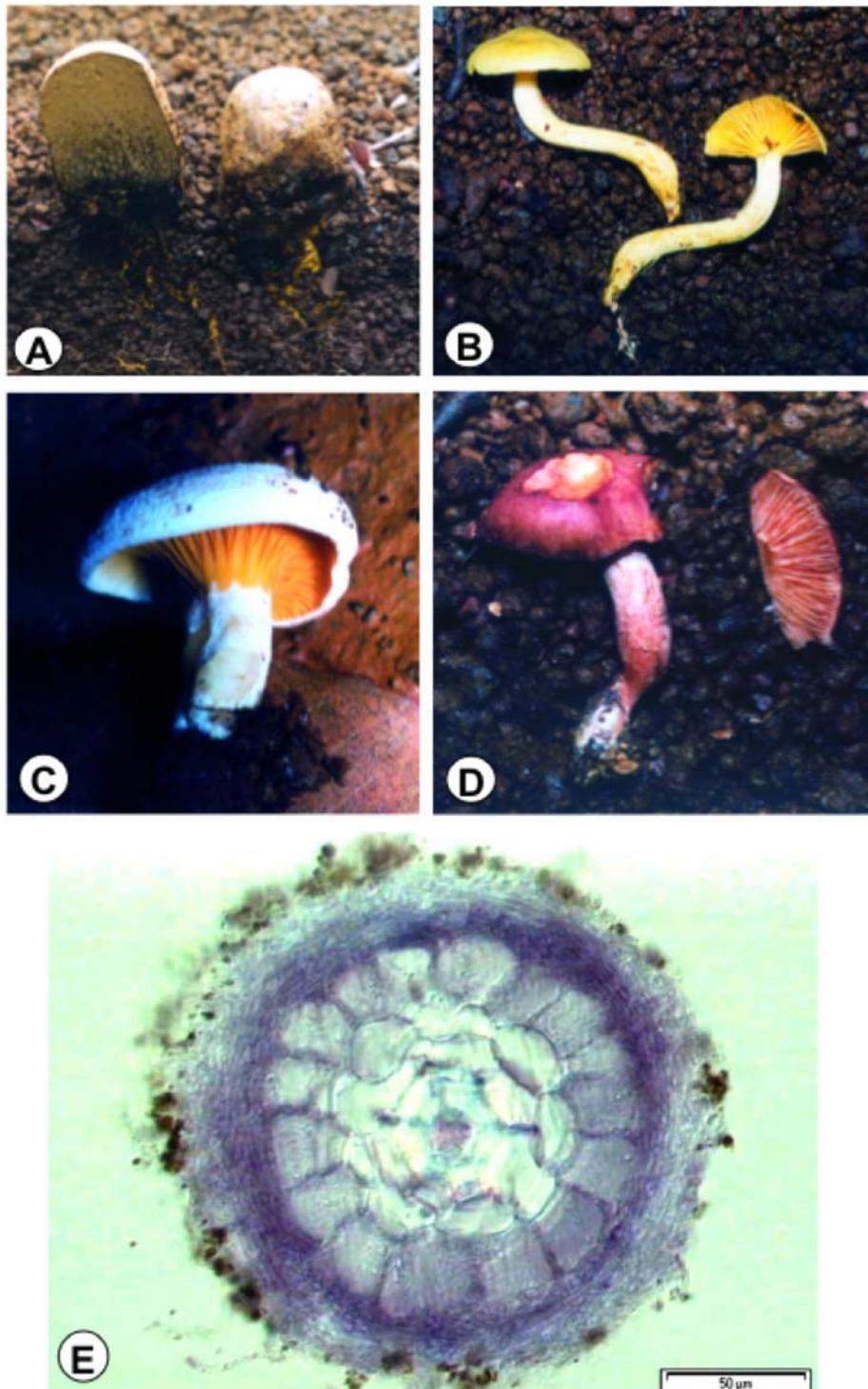
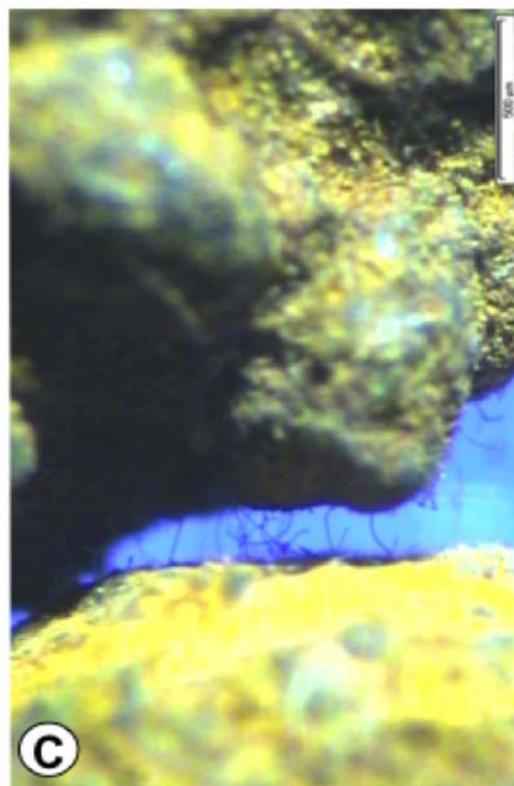
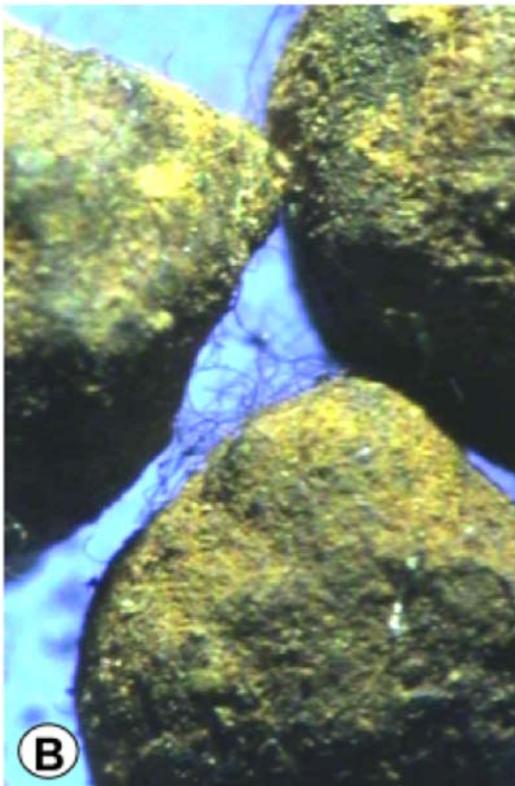
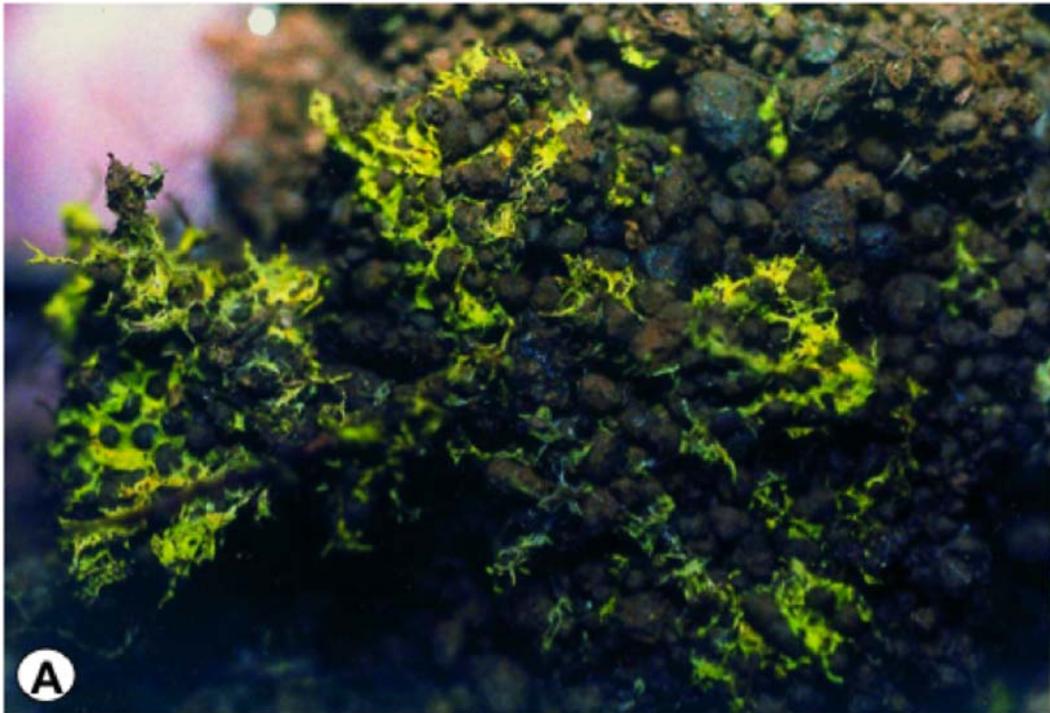


Figure 4: A: Bloc de sol agrégé par un mycélium jaune-doré récolté sous le sporocarpes K66C de *Pisolithus albus*, dans la communauté floristique 3. La forme sphérique des billes d'oxyde de fer qui constituent le sol est bien visible. B et C : Vue agrandie de billes d'oxyde de fer, photographiées sous la loupe binoculaire et présentant des connections mycéliennes.



La plupart des sporocarpes (suffixe "C") ont été identifiés sur leurs caractéristiques macroscopiques et microscopiques au moins au niveau du genre, seulement quatre d'entre eux (« nd ») sont restés non déterminés. Les apex ECM (suffixe "M") et des échantillons de sol (suffixe "S") ont été laissés sans nom taxonomique. Aucune des séquences obtenues n'a donné 100 % de similitude avec les espèces déjà décrites dans Genbank. Sur le nombre d'échantillons analysés et compte tenu de la superficie relativement petite du site prospecté (grossièrement estimée à 5 ha au sein d'un massif de plus de 38 000 ha) une grande diversité de taxons fongiques a été trouvée. Parmi les sporocarpes, on observe généralement une bonne correspondance entre les déterminations macroscopiques et moléculaires.

Dans la communauté floristique 3, 4 genres différents ont été détectés parmi les 11 échantillons. Sept de ces échantillons appartenaient au genre *Cortinarius*, 2 à *Piloderma*, 1 à *Pisolithus*, parmi les sporocarpes, et 1 à *Lycoperdon*, détecté dans une bille d'oxyde de fer du sol, genre généralement considéré comme non mycorrhizien. Le genre *Cortinarius* est détecté dans des échantillons de sporocarpes, d'apex ECM, de mycélium et de billes du sol.

Dans la communauté floristique 4, la diversité est beaucoup plus grande avec 12 genres différents enregistrés à partir de séquences SA, correspondant à 37 échantillons. Le genre dominant est *Cortinarius* avec un total de 18 échantillons (dont 2 espèces autrefois identifiées comme *Thaxterogaster*) atteignant ainsi près de 50 % des échantillons de Cortinariaceae. Les genres *Tricholoma* et *Lactarius-Russula* suivent avec 5 échantillons chacun. La dominance des Cortinariaceae est observée pour les différentes formes d'échantillons fongiques. Sur les 26 sporocarpes recueillis, 11 appartenaient à ce groupe. Parmi les apex ECM, 9 échantillons différents ont été analysés avec succès, appartenant à 5 genres différents. Le genre dominant est également *Cortinarius* avec 5 échantillons différents. Dans le sol, seuls 2 échantillons ont pu être analysés comme appartenant aux genres *Cortinarius* et *Tricholoma*.

3.4. ANALYSE PHYLOGENETIQUE

L'analyse de la famille Cortinariaceae a porté sur toute la partie 18S-28S (incluant les deux séquences ITS et le 5,8 S) comparée à 124 séquences issues de base de données (121 de Cortinariaceae et 3 de *Hebeloma*), comme indiqué dans le tableau 1. Sur les 18 échantillons

analysés, 5 étaient issus de la communauté floristique 3 et 13 de la communauté floristique 4. Sur ces 18 échantillons 8 étaient des sporocarpes, 5 des apex ECM et 5 du mycélium du sol. Sur ce nombre limité d'échantillons, la diversité est élevée, tous les échantillons étant distincts les uns des autres et des séquences de bases de données. En Nouvelle-Calédonie, les Cortinariaceae se répartissent dans 6 clades différents. Au sein de certains clades, on observe un mélange de séquences issues des communautés végétales 3 et 4, mais il est nécessaire d'analyser plus d'échantillons pour évaluer une éventuelle relation entre les communautés fongiques ; il n'y a, par exemple, aucune identité totale de séquence entre aucun des échantillons néocalédoniens. Certains des échantillons de Nouvelle-Calédonie constituent des groupes distincts parmi les 118 séquences de référence de Cortinariaceae, et ceci quelle que soit leur origine, y compris de pays géographiquement proches (issus de la fragmentation du Gondwana), comme l'Australie, la Nouvelle-Zélande, le Chili ou la Papouasie-Nouvelle-Guinée, indiquant probablement la présence de nouveaux taxons. Cette étude n'avait pas pour but de donner une description taxonomique des Cortinariaceae de Nouvelle-Calédonie, en particulier en raison de l'hétérogénéité de notre matériel, mais si l'on identifie sur le cladogramme avec un code couleur, la plupart des genres différents et sous-genres décrits par Peintner *et al.* (2004), les Cortinariaceae de Nouvelle-Calédonie semblent se positionner dans des groupes soit déjà existants comme *Dermocybe*, *Purpurascetes*, soit séparés et potentiellement nouveaux, l'un d'eux semblant proche du groupe des *Myxacium*. Des séquences du groupe des *Descolea* que nous avons tout d'abord incluses dans notre phylogénie ont finalement été retirées, car ces séquences constituaient un cluster séparé (Moncalvo *et al.*, 2002), sans affinité avec aucun de nos échantillons de Nouvelle-Calédonie.

4. DISCUSSION

4.1. DIVERSITE FLORISTIQUE, LA DOMINANCE ET SYMBIOSES

Comme signalé par Jaffré (1974), la diversité floristique du massif du Koniambo est assez élevée à l'échelle de la Nouvelle-Calédonie : les 453 espèces recensées par cet auteur représentent 15 % de la diversité de l'île, pour un ratio de surface géographique de moins de

1 %. Nos inventaires floristiques, limités à 4 des 12 communautés végétales identifiées par Jaffré (1974) sur le massif, sont compatibles en termes de nombre d'espèces avec ceux donnés par cet auteur. Les espèces dominantes des communautés floristiques 3 et 4 ont été trouvées ECM. Une telle situation a souvent été décrite dans les écosystèmes tropicaux (comme, par exemple, les Diptérocarpacées, ECM et dominantes dans les forêts d'Asie), mais est loin d'être systématique (Torti et Coley, 1999). En Nouvelle-Calédonie, cette position dominante pourrait n'être qu'une étape transitoire liée aux perturbations exogènes, comme le feu ou les cyclones (Read *et al.*, 1995). Cette étude a confirmé la description (Perrier *et al.*, 2006b) des ectomycorhizes sur les racines de *Nothofagus balansae* (Nothofagaceae) et *Tristaniopsis*, de la famille des Myrtaceae (Leptospermoideae). Le genre *Tristania*, proche de *Tristaniopsis*, a déjà été décrit comme ECM au Brunei (Moyersoen *et al.*, 2001). *Nothofagus* est connu comme naturellement ECM en Australie, Nouvelle-Zélande et Amérique du Sud (Halling, 2001 ; Tedersoo *et al.*, 2008 ; McKenzie *et al.*, 2000 ; Valenzuela *et al.*, 1999). Notre étude incluant des apex ECM, du mycélium du sol et des sporocarpes nous permet d'obtenir une image générale de la diversité mycorhizienne, plusieurs études ayant montré que la diversité mycorhizienne n'était pas limitée aux sporocarpes mais devait également prendre en compte la diversité des apex ECM (Buscot *et al.*, 2000 ; Dahlberg *et al.*, 1996 ; Gardes et Bruns, 1996 ; Horton et Bruns, 2001). En outre, Landeweert *et al.* (2003) ont montré que l'analyse de séquences ITS sur le mycélium des sols donnait un aperçu supplémentaire sur la diversité des communautés fongiques.

Un seul sporocarpe (*Pisolithus albus*) a été récolté dans la communauté floristique 3, ce qui montre une fois de plus la divergence entre les diversités fongiques épi- et hypogées. Les conditions environnementales de la communauté floristique 3 (du type maquis), beaucoup plus sèches que dans la communauté floristique 4 (de type forêt tropicale), sont certainement moins propices à la fructification des champignons (Brundrett, 1991 ; Slankis, 1974 ; Smith et Read, 1997), avec un sol contenant peu de matière organique. La présence de ce sporocarpe (fig. 3A), qui indique des caractéristiques morphologiques et anatomiques semblables à celles décrites en Australie par Anderson *et al.* (1998, 2001) et en Nouvelle-Calédonie par Aggangan *et al.* (1998), n'est pas surprenante dans le maquis de type 3, dominé par des plantes sclérophylles, puisque ce genre est connu pour être bien adapté à la croissance dans les sols minéraux comme un champignon mycorhizien « early stage », en attendant la formation de sols de type forestier (Brundrett, 1991 ; Gardner et Malajczuk,

1988 ; Stahl *et al.*, 1988). La présence du genre *Cortinarius* dans cet écosystème est également importante : c'est un des genres les plus complexes sur le plan taxonomique parmi les Basidiomycètes (avec environ 2 000 espèces décrites), et également l'un des genres ectomycorhiziens les plus fréquemment rencontrés dans les forêts de conifères de nombreux pays européens et nord-américains (Alexander et Watling, 1987 ; Høiland et Holst-Jensen, 2000 ; Villeneuve *et al.*, 1989). Sa présence dans l'hémisphère sud est encore mal documentée (Garnica *et al.*, 2005 ; Tedersoo *et al.*, 2008). Dans les tropiques, le genre a été signalé dans les régions tropicales d'Amérique du Nord (Murrill, 1912), en Amérique du Sud (Singer *et al.*, 1983 ; Garnica *et al.*, 2003), en Inde (Peintner *et al.*, 2003 ; Natarajan *et al.*, 2005), ainsi qu'en Australie dans les forêts d'eucalyptus (Chambers *et al.*, 1999 ; Malajczuk *et al.*, 1987 ; Sawyer *et al.*, 1999). D'après Rivière *et al.* (2007), dans le sud de la Guinée, et Onguéné et Kuyper (2001) au Cameroun, les Cortinariaceae semblent être peu représentées dans les forêts tropicales d'Afrique.

Dans la communauté floristique 4, les symbioses ECM présentent une plus grande diversité de genres, confirmée par des méthodes moléculaires. Cette diversité inclut la plupart des grands taxons ECM, comme *Russula*, *Lactarius*, *Tricholoma*, *Boletus*, *Inocybe*, etc., et a déjà été signalée dans d'autres écosystèmes forestiers tropicaux, comme par exemple en Inde et en Guinée (Rivière *et al.*, 2007), ou au Cameroun (Onguéné et Kuyper, 2001). Toutefois, dans chaque type d'échantillon, la présence de plusieurs genres de Cortinariaceae est avérée et ce taxon est dominant parmi les sporocarpes et ectomycorhizes. Si la dominance des Cortinariaceae dans les forêts de *Nothofagus* est bien documentée en Amérique du Sud (Garnica *et al.*, 2003 ; Garnica *et al.*, 2005 ; Valenzuela *et al.*, 1999), en Australie (Bougher *et al.*, 1994 ; Halling, 2001) et en Nouvelle-Zélande (McKenzie *et al.*, 2002), cette observation est une première en Nouvelle-Calédonie.

4.2. BIOGEOGRAPHIE ET EVOLUTION

La dominance des Cortinariaceae dans la formation à *Nothofagus* du massif du Koniambo donne un nouvel aperçu de la phylogéographie de cette famille de champignons dans l'hémisphère sud. Le genre *Nothofagus* comprend 4 sous-genres et 35 espèces dans 5 continents isolés : Australie, Nouvelle-Calédonie, Nouvelle-Guinée, Nouvelle-Zélande et

l'Amérique du Sud (Hill et Dettman, 1996 ; Swenson *et al.*, 2000). Swenson *et al.* (2001b) ont montré que la biogéographie des *Nothofagus* est cohérente avec la séquence de dislocation du Gondwana et que les quatre grandes lignées étaient déjà présentes il y a 80 mA, avant l'éclatement de la marge orientale du Gondwana. Les *Nothofagus* de Nouvelle-Calédonie appartiennent tous au sous-genre *Brassospora* qui englobe également les espèces de Nouvelle-Guinée et les espèces fossiles de Nouvelle-Zélande, de l'Antarctique, d'Amérique du Sud et d'Australie. La présence d'espèces appartenant au sous-genre *Brassospora* en Papouasie-Nouvelle-Guinée et Nouvelle-Calédonie peut être expliquée par les événements tectoniques depuis le milieu du Cénozoïque (Hallam, 1994 ; Veevers *et al.*, 1991), qui ont ainsi constitué des niches refuges sous les tropiques (Swenson *et al.*, 2001a). Plusieurs travaux illustrent la possible coévolution entre *Nothofagus* et les champignons ECM de la famille des Cortinariaceae dans l'hémisphère sud (Bougher *et al.*, 1994 ; Halling, 2001 ; Halling et Mueller, 2002). Les résultats obtenus sur la forêt à *Nothofagus* du massif du Koniambo identifient plusieurs groupes ECM spécifiques de Nouvelle-Calédonie, révélant que les ancêtres des partenaires arbres et champignons co-existaient déjà lors de leur implantation dans l'île.

Avec les Nothofagaceae, les Leptospermoideae (Myrtaceae à fruits secs) comme *Tristaniopsis* ont leur répartition géographique étroitement liée à la fragmentation du Gondwana. De plus, il a été démontré que ces deux familles pouvaient s'associer avec les mêmes espèces de Cortinariaceae par des expériences de synthèses *in vitro* entre les genres *Nothofagus* et *Eucalyptus* (Bougher, 1987 ; Bougher *et al.*, 1994). Les symbioses ECM sont donc des partenaires de choix pour la reconstitution des sites miniers en Nouvelle-Calédonie et en particulier pour la stabilisation, *via* les réseaux mycéliens, des billes d'oxyde de fer qui constituent le substrat édaphique.

5. RÉFÉRENCES

Aggangan, N.S., Dell, B. & Malajczuk, N. (1998). Effects of chromium and nickel on growth of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus* and formation of ectomycorrhizas on *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake. *Geoderma*, 84 : 15-27.

- Alexander, I.J. & Watling, R. (1987). Macrofungi of Sitka spruce in Scotland. *Proceedings of the Royal Society Edinburgh*, 93B: 107-115.
- Anderson, I.C., Chambers, S.M. & Cairney, J.W.G. (1998). Molecular determination of genetic variation in *Pisolithus* isolates from a defined region in New South Wales, Australia. *New Phytologist*, 138: 151-162.
- Anderson, I.C., Chambers, S.M. & Cairney, J.W.G. (2001). Distribution and persistence of Australian *Pisolithus* species genets at native sclerophyll forest field sites. *Mycological Research*, 105: 971-976.
- Bougher, N.L. (1987). The systematic position and ectomycorrhizal status of the fungal genus *Descolea*. Ph.D. thesis. University of Western Australia, Perth, WA.
- Bougher, N.L., Fuhrer, B.A. & Horak, E. (1994). Taxonomy and biogeography of Australian *Rozites* species mycorrhizal with *Nothofagus* and *Myrtaceae*. *Australian Systematic Botany*, 7: 353-375.
- Braun-Blanquet, G., Fuller, G.D. & Conard, H.S. (1932). *Plant sociology: the study of plant communities*. McGraw-Hill book, New York, USA.
- Brundrett, M. (1991). Mycorrhizas in natural ecosystems. *Advances in Ecological Research*, 21: 171-313.
- Buscot, F., Munch, J.C., Charcosset, J.Y., Gardes, M., Nehls, U. & Hampp, R. (2000). Recent advances in exploring physiology and biodiversity of ectomycorrhizas highlight the functioning of these symbioses in ecosystems. *FEMS Microbiology Reviews*, 24: 601-614.
- Chambers, S.M., Sawyer, N.A. & Cairney, J.W.G. (1999). Molecular identification of co-occurring *Cortinarius* and *Dermocybe* species from southeastern Australian sclerophyll forests. *Mycorrhiza*, 9: 85-90.
- Dahlberg, A., Jonsson, L. & Nylund, J.E. (1996). Species diversity and distribution of biomass above and below ground among ectomycorrhizal fungi in an old-growth Norway spruce forest in south Sweden. *Canadian Journal of Botany*, 75: 1323-1335.

- Ducouso, M., Contesto, C., Cossegal, M., Prin, Y., Rigault, F. & Eyssartier, G. (2004). *Cantharellus garnierii* sp. nov., une nouvelle chanterelle de Nouvelle-Calédonie. *Cryptogamie Mycologie*, 25: 115-125.
- Edgar, R.C. (2004) MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32 : 1792-1797.
- Gardes, M. & Bruns, T.D. (1996). Community structure of ectomycorrhizal fungi in a *Pinus muricata* forest: above and below ground views. *Canadian Journal of Botany*, 74: 1572-1583.
- Gardner JH, Malajczuk N (1988) Recolonisation of rehabilitated bauxite mine sites in Western Australia by mycorrhizal fungi. *Forest Ecology and Management*, 24: 27-42.
- Garnica, S., Weiss, M. & Oberwinkler, F. (2002). New *Cortinarius* species from *Nothofagus* forests in South Chile. *Mycologia*, 94: 136-145.
- Garnica, S., Weiss, M. & Oberwinkler, F. (2003). Morphological and molecular phylogenetic studies in South American *Cortinarius* species. *Mycological Research*, 107: 1143-1156.
- Garnica, S., Weiss, M., Oertel, B. & Oberwinkler, F. (2005). A framework for a phylogenetic classification in the genus *Cortinarius* (Basidiomycota, Agaricales) derived from morphological and molecular data. *Canadian Journal of Botany*, 83: 1457-1477.
- Greenacre, M.J. (1984). *Theory and applications of correspondence analysis*, Academic Press, London.
- Guindon, S., Lethiec, F., Duroux, P. & Gascuel, O. (2005). PHYML Online--a web server for fast maximum likelihood-based phylogenetic inference. *Nucleic Acids Research*, 33: W557-9.
- Hallam, A. (1994). *An outline of Phanerozoic biogeography*. Oxford University Press, Oxford.

- Halling, R.E. (2001). Ectomycorrhizae: Co-evolution, significance, and biogeography. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 88: 5-13.
- Halling, R.E. & Mueller, G.M. (2002). Agarics and Boletes of neotropical oakwoods. In: *Tropical Mycology, Vol 1, Macromycetes* (ed. Watling R, Frankland JC, Ainsworth AM, Isaac S, Robinson CH). CAB International, New York, USA.
- Hill, R.S. & Dettmann, M.E. (1996). Origin and diversification of the genus *Nothofagus*. In: *The Ecology and Biogeography of Nothofagus forest* (ed. Veblen TT, Hill RS, Read J) pp. 11-24. Yale University Press, New Haven, CT.
- Hoiland, K. & Holst-Jensen, A. (2000). *Cortinarius* phylogeny and possible taxonomic implications of ITS rDNA sequences. *Mycologia*, 92: 694-710.
- Horak, E. & Mouchacca, J. (1998). Annotated checklist of New Caledonian Basidiomycota. I. Holobasidiomycetes. *Mycotaxon*, 68: 75-129.
- Horton, R. & Bruns, T.D. (2001). The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box. *Molecular Ecology*, 10 : 1855-1871.
- Huelsenbeck, J.P., Ronquist, F., Nielsen, R. & Bollback, J.P. (2001). Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. *Science*, 294 : 2310-4.
- Jaffré, T. (1974). La végétation d'un massif de roches ultrabasiques de Nouvelle-Calédonie: le Koniambo. *Candollea*, 29: 427-456.
- Jaffré, T. (1992). Floristic and ecological diversity of the vegetation on ultramafic rocks in New Caledonia. In: *The vegetation of ultramafic (serpentine) soils* (ed. Baker AJM, Proctor J, Reeves RD) pp. 101-107. Intercept Ltd, Andover, NL.
- Jaffré, T., Morat, P., Veillon, J.M., Rigault, F. & Dagostini, G. (2001). Composition et caractérisation de la flore indigène de Nouvelle-Calédonie. (ed. IRD Centre de Noumea) Documents Scientifiques et Techniques vol. II 4. IRD Nouméa.
- Jentschke, G. & Godbold, D.L. (2000). Metal toxicity and ectomycorrhiza. *Physiologia Plantarum*, 109 : 107-116.

- Landeweert, R., Leeftang, P., Kuyper, T.W., Hoffland, E., Rosling, A., Wernars, K. & Smit, E. (2003). Molecular identification of ectomycorrhizal mycelium in soil horizons. *Applied Environmental Microbiology*, 69 : 327-333.
- Malajczuk, N., Dell, B. & Bougher, N.L. (1987). Ectomycorrhiza formation in Eucalyptus III- superficial ectomycorrhizas initiated by *Hysterangium* and *Cortinarius* species. *New Phytologist*, 105: 421-428.
- McKenzie, E.H.C., Buchanan, P.K. & Johnston, P.R. (2002). Checklist of fungi on *Nothofagus* species in New Zealand. *New Zealand Journal of Botany*, 38: 635-720.
- Moncalvo, J.M., Vilgalys, R., Redhead, S.A., et al. (2002). One hundred and seventeen clades of euagarics. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 23 : 357-400.
- Moyersoen, B., Becker, P. & Alexander, I.J. (2001). Are ectomycorrhizas more abundant than arbuscular mycorrhizas in tropical heath forests? *New Phytologist*, 150: 591-599.
- Murrill, W.A. (1912). Agaricaceae of tropical North America. *Mycologia*, 4: 72-83.
- Natarajan, K., Senthilarasu, G., Kumaseran, V. & Rivière, T. (2005) Diversity in ectomycorrhizal fungi of a dipterocarp forest in Western Ghats. *Current Science*, 88: 1893-1895.
- Nicholas, K.B. & Nicholas, B.J. (1997). Genedoc: a tool for editing and annotating multiple sequence alignments. Distributed by the author.
- Onguéné, N.A. & Kuyper, T.W. (2001). Mycorrhizal associations in the rainforest of South Cameroon. *Forest Ecology and Management*, 40: 277-287.
- Peintner, U., Bougher, N., Castellano, M. et al. (2001) Multiple origins of sequestrate fungi related to *Cortinarius* (*Cortinariaceae*). *American Journal of Botany*, 88: 177-184.
- Peintner, U., Moser, M.M., Thomas, K.A. & Manimohan, P. (2003). First record of ectomycorrhizal *Cortinarius* species (*Agaricales*, *Basidiomycetes*) from tropical

- India and their phylogenetic position based on rDNA ITS sequences. *Mycological Research*, 107: 485-494.
- Peintner, U., Moncalvo, J.M. & Vilgalys, R. (2004). Toward a better understanding of the infrageneric relationships in *Cortinarius* (Agaricales, Basidiomycota). *Mycologia*, 96: 1042-1058.
- Perrier, N., Ambrosi, J.P., Colin, F. & Gilkes, R.J. (2006a). Biogeochemistry of a regolith: The New Caledonian Koniambo ultramafic massif. *Journal of Geochemical Exploration*, 88: 54-58.
- Perrier, N., Amir, H. & Colin, F. (2006b). Occurrence of mycorrhizal symbioses in the metal rich lateritic soils of the Koniambo Massif, New Caledonia. *Mycorrhiza*, 16: 449-458.
- Posada, D. & Crandall, K.A. (1998). Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14, 817-818.
- Read, J., Hallam, P. & Cherrier, J.F. (1995). The anomaly of monodominant tropical rainforests: some preliminary observations in the *Nothofagus*-dominated rainforests of New Caledonia. *Journal of Tropical Ecology*, 11: 359-389.
- Rivière, T., Diédhiou, A.G., Diabaté, M. et al. (2007) Genetic diversity of ectomycorrhizal Basidiomycetes from African and Indian tropical rainforests. *Mycorrhiza*, 17: 415-428.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J.P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19: 1572-4.
- Sawyer, N.A., Chambers, S.M. & Cairney, J.W.G. (1999). Molecular investigation of genet distribution and genetic variation of *Cortinarius rotundisporus* in eastern Australian sclerophyll forests. *New Phytologist*, 142: 561-568.
- Shimodaira, H. & Hasegawa, M. (1999). Multiple Comparisons of Log-Likelihoods with Applications to Phylogenetic Inference. *Molecular Biology and Evolution*, 16: 1114-1116.

- Singer, R., Araujo, I. & Ivory, M.H. (1983). The ectotrophically mycorrhizal fungi of the neotropical lowlands, especially Central Amazonia. *Beiheft zur Nova Hedwigia*, 77: 1-339.
- Slankis, V. (1974). Soil factors influencing formation of mycorrhizae. *Annual Review of Phytopathology*, 12: 437-457.
- Smith, S.E. & Read, D.J. (1997). *Mycorrhizal Symbiosis*, 2nd Edition. Academic Press, London.
- Stahl, P.D., Williams, S.E. & Christensen, M. (1988). Efficacy of native vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi after severe soil disturbance. *New Phytologist*, 110: 347-354.
- Swenson, U., Hill, R.S. & McLoughlin, S. (2000). Ancestral area analysis of *Nothofagus* (Nothofagaceae) and its congruence with fossil record. *Australian Systematic Botany*, 13: 469-478.
- Swenson, U., Backlund, A., McLoughlin, S. & Hill, R.S. (2001a). *Nothofagus* biogeography revisited with special emphasis on the enigmatic distribution of subgenus *Brassospora* in New Caledonia. *Cladistics*, 17: 28-47.
- Swenson, U., Hill, R.S. & McLoughlin, S. (2001b). Biogeography of *Nothofagus* supports the sequence of Gondwana break-up. *Taxon*, 50: 1025-1041.
- Tedersoo, L., Jairus, T., Horton, B.M. et al. (2008). Strong host preference of ectomycorrhizal fungi in a Tasmanian wet sclerophyll forest as revealed by DNA barcoding and taxon-specific primers. *New Phytologist*, 180: 479-490.
- The International Plant Index (2008) Published on the Internet <http://www.ipni.org> [accessed 20 October 2008].
- Thioulouse, J., Chessel, D., Dolédec, S. & Olivier, J.M. (1997). ADE4: a multivariate analysis and graphical display software. *Statistics and Computing*, 7: 75-83.

- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. & Higgins, D.G. (1997). The clustal-X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality tools. *Nucleic Acids Research*, 25: 4876-4882.
- Torti, S.D. & Coley, P.D. (1999). Tropical monodominance: A preliminary test of the ectomycorrhizal hypothesis. *Biotropica*, 31: 220-228.
- Valenzuela, E., Moreno, G., Garnica, S., Godoy, R. & Ramirez, C. (1999). Mycosociology in native forests of Nothofagus of the X region of Chile, diversity and ecological role. *Mycotaxon*, 72: 217-226.
- Veevers, J.J. (1986). Breakup of Australia and Antarctica estimated as Mid-Cretaceous (95±5 Ma) from magnetic and seismic data at the continental margin. *Earth and Planetary Science Letters*, 77: 91-99.
- Veevers, J.J., Powell, C.M. & Roots, S.R. (1991). Review of seafloor spreading around Australia. 1. Synthesis of the patterns of spreading. *Australian Journal of Earth Science*, 38: 373-389.
- Villeneuve, N.M., Grandtner, M. & Fortin, J.A. (1989). Frequency and diversity of ectomycorrhizal and saprophytic macrofungi in the Laurentide Mountains of Quebec. *Canadian Journal of Botany*, 67: 2616-2629.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR protocols: A guide to methods and applications* (ed. Innis MA, Gelfand H, Sninsky JS, White TJ) pp.185-189. Academic Press, New York.

PARTIE 4

**EXEMPLE D'OUTILS POUR ANALYSER LE ROLE DE LA
SYMBIOSE MYCORHIZIENNE DANS LE
FONCTIONNEMENT DU SOL : L'ANALYSE
MULTIVARIEE**

**METHODES D'ANALYSE MULTIVARIEE POUR L'ETUDE DE L'INFLUENCE DE
LA MYCORHIZOSPHERE SUR LA STRUCTURE ET LE FONCTIONNEMENT DES
COMMUNAUTES BACTERIENNES DU SOL**

PAR THIOULOUSE J.¹, SANGUIN H.², PRIN Y.², DUPONNOIS R.³

¹ Université de Lyon, F-69000, Lyon ; université Lyon 1 ; CNRS, UMR5558
Laboratoire de biométrie et biologie évolutive. F-69622, Villeurbanne Cedex, France.
Tél. : +33 472 432756. Fax : +33 472 431388 e-mail : jean.thioulouse@univ-lyon1.fr

² Cirad. Laboratoire des symbioses tropicales et méditerranéennes. UMR 113 Cirad, IRD,
université Montpellier 2, SupAgro, USC INRA. Campus international de Baillarguet TA-
A82/J. F-34398 Montpellier cedex 5, France. e-mail : herve.sanguin@cirad.fr

³ IRD. Laboratoire des symbioses tropicales et méditerranéennes. UMR 113 Cirad, IRD,
université Montpellier 2, SupAgro, USC Inra. Campus international de Baillarguet TA-
A82/J. F-34398 Montpellier cedex 5, France. e-mail : robin.duponnois@ird.fr

1. INTRODUCTION

Les champignons mycorhiziens sont une composante ubiquiste de la plupart des écosystèmes mondiaux (Brundrett, 2002). Ils sont généralement considérés comme un facteur-clé d'un système sol-végétation durable. En effet, ils gouvernent les cycles des principaux nutriments et contribuent au maintien du couvert végétal (Schreiner *et al.*, 1997 ; Johansson *et al.*, 2004). Les bénéfices tirés par la plante de la symbiose mycorhizienne comprennent (i) une augmentation de l'assimilation des minéraux à faible mobilité (i.e., phosphore), des micronutriments et de l'azote, (ii) une augmentation de l'absorption d'eau et (iii) une amélioration de la santé de la plante du fait de son action contre certains pathogènes (Smith et Read, 2008). La symbiose avec des champignons mycorhiziens à arbuscules (AM) est l'association la plus répandue, elle concerne 80 à 90 % des plantes à racines (i.e., ptéridophytes, gymnospermes et angiospermes) dans les écosystèmes naturels et les agrosystèmes (Brundrett, 2002).

La translocation trophique entre la plante hôte et les symbiotes fongiques a été considérée comme résultant de la relation étroite entre les composantes de l'association symbiotique. Il a été établi (Wirsel, 2004 ; Smith et Read, 2008 ; van der Heijden *et al.*, 1998) que, en plus de l'augmentation de la surface d'absorption du système racinaire de la plante hôte, le mycélium extramatriciel fournit une surface plus importante pour les interactions avec le microbiote du sol. La zone placée sous l'influence des racines et du champignon mycorhizien a été appelée la « mycorhizosphère ». Elle inclut un compartiment microbien soumis à la double influence des racines et des symbiotes mycorhiziens (la « mycorhizosphère » *stricto sensu*) et un autre compartiment soumis à l'influence des hyphes mycorhiziens [l'« hyphosphère », Linderman (1988)]. En plus de l'effet de la symbiose mycorhizienne sur le microbiote du sol, il a aussi été démontré qu'elle exerçait une pression de sélection sur les communautés bactériennes et favorisait les microorganismes du sol potentiellement bénéfiques à la symbiose et à la plante hôte (Frey-Klett *et al.*, 2005 ; Ouahmane *et al.*, 2009). Les relations entre la plante hôte et le champignon symbiotique ont donc été élargies au microbiote du sol, pour créer un « complexe mycorhizien multitrophique » (Frey-Klett *et al.*, 2005).

Le compartiment mycorhizosphérique est habituellement caractérisé par une activité bactérienne élevée. Ceci pourrait contribuer au biocontrôle des pathogènes et à

l'amélioration de l'apport de nutriments dans les sols dégradés, permettant un maintien de la croissance et l'état sanitaire des espèces végétales (Johansson *et al.*, 2004). L'effet positif de la symbiose mycorhizienne sur la nutrition minérale et hydrique ainsi que sur la résistance aux maladies des plantes hôtes, conjointement à l'état du microbiote mycorhizosphérique, pourrait être considéré comme un indicateur de qualité des sols. La qualité du sol a été définie comme « la capacité d'un sol à fonctionner, dans les limites imposées par l'écosystème, à préserver la productivité biologique et la qualité environnementale, et à favoriser l'état sanitaire végétal, animal et humain » (Doran et Parkin, 1994).

La quantification de la qualité d'un sol est souvent basée sur des indices physico- chimiques. Il a été clairement établi (Giller *et al.*, 1997 ; Smith et Read, 2008) que le fonctionnement du sol résultait d'un équilibre entre des facteurs biologiques, physiques et chimiques. La qualité d'un sol ne peut donc pas être évaluée à l'aide d'un seul paramètre, mais par une combinaison de plusieurs facteurs (Barrios *et al.*, 2006) décrivant l'état du sol (Dumanski et Pieri, 2000). Un grand nombre de méthodes ont été utilisées pour caractériser la diversité génétique et fonctionnelle de communautés bactériennes complexes dans le sol. Toutes ces méthodes génèrent de grands volumes de données qui ne peuvent pas être analysées par des méthodes conventionnelles du fait du grand nombre de paramètres qui sont mesurés (comparativement au nombre d'échantillons), de la corrélation potentiellement élevée entre ces paramètres, et de la faiblesse de la densité d'information qu'ils contiennent individuellement. Des outils statistiques appropriés doivent donc être utilisés pour explorer ces interactions microbiennes complexes et pour fournir des interprétations pertinentes sur le rôle de chaque variable intervenant dans la qualité des sols.

Dans ce domaine, cette revue est orientée vers l'évaluation des bénéfices liés à l'utilisation de méthodes d'analyse de données multivariées telles que l'analyse en composantes principales, l'analyse inter-groupes, et l'analyse de co-inertie comparativement à d'autres méthodes d'analyse statistique classiques dans le but de fournir de nouvelles idées sur le fonctionnement de la mycorhizosphère, et d'aider à mettre au point des indicateurs de qualité des sols et de résilience écologique. Les résultats espérés seront particulièrement utiles pour décrire et expliquer certaines interactions biologiques considérées comme des facteurs-clés de la stabilité et de la productivité des écosystèmes terrestres.

Les objectifs de cet article sont doubles. Tout d'abord, nous voulions présenter certaines des méthodes utilisées par les auteurs pour analyser de tels jeux de données, en les comparant avec d'autres méthodes d'analyse de données classiques, et en montrant les résultats qu'elles permettent d'obtenir. Ensuite, nous voulions également discuter le potentiel de ces méthodes pour proposer de nouvelles idées sur le fonctionnement de la mycorrhizosphère et l'aide qu'elles peuvent apporter pour développer des indicateurs de qualité des sols et de résilience écologique, bien que cette dernière étape soit encore en cours de développement. Les jeux de données nécessaires pour ces études doivent prendre en compte tous les acteurs qui y participent, en particulier les plantes, les champignons, les bactéries, et l'environnement (i.e. les caractéristiques abiotiques). Cette diversité d'origine des données doit être réduite à une forme compatible avec les méthodes d'analyse multivariée, c'est-à-dire généralement des tableaux rectangulaires avec les échantillons en lignes et les variables en colonnes.

Pour atteindre ces objectifs, nous avons analysé 16 articles scientifiques que nous avons publiés entre 2005 et 2009, et dans lesquels nous avons utilisé diverses méthodes d'analyse multivariée, comme l'analyse en composantes principales (PCA : principal component analysis), l'analyse inter-classes [BGA : between-group analysis (Doledec et Chessel, 1987 ; Culhane *et al.*, 2002)], et l'analyse de coinertie [CoIA : co-inertia analysis (Doledec and Chessel, 1994 ; Dray *et al.*, 2003)]. Nous présenterons d'abord le type de données analysées dans ces articles, et nous donnerons un court résumé des propriétés des méthodes d'analyse de données, dans le cadre du schéma de dualité (Escoufier, 1987 ; Holmes, 2006) et du package *ade4* (Chessel *et al.*, 2004 ; Dray et Dufour, 2007) pour le logiciel statistique R (R Development Core Team, 2010). Nous montrerons également les avantages de ces méthodes à l'aide de plusieurs exemples tirés de ces articles. Enfin, les graphiques jouent un rôle fondamental en analyse de données. En effet, le principal objectif de ces méthodes est de permettre de tracer des graphiques synthétiques qui facilitent l'interprétation des données numériques. Nous montrerons plusieurs exemples de tels graphiques pour les analyses inter-classes et l'analyse de coinertie.

2. LES TABLEAUX DE DONNEES

Les données nécessaires pour analyser l'effet mycorhizosphérique sur la structure et le fonctionnement des communautés bactériennes du sol sont très diversifiées. Elles peuvent être classées en fonction du sujet de mesure : plante, champignon, bactérie, et environnement (i.e. les caractéristiques abiotiques).

Les mesures concernant le champignon peuvent être basées par exemple sur le taux de mycorhization, la longueur des hyphes, l'espèce ou la souche. Les communautés bactériennes sont trop complexes pour être analysées de façon exhaustive, mais leur diversité génétique peut être approchée avec les méthodes de biologie moléculaire basées sur la PCR (empreintes ADN). Citons par exemple la DGGE [denaturing gradient gel electrophoresis, Nakatsu *et al.* (2000)], et les méthodes récentes de type puce à ADN taxonomique (Sanguin *et al.*, 2006) ou de séquençage haut débit (Uroz *et al.*, 2010). L'utilisation des profils d'acides gras de phospholipides ou de lipopolysaccharides (Zelles, 1999) est également possible. La diversité fonctionnelle des communautés bactériennes peut être analysée rapidement grâce aux profils de potentiel catabolique *in situ* (ISCP : *in situ* catabolic potential) (Degens et Harris, 1997 ; Degens *et al.*, 2001). Les profils ISCP fournissent une mesure en temps réel de la diversité microbienne fonctionnelle en évaluant le catabolisme des communautés microbiennes du sol sans procédé d'extraction préalable des organismes, par opposition aux méthodes faisant intervenir une phase de culture *in vitro*. Les profils ISCP sont basés sur la mesure de production de CO₂ par des sols additionnés d'une série de composés organiques simples. Ce processus est appelé respiration induite par le substrat (SIR : substrate-induced respiration). Les plantes peuvent être décrites par leurs paramètres de croissance, le poids sec de la totalité de la plante ou de certains organes (feuilles, racines), la teneur en azote ou en phosphore, et de nombreuses autres variables. Enfin, les échantillons de sol peuvent être caractérisés par un grand nombre de paramètres physico-chimiques (taille des particules, pH, teneur en composés chimiques) qui déterminent les conditions environnementales.

Les 16 articles scientifiques publiés durant la période 2005-2009 sur lesquels cette revue est basée sont résumés dans deux tableaux : le tableau 1 pour les articles utilisant la BGA, et le tableau 2 pour les études utilisant la CoIA. Ces tableaux donnent, pour chaque article, la

référence bibliographique, les principales questions écologiques, et un résumé des paramètres biologiques et des facteurs environnementaux analysés.

3. LES METHODES D'ANALYSE MULTIVARIEE

Nous avons vu que cinq types de tableaux peuvent intervenir dans l'analyse de l'effet mycorrhizosphérique sur la structure et le fonctionnement des communautés microbiennes du sol. Ce sont les tableaux des paramètres relatifs aux champignons, à la plante hôte ou au sol, les tableaux de profils ISCP ou les tableaux d'empreintes ADN. Chaque tableau peut être analysé séparément, et des analyses plus poussées peuvent ensuite être réalisées en fonction de la question scientifique posée.

Les méthodes d'analyse multivariée peuvent être utilisées pour atteindre plusieurs sortes d'objectifs. Le plus simple concerne la réduction de dimension, l'utilisateur cherchant simplement à réduire la taille du tableau de données, sans perdre trop d'information. C'est la cas en particulier pour les analyses de tableaux d'empreintes ADN du type RFLP, AFLP, DGGE, TTGE, ARISA, ou issus de données plus complexes de type puces à ADN. Dans le cas des méthodes classiques d'empreintes ADN, chaque bande d'électrophorèse, ou chaque pic d'intensité, n'apporte que très peu d'informations utiles. C'est seulement la combinaison d'un grand nombre de bandes qui permet d'utiliser ces profils pour discriminer les échantillons.

D'autres objectifs sont par exemple la recherche d'un code des échantillons de corrélation maximale avec les variables de départ, ou la recherche d'un ensemble de variables orthogonales utilisables dans un problème de régression (technique de la régression orthogonale). Ce qui est important ici, par rapport aux approches univariées, est que l'approche multivariée permet de conserver les relations entre variables et entre échantillons. C'est la structure de corrélation des variables (et des échantillons) qui apporte l'information et non pas les valeurs de chaque variable prise indépendamment.

Tableau 1 Référence bibliographique, questions écologiques et paramètres analysés dans les neuf articles utilisant la BGA.

Référence	Questions écologiques	Paramètres analysés
Duponnois <i>et al.</i> (2006a), <i>Science of the Total Environment</i>	Impact of termite mound amendment on the sorghum tolerance to soil Cd content	Plant growth, fluorescent Pseudomonads abundance and functional diversity, ISCP
Duponnois <i>et al.</i> (2009) in <i>Microbial Strategies for Crop Improvement</i>	Nurse plant effect in reforestation programs	Plant growth, abundance and functional diversity, ISCP
Faye <i>et al.</i> (2009), <i>Soil Biology and Biochemistry</i>	Response of native Bradyrhizobial community diversity (structure and functional diversity) to the introduction of an exotic tree species (Australian <i>Acacia</i> species)	Genetic and functional diversity, symbiotic performance of Bradyrhizobial strains on <i>Faidherbia albida</i>
Kisa <i>et al.</i> (2007), <i>FEMS Microbiology Ecology</i>	Response of soil microbial functions and diversity to the introduction of an exotic tree species and assessment of the role of the mycorrhizal symbiosis in plant co-existence	Plant growth, herbaceous plant species layer composition, soil microbial diversity, ISCP
Ouahmane <i>et al.</i> (2009), <i>Plant and Soil</i>	Ectomycorrhizal impact on plant growth, rock phosphate solubilization and soil microbial functions	Plant growth, plant nutrition, mycorrhizal colonization, ISCP
Ramanakierana <i>et al.</i> (2006), <i>International Journal of Soil Science</i>	Effect of ectomycorrhizal symbiosis on soil microbial functions	mycorrhizal colonization, soil microbial functional diversity, fluorescent Pseudomonads, ISCP
Ouahmane <i>et al.</i> (2006), <i>Plant Ecology</i>	Impact of shrub species on soil microbial and chemical characteristics and consequences on the early growth of <i>C. atlantica</i>	Plant growth, plant nutrition, mycorrhizal colonization, soil chemical characteristics, ISCP
Ramanakierana <i>et al.</i> (2007), <i>Mycorrhiza</i>	Potential benefits of inoculation with mycorrhizal fungi (ectomycorrhizal and/or arbuscular mycorrhizal fungi) on plant growth and on functional diversity of soil microflora	Plant growth, plant nutrition, mycorrhizal colonization, ISCP
Remigi <i>et al.</i> (2008), <i>Applied Environmental Microbiology</i>	Response of native soil microflora functions to the introduction of an exotic tree species	ISCP

Tableau 2 Référence bibliographique, questions écologiques et paramètres analysés dans les sept articles utilisant la CoIA.

Références	Questions écologiques	Paramètres analysés
Andrianjaka <i>et al.</i> (2007), <i>Applied Soil Ecology</i>	Impact of termite mound amendment on <i>Striga</i> development	Plant growth, mycorrhizal colonization, actinomycete abundance, ISCP
Duponnois <i>et al.</i> (2006b), <i>FEMS Microbiology Ecology</i>	Impact of termite mound amendment on ectomycorrhizal symbiosis between <i>Acacia holosericea</i> and <i>Scleroderma dictyosporum</i>	Plant growth, mycorrhizal colonization, rhizobial colonization, ISCP
Diallo <i>et al.</i> (2006), <i>European Journal of Soil Biology</i>	Impact of litter amendments on plant growth, soil fertility and soil microbial biomass	Plant growth, litter chemical characteristics, soil microbial biomass
Duponnois <i>et al.</i> (2005a), <i>Geoderma</i>	Impact of termite mound amendments on plant growth, rock phosphate dissolution and soil microbial characteristics	Plant growth, plant mineral nutrition, mycorrhizal colonization, ISCP
Ouahmane <i>et al.</i> (2006), <i>Applied Soil Ecology</i>	Impact of <i>Lavandula</i> species on mycorrhizal soil potential, soil microbial functions and on the regeneration process of <i>Cupressus</i> spp.	Plant growth, plant nutrition, mycorrhizal soil potential, ISCP
Ouahmane <i>et al.</i> (2007), <i>Forest Ecology and Management</i>	Influence of native or exotic fungal symbionts on the plant growth, soil microbial functional diversity and rock phosphate alteration	Plant growth, plant nutrition, mycorrhizal colonization, ISCP
Duponnois <i>et al.</i> (2005b). <i>Soil Biology and Biochemistry</i>	Arbuscular mycorrhizal effect on plant growth, soil microbial functions, rock phosphate solubilization and plant P uptake	Plant growth, plant nutrition, mycorrhizal colonization, ISCP

L'ACP est la plus simple des méthodes d'analyse multivariée. Plusieurs modèles théoriques conduisent au même algorithme de calcul, basé sur une décomposition en valeurs propres et vecteurs propres. Le plus simple de ces modèles est le modèle géométrique (LeRoux et Rouanet, 2004), qui n'est basé sur aucune hypothèse de distribution des variables et n'impose aucune contrainte sur les dimensions du tableau de données. Dans ce modèle, l'ACP peut être appliquée à n'importe quel tableau de données numériques, indépendamment du nombre de variables, de leurs corrélations, et de leur distribution. Si le tableau de données contient un mélange de variables quantitatives et qualitatives, la procédure de Hill et Smith (Hill et Smith, 1976 ; Kiers, 1991) peut être utilisée. Deux autres méthodes sont d'intérêt général : l'analyse inter-groupes et l'analyse de coinertie. La BGA peut être utilisée quand les échantillons appartiennent à plusieurs groupes. C'est le cas par exemple quand on veut comparer les effets de différents traitements, comme divers niveaux d'amendement ou différents taux d'inoculation mycorhizienne, sur la croissance de la plante ou sur les communautés bactériennes. La CoIA est utile pour analyser les relations entre deux tableaux de données possédant les mêmes échantillons en lignes. Elle peut être utilisée par exemple pour explorer les relations entre profils ISCP (représentant la diversité bactérienne fonctionnelle) et les paramètres de croissance de la plante, ou bien entre un ensemble de variables pédologiques et des profils d'empreintes ADN.

L'absence de contraintes sur le nombre d'échantillons par rapport au nombre de variables, sur l'existence de corrélation entre les variables, et sur leur distribution est valable aussi pour la BGA et la CoIA. C'est une propriété importante car le nombre de variables peut être très élevé (nombre de bandes d'un profil d'empreinte ADN, ou nombre de sondes sur une puce à ADN). Même des techniques moins sophistiquées, comme les profils ISCP, peuvent aussi produire des tableaux possédant un nombre de variables supérieur au nombre d'échantillons. Or, beaucoup de méthodes statistiques ne peuvent pas être utilisées quand le nombre d'échantillons est inférieur au nombre de variables (ou même s'il est comparable), ou quand le nombre de variables explicatives est trop élevé.

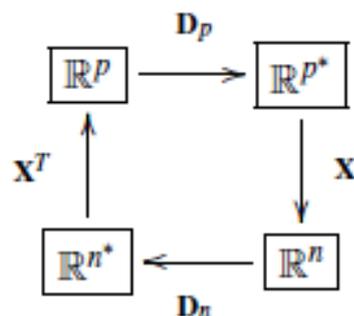
3.1 L'ANALYSE INTER-GROUPES

L'analyse inter-groupes peut être considérée comme une alternative à l'analyse discriminante (Huberty, 1994) quand le nombre d'échantillons est trop faible par rapport au nombre de variables. Le but de l'analyse discriminante est de séparer les groupes, ou, plus précisément, de trouver une combinaison linéaire des variables initiales qui maximise le rapport de la variance inter sur la variance intra (Venables et Ripley, 2002). Ici, les groupes correspondent aux traitements utilisés pour analyser l'effet mycorrhizosphérique sur les communautés bactériennes du sol. Par exemple, cela peut être le niveau d'un amendement phosphoré, le taux d'inoculation mycorrhizienne, ou l'origine des échantillons de sols (différentes parcelles). Quand le nombre d'échantillons est élevé, l'analyse discriminante fournit les coefficients des fonctions discriminantes qui séparent au mieux les groupes. Mais quand le nombre d'échantillons est faible, et en particulier quand il est inférieur au nombre de variables, l'analyse discriminante ne peut plus être utilisée. Dans ce cas, la BGA peut être très utile, et elle propose des graphiques illustrant efficacement les différences entre groupes.

La BGA peut aussi être présentée comme un cas particulier d'analyse des redondances (RDA). Elle correspond au cas où les covariables sont réduites à une seule variable indicatrice décrivant la répartition des échantillons en groupes.

Les paragraphes suivants proposent une présentation rapide de la BGA dans le cadre du schéma de dualité (Holmes, 2006). Il convient de définir en premier lieu le schéma de dualité d'une analyse en composante principale simple.

Soit $X = [x_{ij}] (n, p)$ le tableau de données, à n lignes (échantillons) et p colonnes (variables). X^T est la transposée de X . Soit D_n la matrice diagonale ($n \times n$) de pondération des échantillons : $D_n = \text{diag}(w_1, \dots, w_n)$, et soit D_p une métrique sur \mathbb{R}^p . Le schéma de dualité de l'analyse générale de ce tableau est :



Ce diagramme est appelé « schéma de dualité » car \mathbb{R}^{p^*} et \mathbb{R}^{n^*} sont les espaces duaux de \mathbb{R}^p et \mathbb{R}^n , et parce que les opérateurs duaux $\mathbf{X}^T \mathbf{D}_n \mathbf{X} \mathbf{D}_p$ et $\mathbf{X} \mathbf{D}_p \mathbf{X}^T \mathbf{D}_n$ possèdent le même spectre (valeurs propres). Ce schéma est complètement défini par la « notation en triplet » : $(\mathbf{X}, \mathbf{D}_p, \mathbf{D}_n)$, et l'inertie totale de ce triplet statistique vaut :

$$I_X = \text{trace}(\mathbf{X} \mathbf{D}_p \mathbf{X}^T \mathbf{D}_n)$$

L'ACP généralisée (gPCA) de ce triplet correspond à la décomposition spectrale de $\mathbf{X}^T \mathbf{D}_n \mathbf{X} \mathbf{D}_p$. Quand \mathbf{D}_n est la matrice de pondération uniforme des lignes ($w_i = 1/n$), et quand \mathbf{D}_p est l'identité (métrique euclidienne), cette analyse est une simple ACP. Quand de plus les variables sont centrées, l'inertie totale est égale à la somme de leurs variances.

On peut maintenant définir le schéma de dualité d'une analyse inter-groupes. Les échantillons appartiennent à g groupes, notés G_1, \dots, G_g , d'effectifs n_1, \dots, n_g , vérifiant $\sum n_k = n$. L'analyse inter-groupes est l'analyse du triplet $(\mathbf{X}_B, \mathbf{D}_p, \mathbf{D}_g)$, où \mathbf{X}_B est la matrice (g, p) des moyennes par groupe :

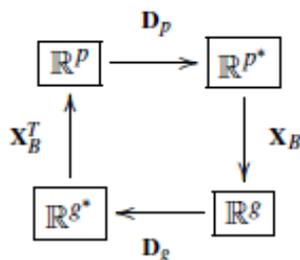
$$\mathbf{X}_B = [\bar{x}_j^k]_{(g,p)}$$

Le terme $\bar{x}_j^k = \frac{1}{n_k} \sum_{i \in G_k} x_{ij}$ est la moyenne de la variable j dans le groupe k . En notation matricielle, si \mathbf{B} est la matrice des indicatrices de classes :

$\mathbf{B} = [b_i^k]_{(n,g)}$, avec $b_i^k = 1$ si $i \in G_k$ et $b_i^k = 0$ si $i \notin G_k$, alors on a :

$$\mathbf{X}_B = \mathbf{D}_g \mathbf{B}^T \mathbf{X}$$

La matrice $\mathbf{D}_g = \text{Diag}(1/n_k)$ est la matrice diagonale des poids des groupes, et \mathbf{B}^T est la transposée de \mathbf{B} . Le schéma de dualité correspondant est le suivant :



L'analyse inter-groupes est donc l'analyse du tableau des moyennes par groupe, ce qui conduit à la diagonalisation de la matrice $X_B^T D_g X_B D_p$. Son but est de mettre en évidence les différences entre groupes, et les scores des lignes maximisent la variance inter-groupes. La significativité statistique de ces différences peut être testée à l'aide d'un test de permutation (test de Monte-Carlo), en prenant comme critère le rapport variance inter/variance totale. Les scores des lignes du tableau initial peuvent être calculés en projetant les lignes du tableau X sur les sous-espaces engendrés par les composantes principales.

3.1.1 UTILISATION DE L'ANALYSE INTER-GROUPES

Un avantage supplémentaire de la BGA est sa simplicité d'utilisation : dans les cas simples, elle se réduit à l'ACP du tableau des moyennes par groupe, suivie d'une projection des échantillons de départ comme éléments supplémentaires dans cette ACP. Cette seconde étape fournit des scores des échantillons qui peuvent être utilisés pour tracer des graphiques intéressants.

Un autre avantage de la BGA est qu'elle peut être utilisée après n'importe quel type d'analyse. Dans le package `ade4` pour R, les analyses de base à un tableau comprennent l'ACP (pour les tableaux de variables quantitatives), l'analyse des correspondances (COA, pour les tables de contingences), et l'analyse des correspondances multiples (ACM, pour les tableaux de variables qualitatives). Mais il existe d'autres types d'analyses, comme par exemple l'analyse en coordonnées principales (PCO, pour les matrices de distances), les analyses sur variables floues (fuzzy principal component analysis FPCA et fuzzy correspondence analysis FCA), les analyses non symétriques (NSCA), les analyses décentrées, etc. Toutes ces analyses sont adaptées à des types de données particuliers, ou à des objectifs d'analyse différents, et l'analyse inter-groupes peut être appliquée après n'importe laquelle de ces analyses de base.

3.1.2 EXEMPLES DE BGA

Neuf des articles publiés entre 2005 et 2009 utilisent la BGA (tabl. 1). Dans huit de ces articles, la BGA a été calculée sur des profils ISCP, et dans le dernier (Faye *et al.*, 2009), elle a été appliquée à des paramètres fongiques et de la plante hôte. Dans ces articles, les groupes correspondent à différentes situations : l'effet de l'inoculation avec *Pisolithus* sp. comparé à d'autres facteurs comme un amendement phosphoré (Ouahmane *et al.*, 2009), l'introduction d'une espèce végétale exotique (un Acacia Australien, *Acacia holosericea*) (Remigi *et al.*, 2008), une inoculation de bactéries symbiotiques (Faye *et al.*, 2009), l'effet de « plante facilitatrice » (Ouahmane *et al.*, 2006 ; Duponnois *et al.*, 2009), ou l'effet de la désinfection des sols (Ramanankierana *et al.*, 2007).

D'autres analyses sont basées sur les interactions entre des plantules d'eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis*), l'inoculation avec *Glomus intraradices*, et l'apport d'engrais (Kisa *et al.*, 2007), sur la résistance au cadmium induite par un amendement avec une poudre de termitière (Duponnois *et al.*, 2006a), et sur la comparaison de la diversité fonctionnelle microbienne entre les compartiments rhizosphérique, hyphosphérique, et mycorrhizosphérique (Ramanankierana *et al.*, 2006).

Dans toutes ces analyses sauf trois, le nombre d'échantillons était inférieur au nombre de variables, ce qui signifie qu'il n'aurait pas été possible d'utiliser des méthodes du type analyse discriminante pour séparer les groupes et tester la significativité des différences entre groupes. L'analyse inter-groupes nous a permis d'analyser ces données et de tester la significativité des différences malgré le faible nombre d'échantillons.

3.1.3 GRAPHIQUES EN BGA

Le but des représentations graphiques après une BGA est de souligner les différences entre les groupes, quand ces différences sont significatives. Trois exemples de graphiques sont présentés ici : des enveloppes convexes [Figure 1, Faye *et al.* (2009)], des étoiles [Figure 2, Kisa *et al.* (2007)], et des courbes de Gauss [Figure 3, Ouahmane *et al.* (2009)].

Dans le premier exemple (fig. 1), Faye *et al.* (2009) utilisent la BGA pour montrer que l'augmentation de biomasse des plantules de *Faidherbia albida* est positivement influencée

par l'inoculation des *Bradyrhizobia*. De plus, cet effet varie en fonction de l'origine des isolats de *Bradyrhizobia*. Les souches de *Bradyrhizobia* provenaient d'une expérience de mycorhization en conditions contrôlées avec une espèce d'Acacia exotique (*A. holosericea*) et un champignon ectomycorhizien *Pisolithus albus* IR100. Cette plantation était située au Sénégal. Les isolats de *Bradyrhizobia* de trois origines ont été comparés, et quatre variables ont été mesurées sur les plants de *F. albida* : biomasse aérienne et racinaire (SB et RB), nombre total et poids sec des nodules (TN et WN). Les trois origines des isolats étaient :

1. Souche bactérienne isolée du sol provenant d'une plantation d'*A. holosericea* qui avaient été inoculés précédemment avec le champignon ectomycorhizien *P. albus* IR100 (IR100S sur la figure 1) ;
2. Souche bactérienne isolée du sol provenant d'une plantation d'*A. holosericea* non inoculés (NIS sur la figure 1) ;
3. Souche bactérienne isolée du sol provenant d'un parc à *F. albida* proche de la plantation d'*A. holosericea* (PS sur la figure 1).

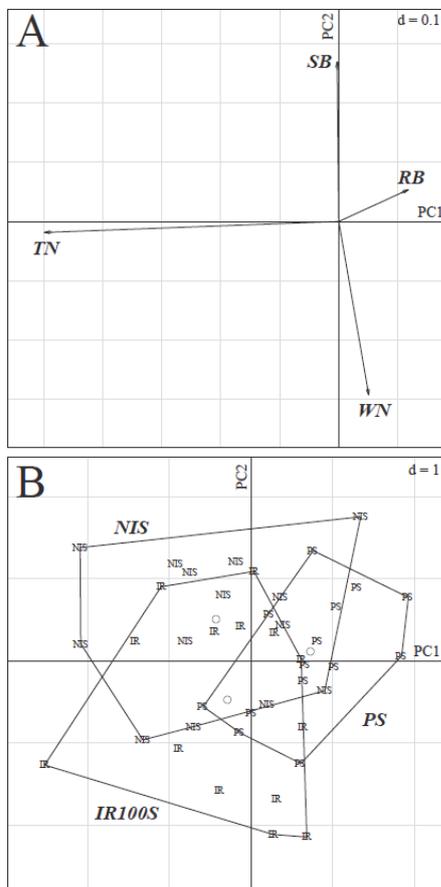


Figure 1. Analyse inter-groupes (BGA) de la croissance de *Faidherbia albida* (biomasse aérienne et racinaire : SB et RB respectivement) et de la formation des nodules (nombre total et poids sec de nodules par plante : TN et WN respectivement). A : plan factoriel des variables. B : plan factoriel des échantillons. L'échelle est donnée par la valeur de d dans le coin supérieur droit de chaque graphique : cette valeur correspond à la taille du quadrillage de l'arrière-plan. Sur le plan factoriel des variables (A), le premier axe (horizontal) oppose le nombre de nodules (à gauche) à la biomasse racinaire (à droite), et le second axe (vertical) oppose la biomasse aérienne (en haut) au poids sec des nodules (en bas). Le plan factoriel des échantillons (B) est éclaté en trois groupes en fonction de l'origine des isolats de

Bradyrhizobia : NIS = sol de plantation avec arbres non inoculés, IR100S = sol de plantation avec arbres inoculés, et PS = sol collecté en dehors de la plantation provenant d'un parc à *F. albida*. Le cercle dans chaque enveloppe convexe donne la position du centre de gravité de chaque groupe. [D'après Faye *et al.* (2009)].

Sur la figure 1, les trois origines sont représentées par des enveloppes convexes entourant les échantillons correspondant à chaque groupe. Le test de permutation a montré que les différences entre les trois origines étaient statistiquement significatives ($p < 0,01$), et l'utilisation des enveloppes convexes sur la Figure 1 permet de souligner ces différences. Faye *et al.* (2009) concluent que l'introduction d'espèces végétales exotiques (*A. holosericea* est un Acacia australien) peut affecter de façon importante la structure et l'efficacité symbiotique des populations de *Bradyrhizobia* autochtones, et ils notent que cela pourrait limiter la régénération naturelle d'espèces sahéliennes natives comme *F. albida*.

Dans le deuxième exemple (fig. 2), Kisa *et al.* (2007) utilisent la BGA pour montrer que la diversité fonctionnelle des communautés bactériennes du sol (mesurée par des profils ISCP) est modifiée par l'espèce d'Eucalyptus exotique *Eucalyptus camaldulensis*, et que l'inoculation d'un champignon mycorhizien à arbuscules (*Glomus intraradices*) peut contrebalancer cette influence négative. La figure 2 montre les 32 substrats des profils SIR (en haut) et la position des échantillons de sols sur lesquels ces profils ont été mesurés (en bas). Les étoiles à cinq branches sur cette figure correspondent aux cinq répétitions expérimentales et à leur position moyenne (cercle placé au centre de l'étoile). Le test de permutation de la BGA confirme que la différence entre les 4 traitements est très significative ($p < 0,001$). L'effet de *Eucalyptus camaldulensis* sur la diversité fonctionnelle des bactéries (différence entre WEC et FA) et l'influence compensatrice de l'inoculation de *Glomus intraradices* sont très clairs. Kisa *et al.* (2007) concluent que la symbiose avec un champignon mycorhizien à arbuscules peut compenser l'influence négative exercée par la présence d'un arbre exotique sur les communautés bactériennes du sol.

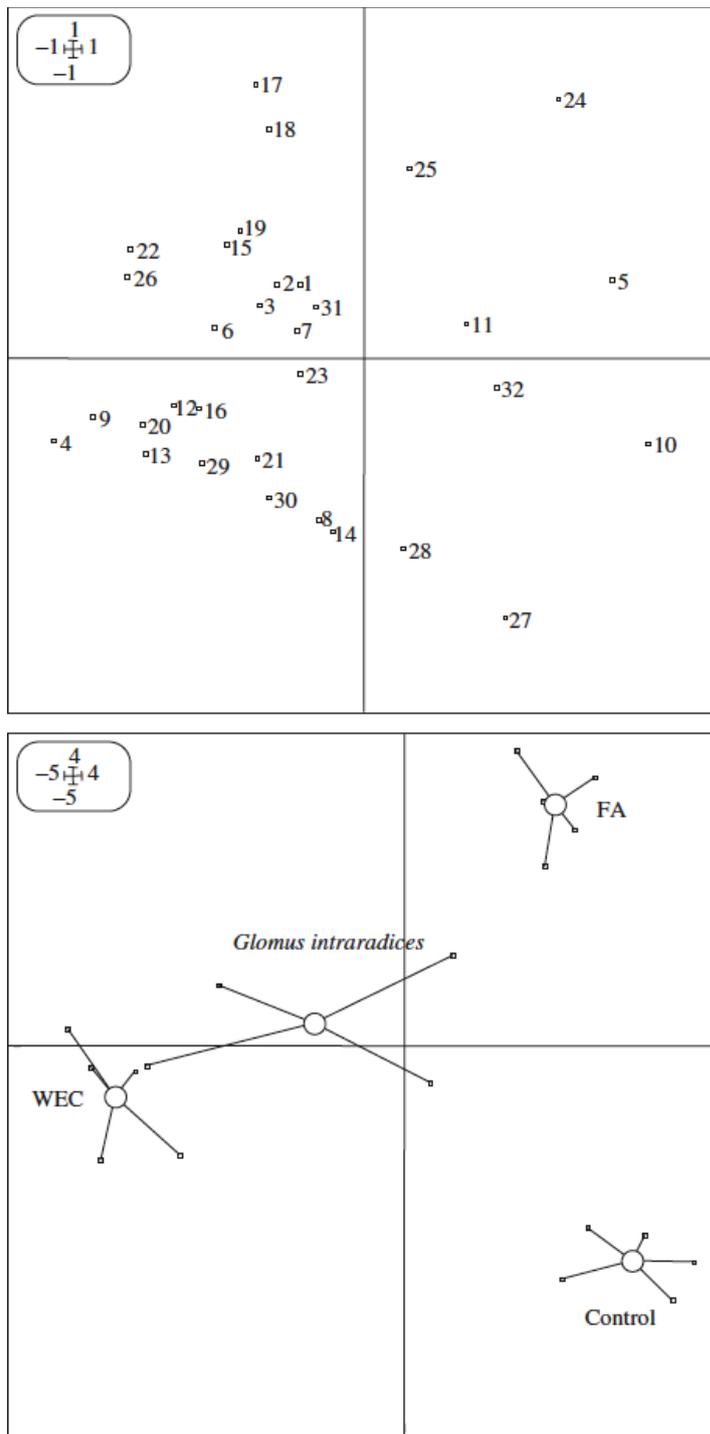


Figure 2. Analyse inter-groupes (BGA) des profils SIR pour différents traitements. Les traitements du sol sont les suivants. WEC : sans plantules d'*Eucalyptus camaldulensis*. FA : fertilisation avant plantation. *Glomus intraradices* inoculation par G.i. Liste des substrats des profils SIR : 1, L-phenylalanine ; 2, L-glutamine ; 3, L-serine ; 4, L-arginine ; 5, L-asparagine ; 6, L-histidine ; 7, L-lysine ; 8, L-glutamic acid ; 9, L-tyrosine ; 10, L-cysteine ; 11, D-glucose ; 12, D-mannose ; 13, sucrose ; 14, D-glucosamine ; 15, N-methyl-D-glucamine ; 16, succinamide ; 17, ascorbic acid ; 18, citric acid ; 19, fumaric acid ; 20, gluconic acid ; 21, quinic acid ; 22, malonic acid ; 23, formic acid ; 24, ketoglutaric acid ; 25, ketobutyric acid ; 26, succinic acid ; 27, tartaric acid ; 28, uric acid ; 29, oxalic acid ; 30, gallic acid ; 31, malic acid ; 32, DL-

hydroxy-butyric acid. [D'après Kisa *et al.* (2007)]

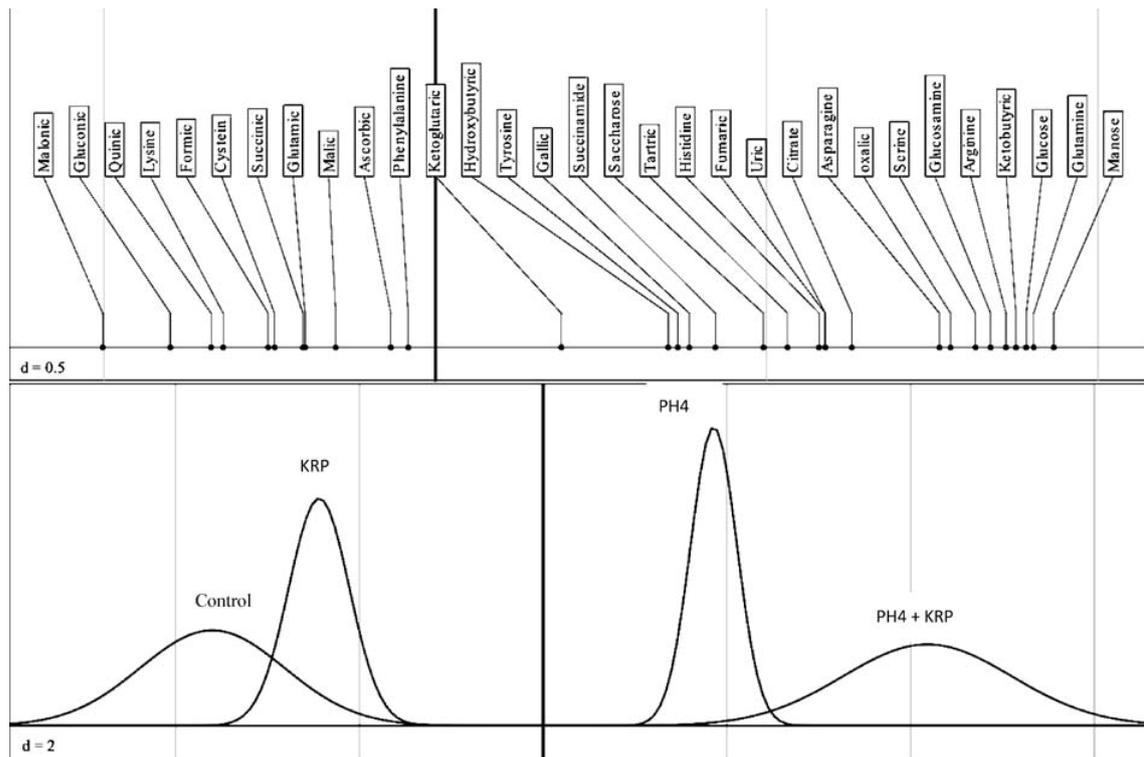
La figure 3 (Ouahmane *et al.*, 2009) montre un troisième exemple de représentation graphique en BGA, avec un seul axe principal. Le but de cette analyse est de montrer que l'inoculation de *Pinus halepensis* avec le champignon ectomycorhizien *Pisolithus* sp. (souche PH4) a un effet important sur la diversité fonctionnelle microbienne du sol et sur la solubilisation du phosphate minéral (Khouribga Rock Phosphate, KRP). Le premier axe de la BGA montre clairement l'effet de l'inoculation de PH4 sur la diversité fonctionnelle (profils ISCP), et l'utilisation du second axe pour tracer une carte factorielle n'est donc pas utile. Dans la partie supérieure du graphique, les substrats sont ordonnés en fonction de leur coordonnée sur l'axe 1 de la BGA. Dans la partie inférieure, des courbes de Gauss sont ajustées aux paramètres (moyenne et variance) des coordonnées des échantillons. La moyenne et la variance des cinq échantillons appartenant à chacun des quatre traitements (Control = Témoin, KRP, PH4, PH4 + KRP) sont calculées et les courbes de Gauss correspondantes sont tracées. Cette représentation montre, pour chaque traitement, les substrats optimaux (position du maximum de la courbe) et sa diversité fonctionnelle (amplitude de la courbe). Le test de permutation montre que les différences entre les quatre traitements sont très significatives ($p < 0,001$).

3.2 ANALYSE DE COINERTIE

Il existe de nombreuses méthodes d'analyse de données pour étudier les relations entre deux tableaux de données. En écologie, ces méthodes jouent un rôle majeur car elles peuvent être utilisées pour analyser les relations entre la distribution des espèces et les paramètres environnementaux. Classiquement, ces méthodes s'appliquent sur un tableau florofaunistique, contenant le nombre d'individus de diverses espèces (en colonnes) trouvés dans un ensemble de sites (lignes), et un tableau de données environnementales contenant les valeurs de paramètres de l'environnement (colonnes) mesurés dans les mêmes sites (lignes). La significativité statistique de la relation entre les deux tableaux peut être testée par un test de permutation, dont le critère dépend de la méthode utilisée. Par exemple, en analyse de coinertie, ce test de permutation est basé sur la coinertie totale (i.e., la somme des carrés des covariances croisées entre les variables des deux tableaux, cf. paragraphe 3.2.1).

Figure 3 Représentation graphique (de type biplot) de l'axe 1 de la BGA sur les profils ISCP des échantillons de sol provenant de différents traitements. La partie supérieure de la figure montre les coordonnées des 31 substrats le long de l'axe 1 de la BGA. Les quatre courbes de

Gauss dans la partie inférieure représentent la moyenne et la variance des coordonnées des échantillons de sols provenant des 4 traitements sur l'axe 1 de la BGA. Control : sol non inoculé et sans amendement, KRP : sol amendé avec du phosphate minéral de Khouribga, PH4 : sol inoculé avec *Pisolithus* sp. PH4, PH4 + KRP : sol amendé avec du phosphate minéral de Khouribga et inoculé avec *Pisolithus* sp. PH4. [d'après Ouahmane *et al.* (2009)].



3.2.1 COIA ET AUTRES METHODES

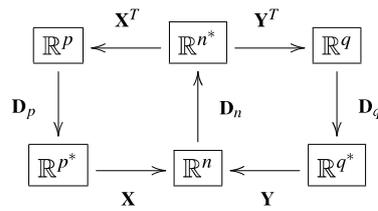
Dray *et al.* (2003) donnent une description mathématique détaillée de l'analyse de coinertie et la compare avec plusieurs autres méthodes, en particulier l'analyse des corrélations canoniques (CANCOR), l'analyse canonique des correspondances (CCA) et l'analyse des redondances (RDA). Ils notent que l'analyse de coinertie est la seule méthode qui n'a pas de contrainte sur le nombre d'échantillons par rapport au nombre d'espèces ou de variables environnementales. Ils soulignent aussi les problèmes rencontrés par les autres méthodes quand le nombre d'échantillons est faible ou quand les variables explicatives sont corrélées. Par exemple, si le nombre d'échantillons est inférieur au nombre de variables environnementales, alors la CCA est équivalente à une analyse des correspondances simple, et

la relation avec les variables environnementales est perdue. De la même façon, la RDA est réduite à une simple ACP et la relation avec l'environnement est également perdue.

La principale différence entre l'analyse de coinertie et les méthodes sous contraintes comme la CCA ou la RDA est la différence entre stratégie descriptive et stratégie prédictive (Thioulouse, 2011). Le but de la première est une description objective du jeu de données et des relations entre ses différentes composantes. La seconde approche est orientée vers la prédiction de variables expliquées (ou « dépendantes ») par des variables explicatives (ou « indépendantes »). Cette distinction implique une asymétrie des méthodes prédictives et une symétrie des méthodes descriptives. Elle introduit aussi des contraintes calculatoires : les méthodes prédictives ont une étape comprenant une inversion de matrice qui n'est pas présente dans les méthodes descriptives. Cette inversion de matrice a des conséquences négatives sur les jeux de données qui peuvent être analysés. Elle implique que les variables explicatives doivent être indépendantes (au sens statistique), car le rang de leur matrice de corrélation ne doit pas être inférieur à leur dimension. Elle implique donc que le nombre d'échantillons ne doit pas être largement supérieur au nombre de variables explicatives.

De la même façon que la BGA peut être vue comme l'analyse d'un tableau de moyennes par groupe, l'analyse de coinertie peut être vue comme l'analyse du tableau des covariances croisées entre les variables des deux tableaux. Le nombre de lignes et de colonnes de ce tableau croisé est égal au nombre de colonnes des deux tableaux de départ. Les coordonnées des échantillons sont calculées par projection des lignes des deux tableaux initiaux dans cette analyse, ce qui signifie que l'analyse de coinertie fournit deux jeux de coordonnées des échantillons (un pour chaque tableau de départ). Une description de l'analyse de coinertie en termes de schéma de dualité est donnée par Thioulouse (2011), et nous reprenons ici un court résumé de cette présentation.

Soit X le premier tableau (variables environnementales), à n lignes (échantillons) et p colonnes (variables), et soit Y le second tableau (espèces), avec les mêmes n lignes, et q colonnes (espèces). X^T et Y^T sont les transposées de X et Y . Soit D_n la matrice diagonale ($n \times n$) des poids des échantillons : $D_n = \text{diag}(w_1, \dots, w_n)$, et soit D_p et D_q deux métriques diagonales sur R^p et R^q respectivement. L'analyse de coinertie est définie par son « diagramme couplé », qui montre qu'il s'agit de la décomposition aux valeurs propres de la matrice $X^T D_n Y D_q Y^T D_n X D_p$:



La notation en triplet de ce diagramme est $(Y^T D_n X, D_p, D_q)$. Si les colonnes des deux tableaux sont centrées, alors l'inertie totale de chaque tableau est simplement une somme de variances : $I_X = \text{trace}(X D_p X^T D_n)$ et $I_Y = \text{trace}(Y D_q Y^T D_n)$. Et la coinertie entre X et Y est dans ce cas une somme de carrés de covariances :

$$\text{CoI}_{XY} = \text{trace}(X D_p X^T D_n Y D_q Y^T D_n)$$

C'est ce critère qui est utilisé dans le test de permutation pour vérifier la significativité statistique de la relation entre les deux tableaux.

L'analyse de coinertie est aussi liée à la régression PLS : la première étape de la régression PLS est équivalente au premier axe de l'analyse de coinertie. Elle est aussi similaire à la weighted-averaging PLS (WA-PLS) de ter Braak et Juggins (1993) et elle a les mêmes avantages, autorisant un nombre de variables quelconque sans avoir à faire appel aux méthodes de régression par pas ou de sélection automatique de variables.

3.2.2 EXEMPLES D'ANALYSE DE COINERTIE

Sept des 16 articles publiés entre 2005 et 2009 utilisent l'analyse de coinertie (tabl. 2). Dans six de ces articles, elle est utilisée pour étudier les relations entre diversité bactérienne fonctionnelle (profils ISCP) et d'autres types de données. Dans un autre article (Diallo *et al.*, 2006), elle est utilisée pour étudier l'effet de poudres de feuilles exotiques ou autochtones sur la croissance de la plante. L'analyse de coinertie est utilisée pour étudier les relations entre la diversité bactérienne fonctionnelle, la croissance de la plante hôte, et la mise en place de la symbiose mycorhizienne dans différentes conditions de traitement des sols (inoculation mycorhizienne et amendement phosphoré) (Ouahmane *et al.*, 2007). Elle a aussi été utilisée dans un article sur la relation entre diversité bactérienne fonctionnelle et la croissance du Sorgho, le développement du *Striga* avec ou sans amendement avec de la poudre de termitière

(Andrianjaka *et al.*, 2007). Un autre exemple est donné par Ouahmane *et al.* (2006) dans un article sur l'effet « plante facilitatrice » (*Lavandula* species) sur la croissance de *Cupressus arizonica* et la diversité fonctionnelle microbienne du sol. Duponnois *et al.* (2006b), Duponnois *et al.* (2005a) et Duponnois *et al.* (2005b) utilisent l'analyse de coinertie pour étudier les relations entre diversité bactérienne fonctionnelle dans le sol, croissance de la plante hôte, et certains paramètres de mycorhization dans diverses conditions d'amendement avec de la poudre de termitière, d'amendement phosphoré, et d'inoculation avec un champignon ectomycorhizien, *Scleroderma dictyosporum*. Le dernier exemple est celui de l'utilisation de l'analyse de coinertie pour étudier l'effet d'un amendement en phosphore minéral et d'une inoculation avec *Glomus intraradices* sur les relations entre diversité fonctionnelle bactérienne et croissance de la plante hôte (Duponnois *et al.*, 2005b).

Dans la plupart de ces exemples, le nombre d'échantillons est faible : ce sont des données de terrain et chaque échantillon représente beaucoup de temps et de travail. L'analyse de coinertie permet d'étudier ces jeux de données de petite dimension et d'obtenir des résultats statistiquement significatifs là où d'autres méthodes n'auraient pas pu être appliquées.

3.2.3 GRAPHIQUES EN ANALYSE DE COINERTIE

Le but des représentations graphiques d'une analyse de coinertie est de mettre en évidence des relations entre les deux tableaux analysés. L'analyse de coinertie produit quatre jeux de coordonnées : un pour les lignes et un pour les colonnes de chaque tableau. La figure 4 est tirée de Ouahmane *et al.* (2007), et elle montre un exemple des quatre graphiques qui peuvent être réalisés avec les quatre jeux de coordonnées. Dans cet exemple, l'objectif des auteurs est de montrer la différence d'influence entre l'inoculation par un champignon mycorhizien à arbuscules autochtone (AM) ou allochtone (GI) et un amendement par un phosphate minéral sur la relation entre la diversité fonctionnelle bactérienne dans le sol et la croissance de la plante hôte. Les auteurs utilisent l'analyse de coinertie pour étudier les relations entre un tableau de profils SIR et un tableau de paramètres de la plante hôte. Dans le tableau des profils SIR, les colonnes correspondent à 28 substrats et les lignes correspondent à 18 échantillons de sol ayant subi les différents traitements (inoculations et amendement phosphoré). Dans le tableau des paramètres végétaux, les colonnes sont la taille (H), la biomasse racinaire et aérienne (SB, RB), la teneur en phosphore des feuilles (P), et le taux de colonisation mycorhizienne (MC), mesurés sur des plantules de *Cupressus atlantica*

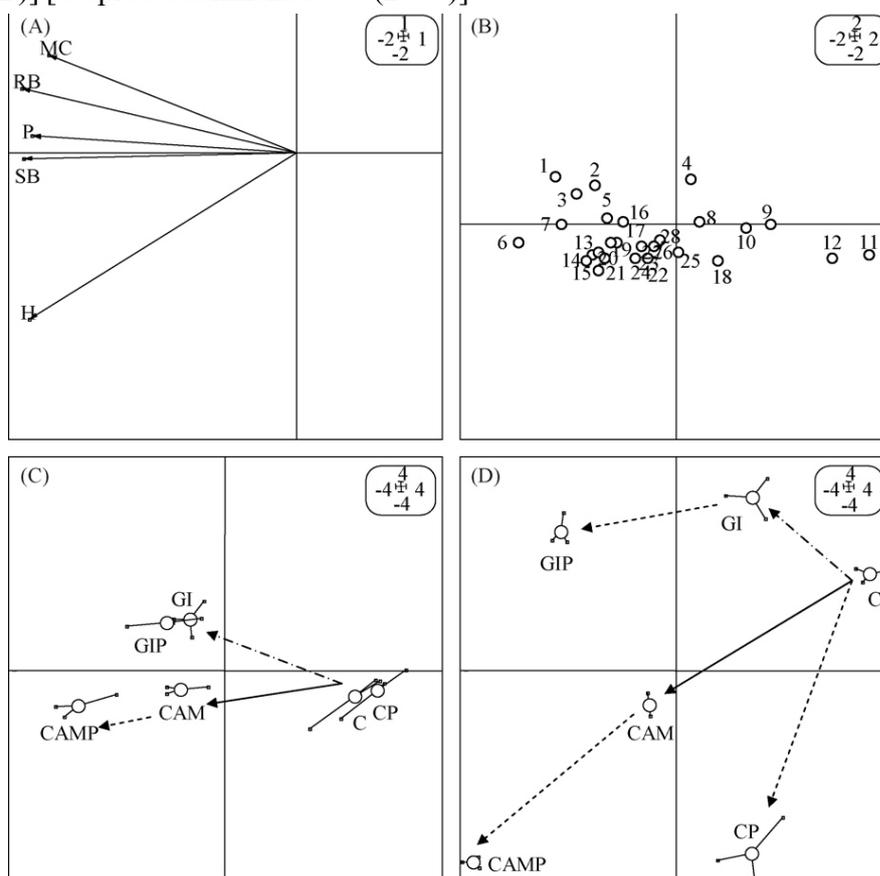
provenant des mêmes échantillons de sol que dans le premier tableau. Le test de permutation de l'analyse de coinertie montre que la relation entre ces deux tableaux est statistiquement très significative.

Le premier graphique (fig. 4A) est le plan factoriel des paramètres auxologiques des plantules de *Cupressus atlantica*. Les cinq paramètres sont tous orientés vers la gauche, il s'agit d'un « effet taille » classique, qui signifie que le côté gauche du graphique correspond aux échantillons où la croissance de la plante est meilleure, alors qu'inversement le côté droit correspond aux échantillons où la croissance des plantules de *Cupressus atlantica* est plus faible. Sur la figure 4C, on peut voir que cette meilleure croissance est corrélée avec l'inoculation par un mélange de souches autochtones de champignons mycorhiziens à arbuscules (CAM) et que cet effet est encore plus fort avec un amendement en phosphore minéral de Khouribga (CAMP). L'inoculation avec le champignon d'origine allochtone *Glomus intraradices* (GI) est aussi corrélée à une meilleure croissance de la plante, mais dans ce cas il n'y a pas d'effet additionnel d'un amendement en phosphate minéral de Khouribga (GIP).

Sur les figures 4B et 4D, on peut constater que la croissance est aussi liée à la diversité fonctionnelle de la communauté bactérienne du sol. Les substrats SIR situés sur la gauche de la figure 4B (en particulier les acides organiques) correspondent à une meilleure croissance de la plante, et sont corrélés avec l'inoculation de champignons autochtones seuls (CAM) ou en combinaison avec un amendement phosphoré (CAMP). L'effet de l'inoculation de *Glomus intraradices* seul (GI) ou en combinaison avec un amendement phosphoré (GIP) est aussi positif sur la croissance de la plante, mais l'effet est nettement moins fort que celui des champignons autochtones. L'amendement en phosphate minéral seul (CP) est lui aussi positif, mais beaucoup moins qu'en combinaison avec l'inoculation d'un champignon mycorhizien à arbuscules.

Les auteurs concluent que l'utilisation de champignons mycorhiziens à arbuscules autochtones, avec leur effet sélectif sur la microflore du sol, doit être prise en compte pour optimiser une réimplantation durable d'espèces végétales dans un sol dégradé.

Fig. 4. Analyse de coïncidence de la relation entre les profils SIR (B, D) des sols inoculés avec *Glomus intraradices* ou avec un mélange de souches de champignons mycorhiziens à arbuscules d'origine autochtone plus un amendement en phosphate minéral de Khouribga, et d'autre part les paramètres de croissance des plantules de *Cupressus atlantica* (A, C). (A) : plan factoriel des paramètres auxologiques (H : hauteur, SB : biomasse aérienne, RB : biomasse racinaire, P : teneur en phosphore des feuilles, MC : taux de mycorhization). (B) : plan factoriel des 28 substrats des profils SIR (D-mannose, 1 ; L-serine, 2 ; L-histidine, 3 ; L-tyrosine, 4 ; acide gluconique, 5 ; acide urique, 6 ; L-lysine, 7 ; acide L-glutamique, 8 ; sucrose, 9 ; succinamide, 10 ; cyclohexane, 11 ; L-glutamine, 12 ; acide citrique, 13 ; acide kétobutyrique, 14 ; acide tartrique, 15 ; acide DL-hydroxybutyrique, 16 ; N-méthyl-D-glucosamine, 17 ; D-glucose, 18 ; acide quinique, 19 ; L-asparagine, 20 ; acide succinique, 21 ; acide malique, 22 ; acide oxalique, 23 ; acide fumarique, 24 ; acide ascorbique, 25 ; acide malonique, 26 ; acide kétoglutarique, 27 ; L-arginine, 28). (C) : plan factoriel des 18 échantillons pour les paramètres végétaux (C : témoin (non inoculé), CP : amendement avec phosphate minéral de Khouribga, GI : inoculation avec *Glomus intraradices*, GIP : inoculation avec *Glomus intraradices* et amendement avec phosphate minéral de Khouribga, CAM : mélange de souches autochtones de champignons mycorhiziens à arbuscules, CAMP : mélange de souches autochtones de champignons mycorhiziens à arbuscules et amendement en phosphate minéral de Khouribga). (D) : plan factoriel des 18 échantillons pour les profils SIR [cf. (B)] [d'après Ouahmane *et al.* (2007)].



4. DISCUSSION ET CONCLUSION

Les résultats présentés dans les articles de cette revue montrent que : (i) le bio-fonctionnement du sol est dirigé par un nombre élevé de composantes microbiologiques et de voies biochimiques, (ii) la symbiose mycorhizienne joue un rôle-clé dans la complexité du microbiote du sol, (iii) il est nécessaire d'utiliser des outils statistiques appropriés pour estimer les divers patrons d'agrégation d'indicateurs microbiologiques et biochimiques pour évaluer la qualité du sol. Les patrons d'agrégation d'indicateurs sont des ensembles d'indicateurs biologiques qui décrivent l'état d'un environnement particulier. Brussaard *et al.* (1997) ont proposé l'hypothèse selon laquelle une diminution de la diversité des micro-organismes présents dans le sol aurait pour conséquence une moindre résistance de ces sols au stress et aux perturbations. La quantification des impacts de divers traitements sur la qualité du sol et plus particulièrement sur la diversité fonctionnelle bactérienne du sol est donc très pertinente pour la mise au point des stratégies culturales nécessaires pour les programmes de conservation.

La mesure de la qualité des sols revêt une grande importance dans ce domaine. Dans cette discussion, nous abordons le problème de la mycorhization par inoculation contrôlée. Comme cela a été décrit par Ouahmane *et al.* (2006) dans les plans de revégétalisation, deux stratégies d'amélioration peuvent être proposées : (i) inoculation des plantes avec des microsymbiontes sélectionnés (Ouahmane *et al.*, 2007) et/ou (ii) gestion du potentiel mycorhizien autochtone grâce à des espèces végétales autochtones hautement mycotrophes et résistantes à la sécheresse (Duponnois *et al.*, 2001 ; Azcon-Aguilar *et al.*, 2003). En fonction des caractéristiques du potentiel mycorhizien du sol, et de la microflore associée en termes d'abondance et de diversité, l'introduction de propagules mycorhiziennes dans le sol pourrait induire des modifications importantes des caractéristiques microbiologiques du sol qui pourraient faire baisser l'effet potentiel de ces symbiontes fongiques sur le biofonctionnement du sol et la croissance de la plante (Dabire *et al.*, 2007). La structure des communautés mycorhiziennes du sol doit donc être évaluée pour adopter l'une ou l'autre de ces stratégies culturales : mycorhization contrôlée quand le potentiel mycorhizien du sol est trop faible pour assurer un effet sur la croissance de la plante et le biofonctionnement du sol, ou bien gestion du potentiel mycorhizien du sol pour accroître la diversité et l'abondance des champignons autochtones.

Il est bien connu que la stabilité écologique (résistance et résilience) du système pédologique est un facteur-clé qui influence les processus et les propriétés écosystémiques (Orwin et Wardle, 2004). La résistance est habituellement considérée comme la quantité de changements produits par une perturbation et la résilience comme la vitesse à laquelle un écosystème revient à l'état qui précédait la perturbation (Pimm, 1984). Dans ce contexte, le développement mycorhizien joue un grand rôle dans la stabilité des écosystèmes du sol. De nombreux indices ont été proposés dans la littérature pour quantifier la stabilité d'un écosystème du sol, basés à la fois sur la résistance et sur la résilience (Lavorel, 1999 ; Orwin et Wardle, 2004). Malheureusement, la plupart de ces indices posent des problèmes dans leur interprétation ou dans leur utilisation dans certaines situations. Il est nécessaire de disposer d'indices fournissant une mesure relative quantitative de la résilience et de la résistance d'une variable réponse dans tous les cas de scénarios possibles pour comparer la stabilité de différents écosystèmes. Mais la plupart des indices utilisés actuellement en sont incapables, ou sont difficiles à interpréter pour différentes raisons, comme par exemple des différences de normalisation ou de conditions expérimentales.

Cet article a présenté des techniques d'analyse multivariée originales permettant d'analyser et de préciser les interactions entre plante, communautés microbiennes, champignons mycorhiziens, et paramètres physico-chimiques environnementaux. Les données provenant des articles de cette revue soulignent l'importance fondamentale du rôle de la symbiose mycorhizienne dans le biofonctionnement du sol, et aussi l'importance des interactions avec d'autres paramètres tels que les caractéristiques physico-chimiques, les amendements (par exemple, l'amendement phosphaté), ou la composition du couvert végétal. Toutes ces études ont été réalisées dans des conditions expérimentales différentes, avec des modèles biologiques différents, et avec des répétitions pour chaque traitement. Les résultats, analysés avec des outils statistiques adaptés, montrent les avantages de ces méthodes par rapport à des approches plus classiques.

La plupart de ces analyses sont basées sur l'étude de profils ISCP. De nombreux autres travaux ont souligné l'importance de la notion de diversité fonctionnelle des communautés bactériennes du sol dans le cadre d'un fonctionnement durable des écosystèmes terrestres (Degens *et al.*, 2000). La diversité fonctionnelle des communautés bactériennes du sol correspond à une large diversité d'activités, comme la décomposition, la transformation des nutriments, la promotion ou la suppression de la croissance des plantes, et divers processus physiques dans le sol. Les profils ISCP proposent une mesure plus réaliste que d'autres

méthodes, car ils constituent une mesure directe du catabolisme des substrats par la microflore du sol sans étape de culture préalable des bactéries. Le principal objectif de cette technique est de fournir un indicateur de la capacité de la microflore du sol à mobiliser certains nutriments (en particulier, P et N) à partir de matière organique ou minérale, et de conserver un niveau de fertilité des sols nécessaire à la productivité et à la stabilité de l'écosystème. Pour des sols soumis à diverses pratiques culturales, ou différentes couvertures végétales (plus ou moins dégradées), les profils ISCP différeront en fonction de la diversité fonctionnelle des communautés bactériennes. Ces profils ISCP apporteront donc de l'information sur la qualité et la résistance d'un sol à un stress ou à une perturbation (Remigi *et al.*, 2008), et donc sur les capacités de résilience de l'écosystème.

Néanmoins, alors que l'ISCP permet d'obtenir une vision globale du potentiel métabolique microbien d'un sol, la caractérisation de la diversité génétique des communautés microbiennes, tant au niveau taxonomique que fonctionnel, ne peut être atteinte par ce type d'approche, et les méthodes classiques d'empreintes ADN sont souvent limitées dans l'identification des différents membres d'une communauté, biaisant les conclusions écologiques. La combinaison des données d'ISCP avec celles issues des approches de type puce à ADN (Sessitsch *et al.*, 2006) et de séquençage haut débit (Metzker, 2010) représente donc une des perspectives les plus prometteuses pour une meilleure compréhension du fonctionnement biologique du sol et la détermination de bioindicateurs de la qualité des sols. Les méthodes d'analyse multivariée présentées dans cette revue sont particulièrement adaptées pour l'analyse des données issues des approches haut débit en raison, entre autres, du grand nombre de variables obtenues par ce type d'approche (nombre de taxa/OTU séquencés ou identifiés par hybridation). Cependant, la majorité des études reposant sur ces approches moléculaires restent descriptives (Buée *et al.*, 2009 ; Lumini *et al.*, 2010) et peu d'études ont utilisé ces méthodes statistiques pour tenter d'identifier les liens entre diversité microbienne et fonctionnement du sol (Sanguin *et al.*, 2009 ; DeAngelis *et al.*, 2011).

Tous ces résultats doivent enfin être comparés et les paramètres doivent être hiérarchisés pour permettre de proposer des indices mesurant le niveau de stabilité d'un écosystème utilisables dans une large gamme de situations environnementales. Avec ces outils statistiques, différentes conditions environnementales et différents cas d'études pourront être comparés quantitativement de façon plus aisée qu'avec d'autres méthodes d'analyse univariées ou multivariées. Cependant, des indicateurs opérationnels réels basés sur cette approche restent à développer.

L'idée est de synthétiser l'information apportée par ces travaux expérimentaux pour identifier les pratiques culturales qui favorisent des indicateurs biologiques potentiellement impliqués dans la résistance et la stabilité des écosystèmes. Le principal objectif est de mettre en évidence les indicateurs contribuant le plus à cette mesure synthétique de la stabilité.

Du fait que de nombreux paramètres biologiques et chimiques peuvent être analysés ensemble, et puisque des liens peuvent être identifiés entre ces paramètres, cette approche peut fournir des informations sur différentes conditions environnementales et contribuer à une généralisation de l'effet d'une pratique culturale (i.e. mycorhization contrôlée, gestion du potentiel mycorhizien du sol) sur la stabilité de l'écosystème.

Enfin, la disponibilité de logiciels adaptés est aussi une composante clé de cette approche. Dans ce domaine, le logiciel R offre une large gamme de méthodes statistiques, et le package *ade4* contient de nombreuses méthodes d'analyse multivariée en plus de l'ACP, de la BGA et de l'analyse de coinertie. D'autres packages R sont utiles dans le domaine de l'analyse de données écologiques, comme le package *ve-gan* (Oksanen *et al.*, 2010), mais le package *ade4* a la particularité d'être basé sur le modèle mathématique du schéma de dualité. Cela lui permet de proposer un cadre théorique synthétique et cohérent pour toutes les méthodes d'analyse multivariées. Ce point de vue est décrit dans une série d'articles à paraître, présentés par De La Cruz et Holmes (2011). Par exemple, Thioulouse (2011) présente plusieurs méthodes d'analyse de k couples de tableaux, comme STATICO et COSTATIS, ainsi qu'une généralisation de la BGA et de l'analyse de coinertie, appelée analyse de coinertie inter-groupes (BGCoIA) qui pourrait être particulièrement intéressante pour l'étude de la capacité de résilience d'un écosystème.

5. REFERENCES

- Andrianjaka Z, Bally R, Lepage M, Thioulouse J, Comte G, Kisa M, Duponnois R (2007) Biological control of *Striga hermonthica* by cubitermes termite mound powder amendment in sorghum culture. *Applied Soil Ecology* 37 :175–183
- Azcon-Aguilar C, Palenzuela J, Roldan A, Bautista S, Vallejo R, and Barea JM (2003) Analysis of the mycorrhizal potential in the rhizosphere of representative plant species from desertification-threatened Mediterranean shrublands. *Applied Soil Ecology* 14 :165–175

- Barrios E, Delve R, Bejunda M, Mowo J, Agunda J, Ramisch J, Trejo M, Thomas R (2006) Indicators of soil quality : a south-south development of a methodological guide for linking local and technical knowledge. *Geoderma* 135 :248–259
- ter Braak CJF, Juggins S (1993) Weighted averaging partial least squares regression (wa-pls) : an improved method for reconstructing environmental variables from species assemblages. *Hydrobiologia* 269/270 :485–502
- Brundrett M (2002) Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist* 154 :275–304
- Brussaard L, Behanpelletier VM, Bignell DE, Brown VK, Didden W, Folgarait P, Fragoso C, Freckman DW, Gupta VVSR, Hattori T, Hawksworth DL, Klopatek C, Lavelle P, Malloch DW, Rusek J, Soderstrom B, Tiedje JM, Virginia RA, (1997) Biodiversity and ecosystem functioning in soil. *Ambio* 26 :563–570
- Buée M, Reich M, Murat C, Morin E, Nilsson RH, Uroz S, Martin F, (2009) Pyrosequencing analyses of forest soils reveal an unexpectedly high fungal diversity. *New Phytologist* 184 :449–456
- Chessel D, Dufour AB, Thioulouse J (2004) The ade4 package-I- One-table methods. *R News* 4 :5–10
- De La Cruz O, Holmes S (2011) The duality diagram in data analysis : Examples of modern applications. *Annals of Applied Statistics* (in press)
- URL pbil.univ-lyon1.fr/JTHome/AOAS1008-036R0A0.pdf
- Culhane A, Perriere G, Considine E, Cotter T, Higgins D (2002) Between-group analysis of microarray data. *Bioinformatics* 18(12) :1600–1608
- Dabire AP, Hien V, Kisa M, Bilgo A, Sangare KS, Plenchette C, Galiana A, Prin Y, Duponnois R (2007) Responses of soil microbial catabolic diversity to arbuscular mycorrhizal inoculation and soil disinfection. *Mycorrhiza* 17 :537–545
- DeAngelis KM, Allgaier M, Chavarria Y, Fortney JL, Hugenholtz P, Simmons B, Sublette K, Silver WL, Hazen TC (2011) Characterization of trapped lignin degrading microbes in tropical forest soil. *PLoS One* 6(4) e19306.

- Degens BP, Harris JA (1997) Development of a physiological approach to measuring the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* 29(9-10) : 1309–1320
- Degens BP, Schipper LA, Sparling GP, Vojvodic-Vukovic M (2000) Decreases in organic C reserves in soils can reduce the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* 32 :189–196
- Degens BP, Schipper LA, Sparling GP, Duncan LC (2001) Is the microbial community in a soil with reduced catabolic diversity less resistant to stress or disturbance ? *Soil Biology and Biochemistry* 33(9) :1143–1153
- Diallo MD, Duponnois R, Guisse A, Sall S, Chotte JL, Thioulouse J (2006) Biological effects of native and exotic plant residues on plant growth, microbial biomass and n availability under controlled conditions. *European Journal of Soil Biology* 42(4) :238–246
- Doledec S, Chessel D (1987) Seasonal successions and spatial variables in fresh- water environments .1. Description of a complete 2-way layout by projection of variables. *Acta Oecologica-Oecologia Generalis* 8(3) :403–426
- Doledec S, Chessel D (1994) Co-inertia analysis - an alternative method for studying species environment relationships. *Freshwater Biology* 31(3) :277–294
- Doran J, Parkin T (1994) Defining and assessing soil quality. In : Doran J, Coleman D, Bezdicsek D, Stewart B (eds) *Defining soil quality for a sustainable environment*, vol 35, Soil Science Society of America, Madison, WI, pp 3–21
- Dray S, Dufour AB (2007) The ade4 package : Implementing the duality diagram for ecologists. *Journal of Statistical Software* 22(4) :1–20
- Dray S, Chessel D, Thioulouse J (2003) Co-inertia analysis and the linking of ecological data tables. *Ecology* 84(11) :3078–3089
- Dumanski J, Pieri C (2000) Land quality indicators : research plan. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 81 :93–102
- Duponnois R, Plenchette C, Ba AM (2001) Growth stimulation of seventeen fallow leguminous plants inoculated with *Glomus aggregatum* in Senegal. *European Journal of Soil Biology* 124 :181–186

- Duponnois R, Paugy M, Thioulouse J, Masse D, Lepage M (2005a) Functional diversity of soil microbial community, rock phosphate dissolution and growth of *Acacia seyal* as influenced by grass-, litter- and soil-feeding termite nest structure amendments. *Geoderma* 124(3-4) :349–361
- Duponnois R, Colombet A, Hien V, Thioulouse J (2005b) The mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendment influence plant growth and microbial activity in the rhizosphere of *Acacia holosericea*. *Soil Biology and Biochemistry* 37 :1460–1468
- Duponnois R, Kisa M, Assigbetse K, Prin Y, Thioulouse J, Issartel M, Moulin P, Lepage M (2006a) Fluorescent pseudomonads occurring in *Macrotermes subhyalinus* mound structures decrease Cd toxicity and improve its accumulation in sorghum plants. *Science of the Total Environment* 370(2-3) :391–400
- Duponnois R, Assigbetse K, Ramanankierana H, Kisa M, Thioulouse J, Lepage M (2006b) Litter-forager termite mounds enhance the ectomycorrhizal symbiosis between *Acacia holosericea* A. Cunn. Ex G. Don and *Scleroderma dictyosporum* isolates. *FEMS Microbiology Ecology* 56 :292–303
- Duponnois R, Hafidi M, Thioulouse J, Galiana A, Ouahmane L, Dreyfus B, Prin Y (2009) Monitoring the development of nurse plant species to improve the performances of reforestation programs in mediterranean areas. In : Khan MS, Zaidi A, Musarrat J (eds) *Microbial Strategies for Crop Improvement*, Springer-Verlag
- Escoufier Y (1987) The duality diagram : a means of better practical applications. In : Legendre P, Legendre L (eds) *Development in numerical ecology*, NATO advanced Institute, Serie G, Springer-Verlag, Berlin, pp 139–156
- Faye A, Krasova-Wade T, Thiao M, Thioulouse J, Neyra M, Prin Y, Galiana A, Ndoye I, Dreyfus B, Duponnois R (2009) Controlled ectomycorrhization of an exotic legume tree species *Acacia holosericea* affects the structure of root nodule bacteria community and their symbiotic effectiveness on *Faidherbia albida*, a native sahelian acacia. *Soil Biology and Biochemistry* 41(6) :1245–1252

- Frey-Klett P, Chavatte M, Clause ML, Courier S, Roux CL, Raaijmakers J, Martinotti MG, Pierrat JC, Garbaye J (2005) Ectomycorrhizal symbiosis affects functional diversity of rhizosphere fluorescent pseudomonads. *New Phytologist* 165(1) :317–328
- Giller KE, Beare MH, Lavelle P, Izac A-MN, Swift MJ (1997) Agricultural intensification, soil biodiversity and agrosystème function. *Applied Soil Ecology* 6 :3–16
- van der Heijden MGA, Klironomos JN, Ursic M, Moutoglou P, Streitwolf-Engel R, Boller T, Wiemken A and Sanders IA (1998) Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396 :69–72
- Hill MO, Smith AJE (1976) Principal component analysis of taxonomic data with multistate discrete characters. *Taxon* 25 :249–255
- Holmes S (2006) Multivariate analysis : The french way. In : Nolan D, Speed T (eds) *Festschrift for David Freedman*, IMS, Beachwood, OH., pp 1–14
- Huberty CJ (1994) *Applied Discriminant Analysis*. John Wiley and Sons, New York, USA
- Johansson JF, Paul LR, Finlay RD (2004) Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiology Ecology* 48(1) :1–13
- Kiers HAL (1991) Simple structure in component analysis techniques for mixtures of qualitative and quantitative variables. *Psychometrika* 56(2) :197–212
- Kisa M, Sanon A, Thioulouse J, Assigbetse K, Sylla S, Spichiger R, Dieng L, Berthelin J, Prin Y, Galiana A, Lepage M, Duponnois R (2007) Arbuscular mycorrhizal symbiosis can counterbalance the negative influence of the exotic tree species *Eucalyptus camaldulensis* on the structure and functioning of soil microbial communities in a sahelian soil. *FEMS Microbiology Ecology* 62(1) :32–44
- Lavorel S (1999) Ecological diversity and resilience of Mediterranean vegetation to disturbance. *Diversity and Distributions*, 5 :3–13
- LeRoux B, Rouanet H (2004) *Geometric Data Analysis*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands
- Linderman RG (1988) Mycorrhizal interactions with the rhizosphere microflora - the mycorrhizosphere effect. *Phytopathology* 78(3) :366–371

- Lumini E, Orgiazzi A, Borriello R, Bonfante P, Bianciotto V (2010) Disclosing arbuscular mycorrhizal fungal biodiversity in soil through a land-use gradient using a pyrosequencing approach. *Environmental Microbiology* 12(8) :2165–2179
- Metzker ML (2010) Sequencing technologies - the next generation. *Nature Reviews Genetics* 11 :31–46
- Nakatsu CH, Torsvik V, Ovreas L (2000) Soil community analysis using DGGE of 16S rDNA polymerase chain reaction products. *Soil Science Society of America Journal* 64(4) :1382–1388
- Oksanen J, Blanchet FG, Kindt R, Legendre P, O'Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Stevens MHH, Wagner H (2010) *vegan* : Community Ecology Package. URL <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>, r package version 1.17-4
- Orwin KH, Wardle DA (2004) New indices for quantifying the resistance and resilience of soil biota to exogenous disturbances. *Soil Biology and Biochemistry* 36(11) :1907–1912
- Ouahmane L, Hafidi M, Plenchette C, Kisa M, Bournezzough A, Thioulouse J, Duponnois R (2006) *Lavandula* species as accompanying plants in *Cupressus* replanting strategies : Effect on plant growth, mycorrhizal soil infectivity and soil microbial catabolic diversity. *Applied Soil Ecology* 34(2-3) :190–199
- Ouahmane L, Thioulouse J, Hafidi M, Prin Y, Ducouso M, Galiana A, Plenchette C, Kisa M, Duponnois R (2007) Soil functional diversity and P solubilization from rock phosphate after inoculation with native or allochthonous arbuscular mycorrhizal fungi. *Forest Ecology and Management* 241(1-3) :200–208
- Ouahmane L, Revel JC, Hafidi M, Thioulouse J, Prin Y, Galiana A, Dreyfus B, Duponnois R (2009) Responses of *Pinus halepensis* growth, soil microbial catabolic functions and phosphate-solubilizing bacteria after rock phosphate amendment and ectomycorrhizal inoculation. *Plant and Soil* 320(1-2) :169–179
- Pimm SL (1984) The complexity and stability of ecosystems. *Nature* 307(5949) : 321–326

- R Development Core Team (2010) R : A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, URL <http://www.R-project.org>, ISBN 3-900051-07-0
- Ramanankierana N, Rakotoarimanga N, Thioulouse J, Kisa M, Randrianjohany E, Ramaroson L, Duponnois R (2006) The ectomycorrhizosphere effect influences functional diversity of soil microflora. *International Journal of Soil Science* 1 :8–19
- Ramanankierana N, Ducouso M, Rakotoarimanga N, Prin Y, Thioulouse J, Randrianjohany E, Ramaroson L, Kisa M, Galiana A, Duponnois R (2007) Arbuscular mycorrhizas and ectomycorrhizas of *Uapaca bojeri* l. (euphorbiaceae) : spore diversity, patterns of root colonization, and effects on seedling growth and soil microbial catabolic diversity. *Mycorrhiza* 17(3) :195–208
- Remigi P, Faye A, Kane A, Deruaz M, Thioulouse J, Cissoko M, Prin Y, Galiana A, Dreyfus B, Duponnois R (2008) The exotic legume tree species *Acacia holosericea* alters microbial soil functionalities and the structure of the arbuscular mycorrhizal community. *Applied and Environmental Microbiology* 74(5) :1485–1493
- Sanguin H, Remenant B, Dechesne A, Thioulouse J, Vogel TM, Nesme X, Moenne-Loccoz Y, Grundmann GL (2006) Potential of a 16S rRNA-based taxonomic microarray for analyzing the rhizosphere effects of maize on *Agrobacterium* spp. and bacterial communities. *Applied and Environmental Microbiology* 72(6) :4302–4312
- Sanguin H, Sarniguet A, Gizenkel K, Moenne-Loccoz Y, Grundmann (2009) Rhizosphere bacterial communities associated with disease suppressiveness stages of take-all decline in wheat monoculture. *New Phytologist* 184(3) :694–707
- Schreiner RP, Mihara KL, McDaniel H, Bethlenfalvay GJ (1997) Mycorrhizal fungi influence plant and soil functions and interactions. *Plant and Soil* 188(2) :199–209
- Sessitsch A, Hackl E, Wenzl P, Kilian A, Kostic T, Stralis-Pavese N, Sandjong BT, Bodrossy L (2006) Diagnostic microbial microarrays in soil ecology. *New Phytologist* 171(4) :719–736
- Smith SE, Read DJ (2008) *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press

- Thioulouse J (2011) Simultaneous analysis of a sequence of paired ecological tables : a comparison of several methods. *Annals of Applied Statistics* (in press). URL pbil.univ-lyon1.fr/JTHome/AOAS0910-034R2A0.pdf
- Uroz S, Buée M, Murat C, Frey-Klett P, Martin F (2010) Pyrosequencing reveals a contrasted bacterial diversity between oak rhizosphere and surrounding soil. *Environmental Microbiology Reports* 2(2) :281–288
- Venables WN, Ripley BD (2002) *Modern applied statistics with S*. Springer-Verlag.
- Wirsel SGR (2004) Homogenous stands of wetland grass harbour diverse consortia of arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microbiology Ecology* 48 : 129–138
- Zelles L (1999) Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil : a review. *Biology and Fertility of Soils* 29(2) :111–129

CONCLUSION

La désertification affecte les conditions de vie de plus de 2 milliards d'individus sur la planète et installe dans la plupart des pays de l'Afrique la pauvreté et l'insécurité alimentaire. Cet état a de grandes chances de s'aggraver au cours des décennies à venir sous les effets conjugués d'une gestion inappropriée des terres, des ressources en eau et des systèmes agro-sylvo-pastoraux dans le contexte des scénarii de changements climatiques.

Au cours des dernières décennies, la raréfaction des ressources hydriques, la sécheresse, l'intensification de la pression exercée par l'homme sur les ressources naturelles ont créé des conditions propices à la dégradation, à la déforestation et à la désertification. La lutte contre la pauvreté, la dégradation des terres, la sécheresse et la désertification est devenue une priorité mondiale comme en témoigne la ratification des trois conventions de Rio (CCNUCC, CDB et UNCCD). Parmi les recommandations fréquemment émises afin d'identifier des stratégies pour conserver et valoriser les ressources du globe figurent le rôle que doit tenir la communauté scientifique et le renforcement des capacités et du transfert de technologie. Par exemple, une récente conférence portant sur la lutte contre la désertification en Afrique, organisée à Niamey (Niger) du 24 au 25 octobre 2011 et rassemblant des scientifiques, décideurs et institutionnels a émis diverses recommandations parmi lesquelles figurent un renforcement de la coopération scientifique, le renforcement des capacités et le transfert de technologie le déclinant suivant divers volets, à savoir (extrait de la déclaration de Niamey, APMV, IRD et CGEE) :

« 10. Par le soutien à des initiatives en science, technologie et innovation dans les pays situés en régions arides et par le renforcement des centres d'excellence régionaux et continentaux sur des sujets concernant la sécheresse et la désertification.

11. Les réseaux nouveaux et existants et les observatoires consacrés à des approches intégrées en matière de changement climatique, de dégradation des sols et de désertification, de migrations, de santé et d'expériences de développement durable doivent être renforcés.

12. L'échange et le partage des informations et des données relatives aux terres arides doivent être facilités entre les scientifiques et rendus utilisables par les décideurs ».

Ces recommandations sont en parfaite adéquation avec les engagements pris par l'ensemble de ces équipes impliquées dans le groupe Symetrop, à savoir :

- une formation par et pour la recherche dans l'excellence scientifique sur un sujet intéressant indéniablement la gestion durable des sols ;

- une recherche de qualité et innovante avec un volet « application » significatif ;
- des échanges soutenus entre les scientifiques issus des différentes équipes.

Ce niveau d'excellence dans les différents volets de recherche abordés par les équipes de Symetrop doit être encouragé et maintenu, mais un effort tout particulier doit être entrepris afin d'améliorer la valorisation socio-économique de la symbiose mycorhizienne qui, malheureusement, reste encore relativement anecdotique dans les itinéraires culturels adoptés par les hommes du métier.