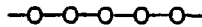


INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHES FORESTIERES  
DE TUNIS



Effet de l'Endomycorhization Vésiculo-arbusculaire  
sur la croissance et la fixation biologique de l'azote  
par Acacia cyanophylla Lind.

Mots Clefs : *Acacia cyanophylla* - *Rhizobium* - *Glomus mosseae*.

NASR Hafedh (1) et DIEM Hoang G.(2).

(1) Institut National de Recherches Forestières  
B.P.2 Ariana Tunis, Tunisie.

(2) B.S.S.F.T., 45 bis Av. de la belle Gabrielle  
94736 Nogent - sur - Marne Cedex, France

## I N T R O D U C T I O N

*Acacia cyanophylla* Lind. appelé encore *Acacia saligna* Labill.-Wendl (MASLIN, 1974) est un arbre ou arbuste à croissance rapide et usages multiples.

*Acacia cyanophylla* est une légumineuse qui peut noduler avec des souches de *Rhizobium* à croissance lente ainsi qu'avec des souches à croissance rapide (NASR, 1985). De ce fait, cette espèce peut fixer l'azote atmosphérique et permettre de la sorte la restauration des sols érodés et marginaux.

En Tunisie, les feuilles d'*A. cyanophylla* constituent un fourrage fortement apprécié par le bétail. Il produit, en outre, un bois de chauffage et de trituration bien exigé par les populations rurales. Cette plante est également utilisée pour la fixation des dunes sableuses littorales et continentales.

Certains travaux ont montré que les champignons vésiculo-arbusculaires peuvent stimuler la croissance de certaines espèces d'*Acacia* (JOHNSON et MICHELINI, 1975; CORNET et DIEM, 1982).

Nous avons essayé d'évaluer l'intérêt de ces champignons endomycorhiziens pour *A. cyanophylla*.

## MATERIEL ET METHODES

Des graines d'*Acacia cyanophylla* sont traitées pendant 75 minutes par l'acide sulfurique pur et laissées germer pendant une semaine sur un milieu gélosé à 28°C. Elles sont ensuite repiquées dans des sachets de polyéthylène contenant du sable stérilisé très pauvre en phosphore et azote. (Tableau 1).

### 1-Préparation de l'inoculum et inoculation.

L'endomycorhization d'*A. cyanophylla* est réalisée par un champignon vésiculo-arbusculaire (VA) : *Glomus mosseae*.

L'inoculum endomycorhizien est obtenu en cultivant la souche de *Glomus mosseae* en association avec *Vigna unguiculata* CV. sur sol stérile.

Au bout de deux mois de culture, les racines infectées de *Vigna unguiculata* sont soigneusement lavées à l'eau et découpées en petits fragments. Environ 1g de poids frais de ces fragments a été appliqué contre les racines de jeunes plantules d'*A. cyanophylla* âgées d'une semaine au moment de leur repiquage. En même temps chaque plante reçoit 1ml d'inoculum liquide d'une souche de *Rhizobium* à croissance lente (CI) isolée à partir d'un sol du nord Tunisien. L'inoculum est constitué par une culture de *Rhizobium* en milieu YEM (Tableau 2). Les plantes témoin sont également inoculées par la souche de *Rhizobium* et reçoivent 1ml de l'eau de lavage des racines servant à l'infection. Cette eau a été filtrée sur papier WHATMAN n°1 qui retient les spores de champignons endomycorhiziens VA mais laisse passer les bactéries. Les témoins ont été ainsi contaminés par la même population bactérienne que les plantes inoculées avec *G. mosseae*.

### 2-Les différentes doses de phosphore utilisées.

Une journée après l'inoculation, différentes doses de phosphore ont été apportées aux plantules d'*A. cyanophylla* sous forme de phosphate dipotassique pur ( $K_2 HPO_4$ ) (Tableau 3).

### 3-Milieu nutritif de la plante .

Les plantes mises en serre sont arrosées quotidiennement à l'eau de robinet (Tableau 4). Chaque semaine, les plantes reçoivent 20ml de solution nutritive de JENSEN (Tableau 5) diluée de moitié et sans azote ni phosphore.

4- Mise en évidence et estimation de l'infection mycorhizienne.

Des racines excisées de la plante sont traitées d'après la méthode de PHILIPS et HAYMAN (1970) et observées à l'aide d'une loupe binoculaire.

L'infection du système racinaire est évaluée d'une manière relative par sa fréquence et son intensité.

5- Dosage du phosphore.

Le phosphore est dosé par colorimétrie après complexation avec un mélange équimoléculaire de métavanadate et de molybdate d'ammonium (JACKSON, 1958).

La concentration en P est déterminée graphiquement à l'aide d'une courbe étalon.

Tableau 1 : Analyse physique et chimique de sol de culture

% Argile -----	0,75
% Limon -----	0,78
% Sable -----	98,23
% C -----	0,12
% N -----	0,01
% P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> total -----	0,08
Ca (m.eq/100g) -----	0,04
Mg (m.eq/100g) -----	0,12
Na (m.eq/100g) -----	0,01
K (m.eq./100g) -----	0,00
pH(KCl) -----	4,5

Tableau 2 : Milieu YEM (VINCENT, 1970).

Mannitol -----	10 g
Na-Glutamate -----	0,5g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -----	0,5g
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O -----	0,2g
NaCl -----	0,05g
CaCl <sub>2</sub> -----	0,04g
Fe Cl <sub>3</sub> -----	4 mg
Extrait de levure -----	1 g
Eau distillée q.s.p -----	1000 ml
Le pH est ajusté à 6,8	
Le milieu est autoclavé à 120°C pendant 20 min	

Tableau 3 : Différents traitements utilisés

Traitement	Dose de P (ppm)	Inoculation	
		Rhizobium	G. Casseae
R	0	+	0
RM	0	+	+
RM 10P	10	+	+
RM 30P	30	+	+
RM 50P	50	+	+

Tableau 4 : Composition de l'eau d'arrosage.

P =	0,07 ppm
NO <sub>3</sub> -	traces
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0
Matière organique	3,2 ppm
Résidu sec	764 ppm
pH	6,6

Tableau 5 : Milieu de JENSEN modifié.

MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,2 g
NaCl	0,2 g
FeCl <sub>3</sub> , 6H <sub>2</sub> O	0,14g
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,86 mg
MnSO <sub>4</sub> , 4H <sub>2</sub> O	2,03 mg
ZnSO <sub>4</sub> , 4H <sub>2</sub> O	0,22 mg
CuSO <sub>4</sub> , 5H <sub>2</sub> O	0,08 mg
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> O	0,09 mg
eau distillée q.s.p.	1000 ml
Le pH est ajusté à	6,7
Le milieu est autoclavé à 120°C pendant 20 min.	

## R E S U L T A T S

Pour des plantes d'*A. cyanophylla* âgées de 4 mois, l'activité spécifique réductrice de l'acétylène (ARAS) est très faible pour le traitement R, augmente pour le traitement RM et encore plus pour RM 10P; atteint un maximum pour le traitement RM 30P et diminue pour RM 50P (tableau 6).

Le poids de matière sèche des parties aériennes de la plante ainsi que le poids de matière sèche des nodules évoluent de la même façon que l'ARAS (Tableau 6).

Le fréquence ainsi que l'intensité de l'infection mycorhizienne qui sont nulles pour le traitement R, augmente du traitement RM au traitement RM 30P et diminuent au traitement RM 50P (tableau 6).

La faible activité nitrogénasique réductrice de l'acétylène dans cette expérience pourrait être attribuée à la température ambiante qui peut atteindre, dans la serre, 50°C à certains moments de la journée.

Tableau 6 : Effet de l'infection mycorhizienne et l'apport de P sur la croissance, la nodulation et la fixation de l'azote par *A. cyanophylla*.

	Traitements				
	R	RM	RM 10 P	RM30 P	RM 50 P
Poids de matière sèche des parties aériennes (1) .....	0,05±0,00(c,d)	0,17±0,01(b,c,d)	2,19±0,40(a,b)	3,79±0,35(a)	0,75±0,13(b,c)
Poids de matière sèche des nodules (2) .....	5,30±0,50(c)	9,30±0,40 (c)	39,00 ±9,50(a,b)	43,00±7,50(a)	28,00±6,50(a,b)
RAAS (3) .....	11,08±0,70(e)	18,50±0,20(d)	32,70±7,70(b)	44,80±6,60(a)	25,70±6,90 (c)
P .....	n. d.	n. d.	0,034	0,142	0,221
Total (mg.plante <sup>-1</sup> ) .....	n. d.	n. d.	0,744	5,386	1,668
Fréquence de l'infection mycorhizienne ( % ) .....	0	85	76	66	58
Intensité de l'infection mycorhizienne ( % ) .....	0	79	62	55	51

(1): gr. de matière sèche par plante.

(2): mg. de matière sèche par plante.

(3):  $\mu\text{moles C}_2\text{H}_4 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{gr. de matière sèche de nodule}^{-1}$

n. d.: non déterminé.

Les nombres d'une même ligne suivis de la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 % selon le test de DUNCAN



## DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Apporté à faibles doses (10 ppm et 30 ppm) et par comparaison au témoin, le phosphore soluble a augmenté le poids de matière sèche des parties aériennes, le poids de matière sèche des nodules ainsi que la fixation d'azote moléculaire chez *Acacia cyanophylla* doublement inoculé avec *Rhizobium* et un champignon endomycorhizien vésiculo-arbusculaire. La stimulation de croissance des plantes mycorhizées serait due à l'augmentation de sa capacité d'absorption des éléments minéraux dont essentiellement le phosphore (HOLEVAS, 1966). En effet, les hyphes permettent l'accroissement de la surface absorbante des racines leur permettant de la sorte à explorer un volume plus important de sol. En outre, une meilleure absorption de P par les légumineuses endomycorhizées stimule la nodulation et la production de leghémoglobine par les bactéroïdes (DAFT et al., 1974) ce qui favorise la fixation symbiotique de l'azote. Ayant dépassé une dose optimale située aux environs de 30ppm de P, le phosphore diminue la croissance d'*Acacia cyanophylla* et réduit sa fixation biologique de l'azote. Un effet analogue a été constaté chez d'autres *Acacia* (CORNET et DIEM; 1982). Cet effet pourrait être expliqué par un déséquilibre physiologique consécutif à une absorption excessive de P chez les plantes mycorhizées.

GIBSON et al. (1976) ainsi que VAN KESSEL (1983) ont trouvé que l'application du phosphore a de fortes doses peut inhiber l'activité fixatrice de l'azote chez les légumineuses. On constate que la fréquence et l'intensité de la mycorhization des racines d'*Acacia cyanophylla* diminuent lorsque la dose de P passe de 10 ppm à 50 ppm DAFT et NICOLSON (1969) et MOSSE (1973) ont constaté que l'apport de P à des concentrations élevées augmente la résistance des racines à l'infection mycorhizienne qui se trouve alors réduite.

L'endomycorhization avec des champignons vésiculo-arbusculaires montre qu'*A. cyanophylla* est assez sensible au phosphore assimilable dont la dose optimale se situe aux environs de 30 ppm. On peut espérer que l'inoculation d'*A. cyanophylla* avec des endophytes appropriés (*Rhizobium* et champignon vésiculo-arbusculaire) le rend apte à s'installer et à se développer sur des milieux pauvres en azote et en phosphore ce qui ne manquerait pas d'avoir des répercussions importantes dans l'aménagement des régions semi-arides et arides.

- CORNET, F. et 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. Rev. Bois et For. Trop., 193, 3-15
- DAFT, M.J. and NICOLSON, T.H.; 1969: Effect of endogone mycorrhiza on plant growth. III: Influence of inoculum concentration on growth and infection in tomato. New Phytol., 71, 287-295.
- DAFT, M.J. and EL-GIAHMI, A.A.; 1974: Plant Growth Responses to vesicular-arbuscular Mycorrhiza. VII: Influence of infection on the growth and nodulation in French Bean (Phaseolus vulgaris). New Phytol., 73, 1139-1147.
- GIBSON, A.H.; SCOWCROFT, W.R.; CHILD, J.J. and PAGAN, J.D.; 1976: Nitrogenase activity in cultured Rhizobium sp. strain 32H1. Arch. Microbiol., 108, 45-54.
- HOLEVAS, C.D.; 1966: The effect of a vesicular-arbuscular mycorrhiza on the uptake of soil phosphorus by strawberry (Fragaria sp. var. Cambridge Favourite). J. Hort. Sci., 41, 57-64.
- JACKSON, M.L.; 1958: Soil Chemical Analysis Printice Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J., 153-154.
- JOHNSON, C.R. and MICHELINI, S.; 1974: Effect of mycorrhizae on container grown Acacia Florida Agricultural Experimental stations Journal, Serie 5649, 520-522.
- MASLIN, B.R.; 1974: Studies in the genus Acacia, 3: The taxonomy of Acacia saligna (Labill.) H.Wendl. Nuytsia, 1, 332-340.
- MOSSE, B.; 1973.: Plant growth responses to vesicular arbuscular mycorrhiza. IV: In soil given additional phosphate New Phytol., 72, 127-136.

- NASR, H.; 1985: Approche expérimentale de l'amélioration de la fixation biologique de l'azote chez une légumineuse arborescente : Acacia cyanophylla Lindl. DEA. 63.
- PHILLIPS, J.M. and HAYMAN, D.S.; 1970: Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc., 55, 158-161.
- VAN KESSEL, C.H.J.; 1983: Effect of environmental and physiological factors on N<sub>2</sub> - fixation by Inga jinicuil and Trifolium Spp. Thèse , 99.
- VINCENT, J.M.; 1970: A manual for the practical study of root nodules bacteria. Blackwell. Sci. Publ., Oxford and Edinburgh. I.B.P. Hand Book, 15.