

MEMOIRE

Presenté

devant l'Université Claude BERNARD LYON I

pour obtenir

le Diplôme d'Etudes Approfondies

Specialité : ECOLOGIE MICROBIENNE

par

BABACAR NDAO

**CONTRIBUTION A L'ETUDE D'UNE TRIPLE SYMBIOSE
CHEZ L'ACACIA MANGIUM Willd**

Soutenu le 19 Octobre 1987 devant la Commission d'Examen

Melle A.N. GOUNOT.....Président
Professeur à l'Université Claude Bernard Lyon I

Mr R. BARDIN..... Examineurs

Mme G. FAURY

"

Mr B. DREYFUS

"

CONTRIBUTION A L'ETUDE
D'UNE TRIPLE SYMBIOSE
CHEZ L'ACACIA MANGIUM WILLD

A MON MAITRE POUR SA SAGESSE

A MON PERE POUR SA PIETÉ ET SON EDUCATION

A MA MERE POUR SA RESIGNATION ET TOUTE SA TENDRESSE

A MON EPOUSE POUR SA COMPREHENSION ET SON AMOUR

A MES ENFANTS POUR LEUR SACRIFICE

A MES FRERES ET SOEURS POUR LEUR SOUTIEN

A MES PARENTS ET AMIS POUR LEURS PENSEES.

REMERCIEMENTS

Je me dois tout d'abord d'assurer de ma profonde reconnaissance les personnalités qui m'ont aidé à pouvoir effectuer ce travail.

M. BARDIN et Melle GOUNOT, professeurs à l'Université de Lyon I, Laboratoire d'Ecologie microbienne.

Mme C. PLASSARD du Laboratoire sur les symbiotes des racines à l'INRA, Place Viala à Montpellier.

J'ai particulièrement à coeur d'exprimer ici ma profonde gratitude aux Docteurs Bernard DREYFUS et Daniel THOEN pour m'avoir accueilli dans leur Laboratoire et avoir dirigé ce travail. Malgré leurs lourdes charges, leur disponibilité m'a toujours été d'un apport fructueux dans la réalisation de cette étude.

J'exprime mes très sincères remerciements à tous mes professeurs de l'Université de Lyon I et en particulier à M. BARDIN, Melle GOUNOT, Mme FAURY ...

Toutes les personnes, au niveau de l'Université de Lyon I ou de l'ORSTOM-Dakar qui'ont participé de près ou de loin à ce travail, voudront également bien trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance : M BA Ahmadou, M. ALAZARD, M. SOUGOUFARA, M. BADJI Simon, M. Philipps LAJUDIE, M. DUCOUSSO, M. GUEYE du MIRCEN, Mme Maury LECHON du CNRS à Nogent. Les Techniciens MM. NDIAYE Saër, NIANG Moussa, DUPONT, BAKHOUM Jean, Oumar TOURE et le personnel de l'ENCR;

Mes remerciements s'adressent aussi aux personnalités morales et physiques que voici :

- L'Union Mondiale ORT, pour avoir financé ce travail dans le cadre de son assistance à l'Ecole nationale des Cadres ruraux de Bambey,
- L'Institut français de Recherche pour le Développement en Coopération,
- Monsieur CAMARA, Directeur de l'ENCR,
- Monsieur SALL Bocar, Directeur des Eaux, Forêts et Chasses,
- Monsieur NIANG, Directeur de la Conservation des Sols et du Reboisement,
- Monsieur ROUSSEL du CNRF (Centre National de Recherches Forestières du Sénégal),
- Monsieur LAMARQUE de l'année d'Orientation au C.N.E.A.R.C. de Montpellier,
- Monsieur et Madame GARCIN MARROU de Lyon pour leur soutien.

P L A N

RESUME

INTRODUCTION

1.- Rappels sur les symbioses racinaires

- 1.1. La symbiose Rhizobium-légumineuse
 - 1.1.1. Taxonomie des Rhizobium
 - 1.1.2. Les plantes hôtes chez les légumineuses
 - 1.1.3. Spécificité (infectivité, effectivité)
 - 1.1.4. L'infection
 - 1.1.5. La nodulation
 - 1.1.6. Mécanisme de la fixation de l'azote
 - 1.1.7. Influence des facteurs du milieu.
- 1.2. La symbiose mycorhizienne
 - 1.2.1. Les principaux types de complexes symbiotiques
 - 1.2.1.1. Les endomycorhizes
 - 1.2.1.2. Les ectomycorhizes
 - 1.2.1.3. Les ectendomycorhizes
 - 1.2.2. Influence de la mycorhization sur la croissance des plantes
- 1.3. La triple symbiose Rhizobium V.A.M. et champignon ectomycorhizien

2.- Matériels et méthodes

- 2.1. Sols utilisés
- 2.2. Traitement des sols
- 2.3. Matériel végétal
 - 2.3.1. Traitement et germination
 - 2.3.2. Méthode pour la détermination de la meilleure durée de prétraitement
- 2.4. Les souches de microorganismes
 - 2.4.1. Les souches de Rhizobium et de Bradyrhizobium
 - 2.4.1.1. Isolement et culture
 - 2.4.1.2. Vitesse de croissance
 - 2.4.2. Les souches ectomycorhiziennes
 - 2.4.3. Les souches endomycorhiziennes.
- 2.5. Etude de l'infection et de l'effectivité des souches de Rhizobium et de Bradyrhizobium
 - 2.5.1. Synthèse en conditions non axénique - Piègeage
 - 2.5.2. Synthèse en condition axénique en tube

- 2.5.3. Synthèse en condition semi-axénique en gaine
- 2.6. Essai de mycorhization chez A. mangium (ectomycorhizes)
 - 2.6.1. Synthèse en condition axénique en tube
 - 2.6.2. Synthèse en condition axénique "sandwich papers"
 - 2.6.3. Synthèse en condition semi-axénique en gaine
 - 2.6.4. Synthèse en condition semi-axénique "Pouchs".
- 2.7. Essai de mycorhization chez A. mangium (endomycorhize)
 - 2.7.1. Synthèse en condition non axénique (piègeage)
 - 2.7.2. Synthèse en condition semi-axénique en gaine
- 2.8. Entretien des plants
- 2.9. Critères utilisés pour l'appréciation de l'infection et de l'effet des symbiotes sur les plantes
 - 2.9.1. Mise en évidence des infections
 - 2.9.1.1. Infection rhizobienne
 - 2.9.1.2. Infection endomycorhizienne
 - 2.9.1.3. Infection ectomycorhizienne
 - 2.9.2. Estimation de la croissance des plantes
 - 2.9.3. Teneur en phosphore des plants
 - 2.9.4. Estimation de la teneur en azote
 - 2.9.5. Méthode par la réduction de l'acétylène
- 2.10. Etude statistique

3.- Résultats et discussions

- 3.1. Le prétraitement de Acacia mangium
- 3.2. Comparaison des différents types de sol
 - 3.2.1. La croissance en hauteur
 - 3.2.2. Poids frais et sec des parties de la plante
- 3.3. Les Rhizobium et les Bradyrhizobium
 - 3.3.1. Isolement et sélection après piègeage
 - 3.3.2. Morphologie des colonies formées - Vitesse de croissance
- 3.4. Etude de l'infectivité et de l'effectivité
 - 3.4.1. Synthèse en tube
 - 3.4.2. Synthèse en gaine
- 3.5. Les champignons symbiotiques
 - 3.5.1. Les ectomycorhizes
 - 3.5.1.1. Synthèse en tube

- 3.5.1.2. Méthode "sandwich paper"
- 3.5.1.3. Méthode "Pouch"
- 3.5.1.4. Synthèse en gaine
- 3.5.2. Les endomycorhizes V.A.M.
 - 3.5.2.1. Synthèse en gaine
 - 3.5.2.2. Piègeage

4.- Conclusion

5.- Bibliographie

6.- Glossaire

7.- Abréviations

8.- Annexes.

LISTE DES TRAVAUX TABLEAUX

- 01 - Liste des principales légumineuses pouvant présenter des ectomycorhizes
- 02 - Caractéristiques des sols de Bel Air et de Bayottes
- 03 - Hôte d'isolement et origine des différentes souches de Rhizobium et de Bradyrhizobium utilisées
- 04 - Milieu YEM
- 05a Milieux de JENSEN Pour légumineuses
- 05b Milieu MNM modifié (1969)
- 06 - Milieu schéma
- 07 - Composition de l'eau d'arrosage
- 08 - Solution nutritive de HEWITT (1966)
- 09 - Résultats des tests de germination
- 10 - Hauteur moyenne des plants cultivés dans les 2 types de sol
- 11 - Poids frais et sec des parties des plantes
- 12 - Matrice de corrélation des variables analysées dans l'expérience des poids frais et sec des parties des plants
- 13 - Taux en N des plants élevés sur sol de Bel Air et sol des Bayottes
- 14 - Taux en P des plants élevés sur sol de Bel Air et sol des Bayottes
- 15 - Réponse à l'infection des différentes souches utilisées pour les tests de nodulation sur Acacia mangium en tube
- 16 - ARA d'Acacia mangium inoculé avec diverses souches de Rhizobium ou de Bradyrhizobium.

LISTE DES FIGURES

- 01 - Représentation schématique des interactions entre la plante-hôte et les bactéroïdes
- 02 - Coupe schématique d'une endomycorhize
- 03 - Coupe schématique d'une ectomycorhize
- 04 - Le cycle du phosphore
- 05 - Schéma du dispositif pour le test de nodulation
- 06 - Schéma du dispositif pour le test de mycorhization
- 07 - Schéma du dispositif "Pouch"
- 08 - Bel Air - Bayottes. Comportement de Acacia mangium sur ces deux types de sol
- 09 - D.O. 600 de différentes souches de Rhizobium et de Bradyrhizobium
- 10 - Réponse en tube de certaines souches inoculées sur Acacia mangium
- 11 - Réponse en tube des souches fixant l'azote et celle ne fixant pas l'azote
- 12 - Mesure du poids frais des plants élevés en tube et inoculés avec des souches de Rhizobium ou de Bradyrhizobium
- 13 - Inoculation en pépinière. Différence entre Bradyrhizobium et Rhizobium
- 14 - Différence entre Rhizobium et témoin
- 15 - Différence entre Bradyrhizobium et témoin
- 16 - Croissance en hauteur des plants inoculés
- 17 - Poids frais des feuilles des plants inoculés
- 18 - Poids frais des tiges des plants inoculés
- 19 - Poids frais des racines des plants inoculés

- 20 - Poids frais des nodules des plants inoculés
- 21 - Nombre de nodules des plants inoculés
- 22 - Poids frais des parties aériennes des plants inoculés
- 23 - Poids frais des parties souterraines des plants inoculés
- 24 - Poids secs des feuilles des plants inoculés
- 25 - Poids secs des tiges des plants inoculés
- 26 - Poids secs des parties aériennes des plants inoculés
- 27 - Teneur en N des feuilles
- 28 - Teneur en N des tiges
- 29 - Teneur en N de la partie aérienne.
- 30 - Synthèse ectomycorhizienne sur Vermiculite et tourbe
- 31 - Synthèse ectomycorhizienne sur Perlite et tourbe
- 32 - Réseau de Hartig. Coupe transversale
- 33 - Réseau de Hartig. Coupe longitudinale
- 34 - Mise en évidence de l'Endomycorhization chez l'Acacia mangium
- 35 - Différence entre témoins, (Bradyrhizobium + Endogonacée) et Bradyrhizobium + Pisolithus senegalensis p.t.)

R E S U M E

Acacia mangium est une essence forestière originaire des zones humides australiennes, qui a une croissance très rapide et produit un excellent bois.

Son utilisation comme essence de reboisement dans le Sud du Sénégal en zone Soudano-guinéenne devrait permettre la reforestation de cette zone et lutter ainsi contre la désertification.

Chez cette légumineuse, nous avons isolé à partir de nodules racinaires, plusieurs souches de Rhizobium et de Bradyrhizobium et sélectionné les souches les plus performantes à la fois au laboratoire et en pépinière. Il apparaît que seules les souches de Bradyrhizobium fixent l'azote dans les nodules d'Acacia mangium, alors que les souches de Rhizobium forment des nodules ineffectifs.

L'effet de l'inoculation en pépinière par les souches sélectionnées est très net et a permis de doubler la croissance des plants en trois mois.

Nous avons observé des ectomycorhizes sur des jeunes plants cultivés en pépinière à la fois après piégeage dans le sol acide de Casamance et après inoculation par une culture Pisolithus senegalensis. Nous avons tenté de maîtriser la synthèse ectomycorhizienne en tube au laboratoire. D'autre part, nous avons observé une infection endomycorhizienne sur de jeunes plants d'Acacia mangium. Ces endomycorhizes semblent formées par des souches indigènes présentes dans un sol de Casamance, alors qu'aucune infection endomycorhizienne n'a été observée après une inoculation de jeunes plants par Glomus mosseae.

Nous avons ainsi mis en évidence, pour la première fois chez une légumineuse (A. mangium), l'existence d'une triple symbiose, une symbiose fixatrice d'azote avec les Bradyrhizobium et deux symbioses assimilatrices de phosphore et d'autres éléments minéraux avec des champignons ectomycorhiziens (Pisolithus senegalensis p.t., souches indigènes) et endomycorhiziens (Endogonacées indigènes).

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

Le manque de bois-énergie et la perte graduelle de la fertilité des sols caractérisent la plupart des régions tropicales.

L'utilisation des engrais chimiques ou autres fertilisants est trop coûteuse car leur production nécessite beaucoup d'énergie. Des alternatives doivent être trouvées se caractérisant par des prix bas et une faible consommation d'énergie.

L'introduction ou la réintroduction des arbres dans les agro-systèmes et le développement de l'emploi des plantes ligneuses avec peu d'intrants peut aider à résoudre partiellement ce problème. A cet effet, il est recommandé de faire appel aux légumineuses arborescentes parce qu'en association avec les Rhizobium elles peuvent fixer l'azote atmosphérique et de ce fait croître dans des sols déficients en azote. En plus l'association supplémentaire avec des champignons mycorhiziens améliore pour ces arbres l'absorption des éléments minéraux peu mobiles en particulier le Phosphore.

La plante autotrophe a toujours besoin d'une bonne nutrition hydrique et minérale pour subsister.

Certains microorganismes vivant en symbiose avec certaines plantes modifient l'environnement de celles-ci en leur facilitant la mobilisation et/ou l'absorption de l'eau et de certains éléments minéraux (phosphore, azote, magnésium) : les Rhizobium et Bradyrhizobium sont connus par leur capacité et leur fonction essentielle de fixer l'azote atmosphérique (N_2) disponible dans des organes spécialisés qu'on appelle nodules qui se développent au niveau des racines.

Des champignons par l'intermédiaire de structures spécialisées au niveau du système racinaire, les mycorhizes, modifient le métabolisme de la plante-hôte au profit de celle-ci et en particulier accumulent d'importantes quantités d'éléments minéraux disponibles pour la plante, ainsi que de l'eau.

Les mycorhizes peuvent être internes aux cellules de la racine de l'hôte (on les appelle endomycorhizes) ou externes aux cellules de la racine de l'hôte, en développant un manteau d'origine fongique peri-racinaire et des hyphes entre les cellules de la racine de l'hôte (on les appelle ectomycorhizes). Les endomycorhizes sont plus fréquentes que les ectomycorhizes dans le règne végétal.

Dans l'optique de reboisement des zones tropicales semi arides où les sols sont particulièrement pauvres en éléments minéraux, il est important de prendre en considération des interactions plantes-microorganismes pour une bonne adaptation des jeunes plants nouvellement introduits dans la zone de reboisement, ces trois types de symbiose sont des paramètres extrêmement importants à maîtriser pour la production de jeunes plants pouvant s'adapter dans des conditions d'environnement extrêmes.

Notre étude porte sur les ectomycorhizes, les endomycorhizes et les Rhizobium chez l'Acacia mangium Willd, espèce à croissance rapide, dans les zones humides australiennes.

En plus de l'intérêt de ces trois associations, le choix de l'Acacia mangium se justifie par ses multiples fonctions : essence à croissance rapide, il produit un excellent bois et procure un aliment fourrager ; il est également utilisé comme brise vent, A. mangium peut être utilisé comme espèce pionnière dans les zones humides comme les forêts galeries et aux abords des mangroves. Il peut être appelé à jouer un rôle aussi capital dans le sud du Sénégal (Casamance).

Le comportement des différents systèmes symbiotiques a été étudié en tube au laboratoire (ectomycorhize et Rhizobium) ; en gaine à la pépinière (endomycorhize, ectomycorhize et Rhizobium).

Nous avons réalisé :

- 1- Des piègeages en gaines sur différents sols du Sénégal (Bel Air et Bayottes) pour connaître les associations possibles et disposer de souches de Rhizobium indigènes, ainsi que de souches de champignons ectomycorhiziens et endomycorhiziens indigènes.
- 2- Des tests de nodulation en tubes et en gaines avec différentes souches indigènes isolées sur Acacia mangium Willd lors des piègeages, et celles existant en collection au laboratoire de l'ORSTOM de Dakar et du CNRF/C.T.F.T. à Nogent-sur-Marne en France.
- 3- Des tests de mycorhization en tubes et en gaines avec différentes souches cultivées en milieu liquide et sur différents substrats solides.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I.- RAPPELS SUR LES SYMBIOSES RACINAIRES CHEZ LES LEGUMINEUSES

1.1. La symbiose Rhizobium-Légumineuses

L'azote atmosphérique est fixé symbiotiquement par diverses plantes par trois types de microorganismes.

- Des bactéries du genre Rhizobium et Bradyrhizobium induisant la formation de nodules racinaires chez de nombreuses légumineuses.
- Des Cyanobactéries, associées aux racines des Cycadales.
- Des Actinomycètes formant des nodules en symbiose avec des dicotylédones : (Alnus spp ; Casuarina spp ; Eleagnus spp.)

1.1.1. Taxonomie des Rhizobium

Les bactéries qui forment des nodules avec les légumineuses se subdivisent en deux genres définis en fonction de leur vitesse de croissance. Les Rhizobium et les Bradyrhizobium (Jourdan 1982, 1984 - Elkan 1984).

Le genre Rhizobium comprend quatre espèces : Rhizobium meliloti, Rhizobium loti, Rhizobium leguminosarum qui résulte de la fusion de trois espèces Rhizobium trifolii, Rhizobium phaseoli et Rhizobium leguminosarum (Jarvis et al 1986) et la quatrième espèce Rhizobium fredii définie récemment et qui induit la formation de nodules chez le Soja (Scholla et Elkan 1984).

Le genre Bradyrhizobium comprend une espèce bien définie Bradyrhizobium japonicum et celles appelées autrefois Rhizobium cowpea. (Dreyfus et al 1986).

Il était généralement admis que les Rhizobium tropicaux faisaient toutes partie des Cowpea. En fait ces bactéries peuvent être classées soit dans le genre Rhizobium soit dans le genre Bradyrhizobium.

En effet plusieurs souches à croissance rapide ont été isolées à partir d'espèces tropicales, appartenant au genre Acacia, Leuceana et Sesbania ayant des ressemblances avec les souches à croissance rapide, tempérées et par conséquent peuvent être incluses dans le genre des Rhizobium (Dreyfus et Dommergues 1981).

1.1.2. Les plantes hôtes

La famille des légumineuses est divisée en trois sous-familles :

- Mimosoideae à laquelle appartiennent les genres Acacia - Albizzia, Enterolobium, Inge, Leucaena, Mimosa, Partika, Pithecellobium, Prosopis.

La majorité des arbres ou arbustes de cette sous-famille poussent aussi bien dans les régions tropicales sèches que dans les régions humides sont capables de former les nodules.

- Papillioideae qui comprend les genres comme Dalbergia, Erythrina, Flesningria, Glycidia, Sesbania.

Tous les arbustes et plantes herbacées connues de cette sous-famille sont capables de former des nodules.

- Ceasalpinioideae avec les genres comme Acrocarpus, Cassia, Cordeauxia, Schizolobium, Azalia, Erythrophleum.

La plupart des membres tropicaux de cette sous-famille ne forment pas de nodules : c'est le cas de Azalia africana. Toutefois il y a des exceptions comme Acrocarpus fraxinifolius, Schizolobium parshyba, Erythrophleum guineensis.

L'Acacia mangium

L'Acacia mangium est une légumineuse de la sous-famille des Mimosaceae.

L'Acacia mangium est indigène du Nord-Est de l'Australie, de la Papouasie Nouvelle Guinée, de l'Est de l'Indonésie (molucas) (Annexe n° 3).

Les meilleures stations se trouvent en Australie où l'espèce occupe des zones discontinues le long de la côte Est du Queensland entre Ingham et Jardine river. (National Research Council 1983).

Dans ces régions, les arbres sont surtout trouvés dans de petites élévations à moins de 100 Mètres d'altitude. Dans son habitat originel A. mangium se trouve dans des reliques ou près des mangroves où Melaleuca sp se développe bien ainsi que dans les forêts galeries. Il est souvent présent dans les forêts marginales. Normalement l'espèce se développe par petits groupes mais occasionnellement occupe de très larges surfaces.

L'Acacia mangium est une espèce pionnière. Elle se régénère facilement d'elle-même après que les sites soient dégradés. Il est commun de les voir à côté des stations non aménagées ou comme plantes d'alignement le long des routes ou comme brise-vent en Queensland.

L'Acacia mangium est originaire de régions dont la caractéristique essentielle est le passage des feux de brousse. Le feu paraît jouer un rôle écologique essentiel par la périodicité de la perturbation des sites pour l'établissement naturel de l'espèce.

L'Acacia mangium comme la plupart des Acacia a un tégument très sclérifié. Il est signalé en effet que la levée des graines de l'Acacia mangium en pépinière peut se faire avec de l'eau bouillante (National Research Council, 1983). On plonge les graines dans de l'eau bouillante pendant exactement 30 secondes. Le récipient est enlevé du feu avant le trempage. On enlève les graines pour les plonger à nouveau dans de l'eau tiède (25°C) où elles séjournent 24 heures.

Les volumes sont très importants. Pour un volume de graines, il faut 10 volumes d'eau. Après le semis, la levée se fait au bout de 2 à 3 jours et se termine entre le 8^e et le 10^e jour. Si le pouvoir germinatif est élevé on peut faire un semis direct dans les gaines de polyéthylène.

Après l'apparition des premières phyllodes, la transplantation est effectuée dans les gaines.

La plantation au champ se fait à 3 ou 3 mois. C'est une technique plus simple et moins coûteuse s'il s'agit de multiplier l'Acacia mangium à grande échelle. L'Acacia mangium peut atteindre 30 mètres de haut avec un tronc droit et rectiligne. Dans les forêts australiennes du Queensland et de la Papouasie Nouvelle Guinée, le diamètre à hauteur d'homme peut dépasser 90 cm. Son introduction est à l'étude au Sénégal dans le but de constituer des plantations pouvant donner du bon bois de service ainsi que du fourrage aérien.

La valeur énergétique de son bois est également excellente, 4 900 Kcal/kg. Dans les essais d'introduction déjà réalisés au Sénégal la croissance de l'Acacia mangium est satisfaisante avec une productivité supérieure à celle de l'Eucalyptus camaldulensis et du Gmelina arborea.

Il est signalé que c'est une espèce qui forme des nodules avec des souches de Rhizobium et forme aussi des ectomycorhizes avec Thelephora ramariodes (National Research Council, 1983).

1.1.3. L'infection

Chez les légumineuses, il y a deux types d'infection mis en évidence jusqu'à ce jour. Le premier type d'infection caractérise la plupart des légumineuses tempérées et se déroule de la manière suivante :

Les Rhizobium se multiplient dans la rhizosphère sous l'action d'exsudats racinaires libérés dans le sol par les légumineuses. C'est le prélude à la phase de préinfection : la fixation des Rhizobium sur les poils absorbants.

Ceci est suivi d'une courbure des poils absorbants probablement due à l'action d'une auxine produite par les Rhizobium (Dart 1977) qui alors pénètrent dans la cellule au niveau de la courbure du poil. Il se forme alors un cordon d'infection à l'intérieur duquel les bactéries progressent vers le cortex racinaire et provoquent à distance, grâce à un principe diffusible (N.I.P. - Nodule Induction Principle) ; une dédifférenciation des cellules qui s'organisent en un méristème initial du nodule (Truchet comm. pers.)

Il existe un second type d'infection mis en évidence chez l'arachide (Arachis hypogea) qui commence par une invasion intercellulaire directe des Rhizobium. Dans ce cas, les Rhizobium pénètrent et se multiplient d'abord entre les cellules de la base d'un poil absorbant situé au point d'émergence des racines secondaires. Puis cette phase d'invasion intercellulaire est suivie d'une phase de pénétration intercellulaire des Rhizobium par invagination de la paroi cellulaire.

Il n'y a donc pas formation de cordons d'infection et l'infection se propage par divisions successives des cellules envahies par les Rhizobium. Chaque cellule fille héberge des bactéries. Chez Stylosanthes, qui appartient à la même tribu que l'arachide ou les Aeschynomène, l'infection est plus simple et se réduit à une invasion intercellulaire directe des cellules sans phase de développement intercellulaire comme chez l'arachide (Alazard comm. pers;).

Ainsi le type d'infection de l'arachide et du Stylosanthes diffère de celui des Légumineuses tempérées (ex. Luzerne) par deux caractères : absence de pénétration des poils absorbants et absence de cordons d'infection.

1.1.4. La nodulation

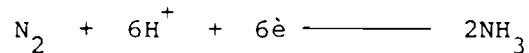
Les bactéries envahissent le cytoplasme des cellules de la plante hôte. Elles en restent toutefois séparées par une membrane d'origine végétale.

Selon Dart (1977), en fonction de l'espèce de Rhizobium concernée, le nombre de bactéries dans les sacs varie. On assiste alors à une différenciation des deux partenaires. Les cellules végétales deviennent polyploïdes. Les bactéries deviennent plus grandes et changent de forme pour devenir des bactéroïdes.

A la cassure du nodule, on peut distinguer une couleur rouge, si la souche est efficiente. Cette couleur est due à un pigment d'origine mixte, la leghémoglobine caractéristique des légumineuses.

1.1.5. Mécanisme de la fixation

Le siège de la fixation de N_2 (réduction de l'Azote moléculaire) selon la réaction :



se situe à l'intérieur du bactéroïde. Le catalyseur de cette réaction est une enzyme, la nitrogénase, constituée de deux sous-unités organo-métalliques :

- la protéine Fe contenant du Fer
- la protéine MoFe contenant du Fer et du Molybdène.

Prises séparément, ces deux macro-molécules sont inactives. Leurs structures semblent remarquablement constantes parmi les différents microorganismes fixateurs de N_2 car on peut reconstituer une nitrogénase active à partir de deux sous-unités d'origine différente. La nitrogénase présente la particularité d'être irréversiblement inhibée par l'oxygène (O_2). L'abondance de léghémoglobine constitue un système protecteur : sa très forte affinité pour O_2 permet de maintenir à l'intérieur des cellules infectées une pression partielle en O_2 très faible, suffisante toutefois pour permettre la production d'adénosine tri-phosphate (ATP) nécessaire à fournir l'énergie indispensable à la réduction de N_2 (Denarie et Truchet, 1979).

En effet, la réduction de N_2 nécessite beaucoup d'énergie : on estime qu'il faut 16 moles d'ATP pour réduire 1 mole de N_2 . L'équation stoechiométrique est alors la suivante :



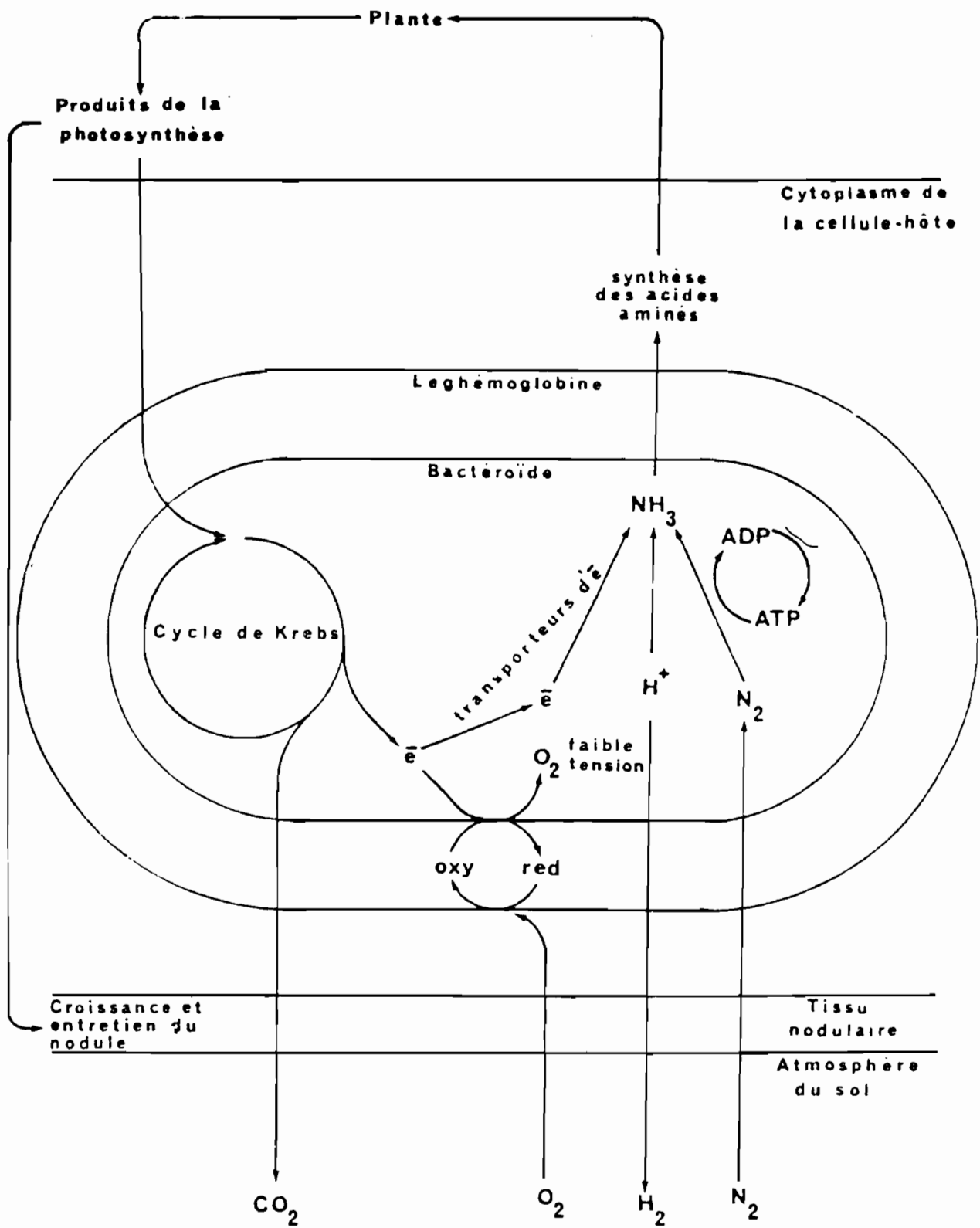


Figure 1 : Représentation schématique des interactions entre la plante hôte et les bactéroïdes lors de fixation de N_2 dans les nodules des Légumineuses. D'après BERGERSEN, 1978.

Le transfert des électrons nécessaires à cette réaction est assuré par une chaîne de transporteurs d'électrons comprenant notamment une ferredoxine et une flavodoxine.

Le N₂ ainsi réduit passe dans les cellules de la plante-hôte sous forme d'ions ammonium. Ils sont alors intégrés à des modules carbonées pour former des acides aminés qui seront ensuite exportés dans toute la plante (voir fig. 01).

1.1.6. Spécificité nodulation et effectivité

Les légumineuses arborescentes tropicales sont en général moins spécifiques que les espèces tempérées et nodulent avec un large spectre de Rhizobium tropicaux (Halliday 1985).

Chez les légumineuses tropicales, cette spécificité dépend aussi des espèces. Certaines sont peu spécifiques (Acacia albida, Acacia mearnsii) d'autres sont spécifiques (Acacia senegal ou Sesbania).

En général les plantes pouvant former des nodules avec les souches à croissance rapide semblent plus spécifiques que celles qui forment des nodules avec les souches à croissance lente.

Les légumineuses arborescentes tropicales peuvent être classées en 3 groupes selon l'effectivité de la nodulation avec les Rhizobium et les Bradyrhizobium (Dreyfus et Dommergues 1981).

Groupe 1

Ces arbres forment des nodules effectifs avec Bradyrhizobium : ex : Acacia albida, Dalbergia melanoxydon, Dalbergia sissoo, Prosopis africana, Pterocarpus erinaceus.

Groupe 2

Ils forment des nodules effectifs avec Rhizobium : ex : Acacia nilotica, (var andersoni et tomentosa) Acacia raddiana, Acacia senegal, Prosopis juliflora, Sesbania grandiflora.

Groupe 3

Ces arbres forment des nodules à la fois avec les Rhizobium et les Bradyrhizobium mais ne fixent en général l'azote efficacement qu'avec les Rhizobium : ex : Acacia seyal, Acacia sieberiana.

Cette classification n'est pas définitive car plusieurs

espèces qui étaient classées comme ne pouvant être nodulées que par Rhizobium seulement ou Bradyrhizobium seulement peuvent être nodulées par les deux genres. Ainsi chez Leucaena leucocephala, une espèce reconnue d'abord comme ne pouvant être nodulée que par Rhizobium, on constate une nodulation inef-
^{fective avec} Bradyrhizobium (Dreyfus et al 1986).

1.1.7. L'influence des facteurs du milieu sur l'établissement et l'efficacité de la symbiose

Une plante sélectionnée et inoculée par une souche efficace est capable de former une symbiose effective, avec un rendement élevé dans un environnement donné.

Pour se rapprocher le plus possible de cet idéal, il est bon de minimiser les facteurs limitants qui sont dans les pays tropicaux souvent le pH, les éléments minéraux, l'azote combiné, les éléments pathogènes qui peuvent agir sur la plante, la population de Rhizobium, le processus d'infection ou le fonctionnement de la symbiose.

1.1.7.1. Le pH

Quelques légumineuses tropicales sont très tolérantes à l'acidité à des pH inférieurs à 4,5 comme Arachis hypogea, Macroptilium lathyroides, Desmodium uncinatum, Vigna sinensis, Stylosanthes guyanensis, Stylosanthes capitata, mais la majeure partie des légumineuses tropicales montre une réduction de la nodulation à un pH inférieur à 5. Non seulement à cause de la concentration d'ions hydrogènes, mais aussi à cause de la toxicité de l'aluminium et du manganèse qui sont dommageables aux racines de la plante.

La distribution relative de la tolérance au pH dépend de l'espèce de légumineuse à partir desquelles les souches de Rhizobium étaient isolées et dépend aussi du pH du sol à partir duquel les nodules sont collectés

1.1.7.2. Les éléments minéraux

Le phosphore est généralement le facteur limitant dans les sols tropicaux alors qu'un milieu riche en P assimilable stimule la nodulation et la fixation de N_2 en améliorant la synthèse de l'ATP, qui fournit l'énergie nécessaire à la réaction.

Le calcium et le magnésium sont essentiels pour la plante hôte et la bactérie symbiotique ; le déséquilibre du rapport $\frac{Ca}{Mg}$ peut réduire l'accessibilité des autres éléments. Cet équilibre est surtout rompu par l'effet du Potassium qui, sur la fixation de N_2 est indirect et passe par la physiologie de la plante (Andrew, 1977).

Dans les sols tropicaux ayant un taux élevé de Mn, l'application du chlorure de potassium augmente l'effet de Mn dans le sol et dans les tissus de la plante hôte réduisant ainsi la nodulation.

Le Soufre et quelques autres microéléments comme le Bore sont des facteurs limitants à la fixation de l'azote et à la productivité dans les sols acides pauvres des régions tropicales et subtropicales.

1.1.7.3. L'azote combiné

L'effet de l'application des engrais azotés sur la nodulation et la fixation de l'azote est complexe. Elle varie avec la forme, le degré d'application, la plante, la souche de Rhizobium, les conditions environnementales et le taux de N_2 assimilable présent dans le sol. Il est généralement admis qu'un grand apport d'engrais azoté inhibe la nodulation et/ou la fixation de l'azote (Gresshoff et al, 1985).

D'après Munns (1977) la formation de nodules et l'activité fixatrice de N_2 est fortement réduite lorsque la concentration de la solution du sol en N combiné dépasse 1 mM.

1.1.7.4. Potentiel hydrique du sol

L'engorgement ainsi que le stress hydrique est préjudiciable à la plante. Dès que le potentiel hydrique situé aux alentours de 65 - 70 % de la capacité de rétention est augmenté ou bien diminué la fixation symbiotique de N_2 est perturbée (Nakos, 1977), le nombre de nodules et leur longévité diminuent (Lie, 1974).

Dans le cas d'un engorgement, le métabolisme anaérobie au niveau des nodules augmente car l'éthanol produit atteint des concentrations inhibitrices (Sprent et Gallacher, 1976).

1.1.7.5. Température

Les températures élevées du sol peuvent inhiber la fixation de N_2 (Gibson et al, 1982). Dans certaines conditions comme la culture en serre, elles peuvent devenir le facteur limitant de la fixation de N_2 .

1.1.7.6. Lumière

L'approvisionnement en hydrates de carbone nécessaire à la croissance et le fonctionnement des nodules est essentiel pour une bonne symbiose ; ceci est assuré par la photosynthèse de la plante, grâce à la lumière. Il est important de bien contrôler la lumière dans les pratiques d'aménagement, surtout en pépinière, car les ombrières utilisées en pépinière pour éviter la mort des jeunes plantules peuvent influencer ce facteur lumière.

1.1.7.7. Les facteurs biotiques

Les interactions entre Rhizobium et d'autres microorganismes telluriques sont souvent invoquées pour expliquer l'absence de nodulation si aucun facteur abiotique ne peut l'expliquer.

- Les nématodes inhibent fortement le développement de la photosynthèse de la plante qui ne peut plus subvenir correctement aux besoins en glucides du mécanisme de la fixation symbiotique.

- Certains champignons, actinomycètes et bactéries du sol, dont les Rhizobium, libèrent dans leur environnement immédiat des antibiotiques ou des toxines plus spécifiques des bactéries, les bactériocines, qui peuvent limiter le développement des Rhizobium (Gounot comm pers.).

- Les Rhizobium sont sensibles à des virus, bactériophages pouvant être présents dans le sol. Une action lytique des rhizobiophages sur les Rhizobium entraînant une diminution de la fixation de N_2 .

- Les endomycorhizes à vésicules et arbuscules favorisent la fixation de N_2 (Cornet et al, 1985).

1.2. La symbiose mycorhizienne

Il est établi et reconnu que la symbiose mycorhizienne contribue à une meilleure utilisation des ressources des sols souvent très pauvres en éléments nutritifs assimilables par les plantes.

Ce type de symbiose se rencontre chez 90 % des plantes phanérogames. Seules les espèces appartenant aux Chenopodiacees aux Joncacées et une partie des Crucifiées semblent faire exceptions (Harley and Harley, 1987).

Alors qu'en zone tempérée cette symbiose est très bien étudiée, en zone tropicale, elle est encore mal connue. Pourtant c'est dans ces régions aux sols dégradés, peu fertiles que l'effort de reboisement doit se faire sentir. Les mycorhizes pourraient jouer un rôle essentiel dans cet effort.

L'introduction d'essences exotiques dans les zones dégradées, abandonnées depuis longtemps par la forêt serait trop souvent vouée à l'échec si l'on ne tient pas compte de cette association symbiotique. C'est le cas de Pinus carabeae (Kabré, 1982)

L'absence d'information sur les champignons associés a limité considérablement l'étude de la symbiose mycorhizienne chez les essences forestières tropicales.

1.2.1. Les principaux types de complexes symbiotiques

Harley (1987) fait une distinction entre les divers types de complexes symbiotiques. Même s'il souligne que cette distinction est imparfaite, on peut distinguer les endomycorhizes à vésicules et arbuscules (VAM) et les ectomycorhizes.

1.2.1.1. Les endomycorhizes à vésicules et arbuscules

En fonction des différenciations des champignons associés, on aura des endomycorhizes différentes ; la plus répandue est le type vesiculo-arbusculaire.

La symbiose entre le champignon et la plante se caractérise par le développement du champignon dans les cellules et entre les cellules de la racine de la plante-hôte. Il en résulte la formation d'un organe d'origine mixte au niveau racinaire. Cet organe est caractérisé par la présence de vésicules (organes de stockage des éléments assimilables) et d'arbuscules (lieux d'échanges entre la plante et le champignon). (Dexheimer et Gianinazi; Pearson 1982).

Ces vésicules et arbuscules d'origine fongique se trouvent dans les cellules corticales de la racine.

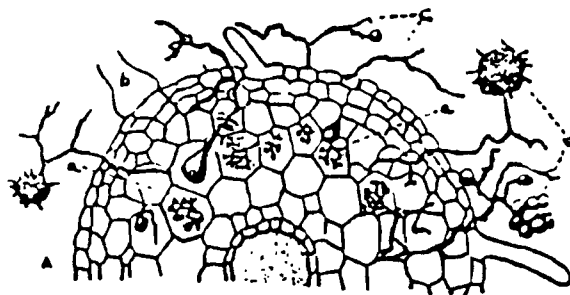


Fig. 2

Coupe schématique d'une endomycorhize vésiculo-arbusculaire :
a, arbuscule ; b, vésicule ; c, hyphes pénétrants ;
d, fructifications externes. (Harley 1965)

Les endomycorhizes sont présentes chez presque toutes les espèces du genre Acacia étudié par Hogberg et Nyland (1981), Hogberg (1982), Guèye (1979), Cornet (1982), Thapar et Khan (1973), Thomanızı (1974), Redhead (1968a), Tufas et Sajise (1976), De Alwis et Abeynayate (1978).

Chez quelques légumineuses de la sous-famille des Cesalpinoïdeae, les endomycorhizes sont très rares voire inexistantes, c'est le cas de Azalia africana (Bâ comm. pers.).

Les champignons formant des endomycorhizes appartiennent aux Zygomycètes, Ascomycètes et Basidiomycètes. Les Zygomycètes de la famille des Endogonacées forment des endomycorhizes à vésicules et arbuscules (VAM). Ces champignons endomycorhiziens se divisent en 7 genres (Glomus, Gygaspora, Sclerocystis, Acaulospora, Endogone, Modicella, Glaziella). Actuellement plus de 100 espèces ont été reconnues (Thoen com; pers;).

Mosse (1972), Sanders et al (1977) ont démontré que l'association légumineuse endomycorhize VA ne présente pas de spécificité. Une même souche de champignon peut s'associer à plusieurs essences végétales et une même espèce végétale peut s'associer à plusieurs souches de champignons endomycorhiziens VA, comme Vigna unguiculata (Ollivier, 1981).

Il n'en demeure pas moins que la réponse de l'espèce végétale peut être différente à chaque association.

1.2.1.2. Les ectomycorhizes

De la symbiose entre le champignon et la plantule, résulte un organe mixte dû à la colonisation du cortex de la racine de la

plante par le champignon Cet organe est caractérisé par la présence d'un manteau périracinaire avec des filaments mycéliens qui pénètrent entre les cellules épidermiques et parfois corticales créant ce qu'on appelle le Réseau de Hartig. La présence même du manteau péri-racinaire entraîne de fait, la disparition des poils absorbants. La pénétration des hyphes dans les cellules de la racine est un phénomène très rare et arrive des fois en période de senescence de la mycorhize (J.L. Harley and L. Harley, 1987).

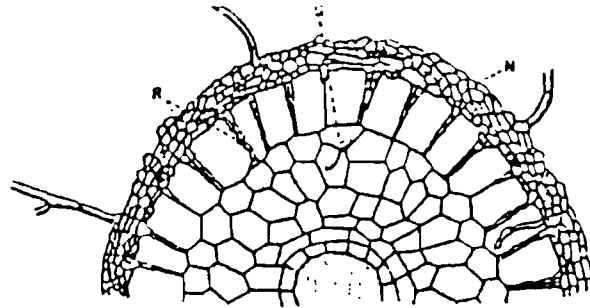


Fig. 3

Coupe schématique d'une ectomycorhize. N, manteau ; R, réseau de Hartig ; S, surçoir. (Harley 1965).

Dans les régions tropicales, la majeure partie des légumineuses connues qui peuvent présenter des ectomycorhizes appartiennent à la sous-famille des Cesalpinoideae avec les genres Afzelia, Anthonotha, Brachystegia, Gilbertiodendron, Intsia, Julbernardia, Monopetalanthus et Paramacrolobium. Les principales espèces étudiées pouvant présenter des ectomycorhizes sont mentionnées au tableau 1.

Trape (1962) cité par Mousain (1983) signale 525 espèces de champignonsmycorhiziens, répartis en 81 genres, 30 familles et 10 ordres mais leur caractère mycorhizogène n'a été démontré expérimentalement in vitro que pour une cinquantaine d'entre elles.

La majorité des champignons qui forment des ectomycorhizes sont des Basidiomycètes appartenant aux Agaricales (genres Amanita, Boletus, Cortinarius, Lactarius, Russula, Paxillus, Gomphidius, Hygrophorus ...). Parmi les Gastéromycètes, les genres : Rhizopogon, Phallus, Scleroderma, Astraeus et Pisolithus sont mycorhiziques (genres Tuber et Elaphomyces, outre le Cenococcum graniforme, ascomycète imparfait).

Par ailleurs, quelques Zygomycètes de la famille des Endogonacées constituent des ectomycorhizes avec les Pins, les Pseudotsuga et Eucalyptus ; ces champignons sont tous membres du genre Endogone stricto sensu

TABLEAU 1

Légumineuses ectomycorhiziques indigènes connues
en Afrique intertropicale

Familles	Genres	Espèces	Pays	Auteurs
CESALPINACEES				
	<i>Afzelia</i>	<i>africana</i> sm.	Ghana	Jenik et Monach, 1967
	"	"	Nigéria	Redhead, 1968a
	"	"	Sénégal	Sa. Thonn et Drayfus 1965 (non publié)
	"	<i>bella harna</i> var. <i>bella</i> .	Zaire	Faasi et Fontana, 1962
	"	"	Nigéria	Redhead, 1968
	"	<i>quansensis</i> Welw	Tanzanie	Hogberg et Nylund, 1961
	<i>Anthouathe</i>	<i>acrophylla</i>	Zaire	Faasi et Fontana, 1962 Peyronel et Faasi, 1960
	<i>Brachystegia</i>	<i>buemii</i> Taub.	Tanzanie	Hogberg, 1962
	"	<i>bussei</i> Harna	Tanzanie	Hogberg, 1962
	"	<i>enrycom</i> Harna	Nigéria	Redhead, 1968a
	"	<i>floribunda</i> Benth.	Zambie	Alexander et Hogberg 1966
	"	<i>laurentii</i> (De Wild.) Louie et Boyie	Zaire	Faasi et Fontana, 1962 Peyronel et Faasi, 1960
	"	"	Nigéria	Redhead, 1968
	"	<i>longifolia</i> Benth	Zambie	Alexander et Hogberg 1966
	"	"	Tanzanie	Hogberg, 1962
	"	<i>macrophylla</i> Harna	Tanzanie	Hogberg, 1962
	"	<i>nigeria</i>	Nigéria	Redhead, 1968
	"	<i>spicuosmia</i> Benth.	Zambie	Alexander et Hogberg 1966
	"	"	Tanzanie	Hogberg et Nylund 1961
<i>Gilbertiodendron</i>		<i>lawsonii</i> (De Wild.)	Zaire	Peyronel et Faasi, 1957
<i>Intsia</i>		<i>bijuqa</i> (Colebr.) O.K.	Nouvelle Guinée	Alexander et Hogberg 1966
<i>Lauferlinia</i>		<i>angolensis</i> (Benth. Hoyie et Brenan	Zambie	Alexander et Hogberg 1966
<i>Justicia</i>		<i>glaberrima</i> (Benth.) Troupin	Tanzanie	Hogberg, 1962
"		<i>paniculata</i> (Benth.) Troupin	Zambie	Alexander et Hogberg 1966
"		<i>serotii</i> (De Wild.) Troupin	Zaire	Faasi et Fontana, 1961 Peyronel et Faasi, 1960
<i>Monopetalanthus</i>		sp.	Zaire	Faasi et Fontana, 1962 Peyronel et Faasi, 1960
<i>Parasacrolobium</i>		<i>caeruleum</i> (Taub.) J. Léonard	Zaire	Faasi et Fontana, 1962 Peyronel et Faasi, 1960
"		<i>fragrans</i> (Bak.) Oot	Zaire	Faasi et Fontana, 1961 Peyronel et Faasi, 1960

N.B. : Nous remarquons que toutes ces espèces font partie de la sous-famille des Césalpinacées.

(Gerdeman et Trappe, 1974).

Quatre groupes de champignons "mycorhiziens" peuvent être distingués en fonction de leurs possibilités de développement saprophytique et de leur spécificité (Mousain, 1983).

- Des champignons essentiellement saprophytes qui peuvent former exceptionnellement des mycorhizes (Phallus impudicus, Collybia peronata).

- Des champignons mycorhiziens qui ont un large spectre d'hôtes mais qui possèdent aussi de grandes possibilités de vie saprophytique (Xerocomus subtomentosus, Scleroderma aurantium).

- Des champignons strictement mycorhiziens mais qui entrent en symbiose avec de nombreux hôtes. Leurs carpophores ne se développent qu'en association symbiotique (Amanita muscaria, Russula serampelina, Boletus edulis, Tuber metanosporum). C'est le cas de la grande majorité des champignons mycorhiziens.

- Des champignons qui sont strictement mycorhiziens mais qui ne peuvent s'associer qu'à un nombre limité de plantes-hôtes cas de Suillus tridentinus et Mactarius porninsis avec le Meleze, de Lactarius obscuratus avec l'Aulne et de Leccinum scabrum avec le Bouleau.

Dans les pays tropicaux, très peu d'études portent sur les champignons ectomycorhiziens

Les champignons connus des forêts tropicales appartiennent aux mêmes genres qui sont connus pour être mycorhiziens en pays tempérés.

1.2.1.3. Les ectendomycorhizes

Ils ont à la fois les caractères des endomycorhizes et des ectomycorhizes. C'est le terme de passage des endomycorhizes aux ectomycorhizes. Hogberg et Nylund (1981) en Tanzanie puis Hogberg (1982) ont dans leur recensement sur 47 espèces indigènes dénombré une seule espèce à ectendomycorhize. (Uapaca kikiana). Le genre Pinus est connu ectendomycorhizique (Harley and Smith, 1983).

1.2.4. Influence de la mycorhization sur le développement de la plante

Les complexes ectomycorhiziens sont susceptibles de faciliter l'absorption de l'eau et des éléments nutritifs par la plante, de contribuer à la décomposition de certains composés minéraux et organiques, de sécréter des substances de croissance, de protéger les racines contre certains pathogènes,

tous ces effets favorisent l'adaptation des arbres à des conditions écologiques difficiles.

1.2.4.1. Absorption de l'eau

Certains champignons tolèrent de faibles potentiels hydriques. Les champignons ectomycorhiziens sont capables d'abaisser suffisamment le potentiel de l'eau dans leurs tissus pour absorber l'eau du milieu. Cependant même si les champignons résistent à un potentiel de l'eau élevé en valeur absolue il faut que les tissus de la plante-hôte soient aussi capables d'abaisser ce potentiel dans leurs tissus pour que le flux d'eau s'établisse entre les hyphes et les cellules racinaires (Duddrije et al, 1980). cité par Mousain (1984).

La conséquence de l'augmentation du volume du sol exploré par des racines mycorhizées est importante.

L'eau dans le sol peut être considérée comme un élément peu diffusible. Si pour une quantité d'eau prélevée à partir du sol, le volume de prélèvement est accru grâce à la mycorhization (présence du réseau mycelien extramatriciel) l'épuisement en eau du sol sera moins important pour un point donné de cet espace.

La pénétration des hyphes myceliennes dans le sol raccourcit donc les voies de transfert vers la racine et courtcircuitte toute résistance du protoderme racinaire du flux d'eau.

Le métabolisme de l'hôte est ajusté pour une pression de l'eau plus faible dans les tissus, ce qui contribue à maintenir le flux d'eau dans le sens "sol-plante-atmosphère".

1.2.4.2. La nutrition phosphatée

Parmi les éléments qui s'accumulent dans le système aérien des plantes mycorhizées, on observe une augmentation toute particulière de la teneur en phosphore (2,5 à 3 fois plus élevé) (Strulu, 1982).

L'influence positive de la mycorhization sur la nutrition phosphatée des plantes résulte en premier lieu d'une augmentation de l'absorption d'orthophosphate ($H_2 PO_4^-$) par les champignons et les mycorhizes, mais le pouvoir absorbant des mycorhizes vis-à-vis du phosphate varie avec divers facteurs biotiques (isolat de champignon mycorhizogène) et abiotiques de l'environnement (eau, température, pression d'oxygène, concentration en $H_2 PO_4^-$ dans la solution externe) (Harley et Smith, 1983). Ollivier (1981) démontre que l'effet de l'endomycorhization sur la plante est stimulé si le sol contient

entre 10 à 40 ppm de phosphore assimilable. Selon Strulu (1982) le transfert du phosphore s'effectue au niveau du réseau de Hartig par l'intermédiaire d'apposition formée par l'accroissement des parois des hyphes et des cellules de la plante hôte.

L'amélioration de la nutrition des plantes peut aussi résulter de la stimulation de leurs activités phosphatases du fait de la présence des champignons associés (Mousain et Salsac, 1982).

1.2.4.3. Nutrition azotée

Les champignons ectomycorhiziens et les ectomycorhizes sont capables d'absorber de l'azote organique ou inorganique, de réduire les nitrates et de modifier le métabolisme azoté de la plante hôte (Mention et Plassard, 1983) cité par Plassard et al (1985).

Salsac et al (1982) ont confirmé que l'absorption de l'ammonium NH_4^+ est dans tous les cas supérieure à celle de NO_3^- . Ces mêmes auteurs ont démontré que les mycorhizes formés par Pisolithus tinctorius sont les plus efficaces pour absorber NO_3^- .

~~D'une part le rapport d'absorption ammonium/nitrates ($\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$) est dans tous les cas supérieure à celle de NO_3^- . Ces mêmes auteurs ont démontré que les mycorhizes formés par Pisolithus tinctorius sont les plus efficaces pour absorber NO_3^- .~~

~~D'autre part Le rapport d'absorption ammonium/nitrates ($\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$) est plus faible chez les racines mycorhizées que chez les racines non mycorhizées ce qui suggère que l'absorption de NO_3^- est d'avantage stimulée que celle de NH_4^+ par la mycorhization.~~

La réduction du nitrate absorbé peut être rapide chez certaines associations. L'azote fournit sous forme de NO_3^- ou NH_4^+ à des champignons ectomycorhiziens a permis une croissance comparable in vitro. Ils sont donc capables d'assimiler l'azote nitrique et possèdent les enzymes permettant la réduction du nitrate en ammonium.

Les activités nitrates réductases mesurées in vitro sont d'un ordre de grandeur comparable à celle des végétaux supérieurs (5 à 10 mol de NO_2^- forme par heure et par gramme de matière fraîche pour Hebeloma cylindrosporum, (Plassard et al, 1985).

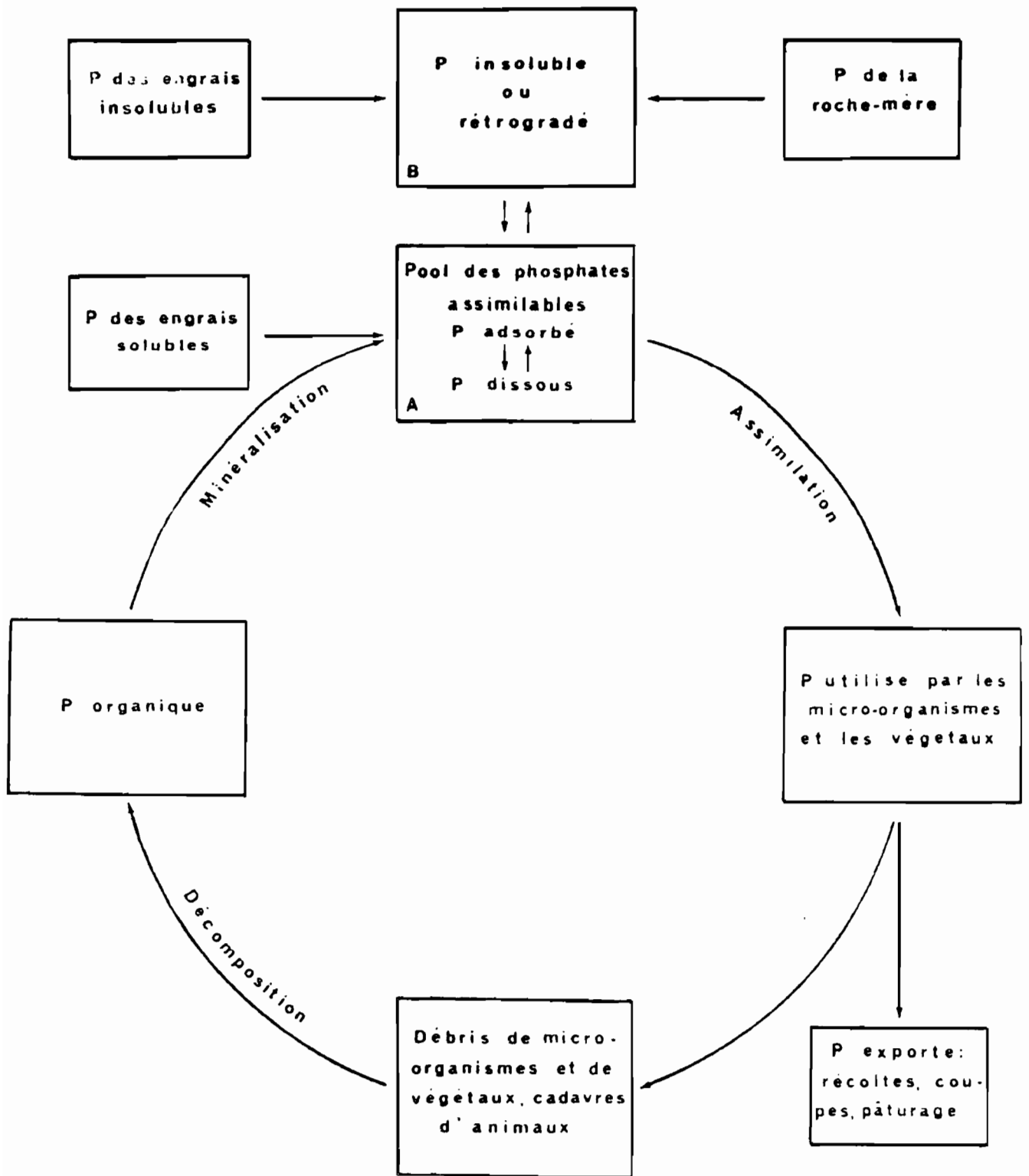


Figure 4 : LE CYCLE DU PHOSPHORE

SOURCE : Cornet, 1981.

1.3. La triple symbiose - Rhizobium-Endomycorhizes-Ectomycorhizes chez les légumineuses

Chez les légumineuses, au stade actuel de nos connaissances il n'y a pas d'études connues portant sur la triple symbiose chez la même plante (Rhizobium, V.A.M. et champignon ectomycorhizien).

Toutefois, une non légumineuse tropicale introduite au Sénégal Casuarina equisetifolia présente une symbiose actinorhizienne avec le genre Frankia, une symbiose endomycorhizienne avec Glomus mosseae et une symbiose ectomycorhizienne avec Pisolithus senegalensis pt. (Bâ et al, 1987). Cette triple symbiose est aussi étudiée sur le genre Alnus (Harley, 1987).

La double symbiose ectomycorhize-endomycorhize est elle-même plutôt rare. Ce phénomène a été observé sur Helianthemum chamaecystus (Read et al, 1977) et sur Eucalyptus dumosa (Lapeyrie et Chilvers, 1985). Il est signalé sur le genre Populus, Salix, Alnus (Harley, 1987).

Des observations ont permis de remarquer une double symbiose sur Eucalyptus camaldulensis (Ndao, 1986).

Les doubles symbioses Rhizobium, V.A.M. sont plus courantes Gush (1974), Daft et El Giahmi (1975), Asimi et al (1978), Smidt (1979), Diem (1983) cités par Cornet (1981), Cornet et al (1985) avec un effet très positif pour la nodulation et la fixation de l'azote.

La symbiose Rhizobium-légumineuse est exigeante en P or, les légumineuses sont connues pour la relative difficulté qu'elles éprouvent à extraire P du Sol, du fait de leur système racinaire peu développé. La présence de champignons mycorhiziens est très profitable à la plante car ces champignons favorisent la nodulation et la fixation de l'azote (I. Guèye, 1979 ; M. Guèye, 1982 ; Cornet, 1982, Cornet et al, 1985).

PARTIE EXPERIMENTALE

2.- MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1. Sols utilisés

Nous avons utilisé pour ces expériences deux types de sol assez bien représentés au Sénégal. Ces sols ont été choisis en raison de leur déficience en N et/ou P.

Sol de Bel Air déficient en N (ferrugineux tropical)

Sol des Bayottes déficient en P assimilable (ferralitique).

Les principales caractéristiques des sols figurent au tableau 2. Le sol de Bel Air est un sol sableux peu évolué issu d'une roche mère constituée de sables dunaires quaternaires. Il a été prélevé sur le domaine de l'ORSTOM-Bel Air sous Acacia albida.

Le sol des Bayottes est un sol ferralitique argileux. Il a été prélevé dans la forêt des Bayottes dans le Sud du pays en Casamance sous Azelia africana avec une teneur moyenne en azote 320 ppm pour un taux de phosphore total de 49 ppm. Tous les sols ont été tamisés (tamis de 5 mm).

2.2. Traitement des sols utilisés

Le prélèvement a toujours eu lieu sur les 25 premiers centimètres du sol. Ils ont été ensuite stérilisés à l'autoclave pendant 1 heure à 120°C ou au Bromure de méthyle (Br CH₃). Ce traitement consiste à mélanger ce biocide au sol déjà préparé et légèrement humidifié contenu dans des bacs et bien protégés par une bache en plastique, qui recouvre entièrement les bacs. Les bords de la bache sont enfouis dans le sol, le long des bacs et bien tassés. Le bromure de méthyle est envoyé dans le sol au travers de la bache par un trou à l'aide d'un appareil conçu à cet effet. Après le traitement, le trou est fermé par du papier adhésif. C'est une opération dangereuse et elle nécessite des précautions.

Un masque spécial avec cartouche rechargeable est nécessaire. Il est souhaitable que le traitement se fasse à deux.

TABLEAU N° 2

CARACTERISTIQUES PHYSICO-CIMIQUES DES SOLS UTILES

S O L	C total	N total	N Minérali sable	P total	P Assimila ble	Argile %	Limon %	Sable %	PH (Kc1)	pH (H ₂ O)
	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm					
Bel Air surface	3 900	340	69,0	206,8	26,4	4,5	2,7	92,8	6,5	7,2
Bayottes	-	320	-	49	10	11,5	7,1	79,5	3,8	4,9

- L'azote total est dosé après minéralisation à l'acide sulfurique concentré.
- Le P assimilable est dosé après extraction à NaHCO₃ 0,5 M
- Le P total est dosé après minéralisation à HNO₃.
- Le pH (KCl - N) est mesuré dans un mélange sol-solution de KCl (1/2,5 ; V/V).
- Les caractéristiques sont identiques après stérilisation.

Toutes ces analyses ont été effectuées au Laboratoire de Chimie de l'ORSTOM de Dakar (Sénégal).

Dosage selon la méthode Olsen (1954)

2.3. Matériel végétal

Acacia mangium est utilisé pour toutes nos expériences aussi bien au Laboratoire qu'en pépinière. Les graines nous ont été offertes par le Centre National de Recherche Forestière (CNRF). Les graines ont été récoltées au Queensland en Australie en Novembre 1982.

2.3.1. Traitement des graines et germination

Pour obtenir une levée rapide et régulière des graines un prétraitement est effectué.

Les Acacia possèdent des graines à téguments externes très sclérifiés. Dans un Erlenmeyer stérile contenant une solution d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4), les graines sont plongées pendant 50 mn. Ensuite elles sont rincées 4 à 5 fois avec de l'eau stérile pour enlever toute trace d'acide. Les graines ainsi traitées sont laissées 4 heures dans de l'eau stérile. Ce prétraitement constitue en même temps une stérilisation. Les graines ainsi traitées sont saisies à l'aide de pinces flambées à l'alcool et déposées à la surface de boîtes de pétri contenant de l'eau gélosée à 8 %. Ces boîtes sont placées dans des récipients maintenus à l'atmosphère humide entre 27° et 28°C.

Au bout de 48 ou 72 heures, les graines ayant de petites radicules exemptes de contamination sont choisies pour le repiquage.

2.3.2. Méthode de détermination de la meilleure durée de prétraitement

Avec le genre Acacia, une bonne germination a lieu après un prétraitement à l'acide sulfurique (Roussel, 1981) qui résulte également en une désinfection essentielle pour les expériences en tube. Nous avons déterminé les conditions optimales de prétraitement pour obtenir un taux de germination satisfaisant. Cinq lots de 25 graines ont été attaqués à l'acide sulfurique pendant différentes durées (30 mn, 45 mn, 50 mn). L'observation de la germination est effectuée au bout de 36 heures. Une étude statistique a permis de choisir la meilleure durée.

2.4. Les souches de microorganismes

2.4.1. Les souches rhizobiennes

Différentes souches de Rhizobium et de Bradyrhizobium sont utilisées pour les différentes expériences. La liste des souches, les hôtes à partir desquelles elles ont été isolées et leur origine figurent au tableau 3.

Les souches prélevées sur Acacia bivenosa et Acacia mangium ont été isolées et cultivées avant l'inoculation.

Les souches TAL 1449, TAL 1522, TAL 582 nous ont été gracieusement fournies par le Laboratoire CNRS/CNRS de Nogent-sur-Marne - France.

Toutes les autres souches existaient en collection au Laboratoire .

2.4.1.1. Isolement et culture des souches

Des plants de Acacia bivenosa et de Acacia mangium ont été élevés respectivement sur le sol de Bel Air et sur le sol des Bayottes placés en gaine de polythylène. Après deux mois, des nodules ont été remarqués et prélevés sur les plants d'aspect vigoureux, et au feuillage assez vert foncé. Les nodules prélevés sont lavés à l'eau et séchés avec du papier Kleenex. Deux méthodes ont été ensuite utilisées pour isoler les bactéries.

2.4.1.1.1. Méthode directe

Le nodule est ouvert aseptiquement à l'aide d'un scalpel. Ensuite, une aiguille flambée et refroidie est légèrement enfoncée sur la section ouverte, puis sur un milieu YEMA contenu dans une boîte de pétri, est étalée sous forme de stries, afin d'obtenir l'isolement de colonies bactériennes. La composition du YEMA figure au tableau 4 . Cette boîte est gardée dans une étuve à 30°C.

2.4.1.1.2. Méthode par désinfection

Les nodules sont lavés à l'eau courante puis désinfectés superficiellement par immersion pendant 30 secondes dans de l'alcool à 90° puis 3 minutes dans une solution de $HgCl_2$ à 1 % acidifiée (Vincent, 1970). Chaque nodule a alors été rincé à l'eau stérile puis transféré aseptiquement dans une boîte de pétri contenant un peu d'eau stérile. Alors il peut être écrasé aseptiquement. Une goutte du broyat est étalée sur des boîtes de Pétri garnies de YEM avec une anse de platine flambée et refroidie, ou bien le nodule ainsi désinfecté, rincé à l'eau stérile transféré dans une autre boîte de Pétri contenant un peu d'eau stérile est ouvert et un fragment de tissu au coeur du nodule est prélevé à l'aide d'une paire de pinces et d'une pointe lancéolée flambée et refroidie. Le fragment de tissu est écrasé dans une goutte d'eau stérile afin de disperser les bactéroïdes. Un épaissement de la suspension est effectué sur une boîte de Pétri garnie de YEM avec une anse de platine flambée puis trempée dans cette suspension.

Les boîtes de Pétri sont mises à l'étuve à 30°C. Les souches destinées à la collection sont repiquées tous les 3 mois sur milieu Y.E.M.A.

Au bout de 2 à 5 jours, des bactéries se sont développées, une colonie isolée et exempte de contaminants est repiquée sur une autre boîte de Pétri pour vérifier sa pureté.

2.4.1.2. Mesure de la vitesse de croissance des souches bactériennes

Après avoir vérifié la pureté des souches bactériennes, nous avons étalé sur une boîte de Pétri garnie de YEMA un prélèvement de colonie bactérienne avec une anse de platine flambée et refroidie. Les boîtes de Pétri sont gardées à l'étuve à 30°C.

Après développement des colonies bactériennes, pour chaque souche, la même quantité de suspension est prélevée d'une colonie avec une anse en platine calibrée flambée à l'alcool et refroidie. Chaque prélèvement correspondant à une souche est mis dans une fiole d'Erlenmeyer de 250 ml contenant 200 ml de milieu YEM. Ces fioles sont stérilisées au préalable à l'autoclave à 120° pendant 20 minutes. Ces fioles sont mises sur une table d'agitation. Pendant les 10 premières heures de développement de ces bactéries dans ce milieu à chaque heure, un prélèvement de 7 ml est effectué de ces fioles et mis dans un petit tube de 12 ml pour chaque souche bactérienne. Ces petits tubes sont très soigneusement nettoyés et introduits un à un dans un spectromètre à chaque prélèvement horaire. La densité optique est lue sur le spectromètre pour chaque souche. Le temps zéro de développement est obtenue en lisant pour chaque souche sa densité optique avant sa mise en culture sur la table d'agitation, juste après avoir mis la suspension bactérienne dans le milieu YEM contenu dans la fiole d'Erlenmeyer.

Pour la seconde expérience les lectures se faisaient toutes les 1 heures les 12 premières heures et toutes les 4 heures pendant les 12 dernières heures.

TABLEAU 3

Hôte d'isolement, et origine des souches bactériennes utilisées dans nos travaux.

Souches	Hôte d'isolement	Origine
Mboula (20)	<u>A. senegal</u>	Sénégal
ALN ₃ (23)	<u>A. laeta</u>	"
BAL (24)	<u>A. leata</u>	"
ALS (25)	<u>A. leata</u>	"
A.b.	<u>A. bivenosa</u>	"
ORS 911 (79)	<u>A. senegal</u>	"
(8)	<u>A. albida</u>	"
(58)	<u>A. radiana</u>	"
(101)	<u>A. albida</u>	"
ORS 406 (106)	<u>Glycine Max</u>	"
AE3221	<u>A. albida</u>	"
ORS841	<u>A. holosericea</u>	"
TAL582 *	<u>Leuceana leucocephala</u>	Australie
TAL1522 **	<u>A. mangium</u>	Hawaï - USA
TAL1449 **	<u>A. auriculiformis</u>	Hawaï - USA
Bay 1	<u>A. mangium</u>	Sénégal
Bay 2	<u>A. Mangium</u>	"
Bay 3	<u>A. mangium</u>	"

* Cette souche est originaire de l'Australie mais elle nous a été offerte par la Laboratoire associé du CTFT/CNRS de Nogent-sur-Marne - France.

** Ces souches sont originaires de Hawaï mais elles nous ont été offertes par le Laboratoire associé du CTFT/CNRS de Nogent-sur-Marne - France.

TABLEAU N° 4

COMPOSITION DU MILIEU MANNITOL - EXTRAIT DE LEVURE. (YEM-YEAST
MANNITOL ; FRED ET WAKSMAN, 1928).

Mannitol	10,0 g
K ₂ HPO ₄	0,5
MgSO ₄ ,7H ₂ O	0,2
NaCl	0,2
FeCl ₃	0,004
Extrait de levure	1,0
Eau distillée	1000 ml
pH ajusté à 6,8 avec HCl (N)	
Agar-agar	20 g.

2.4.2. Les souches ectomycorhiziennes

Nous avons testé l'aptitude ectomycorhizienne de 7 souches fongiques avec différentes méthodes de synthèse axénique et semi axénique : en tube (Lapeyrie, 1983, Bâ, 1985) en "sandwich paper" (Chilvers et al, 1986) en "Pouch" (Fortin et al, 1980) et en gaine (Bâ, 1985).

Souches fongiques	N° d'herbier	Provenance	Méthode de synthèse
<i>Pisolithus tinctorius</i>	Sl25	Belgique	Tube - gaine
" "	T	France	Tube - gaine
<i>Pisolithus senegalensis</i> pt	PS ₁	Sénégal	" "
" " "	PS ₃	Sénégal	" "
<i>Scleroderma capense</i>	Sc	Sénégal	Tube
<i>Scleroderma</i> sp	ORS 7731	Sénégal	Pouch. Sandwich
<i>Thelephora terrestris</i>		France	Pouch. Sandwich

Pisolithus tinctorius est utilisé en raison de son large spectre d'hôtes.

Pisolithus senegalensis est reconnu ectomycorhizien de plusieurs espèces végétales et en plus est indigène.

Le *Scleroderma capense* récolté dans le jardin botanique de Hann est alloctone ?

Scleroderma sp (*Amanita rubescens* ?) est récolté sous *Afzelia africana* dans le sol acide des Bayottes qui est utilisé pour nos expériences en pépinière.

L'aptitude de *Acacia mangium* à former des ectomycorhizes avec *Thelephora ramarioides* a été signalée par L.T. Hong et Gibson I.A.S. au Sabah (National Research Council, 1983). Ce genre *Thelephora* notamment le *Thelephora terrestris* a été reconnu ectomycorhizien avec d'autres espèces végétales aussi bien au Malawi (Pawsley, R.G., 1980) qu'en Tanzanie (Kalaghe, A.G., 1980) dans une étude des champignons pouvant former une symbiose ectomycorhizienne avec les Pins.

La souche de *Thelephora terrestris* nous a été gracieusement offerte par Melle Claire VIGNON.

2.4.3. Souches endomycorhiziennes

Multiplication du champignon endomycorhizien V.A.

La souche de Glomus mosseae utilisée a été maintenue en association avec Vigna unguiculata dans des pots en terre cuite de sol de Bel Air stérilisé. Pour la production d'inoculum les racines de Vigna unguiculata soigneusement lavées et inoculées 3 mois auparavant sont utilisées.

2.5. Etude de l'infectivité et de l'effectivité des souches de Rhizobium et de Bradyrhizobium chez A. mangium

2.5.1. Synthèse en condition non axénique (Piègeage)

2.5.1.1. Principe de la méthode

Le piègeage consiste comme son nom l'indique à piéger au niveau du système racinaire de la plante des souches de Rhizobium ou de Bradyrhizobium indigènes présentes dans le sol utilisé, par l'intermédiaire des nodules qui pourront se former.

2.5.1.2. Matériels de culture

Nous avons utilisé des gaines de polyéthylène qui sont d'un emploi assez facile et sont moins coûteuses que les autres containers. Les dimensions habituelles choisies sont de 30 cm de hauteur et 10 cm de largeur. Un des inconvénients de la gaine est l'étranglement radiculaire qu'il peut infliger au plant par enroulement du système racinaire sur lui même. Nous avons utilisé deux substrats de culture. Le premier se compose du sol de Bel Air mélangé à des billes de polystyrène à la proportion de 1/3 en bille, 2/3 sol.

Le second substrat de culture se compose du sol des Bayottes mélangé à des billes de polystyrène à la même proportion. Aucun des sols n'est stérile.

2.5.1.3. Repiquage des graines

Les graines préparées mises à germer comme décrit au chapitre 2.3.1. sont repiquées dans ces gaines sur le substrat de culture. La graine munie de la jeune radicule est déposée directement sur le substrat de culture. Au moment du repiquage on enlève assez facilement les téguments cotylédonaire. La jeune radicule est enfoncée dans le substrat jusqu'au niveau du collet. Des plants vont se développer. A partir des nodules qui se forment seront isolées de nouvelles souches bactériennes. Cette expérience

nous permettra aussi de comparer les deux types de sol.

2.5.2. Synthèse en condition axénique en tube

Cette méthode consiste à comparer à des témoins et entre elles, les souches de Rhizobium et de Bradyrhizobium inoculées à des jeunes plants élevés en tube pour leur infectivité chez A. mangium et parmi les souches infectives de déceler celles qui sont effectives chez A. mangium.

2.5.2.2. Matériel de culture

Des tubes Gibson (Vincent, 1970) sont utilisés. Ce sont des tubes à essais de 3 cm de diamètre et 20 cm de hauteur, ils sont remplis du milieu gélosé de Jensen pour légumineuse (Tableau 5a) et recouverts avec du papier aluminium maintenu par du papier adhésif. Les tubes ainsi préparés sont stérilisés à 120°C pendant 20 mn puis inclinés. Après solidification, le tout est rangé dans un portoir entouré par du papier afin d'obscurcir la base des tubes pour un bon développement racinaire des plants qui y seront élevés.

2.5.2.3. Le repiquage des semis

Pour les tubes, le repiquage se fait en milieu axénique, sous la hotte à flux laminaire. La graine munie de sa radicule et exempte de toute contamination est saisie au moyen de pinces flambées et refroidies. Sur le papier aluminium qui recouvre le haut du tube, préalablement désinfecté à l'alcool et à la flamme, par un petit trou obtenu par une pointe fine flambée à l'alcool, on dépose la graine.

Elle est placée de sorte que la radicule soit appliquée contre le milieu de culture. Les cotylédons restent au dessus du papier aluminium qui sert de couverture (fig. 5).

2.5.2.4. Obtention de l'inoculum rhizobien

Sous la hotte à flux laminaire, dans un milieu axénique, des colonies de bactéries sont prélevées dans des boîtes de Pétri à l'aide d'une anse de platine flambée et refroidie. Ces colonies sont mises dans des fioles d'Erlenmeyer stériles de 100 ml contenant 50 ml de YEM liquide. Ces fioles d'Erlenmeyer sont placés à 27°C sur une table d'agitation. Ce milieu constituera l'inoculum quand les colonies bactériennes auront bien poussé au bout de 2 à 7 jours.

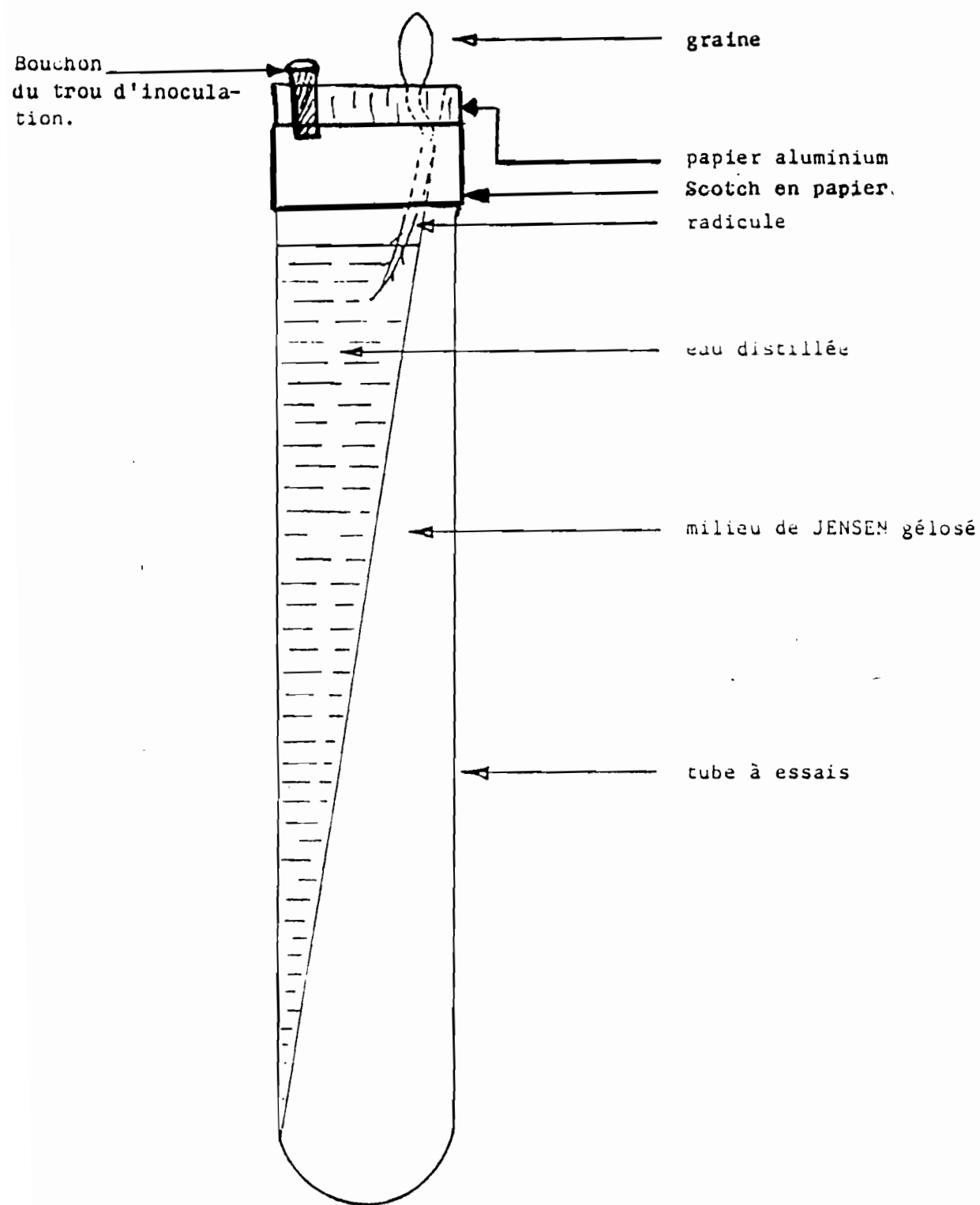


Figure 5 : Schéma représentatif du système pour le test de nodulation.

TABLEAU 5a

Compositions du milieu de culture des plantes en
tube de Gibson (Milieu Jensen, 1942)

<u>Produits</u>	<u>Stock</u>	<u>Doses (en ml/l)</u>
<u>Macro éléments</u>		
KH_2PO_4	20 g/l	10
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	20 g/l	10
NaCl	20 g/l	
CaHPO_4	200 g/l	20
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	14 g/l	10
<u>Oligo éléments</u>		
H_3BO_3	2,86 g/l)	
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2,03 g/l)	
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,22 g/l)	1
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,08 g/l)	
$\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,09 g/l)	
Agar	20 g/l	

Le pH est ajusté à 6,7.

2.5.2.5. Inoculation des semis

16 souches sont utilisées : Bay 1 ; 1449 ; 582 ; ORS 841 ; 79 ; 20 ; 23 ; 24 ; 25 ; A.b.8 ; 58 ; 101 ; 106 ; 3221, l'inoculation en tube a lieu sous la hotte à flux laminaire sous la hotte dans un milieu axénique. Avec une pipette graduée stérile on injecte 1 ml d'inoculum dans le tube au moment du repiquage. Le trou d'inoculation est fermé par du papier adhésif stérile ou par un bouchon stérile (fig. 5).

2.5.3. Synthèse en condition semi-axénique (en gaine)

2.5.3.1. Principe de la méthode

Les mêmes expériences conduites en tube en milieu axénique sont reprises à la pépinière en gaine.

2.5.3.2. Matériels de culture

Nous avons utilisé des gaines de polyéthylène remplies du sol des Bayottes stérilisé et mélangé à des billes de polystyrène à la préparation 1/3 bille, 2/3 sol. Sur ce substrat sont repiqués les semis déjà préparés comme au 2.3.1. Le repiquage s'effectue de la même manière que pour le piègeage.

La préparation de l'inoculum est identique à celle de la synthèse en tube.

2.5.3.3. Inoculation

Dix souches sont utilisées : ORS 841 ; 24 ; 101 ; 23 ; AE 3221 ; 106 ; 58 ; 25 ; 20 ; 8. En gaine l'inoculation a lieu au moment du repiquage des semis. Avec une pipette stérile on injecte 1 ml de l'inoculum contenant environ 10^9 bactéries/ml.

2.6. Essai de mycorhization de A. Mangium (ectomycorhizes)

2.6.1. Synthèse en condition axénique en tube

2.6.1.1. Principe de la méthode

Cette méthode consiste à chercher dans le lot de souches de champignons ectomycorhiziens obtenues, celles qui peuvent former des ectomycorhizes avec A. mangium. La synthèse se fait en milieu axénique pour permettre un bon développement de la plante et du champignon. Les meilleures conditions de l'établissement de la symbiose sont recherchées.

2.6.1.2. Milieux et substrats de culture

Nous avons utilisé des tubes à essai à encolures de 4,5 cm de diamètre et de 22 cm de hauteur. Deux substrats sont utilisés, le premier substrat se compose de 80 ml de vermiculite et 3,5 ml de tourbe. Ces tubes sont remplis de ce mélange et recouverts par du papier aluminium maintenu par du papier adhésif. Les tubes ainsi préparés sont stérilisés à l'autoclave à 120°C pendant 20 mn, à deux reprises à 24 Heures d'intervalle. On injecte dans les tubes 35 ml de milieu MNM (tableau 5b) stérilisé à 120°C pendant 20 mn. Cette dernière opération se fait sous hotte à flux laminaire. Le trou ainsi formé par l'injection du milieu est fermé par du papier adhésif stérile. Le second substrat de culture pour la synthèse ectomycorhizienne se compose de 110 ml de perlite, 9 ml de tourbe, 30 ml de milieu MNM. Pour éviter un excès d'humidité et pour permettre une bonne irrigation de la partie supérieure du tube, un papier buvard est introuit dans celui-ci.

2.6.1.3. L'inoculation

2.6.1.3.1. Avec un inoculum solide

Des explants sont prélevés d'une préculture âgée au maximum de 3 semaines et déposés dans les tubes avec 1 ou 2 explants par tube. Les tubes sont placés en chambre climatisée à 27°C. Quand le mycelium a colonisé le substrat dans le tube on repique dans celui-ci les plantules préalablement germées sur gélose molle à 8 % comme au chapitre 2.3. Les souches utilisées sont : PS₁ ; PS₃ ; T ; S₁₂₅ ; S_C.

2.6.1.3.2. Avec des boulettes mycéliennes en milieu liquide

Dans des fioles d'Erlenmeyer de 250 ml, stériles contenant 100 ml de MNM liquide sont ajoutés axéniquement 4 à 5 explants des différentes souches fongiques en préculture obtenue sur milieu MNM gélosé et âgée de 3 semaines. Ces fioles sont placées à 27°C, sur des tables d'agitation pendant 6 semaines. Les boulettes obtenues sont broyées stérilement avec un broyeur (type ultraturax) durant quelques secondes (2 à 5 secondes), ce broyat est stérilisé comme inoculum. Nous avons injecté dans les tubes cet inoculum liquide à l'aide d'une seringue stérile. Le trou d'injection est ensuite fermé hermétiquement avec du papier adhésif stérile (figure 6). Les souches utilisées sont PS₁ ; PS₃ ; T ; S₁₂₅ ; S_C.

2.6.2. Synthèse en milieu axéniqué par la méthode "Sandwich paper"

Elle dérive de la technique "pouchs". Elle est récente (Chilvers et al, 1986). Les boîtes de Pétri utilisées permettent un maniement simple et rapide. C'est une technique qui est totalement axénique.

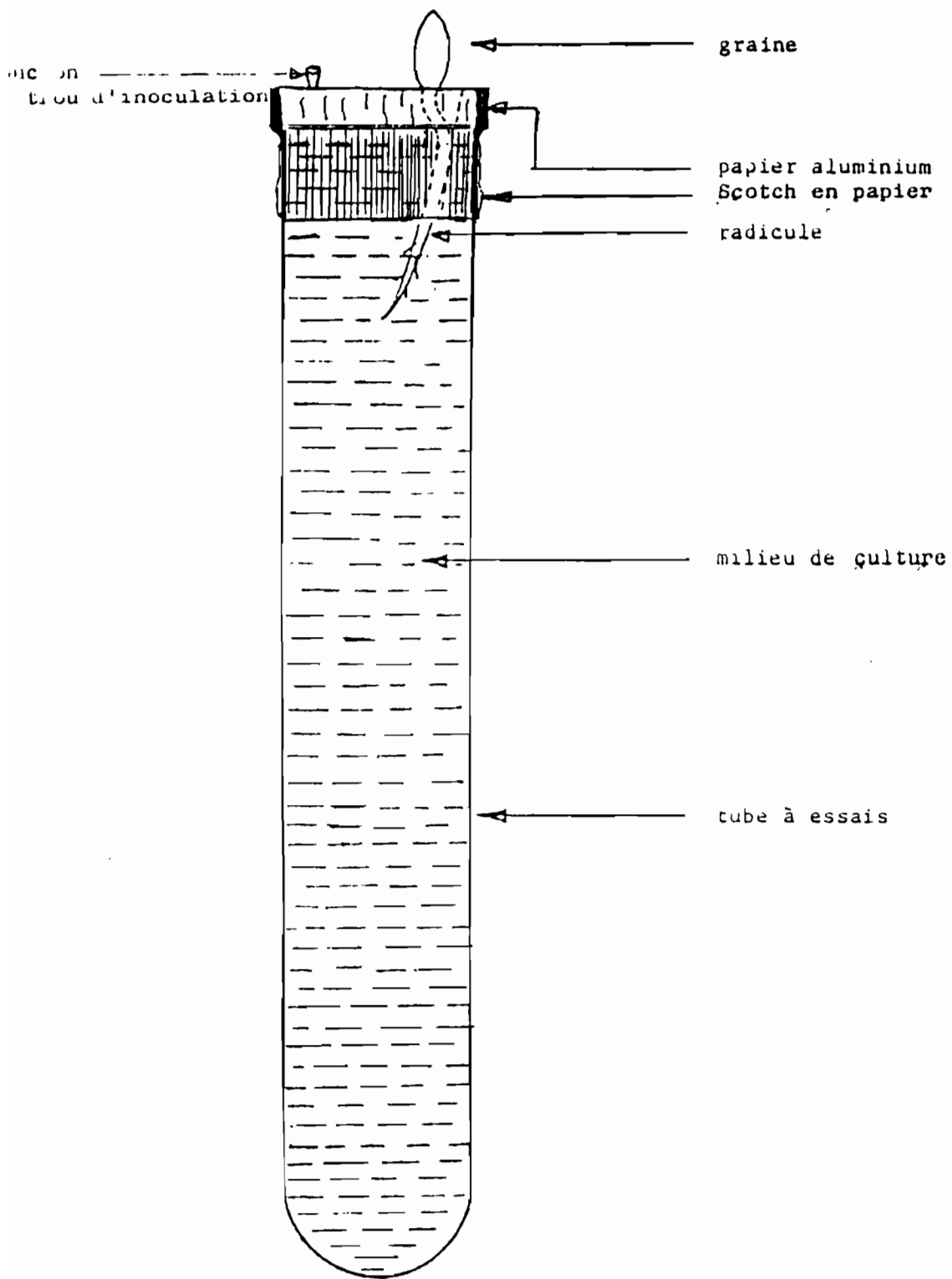


Figure 6 : Schéma représentatif du système pour le test de mycorhization

Tableau n° 5

Composition d u milieu nutritif, pour un litre d'eau distillée
Milieu nutritif de Melin-Norkrans modifié par Marx (1969).

Produits utilisés	Doses
Substrat azoté ((NH ₄) ₂ H PO ₄)	0,25 g
Substrats carbonés (Extrait de malt) (Glucose)	3,0 g 10,0 g
Substrats minérales (Mg SO ₄ 7H ₂ O) (KH ₂ PO ₄) (Nacl) (Cacl ₂)	0,15 g 0,50 g 0,025 g 0,05 g
Vitamines (Thiamine Hcl)	100 mg
Oligoéléments (Citrate ferrique à 1 %)	1,2 ml
Autres substrats (Gélose)	15,0 g

2.6.2.1. Obtention des semis

Les semis sont obtenus comme décrits au chapitre 2.3.1.

2.6.2.2. Obtention de l'inoculum ectomycorhizien

Nous avons testé l'aptitude de 2 souches ; Amanita rubescens et Thelephora terrestris. Dans une boîte de Pétri garnie du milieu PDA (Potato Dextrose Agar) est déposé un papier filtre stérile. Sur ce papier filtre est déposé un implant de mycélium de la souche à cultiver. Après colonisation du papier filtre par le mycélium il est découpé en petites tranches de quelques centimètres chaque tranche servira d'inoculum.

2.6.2.3. Inoculation

Le semis stérile est déposé sur un papier filtre stérile, étalé dans une boîte de Pétri en verre garnie de milieu Schemakhanova dont la composition par litre de solution est indiquée au tableau 6. La radicule du semis est couverte avec l'inoculum produit préalablement étant un papier filtre colonisé par le mycélium. Un second papier stérile est déposé sur la radicule couverte. La boîte de Pétri est fermée hermétiquement avec du Nescofilm ayant en son sein la jeune radicule stérile mise en sandwich entre 2 papiers filtre stériles et mis en présence de l'inoculum préalablement préparé. Le jeune plant et le champignon se développeront à l'intérieur de la boîte. S'il y a affinité, la symbiose aura lieu.

TABLEAU 6

Milieu Schemakhanova pour 1 litre de solution

MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,15 g
K ₂ CO ₃	0,25 g
(NH ₄) ₂ HPO ₄	0,125 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,125 g
Fe NH ₄ citrate	0,012 g
CaCl ₂	0,05 g
Agar	20 g
Eelts - Hoagland	1 ml

2.6.3. Synthèse en condition semi-axénique en gaine

2.6.3.1. Principe de la méthode

Cette méthode consiste à contrôler l'aptitude de Acacia mangium à former des ectomycorhizes avec une souche de champignon ectomycorhizien que l'on rencontre très souvent dans nos parcs et forêts, le Pisolithus senegalensis PS₃.

2.6.3.2. Matériels de culture

Nous avons utilisé des gaines de polyéthylène. Le substrat de culture se compose du sol des Bayottes stérilisé au Bromure de méthyl (Br CH₃) mélangé à des billes de polystyrène à la proportion 2/3 sol ; 1/3 bille en volume. Les gaines de polyéthylène remplies de ces substrats de culture constituent les milieux dans lesquels se développent les jeunes plants.

2.6.3.3. Obtention de l'inoculum ectomycorhizien

L'inoculum est préparé sur un mélange de Vermiculite et de tourbe (145 ml et 5 ml) selon la technique décrite par Marx (1928). Ce mélange est imprégné de milieu MNM (120 ml) dans des fioles d'Erlenmeyer de 250 ml et autoclavé deux fois à 120°C durant 20 mn à 24 heures d'intervalle. L'ensemencement du mélange par les différents champignons est effectué par l'apport d'une préculture obtenue sur milieu MNM gélosé et âgée de 3 semaines. Les fioles sont mises à incuber en chambre de culture à 25°C. L'inoculum est prêt à l'emploi lorsque le mycélium a colonisé le substrat. L'inoculum est lavé à l'eau stérile pour éliminer à la fois les sucres résiduels du milieu de culture qui risqueraient d'alimenter une flore compétitive et les composés phénoliques libérés par le champignon et qui sont inhibiteurs du développement racinaire et de la croissance mycélienne.

2.6.3.4. Inoculation

L'inoculation a lieu dans la sixième semaine de culture des plants. Les plants sont inoculés par un apport de 25 ml d'inoculum non tassé. En enlevant 10 cm de terre autour du plant, cet inoculum est apporté près des racines. Il est recouvert par la terre préalablement enlevée.

2.6.4. Synthèse en condition semi axénique : méthode "Pouch".

Cette technique dénommée, "technique des Pouchs" a été décrite, par Porter et al, (1966), Fortin et al (1980). Elle permet une obtention rapide de mycorhizes et offre la possibilité d'observer directement et facilement le système racinaire dans les sachets en plastique.

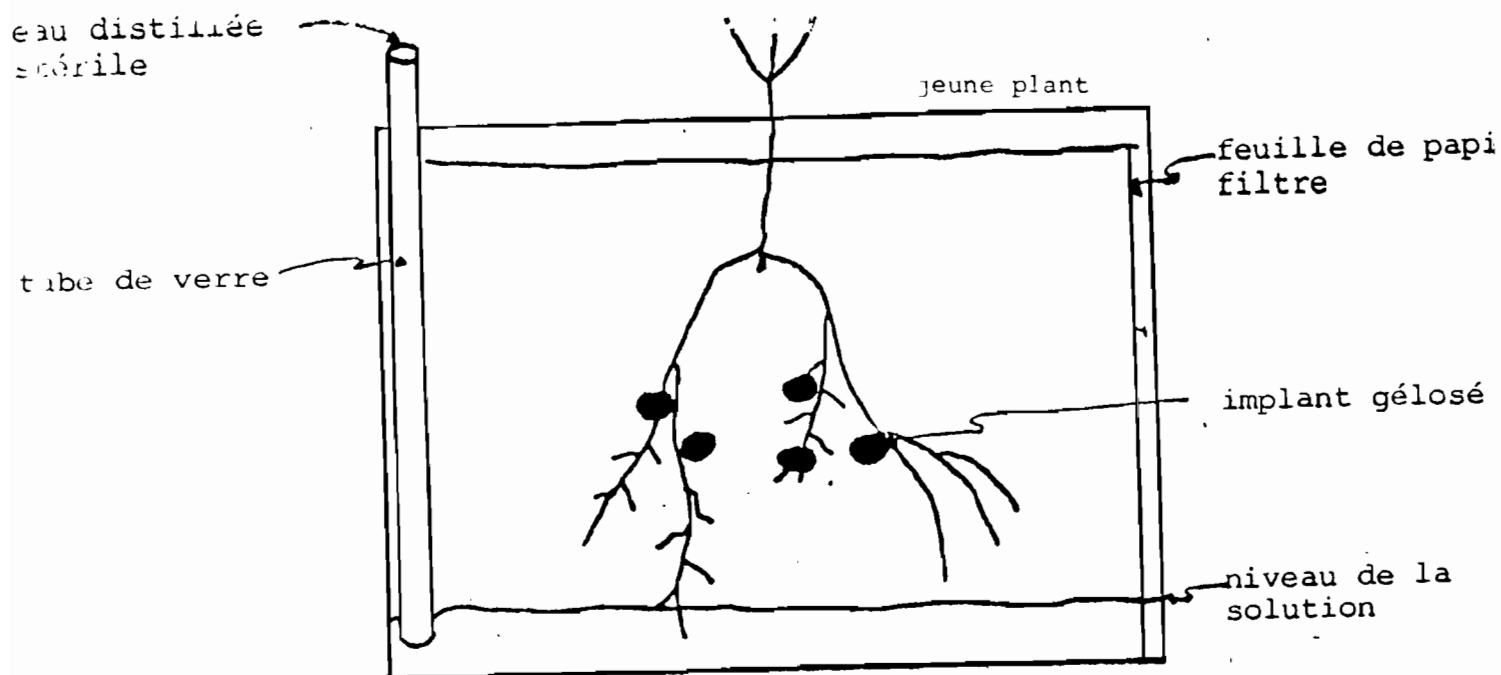


Fig. 7

Schéma de pouch

2.6.4.1. Culture des plants de Acacia mangium

Les graines sont préparées comme décrit au chapitre 2.3.1. et mises à germer dans du sol de Bel Air stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 1 heure contenu dans une cuvette en plastique de 40 cm de diamètre sur 25 cm de profondeur. L'arrosage a lieu chaque semaine avec de l'eau distillée stérile en quantité suffisante. La cuvette est recouverte d'une feuille de plastique transparente pour assurer une bonne humidité de l'atmosphère au dessus des semis.

Elle est placée alors dans une chambre de culture (28°C, éclairage 4000 lux). Au bout de 20 Jours de jeunes plants "stériles" sont enlevés avec le système racinaire débarrassé de la terre.

2.6.4.2. Inoculation

L'inoculation de Acacia mangium a été effectuée avec 2 souches de champignons ectomycorhiziens Thelephora terrestris, 5 sachets Amanita rubescens 5 sachets sous la hotte à flux laminaire. Dans un sachet en plastique est introduit un papier filtre stérile imbibé de milieu MNM stérile. Le système racinaire du jeune plant est introduit dans le sachet et appliqué contre le papier filtre. Des implants sont prélevés d'une préculture mycélienne sur MNM gélosé et appliqués contre les racines du jeune plant. La partie aérienne du plant était situé au dessus du sachet en plastique. Un tube en verre préalablement stérilisé est introduit dans l'angle du sachet permettant ainsi un arrosage régulier du jeune plant. Le bord supérieur du sachet est fermé avec du papier adhésif (fig. 7).

2.7. Essai de mycorhization de Acacia mangium (endomycorhizes)

2.7.1. Synthèse en condition semi-axénique en gaine

2.7.1.1. Principe de la méthode

Cette méthode consiste à vérifier l'aptitude de Acacia mangium à former des endomycorhizes avec Glomus mosseae.

2.7.1.2. Matériel de culture

Nous avons utilisé des gaines de polyéthylène remplies d'un substrat de culture composé du sol des Bayottes stérile mélangé à des billes de polystyrène à la proportion 1/3 bille ; 2/3 sol.

Sur le substrat de culture sont repiqués les semis de A. mangium préalablement préparés comme décrit au chapitre 2.3.1.

2.7.1.3. Obtention de l'inoculum et inoculation

Les plantules ont été inoculées avec un échantillon de 1 g (poids frais) de racines de Vigna unguiculata soigneusement lavées et inoculées trois mois auparavant avec G. mosseae. Avant l'inoculation qui consiste à appliquer cet échantillon contre les racines des plantules, on vérifie la pureté de l'inoculum en examinant les spores formées sous microscope.

Si elles sont toutes semblables à celles de Glomus mosseae, l'inoculum peut être considéré comme pur en ce qui concerne le champignon endomycorhizien.

2.7.2. Synthèse en condition non axénique (piègeage)

2.7.2.1. Principe de la méthode

Elle consiste à piéger dans le système racinaire de A. mangium des endomycorhizes formées par A. mangium et des souches de champignons endomycorhiziens indigènes présents dans les sols utilisés.

2.7.2.2. Matériel de culture

Nous avons utilisé des gaines de polyéthylène remplies de 2 sortes de substrats de culture. Le premier se compose du sol de Bel Air non stérile mélangé à des billes de polystyrène à la proportion 1/3 : 2/3 sol. Le second substrat se compose du sol des Bayottes non stérile mélangé à des billes à la même proportion. Les semis sont repiqués dans ce substrat et des plants se développeront en pépinière..

2.8. Entretien des plants

Pour les plants élevés en tube de Gibson pour les tests de nodulation, de l'eau distillée stérile est apportée périodiquement de façon à tremper toute la racine de la plante.

Les plants élevés en tube pour les tests d'ectomycorhization ne sont pas arrosés.

Les plants élevés en pépinière pour le piègeage et les tests de nodulation sont arrosés journalièrement avec de l'eau de robinet et toutes les 2 semaines reçoivent une solution de Hewett (1966) (Tableau n° 8) diluée de moitié sans N et sans P pendant les 2 premiers mois. La composition de l'eau d'arrosage figure au tableau n° 7.

Pour avoir une bonne croissance des plants en pépinière, la croûte superficielle est souvent cassée pour assurer une aération du sol. Il est utile de procéder régulièrement à un désherbage manuel en vue d'empêcher la croissance et la concurrence des mauvaises herbes.

TABLEAU 7. COMPOSITION DE L'EAU D'ARROSAGE.
(CONCENTRATIONS MAXIMALES)

P	0,07 ppm
NO_3^-	traces
NH_4^+	0
Matière organique	3,2 ppm
Résidu sec	764 ppm
pH	6,6

Source : Cornet, 1981.

TABLEAU N° 8

SOLUTION NUTRITIVE DE HEWITT (1966)

	Solution stock g/l	Doses ml/l
$(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$	132,0	4
$\text{Na}_2 \text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	119,5	4
$\text{K}_2 \text{SO}_4$	87,0	4
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	92,0	4
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	147,0	4
Fe EDTA	2,5	4
(Sigma Chemical Company)		
$\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	2,230)	
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,250)	
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,29)	
$\text{H}_3 \text{BO}_3$	3,100)	1
NaCl	5,850)	
$\text{Na}_2 \text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,121)	

2.9. Critères utilisés pour la mise en évidence et l'appréciation des infections et l'effet symbiote sur les plantes

2.9.1. Mise en évidence et estimation des infections

2.9.1.1. Infection rhizobienne

Aussi bien au laboratoire en tube qu'en pépinière en gaine, l'infection rhizobienne est mise en évidence par la formation de nodules. On estime cette infection par le nombre de nodules et leur poids frais et sec par plant, après 72 heures à 60°C.

2.9.1.2. Infection endomycorhizienne

Un échantillon représentatif de chaque système racinaire en gaine est prélevé et éclairci pendant une heure dans KOH à 10 % à 90°C. Après rinçage à l'eau acidifiée, les racines sont colorées au bleu de trypan au lactophenol à 0,05 % pendant 3 mn à 90°C (Philipps et Haymann, 1970).

Les racines sont ensuite rincées à l'eau. On observe au microscope photonique pour vérifier la présence de vésicules et arbuscules. Pour l'appréciation de l'infection, une vingtaine de segments de 2 cm de longueur environ a été divisée sur un morceau de papier flitre imprégné de lactophénol dilué à 1/10. Chaque segment a été examiné sous le microscope et on note pour chacun :

- la présence ou l'absence d'infection
- le pourcentage du volume du cortex infecté exprimé par quart 0, 25, 50, 75, 100 %.

La fréquence d'infection est obtenue en calculant le rapport :
$$\frac{\text{Nombre de segments infectés}}{\text{Nombre de segments examinés}}$$

L'intensité d'infection est la moyenne des pourcentages de volume de cortex infecté (Cornet, 1981).

2.9.1.3. L'infection ectomycorhizienne

Le système racinaire est lavé à l'eau courante sans blesser les racines. Une première observation est faite à l'oeil nu pour vérifier l'existence d'un manteau fongique périracinaire. L'infection est surtout mise en évidence par la présence de ce manteau fongique et l'existence du réseau de Hartig que l'on obtient par une coupe de racine courte infectée.

Ces racines courtes sont prélevées et mises dans des boîtes de Pétri. Ensuite elles sont fixées au F.A.A. (Formiline Acide Acétique Alcool à 50 %). La coupe est effectuée à main levée. Les racines sont coupées transversalement. Celles-ci ont été éclaircies pendant 10 mn à l'eau de javel. Les coupes sont rincées à l'eau de robinet. La coloration est faite au rouge congo. Les coupes sont montées entre lame et lamelle pour la mise en évidence du manteau fongique et du réseau de Hartig typiques de l'ectomycorhize. L'estimation de l'infection n'a pas été effectuée.

2.9.2. Estimation de l'effet symbiote sur les plantes

Pour apprécier l'effet symbiote sur les plantes, nous avons retenu comme paramètre la hauteur et le diamètre au collet des plants ; nous avons ensuite évalué le poids frais des feuilles, des tiges, des racines et des nodules.

Pour évaluer le poids de matière sèche, les échantillons sont mis à l'étuve pendant 72 heures à 60°C. Ils ont été pesés ensuite broyés en vue des dosages en N et P.

2.9.3. Teneur en phosphore des parties aériennes

Après le broyage des parties aériennes, 50 mg de matière sèche sont prélevés et attaqués avec 3 ml de HNO_3 concentré à chaud, pendant 2 h 30 mn. Un entonnoir bouché par une bille de verre est placé à l'ouverture d'un matras afin de limiter l'évaporation. L'échantillon est éclairci avec 0,5 ml de HClO_4 concentré. L'extrait est ensuite évaporé à sec. Le culot est repris avec 3 ml de HNO_3 concentré et ramené à 25 ml, avec de l'eau permutée. Le phosphore est dosé colorimétriquement dans cette solution après complexation avec un mélange équimoléculaire de métavanadate et de molybdate d'ammonium :

- Métavanadate d'ammonium

- . VO_3NH_4 2,5 g
 - . eau bouillante 500 ml
 - . après dissolution, laisser refroidir, ajouter à 1 l.
- Conserver en chambre froide à l'obscurité.

- Molybdate d'ammonium

- . $\text{M}_7\text{O}_{24}(\text{NH}_4)_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 50 g
 - . eau à 50°C
 - . après dissolution, filtrer si nécessaire et ajouter à 1 l.
- Conserver en chambre froide à l'obscurité.

(Jackson, 1985).

5 ml du mélange sont prélevés auxquels on ajoute 10 ml d'extrait. La coloration se développe pendant 30 mn à la température ambiante puis la densité optique est mesurée au spectrophotomètre Zein PMQII à $\lambda = 470$ nm. Trois répétitions sont effectuées par traitement.

La gamme étalon est obtenue par dilution d'une solution de KH_2PO_4 titrée à 100 ppm de P. La concentration en P des extraits a été déterminée graphiquement par lecture sur la droite d'étalonnage. Une règle de 3 permet ensuite de calculer la concentration en P des parties aériennes, exprimée en % du poids sec. La teneur totale en P a été obtenue en multipliant le poids sec des parties aériennes de chaque plante par la concentration moyenne du traitement correspondant.

2.9.4. Estimation de la teneur en azote des parties de la plante

L'azote dans les parties aériennes des plantes est dosé par la technique micro-Kjeldahl : 50 mg de matière sèche broyée sont attaqués à chaud avec 1,5 ml de H_2SO_4 concentré. Lorsque l'émission des épaisses vapeurs blanches a cessé, l'extrait est éclairci avec 5 gouttes de H_2O_2 et est remis, à chauffeuse jusqu'à disparition des vapeurs blanches qui se sont reformées. Après refroidissement l'extrait neutralisé par 5 ml de NaOH 10N, a été distillé dans un appareil de PARNAS - WAGNER (voir annexe 5). L'ammoniaque formé a été titré par HCl N : 70 dispensé par une microburette METHROM de 10 ml.

Le virage de la solution est indiquée par le relatif de TASHIRO (bleu de méthylène à 0,70 % dans l'alcool à 95 % : 1 volume ; rouge de méthylène à 0,15 % dans l'alcool à 95 % : 5 volumes). La coloration provoquée par le réactif est verte en milieu alcalin..

La masse atomique de N étant 14 à 1 ml de HCl N/70 correspondent $\frac{14}{70}$ 0,2 mg de N, soit une concentration en N de 1 % (Rinaudo, 1970).

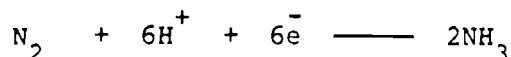
Un calcul simple permet de déterminer la teneur en azote des parties de la plante si V ml de HCl n/70 sont nécessaires pour doser l'azote de 50 mg de poudre végétale, la teneur en azote est calculée comme suit :

$$\begin{aligned} \text{N \%} &= 0,2 \times V \times \frac{100}{P} \\ V &= \text{volume HCl} \\ P &= \text{poids de l'échantillon (en mg)} \\ \text{N \%} &= 0,2 \times V \times 2 = 0,4 \times V \end{aligned}$$

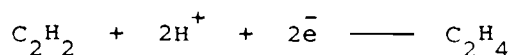
2.9.5. Estimation de la fixation d'azote par la méthode de réduction de l'acétylène en éthylène

2.9.5.1. Principe

La nitrogenase réduit la triple liaison de la molécule d'azote en ammoniac.



La nitrogenase est également capable de transférer les électrons à de nombreux autres composés, notamment l'acétylène qui est réduit en éthylène.



La méthode de réduction de l'acétylène consiste à incuber le système fixateur étudié dans un flacon étanche en présence de 10 % d'acétylène, et à mesurer l'éthylène produit par chromatographie en phase gazeuse.

Ce test est d'une très grande sensibilité (environ 1000 fois plus grande que la détection de ^{15}N).

La réduction d'une molécule d'azote nécessite 6 électrons, alors que la réduction d'une molécule d'acétylène n'en nécessite que 2 ; le rapport molaire théorique N_2 réduit/ C_2H_4 formé est donc de 3.

2.9.5.2. Incubation sous acétylène

L'activité nitrogenase des nodules est mesurée par la méthode de la réduction de l'acétylène en éthylène.

Le système racinaire est enfermé de façon étanche dans un flacon sérum. On y introduit environ 11 % d'acétylène en supression puis on rétablit la pression atmosphérique dans le flacon et on incube à 30°C. Le prélèvement de gaz est effectué 30 mn exactement après l'injection d'acétylène à l'aide d'un tube vacutainer dans lequel on a réalisé au préalable le vide et que l'on relie au flacon sérum à l'aide d'une aiguille double vacutainer.

Remarque

1.- L'activité fixatrice étant susceptible de variation importante au cours de la journée, les mesures sont effectuées à la même heure (10 h).
Le chromatographe que nous avons utilisé est un "varian aérograph", série 1400, équipé d'un détecteur d'ionisation de flamme et muni d'une colonne en acier

inoxydable de 150 x 0,3 cm rempli de 10 % Na₃ PO₄ sur sphérosil x 013 075, 80 - 100 mesh (Pechiney Saint Gobain).

Les gaz apparaissent au niveau du détecteur dans l'ordre suivant : méthane, éthylène, propane et acétylène. Les débits et températures sont ajustés de manière à obtenir une séparation correcte des constituants du mélange gazeux injecté, avec un temps de rétention minimal :

Températures : injecteur : 40°C
Four-colonne 50°C ou 70°C
Détecteur : 150°C

Débits : Azote : 40 ml/mn
Hydrogène : 30 Ml/mn
Air : 360 ml/mn.

Dans ces conditions les pics d'éthylène et d'acétylène apparaissent après 40 et 50 secondes après l'injection.

2.9.5.3. Méthode de calcul

La transformation des hauteurs de pics d'éthylène en n moles C₂H₄ se fait par référence à un étalon. Une dilution étalon d'éthylène est préparée par introduction de 1,8 ml d'éthylène dans un flacon serum de 18 ml (dilution 10⁻³) la concentration de cette dilution étalon est de $\frac{10^6}{22400}$ n moles C₂H₄/ml. L'injection au chromatographe de 0,5 ml de cette dilution donne un pic de hauteur :

$$h \times A_{cm} \quad (A = \text{facteur d'atténuation}).$$

Supposons que l'injection de 0,5 Ml d'un mélange gazeux de volume V ml renfermant X moles C₂H₄ donne un pic de 1 cm. Les hauteurs de pic étant proportionnelles aux quantités injectées, on peut écrire :

$$\frac{x}{V} : \frac{10^6}{22400} = \frac{1}{h \times A} \quad \text{soit} \quad X \times \frac{44.64}{A} \times \frac{XV}{h}$$

Dans le cas présent, le facteur d'atténuation A est 256 l'égalité précédente devient :

$$X = 0,174 \frac{V}{h}$$

La conversion des pics d'éthylène en n moles C₂H₄, s'obtient donc en multipliant leur hauteur (en cm) par cette valeur X.

$$h = 12,7$$

$$V = 18$$

$X = 0,174 \frac{18}{12,7} = 0,246$

2.10. Etude statistique

Nous avons fait une étude statistique des résultats obtenus. Toutes les expériences effectuées en gaine sont disposées en bloc. Nous avons de la sorte établi, avec un programme à l'ordinateur :

- l'histogramme des résidus
- les coefficients de K. PEARSON pour la normalité
- le test de TUKEY pour les interactions bloc-traitement
- le test de GRUBBS pour les résidus suspects
- le tableau des moyennes
- l'analyse de variances pour les risques d'erreur.
- la puissance de l'essai
- le test de NEWMANN - KEULS Pour le degré de signification au seuil de 5 %
- la matrice de corrélation entre les variables analysées.

Pour faciliter les interprétations et la compréhension nous n'avons souvent fait apparaître dans les résultats que le test Newmann - Keuls au seuil de 5 % et la matrice de corrélation entre les variables analysées.

RESULTATS - DISCUSSIONS

3.- RESULTATS ET DISCUSSIONS

Beaucoup de travaux ont porté sur l'étude des systèmes symbiotiques mais peu sur les légumineuses arborescentes jusqu'à une date relativement récente. Il n'y a pas d'études connues portant sur les symbioses Acacia mangium microorganismes symbiotiques.

Nous avons étudié successivement les symbioses Rhizobium - Acacia mangium ; champignon ectomycorhizien - Acacia mangium et enfin champignon endomycorhizien - Acacia mangium.

Au préalable l'étude a porté sur la meilleure durée de prétraitement des graines de Acacia mangium et le meilleur sol pour son développement.

Nous avons obtenu des isolats de Rhizobium et de Bradyrhizobium efficaces pour Acacia mangium et vérifier son aptitude à former des ectomycorhizes et des endomycorhizes avec des champignons mycorhiziens. Nous avons enfin évalué le bénéfice que peut retirer la plante-hôte de l'inoculation avec Rhizobium, avec Bradyrhizobium, avec un champignon ectomycorhizien et avec un champignon endomycorhizien. Cette dernière partie n'étant pas terminée, quelques résultats seulement seront présentés.

3.1. Prétraitement et germination de Acacia mangium

Afin de connaître la meilleure durée de prétraitement de A. mangium pour une levée rapide et homogène, 5 lots de 25 graines ont été attaqués à l'acide sulfurique concentré (H_2SO_4) pendant différentes durées 30 mn, 45 mn et 50 mn. Le nombre de graines germées a été compté au bout de 36 heures.

3.1.1. Etude statistique

L'étude statistique présente les caractéristiques suivantes :

- Nombre d'observations 15 (3 traitements x 5 observations)

- Nombre de variables 3

Variable 1 Traitement H_2SO_4

Variable 2 Bloc

Variable 3 Nombre de germinations

- Dispositif de l'essai - bloc avec 2 facteurs

Facteur 1 3 traitements. (30', 45', 50')

Facteur 2 5 blocs $B_1 ; B_2 ; B_3 ; B_4 ; B_5$.

- Variable à analyser : Nombre de graines germées

- Liste des observations analysées.

Nombre observation	Traitement	Bloc	Nombre de graines germées
01	30'	B ₁	12
02	"	B ₂	13
03	"	B ₃	8
04	"	B ₄	9
05	"	B ₅	15
06	45'	B ₁	15
07	"	B ₂	14
08	"	B ₃	16
09	"	B ₄	10
10	"	B ₅	15
11	50'	B ₁	18
12	"	B ₂	19
13	"	B ₃	22
14	"	B ₄	17
15	"	B ₅	16

Indices de normalité (coefficient de K Pearson)

- Symétrie 0,32 Valeur idéale 0

- Aplatissement 0,10 Valeur idéale 3

Pas de résidus suspects (Méthode GRUBBS);

* Analyse de variance

	S.C.E.	D.D.L.	C.M.	Test F.	Prob.	E.T.	C.V.
Var. totale	201,60	14	14,40				
Var. traitement	125,20	2	62,60	9,86	0,0072		
Var. bloc	25,60	4	6,40	1,01	0,4582		
Var. résiduelle	50,80	8	6,35			2,52	17,3 %

Nous remarquons que le C.V. est satisfaisant 17,3 %. La probabilité de la Var. traitement est presque nulle 0,0072. Par contre il y a un léger effet bloc 0,4582.

Le test de Newmann-Keuls est effectué. Deux groupes qui ont la même lettre ne sont pas différents au seuil de 5 %. Si les lettres différent, il y a une différence significative.

Tests de Newman - Keuls

Seuil à 5 %

Traitement	Moyenne	Groupe homogène
30'	11,40	A
45'	14,00	A
50'	18,40	B

Il n'y a pas de différence significative, au seuil de 5 % entre le traitement de 30 mn et celui de 45 mn. Celui de 50 mn est par contre différent significativement des deux autres. Pour la suite des expériences toutes nos graines sont traitées pendant 50 mn et trempées 4 heures de temps dans de l'eau stérile. Nous avons constaté une plus grande homogénéité des plants.

3.2. Résultats du comportement de *Acacia mangium* sur le sol de Bel Air et sur le sol des Bayottes

Afin de connaître le meilleur substrat de développement de *Acacia mangium* pour la suite des expériences, nous avons utilisé le sol de Bel Air déficient en N et le sol des Bayottes déficient en P où nous avons semé des graines de *A. mangium*.

Ces sols ne sont pas stérilisés pour se rapprocher ^{au} maximum des conditions de terrain. En dehors de l'effet pH, il y aura surtout l'intervention des souches de microorganismes présents dans le sol.

Nous avons mesuré la croissance en hauteur, les poids frais des feuilles, tiges, racines et nodules. Les échantillons sont séchés et broyés pour mesurer les poids de matière sèche. Nous avons ensuite estimé la teneur en N et P des parties aériennes.

3.2.1. La croissance en hauteur

Après 16 semaines en pépinière, dix plants dans chacun des dix blocs sont mesurés. L'analyse statistique a donné les résultats suivants :

<u>Nombre d'observations</u>	20	(10 observations	x	2	sols)
<u>Variables</u>	3	1 sol	2 blocs	3	hauteur
<u>Dispositif de l'essai</u>	:	bloc			
<u>Facteur 1</u>		2 types de sol			
		Bel Air (BA)		Bayottes (BY)	
<u>Facteur 2</u>		10 blocs			
		B ₁ ; B ₂ ; B ₃ ; B ₄ ; B ₅ ; B ₆ ; B ₇ ; B ₈ ; B ₉ ; B ₁₀ .			
<u>Variable à analyser</u>		1 variable = hauteur en cm.			

Liste des observations analysées

Observation	Type de sol	Bloc	Hauteur en cm
01	BA	B ₁	20.00
02	BA	B ₂	26
03	BA	B ₃	19
04	BA	B ₄	23
05	BA	B ₅	21
06	BA	B ₆	3
07	BA	B ₇	5
08	BA	B ₈	7
09	BA	B ₉	8
10	BA	B ₁₀	8
11	BY	B ₁	34
12	BY	B ₂	34
13	BY	B ₃	41
14	BY	B ₄	32
15	BY	B ₅	36
16	BY	B ₆	24
17	BY	B ₇	29
18	BY	B ₈	20
19	BY	B ₉	24
20	BY	B ₁₀	23

Indices de normalité (coefficient de K. PEARSON)

Symétrie = 0,00 Valeur idéale = 0,00
 Aplatissement = 1,89 Valeur idéale = 3

Pas de résidus suspects (Méthode GRUBBS)

Tableau des écarts types

Types de sol : BA = 2,73 BY = 2,73
 Blocs : B₁ ; B₂ ; B₃ ; B₄ ; B₅ ; B₆ ; B₇ ; B₈ ; B₉ ; B₁₀.
 2,44 ; 5,27;4,63;4,91;0,32;3,92;6,05;1,73;0,39;0,32.

Interactions traitements blocs (Test de TUKEY)

20,20 Probabilité = 0,27

Analyse de variance

	SCE	DDL	CM	Test F	PROBA	E.T.	C.V.
Var. totale	2302,24	19	121,17				
Var. type sol	1193,51	1	1193,51	79,80	0,0000		
Var. blocs	974,11	9	108,23	7,24	0,0039		
Var résiduelle	134,61	9	14,96			3,87	17,6 %

Nous constatons que l'effet sol est très marqué. Probabilité 0,0000. Il y a un effet bloc léger 0,0039.

Le coefficient de variation est satisfaisant 17,6 %.

TABLEAU 10

Hauteur des plants cultivés dans les 2 types de sol

Test de Newmann - Keuls - Seuil 5 %

Types de sol	Moyennes	Groupes homogènes
BA	14,25	A
BY	29,70	B

Nous remarquons une différence nettement significative au seuil de 5 %. Bel Air a un plant moyen de 14,25 cm et Bayottes un plant moyen de 29,70 cm.

Pour la croissance en hauteur, il y a une plus grande homogénéité chez les plants cultivés sur Bayottes et la croissance est nettement meilleure sur ce sol acide (fig.8)

Nos résultats sont en accord avec les observations de terrain. En effet Acacia mangium se développe bien dans les sols acides. Au Queensland les arbres sont trouvés généralement dans les lithosols et rarement dans les sols ayant une roche mère basique. En Indonésie les arbres se situent dans les sols rouges podzoliques avec un substrat calcaire. Au Sabah, ils sont plantés dans les lithosols et vertisols ayant un pH inférieur à 4,5. (National Research Council, 1983). Ces résultats obtenus sur de jeunes plants sont

cependant à confirmer pour les stades plus avancés et vérifier si les taux de phosphore parfois trop bas dans les sols acides de Casamance (annexe 4) ne bloqueront pas le développement rapide de l'espèce.

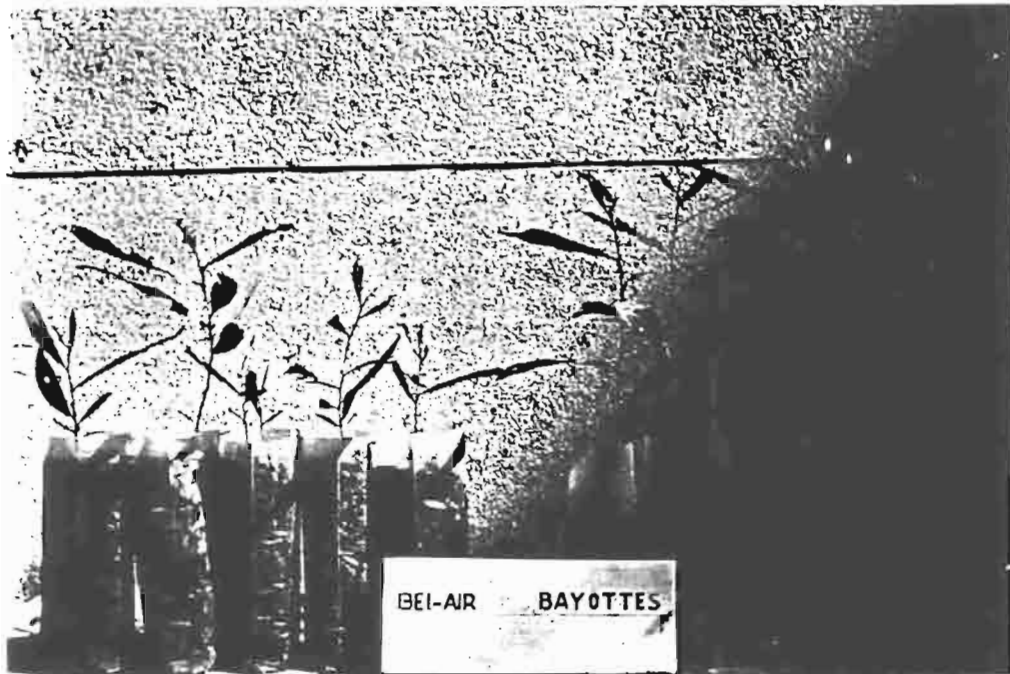


Figure 8

Plants issus de l'élevage en pépinière dans le sol de Bel Air et dans du sol acide de Casamance (Bayottes) non stérile

NB. On remarque une nette différence de la croissance en hauteur et de l'état végétatif des plantes élevées sur le sol acide.

Poids frais et poids sec des feuilles, tiges, racines, nodules des plants élevés sur les deux types de sol

Afin de compléter les paramètres pouvant nous édifier d'avantage sur la différence du comportement de Acacia mangium sur les types de sol, ces mesures sont effectuées.

L'analyse statistique a donné les résultats suivants :

Nombre d'observations 20

Nombre de variables 11

Var 1 : sol
Var 2 : bloc
Var 3 : poids frais des feuilles
Var 4 : " " " tiges
Var 5 : " " " nodules
Var 6 : nombre de nodules
Var 7 : poids frais des racines
Var 8 : poids sec des feuilles
Var 9 : " " " tiges
Var 10 : " " " nodules
Var 11 : " " " racines

Dispositif de l'essai : bloc

Facteur 1 2 types de sol 1 = Bel Air 2 = Bayottes
(BA) (BY)

Facteur 2 10 blocs

$B_1 ; B_2 ; B_3 ; B_4 ; B_5 ; B_6 ; B_7 ; B_8 ; B_9 ; B_{10}$.

Variabes à analyser : 9

Var 1 : PFF (Poids frais des feuilles) en grammes
Var 2 : PFT (Poids frais des tiges) "
Var 3 : PFN (Poids frais des nodules) "
Var 4 : NBN (Nombre de nodules)
Var 5 : PFR (Poids frais des racines) en grammes
Var 6 : PSF (Poids sec des feuilles) "
Var 7 : PST (Poids sec des tiges) "
Var 8 : PSN (Poids sec des nodules) "
Var 9 : PSR (Poids sec des racines) "

TABLEAU 11

Poids frais et sec des différentes parties des plants de
Acacia mangium cultivés sur les
2 types de sol

	PFF	PFT	PFN	NBN	PFR	PSF	PST	PSN	PSR
Bel Air	2,24 a	0,48 a		0,30 a		0,55 a	0,18 a		
Bayottes	4,81 b	1,60 b		8,70 b		1,10 b	0,53 b		

Chaque valeur est la moyenne de 10 répétitions.

Dans chaque colonne les valeurs suivies de deux lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 5 % d'après le test de Newmann - Keuls

PFF = Poids frais feuilles

PSF = Poids sec feuilles

PFT = Poids frais tiges

PST = Poids sec tiges

PFN = Poids frais nodules

PNS = Poids sec nodules

NBN = Nombre de nodules

PSR = Poids sec racines

PFR = Poids frais racines

TABLEAU 12

Matrice de corrélation entre les différentes
variables étudiées

	Sol	Bloc	PFF	PFT	PFN	NBN	PFR	PSF	PST	PSN	PSR
Sol	1										
Bloc	0	1									
PFF	0,544	0,513	1								
PFT	0,692	0,400	0,825	1							
PFN	0,275	0,325	0,199	0,488	1						
NBN	0,627	0,341	0,588	0,733	0,764	1					
PFR	0,074	0,501	0,714	0,550	0,096	0,204	1				
PSF	0,501	- 0,542	0,994	0,843	0,203	0,569	0,760	1			
PST	0,652	- 0,451	0,848	0,992	0,477	0,730	0,606	0,870	1		
PSN	0,127	- 0,495	0,600	0,328	0,335	0,529	0,367	0,566	0,344	1	
PSR	0,093	- 0,458	0,736	0,599	0,143	0,270	0,949	0,780	0,647	0,402	1

TABLEAU 13

Teneur en N des plants de A. mangium cultivés sur
les deux types de sol non stériles (mg/plt)

Types de sol	Feuilles		Tiges		Partie aérienne
	N %	TN	N %	TN	TN
Bel Air	1,977 a	1,089 a	1,063 a	0,193 a	1,282 a
Bayottes	2,710 b	2,975 b	1,117 b	0,597 b	3,572 b

1. N % = pourcentage de N = concentration en azote
2. TN = teneur totale de N dans la partie de la plante
3. Chaque valeur est la moyenne de trois répétitions
4. Dans chaque volume les valeurs suivies de deux lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 5 % d'après le Test de Newmann Keuls.

TABLEAU 14

Teneur en P des plants de Acacia mangium cultivés
sur les deux types de sol non stériles (mg/plt)

Types de sol	Feuilles		Tiges		Partie aérienne
	P %	TP	P %	TP	TP
Bel Air	1,09 a	0,6 a	1,66 a	0,3 a	0,9 a
Bayottes	0,91 a	1,00 b	1,132a	0,6 b	1,6 b

- P % = pourcentage de P = concentration en phosphore
 TP = teneur totale de P dans la partie de la plante
 Chaque valeur est la moyenne de trois répétitions
 Dans chaque colonne les valeurs suivies de deux lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 5 % d'après le test de Newmann Keuls.

Nous nous apercevons que pour tous les paramètres étudiés, il y a une différence significative au seuil de 5 %. Acacia mangium se comporte mieux sur le sol des Bayottes issu d'une station de pH 3,8 et ceci est en accord avec les observations de terrain (National Research Council, 1983).

3.3. Rhizobium et Bradyrhizobium

3.3.1. Isolement et sélection après piègeage

Le piègeage consiste comme son nom l'indique à piéger dans les sols utilisés (Bel Air et Bayottes) différentes souches de Rhizobium sp par la formation de nodules au niveau des racines. Des plants élevés sur du sol acide de Casamance, en gaine de polyéthylène sont choisis en fonction de leur meilleur état végétatif par rapport aux autres plants du même lot. Ils sont débarrassés de leur terre au niveau des racines. Les bactéries piégées au niveau des nodules formés sur ces racines sont isolées. Nous avons pu ainsi isoler 4 souches de Rhizobium et 5 de Bradyrhizobium.

Parmi ces souches de Bradyrhizobium nous en avons retenu 3 : Bay 1, Bay 2 et Bay 3 pour nos expériences. Pour ces résultats ci, nous avons présenté seulement ceux obtenus avec la souche de Bradyrhizobium Bay 1 inoculée en tube. Les autres souches sont utilisées dans des expériences en cours. Une souche de Rhizobium est isolée à partir d'Acacia bivenosa sur sol de Bel Air. Elle a été utilisée en tube.

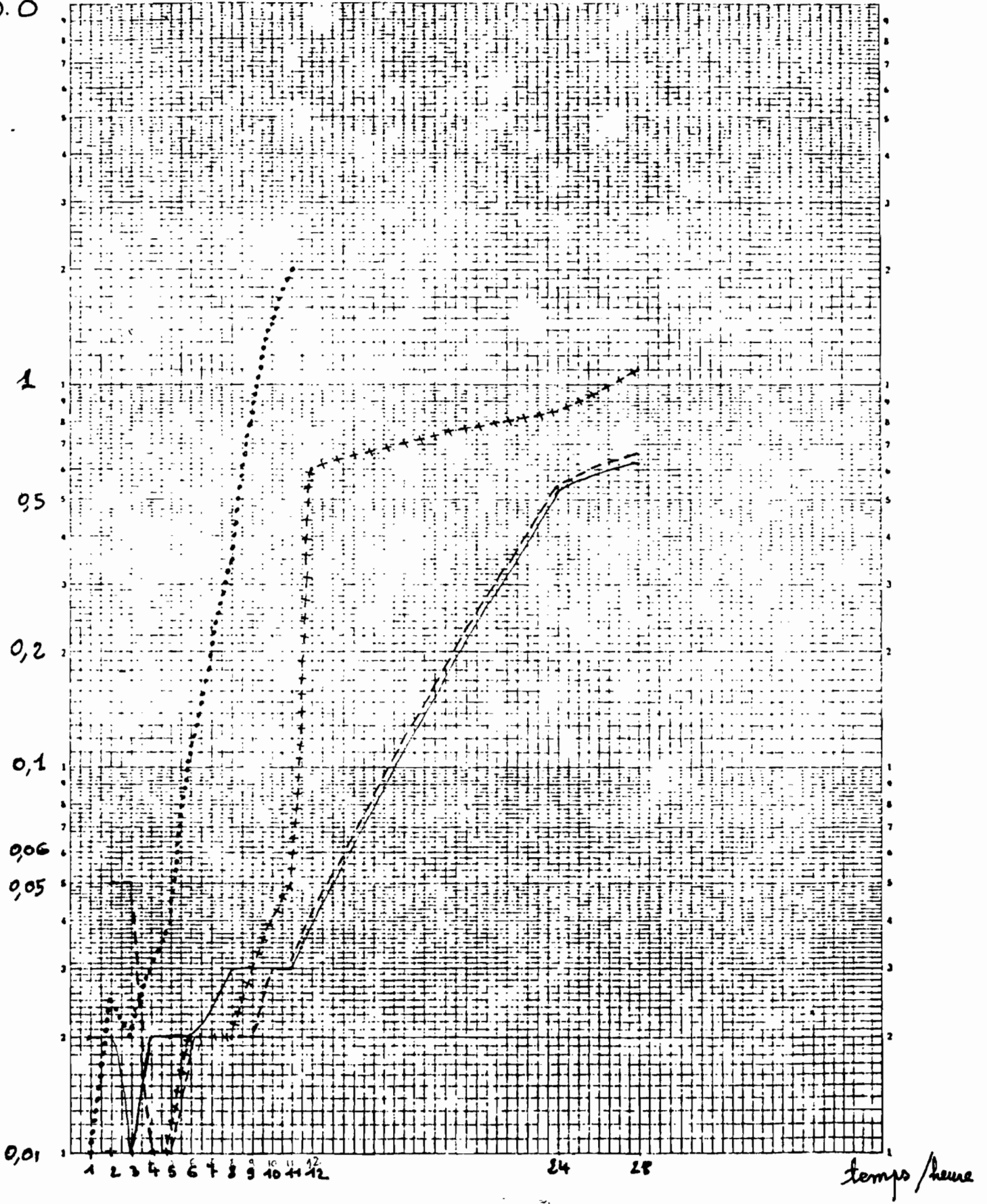
Sur le sol de Bel Air, seuls 2 plants sur 40 ont développé des nodules qui se sont en outre relevé non fixateurs. Seulement après 6 mois en gaine, de très gros nodules sont récoltés dans ce type de sol.

3.3.2. Morphologie des colonies formées par différentes souches courbe de croissance

Cultivées sur milieu YEM gélosé, les souches de Rhizobium et de Bradyrhizobium sont différentes morphologiquement. Les souches de Rhizobium forment des colonies muqueuses, de couleur crème, comme celle isolée sur Acacia bivenosa. Les souches de Bradyrhizobium forment de très petites colonies translucides et ponctiformes, qui dans certains cas n'apparaissent qu'après 7 à 8 jours. Nous avons suivi la croissance in vitro de quelques souches par mesure de la densité optique à 600 nm qui est portée sur la figure 9. Pour les souches de Rhizobium le développement se remarque dès la 2^e heure, alors que pour les souches de Bradyrhizobium la croissance n'est perceptible qu'au bout de la 10^e heure

Nous remarquons que les souches Bay₁, Bay₂, Bay₃ ont un développement très lent caractéristique des Bradyrhizobium.

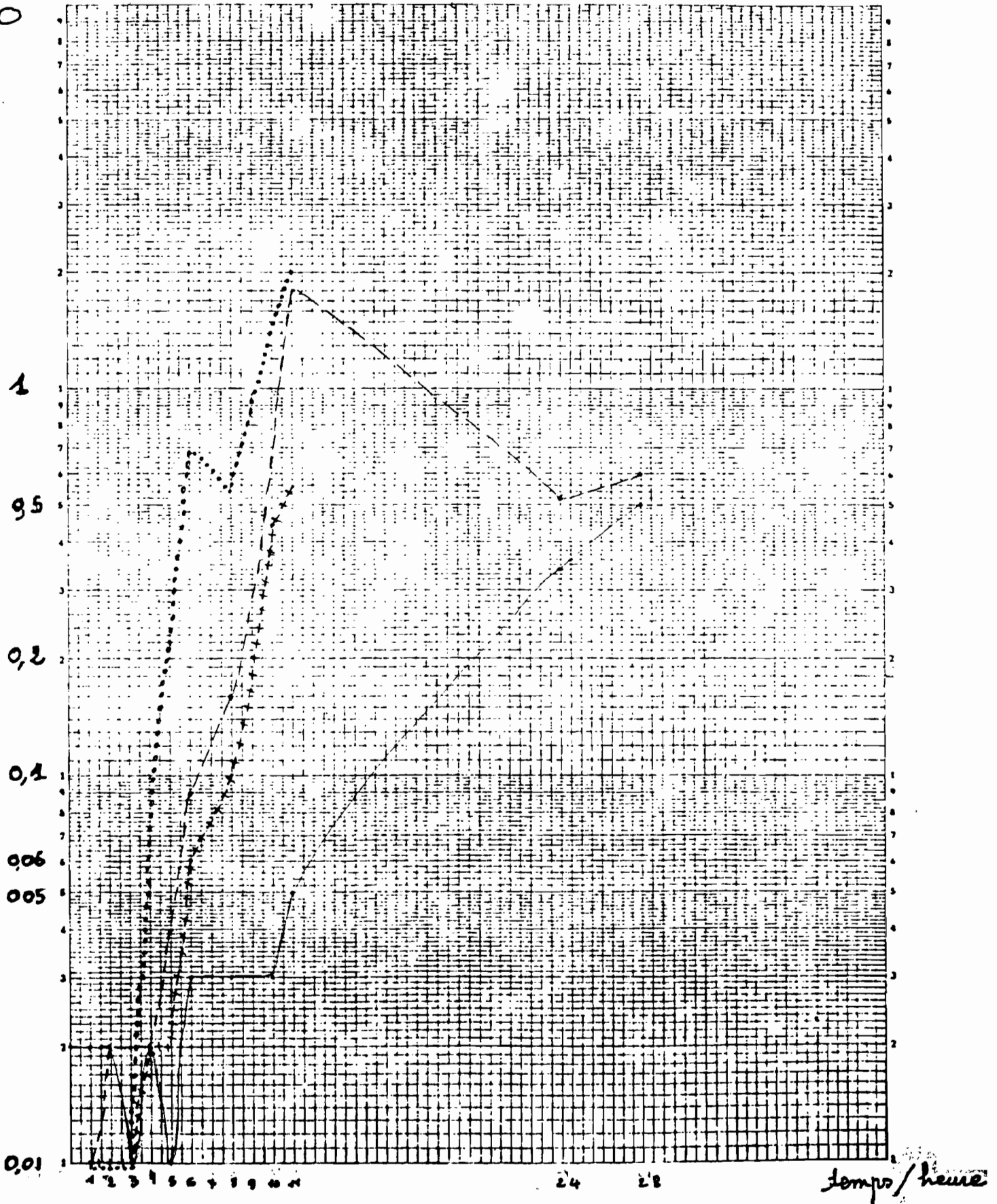
0.0



Souche	Bay 3	—
"	Bay 2	+ +
"	Bay 1	- -
"	1522	. . .

D.O

SYNTHÈSE SEMI-LOGARITHMIQUE A 3 MODULES



Source 58 —
 " 79 - -
 " ORS 841 + +
 " 1449 . .

3.4. Etude de l'infectivité et de l'effectivité des souches de Rhizobium et de Bradyrhizobium sur Acacia mangium

3.4.1. Synthèse en milieu axénique en tube

En tube, 16 traitements sont effectués de 12 répétitions avec 3 témoins par traitement.

L'expérience s'est déroulée sur une période de 16 semaines. Nous avons remarqué que Acacia mangium se développe lentement en tube et présente souvent un mauvais état végétatif.

Les résultats de l'étude sont portés sur le tableau 15 et les figures 10, 11, 12.

L'activité de la réduction de C_2H_2 en C_2H_4 est mesurée et figure au tableau 16.

En tube la souche isolée sur A. mangium et piégée à partir du sol acide de Casamance - Bay 1 - se distingue très nettement des autres par son effet sur la plante. L'A.R.A. (tableau 16) exprimé par plant montre bien que la souche Bay 1 est de très loin la plus efficace.

Sur la figure 11 et sur le tableau 15 nous remarquons que A. mangium forme des nodules aussi bien avec le genre Rhizobium qu'avec le genre Bradyrhizobium mais ne fixe l'azote efficacement qu'avec les Bradyrhizobium donc peut bien faire partie du groupe 3 (Dreyfus et al, 1986).

Nous avons déterminé le poids de matière fraîche des parties aériennes des plantes qui présentaient le meilleur état végétatif. Les résultats figurent au tableau 12. Ils montrent bien que la souche de Bradyrhizobium Bay 1 que nous avons isolée dans le sol acide de Casamance est la meilleure.

TABLEAU 15

Réponse à l'infection des souches utilisées ~~MA~~ Acacia mangium
cultivée en tube

<u>Souches de Rhizobium</u>	<u>Nombre de nodules</u>	<u>Observations sur l'état</u>
79	0	Très mauvais état végétatif
20	minuscules	" " " "
23	16	mauvais état
24	9	" "
25	7	" "
A.b	0	" "
1522	0	Se développe normalement
8	0	Mauvais état végétatif
1449	2	Se développe normalement
582	8	Se développe bien

Souches de Bradyrhizobium

Bay 1	14	Excellent état végétatif
58	0	Mauvais état
101	22	Se développe bien
106	17	" "
A 32-21	11	" "
ORS 841	10	" "

TABLEAU 16

Activité réductrice d'Acétylène de Acacia mangium
inoculé avec diverses souches de Rhizobium ou de
Bradyrhizobium

Souches	A.R.A. nM/plt/30 mn
Bay 1	38,529
582	0,897
1449	0,616
Témoin	0,
1522	0,
79	0
20	0
23	0
24	0
25	0
A.b	0
8	0
58	0
101	0
106	0
AE 3221	0
ORS 841	0

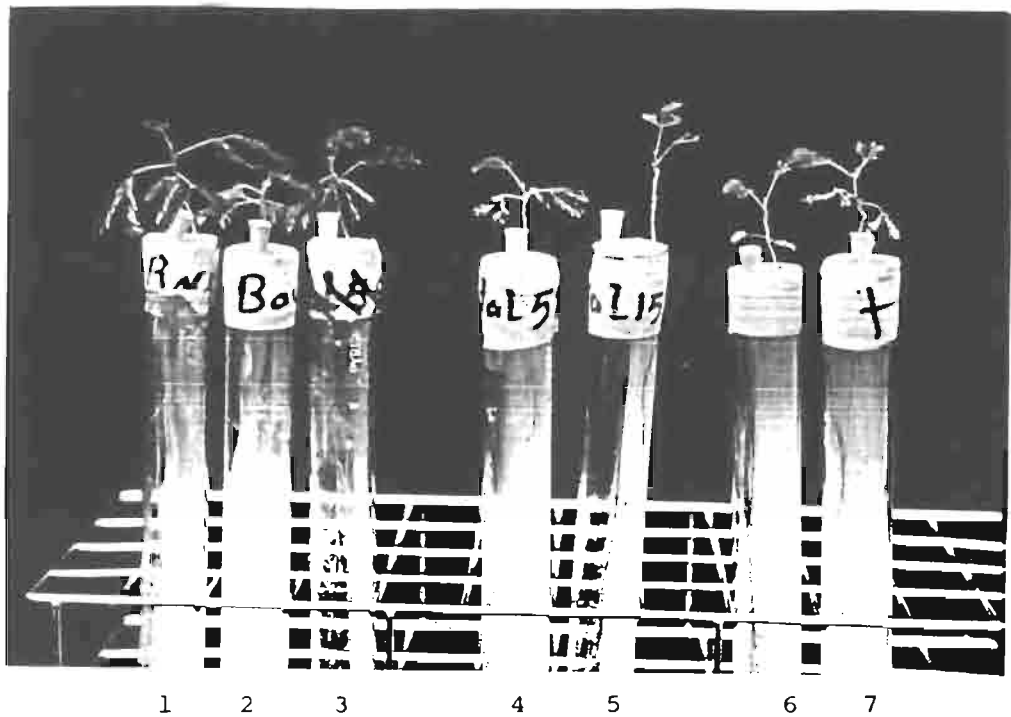


Figure 10

Effet de l'inoculation de jeunes plants d'Acacia mangium élevés en tube dans le milieu de JENSEN pour légumineuses au laboratoire.

On remarque de gros nodules ovoïdes sur les plantes des tubes 1, 2, 3 :

- 1, 2, 3 : plantes inoculées avec Bay I, souche Bradyrhizobium isolée de nodules d'A. mangium
- 4 : plante nodulée par une souche de Bradyrhizobium qui forme des nodules inefficients sur A. mangium.
- 5 : plante inoculée par une souche de Rhizobium qui n'induit pas la nodulation chez l'A. mangium.
- 6 et 7 : témoins non inoculés, l'absence de nodules prouve bien qu'il n'y a pas eu contamination par une bactérie du même groupe d'inoculation croisée.



Fig. 11

Jeunes plants d'Acacia mangium élevés en tube dans un milieu de JENSEN pour Légumineuses au Laboratoire inoculés avec différentes souches de Rhizobium ou de Bradyrhizobium.

On remarque bien la différence par la couleur des feuilles entre les jeunes plants fixant l'azote (tube 1, 2, 3, 4) de ceux ne fixant pas l'azote (tube 5, 6, 7).

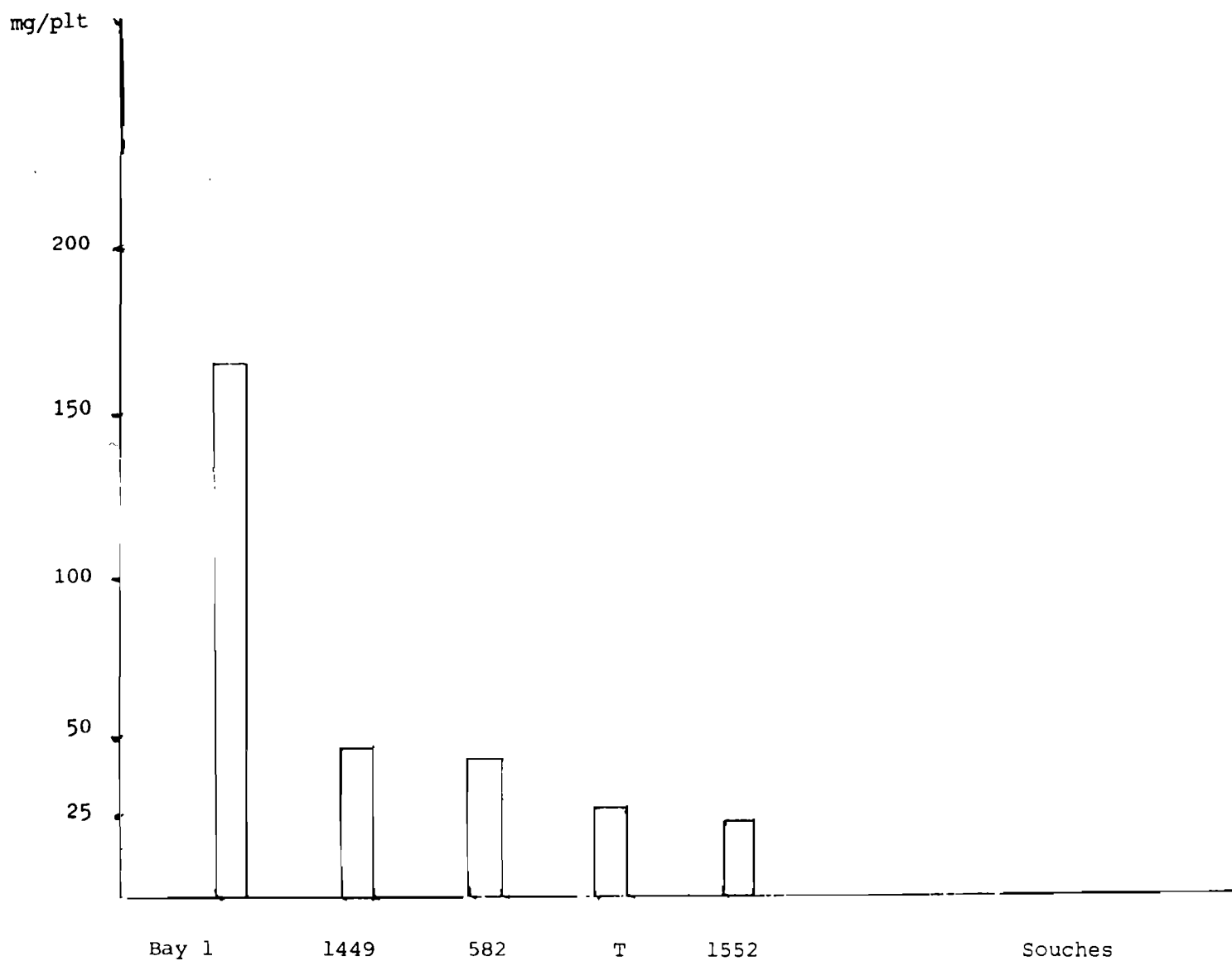


Figure n° 12.

Poids frais des plants de A. mangium élevés en tube et inoculés avec des souches de Bradyrhizobium ou de Rhizobium.

t = Témoin non inoculé.

3.4.2. Etude de l'infectivité et de l'effectivité des souches de Rhizobium et de Bradyrhizobium sur A. mangium cultivé en gaine

Les souches de Rhizobium et de Bradyrhizobium isolées et testées précédemment en tube ont été utilisées pour les expériences en gaine. Pour ces résultats-ci, seront présentés les effets des souches, sans celles isolées sur A. mangium dans le sol acide de Casamance. Les expériences sont en cours à la pépinière.

Des jeunes plants élevés en pépinière sur du sol acide de Casamance stérilisé ont été inoculés par les différentes souches. Nous avons effectué 11 traitements avec 10 répétitions et l'expérience s'est déroulée sur une période de 21 semaines. Nous avons mesuré la croissance en hauteur, les poids frais et secs des feuilles, tiges, racines et nodules. Nous avons déterminé le nombre de nodules par plant, ainsi que la teneur en azote des différentes parties de la plante (feuilles, tiges et racines).

Toutes les gammes de la symbiose sont représentées depuis l'absence de nodulation jusqu'à la nodulation capable de fixer N_2 .

- Non effectives	souche 20
- Peu effectives	" 8
- Infectives, non efficientes	" 23, 24, 25
- Peu efficientes	" 106, 58, AE 3221
- Efficientes	" 101, ORS 841

La croissance en hauteur (fig. 16) des plants inoculés avec les différentes souches n'indiquent de différences significatives par rapport aux témoins non inoculés qu'avec ceux inoculés avec les Bradyrhizobium. On observe un gain de 158 % entre les plants inoculés avec ORS 841 et les témoins non inoculés (fig. 15 et 16).

Les résultats de la production de matière fraîche et de matière sèche (fig. 17 à 26) confirment ces résultats. On constate que tous les plants inoculés avec des souches inefficaces ont une croissance en hauteur, un poids de matière sèche et fraîche égal ou inférieur à ceux des témoins, même si cette différence n'est pas significative à ce stade du développement des plantes (fig. 14).

La plupart des souches de Bradyrhizobium sont responsables d'une augmentation significative des teneurs totales en azote des plantes (fig. 27, 28, 29).

On n'observe pas de corrélation entre le nombre de nodules et le poids sec des parties aériennes, la croissance en hauteur de la plante ou la teneur en N de la partie aérienne.

Il ressort de ces tests que Acacia mangium est peu spécifique pour la nodulation mais semble être spécifique pour la fixation de l'azote, en effet seules les souches de Bradyrhizobium sont efficaces. Nous avons réussi à isoler et sélectionner un certain nombre de souches de Rhizobium et de Bradyrhizobium dont une qui est particulièrement performante avec Acacia mangium (Bay 1) qui est une souche isolée dans le sol acide qui convient bien à Acacia mangium.



Figure 13

Plants issus de l'élevage en pépinière dans un sol acide de Casamance stérile inoculés avec une souche à croissance lente (Bradyrhizobium) ou une souche à croissance rapide (Rhizobium). On remarque la différence de la croissance en hauteur au profit de ceux inoculés avec Bradyrhizobium.

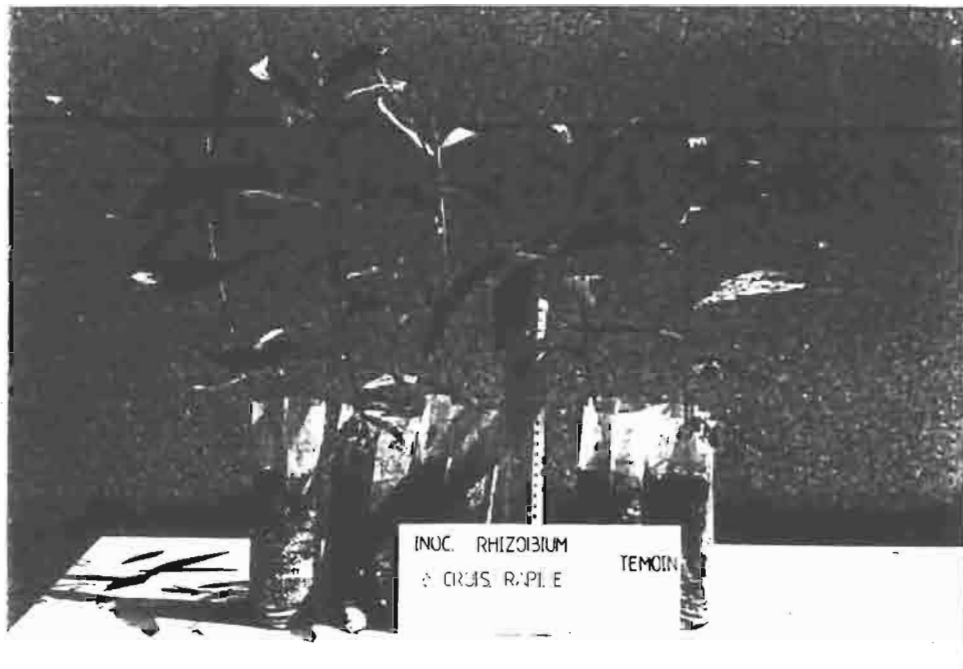


Figure 14

Plants issus de l'élevage en pépinière dans le sol de Casamance stérile inoculés par une souche de Rhizobium infective mais non efficiente comparés à des témoins non inoculés. On remarque le peu de différence concernant la croissance en hauteur.

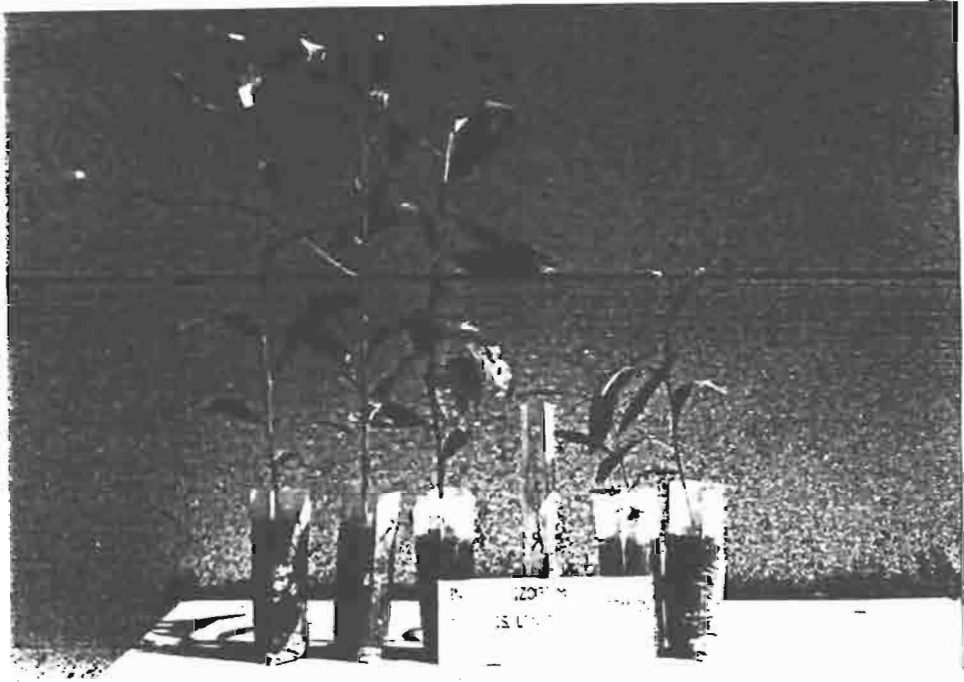


Fig. 15

Plants issus de l'élevage en pépinière dans le sol acide de CASAMANCE stérile , inoculés avec une souche de Bradyrhizobium effective isolée en CASAMANCE comparés à des témoins non inoculés. la différence est remarquable quant à la croissance en hauteur.

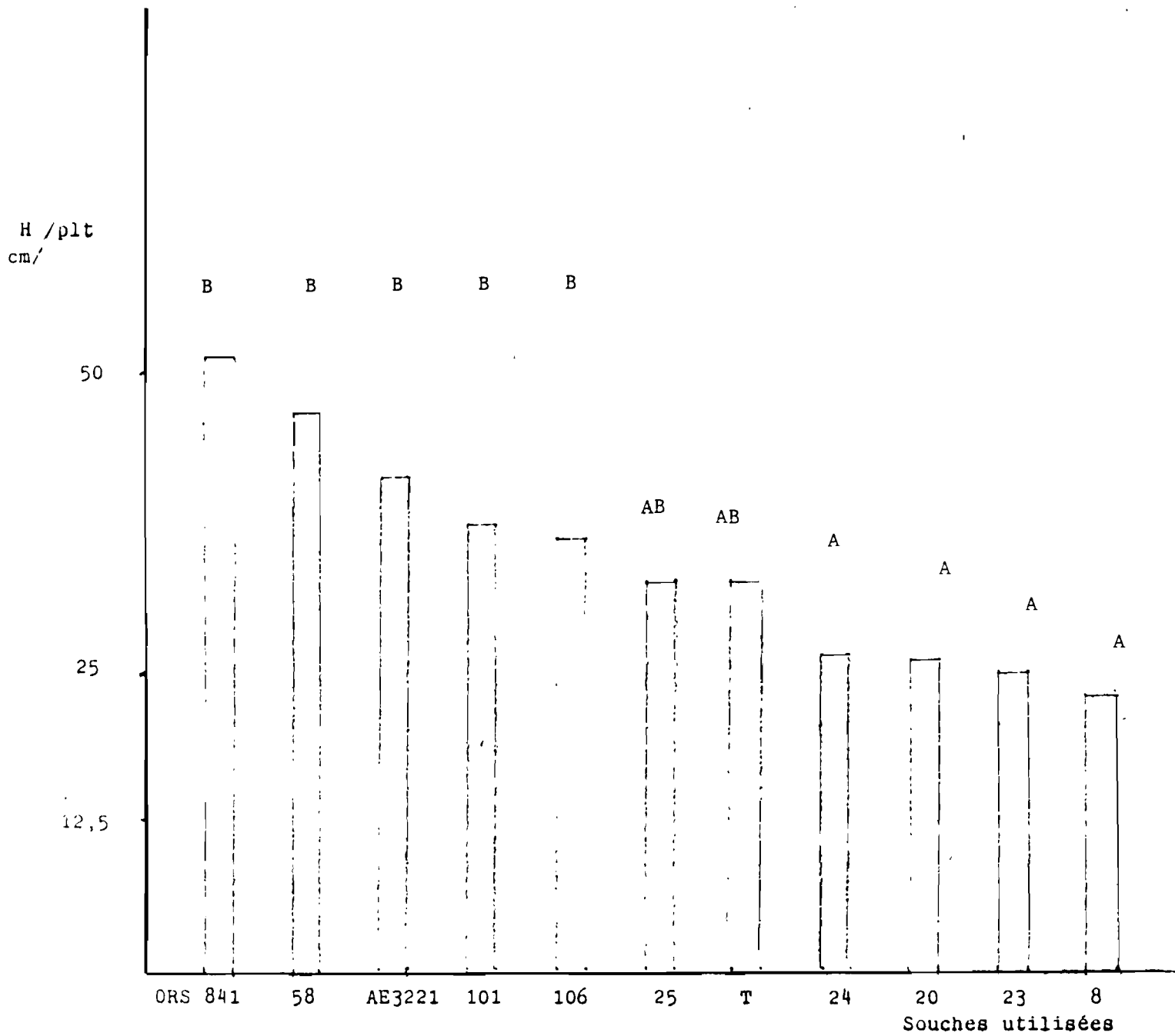


Figure n°16

Résultats de la mesure de la croissance en hauteur de l'Acacia mangium sur sol acide de Casamance inoculé avec différentes souches de Rhizobium et de Bradyrhizobium.

Les bâtons représentent la moyenne de dix répétitions.

Les bâtons surmontés d'une même lettre ne sont pas significativement différents au seuil de 5 % d'après le test de Newmann - Keuls. S'ils sont surmontés de lettres différentes ils sont significativement différents au seuil de 5 %.

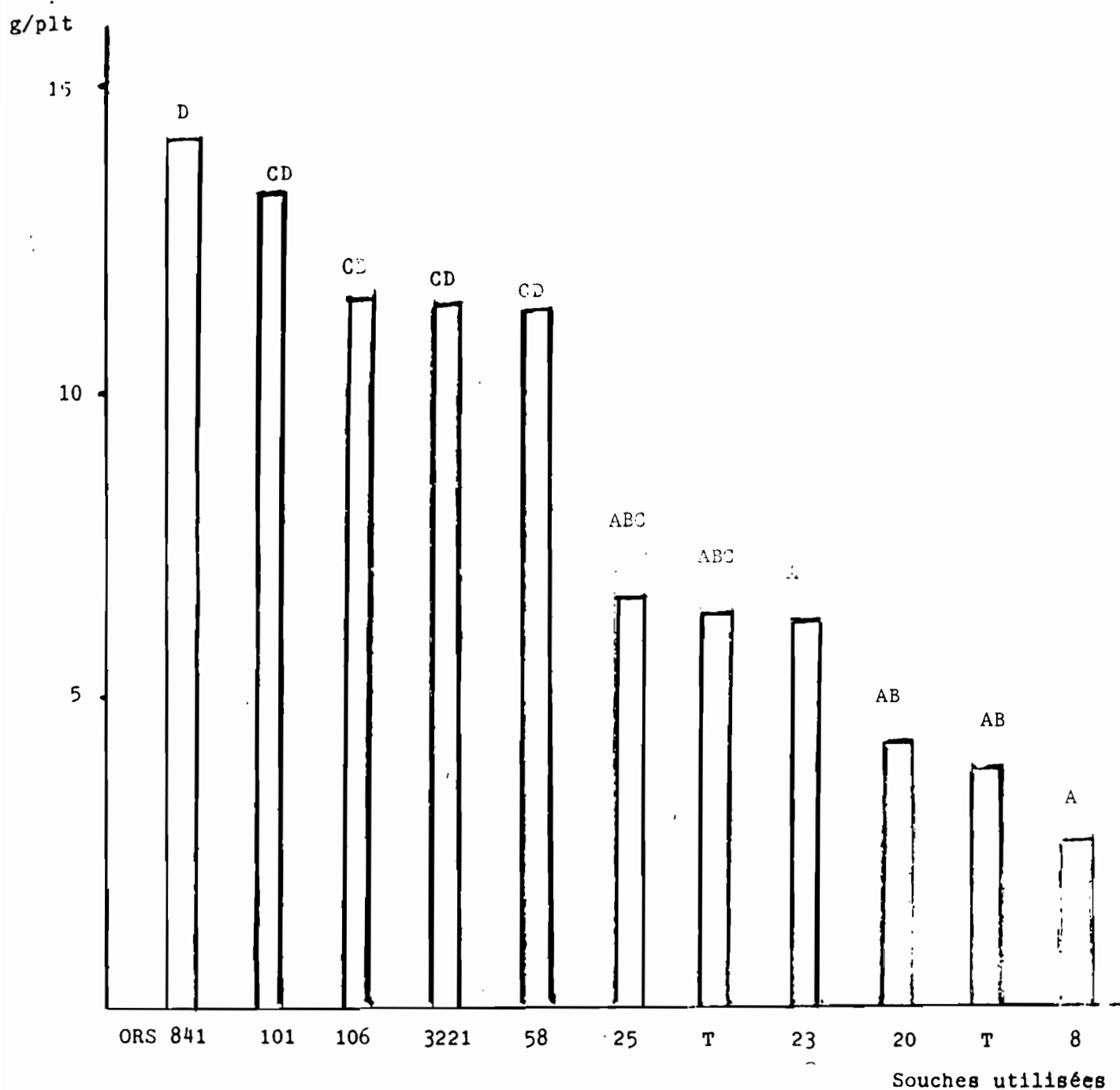


Figure n° 17

Résultats de la mesure du poids frais des feuilles des plants élevés dans le sol acide de Casamance stérile, inoculés avec différentes souches de Rhizobium et de Bradyrhizobium.

Les bâtons représentent la moyenne de dix répétitions.

Les bâtons surmontés d'une même lettre ne sont pas significativement différents au seuil de 5 % d'après le test de Newmann - Keuls. S'ils sont surmontés de lettres différentes ils sont significativement différents au seuil de 5 %.

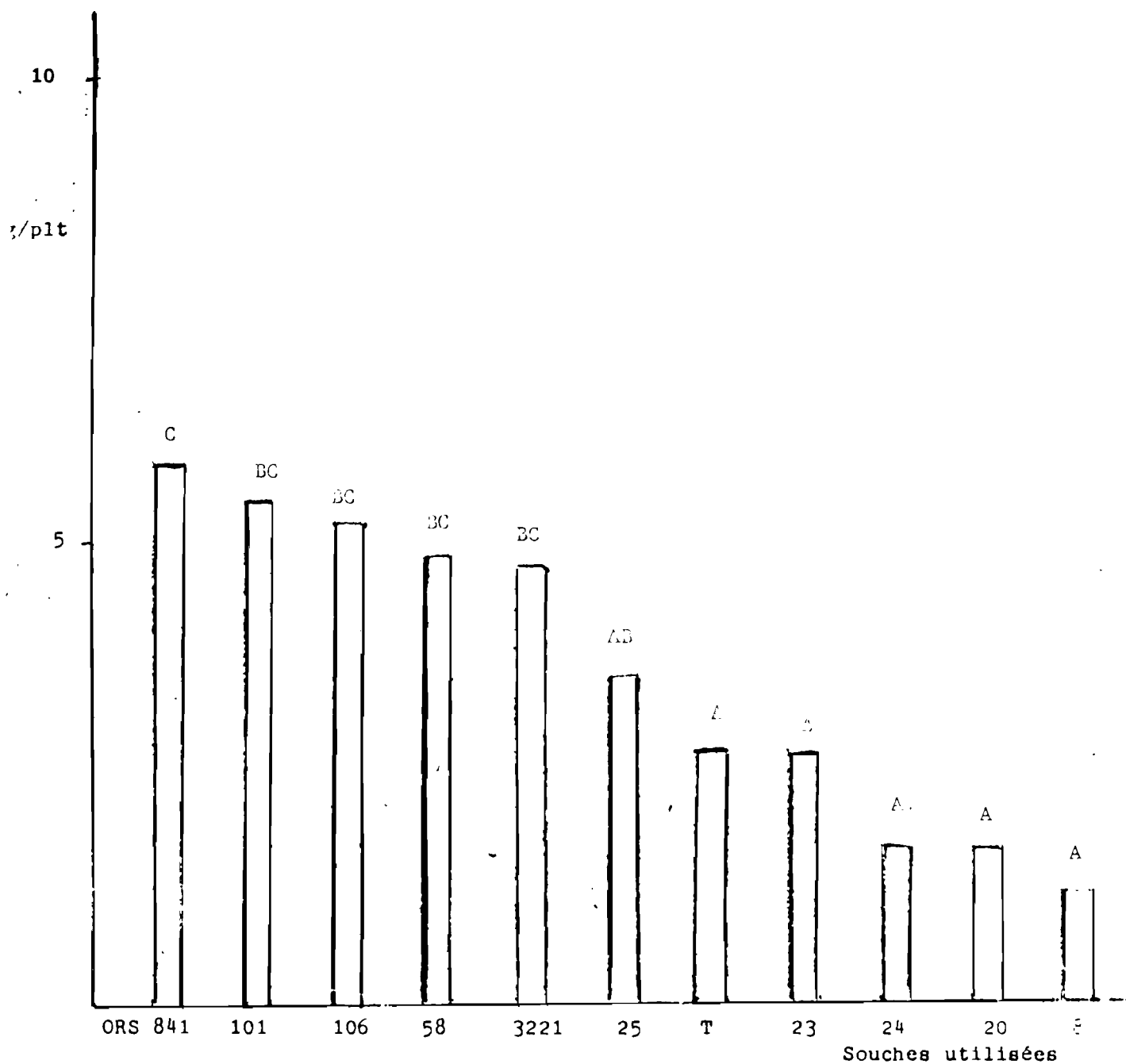


Figure n° 18

Résultats de la mesure du poids frais des tiges des plantes élevées dans le sol acide de Casamance stérile et inoculés avec différentes souches de Rhizobium ou de Bradyrhizobium.

Les bâtons représentent la moyenne de dix répétitions.

Les bâtons surmontés d'une même lettre ne sont pas significativement différents au seuil de 5 % d'après le test de Newmann - Keuls. S'ils sont surmontés de lettres différentes ils sont significativement différents au seuil de 5 %.

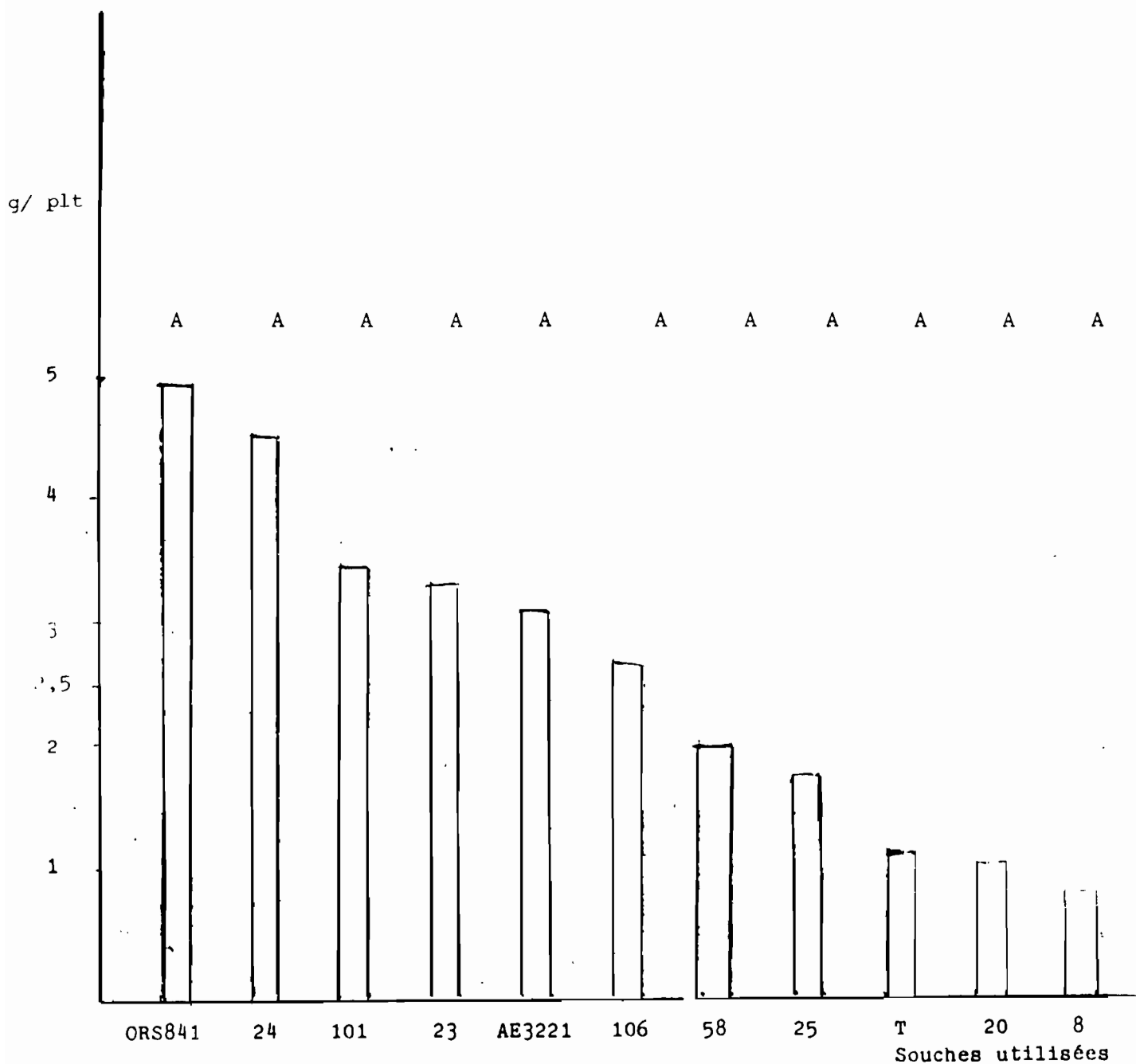


Figure n° 19

Résultats de la mesure du poids frais des racines des plants élevés en pépinière sur sol acide de Casamance stérile, inoculés avec différentes souches de Rhizobium ou de Bradyrhizobium.

Les bâtons représentent la moyenne de dix répétitions.

Les bâtons surmontés d'une même lettre ne sont pas significativement différents au seuil de 5 % d'après le test de Newmann - Keuls. S'ils sont surmontés de lettres différentes ils sont significativement différents au seuil de 5 %.

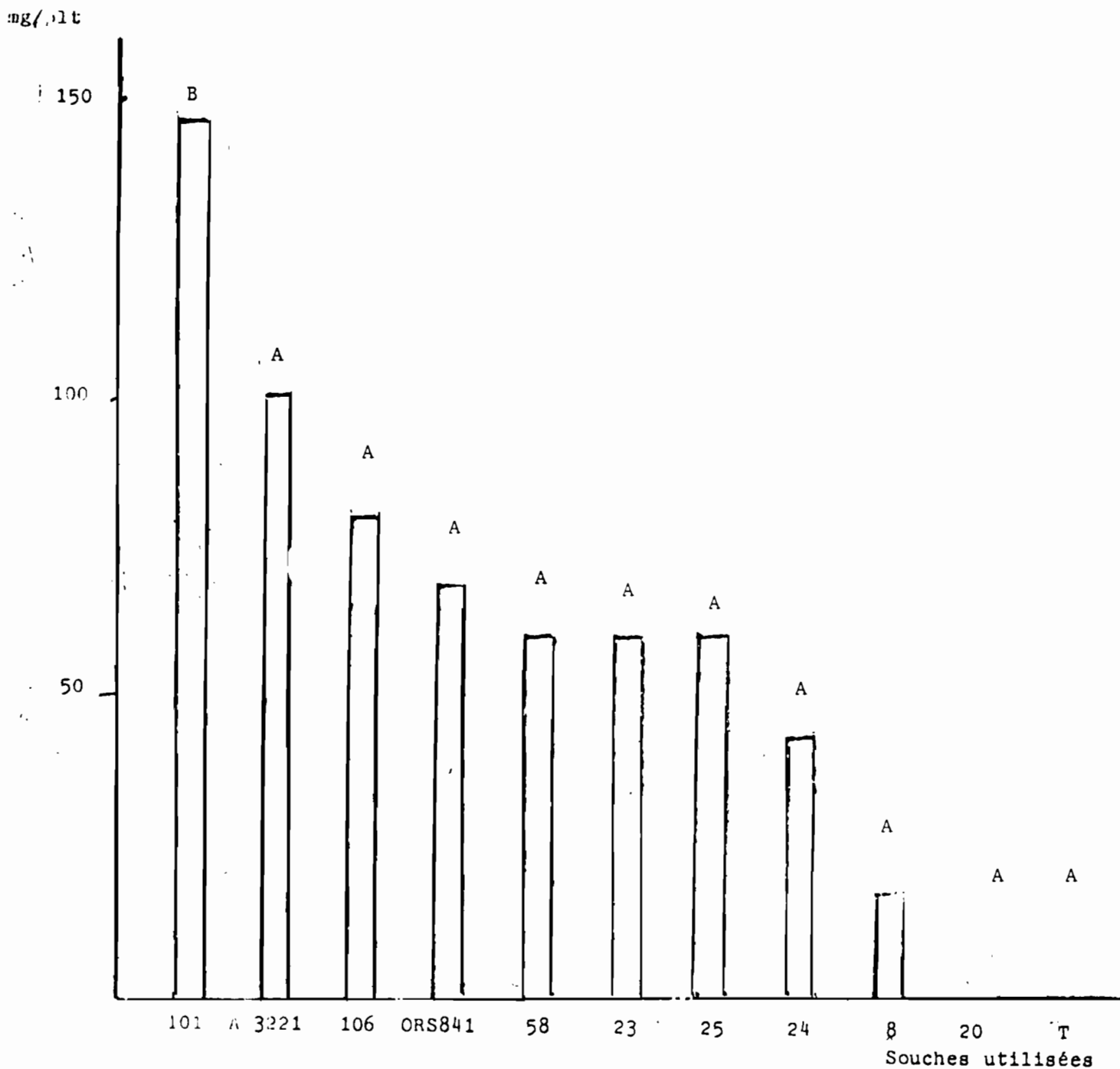


Figure n° 20

Résultats des poids frais des nodules des plants élevés en pépinière sol acide de Casamance stérile, inoculés avec différentes souches de Rhizobium ou de Bradyrhizobium.

Les bâtons représentent la moyenne de dix répétitions.

Les bâtons surmontés d'une même lettre ne sont pas significativement différents au seuil de 5 % d'après le test de Newmann - Keuls. S'ils sont surmontés de lettres différentes ils sont significativement différents au seuil de 5 %.

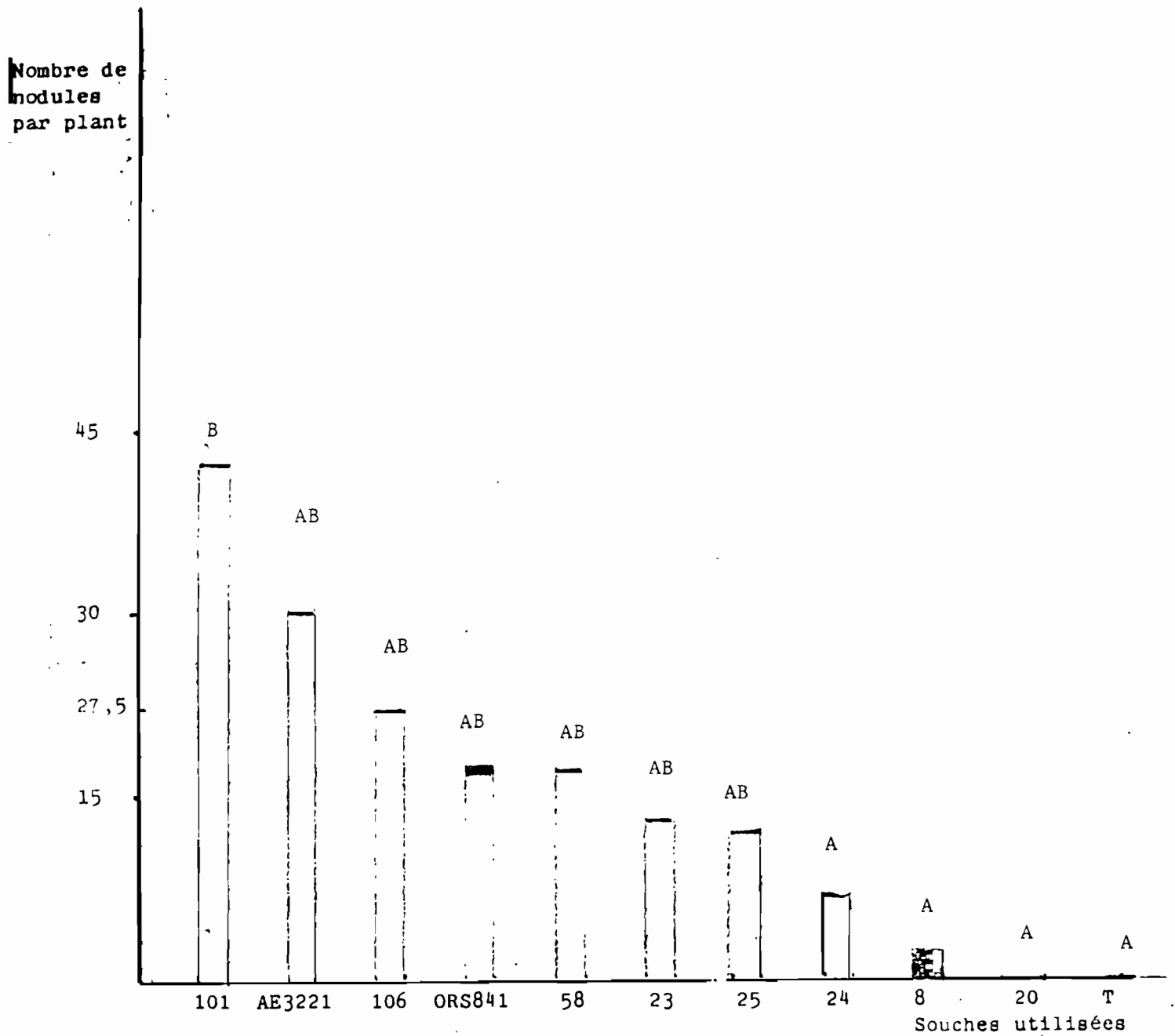


Figure n° 21

Résultats du nombre de nodules par plant inoculés avec différentes souches de Bradyrhizobium et de Rhizobium.

Les bâtons représentent la moyenne de dix répétitions.

Les bâtons surmontés d'une même lettre ne sont pas significativement différents au seuil de 5 % d'après le test de Newmann - Keuls. S'ils sont surmontés de lettres différentes ils sont significativement différents au seuil de 5 %.

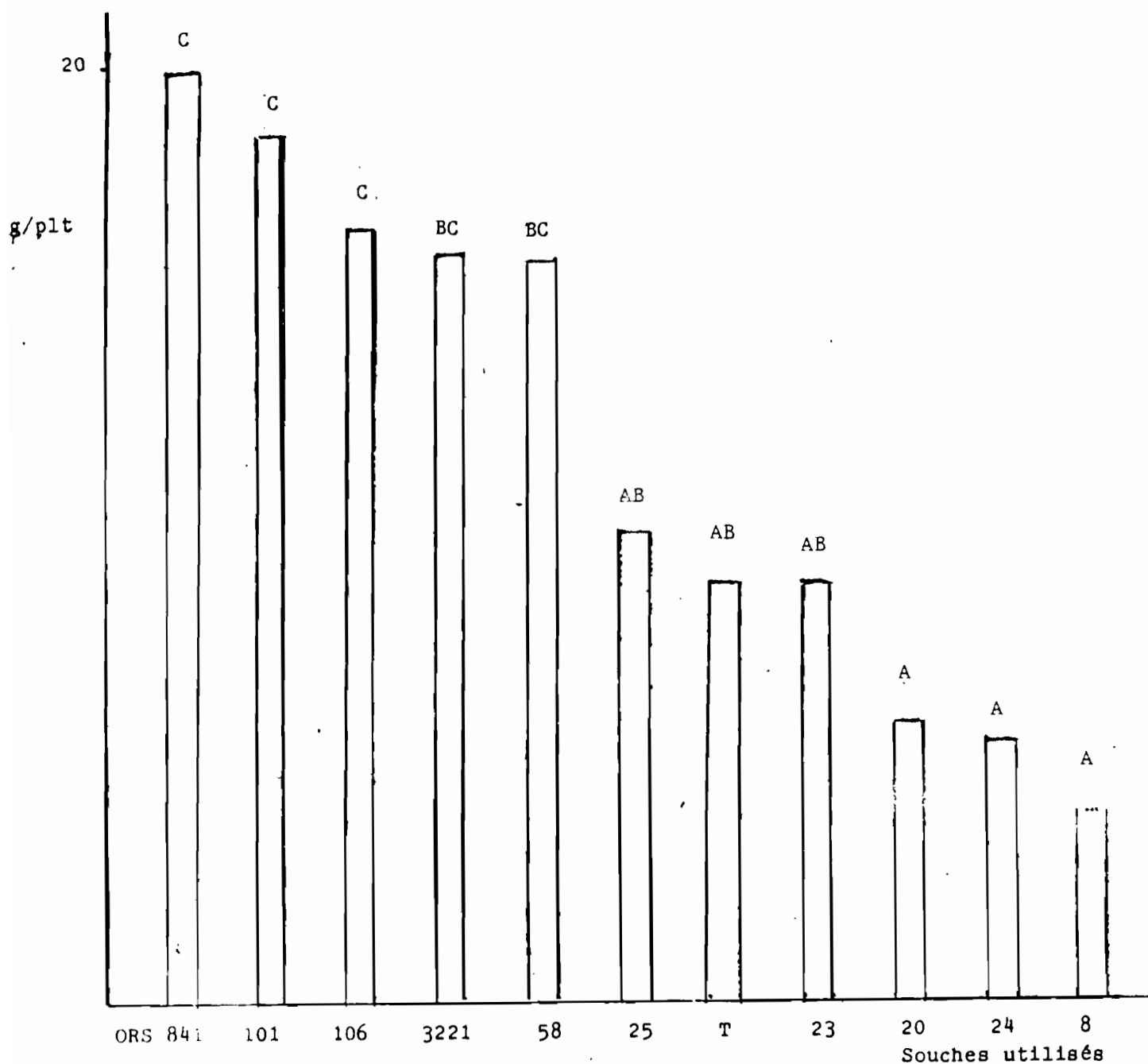


Figure n° 22

Résultats de la mesure des poids frais des parties aériennes des plants élevés en pépinière sur sol acide de Casamance et inoculés avec différentes souches de Rhizobium ou de Bradyrhizobium.

Les bâtons représentent la moyenne de dix répétitions.

Les bâtons surmontés d'une même lettre ne sont pas significativement différents au seuil de 5 % d'après le test de Newmann - Keuls. S'ils sont surmontés de lettres différentes ils sont significativement différents au seuil de 5 %.

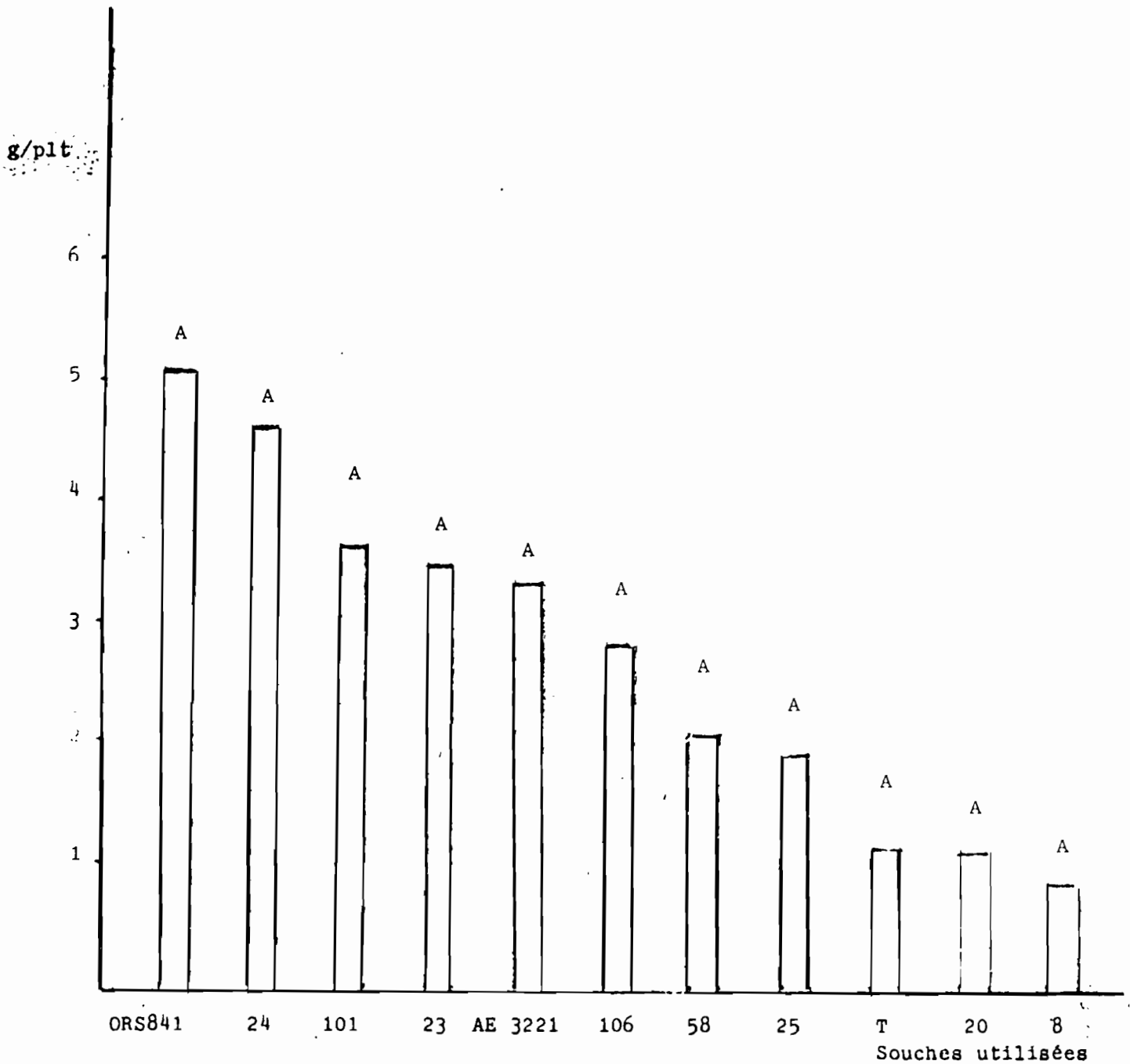


Figure n° 23

Résultats de la mesure du poids frais de la partie souterraine des plants élevés en pépinière sur du sol acide de Casamance, inoculés avec différentes souches de Rhizobium ou de Bradyrhizobium.

Les bâtons représentent la moyenne de dix répétitions.

Les bâtons surmontés d'une même lettre ne sont pas significativement différents au seuil de 5 % d'après le test de Newmann - Keuls. S'ils sont surmontés de lettres différentes ils sont significativement différents au seuil de 5 %.

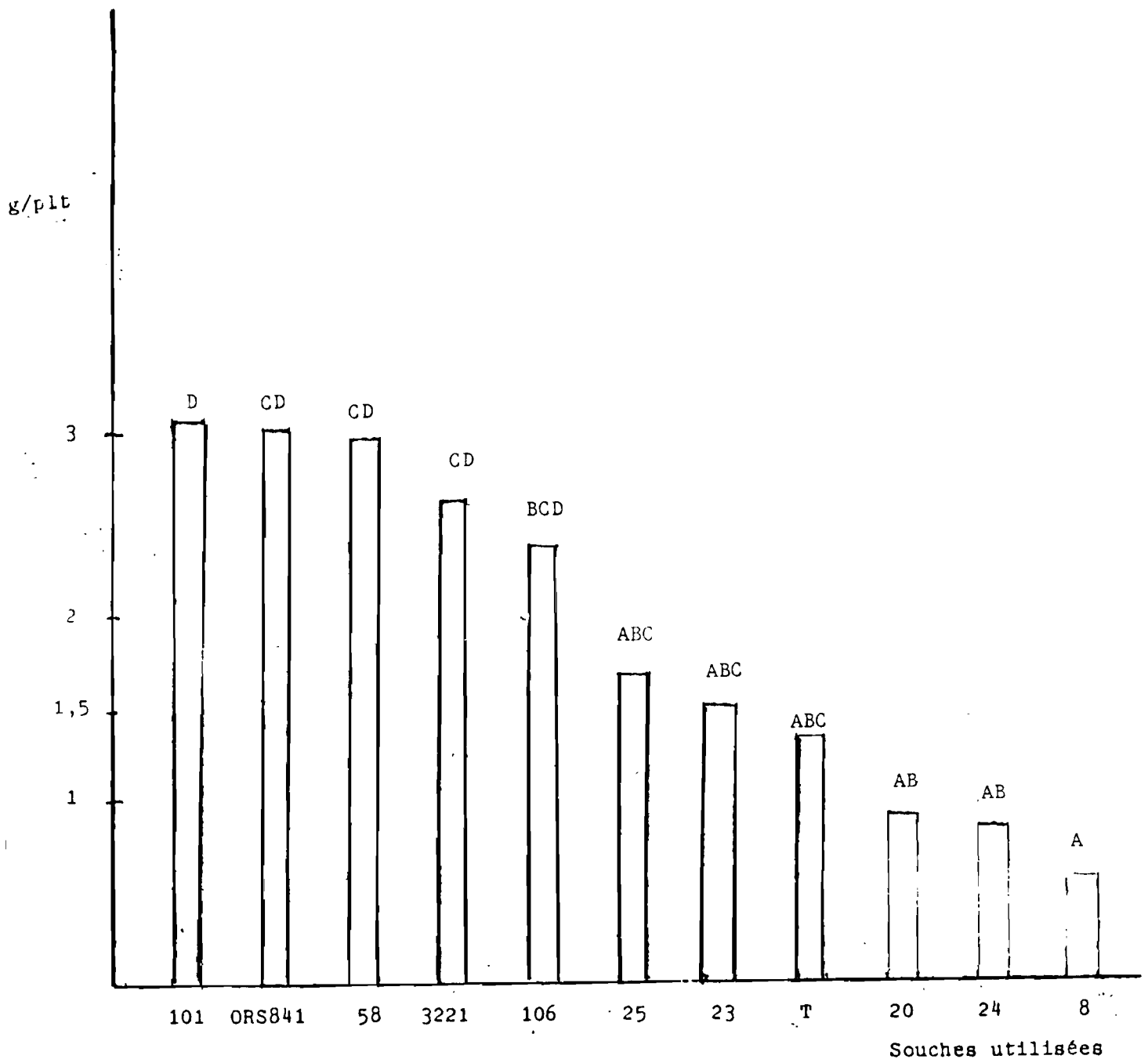


Figure n° 24

Résultats de la mesure des poids secs des feuilles des plants élevés en pépinière sur le sol acide de Casamance stérile, inoculés avec différentes souches de Rhizobium ou de Bradyrhizobium.

Les bâtons représentent la moyenne de dix répétitions.

Les bâtons surmontés d'une même lettre ne sont pas significativement différents au seuil de 5 % d'après le test de Newmann - Keuls. S'ils sont surmontés de lettres différentes ils sont significativement différents au seuil de 5 %.

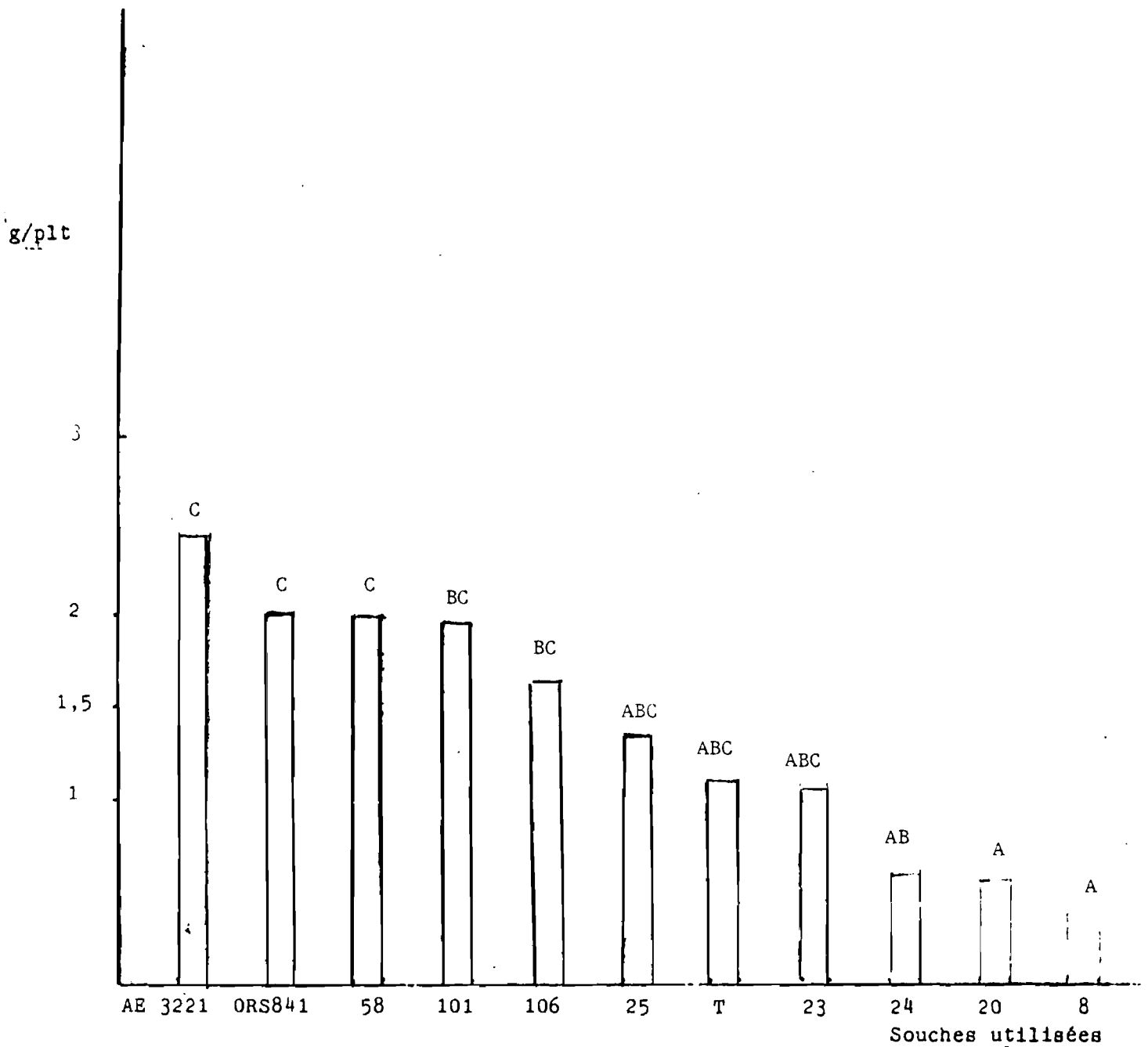


Figure n° 25

Résultats de la mesure des poids secs des tiges de plants élevés en pépinière sur sol acide de Casamance stérile, inoculés avec différentes souches de Rhizobium ou de Bradyrhizobium.

Les bâtons représentent la moyenne de dix répétitions.

Les bâtons surmontés d'une même lettre ne sont pas significativement différents au seuil de 5 % d'après le test de Newmann - Keuls. S'ils sont surmontés de lettres différentes ils sont significativement différents au seuil de 5 %.

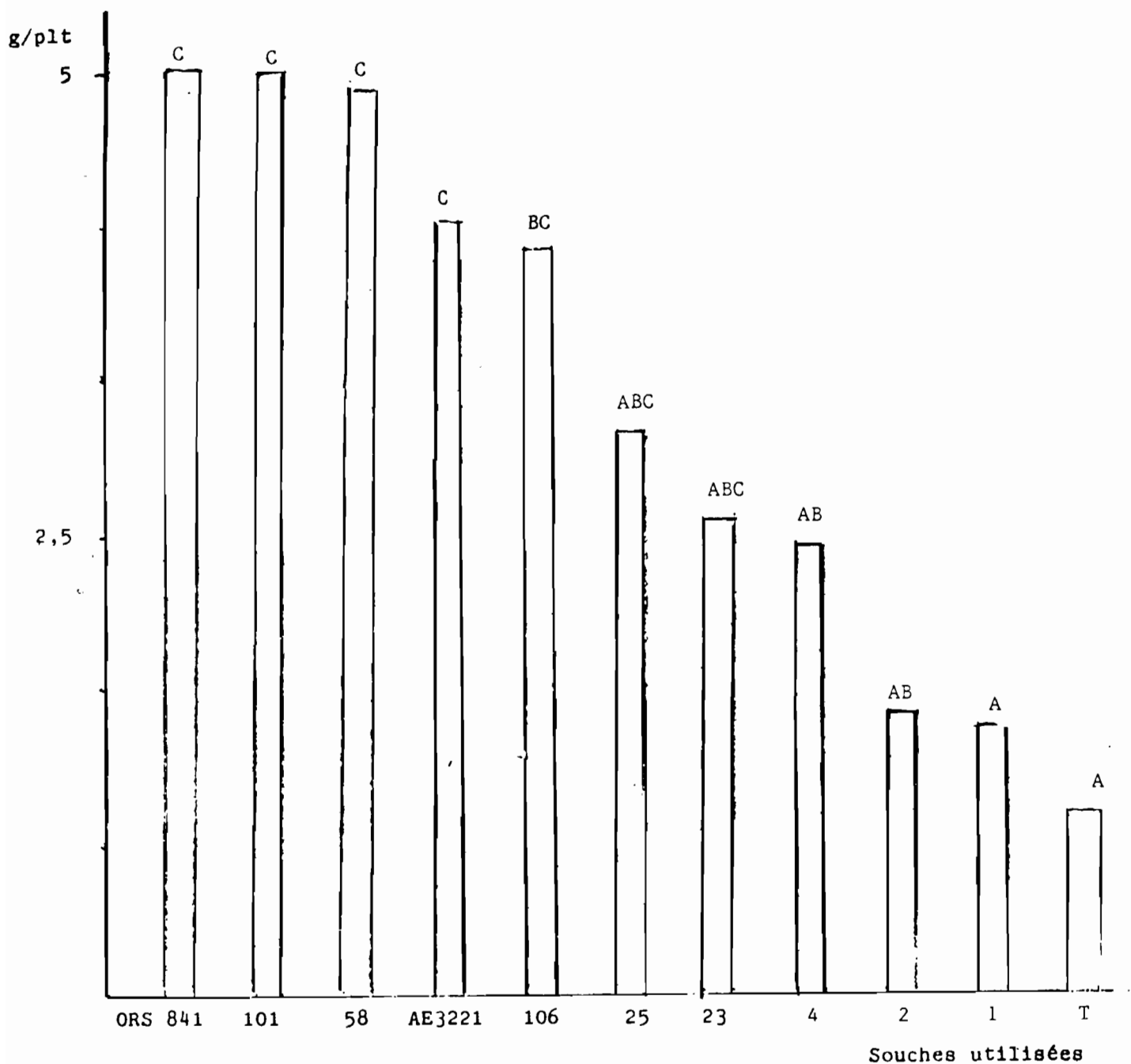


Figure n° 26

Résultats de la mesure du poids sec de la partie aérienne des plants élevés sur sol acide de Casamance stérile, inoculés avec différentes souches de Rhizobium ou de Bradyrhizobium.

Les bâtons représentent la moyenne de dix répétitions.

Les bâtons surmontés d'une même lettre ne sont pas significativement différents au seuil de 5 % d'après le test de Newmann - Keuls. S'ils sont surmontés de lettres différentes ils sont significativement différents au seuil de 5 %.

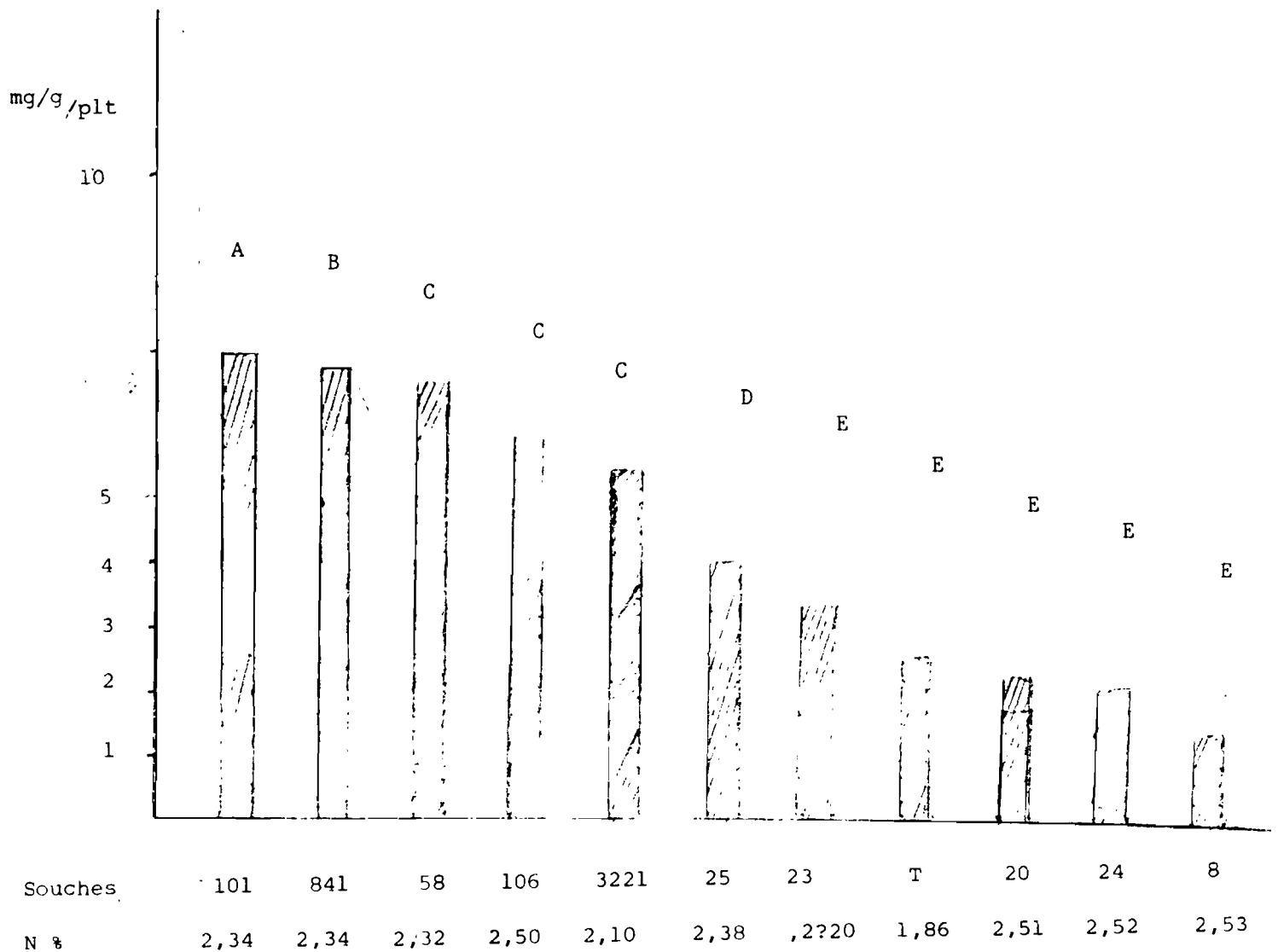


Figure 27 :

Teneur en N total par gramme des feuilles par plant.

Les plants sont élevés en pépinière et inoculés avec différentes souches de Rhizobium ou de Bradyrhizobium.

Les bâtons représentent la moyenne de dix répétitions.

Les bâtons surmontés d'une même lettre ne sont pas significativement différents au seuil de 5 % d'après le test de Newmann - Keuls. S'ils sont surmontés de lettres différentes ils sont significativement différents au seuil de 5 %.

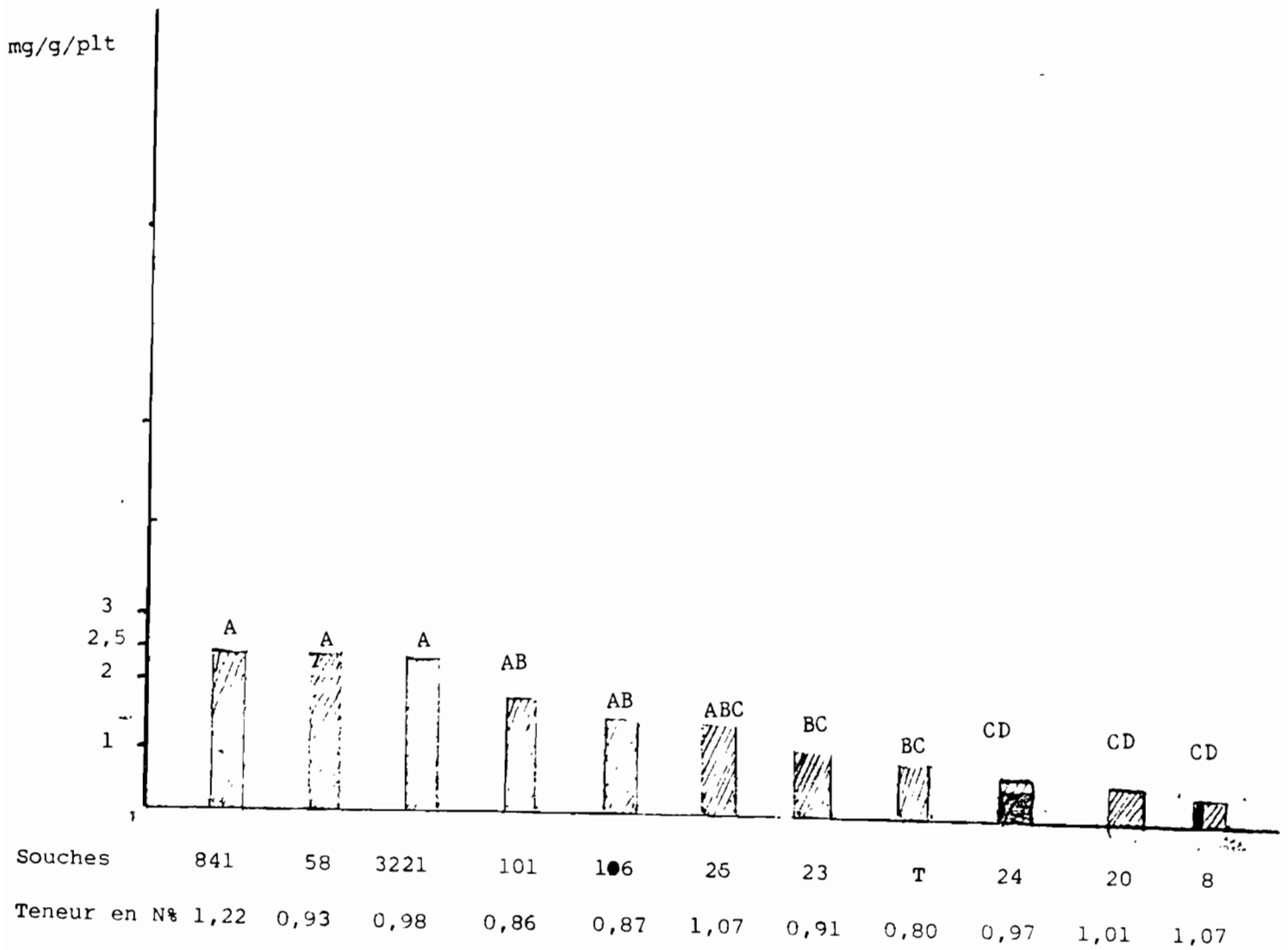


Figure 28 :

Teneur en N total des tiges des plants élevés en pépinière et inoculés avec différentes souches de Rhizobium ou de Bradyrhizobium.

Les bâtons représentent la moyenne de dix répétitions.

Les bâtons surmontés d'une même lettre ne sont pas significativement différents au seuil de 5 % d'après le test de Newmann - Keuls. S'ils sont surmontés de lettres différentes ils sont significativement différents au seuil de 5 %.

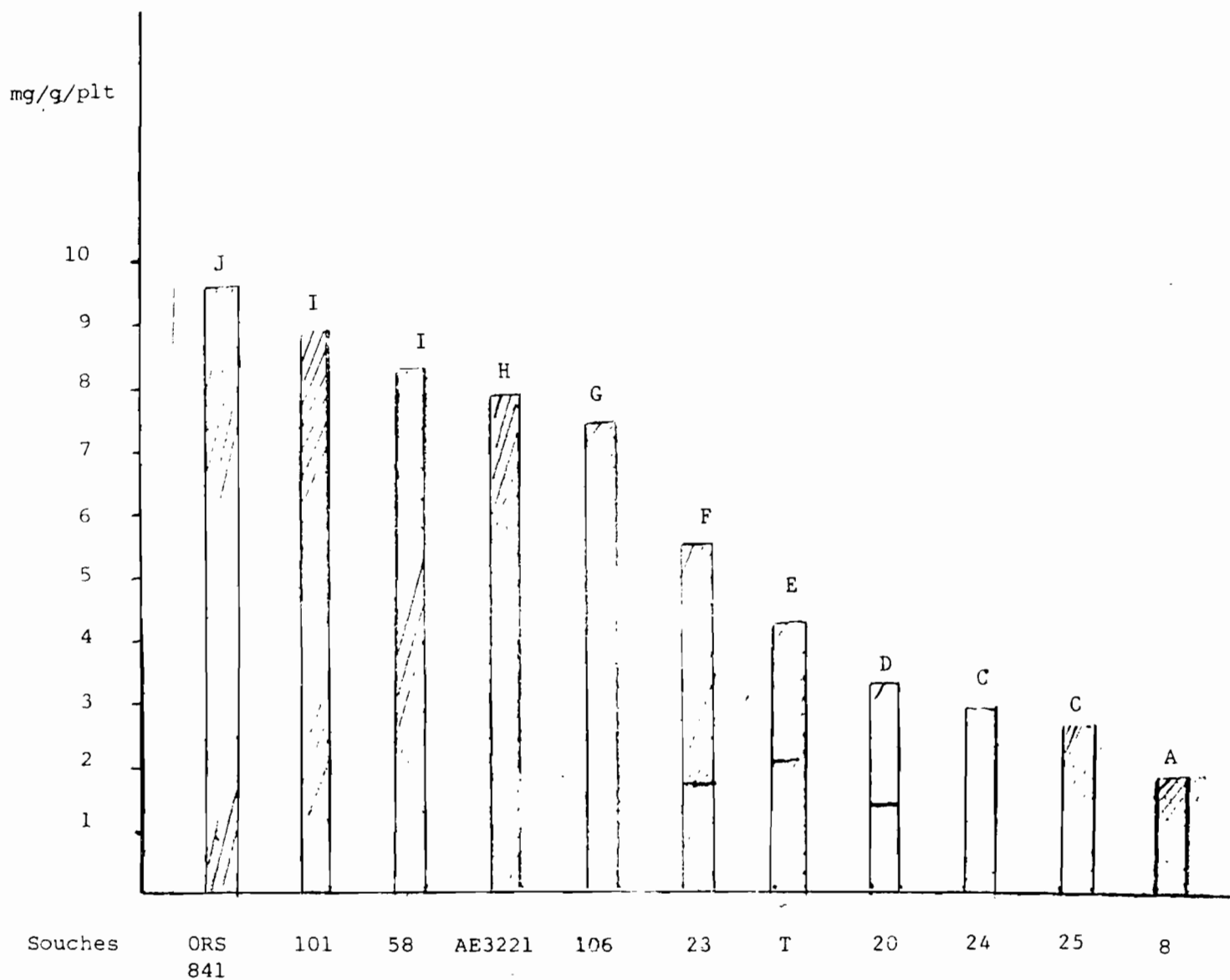


Figure 29 :

Teneur en N total par gramme de la partie aérienne par plant.
 Les plants sont élevés en pépinière et inoculés avec différentes souches de Rhizobium ou de Bradyrhizobium.

Les bâtons représentent la moyenne de dix répétitions.

Les bâtons surmontés d'une même lettre ne sont pas significativement différents au seuil de 5 % d'après le test de Newmann - Keuls. S'ils sont surmontés de lettres différentes ils sont significativement différents au seuil de 5 %.

3.5. Résultats sur les champignons symbiotiques

Ces expériences avaient pour but de vérifier l'aptitude de l'Acacia mangium à former sur son système racinaire, une symbiose ectomycorhizienne et/ou endomycorhizienne avec des champignons.

Nous avons réalisé une série d'expériences dans des conditions axéniques semi-axénique et une expérience de piègeage.

3.5.1. Les ectomycorhizes

3.5.1.1. Méthode axénique en tube

Nous avons tenté de mettre au point un système de culture in vitro en tube sur tourbe et vermiculite (fig. 30) et sur tourbe et perlite (fig. 31).

L'expérience a duré 17 semaines. Dans les tubes où l'apport d'inoculum est effectué sous forme solide, des observations au microscope ont permis de remarquer des manchons autour des racines, inoculés par Scléroderma capense et Pisolithus senegalensis.

Des coupes fines effectuées sur ces jeunes racines n'ont pas permis de mettre en évidence un indiscutable réseau de Hartig. Au stade actuel de nos observations, nous ne pouvons pas affirmer l'existence d'ectomycorhize en tube.

3.5.1.2. Méthode axénique "sandwich paper"

Au stade actuel des expériences, nous n'avons pas obtenu d'ectomycorhizes.

La première expérience a été arrêtée parce que le système racinaire poussait trop vite alors que les boîtes de Pétri étaient relativement petites.

Une seconde expérience est en cours avec des boîtes de Pétri d'un diamètre de 19 cm.

3.5.1.3. Synthèse en milieu semi-axénique : méthode "Pouchs"

Aucune mycorhize n'a pu être obtenue par cette méthode. Au bout d'une semaine la moitié des plants a séché bien que suffisamment arrosés. Les implants gélosés après un faible début de croissance ont



Figure 30

Jeunes plants élevés sur Tourbe et Vermiculite en tube au Laboratoire.



Fig. 31

Jeunes plants d'Acacia mangium élevés sur Tourbe et Perlite stérile inoculés avec différentes souches de champignons ectomycorhiziens. A l'état actuel des expériences il n'ya pas de différence

arrêté de se développer et se sont même nécrosés.

Cette technique peut être améliorée parce que le système racinaire de A. mangium est assez robuste pour que cette méthode réussisse comme chez les pins en diminuant les risques de contamination et en augmentant l'humidité de l'atmosphère du système racinaire, on peut s'attendre à de meilleurs résultats.

3.5.1.4. Synthèse en milieu semi-axénique en gaine

De jeunes plants d'Acacia mangium élevés en gaine de polyéthylène sur du sol acide de Casamance stérile, sont inoculés par une souche de Pisolithus senegalensis p.t.

L'étude du système racinaire a permis de mettre en évidence l'aptitude de Acacia mangium à former des ectomycorhizes avec cette souche de Pisolithes. Une coupe transversale effectuée sur des racines courtes de 2^e ordre a permis de mettre en évidence la structure typique d'une ectomycorhize ; présence d'un manteau fongique et du réseau de Hartig (fig. 32, 33).

3.5.1.4.1. Aspect morphologique

Ces ectomycorhizes sont de type monopodiale simple, c'est-à-dire formés d'un seul axe pouvant présenter une ou deux ramifications. La longueur varie de 0,5 à 1,5 cm et l'épaisseur de 0,2 et 0,6 mm. Les ectomycorhizes formés avec P_{S1} sont de couleur jaune pâle et sont parfois entourés d'un voile mycélien lâche.

3.5.1.4.2. Aspect anatomique

Des coupes transversales dans ces racines mycorhizées révèlent la présence du manteau fongique et du réseau de Hartig caractéristique. Dans les deux cas, le manteau de 20 à 30 ~~mm~~ d'épaisseur est constitué d'un tissu parenchymateux c'est-à-dire formé d'un amas d'hyphes plus ou moins longs à la différence des tissus pseudoparenchymateux constitués de cellules ovoïdes et isodiamétriques où les hyphes ne sont plus reconnaissables. Chez les ectomycorhizes formés avec P_{S1} ce manteau fortement pigmenté en surface s'éclaircit en profondeur. Le réseau de Hartig est constitué de fins filaments qui s'imbriquent entre les cellules allongées de la dernière assise cellulaire du cortex racinaire.

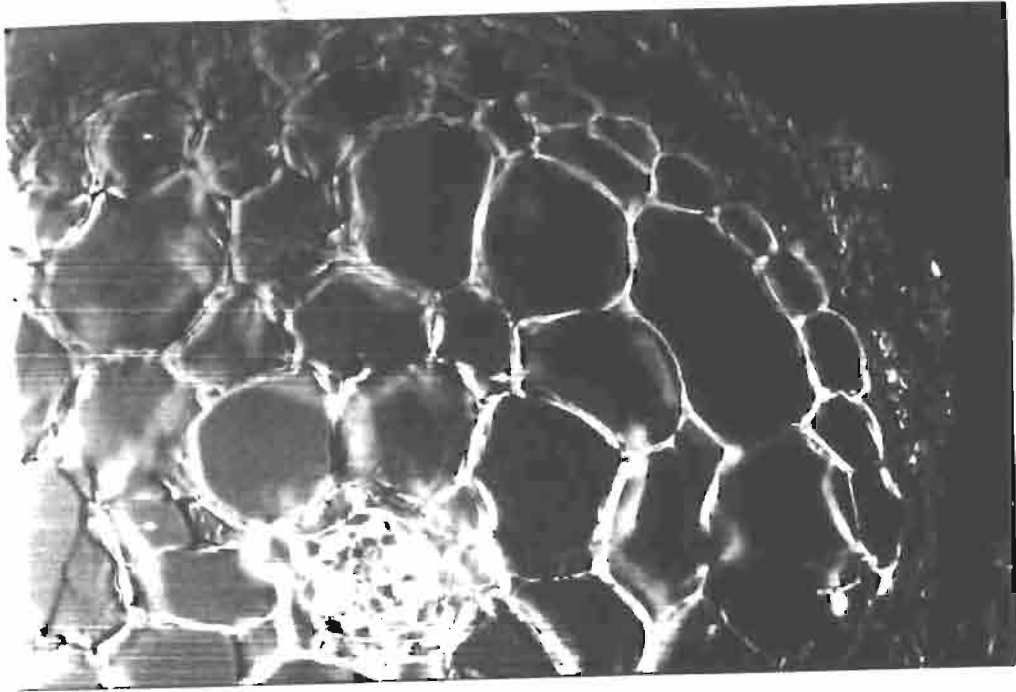


Fig. 32 COUPE TRANSVERSALE DU RESEAU DE HARTIG CHEZ
 L'ACACIA MANGIUM

Mise en évidence de l'intime symbiose entre le Pisolithus sénégalensis p.t.
et l'Acacia mangium.

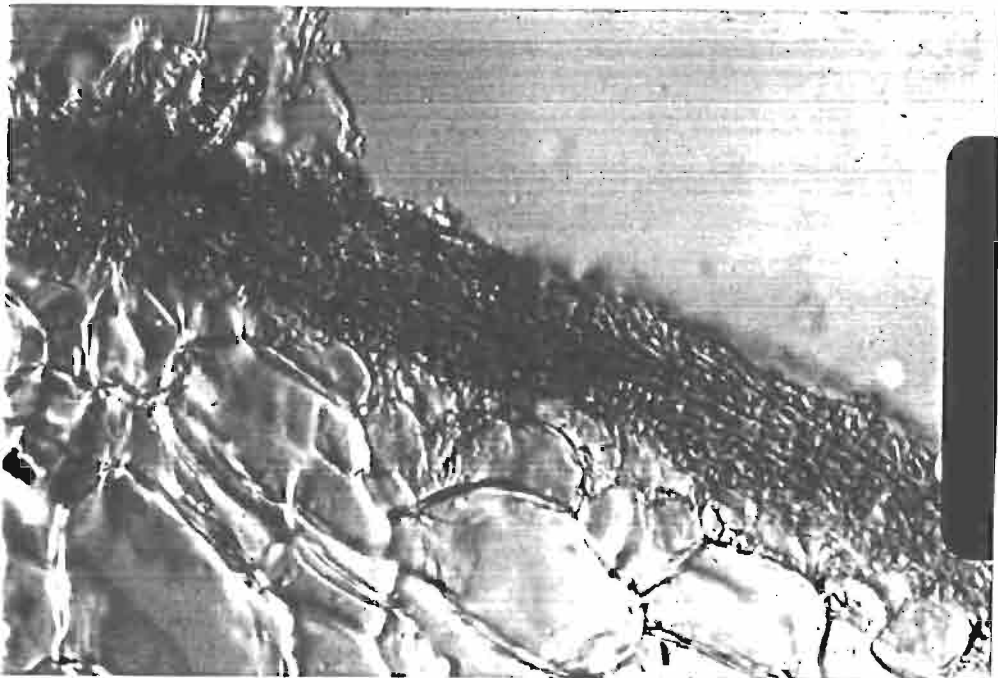


Fig. 33 COUPE LONGITUDINALE DU RESEAU DE HARTIG.

3.5.2. Endomycorhizes V.A.M.

3.5.2.1. Synthèse en gaine

De jeunes plants de A. mangium sont cultivés sur du sol acide de Casamance et sur du sol de Bel Air stérile. Ils ont été inoculés par des souches de champignons endomycorhiziens. (Glomus mosseae). L'expérience s'est déroulée sur 20 semaines.

Des racines courtes ont été prélevées pour étudier l'infection. Aucune infection n'a été observée au stade actuel de nos observations.

3.5.2.2. Piègeage

Des expériences de piègeage sont effectuées sur le sol acide de Casamance dans des gaines de polyéthylène. Ces expériences ont duré 18 semaines. Une symbiose endomycorhizienne a été observée entre Acacia mangium et une souche d'endogonacée locale (fig. 34). Cette souche n'a pas encore été déterminée. Le pourcentage de l'infection est presque toujours supérieur à 75 %.

Nous venons ainsi de mettre en évidence, pour la première fois chez une légumineuse australienne à croissance rapide des régions humides : Acacia mangium Willd, l'existence d'une triple symbiose. Une symbiose avec un Bradyrhizobium (souche indigène), une symbiose avec un champignon ectomycorhizien Pisolithus senegalensis p.t. et une symbiose avec un champignon endomycorhizien.

Des expériences sont en cours pour analyser les effets de cette symbiose sur la croissance de Acacia mangium. Dès et déjà des résultats préliminaires montrent que les jeunes plants âgés de 33 jours, cultivés en gaine de polyéthylène sur du sol acide de Casamance stérile et inoculés par des souches de champignons endomycorhiziens et/ou ectomycorhiziens ainsi que des souches de Bradyrhizobium montrent des différences assez remarquables (fig. 35).

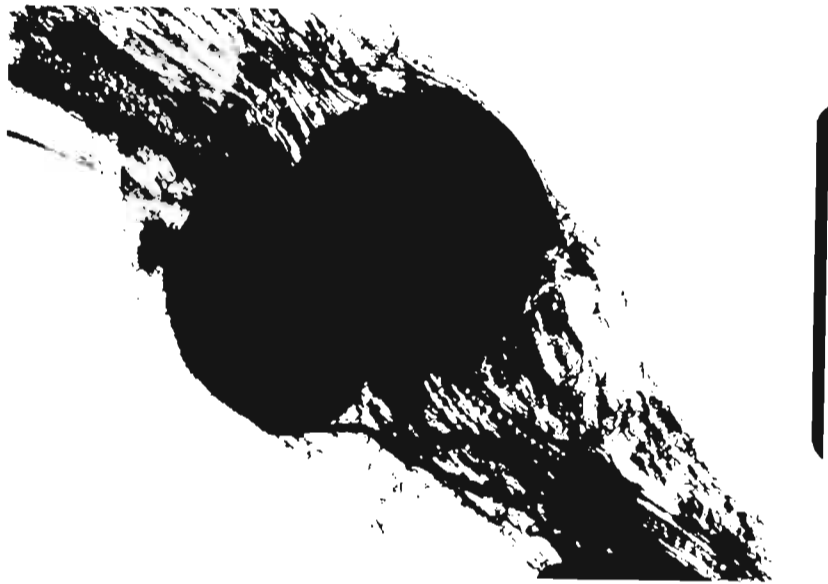


Fig. 34

Mise en évidence de l'endomycorhization de l'Acacia mangium avec une souche de champignon indigène (qui n'a pas encore été déterminée).





Fig. 35

Jeunes plants de A. mangium âgés de 33 jours cultivés sur un sol acide de CASAMANCE stérile non inoculés (plants 1 et 2) inoculés avec un champignon endomycorhizien et un Bradyrhizobium (plant 3) inoculés avec un champignon ectomycorhizien et un Bradyrhizobium (plant 4).

4.- CONCLUSION

En dépit du formidable succès de quelques systèmes symbiotiques des arbres fixant l'azote en foresterie et en agroforesterie, quelques auteurs se posent la question de la validité de ces systèmes sur le plan économique, surtout si l'on considère la facilité d'application des engrais azotés et leur acquisition relativement aisée par rapport à l'utilisation de ces systèmes fixateurs d'azote (Turvey and Smethrust, 1983).

Cette façon de voir peut être valable pour les pays tempérés. Dans les pays tropicaux où la dénitrification est extrêmement intense et diminue même parfois l'activité des engrais azotés, et où le prix est parfois très élevé, on ne doit pas encourager cette approche chimique de la solution du problème mais tout au contraire privilégier la voie biologique de la fixation de l'azote.

L'amélioration de la fixation de l'azote passe par celle du micro-organisme symbiotique par celle de la plante-hôte. Comme pour les plantes annuelles, l'inoculation des espèces forestières ne peut être envisagée, pour avoir des effets bénéfiques, que si la souche à introduire est plus compétitive et plus effective que les souches locales. La différence entre les plantes annuelles et les arbres est que les plants sont élevés dans un substrat inerte dans une pépinière avant d'être transférés au champ pour contrer les attaques des racines par des pathogènes.

Dans cette situation, l'inoculation avec une souche de Rhizobium spécifique est fortement recommandée et l'effet bénéfique est inversement proportionnelle à la teneur en azote du substrat plus il est bas, plus l'effet bénéfique est élevé.

Quand les jeunes plantules sont transférées au champ, deux phénomènes peuvent avoir lieu. Si une souche spécifique et effective de Rhizobium est présente dans la station de la plantation, l'écart entre les plants inoculés et non inoculés tend à diminuer au bout de quelques années (Cornet et Diem, 1982). Si par contre la souche n'est pas présente, les effets bénéfiques sont spectaculaires. Un exemple est l'absence de réponse notée au Sénégal à une inoculation : 17 mois après l'inoculation chez Acacia holoserica.

Les plants inoculés mesurant 1,19 m et les non inoculés 1,05 m (Cornet et al 1985). La raison majeure est que le sol contenait déjà la souche inoculée à Acacia holoserica. Par contre en Australie avec Leuceana leucocephala, les plants inoculés mesuraient 2,10 m et les non inoculés 0,33 m (Diatloff 1973).

Du fait que la plupart des sols du Sud du pays sont acides, il est envisageable de sélectionner les souches en fonction de leur tolérance à l'acidité et aux fortes concentrations en aluminium. Il est à noter que la plante hôte est moins tolérante à ces contraintes que la bactérie symbiotique. Il est donc nécessaire de ne pas toujours mettre l'adaptation du microorganisme, mais aussi de la plante hôte. Ceci est bien illustré par le comportement de Leucaena leucocephala qui inoculé avec une souche de Rhizobium tolérante à l'acidité, dans une station à bas pH, n'a pas permis d'augmenter le développement du Leucaena malgré la nodulation induite (Halliday, 1985). Toutefois il est reconnu que le processus de la symbiose, notamment la nodulation est beaucoup plus sensible à l'acidité que la bactérie seule ou la racine poussant seule (Evans et al, 1980).

Ceci est contre l'idée selon laquelle les souches locales s'adaptent mieux aux conditions environnementales et par conséquent sont plus effectives dans ces conditions locales. Il a été observé que certaines souches de Bradyrhizobium introduites fixaient mieux l'azote que certaines souches indigènes de la station. C'est ainsi que Tal 651 isolé à partir de Psophocarpus sp- et provenant de la collection MIRCEN à Hawaï était plus efficace sur Acacia holosericea au Sénégal que les souches locales (Cornet et Diem 1982). Il est donc envisageable de travailler aussi bien sur les microorganismes que sur la plante-hôte pour un meilleur devenir de cette symbiose.

Dans les systèmes symbiotiques fixateurs d'azote, le génotype de la plante hôte est considéré comme en interrelation avec la souche de Rhizobium infective en conditionnant le potentiel de la fixation de l'Azote. Il est possible d'exploiter les différences énormes qui existent entre les génotypes de ces espèces végétales. Excepté Leucaena leucocephala et Prosopis ssp, la variation génétique des légumineuses arborescentes n'est pas encore très bien exploitée (Koslowski and Huxley 1983).

Il est aussi important de contrôler, voire de dominer les règles d'aménagement comme l'application des engrais qui, si elle est une excellente chose en agriculture, n'est pas toujours profitable en foresterie ou en agroforesterie. Quelques alternatives existent. La plus connue est l'inoculation avec des champignons mycorhiziens. La double inoculation des arbres avec un Rhizobium et un V.A.M. donne des résultats meilleurs que l'inoculation avec un Rhizobium seul. Le fait remarquable est que l'inoculation avec des V.A.M. augmente l'uniformité des arbres après la transplantation (Cornet et al 1985).

C'est pourquoi Acacia mangium pouvant présenter : une nodulation avec une souche de Bradyrhizobium infective et très efficiente (Bay I) (souches indigènes) ; une symbiose endomycorhizienne (souches indigènes) et une symbiose ectomycorhizienne (Pisolithus senegalensis p.t.) qui est aussi une souche indigène, est un atout extraordinaire à jouer dans le sud du pays où l'on peut s'attendre à de multiples avantages.

A l'annexe 5 figurent des sites envisageables pour son implantation dans le sud du Sénégal.

BIBLIOGRAPHIE

B I B L I O G R A P H I E

- ALLEN O.N. and ALLEN E.K., 1981. - The leguminosae. A source book of characteristics, uses, and nodulation. University of Wisconsin Press, Madison.
- ALEXANDER, I.J. and HOGBERG, P. 1986. Ectomycorrhizas of tropical angiospermous trees *New Phytol.* 102, pp 541 - 549
- ANDREW C.S., 1977. - Nutritional restraints on legume symbiosis.
In *Exploiting the legume/Rhizobium symbiosis in tropical agriculture* (eds. J.M. VINCENT, A.S. WHITNEY and J. BOSE)
College of Tropical Agriculture, university of Hawai'i. PP 253 - 326
- ANDREW, 1978. - Legumes and acid soils. In *Limitations and potentials for biological nitrogen fixation in the tropics* (eds J. DOBEREINER, R.H. BURRIS and A.E. HOLLAENDER) pp 135 - 60. Plenum NEW-YORK.
- BA A.M., 1985 : Symbiose ectomycorhizienne chez 2 espèces forestières tropicales, *Azelia africana* et *Uapaca guinéensis* Mull Arg. Mémoire élève ORSTOM, 41 pages.
- BA A.M. ; SOUGOUFARA B. ; THOEN D. 1987. The triple symbiosis of *Casuarina equisetifolia* in Sénégal
Proceedings of the 7th North American conference on Mycorrhiza, Gainesville, Florida USA 1987.
- BERGENSEN F.J., 1977. - Factors controlling nitrogen fixation by rhizobia.
In *biological nitrogen fixation in farming systems of the tropics.*
(eds A. AYANABA and P.J. DART) pp 135 - 199 John WILEY, Chichester.
- BOND G., 1983. - Taxonomy and distribution of non-legumes nitrogen-fixing systems. in *Biological nitrogen fixation in forest ecosystems : foundations and applications* (eds J.C. GORDON and C.T. WHEELER) pp 57 - 87.
- BONFANTE-FASOLO P., 1982. - Interactions entre plante-hôte et champignon mycorhizien : Rôle des polysaccharides et des protéines des parois cellulaires Colloque de l'INRA. Les mycorhizes partie intégrante de la plante.
Dijon 5 et 6 mai. pp 41 - 50.
- BOULLARD B. 1968. - Les mycorhizes
Monographie 2 Masson et Cie, Paris : 175 pages.
- BOULLARD B. 1982. - Brève réponse à une question : que recouvre la notion de mycorhizes ? Colloque INRA : Les mycorhizes partie intégrante de la plante. Dijon 5 et 6 mai : 15 - 24.

- BOWEN G.D. and THEODOROU C. 1979. - Interactions between bacteria and ectomy-
corrhizal fungi : Soil biol. Biochem, 11 pp 119 - 126.
- BOWEN G.D., 1980. - mycorrhizal roles in tropical plants and ecosystem. In
tropical mycorrhiza research. Edited by P. MIKOLA. Oxford Science
Publication. PP 165 - 191 .
- CHILVERS, G.A. ; DOUGLAS P.A. and LAPEYRIE F. F. 1986
A paper - Sandwich technique for rapid synthesis of ectomy-
corrhizas New Phytol 103 pp 397 - 402.
- CISSOKO C. A. K., 1984. - La lutte contre la désertification. Politique
nationale de reboisement. Communication du Ministre chargé de la
Protection de la Nature. Dakar.
- CORNET F., 1981. - Recherches préliminaires sur la symbiose de deux Acacia
tropicaux (A. radiana et A. holosericea avec Rhizobium sp et un
champignon endomycorhizien (Glomus mosseae) Mémoire de 3ème année
E.N.I.T.E.F. 58 pages.
- CORNET F., DIEM H.G. et DOMMERGUES Y.R., 1982. - Effet de l'inoculation avec
Glomus mosseae sur la croissance d'Acacia holosericeae en pépinière
et après transplantation sur le terrain. Colloque INRA : Les my-
corrhizes partie intégrante de la plante. Dijon 5 et 6 mai. pp
287 - 294.
- CORNET F. and DIEM H.G., 1982. - Etude comparative de l'efficacité des souches
de Rhizobium d'Acacia holosericea et Acacia raddiana (bois for. trop.
198 : 3 - 15.
- CORNET F., OTTO C., RINAUDO G., DIEM H.G. and DOMMERGUES Y.R., 1985. -
Nitrogen fixation by Acacia holosericea grown in field simulating
conditions Oecol. plant., 1985 6 (2à) n°2 - 211 - 218.
- DART, P. J. 1977. - Infection and development of leguminous nodules. In :
A treatise on dinitrogen fixation, section III (R.W.F. Hardey et
W.S. Silvers eds) John Wiley and Sons, New York 367 - 472.
- DANARIE et TRUCHET G. 1979. - La symbiose Rhizobium - légumineuse. Rôles res-
pectifs des partenaires. Physiologie végétale 17, 675 - 667.
- DEHEIMER J., GIANINAZZI PEARSON V., et GIANINAZZI S. - 1982. - Acquisitions
récentes sur la physiologie des mycorrhizes VA au niveau cellulaire.
Colloque INRA : les mycorrhizes partie intégrante de la plante.
Dijon 5 et 6 mai 1982. pp 61. 74
- DIATLOFF 1973. - Leucaena needs inoculation. Qld agric. J. 99, 645.
- DE ALWIS D.P. and ABEYNAYAKE. K. 1978. - A survey of the mycorrhizae in
some forest trees of Sri lanka. In Tropical Mycorrhiza. pp. 135 - 155
Provisional report on the proceedings of the international Workshop
on Tropical Mycorrhiza Research, 28 August - 6 september 1978, Kumasi.
Ghana ISF Stockholm, Sweden, 514 p.

- DREYUS and DOMMERGUES, 1981. - Nodulation of Acacia species by fast and slow growing tropical strains. Appl Environ. microbiol, 41. 97 - 105
- DREYFUS B. L., DIEM H. G., FREIRE J., KEYA S.O. and DOMMERGUES Y.R., 1986. - In manuscript, Proc. Seminar on Nitrogen fixing trees. Dakar, march, 1986. IDRC, Ottawa (in Press).
- ELKAN G. H., 1984. - Taxonomy and metabolism of Rhizobium and its genetic relationships. in Biological nitrogen fixation ecology, Technology and Physiology (ed. MALEXANDER) pp 138. Plenum Presse, New York.
- EVANS H.J., BOTTOMLEY, P.J. and NEWTON, W.E. (ed) 1985. - Nitrogen fixation research progress Nijhoff/Junk, The Hague.
- FAO, 1983. - Technical handbook on symbiotic nitrogen fixation; Food and Agriculture organization of the united Nations, Rome.
- FELKER P., 1984. - Legumes trees in semi arid and arid areas. Pesq - Agropec Bras. Brasilia 19. 47 - 57.
- FREIRE J.R.J., 1984. - Important limiting factors in soil for the Rhizobium legume symbiosis. In biological nitrogen fixation ecology, technology and physiology (ed M. ALEXANDER) pp 51 - 74. Plenum Press. New York.
- FORTIN, J.A. PICHE Y. et LALONDE, M. 1980.
Technique for the observation of early morphological echanges during ectomycorrhiza formation Can J. Bot 58, pp 361 - 364.
- France R.C. and Reid 1978
In Physiologie des racines et symbiose (eds A. Riedacker et S. Gagnaire - Michard) pp 336 - 345.
- GARIBAYE. G., 1982. - Quelques aspects de la compétitivité des souches ectomycorhiziennes. Colloque INRA. Les mycorhizes partie intégrante de la plante Dijon 5 et 6 mai 1982 : 303 - 312.
- GERDEMAN, J.W. et TRAPPE, J.M. 1974. - The Endogonaceae in the Pacific Northwest Mycologica Mémoir 5, 76 pp.
- GERDEMAN, J.W. et TRAPPE, J.M. 1975. - Taxonomy of the Endogonaceae. In : Endomycorhizas, (F.E. SANDERS, B. MOSSE, et P.B. TINKER, eds) Academic Press, New York, 35 - 51.
- GIANINAZZI PEARSON and GIANINAZZI S., 1985. - The physiology of improved phosphate nutrition in mycorrhizal plants. Actes du 1er symposium Européen sur les mycorhizes. Dijon 1 - 5 juillet 1985. Aspects physiologiques et génétiques des mycorhizes. 101 - 110.

- GIANINAZZI - PEARSON V., 1982. - Importance des mycorhizes dans la nutrition et la physiologie des plantes : Colloque INRA. Les mycorhizes partie intégrante de la plante. Dijon 5 - 6 mai 1982. 51 - 60.
- GIBSON, DREYFUS B.L. and DOMMARGUES Y.R., 1982. - Nitrogen fixation by legumes in the tropics. In microbiology of tropical soils and plant productivity (eds Y.R. DOMMARGUES and H.G. DIEM). pp 36 - 73.
- GRESSHOFF, P.M., DAY, D. DELVES, A.C., MATHEWS, A.P., OBSER J.E., PRICE, G.D., SCHULLER, K.A., and CARROL, B.J. (1985). - In Nitrogen fixation progress (eds H.J. Evans, P.J. GOTTOMBEY and W.E. Newton) pp 19 - 25 Nijhoff, Junk, The Hague.
- GUEYE, 1979. - Etudes sur la biologie du système racinaire de l'Acacia Sénégal L. Willd. Thèse présentée à l'Ecole des Grandes de l'Université de Laval - 97 pages.
- HALLIDAY, 1985. - Biological nitrogen-fixation. In tropical agriculture. In nitrogen fixation research progress (eds H.J. EVANS, P.J. BOTTOMLEY and W.E. NEWTON) pp 675 - 81 Nijhoff/junk.The Hague.
- HOGBERG P. and KVARNSTROM M., 1982. - Nitrogen fixation by the woody legume : Leucaena leucocephala Plant soil 66. 21 - 8.
- HARLEY J.L., 1969. - The biology of mycorrhiza.
2nd Ed. Leonard Hill-London. 344 pages.
- HARLEY J.L. and S.E. SMITH, 1983. - Mycorrhizal symbiosis. Academic Press.
483 pages.
- HARLEY J.L. and E.L. HARLEY (1987) A check list of mycorrhiza in the British flora - New phytol - suppl. Vol 105 2 pp 1 - 102.
- HOGBERG. P. and NYLUND. J.E. (1981) - Ectomycorrhizae in coastal miombo woodland of Tanzania.
Plant and Soil, 63. 283 - 289.
- Hogberg, P. et Nyland, J.E. 1981 Ectomycorrhizae in costal Miombo woodland of Tanzania Plant and Soil, 63, 283 - 289.
- HOGBERG. P. (1982) - Mycorrhizal associations in somme Woodland and forest trees and shrubs in Tanzania. New Phytol. 92. 407 - 415 P.
- Janse, J.M. 1986. Les endophytes radicaux de quelques plantes javanaises
Annls. Jard. bot. Buitenz 14 pp 53 212
- JORDAN D.C., 1982. - Transfert of Rhizobium japonicum Buchanan 1980 to Bradyrhizobium gen nov., a genus of slow growing root nodule bacteria from leguminous plants. Int. J. Syst. Bactériid 32. 136 - 144

Johston, A. 1949

Vesicular - arbuscular mycorrhiza in Sea Island cotton and otherstropical plants.
Tropical Agri. Trin. 26, pp 118. 121.

JORDAN D.C., 1984. - International committee on systematic Bacteriology.
Subcommittee on the taxonomy of Agrobacterium and Rhizobium. Int.
J. Syst. Bacteriol. 34 - 248.

JARVIS, B.D.W., GILLIS, M., and DE LEY, J. 1986. - Intra and intergenetic
similarities between ribosomal ribonucleic acid cistrons of Rhizo-
bium Bradyrhizobium and somme related bacteria Int. J. System
Bacteriol 36 (In Press.)

KABRE A., 1982. - Mycorrhization de Pinus caribaea (Morelet) var. hondurensis
dans différents sols du Sénégal.
Thèse de Docteur-Ingénieur en biologie végétale.
ORSTOM - Laboratoire de Biologie des Sols - Dakar, 115 p.

KOSLOWSKI, T.T. and HUXLEY, P.A. 1983. - The role of controlled environments
in agroforestry research. In plant research and agroforestry (ed
P.A. Huxley) pp 551 - 617.
ICRAF Naïrobi.

LAPEYRIE F.F. 1983. - Recherches préliminaires sur le rôle des ectomycorhizes
dans l'implantation d'Eucalyptus delegatensis en France
Thèse Docteur Ingénieur, Lyon, 175 pages.

LAPEYRIE, F.F. et CHILVERS, G.A. 1985. - An Endomycorhiza - ectomycorhiza
succession associated with enhanced Growth of Eucalyptus
New Phytol 100 93 - 104.

LIE, T.A. 1974. - Environmental effects on nodulation and symbiotic nitrogen
fixation. in : the Biology of nitrogen fixation, (A. Quispel, ed)
North Holland publishing comany, Amsterdam, 555 - 582.

MALAJCZUK N., 1981. - Presence of vesicular-arbuscular mycorrhizae in Euca-
lyptus spp. and Acacia sp, and their absence in Banksia sp after
inoculation with Glomus fasciculatus. New Phytol 87 : 567 - 572.

MALLOCH, D.W. ; Pirozynski, K.A. and Raven P.H. 1980

Ecological and evolutionary significance of mycorrhizal
symbioses in vascular plants (A. Review)
Proc. Nat. Acad. Sci. USA vol 77 4 pp 2113-21 18

MARX D.H., 1980. - Ectomycorrhizal fungus inoculations : a tool for improving
forestation practices : 13 : 71. In tropical mycorrhiza research,
270 p. Editor P. MIKOLA. Clarendon Press. Oxord - New-York.

- MOUSAIN D. et SALSAC L., 1982. - Nutrition phosphatée et activités phosphatases acides des symbiotes ectomycorhiziens cultivés isolément ou en association. Colloque INRA : les mycorhizes partie intégrante de la plante. Dijon 5 et 6 mai 1982. pp 84 - 87.
- MOUSAIN D., 1984. - Rôle des mycorhizes dans la nutrition minérale des plantes. Annales de la société d'horticulture et d'histoire naturelle de l'herault. Vol. 124. pp 20 - 311.
- MOUSAIN D., 1985. - Aspects écologiques de la symbiose mycorhizienne. Mycorhizes et protection phytosanitaire. Annales de la société d'horticulture et d'histoire naturelle de l'herault Vol 125. pp 34 - 42.
- MUNNS D.N., 1977. - Mineral nutrition and the legume symbiosis. In a treatise on dinitrogen fixation. IV. Agronomy and ecology (Ed. R.W.F. HARDY and A.H. GIBSON) pp 353 - 91. John WILEY. New-York.
- NAKOS, G. 1977. - Acetylene reduction by nodules of Acacia Cyanophylla Sorl Biology and Biochemistry 9, 131 - 133.
- NDAO B. 1986
Essai de mycorhization de l'Eucalyptus Camaldulensis, de Casuarina equisetifolia et de Melaleuca leucadendron - Rapport de stage de fin d'année C.N.E.A.R.C. Montpellier- ORSTOM DAKAR
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1977. - Leucaena : promising forage and tree crop for the tropics. National academy of Sciences. Washington DC.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1979. - Tropical legumes. National academy of Sciences, Washington DC.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1983. - Mangium and other fast - growing Acacia for the humids tropics. National academy of sciences. Washington DC.
- PAUSEY, R.G. 1980. - A review of mycorrhizae inoculation practice in Malawi in : Tropical mycorrhiza Research, pp 90 - 92. Eds Mikola, P. Clarendon Press Oxford.
- PERRIN R. et GARBAYE J., 1982. - Modification du potentiel infectieux des sols infestés par Pythium sp sous l'effet des ectomycorhizes. Résultats préliminaires. Colloque de l'INRA : les mycorhizes partie intégrante de la plante. Dijon 5 et 6 mai 1982. pp 221 - 230.
- PHILIPPES J.M. et HAYMAN D.A., 1970. - Improved procedures clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British mycological society, 55 158 - 161.

PHILLIPS, D.A. 1980 Efficiency of symbiotic nitrogen fixation in legumes.
Annual Review of Plant Physiology 31, 29 - 4.

PHILLIPS D.A. and REUBER L.R., 1985. - Genetic improvement of symbiotic nitrogen fixation in legumes. In Nitrogen fixation research progress (eds H.J. EVANS, P.J. BOTTOMLEY and W.E. NEWTON) pp 11 - 8. Nijhoff/Junk, The Hague.

PIERART P., 1982. - Ecologie des mycorhizes. Notes provisoires sur les compléments de biologie végétale de candidature en sciences biologiques. 67 pages.

PLASSARD C., MARTIN F., MOUSSAIN D., SALSAC L., 1985. - Physiology of nitrogen assimilation by mycorrhiza. Actes du 1er symposium europeen sur les mycorhizes. Dijon, 1 + 5 juillet 1985. Aspects physiologiques et génétiques des mycorhizes. 111 - 120.

(*)

READ, D. J. KIANMEHR, H. and MALIBARI, A. 1977. - The biology of mycorrhiza in *Helianthemum* Mill The New phytologist 78 305 - 312.

Redhead, J.F. 1968 a

mycorrhizal associations in some Nigerian Foresttrees
Trans. Br. Mycol. Soc. 51 (3 and 4) pp 377 - 387.

REDHEAD. J.F. 1968 b. - *Inocybe* sp associated with ectotrophic mycorrhiza on *Azelia bella* in Nigeria.
Commonw. For. Rev. 47. 63 - 65 p.

Redhead, J.F. 1974

Aspects of the biology of Mycorrhizal associations occurring on tree species in Nigeria. Un pub. Ph. D Thesis, Univ. Ibadan, 378 pp.

Redhead, J.F. - 1979

Soil mycorrhiza in relation to soil fertility and productivity.
Division of forestry university of Dar es Salam Morogoro.

(*) PORTER, P.E., NELSON, I.S. and WOLD, E.K., 1966.- Plastic Pouches.
Crops and Soils. 18 : 10 - 11.

Redhead, J.F. 1980

Mycorrhiza in Natural tropical forest.
Tropical Mycorrhiza Research (Ed by Mikola)
pp 127 - 142 - Clarendon Press - Oxford.

- REDHEAD J.F., 1980. - Mycorrhiza in naturel tropical forests.
In. tropical mycorrhiza research. Edited by P. MIKOLA. Oxford
science publication. 127 - 142.
- REISS, S. et RAMBELLI, A. 1980 Mycorrhiza in Natural tropical forest
Tropical Mycorrhiza Research (Ed. by Mikola)
pp 127 - 142 - Clarendon Press-Oxford
- RINAUDO, G. 1970. - Fixation biologique de l'azote dans trois types de sols
de rizière de Côte d'Ivoire.
Thèse de Docteur Ingenieur, Faculté des Sciences de Montpellier,
25 - 27.
- Roland BLONDEAU, 1980 : Fixation biologique de l'azote atmosphérique (eds
Vincent Université Biologie) 102 pages.
- ROSKOKI J., MARTANO J., VAN KESSEL C., and CASTILLEJA G., 1982. - Nitrogen
fixation by tropical wood legumes : Potential source of soil en-
richment. In Biological nitrogen fixation technology for tropical
agriculture (Ed. P. H. GRAHAM) pp 447 - 57. CIAT, Cali.
- ROUSSEL J., 1984. - Germination des semences forestières, utilisation de
l'acide sulfurique concentré en prétraitement des principales
espèces sahéliennes, techniciens et ingénieurs responsables de
pépinières de production. Centre national de Recherches fores-
tières - Dakar - 5 Pages.
- SALSAC G.L., MENTION M., PLASSARD C., MOUSAIN D., 1982. - Données sur la
nutrition azotée des champignons ectomycorhiziens. Les colloques
de l'INRA : les mycorhizes partie intégrante de la plante. Dijon,
5 et 6 mai 1982 : 129 - 140.
- Schnell, R. 1976
Flore et végétation de l'Afrique tropicale
Gauthiers - Villard. Bordas, Paris.
- SCHOLLA, M.H. and ELKAN, G.H. 1984. - Rhizobium fredii sp nov., a fast
growing species that effectivety nodulates soybean. Int? J.Syst.
Bacteriol, 34 283 - 288.
- SPEIJL, J.I. et GALLACHER, A. 1976. - Anaerobiosis in soybean roots nodules
under water stress. Soil Biology and Biochemistry 8, 317 - 320.
- STRULLU D.G., 1982. - Etude des mécanismes d'accumulation du phosphore dans
les champignons mycorhiziens.
Les colloques de l'INRA : les mycorhizes partie intégrante de la
plante. Dijon, 5 et 6 mai 1982. 75 - 82.

- LE TACON F., 1982. - Perspectives de la maîtrise de la mycorhization en sylviculture. Colloque de l'INRA : les mycorhizes partie intégrante de la plante. Biologie et perspectives d'utilisation. Dijon, 5 et 6 mai 1982. pp 273 - 283.
- THAPAR. H.S. and KHAN. S.N. 1973. - Studies on endomycorrhiza in some forest species. Proc. Indian. Nat. Sci? Acad. B. Forest Research Institute Derha Dun. India.
- THOEN D., 1974. - Premières indications sur les mycorhizes et les champignons mycorhiziques des plantations d'exotiques du Haut-Shaba (République du Zaïre).
Bulletin des Recherches agronomiques de Gembloux. 9. 215 - 227.
- THOEN D., 1982. - Symbioses végétales et environnement : 99 - 103, In Environnement. édité par A. DOYEN et A. TIBESAR. ESE-ENDA - Dakar.
- THOEN D. and BA A.M. 1987
Observation on the fungi and the ectomycorrhizae of Afzelia africana and Uapaca guineensis in Southern Senegal - Pceedings of the 7 th North American Conference on Mycorrhizae, Gaines -
-Ville Florida U.S.A. 1987.
- THOMAZINI. L.I. 1974. - Mycorhiza in plants of the cerrado. Plant and Soil, 41. 70/-711 p.
- TUFAS, G.L. and SAJISE, P.E. 1976. - Mycorrhizal associations in some savanna and reforestation trees. Kalikasan. 5. 235 - 240 p.
- WILSON J.M. 1970. - A manual for the practical study of the root nodule bacteria I.B.P. Handbook n° 15 Blackwell Scientific Publication, Oxford, 164 pp.

6.- GLOSSAIRE

CHAMPIGNON ECTOMYCORHIZIEN : champignon susceptible de former des ectomycorhizes avec la plante. Il désigne le champignon seul.

CHAMPIGNON ENDOMYCORHIZIEN : Champignon susceptible de former des endomycorhizes VA. Ce terme désigne le champignon indépendamment des tissus racinaires.

CONCENTRATION EN N OU EN P : Pourcentage de ces éléments dans les parties aériennes (tiges et feuilles) des plantes.

EFFICACITE (ou effectivité): Ce terme peut s'appliquer à une souche de Rhizobium ou à un champignon endomycorhizien.

1 - Cas d'une souche Rhizobium :
Aptitude d'une souche de Rhizobium à fixer N₂ dans le nodule.

2- Cas d'un champignon endomycorhizien :
Aptitude d'un champignon endomycorhizien à stimuler la croissance d'une plante.

ECTOMYCORHIZE :
Organe mixte résultant de la colonisation du cortex d'une racine par un champignon. Cet organe est caractérisé par la présence d'un manteau péri-racinaire avec des filaments mycéliens qui pénètrent entre les cellules épidermiques et parois corticales, créant ce qu'on appelle le Réseau de Hartig.

ENDOMYCORHIZE VA :
Organe d'origine mixte résultant de la colonisation du cortex d'une racine par un champignon. Cet organe est caractérisé par la présence de vésicules et d'arbuscules d'origine fongique dans les cellules corticales.

HYPHE :
Filament d'origine fongique dont l'ensemble constitue l'appareil végétal des champignons.

INFECTION ENDOMYCORHIZIENNE: Développement du champignon endomycorhizien à l'intérieur des racines de la plante-hôte. On distingue la fréquence d'infection, c'est-à-dire le pourcentage de racines infectées, et l'intensité d'infection qui est le pourcentage du volume de cortex racinaire infecté.

INFECTIVITE :
Aptitude d'une souche de Rhizobium à induire la formation de nodules chez une légumineuse. Cette notion n'implique pas celle d'efficacité.

NODULATION :
Résultat de la succession d'événements aboutissant à la formation d'un nodule.

SPECIFICITE : 1 - Cas de Rizhobium
Ce caractère peut se rapporter à la souche ou à la plante-hôte :

a) Spécificité de la souche : propriété d'une souche définie par son spectre d'hôtes. Une souche très spécifique a un spectre d'hôtes réduit, une souche peu spécifique a un large spectre d'hôte.

b) Spécificité de la plante-hôte : aptitude d'une plante à être nodulée par un nombre plus ou moins important de souches de Rhizobium. sp

2- Cas des MVA
On admet que la symbiose endomycorhizienne n'est pas spécifique en ce qui concerne l'infection mycorhizienne. En revanche, il existe une certaine spécificité en ce qui concerne l'efficacité de l'association symbiotique.

SPECTRE D'HOTE : Ensemble des plantes-hôtes qui nodulent avec une même souche de Rhizobium.

SPOROCARPES : Organes reproducteurs de certains champignons constitués de plusieurs spores.

TENEUR TOTALE EN N OU EN P : Poids de ces éléments par partie aérienne des plantes.

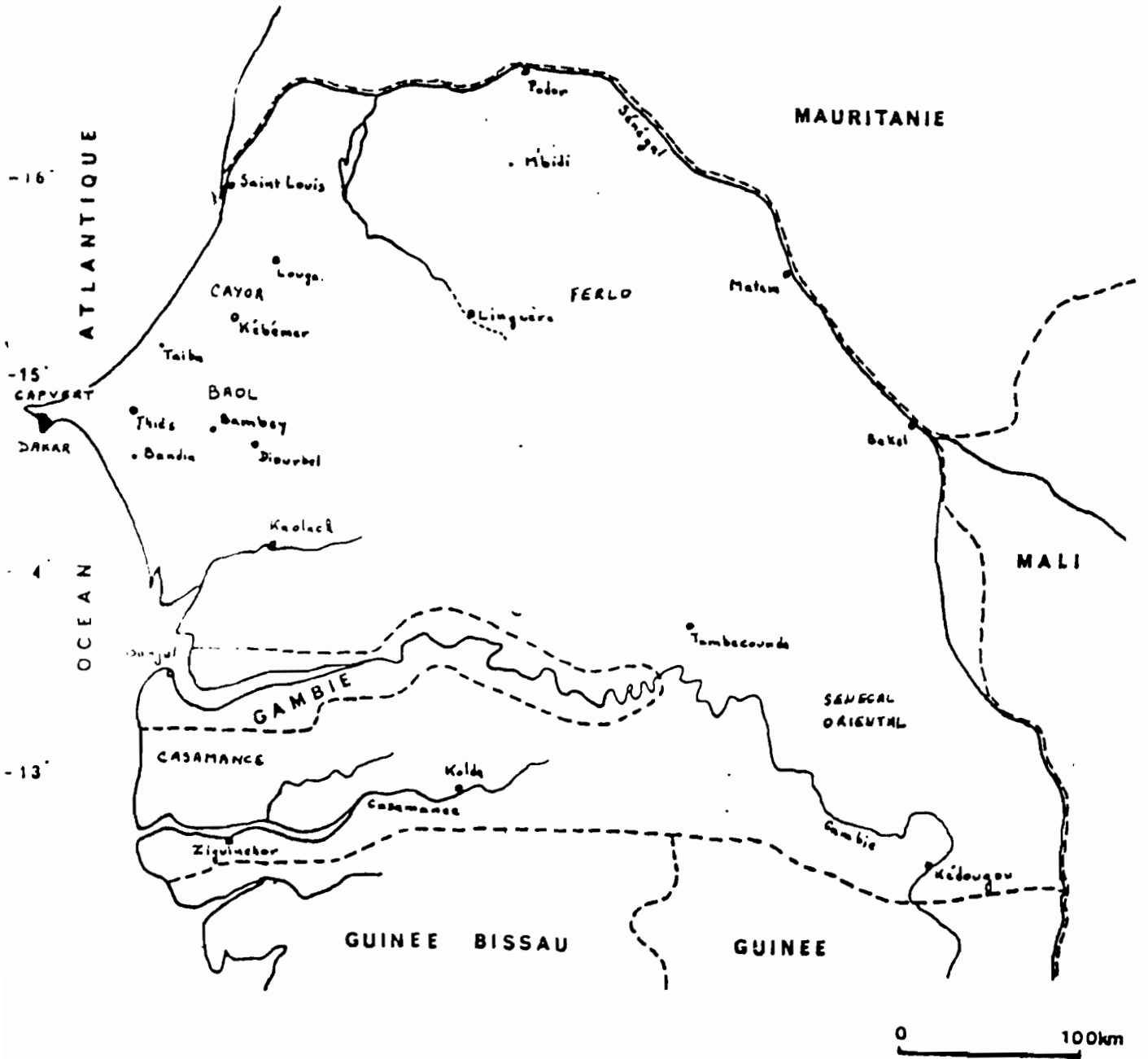
7.- ABREVIATIONS

- A. R. A. : Activité Réductive d'acétylène. Elle peut être rapportée à la plante : ARAP, ou au poids sec des nodules ARAS. (S = spécifique)
- C. N. R. F. : Centre National de la Recherche Forestière.
- D. O. : Densité Optique.
- E. C. : Eucalyptus camaldulensis
- O. R. T. : Organisation-Reconstruction-Travail
- MNM : Milieu de Mélin et norskman
- MVA : Mycorhizes à vésicules et arbuscules
- VA : Vésicules et arbuscules.

8.-ANNEXES

- 01 - Carte de la République du Sénégal
- 02 - Isohètes du Sénégal et localisation des sites
- 03 - Carte de la région naturelle de l'Acacia mangium
- 04 - Principales caractéristiques des sols de Casamances
- 05 - Tableau des différentes localités où une implantation de l'Acacia mangium est envisageable en Casamance.
- 06 - Appareil de Parnas - Wagner.
- 07 - Genres signales pour posséder des espèces ectomycorhizées présentes au Sénégal
- 08 - Souches de champignons isolées au Sénégal à partir de Carpophores.

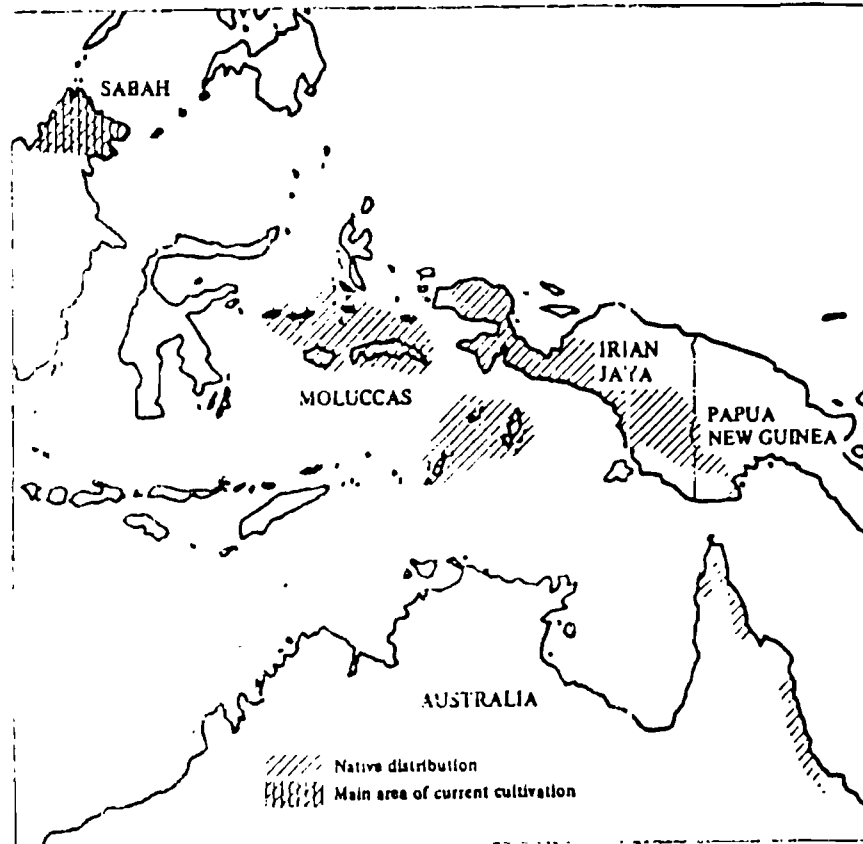
ANNEXE 1



CARTE DE LA REPUBLIQUE DU SENEGAL

ANNEXE 3

Carte de la région naturelle de l'Acacia mangium.



Mangium is native to three small areas of Queensland, the southwestern portion of Guinea, and the islands of eastern Indonesia. In the last decade it has been planted widely in Sabah, Malaysia (where it is, for instance, the principal species in a 200,000 hectare reforestation scheme), but so far it is little known elsewhere.

SOURCE : National Research Council (1983).

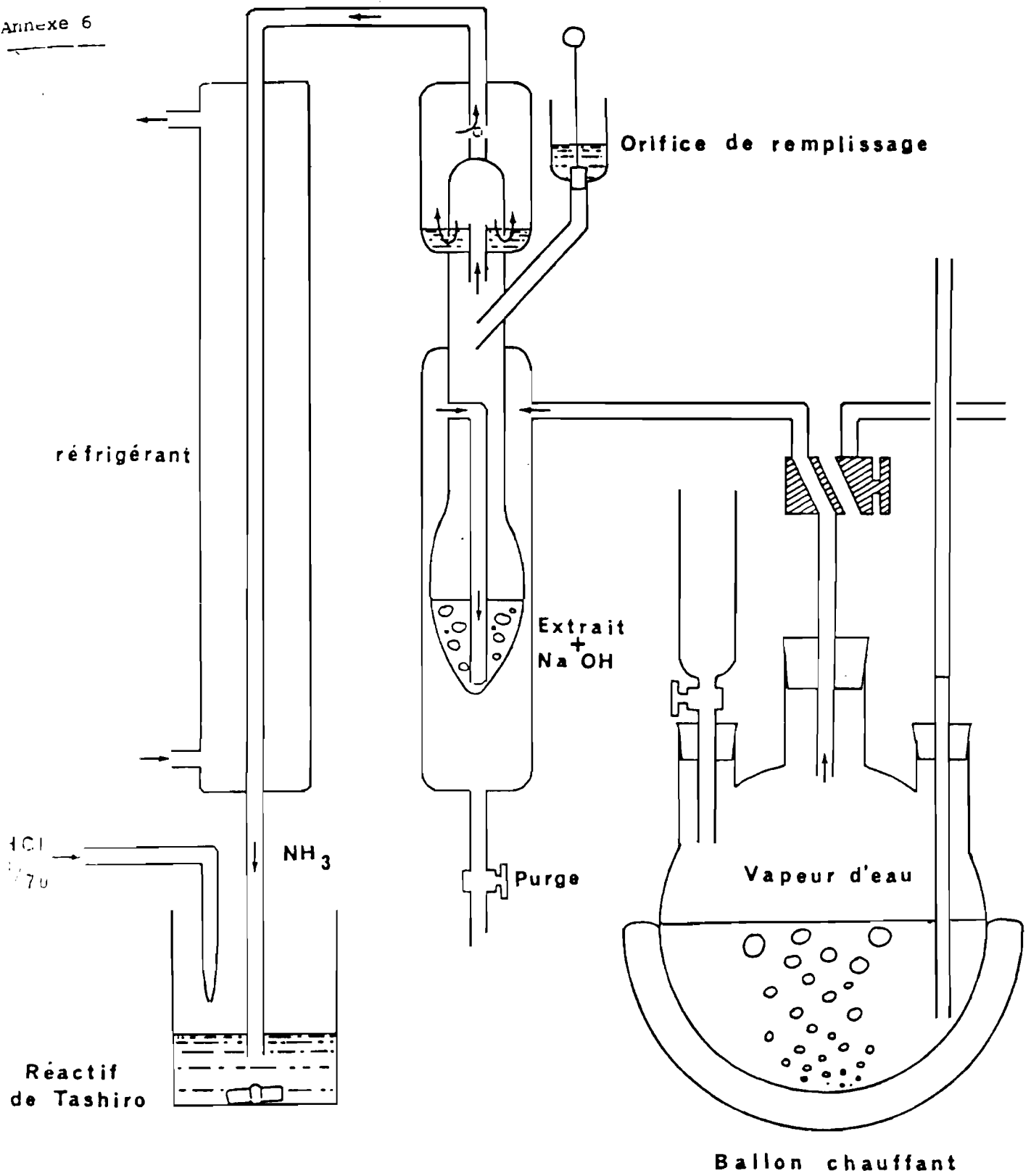
Principales caractéristiques physiques et chimiques des sols prélevés en CASAMANCE
(Analyses effectuées par le laboratoire de chimie de l'ORSTOM Dakar).

S O L S	Argile (%)	Limon (%)	Sable (%)	P assimi- lable (ppm)	P total	N total	C/N	pH (KCI N)	pH (H ₂ O)
BAYOTTES	11.5	7.1	79.5	10	49	320	16.4	3.8	4.9
BIGNONA	9.5	6.4	80.9	13	67	540	13.9	6.5	7.5
DIAKENE	6.9	9.2	83.5	23	41	320	11.6	4.1	5.3
DIEGOUNE	4.5	15.1	78.8	11	35	570	13.7	3.8	4.8
DIEMBERRING	2.3	2.3	95.6	43	104	680	12.5	5.9	6.5
DJIBELOR	6.0	9.4	83.9	9	43	340	11.8	3.8	4.9
KABROUSSE	8.3	10.3	80.8	21	61	410	8.5	4.7	5.7
TENDOUK	18.5	41.6	37.7	11	52	670	13.9	4.2	5.4
TOBOR	9.8	8.9	79.5	19	54	660	12.9	5.0	5.8
SANTIABA - MANJAK	7.4	11.2	80.4	13	43	360	8.9	4.0	4.8

* Dosage selon la méthode de OLSEN (1954)

ANNEXE 5 : Sites envisageables pour l'implantation de l'Acacia mangium au Sénégal

SITES	Types de végétation	Altitude (m)	Pluviométrie (m)	Types de sol	pH
1 - Santiaba Manjak (12°24'N, 16°35W) (1) (2)	Guinéenne	10	1800	Sol hydromorphe Sol ferrallitique	4
2 - Bayottes (12°29'N, 16°17'W) (2)	Soudano-guinéenne	10	1600-1700	Sol rouge ferrallitique	3,8
3 - Djibélor (12°34'N, 16°19'W) (2)	"	10	1500-1600	"	3,8
4 - Tobor (12°43'N, 16°14'W)	"	20	1400-1500	"	5
5 - Tendouk (12°46'N, 16°27'W)	"	20	1400-1500	"	4,2
6 - Diégoun (12°49'N, 16°19'W)	"	25	1400-1500	"	3,8
7 - Kalounayes (12°50'N, 16°8'W° 53)	"	"	1300-1400	"	4,5



Schema de l'appareil de PARNAS-WAGNER.

ANNEXE 7

Genres signalés pour posséder des espèces ectomycorhizées,
présents au Sénégal.

FAMILLES	GENRES
CASUARINACEES	Casuarina
EUPHORBIACEES	Uapaca
CAESALPINACEES	Afzelia Anthanona Cassia Swartzia
MINOSACEES	Acacia
MYTRACEES	Eucalyptus Melaleuca
SALICACEES	Salix
SAPINDACEES	Allophyllus
PINACEES	Pinus.

ANNEXE 8 : SOUCHES DE CHAMPIGNONS ISOLEES AU SENEGAL A PARTIR DE CARPOPHORE

	Hôte présumé	Date isolement	H. hercier.	Provenance
Amanita. cf. rubescens	Afz. africana	24.07	7566	FC Bayottes
Amanita. cf. aurefloccose	"	22.07	7545	FC Kalounayes
Tubosaete brunnetose	Uapaca cf. g	25.07	7573	PNBC
Amanita cf. rubescens.	"	25.07	7571	PNBC
Amanita sp.	Afz. africana	27.07	7578.	Bayottes
Amanita sp.	Afz. africana	27.07	7579.	Bayottes
Xerocomus subspinosus	Uapaca cf. g	25.07		PNBC
Pisolithus senegalensis	C. equisetifolia		Ps2	Hann-ORSTOM
"	E. camaldulensis		Ps1	Jard. Bot. Univ.
"	E. camaldulensis			Dakar.
Xerocomus sp.	A. africana	19.06	7514	ékès. Sen Oriental
Amanita sp.	A. africana	21.06	7523	Dindeffelo Sen Ori
				Oriental
Xerocomus cf boletiformis	A. africana	27.08		Thiara-Kolda
Xerocomus rubspinosus	"	"		"
Amanita à verrue grise	"	"		"
Amanita jaune	"	"		"
Truffe ?		26.08		"
Pisolithus senegalensis	E. camaldulensis			CNRF Djibélor
"	"			Tobor-Projet FAO.

Espece	Famille	Période de fructification	Mycorhize	Plante hôte	Provenance
<i>Pulverobolus aff. trinitensis</i>	Boletaceae	Juillet	?	<i>U. guineensis</i>	PNBC
<i>Xerocomus subspinulosus</i>	Boletaceae	Juillet	ecto-	<i>U. guineensis</i>	PNBC
<i>Gyrodon cupreus</i>	Boleteaceae	Juillet	ecto-	<i>E. camaldulensis</i>	Djibelor ISRA/CNRA
<i>Tubosaete brunneosetosa</i>	Boleteaceae	Juillet	?	<i>U. guineensis</i>	PNBC
<i>Amanita rubescens</i>	Amaniteaceae	Juillet	ecto-	<i>U. guineensis</i>	PNBC
<i>Scleroderma sp.</i>	Sclerodermataceae	Aout - sept. Oct. et Nov.	?	<i>A. africana</i>	PNBC, Bayottes, Djebelor, Tobor, Kalounayes.
<i>Russula sp.</i>	Russulaceae	Sept. Oct.	?	<i>A. africana</i>	Bayottes
<i>Boletus sp.</i>	Boletaceae	Sept. Oct.	?	<i>A. africana</i>	Bayottes.

SOUR PNBC = Parc National de Basse Casamance

SOURCE : BA A.M. (1985).

Annexe 10

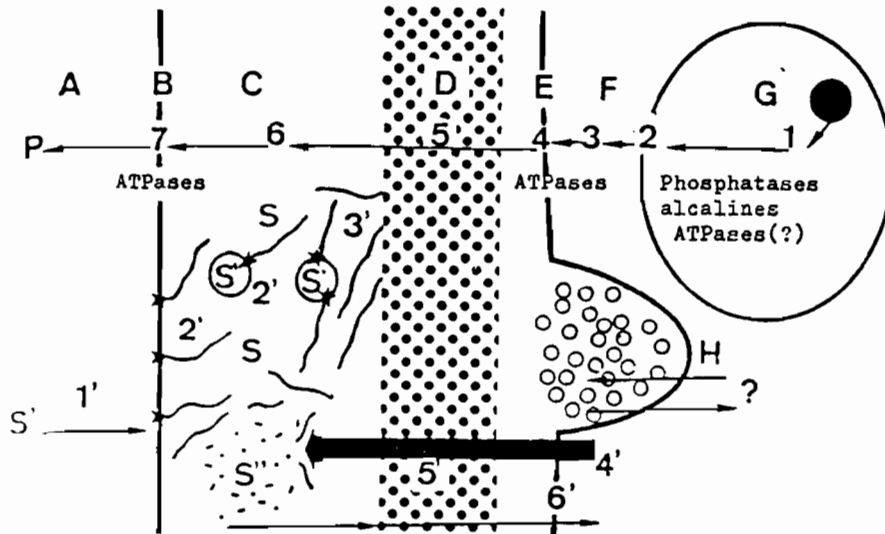


Schéma illustrant les échanges au niveau de l'interface

A : Cytoplasme de la cellule-hôte ; B : Plasmalemme de la cellule-hôte ;
 C : Matrice ; D : Paroi de l'endophyte ; E : Plasmalemme de l'endophyte ;
 F : Cytoplasme de l'endophyte ; G : vacuole avec un granule de polyphosphate ;
 H : Plasmalemmasome de l'endophyte.

Transfert de phosphore :

- 1 : Libération de phosphore à partir d'un granule de polyphosphate.
- 2 : Migration du phosphore à travers le tonoplaste.
- 3 : Migration dans le cytoplasme.
- 4 : Passage à travers le plasmalemme (phénomène actif et intervention des ATPases, ou diffusion passive et participation éventuelle des plasmalemmasomes).
- 5 : Diffusion à travers la paroi fongique.
- 6 : Diffusion à travers la matrice.
- 7 : Traversée active (intervention des ATPases ; pompe ionique) du plasmalemme de l'hôte.

Pour les étapes 1 et 2, intervention probable, mais dont les modalités restent à préciser, des phosphatases alcalines et d'éventuelles ATPases vacuolaires.

Transfert de sucre :

- 1' : Transport de précurseurs des polysaccharides (monomères) (S') dans le cytoplasme de la cellule-hôte,
- 2' : Polymérisation des polysaccharides sur le plasmalemme (S) ou les membranes des plasmalemmasomes. Les astérisques représentent les synthétases incluses dans ces membranes.
- 3' : Polysaccharides accrochés sur la paroi fongique.
- 4' : Emission d'enzymes lytiques par l'endophyte. Libération de sucres solubles (S'').
- 5' : Passage à travers la paroi fongique.
- 6' : Traversées par phosphorylation du plasmalemme fongique (intervention des ATPases).

Les échanges au niveau du plasmalemmasome de l'endophyte sont indiqués par deux flèches en sens contraire accompagnées d'un point d'interrogation. En effet, le rôle de ces structures n'apparaît pas clairement et elles pourraient être impliquées dans des phénomènes aussi variés que la dégénérescence cytoplasmique, l'entrée d'eau au moment de la vacuolisation ou la sortie de phosphore par exocytose.

Source : J. DEXHEIMER (1982)

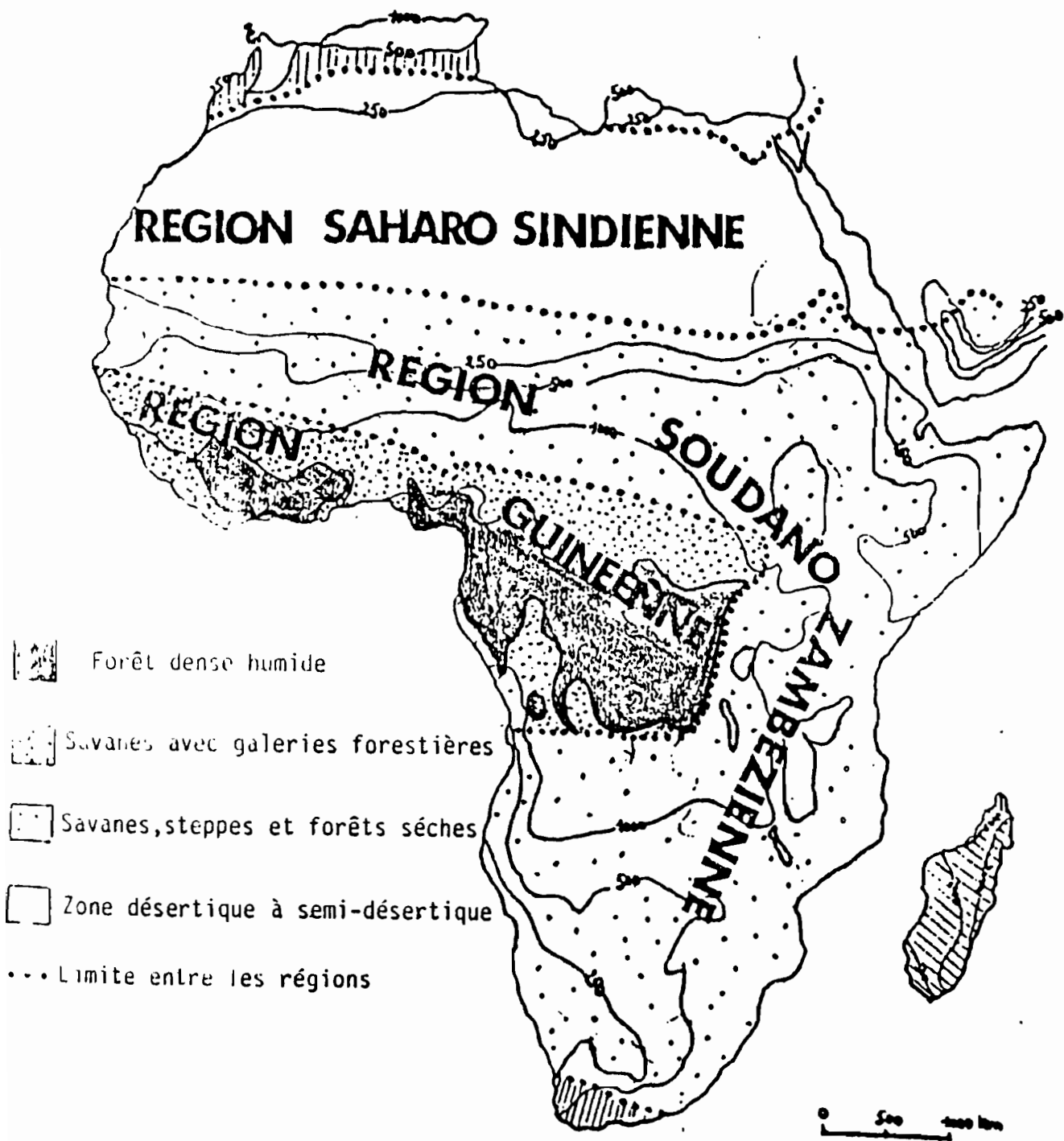
PROCESSUS PHYSIOLOGIQUES AMELIORES SUITE A L'INFECTION
DES PLANTES PAR DES CHAMPIGNONS MYCORHIZOGENES.

Processus physiologiques	Type de mycorhizes	Exemples de Références bibliographiques
Nutrition phosphatée	VA ¹ , éricoïde ² , ectomycorhize	HARLEY 1969, 1978 ; TINKER 1978 ; GIANINAZZI-PEARSON et GIANINAZZI 1981
Nutrition azotée	éricoïde, ectomycorhize	HARLEY 1969n 1978 ; READ 1980
Absorption d'oligo-éléments	VA, ectomycorhize	ROUTIEN et DAWSON 1943 ; SIHANOUTH et TODD 1977 ; TIMMER et LEYDEN 1978, 1981
Tolérance aux métaux lourds	VA, éricoïde	READ 1980 ; BRADLEY et al. 1981 ; GILDON et TINKER 1981
Tolérance au calcaire	ectomycorhize	CLEMENT et al 1977
Absorption d'eau	VA, ectomycorhize	REID 1978 ; DUDDRIDGE et al. 1980 ; GIANINAZZI-PEARSON et DIEM 1982
Production d'hormones	VA, ectomycorhize	HARLEY 1969 ; ALLEN et al. 1980, 1982
Fixation biologique de l'azote	VA	SMITH et DAFT 1977 ; ASIMI et al. 1980 ; ROSE et YOUNGBERG 1981
Résistance aux pathogènes telluriques	VA, ectomycorhize	MARS 1982 ; SCHENCK et KELLAH 1978 ; BARTSCHI et al. 1981

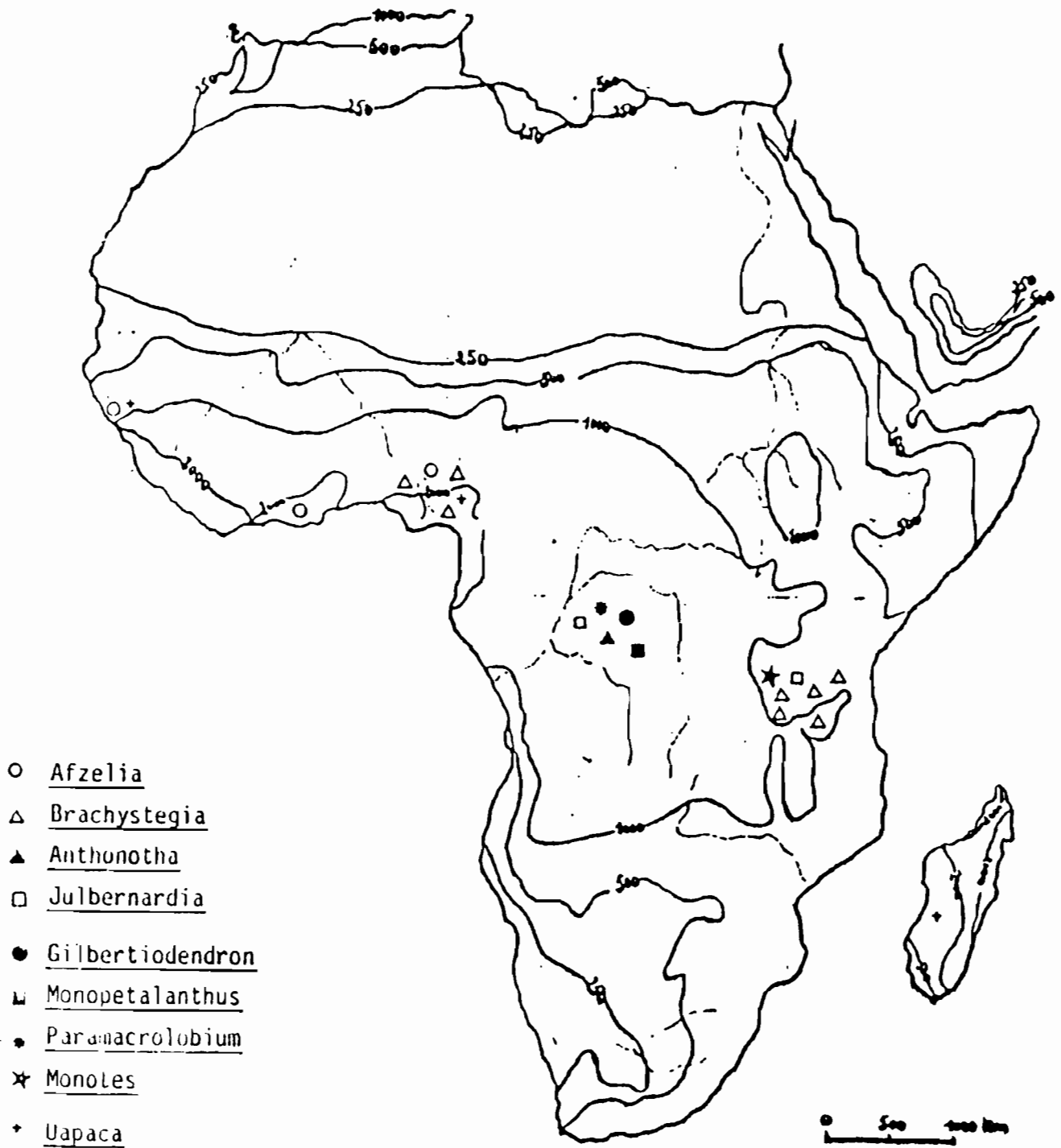
¹ endomycorhize à vésicules et arbuscules

² endomycorhizes spécifiques des Ericacées.

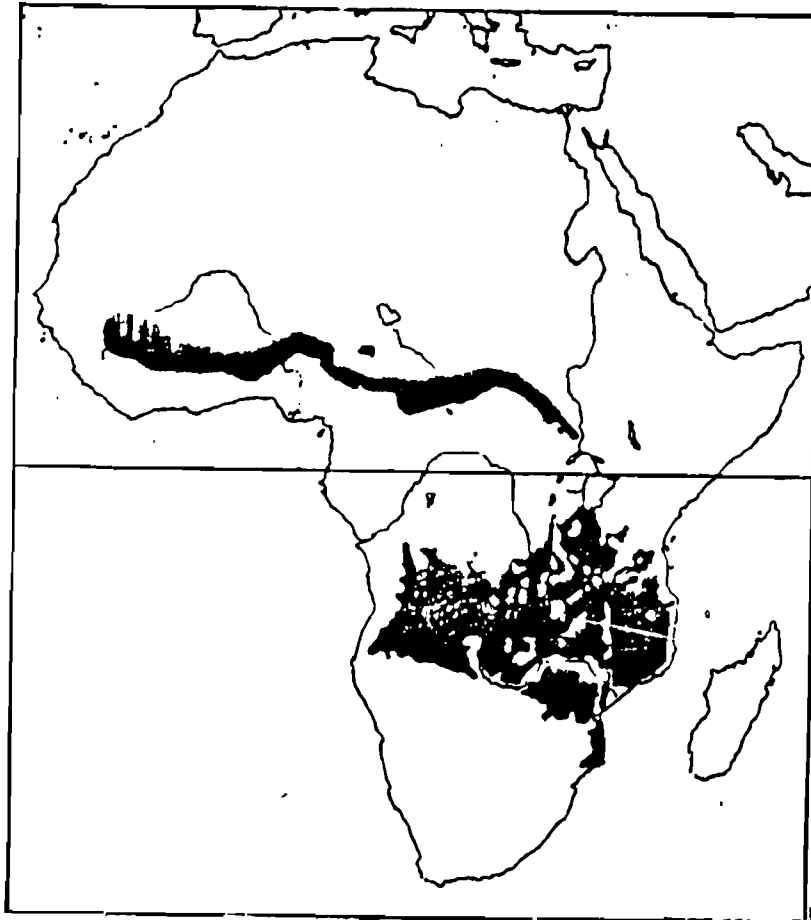
SOURCE : V. GIANINAZZI - PEARSON (1982).



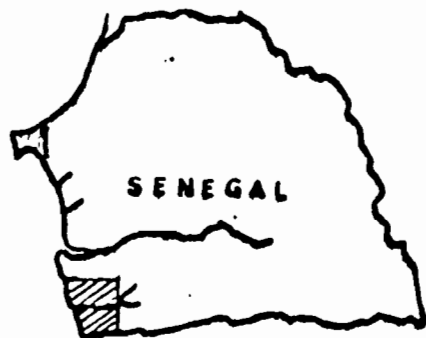
Annexe 12 Carte pluviométrique et subdivisions phytogéographiques de l'Afrique (LEBRUN, 1974). La pluviométrie est exprimée en mm.



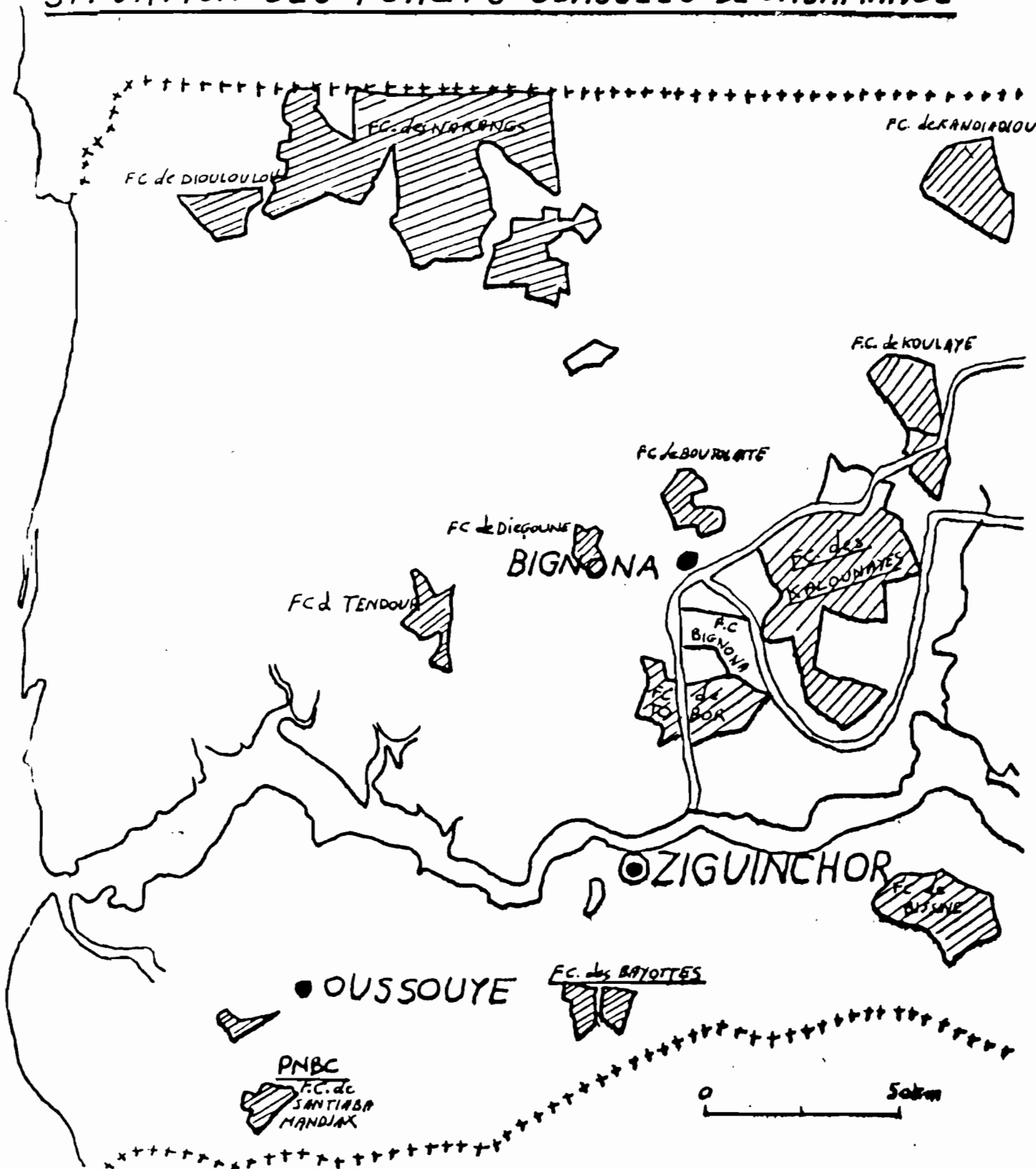
Annexe 13. Aire de répartition des *Legumineuses* ectomycorhiziques actuellement connues en Afrique Soudanienne et Guinéenne. La pluviométrie est exprimé en mm.



Annexe 14. Aire de répartition des territoires où la forêt claire (miombo) est le type principal de végétation.



SITUATION DES FORETS CLASSEES DE CASAMANCE



NOM : NDAO
PRENOMS : Babacar

DATE DE SOUTENANCE
Septembre 1987

NATURE :
Diplôme d'Etudes Approfondies

SPECIALITE
ECOLOGIE MICROBIENNE

TITRE :
CONTRIBUTION A L'ETUDE D'UNE TRIPLE SYMBIOSE CHEZ L'ACACIA MANGIUM
AU SENEGAL.

RESUME :

L'Acacia mangium est une essence forestière originaire des zones humides australiennes, qui a une croissance très rapide et produit un excellent bois.

Son utilisation comme essence de reboisement dans le sud du Sénégal en zone soudano-guinéenne devrait permettre la reforestation de cette zone et lutter ainsi contre la désertification.

Chez cette légumineuse, nous avons isolé à partir de nodules racinaires, plusieurs souches de Rhizobium et de Bradyrhizobium et sélectionné les souches les plus performantes à la fois au laboratoire et en pépinière. Il apparaît que seules les souches de Bradyrhizobium fixent l'azote dans les nodules d'Acacia mangium, les souches de Rhizobium formant des nodules ineffectifs.

L'effet de l'inoculation en pépinière par les souches sélectionnées est très net et a permis de doubler la croissance des plants en trois mois.

Nous avons observé des Ectomycorhizes sur des jeunes plants cultivés en pépinière à la fois après piégeage dans un sol acide de Casamance et après inoculation par une culture de Pisolithus senegalensis. Nous avons tenté de maîtriser la synthèse ectomycorhizienne en tube au laboratoire.

D'autre part, nous avons observé une infection endomycorhizienne sur de jeunes plants d'Acacia mangium. Ces endomycorhizes semblent formées par des souches indigènes présentes dans un sol de Casamance, alors qu'aucune infection endomycorhizienne n'a été observée après une inoculation de jeunes plants par Glomus mosseae.

Nous avons ainsi mis en évidence, pour la première fois chez une légumineuse (Acacia mangium) l'existence d'une triple symbiose, une symbiose fixatrice d'azote avec les Bradyrhizobium et deux symbioses assimilatrices de phosphore et d'autres éléments minéraux avec des champignons ectomycorhiziens (Pisolithus senegalensis, souches indigènes) et endomycorhiziens (endogonacées indigènes).

MOTS-CLES : Acacia mangium, Rhizobium, Bradyrhizobium, ectomycorhize, endomycorhize.

LABORATOIRE DE RECHERCHE : ORSTOM - BP 1386 - DAKAR-SENEGAL.

DIRECTEUR DE RECHERCHE : Bernard DREYFUS, Daniel THOEN.

PRESIDENT DU JURY : Mademoiselle GOUNOT.

COMPOSITION DU JURY :