

IMPORTANCE DES SYMBIOSES
RACINAIRES
POUR L'UTILISATION DES ACACIAS
EN AFRIQUE DE L'OUEST

Par
Marc DUCOUSSO

PREFACE

Le titre du travail de M. Ducouso annonce déjà à lui seul un programme ambitieux: à partir d'un problème pratique bien défini, les plantations d'acacias en Afrique de l'Ouest, est posée la question de leurs symbioses racinaires et de l'importance de ces dernières pour leur développement. Le genre *Acacia* au sens large étant réparti dans toute la zone intertropicale du globe, le champ du sujet est forcément vaste ; toutes les connaissances actuellement disponibles dans ce domaine doivent donc être mobilisées, complétées, et mises à l'épreuve de l'expérience dans le cadre écologique défini.

Les résultats sont incontestablement à la hauteur de l'ambition. Avant de les discuter et de les replacer dans le contexte appliqué qui a motivé l'origine de ce travail et qui concerne directement les gestionnaires forestiers africains, il est intéressant de récapituler la démarche suivie ; elle est en effet exemplaire et illustre bien l'approche écologique moderne de l'introduction d'essences exotiques.

M. Ducouso commence par faire le point sur la classification et la nomenclature des espèces appartenant au genre *Acacia* au sens large (maintenant considéré comme la tribu des *Acacieae*), en distinguant les genres *Racosperma* (espèces australiennes à phyllodes), *Senegalia* (espèces africaines et américaines), *Acacia* (également africains et américains) et *Faidherbia* (genre africain monospécifique). La mise au point est judicieuse, car il apparaîtra plus loin que cette classification est cohérente avec le statut symbiotique des genres ainsi définis sur des bases morphologiques. En effet , à ce stade, se pose déjà la question de savoir quels types de symbioses racinaires (nodules fixateurs d'azote, ectomycorhizes, endomycorhizes à vésicules et arbuscules) sont nécessaires à ces acacias, puisqu'ils ne pourront être introduits avec succès en Afrique de l'Ouest que si les microorganismes qui doivent leur être associés sont également présents .

Cette dernière considération conduit naturellement M. Ducouso à entreprendre un inventaire des systèmes symbiotiques forestiers au Sénégal et en Guinée, par prospection dans des peuplements naturels ou artificiels, en distinguant les acacias indigènes ou introduits, les espèces australiennes autres que les acacias, et les autres espèces. Les observations sont confrontées aux données disponibles dans la littérature et replacées dans un cadre écologique, en tenant compte en particulier de la dégradation des écosystèmes forestiers dans la région considérée du

fait de la pression humaine et de l'aggravation des sécheresses. Chaque fois que cela est techniquement possible, les microorganismes responsables des symbioses observées sont identifiés et isolés, afin de constituer une collection de souches en culture pure.

La phase de travail descriptif est alors terminée, débouchant sur un état des lieux concernant la nature des agents symbiotiques indigènes et leur distribution en fonction des essences forestières et des types de station. C'est en quelque sorte la définition de l'environnement microbien devant accueillir les acacias introduits.

M. Ducouso passe alors au deuxième aspect du problème : la connaissance du statut symbiotique des acacias, et leur compatibilité vis-à-vis des microorganismes locaux. Si la question ne se pose guère *a priori* pour les espèces africaines, elle est par contre décisive pour les acacias australiens qui ont depuis longtemps évolué de façon tout à fait à part, dans un continent éloigné et en contact avec des champignons et des bactéries différents. Cette deuxième phase de l'étude utilise d'abord les données de la littérature, puis fait appel à la méthode expérimentale, en confrontant en milieu contrôlé les semis d'une soixantaine d'espèces d'acacia avec des rhizobia et des champignons mycorhiziens africains.

Enfin, pour les associations reconnues comme fonctionnelles, M. Ducouso se pose la question de la nécessité et de l'efficacité des différents types de symbiose racinaire observés, en étudiant plus particulièrement leur effet sur la nutrition minérale et la croissance de la plante, leurs interactions, et l'influence de la fertilité du sol sur leur établissement et leur fonctionnement. Il termine en précisant *in vitro* certains aspects des interactions entre un rhizobium et un champignon ectomycorhizien.

Le lecteur découvre ainsi la plus importante somme de connaissances sur les symbioses racinaires des acacias disponible à ce jour. A ce titre, le travail de M. Ducouso constitue un document de référence de grande valeur qui mérite une large diffusion auprès des forestiers tropicaux. Il démontre également brillamment que l'écologie d'une espèce végétale ne saurait être embrassée sans tenir compte des associés symbiotiques obligatoires. Les résultats les plus significatifs au plan pratique sont de deux ordres.

Tout d'abord, une structure apparaît dans la tribu des *Acacieae* en ce qui concerne le statut symbiotique, avec une individualisation marquée des acacias australiens à phyllodes (genre *Racosperma*) qui ont à la fois des endomycorhizes à vésicules et arbuscules, des ectomycorhizes et des nodules à *Bradyrhizobium*, alors

que les autres genres n'ont que des endomycorhizes et des nodules à *Rhizobium* . Il apparaît également que la microflore indigène de la région étudiée est extrêmement pauvre en champignons ectomycorhiziens compatibles avec les acacias australiens. Pour ce qui est de la fonction de fixation d'azote , qui motive l' intérêt pour les acacias dans le cas des reboisements sur les sols tropicaux pauvres, trois groupes de nodulation croisée sont observés. Sachant par ailleurs que les souches compatibles de *Rhizobium* et de *Bradyrhizobium* sont présentes localement et que la symbiose endomycorhizienne n'est pas spécifique, M. Ducousso conclut que le facteur limitant principal à l'introduction des acacias australiens en Afrique de l'Ouest est *a priori* le manque de champignons ectomycorhiziens compatibles.

L'étude fonctionnelle des trois types de symbioses sur *Acacia (Racosperma) holosericea* , espèce australienne suscitant beaucoup d'intérêt dans la région, montre une synergie spectaculaire entre *Bradyrhizobium* et le champignon endomycorhizien *Glomus mosseae* , leur présence simultanée étant indispensable à une nutrition équilibrée de la plante en azote et en phosphore. Par contre, le rôle de la symbiose ectomycorhizienne semble moins décisif, tout au moins avec deux champignons locaux.

M. Ducousso tire les conséquences pratiques de ces résultats en préconisant des techniques de pépinière destinées à optimiser l'équipement symbiotique des plants d'acacia avant la plantation : pratiques culturales favorisant l'infection endomycorhizienne spontanée et inoculation par des souches sélectionnées de *Rhizobium* ou *Bradyrhizobium* , déjà disponibles et faciles d'emploi. Dans le cas des acacias australiens, l'optimisation du statut ectomycorhizien nécessitera l'importation de champignons australiens spécifiques.

Lorsque l'on sait que des expérimentations de terrain dans ce sens sont déjà engagées, et que des premiers succès sont enregistrés, on mesure à quel point ce travail a été utile. Il convient de saluer l'opiniâtreté de M. Ducousso à éclaircir un problème écologique complexe et la clairvoyance du Centre Technique Forestier Tropical qui lui a assuré les moyens de poursuivre ses recherches. Gageons que ce sera une contribution majeure au problème crucial de la reconstitution des ressources forestières dans les pays de l'Afrique de l'Ouest.

J. Garbaye

Résumé

Les problèmes de déforestation sont particulièrement importants en Afrique au sud du Sahara. Afin de remédier à cette situation, des plantations ont été réalisées avec diverses essences exotiques : *Eucalyptus*, *Pinus*, *Casuarina* ... Dans ce cadre, les forestiers se sont également intéressés aux acacias, un groupe riche de plus de 1200 espèces d'arbres et d'arbustes pantropicaux, d'origine australienne pour les 3/4 d'entre eux.

Tout au long de ce travail, réalisé en partie au Sénégal, on a cherché à déterminer l'importance et le rôle des symbioses pour les acacias. Pour cela il a été réalisé dans la zone d'étude, un inventaire des systèmes symbiotiques. Ce dernier a permis de mettre en évidence la présence de : (i) nodules rhizobiens sur plusieurs espèces de légumineuses, (ii) de mycorhizes à vésicules et à arbuscules sur toutes les espèces étudiées sauf deux, et (iii) d'ectomycorhizes sur quelques espèces locales et introduites. Il a été également constaté la très grande diversité des espèces ectomycorhiziennes des essences locales et le peu de diversité des espèces ectomycorhiziennes des essences exotiques. Un soucier de *Rhizobium* s.l. et un soucier de champignons ectomycorhiziens ont été créés. Le type mycorhizien de 32 espèces d'*Acacia* a été déterminé expérimentalement ainsi que la compatibilité de trois de ces espèces vis-à-vis de souches ectomycorhiziennes d'origines diverses. Les effets de la triple symbiose, *Bradyrhizobium* sp./*Glomus mosseae*/*Pisolithus* sp. ont été étudiés sur *Acacia holosericea* cultivé en serre. Enfin, l'étude *in vitro* des problèmes d'interactions entre une bactérie symbiotique (*Bradyrhizobium* sp.) et un champignon ectomycorhizien (*Pisolithus* sp.) a été abordé.

Mots-clés : Acacia, symbiose, rhizobium, endomycorhize, ectomycorhize, Sénégal

Remerciements

Ce travail est le fruit d'une collaboration entre le **CTFT/CIRAD** (Centre Technique Forestier Tropical/Centre International de Recherche en Agronomie pour le Développement), la **DRPF/ISRA** (Direction des Recherches sur les Productions Forestières/Institut Sénégalais des Recherches Agricoles) et l'**ORSTOM** (Institut Français de Recherche Scientifique pour le Développement en Coopération) de Dakar. A ce titre, je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements aux responsables de ces organismes ainsi qu'à :

Monsieur **M. Corbasson**, Directeur Scientifique du **CTFT**, pour sa confiance et le constant soutien que j'ai trouvé auprès de lui.

Monsieur **P. Sall**, Directeur Scientifique de la **DRPF**, pour sa confiance et la grande liberté d'action qu'il m'a accordée.

Monsieur **F. Brunck**, pour ses précieux conseils et l'aide qu'il m'a toujours apportés.

Madame **G. Faurie**, Professeur à l'**Université Claude Bernard de Lyon I**, pour avoir accepté de m'inscrire en Thèse et d'examiner ce mémoire.

Messieurs **F. Le Tacon**, Directeur de Recherche à l'**INRA** (Institut National de la Recherche Agronomique) et **J.C Debaud**, Professeur à l'**Université Claude Bernard de Lyon I**, qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail.

Monsieur **J. Garbaye**, Directeur de Recherche à l'**INRA**, pour ses conseils dans la rédaction du mémoire, ses grandes compétences et sa disponibilité.

Monsieur **D. Thoen**, Chef de travaux à la **FUL** (Fondation Universitaire Luxembourgeoise) avec qui j'ai eu grand plaisir à travailler, pour ses conseils judicieux, sa grande connaissance du terrain et son amitié.

Messieurs **Y. Dommergues**, Directeur de Recherche au **CNRS** (Centre National de la Recherche Scientifique) et **B. Dreyfus**, Directeur de Recherche à l'**ORSTOM** pour m'avoir accueilli au sein de leurs équipes, respectivement au Laboratoire de **BSSFT** (Biotechnologie des Systèmes Symbiotiques Forestiers Tropicaux) à Nogent sur Marne et au Laboratoire de Microbiologie des Sols à Dakar.

Monsieur **P. Heinemann**, Directeur du Jardin Botanique de Belgique à Meise, pour l'identification des champignons que nous avons récoltés au Sénégal et en Guinée.

Mes remerciements vont également à mes collègues du **CTFT**, du **BSSFT**, de la **DRPF** et de l'**ORSTOM**.

J'exprime également ma gratitude à toutes les personnes qui m'ont fait bénéficier de leur aide et plus particulièrement à : L. Biagui, J. Chaumont, M. Sagna, T. Sagna, P. Tendeng, D. Vincent.

Je ne saurais oublier Alain, Guy et Julienne pour leur aide dans la mise en forme de ce document qu'ils se voient ici remerciés.

Liste des abréviations utilisées

ACP : Analyse en Composante Principale

ANOVA : Analyse de Variance

C : cellule corticale

CP : Composante Principale

CSIRO : Commonwealth Scientific International Research Organisation

CTFT/CIRAD : Centre Technique Forestier Tropical/Centre International de Recherche en Agronomie pour le Développement

DRPF/ISRA : Département des Recherches sur les Productions Forestières/Institut Sénégalais des Recherches Agricoles

E : cellule épidermique

ECM : ectomycorhize

FAA : Formol, Acide Acétique

GEE : Glycérol, Ethanol, Eau

H : réseau de Hartig

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

M : Manteau fongique

MVA : Mycorhize Vésiculo-Arbusculaire

MNM : Melin Norkrans, modifié par Marx

NRC : National Research Council

ORSTOM : Institut Français de Recherche en Coopération pour le Développement

PI : Puissance Insuffisante

YEM : Yeast Extract Mannitol

SOMMAIRE

Pages

INTRODUCTION GENERALE	1
Planches photographiques	8

PREMIERE PARTIE : Prospection au Sénégal et en Guinée des symbioses racinaires des arbres *in situ*

1- Introduction	15
2- Présentation des régions visitées	17
3- Matériels et méthodes	23
3.1- Identification des espèces	23
3.2- Prélèvements des racines et des nodules	23
3.3- Récolte et mise en herbier des carpophores de champignons présumés ectomycorhiziens.	23
3.4- Observation des MVA	24
3.5- Observation des ECM	24
4- Résultats	25
4.1- Les <i>Acacia</i>	25
4.2- Les espèces introduites d'Australie autres que les acacias	27
4.3- Les autres espèces (non <i>Acacia</i> et non australiennes)	30
5- Discussion	35
5.1- Observations concernant la nodulation	35
5.2- Observations concernant les MVA	36
5.3- Les doubles symbioses : Nodule-MVA	36
5.4- Observations concernant les ECM	37
5.5- Les doubles symbioses : Nodule-ECM	40
5.6- Les doubles symbioses : MVA-ECM	40
5.7- Les triples symbioses : Nodule-MVA-ECM	41
Planches photographiques	42

DEUXIEME PARTIE : Constitution et conservation des collections de micro-organismes

1- Introduction	69
2- Matériels et méthodes	71
2.1- La collection de <i>Rhizobium sp.</i>	71
2.1.1- Obtention des souches de <i>Rhizobium sp.</i>	71
2.1.2- Le piégeage	71
2.1.3- La récolte des nodules	71
2.1.4- L'isolement des souches	71
2.1.5- La purification des souches	73
2.1.6- Vérification de l'infectivité	73
2.1.7- La conservation des souches	73
2.2- L'entretien de la souche de <i>Glomus mosseae</i>	73

2 3- La collection de souches ectomycorhiziennes	74
2.3 1- Isolement des souches ectomycorhiziennes	74
2.3.2- Le contrôle des souches ectomycorhiziennes	74
2.3.3- L'entretien des souches ectomycorhiziennes	74
2 3 4- La conservation des souches ectomycorhiziennes	74
3- Résultats	75
3.1- Constitution de la collection de <i>Rhizobium s.l.</i>	75
3.2- La conservation des souches de <i>Rhizobium s.l.</i>	77
3.3- Constitution de la collection de souches de champignons ectomycorhiziens	77
3.4- La conservation des souches ectomycorhiziennes	80
4- Discussion	82
4 1- La nodulation des <i>Acacia</i>	82
4 2- Les souches ectomycorhiziennes	82
Planche photographique	84

TROISIEME PARTIE : Détermination expérimentale des types mycorhiziens dans le genre *Acacia s.l.*

1- Introduction	89
2- Matériels et méthodes	94
2 1- Choix et obtention des plants	94
2 2- Mise en culture et entretien des plants à la serre	94
2.3- Les souches fongiques utilisées	94
2 4- Les souches bactériennes utilisées	94
2 5- La production d'inoculum	96
2 5 1- Les inoculums ectomycorhiziens	96
2 5 2- Les inoculums bactériens	96
2.6- Les techniques d'inoculation	96
2 6 1- L'inoculation par les champignons endomycorhiziens	96
2 6 2- L'inoculation par les champignons ectomycorhiziens	96
2 6.3- L'inoculation par <i>Rhizobium sp</i>	97
2 7- Dispositifs expérimentaux	97
2 7 1- Screening des <i>Acacia</i> pour les MVA	97
2.7 2- Screening des <i>Acacia</i> pour les ECM	97
2 7 3- Spectre de souches de trois espèces d' <i>Acacia</i>	97
2 7 4- Infectivité de <i>Pisolithus spp.</i> d'origine différentes avec <i>Acacia holosericea</i>	97
2 7 5- La double inoculation <i>Bradyrhizobium sp.</i> - <i>Pisolithus sp.</i> avec trois espèces d' <i>Acacia</i>	97
2.8- Observations	98
2 8 1- Les MVA	98
2 8 2- Les ECM	98
2 8 3- Les doubles symbioses nodules-ECM	98
3- Résultats	99
3.1- Résultats du screening de 32 espèces d' <i>Acacia</i> pour les MVA et les ECM	99
3.1 1- Observations des MVA	99
3 1 2- Observations des ECM	99
3 2- Spectre de souches de trois espèces d' <i>Acacia</i>	102
3.3- Screening des souches de <i>Pisolithus spp.</i> compatibles avec <i>Acacia holosericea</i>	104
3 4- Observation de la double symbiose nodule-ECM	105

4- Discussion	106
4 1- Détermination du type mycorhizien des <i>Acacia</i>	106
4 1 1- Les MVA	106
4 1 2- Les ECM	106
4 2- Le spectre de souche	107
4 3- Spectre d'hôte des différentes origines de pisolithe	108
4 4- La double symbiose nodule-ECM	108
Planches photographiques	110

QUATRIEME PARTIE : Influence de l'azote et du phosphore sur l'établissement et le fonctionnement de la symbiose quadripartite *Acacia holosericea*-*Bradyrhizobium* sp.-*Glomus mosseae*-*Pisolithus* sp.

1- Introduction	119
2- Matériels et méthodes	122
2 1- Le choix du modèle	122
2 2- La culture des plants	122
2 3- Les productions d'inoculum	123
2 4- Les techniques d'inoculation	123
2 5- La fertilisation	123
2 6- Le dispositif expérimental	123
2 7- Les variables mesurées	124
2 8- Les variables calculées	124
2 9- Les analyses statistiques	125
2 9 1- Les ACP	125
2 9 2- Les ANOVA	126
2 9 2 1- Estimation de l'infection	126
2 9 2 2- Efficience des systèmes racinaires	126
2 9 2 3- La réaction de la plante	126
3- Résultats	127
3 1- Analyses descriptives de l'ensemble des résultats	127
3 1 1- Remarques concernant l'élaboration des composantes principales	127
3 1 2- Identification des nuages de points et de leur position dans les plans	129
3 1 3- Conclusions de nos observations sur les ACP	130
3 2- Estimation de l'infection par les différents partenaires symbiotiques	130
3 2 1- Le taux de nodulation : INOD	130
3 2 2- Le pourcentage de racines endomycorhizées : %MVA	132
3 2 3- Le nombre de plants ectomycorhizés : nECM	134
3 3- Estimation des variations d'efficience des systèmes racinaires	136
3 3 1- Efficience des systèmes racinaires pour l'azote : ESRN	136
3 3 2- Efficience des systèmes racinaires pour le phosphore : ESRP	138
3 4- Etude des variations de croissance d' <i>Acacia holosericea</i>	139
4- Discussion	142
4 1- Le choix des analyses statistiques	142
4 2- L'installation des symbioses	142
4 2 1- La nodulation	142
4 2 2- L'endomycorhization	145
4 2 3- L'ectomycorhization	145
4 3- Les variations d'efficience des systèmes racinaires	148

4- Les variations de croissance	151
5- Récapitulatif des principaux résultats obtenus	154

CINQUIEME PARTIE : Etude *in vitro* d'une co-culture entre *Bradyrhizobium sp.* et *Pisolithus sp.*

1- Introduction	159
2- Matériel et méthodes	161
2.1- Choix des micro-organismes	161
2.2- Choix du milieu de co-culture	161
2.3- Ensemencement des cultures	161
2.4- Mesures de la croissance	161
2.4.1- Souche RHSK1	161
2.4.2- Souche ORS.7870	162
2.5- Dispositifs expérimentaux	162
2.5.1- Choix du milieu pour de co-culture	162
2.5.2- La co-culture bactérie-champignon	162
3- Résultats.....	163
3.1- Croissance des micro-organismes sur différents milieux de culture	163
3.1.1- La souche RHSK1	163
3.1.1.1- Sur milieu gélosé	163
3.1.1.2- En milieu liquide agité	163
3.1.2- La souche ORS.7870	165
3.1.2.1- Sur milieu gélosé.....	165
3.1.2.2- En milieu liquide agité	165
3.2- Co-culture bactérie-champignon	165
3.2.1- Sur milieu gélosé MNM	165
3.2.1.1- Croissance de la bactérie	165
3.2.1.2- Croissance du champignon	165
3.2.2- En milieu liquide MNM, agité	168
3.2.2.1- Croissance de la bactérie	168
3.2.2.2- Croissance du champignon	168
3.2.2.3- Evolution de la D.O. 360 nm et du pH du milieu de co-culture	168
4- Discussion	170
4.1- Le choix du milieu de culture	170
4.2- Comportement de la bactérie en co-culture	170
4.3- Comportement du champignon en co-culture	171
Planche photographique	174

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	177
--	------------

BIBLIOGRAPHIE	183
----------------------------	------------

ANNEXES	195
----------------------	------------

Liste des figures

Figure 1 : Structure des principaux types de mycorhizes

Figure 2 : Présentation de la zone d'étude

Figure 3 : Localisation des stations au Fouta Djallon (D'après Thoen et Ducouso, 1989)

Figure 4 : Localisation des stations dans les différentes régions phytogéographiques du Sénégal

Figure 5 : Schéma du dispositif pour la culture des plants en tube Gibson

Figure 6 : Schéma du dispositif pour la culture des plants en minirhizotron

Figure 7 : Résultats graphiques des ACP

Figure 8 : Schéma des interactions avec les autres partenaires symbiotiques et/ou les fertilisations en azote et en phosphore sur la nodulation par *Bradyrhizobium sp.*

Figure 9 : Schéma des interactions avec les autres partenaires symbiotiques et/ou les fertilisations en azote et en phosphore sur l'endomycorhization par *Glomus mosseae*

Figure 10 : Schéma des interactions avec les autres partenaires symbiotiques et/ou les fertilisations en azote et en phosphore sur l'ectomycorhization par *Pisolithus sp.*

Figure 11 : Schéma des actions et des interactions des différents partenaires symbiotiques et des fertilisations en azote et en phosphore sur les variations d'efficacité des systèmes racinaires des plants pour l'azote (ESRN)

Figure 12 : Schéma des actions et des interactions des différents partenaires symbiotiques et des fertilisations en azote et en phosphore sur les variations d'efficacité des systèmes racinaires des plants pour le phosphore (ESRP)

Figure 13 : Schéma des actions et des interactions des différents partenaires symbiotiques et des fertilisations en azote et en phosphore sur les variations du poids sec des parties aériennes des plants (PSPAE)

Figure 14 : Schéma des différentes étapes de développement et de l'établissement des symbiotes du trio *Acacia/Bradyrhizobium/Pisolithus sp.*

Figure 15 : **I :** Croissance de *Pisolithus sp.* ORS.7870 en boîte de Petri sur différents milieux de culture gélosés à l'obscurité à 28°C. Evolution du diamètre des colonies de *Pisolithus sp.* (en cm) en fonction du temps **II :** Croissance de *Bradyrhizobium sp.* RSK1 sur différents milieux de culture liquide agité à l'obscurité à 28°C **A :** Evolution du nombre de cellules.10⁹ en fonction du temps. **B :** Evolution du pH du milieu de culture en fonction du temps.

Figure 16 : Croissance de *Pisolithus* sp. ORS.7870 sur différents milieux de culture liquide agitée à l'obscurité à 28°C. **A :** Variation de la biomasse mycélienne (en mg de poids sec) en fonction du temps. **B :** Variation de la Densité Optique (D.O. 360 nm) du milieu de culture en fonction du temps. **C :** Variation du pH du milieu de culture en fonction du temps.

Figure 17 : I : Co-culture *Bradyrhizobium* sp. RHSK1/*Pisolithus* sp. ORS.7870 sur milieu MNM liquide agité à l'obscurité à 28°C. Variation du nombre de cellules de *Bradyrhizobium* sp. RHSK1.10⁶ en fonction du temps. **II :** Co-culture *Bradyrhizobium* sp. RHSK1/*Pisolithus* sp. ORS.7870 en boîte de Petri sur milieu MNM gélifié à l'obscurité à 28°C. Variation du diamètre des colonies de *Pisolithus* sp. ORS 7870 (en cm) en fonction du temps.

Figure 18 : Co-culture *Bradyrhizobium* sp. RHSK1/*Pisolithus* sp. ORS.7870 sur milieu MNM liquide agité à l'obscurité à 28°C. **A :** Variation de la biomasse mycélienne (en mg de poids sec) en fonction du temps. **B :** Variation de la Densité Optique (D.O. 360 nm) du milieu de culture en fonction du temps. **C :** Variation du pH du milieu de culture en fonction du temps.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification des *Acacia sensu lato* d'après Pedley (1986).

Tableau 2 : Principales caractéristiques des stations prospectées au Sénégal et en Guinée

Tableau 3 : Etat symbiotique, *in situ*, au Sénégal de 12 espèces d'*Acacia s.l.*

Tableau 4 : Champignons présumés mycorhiziens récoltés sous différents acacias croissant au Sénégal et observation d'ECM sur l'hôte potentiel

Tableau 5 : Etat symbiotique d'*Acacia holosericea* et d'*A. trachycarpa* dans différentes stations au Sénégal

Tableau 6 : Principales caractéristiques anatomiques des mycorhizes récoltées *in situ* sur *Acacia holosericea* et *A. trachycarpa* au Sénégal.

Tableau 7 : Etat symbiotique *in situ* de sept espèces australiennes introduites au Sénégal et au Fouta Djallon

Tableau 8 : Champignons présumés ectomycorhiziens récoltés sous sept espèces australiennes introduites au Sénégal et au Fouta Djallon et présence d'ECM.

Tableau 9 : Principales caractéristiques anatomiques des ECM récoltées *in situ* sur sept espèces australiennes introduites au Sénégal.

Tableau 10 : Etat symbiotique de 67 espèces locales et de 12 espèces introduites dans la région (à l'exclusion des *Acacia* et des espèces originaires d'Australie)

Tableau 11 : Temps de traitement des semences à l'acide sulfurique concentré ; observation de la nodulation à partir de piégeages sur 60 espèces d'*Acacia* , vitesse de croissance et références des souches isolées

Tableau 12 : caractéristiques des souches isolées à partir de nodules récoltés *in situ* ; espèce hôte, âge (de l'espèce hôte) et lieu de prélèvement des nodules

Tableau 13 : Espèce, code et origine des champignons en collection au laboratoire de Microbiologie des sols à Dakar.

Tableau 14 : Redémarrage de différentes souches de champignons ectomycorhiziens après différents temps de conservation à +4°C et à température ambiante.

Tableau 15 : Etat de nos connaissances sur le type mycorhizien des *Acacia* au départ de nos travaux.

Tableau 16 : Résultats des synthèses mycorhiziennes tentées en serre par endomycorhization spontanée et ectomycorhization par inoculation avec les souches : ORS.7870, ORS.X004, ORS.8023 de *Pisolithus sp.*, ORS.7938 de *Scleroderma cepa* et ORS.7731 de *Scleroderma dictyosporum*, préparées selon la méthode décrite par Molina (1979) ou par la méthode décrite par Chilvers *et al* (1986).

Tableau 17 Principales caractéristiques anatomiques des ECM obtenues sur 18 espèces d'*Acacia* cultivées dans des pots de terre cuite sur un mélange stérile par inoculation avec des cultures préparées selon la méthode décrite par Chilvers *et al.* (1986). ECM obtenues respectivement sur 17 et 18 espèces d'*Acacia* et sur *Acacia holosericea* avec les souches ORS.X004 et ORS.8023 de *Pisolithus sp* et la souche ORS.7731 de *Scleroderma dictyosporum* .

Tableau 18 : Principales caractéristiques anatomiques des ECM obtenues en serre sur 7 espèces d'*Acacia*, cultivées en sachet de polyéthylène sur un mélange stérile, avec la souche ORS.7870 de *Pisolithus sp* , par inoculation avec des cultures préparées selon la méthode de Molina (1979).

Tableau 19 : Résultats des synthèses mycorhiziennes tentées en serre par inoculation avec 24 souches ectomycorhiziennes, cultivées selon la méthode décrite par Molina (1979), sur *Acacia chisholmii*, *A. holosericea* et *A. mangium* cultivés en sachet de polyéthylène sur un mélange stérile.

Tableau 20 : Couleur et principales caractéristiques anatomiques des ECM obtenues en serre sur *Acacia chisholmii*, *A. holosericea* et *A. mangium*, cultivés en sachet de polyéthylène sur un mélange stérile, par inoculation avec des cultures de *Paxillus involutus*, *Pisolithus tinctorius*, *Pisolithus sp.* et *Scleroderma dictyosporum*, préparées selon la technique décrite par Molina (1979).

Tableau 21 Résultats des essais de synthèse mycorhizienne tentés en serre et principales caractéristiques anatomiques des ECM obtenues avec 8 souches de *Pisolithus spp.*, cultivées selon la méthode décrite par Chilvers *et al.* (1986), sur *Acacia holosericea* cultivé en minirhizotron sur un mélange stérile

Tableau 22 caractéristiques physico-chimiques du sol Deck prélevé à Bambey.

Tableau 23 Variations du taux de nodulation (INOD) des plants inoculés par *Bradyrhizobium sp.* en fonction des fertilisations en azote et en phosphore (ΔTF % : différence en pour cent par rapport au témoin non fertilisé).

Tableau 24 Variations du taux de nodulation (INOD) des plants inoculés par *Bradyrhizobium sp.* en fonction de l'inoculation par *Glomus mosseae* et des fertilisations en azote et en phosphore (Δt % : différence en pour cent par rapport au témoin non inoculé par *Glomus mosseae*).

Tableau 25 . Variations du taux de nodulation (INOD) des plants inoculés par *Bradyrhizobium sp.* en fonction de l'inoculation par *Pisolithus sp.* et des fertilisations en azote et en phosphore (Δt % : différence en pour cent par rapport au témoin non inoculé par *Pisolithus sp.*).

Tableau 26 Variations du pourcentage de racines endomycorhizées (%MVA) des plants inoculés par *Glomus mosseae* en fonction des fertilisations en azote et en phosphore (ΔTF % : différence en pour cent par rapport au témoin non fertilisé).

Tableau 27 Variations du pourcentage de racines endomycorhizées (%MVA) des plants inoculés par *Glomus mosseae* en fonction de l'inoculation par *Bradyrhizobium sp.* et des fertilisations en

azote et en phosphore (Δt % : différence en pour cent par rapport au témoin non inoculé par *Bradyrhizobium sp.*)

Tableau 28 Variations du pourcentage de racines endomycorhizées (%MVA) des plants inoculés par *Glomus mosseae* en fonction de l'inoculation par *Pisolithus sp.* et des fertilisations en azote et en phosphore (Δt % : différence en pour cent par rapport au témoin non inoculé par *Pisolithus sp.*).

Tableau 29 Variations du nombre de plants ectomycorhizés (nECM) des plants inoculés par *Pisolithus sp.* en fonction des fertilisations en azote et en phosphore (ΔTF % : différence en pour cent par rapport au témoin non fertilisé).

Tableau 30 Variations du nombre de plants ectomycorhizés (nECM) des plants inoculés par *Pisolithus sp.* en fonction de l'inoculation par *Bradyrhizobium sp.* et des fertilisations en azote et en phosphore (Δt % : différence en pour cent par rapport au témoin non inoculé par *Bradyrhizobium sp.*)

Tableau 31 Variations du nombre de plants ectomycorhizés (nECM) des plants inoculés par *Pisolithus sp.* en fonction de l'inoculation par *Glomus mosseae* et des fertilisations en azote et en phosphore (Δt % : différence en pour cent par rapport au témoin non inoculé par *Glomus mosseae*).

Tableau 32 Variations d'efficacité des systèmes racinaires pour l'azote (ESRN) en fonction des fertilisations en azote et en phosphore (ΔTF % : différence en pour cent par rapport au témoin non fertilisé)

Tableau 33 Variations d'efficacité des systèmes racinaires pour l'azote (ESRN) en fonction des inoculations par *Bradyrhizobium sp.*, *Glomus mosseae* et de la double inoculation, *Bradyrhizobium-Glomus mosseae* et des fertilisations en azote et en phosphore (Δt % : différence en pour cent par rapport au témoin non inoculé par *Bradyrhizobium sp.* et/ou *Glomus mosseae*)

Tableau 34 Variations d'efficacité des systèmes racinaires pour le phosphore (ESRP) en fonction des fertilisations en azote et en phosphore (ΔTF % : différence en pour cent par rapport au témoin non fertilisé)

Tableau 35 Variations d'efficacité des systèmes racinaires pour le phosphore (ESRP) en fonction des inoculations par *Bradyrhizobium sp.*, *Glomus mosseae* et de la double inoculation, *Bradyrhizobium-Glomus mosseae* et des fertilisations en azote et en phosphore (Δt % : différence en pour cent par rapport au témoin non inoculé par *Bradyrhizobium sp.* et/ou *Glomus mosseae*)

Tableau 36 Variations du poids sec des parties aériennes (PSPAE) en fonction des fertilisations en azote et en phosphore (ΔTF % : différence en pour cent par rapport au témoin non fertilisé).

Tableau 37 Variations du poids sec des parties aériennes (PSPAE) en fonction des inoculations par *Bradyrhizobium sp.*, *Glomus mosseae* et de la double inoculation, *Bradyrhizobium-Glomus mosseae* et des fertilisations en azote et en phosphore (Δt % : différence en pour cent par rapport au témoin non inoculé par *Bradyrhizobium sp.* et/ou *Glomus mosseae*).

Tableau 38 Temps d'apparition des colonies et de formation d'une bactérioglye par la bactérie cultivée sur différents milieux gélosés.

Liste des planches photographiques

Planche 1 : Quelques exemples de la diversité des formes des phyllodes chez les *Acacia* australiens , *Acacia raddiana*, un exemple d'*Acacia* à feuilles

Planche 2 : Exemple d'évolution de la feuille en phyllode chez *Acacia holosericea*. On observe sur les différents stades foliaires un allongement et un élargissement du pétiole, accompagné au début d'un développement du limbe, puis de sa régression jusqu'à la formation de la phyllode

Planche 3 Quelques exemples de la dégradation de la forêt dans la région d'étude

Planche 4 : Les principales plantations au Sénégal d'espèces d'*Acacia* originaires d'Australie

Planche 5 : Observation au champ de nodules d'*Acacia ssp.*

Planche 6 : Observation des MVA sur des fragments de cortex racinaire dilacéré. Les échantillons racinaires ont été prélevés entre 10 et 30 cm de profondeur sous la surface du sol sur des arbres *in situ*

Planche 7 : Champignons présumés mycorhiziens récoltés au Sénégal sous différentes espèces d'*Acacia*

Planche 8 : Observation au Sénégal de carpophores de *Pisolithus sp* sous différentes espèces d'*Acacia* originaires d'Australie

Planche 9 : ECM de *Pisolithus sp.* observées *in situ* au Sénégal sur des racines d'*Acacia holosericea*

Planche 10 : Observations en coupe d'ECM d'*Acacia* et d'*Eucalyptus*

Planche 11 : Champignons ectomycorhiziens et ECM des espèces introduites d'Australie autres que les acacias

Planche 12 : Quelques exemples de la diversité de la flore fongique présumées ectomycorhizienne des espèces indigènes du Fouta Djallon

Planche 13 : Quelques exemples de la diversité de la flore fongique présumée ectomycorhizienne des espèces indigènes du Fouta Djallon (suite de la planche 12)

Planche 14 : Exemples d'ECM observées sur les espèces locales et introduites au Fouta Djallon

Planche 15 : Dispositif et méthode d'isolement des champignons ectomycorhiziens

L'accroissement des besoins en bois et en produits dérivés du bois oblige à réaliser, chaque année, des prélèvements de plus en plus importants dans les ressources naturelles, notamment tropicales. Afin de remédier à cette situation et de satisfaire au mieux les besoins en bois, des plantations ont été réalisées avec les principales essences d'importance économique. Les forestiers ont implanté ces espèces partout où cela était possible, et maintenant, en Afrique, les plantations de pins originaires d'Amérique ou d'Asie, d'*Eucalyptus* ou de *Casuarina* font partie intégrante du paysage (Giffard, 1974).

En zone tropicale humide (pluviométrie $> 1000 \text{ mm.an}^{-1}$), les rendements des plantations sont en moyenne très supérieurs aux rendements communément observés dans les zones tempérées. En zone tropicale sèche (pluviométrie $< 1000 \text{ mm.an}^{-1}$), les rendements chutent très rapidement avec la pluviométrie. L'irrigation permet de rétablir des productivités importantes mais le coût du bois produit dans ces conditions est très élevé et ce type de plantation ne se justifie que dans les zones où il y a une forte pénurie de bois ou si elles sont réalisées dans le cadre des aménagements hydro-agricoles d'une région. Les reboisements en zones sèches sont généralement très peu productifs. Ils présentent principalement des intérêts locaux, notamment dans la lutte contre la désertification, la protection des sols, l'amélioration de la fertilité des sols, la production de fourrage aérien pour le bétail, les aménagements ruraux et urbains, ainsi que la fourniture de bois de feu et de service pour les populations locales.

En Afrique, au sud du Sahara où les problèmes de déforestation et de désertification sont particulièrement sensibles, la recherche d'espèces nouvelles en vue de leur introduction constitue un point important de l'amélioration des reboisements. Dans ce cadre, de nombreuses espèces d'acacias ont été testées. L'intérêt de certaines d'entre elles est déjà bien connu (VON MAYDELL, H.J., 1983). On peut citer par exemple : *Acacia albida* dont le potentiel agroforestier est exploité traditionnellement depuis fort longtemps (CTFT, 1988), *Acacia senegal*, pour la production de gomme arabique, *Acacia raddiana*, pour son exceptionnelle résistance à la sécheresse. Cependant, la tribu des *Acacieae* qui regroupe environ 1200 espèces d'arbres et d'arbustes pantropicaux, est encore très mal connue. La planche 1 présente quelques exemples de la diversité des *Acacia*. On remarque, dès les stades jeunes, des différences importantes notamment dans la morphologie des phyllodes des espèces australiennes. La première classification de ce groupe fut proposée en 1864 par Benthham (Tableau 1) qui fait état d'un genre *Acacia* divisé en 11 séries. Onze ans plus tard, Benthham (1875) propose une révision qui divise le genre *Acacia* en 6 séries, dont deux nouvelles, et une, la série des *Phyllodineae* qui regroupe 8 sous-séries, considérées comme des séries dans la précédente classification. En 1972, Vassal propose une classification du genre *Acacia* en trois sous-genres : *Heterophyllum*, (lui-même divisé en trois sections), *Aculeiferum* et *Acacia*. Sur cette base, Pedley (1981) apporte de nouvelles précisions concernant les sections qui composent ces différents sous-genres. La dernière classification proposée par Pedley (1986) divise la tribu des *Acacieae* en trois genres qui reprennent schématiquement les trois sous-genres précédemment décrit. Le premier genre, *Racosperma* (équivalent du sous-genre *Heterophyllum*), est composé d'environ 850 espèces toutes d'origine australienne. L'évolution des feuilles en phyllodes chez la plupart des espèces de ce genre constitue un élément important de son originalité. Les phyllodes résultent du développement du pétiole, qui s'allonge, s'élargit, s'aplatit, accompagné de la régression du limbe foliaire. Les phyllodes assument alors les fonctions de ce dernier. Sur les arbres adultes, seules les phyllodes sont visibles. Différents stades foliaires sont observables sur les jeunes plants. Un exemple (*Acacia holosericea*) d'évolution de la feuille vers la phyllode est illustré par la planche 2. Le deuxième genre, *Senegalia* (équivalent du sous-genre *Aculeiferum*), est composé d'environ 150 espèces essentiellement d'origine africaine et américaine. Le troisième genre, *Acacia* (équivalent du sous-genre *Acacia*), est composé

Tableau 1 : Classification des *Acacia sensu lato* d'après Pedley (1986).

Bentham (1864)	Bentham (1875)	Vassal (1972)	Pedley (1978)	Pedley (1986)
ACACIA	ACACIA	ACACIA sg <i>Heterophyllum</i>	ACACIA sg <i>Heterophyllum</i> sc <i>Botrycephalae</i>	RACOSPHERMA sc <i>Racosperma</i>
s <i>Botrycephalae</i>	s <i>Botrycephalae</i>	sc <i>Uninervea</i>		
	s <i>Phyllodineae</i>		sc <i>Alatae</i>	
s <i>Alatae</i>	ss <i>Alatae</i>		sc <i>Phyllodineae</i>	
s <i>Continue</i>	ss <i>Continue</i>			
s <i>Brunioideae</i>	ss <i>Brunioideae</i>	sc <i>Heterophyllum</i>	sc <i>Plurinerves</i>	sc <i>Plurinervia</i>
s <i>Uninerves</i>	ss <i>Uninerves</i>			
s <i>Plurinerves</i>	ss <i>Plurinerves</i>			
s <i>Pungentes</i>	ss <i>Pungentes</i>			
s <i>Calamiformes</i>	ss <i>Calamiformes</i>	?	sc <i>Lycopodiifoliae</i>	sc <i>Lycopodiifolia</i>
s <i>Juliflorae</i>	ss <i>Juliflorae</i>		sc <i>Pulchellae</i>	sc <i>Pulchella</i>
s <i>Pulchellae</i>	s <i>Pulchellae</i>	sc <i>Pulchelloidea</i>	sg <i>Aculeiferum</i> sc <i>Spiciflorae</i>	SENEGALIA sc <i>Senegalia</i>
	s <i>Vulgares</i>	sg <i>Acacia</i>	sc <i>Filicinae</i>	sc <i>Filicinae</i>
	s <i>Filicinae</i>			
s <i>Gummiterae</i>	s <i>Gummiterae</i>	sg <i>Acacia</i>	sg <i>Acacia</i>	ACACIA

* s = séries, ss = sous-séries, sg = sous-genre, sc = section

d'environ 200 espèces également pour la plupart d'origine africaine et américaine. A cela, on peut ajouter le genre monospécifique *Faidherbia* constitué de l'espèce africaine *F. albida*. Cette dernière a souvent été considérée à part en raison de sa phénologie mais aussi du fait qu'elle est très proche des *Ingeae*, groupe voisin des *Acacieae* (Vassal 1981). Les derniers bouleversements de la classification des *Acacieae* proposés par Pedley (1986) ont été très vivement critiqués. De plus, les données concernant la position systématique de chaque espèce sont très incomplètes et à l'heure actuelle, aucun document de synthèse n'existe sur cette question. C'est pourquoi, pour la suite de ce travail, dans un souci de simplification, nous avons conservé l'appellation *Acacia* pour l'ensemble des espèces de la tribu des *Acacieae*.

Dans un souci d'amélioration des reboisements, les forestiers ont recherché les pratiques sylvicoles les mieux adaptées à chaque espèce. Des efforts importants ont également été réalisés dans la sélection de génotypes adaptés, particulièrement performants, la multiplication par clonage des individus performants soit par bouturage classique, soit par les vitrométhodes, mais aussi dans l'hybridation interspécifique où des résultats spectaculaires ont été obtenus avec les *Eucalyptus*.

L'amélioration par la voie symbiotique n'a pas été négligée. On sait que dans certains cas, comme pour les *Pinaceae* ou les *Dipterocarpaceae*, les symbioses jouent un rôle déterminant (Kessell, 1927 ; Briscoe, 1959 ; Hackskaylo et Vozzo, 1967). De même, comme nous l'ont montrés les expériences de mycorhization contrôlée (e.g. Momoh et Gbadegesin, 1980 ; Delwaulle *et al.*, 1982) ou d'inoculation par des bactéries fixatrices d'azote (e.g. Cornet et Diem, 1982 ; Sougoufara *et al.*, 1988) les symbioses ont permis une amélioration spectaculaire des taux de reprise en plantation et des gains de productivité importants.

Un élément important de la réussite de l'introduction des *Acacia* en Afrique réside donc probablement dans la connaissance et la maîtrise des micro-organismes impliqués dans les systèmes symbiotiques de ces espèces.

Les bactéries fixatrices d'azote, symbiotiques des légumineuses ou *Rhizobium s.l.* se répartissent en trois genres : le genre *Rhizobium*, constitué d'une majorité d'espèces d'origine tempérée à croissance rapide, le genre *Bradyrhizobium*, constitué d'une majorité d'espèces d'origine tropicale à croissance lente et le genre monospécifique *Azorhizobium* constitué d'*A. caulinodans*, bactérie qui nodule les tiges de *Sesbania rostrata*. Dreyfus et Dommergues (1981) ont reconnu trois groupes de nodulation croisée chez les *Acacia*. Un premier groupe qui nodule avec *Rhizobium*, un deuxième avec *Bradyrhizobium* et un troisième, indifféremment avec *Rhizobium* ou *Bradyrhizobium*.

Le caractère mycotrophe des acacias est aussi un point important. Deux types mycorhiziens sont communément distingués selon la position du champignon par rapport à la plante hôte : les endomycorhizes ou MVA (Mycorhizes à Vésicules et à Arbuscules) et les ECM (Ectomycorhizes) (figure 1). Les MVA sont provoquées par des champignons inférieurs de la famille des *Endogonaceae* et sont caractérisées entre autres par la présence d'hyphes intraracinaires, de vésicules et/ou d'arbuscules endocellulaires. Les MVA sont peu spécifiques, ne modifient pas la structure de la racine et ne sont observables qu'en microscopie après une coloration spécifique. Les ECM sont provoquées par des champignons supérieurs, généralement des Basidiomycètes, ou des Ascomycètes. Elles sont caractérisées par un manteau fongique d'épaisseur variable qui entoure plus ou moins complètement les racines courtes et par un réseau de Hartig. Ce dernier résulte de la pénétration plus ou moins profonde d'hyphes mycéliens issus du manteau entre les cellules de la première assise épidermique des racines courtes de la plante hôte. Les ECM qui concernent principalement les arbres, sont plus spécifiques que les MVA et varient en forme et en

Planche 1 :

Quelques exemples de la diversité des formes des phyllodes chez les *Acacia* australiens ; *Acacia raddiana*, un exemple d'*Acacia* à feuilles :

fig 1 : *Acacia dunii*.

fig 2 : *Acacia hilliana*.

fig 3 : *Acacia retinodes*.

fig 4 : *Acacia chisholmii*.

fig 5 : *Acacia holosericea*.

fig 6 : *Acacia plectocarpa*.

fig 7 : *Acacia pyrifolia*.

fig 8 : *Acacia raddiana*.

(La barre représente 4 cm)

N.B. Les prises de vues de cette planche ont toutes été réalisées avec le même rapport d'agrandissement

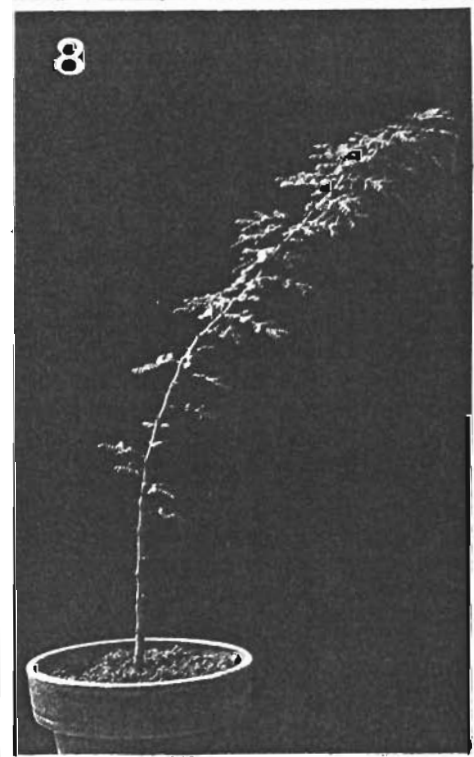
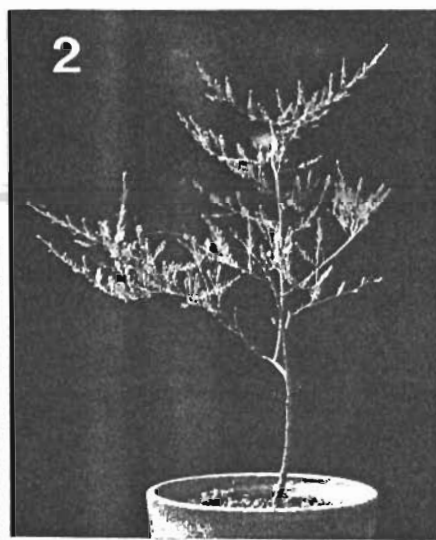
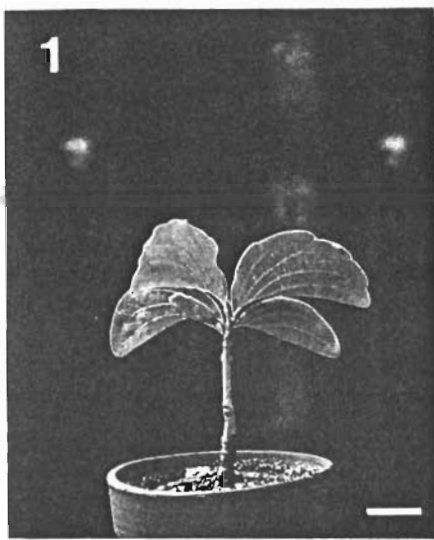


Planche 2 :

Exemple d'évolution de la feuille en phyllode chez *Acacia holosericea*. On observe sur les différents stades foliaires un allongement et un élargissement du pétiole, accompagné au début d'un développement du limbe, puis de sa régression jusqu'à la formation de la phyllode :

fig 1 : Première feuille.

fig 2 : Deuxième feuille.

fig 3 : Troisième feuille.

fig 4 et 5 : Quatrième feuille.

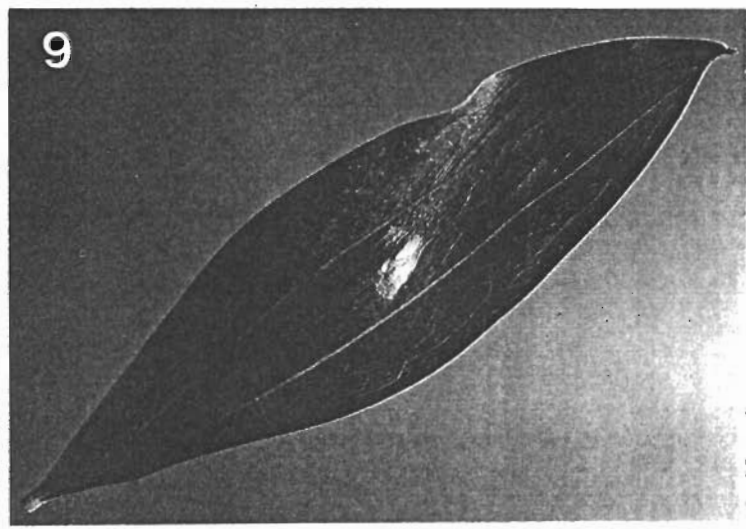
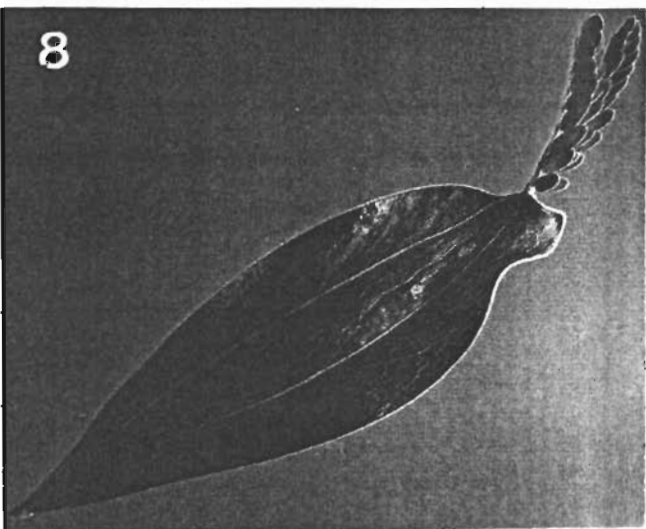
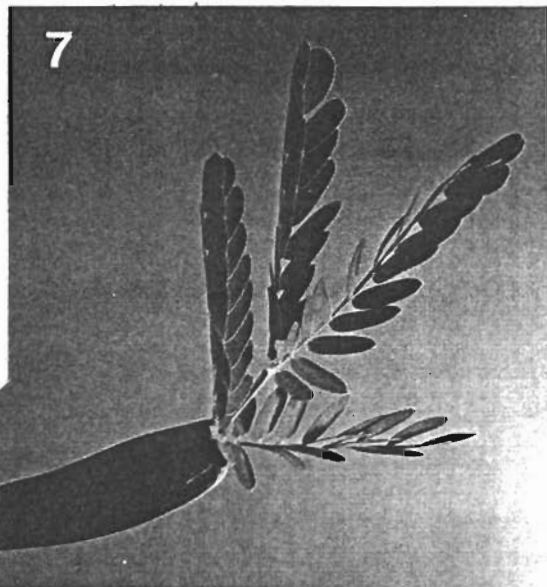
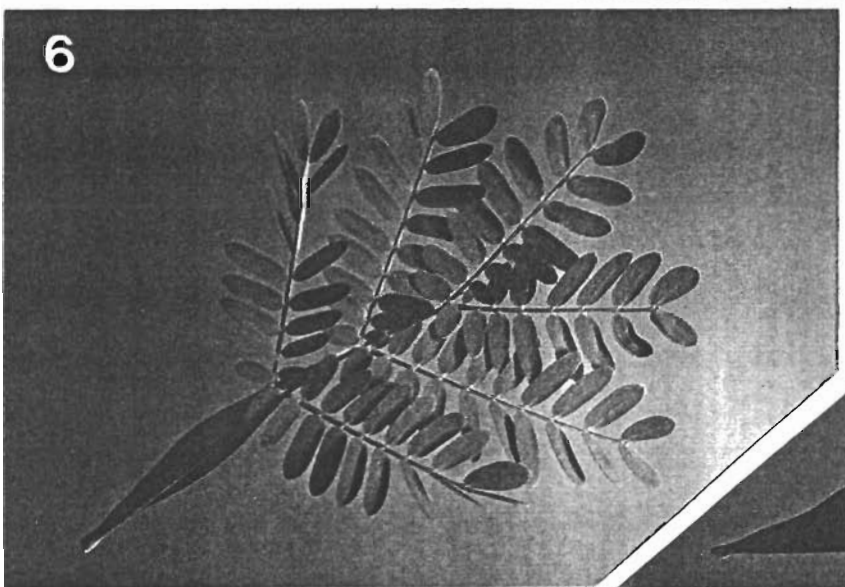
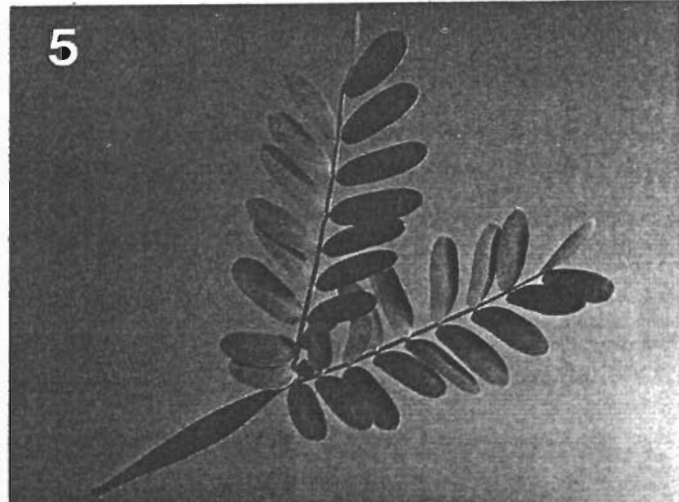
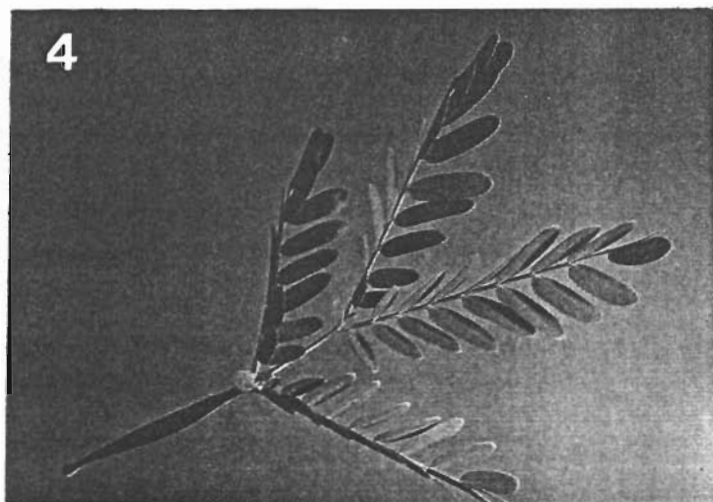
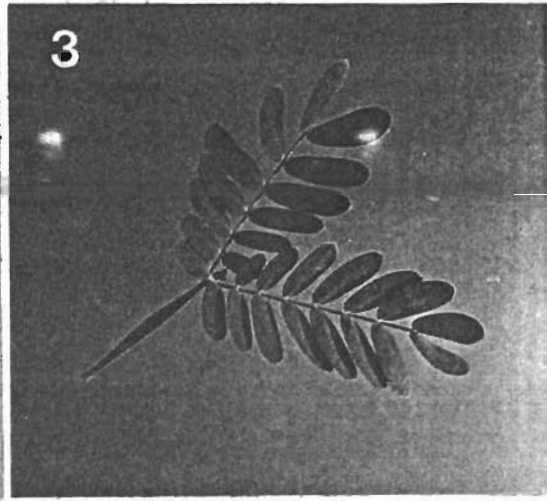
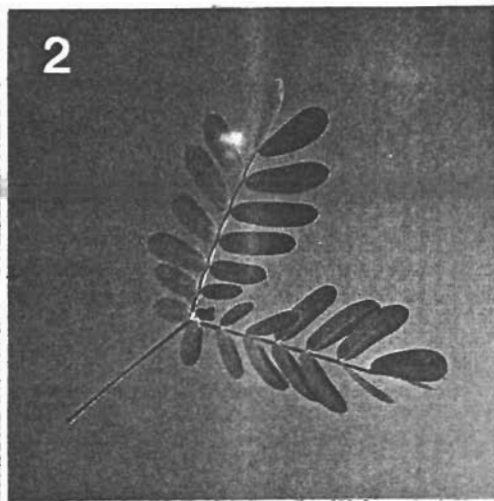
fig 6 et 7 : Cinquième feuille.

fig 8 : Sixième feuille.

fig 9 : Septième feuille.

(La barre représente 1 cm).

N.B. Les prises de vues de cette planche ont toutes été réalisées avec le même rapport d'agrandissement



PREMIERE PARTIE

**PROSPECTION AU SENEGAL ET EN GUINEE DES
SYMBIOSES RACINAIRES
DES ARBRES *IN SITU***

1- INTRODUCTION

L'accélération du processus de désertification probablement liée en partie à la dégradation anthropique des forêts sahéniennes a conduit les forestiers à planter, entre autres, de nouvelles espèces d'acacias adaptées à ces conditions afin de pallier cette situation.

Cependant, on sait que dans certains cas l'introduction d'espèces nouvelles peut poser des problèmes liés à l'absence ou à l'inefficacité de la microflore symbiotique indigène. De tels phénomènes sont bien connus sur les *Pinaceae* et les *Dipterocarpaceae* qui sont strictement dépendantes des ECM. Par exemple, dans une région où les pins n'ont jamais été plantés, les chances de réussite d'une plantation sont infimes si on n'apporte pas au départ un inoculum ectomycorhizien (Kessell, 1927, Théodorou, 1967).

Pour de nombreuses essences, l'introduction s'est réalisée sans problème. Parmi celles-ci, certaines font maintenant partie intégrante du paysage sahéni comme *Anacardium occidentale* (anacardier), *Azadirachta indica* (neem), *Cassia siamea*, *Casuarina equisetifolia* (filao), *Eucalyptus camaldulensis*, *Mangifera indica* (manguier) ou encore *Prosopis juliflora* (Giffard, 1974).

Les résultats obtenus avec les acacias sont très variables selon les espèces et les stations (Cossalter, 1984). Cependant, le problème majeur rencontré est celui de la longévité des plants ; en effet, les arbres qui ont pendant les quatre premières années une croissance exceptionnellement importante tendent à disparaître plus ou moins rapidement selon les espèces et les stations.

Nous nous sommes efforcés, au cours de trois années de prospection dans l'ensemble des zones phytogéographiques du Sénégal et au cours d'une mission en Guinée dans la région montagneuse du Fouta Djallon, de déterminer l'état symbiotique des espèces forestières naturelles ou introduites dans la région. Dans la mesure du possible, nous avons aussi déterminé les partenaires symbiotiques présents dans la zone.

L'ensemble de ces observations de terrain nous a permis de déterminer l'état symbiotique de nombreuses espèces et, par là même, d'approfondir nos connaissances sur les micro-organismes symbiotiques de la région. En effet, au départ de ces travaux, les connaissances en ce domaine étaient encore très fragmentaires. En ce qui concerne les bactéries fixatrices d'azote symbiotique des arbres, la présence de nodules racinaires de *Casuarina equisetifolia* a été reconnue (Dommergues, 1963) et l'inoculation au Sénégal des pépinières par des broyats de nodules a permis une amélioration spectaculaire de la sylviculture de cette essence (Dommergues, 1963). L'actinomycète *Frankia*, responsable de cette symbiose, n'a pu être isolé en culture pure que beaucoup plus tard (Diem et Dommergues, 1983). Même si aucune plante actinorhizienne indigène n'est connue dans la région, l'origine et la diversité des *Frankia* que l'on trouve au Sénégal ne sont pas encore établies. Des travaux faisant appel à des techniques de biologie moléculaire sont actuellement en cours et pourront sans doute faire progresser nos connaissances sur l'origine et la diversité de ce micro-organisme au Sénégal (Maggia, communication personnelle). Des nodules fixateurs d'azote ont également été signalés sur des arbres et des arbustes de la famille des légumineuses. Cependant, nous disposons seulement de données isolées concernant très peu d'espèces et, à notre connaissance, aucun

document de synthèse sur ce sujet n'a encore été publié. Dreyfus et Dommergues (1981) ont décrit deux espèces de micro-organismes responsables de la fixation d'azote par les acacias. Il s'agit des genres *Rhizobium* et *Bradyrhizobium*.

L'étude de l'écologie des champignons endomycorhiziens du Sénégal a été abordée (Diem *et al.*, 1981) et la présence des genres *Glomus*, *Gigaspora*, et *Sclerocystis* a été reconnue. Ces auteurs n'ont observé aucune espèce du genre *Acaulospora*. Un inventaire des espèces à MVA de la région du lac Retba a également été réalisé (Thoen, 1987).

L'étude des symbioses ectomycorhiziennes a débuté dans la région avec la description de la symbiose entre *Eucalyptus camaldulensis* et *Pisolithus* sp. (Thoen, 1986). Par la suite, une autre espèce introduite, *Casuarina equisetifolia* (Ba *et al.*, 1987) et deux espèces locales, *Afzelia africana* et *Uapaca guineensis* (Thoen et Ba, 1989), ont été décrites ectomycorhizées. A notre connaissance, aucun travail antérieur n'a été réalisé sur les ECM de cette zone.

La détermination de la gamme de compatibilité qui peut exister pour les espèces introduites, notamment les *Acacia*, avec la microflore symbiotique locale est un point important qui sera abordé. Dans cet esprit, nos recherches se sont divisées en trois parties : une concernant les *Acacia* (africains et australiens), une autre, les espèces australiennes introduites dans la région autres que les *Acacia* et une dernière partie concernant les autres espèces, locales (sauf les acacias) et introduites (sauf les espèces australiennes). Ces divisions ont pour but de mettre en évidence les éléments communs et la compatibilité qui pourraient exister dans les microflores symbiotiques de ces trois groupes

Nous avons recherché la présence de nodules sur les légumineuses et les plantes actinorhiziennes, des MVA sur l'ensemble des espèces rencontrées et des ECM sur les espèces dont le genre avait été reconnu ectomycorhizien dans d'autres régions. Les carpophores des champignons supposés mycorhiziens ont été récoltés afin de constituer un herbier de références et de créer un soucier d'espèces tropicales. Les principales caractéristiques des ECM récoltées ont été étudiées afin de mettre en évidence les points communs ou les différences qui peuvent exister entre ces trois groupes

2- PRESENTATION DES REGIONS VISITEES

La zone où nous avons mené les prospections s'étend du Sénégal à la Guinée, du 10° au 17° parallèle au Nord et du 12° au 17° méridien à l'Ouest (Figure 2).

Au Sénégal, le climat est caractérisé par l'alternance d'une saison pluvieuse estivale de trois à quatre mois, suivie d'une longue saison sèche. La pluviométrie augmente du Nord (200 mm) au Sud (1300 mm) (Figure 2). Au Nord, les sols subarides tropicaux dominent et au Sud, ce sont les sols ferrugineux tropicaux avec, à l'Est, l'apparition des sols cuirassés. Des sols hydromorphes occupent la dépression arrière dunaire de Dakar à Saint-Louis et les vallées des fleuves. Les deltas et l'estuaire de la Casamance sont caractérisés par des sols halomorphes.

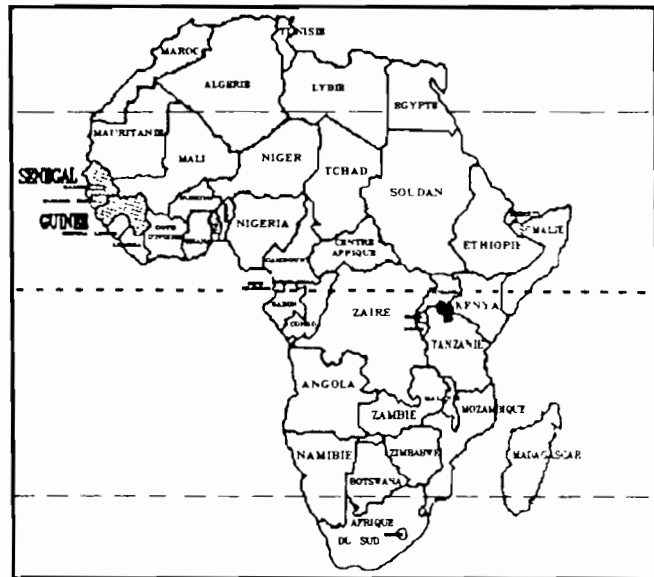
Les forêts sont très dégradées par l'exploitation abusive, le pâturage du bétail et les défrichements pour la mise en culture, ainsi que par la sécheresse qui règne au Sahel depuis de nombreuses années (Planche 3). Les plantations qui viennent pallier cela occupent encore des superficies très modestes, notamment pour les acacias australiens, introduits récemment au Sénégal (Cossalter, 1984), (Planche 4).

En Guinée, dans la région du Fouta Djallon, la saison sèche dure en moyenne six mois, la pluviométrie annuelle répartie sur les six autres mois est de 1893 mm au Nord (Mali) et atteint 2034 mm au Sud (Dalaba) (Schnell, 1977).

Les sols de la région sont acides et pauvres en éléments biogènes. Ce sont des sols gravillonnaires peu profonds à profonds, des sols alluvio-colluviaux et des sols hydromorphes sur alluvions dans les parties les plus évasées des thalwegs. Dans les zones les moins accessibles, la forêt naturelle subsiste sous forme de lambeaux plus ou moins dégradés par les défrichements et le pâturage du bétail. Le long des cours d'eau, on observe des forêts galeries à *Uapaca* et des peuplements à *Raphia* et *Pandanus*. Des plantations d'espèces exotiques : *Pinus ssp.*, *Stirax benzoin*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Acacia mangium* ont été réalisées dans la région. Une collection unique d'espèces tropicales introduites subsiste encore dans le jardin botanique créé au début du siècle par A. Chevalier à Dalaba (station FD:7).

Les sites prospectés au Sénégal sont répartis dans les différentes régions phytogéographiques décrites par Adam *et al.*, 1965 (Figure 2). En Guinée, les sites prospectés sont répartis dans la région montagneuse du Fouta Djallon (altitude supérieure à 1000 m) (Figure 3). Les principales caractéristiques des stations : nature du sol, type de peuplement, espèces dominantes présentes, âge des plantations, antécédents culturels et environnement des sites, sont présentés dans le tableau 2

Localisation de la zone d'étude



Régions phytogéographiques du Sénégal

(Adam *et al.* 1965)

SECTEUR SAHELIEEN

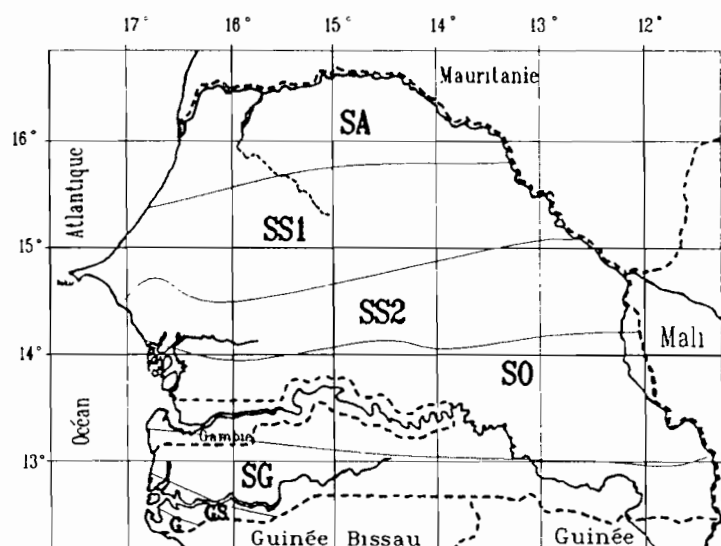
- SA : Région sahélienne
- SS1 : Domaine sahélo-soudanien

SECTEUR SOUDANIEEN

- SS2 : Domaine soudano-sahélien
- SO : Région soudanienne
- SG : Domaine soudano-guinéen

SECTEUR GUINEEN

- GS : Domaine guinéo-soudanien
- G : Région guinéenne



Isohyètes au Sénégal pour la période 1935/1975

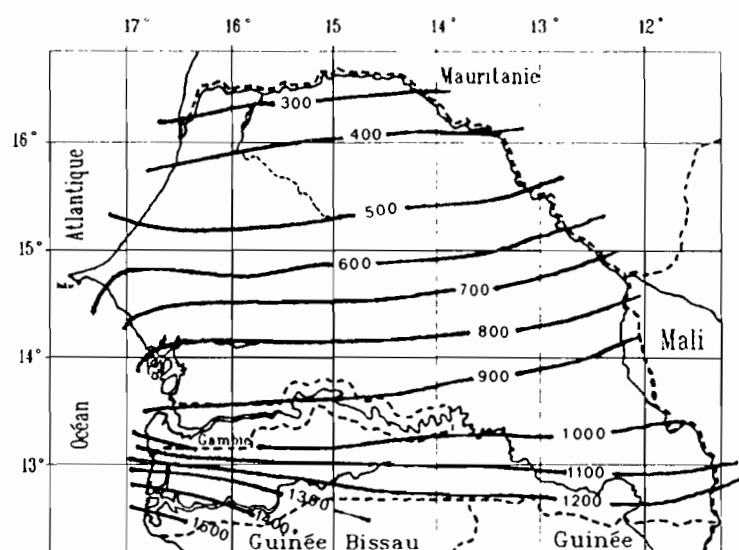
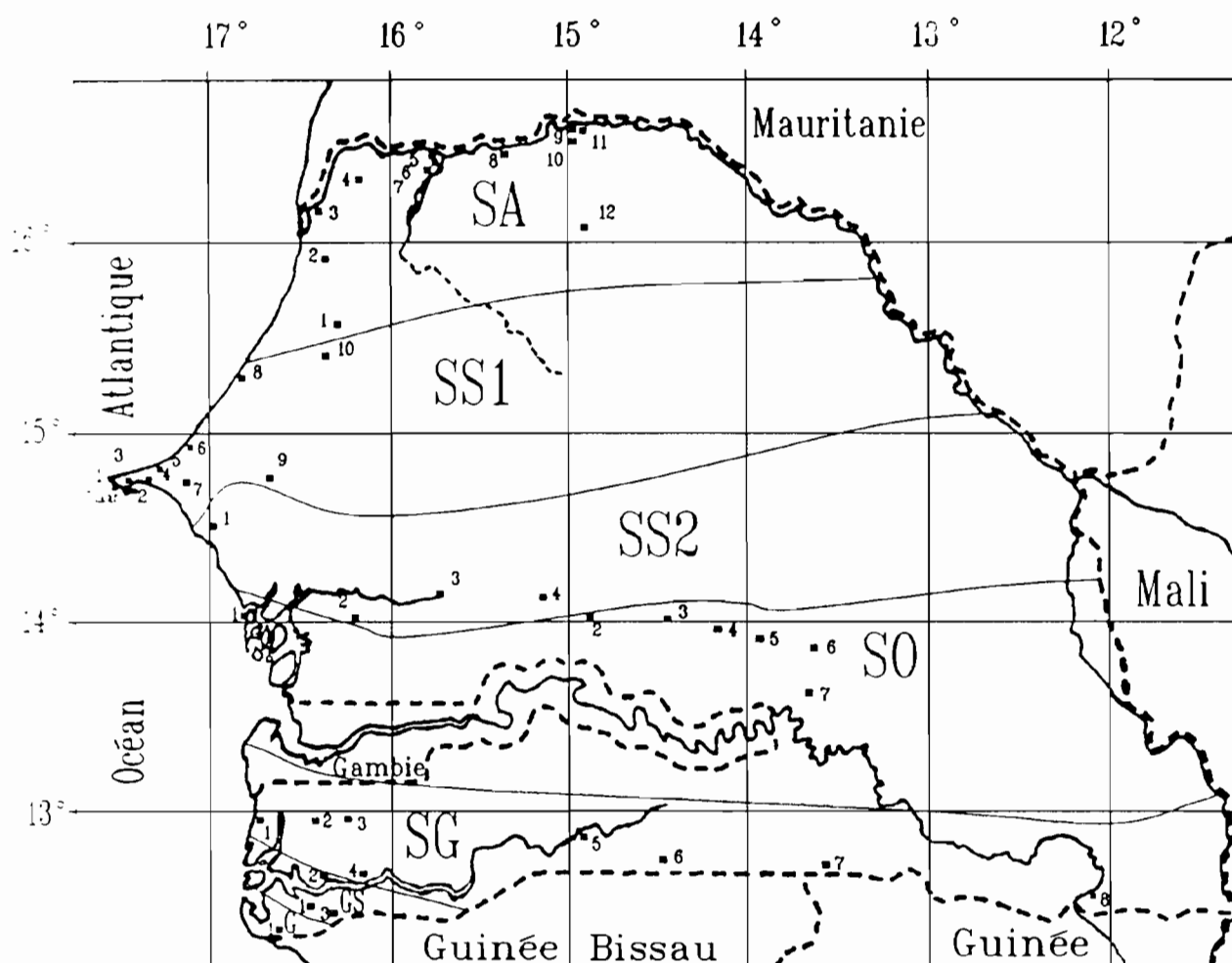
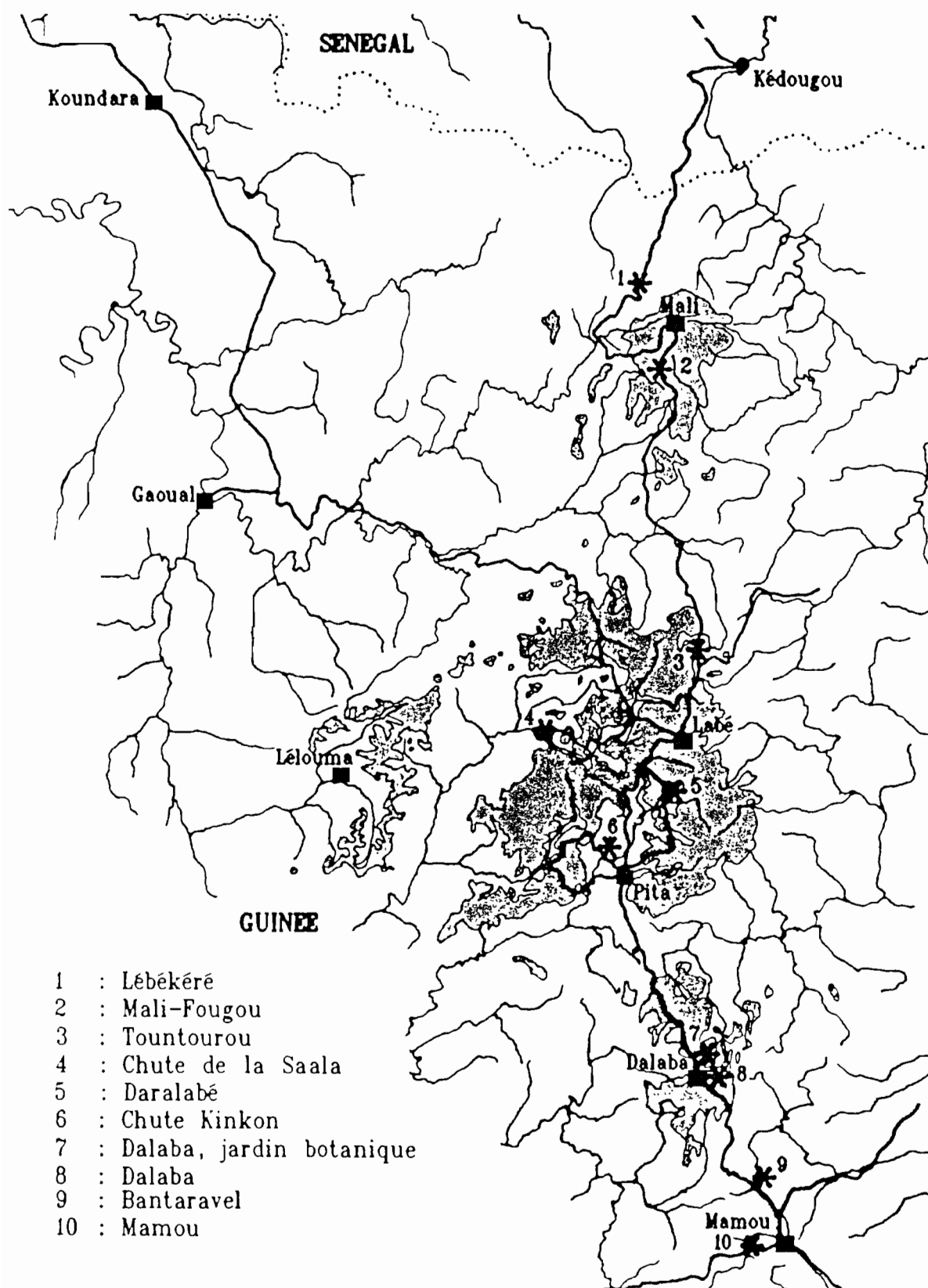


Figure 2 : Présentation de la zone d'étude



SA		
1 : Geoul	5 : Sangalkam	6 : Tambacounda
2 : Eao	6 : Notto	7 : Nétéboulou
3 : Maka Drama	7 : Thies	
4 : Ross Bethio	8 : Mboro sur Mer	SG
5 : Richard Toll	9 : Thiénaba	1 : Abene
6 : Thiago	10 : Kébemer	2 : Bignona
7 : Tapuev		3 : Kalounaves
8 : Dagana	SS2	4 : Boulandor
9 : Ngaoule	1 : Bandia	5 : Kolda
10 : Nianga	2 : Keur Mactar	6 : Tiara
11 : Podor	3 : Kaffrine	7 : Kahfourou
12 : Mbiddi	4 : Port Daramè	8 : Kedougou
SS1	S0	GS
1 : Dakar Fann	1 : Djffer	1 : Djbelor
2 : Dakar Bel-Air	2 : Darou Oualof	2 : Bayots
3 : Dakar Hann	3 : Malème Niani	3 : Tobor
4 : Mbao	4 : Koussanar	G
	5 : Sinthiou Malème	1 : PNEC

Figure 4 : Localisation des stations dans les différentes régions phytogéographiques du Sénégal.



(Les zones en grisé ont une altitude supérieure à 1000m)

Figure 3 : Localisation des stations au Fouta-Djalon
(d'après Thoen et Ducousso, 1989).

Tableau 2 Principales caractéristiques des stations prospectées au Sénégal et en Guinée.

Région/Station	sol	TP	EP	Age	Ant	Rmq.
SA						
1 Géoul	S	BV	Ec,Ah	4	TA	
2 Rao	S	FN	Ar	i	.	
3 Maka Dama	A	PA	Ec,Ce,D	V	.	Cp
4 Ross Bethio	A	Pi	Ec	i	.	
	A	FN	An	i	.	HT
5 Richard Toll	A	PA	An,D	i	.	JR
6 Thiago	A	Pi	Ec,Ah,Pj	3	TA	PD
7 Taouey	S	P	Ah	3	RE	BC
8 Dagana	SA	FN	Ar,As,D	i	.	
9 Ngaoulié	A	Pi	Ec,D	1	TAi	
	A	FN	An	i	.	
10 Nianga	A	STi	D	V	TAi	
11 Podor	A	BVi	Ec,Ah	2	TAi	AHA
12 Mbiddi	SA	ST	D	V	.	ZS
	SA	FN	Ar,Be,D	i	.	ZS
SS1						
1 Dakar Fann	z	PA	Ec,Pj,D	V	.	JUD
2 Dakar Bel-Air	S	PA	D	V	.	ORSTOM
3 Dakar Hann	H	P	Ec,D	V,i	.	PFH
	SH	P	Ec,Ce,D	V	.	ORSTOM
		PE	D	V	.	
4 Mbae	S	P	Ec,Ao	7	.	
5 Sangalkam	S	P	Ah	5	.	EI
	SH	PA	Ec,Ce,D	V	.	FE
6 Notto	S	P	Ce,Ec,Ah	V	.	RA
7 Thiès	AC	P	Ah,D	V	FN	
8 Mboro/mer	SH	P	MI,Ec,Ce	V	.	
9 Thiénaba	S	ST	D	4	.	EI
10 Kébémér	S	P	Ec,Ah	i	TA	
SS2						
1 Bandia	AC	ST	D	V	FN	
2 Keur Mactar	H	ST	D	V	.	BT
3 Kaffrine	SA	P	Ec	5	TA	BVI
4 Port Daramé	AH	P	Ec,Ah,D	V	FN	PARCE
SO						
1 Djiffér	S	P	Ce	i	DL	
2 Darou Oualof	A	P	Ec	5	.	BVI
3 Malème Niani	A	P	Ah,Ec	4	.	BVI
4 Koussanar	A	P	Ah,At,Ec	3	.	BVI
5 Sinthiou Malème	A	P	Ah,Ec,D	4	.	BVI
6 Tambacounda	C	P	Ec	8	.	BVI
7 Nétéboulou	C	P	Ec	6	.	BVI

[Tableau 2 suite]

SG

1 Abéné	S	P	Ce	i	DL	
2 Bignona	SAH	P	Ga,D	V	FN	
3 Kalounayes	H	FN	Aa,D	i		
4 Boulondor	S	P	Ec,Am,Ah,D	V	TA	
5 Kolda	C	P	Ec,D	i	.	PD
6 Tiara	S	FN	Aa,D	i	.	
7 Kalifourou	C	PA	Ec	i	.	
8 Kédougou	C	PA	Ec	i	.	

GS

1 : Djibélor	SH	ST	Ec,D	i	FN	
		PE	Aa,D	V	.	ISRA
		FN	Ug,D	i	.	LR
2 Bayots	SH	ST	Ec,Ah,Am,D	V	FN	
		FN	D	i	.	LR
3 Tobor	H	FN	D	i	.	Deg

G

1 : PNBC	SH	FN	Aa,Ug,D	i	.	PNBC
----------	----	----	---------	---	---	------

FD

1 Lébékééré	G	FN	Uc,D	i	.	Deg
2 Mali-Fougou	G	FN	Ac,D	i	.	Deg
3 Tountourou	G	FN	Ac,D	i	.	Deg
4 Chute Saala	H	GF	Ug,D	i	.	
5 Daralabé	?	FN	Ab,D	i	.	PDe
6 Chute Kinkon	?	GF	Ab	i	.	
7 Dalaba JB	H	JB	D	i	TA	JBAC
8 Dalaba	?	P	Pk,D	i	TA	
9 Bantaravel	G	FN	D	i	.	FD
10 Mamou	G	FN	D	i	.	FD

Sol Types de sols : A Argileux, AC Argilo-cuirassé, AH Argilo-humique ; C Cuirassé, G Graviillonnaire ; H Humique, HA Halomorphe, S Sableux, SA Sablo-argileux, SAH Sablo-argilo-humique, SH Sablo-humique, ? non déterminé

TP Types de peuplements : BV Brise vent ; BVi Brise vent irrigué, FN Forêt naturelle, GF Galerie Forestière ; JB Jardin Botanique, P Plantation, PA Plantation d'agrément ; PE Pépinière, Pi Plantation irriguée, ST Station expérimentale ; STi Station expérimentale irriguée

EP Espèces présentes : Aa Afzelia africana, Ab Afzelia bracteata, Ac Anthonotha crassifolia, Ah Acacia holosericea, Am Acacia mangium, An Acacia nilotica, Ao

Anacardium occidentale, Ar Acacia raddiana, As Acacia senegal ; At Acacia

trachycarpa, Be Balanites aegyptiaca, Ce Casuarina equisetifolia, Ec Eucalyptus camaldulensis, Ga Gmelina arborea ; MI Melaleuca leucadendron ; Pk Pinus kesiya, Pj Prosopis juliflora ; Uc Uapaca chevalieri, Ug Uapaca guineensis ; D

Divers

Age en année : V Variable, i Indéterminé

Ant Antécédents : DL Dune Littorale, FN Forêt Naturelle ; RE Remblais ; TA Terre Agricole, TAi Terre Agricole irriguée, Antécédent inconnu

Rmq Remarque : AHA Aménagement Hydro-agricole, BC Bordure de Canal ; BT bordure de Tann (sol salé), BVi Bois Villageois, Cp Campement touristique, Deg Forêt Naturelle Dégradée ; EI Essai Inoculation, FD Forêt Dense ; FE Ferme Expérimentale, HT Hydromorphie temporaire ; ISRA Institut Sénégalais des Recherches Agricoles, JBAC Jardin Botanique Auguste Chevalier, JR Jardin de Richard ; JUD Jardin de l'Université de Dakar ; LR Lambeau relictuel de forêt primaire ; PARCE Projet d'Aménagement et de Reboisement du Centre Est ; PD Parcelle démonstrative, PDe Forêt Naturelle peu Dégradée, PFH Parc Forestier de Hann, PNBC Parc National de Basse Casamance ; RA Reboisement de la zone arrière dunaire, ZS Zone sylvo-pastorale

3- MATERIELS ET METHODES

Les prospections ont été menées pendant la saison des pluies en 1987, 1988 et 1989. Tout au long de celles-ci, nous avons recherché l'état symbiotique *in situ* des espèces ligneuses de la région. 45 stations au Sénégal et 10 en Guinée ont été visitées (figure 3 et 4). L'ensemble de ces stations est représentatif des principales formations forestières naturelles et des plantations d'espèces exotiques des différentes régions phytogéographiques de la zone étudiée. Les stations ont été définies géographiquement par la localité ou le lieu-dit le plus proche des lieux de prélèvement. Ainsi, au sein des stations, plusieurs sites ont pu être visités. Ces derniers correspondent aux lieux exacts des prélèvements. L'ensemble de ces observations *in situ* nous donne une présomption sur le type symbiotique : nodulé, à MVA ou à ECM des espèces examinées.

3 1- Identification des espèces

Les arbres ont été identifiés grâce à la flore illustrée de Berhaut (1967). Les champignons ont pour partie été déterminés au laboratoire de Microbiologie de l'ORSTOM Bel-Air à Dakar par Monsieur D. Thoen et au Jardin Botanique de Meise en Belgique par Monsieur le professeur Heinemann.

3 2- Prélèvements des racines et des nodules

Afin de s'assurer de leur identité, les racines sont déterrées en partant de la base du tronc jusqu'aux racines fines. Chaque fois qu'il a été possible, nous avons effectué les prélèvements au cœur de peuplements ou de plantations monospécifiques ou sur des arbres isolés. Le moindre doute sur la qualité de l'échantillon nous faisait écarter celui-ci de nos récoltes. Les échantillons de 1 à 5 g de racines fines fraîchement récoltées sont fixés dans des piluliers par un mélange de Formol 10% et d'Acide Acétique 90% (FAA) (Johansen, 1940) ou par un mélange de Glycérol 30%, d'Ethanol 30% et d'Eau 40% (GEE). Ce dernier mélange a l'avantage de ne pas dégager de vapeurs nocives, de se manipuler facilement, de bien se conserver et préserver les tissus racinaires sans les rendre cassants ou exagérément mous.

La présence de nodules est notée et ceux-ci sont conservés dans une glacière si leur état peut permettre d'isoler directement une souche de *Rhizobium*. De plus, des prélèvements de racines ectomycorhizées sont réalisés en partant du carpophore, en suivant les rhizomorphes puis les hyphes mycéliens jusqu'aux racines courtes ectomycorhizées. Ensuite, les racines sont suivies jusqu'au tronc de l'arbre qui est identifié. Les ECM prélevées sont fixées dans des piluliers de GEE. Dans certains cas, comme les russules, par exemple, les connexions entre les carpophores et les ECM ne sont pas visibles. L'identité des ECM ne peut alors être clairement établie.

3 3- Récolte et mise en herbier des carpophores de champignons présumés ectomycorhiziens

On considère que des champignons sont présumés mycorhiziens lorsque cette espèce ou des espèces du même genre ou encore de la même famille ont déjà été reconnues mycorhiziennes sur d'autres espèces végétales.

Des carpophores à des stades de maturité différents sont prélevés à proximité des arbres supposés mycorhizés. Afin de permettre leur identification, les champignons sont décrits,

photographiés, puis une partie de ceux-ci est séchée dans une colonne de tamis placée sur une plaque chauffante électrique. Les échantillons secs constituent l'herbier de référence. L'autre partie des carpophores est conservée dans une glacière pour tenter l'isolement des souches.

3.4- Observation des MVA

Les échantillons de racine conservés dans le GEE sont égouttés, mis dans des tubes 20X200 mm contenant 10 ml de KOH à 10% et autoclavés 20 mn à 120°C. Les échantillons sont rincés trois fois à l'eau distillée, séchés sur papier filtre, placés 3 mn au bain marie bouillant dans une solution à 0,5% de bleu Trypan dans le lactophénol, puis rincés deux fois à l'eau distillée afin d'éliminer l'excès de colorant (Phillips et Hayman, 1970). Avant de procéder à la coloration, il a parfois été nécessaire d'éclaircir les racines par une solution diluée d'hypochlorite de sodium (3%).

Les fragments de racines sont dilacérés, montés entre lame et lamelle dans le glycérol à 20% puis observés à l'objectif 16. La présence d'hyphes internes, de vésicules et/ou d'arbuscules permet de classer l'espèce comme endomycorhizée. On peut préciser que du fait du traitement par autoclavage dans la potasse, les observations n'ont pas été réalisées sur des racines entières mais sur le cortex dilacéré.

3.5- Observation des ECM

La couleur du manteau est noté à la récolte. Au laboratoire, des coupes à main levée sont réalisées dans les racines ectomycorhizées. Les coupes les plus fines sont éclaircies dans une solution à 15% d'hypochlorite de sodium, rincées à l'eau déminéralisée et colorées dans une solution à 0,5% de rouge Congo ammoniacal glycériné. Les coupes sont ensuite montées dans du glycérol à 50% et examinées au microscope à contraste de phase interférentiel.

Le diamètre des racines, l'épaisseur du manteau fongique et la profondeur de pénétration radiale du réseau de Hartig ont été mesurés à l'aide d'un micromètre oculaire. Les valeurs présentées résultent de la moyenne de 5 à 10 observations réalisées dans des ECM différentes. Les valeurs moyennes calculées ont été arrondies à la dizaine la plus proche pour le diamètre et à l'unité la plus proche pour l'épaisseur du manteau fongique et la profondeur de pénétration radiale du réseau de Hartig.

4- RESULTATS

4.1- Les *Acacia*

Des nodules ont été mis en évidence au champ sur deux espèces d'*Acacia* originaires d'Afrique et sur trois espèces originaires d'Australie (Tableau 3, Planche : 5).

L'infection par les champignons endomycorhiziens semble être la règle pour les *Acacia*, quelle que soit leur origine, africaine ou australienne. En effet, dans les échantillons racinaires de chaque espèce, nous avons observé des hyphes internes, des vésicules et/ou des arbuscules (Tableau 3, Planche 6). D'après leur morphologie, nous avons distingué plusieurs types de MVA. Ces dernières n'ont pu être déterminées.

Tableau 3 : Etat symbiotique, *in situ*, au Sénégal de 12 espèces d'*Acacia s.l.*

Origine/Espèces	Nodules	VAM	ECM	Stations
Afrique :				
<i>Acacia laeta</i>	- (1)	+	-	SS1:2
<i>Acacia nilotica</i>	- (2,3)	+	-	SA:8,10
<i>Acacia raddiana</i>	+	+	-	SA:8,12 ; SS1:9
<i>Acacia senegal</i>	+	+	-	SS1:9
<i>Acacia seyal</i>	- (2,3)	+	-	SS1:7
Australie :				
<i>Acacia ampliceps</i>	-	+	-	SS2:1,2
<i>Acacia aneura</i>	- (2,3)	+	- (4)	SS2:1
<i>Acacia auriculiformis</i>	+	+	-	SS1:2
<i>Acacia holosericea</i>	+	+	+	SA:1,6,7,10,11,12; SS1:2,5,6,7,9;SS2:1,2,3,4;SO:3,4,5;SG:4;GS:3
<i>Acacia mangium</i>	+	+	- (5)	SG:4 ; GS:3
<i>Acacia trachycarpa</i>	-	+	+	SA:10 ; SS2:3 SO:3,5 ; GS:3
<i>Acacia tumida</i>	-	+	-	SS1:9 ; GS:3

+ observation positive , - observation négative ; les références entre parenthèses indiquent alors que les observations ont été signalées positives par d'autres auteurs. (1): Badji *et al.* ,1989 ; (2) : Allen et Allen, 1981 ; (3) : Hollyday et Nakoo, 1982 ; (4) : Warcup, 1980 ; (5) : NRC, 1984.

Trois espèces fongiques présumées ectomycorhiziennes ont été récoltées sous cinq espèces d'*Acacia* (Tableau 4, Planche 7). Cependant, des ECM n'ont été observées qu'avec une seule espèce fongique : *Pisolithus sp.* avec *Acacia holosericea* et *A. trachycarpa*, tous deux originaires d'Australie (Tableau 4) , les ECM formées sont jaune vif (Planches 8 et 9).

Tableau 4 : Champignons présumés mycorhiziens récoltés sous différents acacias croissant au Sénégal et observation d'ECM sur l'hôte potentiel.

Espèce fongique	Hôte présumé	Stations	ECM
<i>Pisolithus</i> sp.	<i>Acacia holosericea</i>	SA:6,7,10,11 ; SS1:5 ; SO:5	+
	<i>Acacia trachycarpa</i>	SS2:3 ; SO:5	+
<i>Phallus roseus</i>	<i>Acacia holosericea</i>	SS1:5	-
<i>Phlebopus sudanicus</i>	<i>Acacia holosericea</i>	GS:2	-
	<i>Acacia nilotica</i>	SA:5	-
	<i>Acacia raddiana</i>	SA:11	-
	<i>Acacia senegal</i>	SA:10	-

+ : observation positive ; - : observation négative.

L'ectomycorhization d'*Acacia holosericea* n'a pu être prouvée que dans six stations sur vingt où l'espèce est présente (Tableau 5). Des doubles symbioses endomycorhizes-ectomycorhizes ont été observées dans la station SA:7 et, SS1:5. Dans cette dernière station, nous avons pu mettre en évidence une triple symbiose Nodules-MVA-ECM. Cependant, sur les vingt stations où l'espèce est présente, la nodulation n'a pu être mise en évidence que quatre fois, dans les stations SA:10 , SS1:5 , SS2:4 et GS 2

L'ectomycorhization d'*Acacia trachycarpa* a été prouvée dans deux stations sur cinq où l'espèce est présente (Tableau 5). Des MVA ont été observées dans les trois autres stations. Aucun cas de double symbiose MVA + ECM n'a été observé pour cette espèce.

Tableau 5 . Etat symbiotique d'*Acacia holosericea* et d'*A. trachycarpa* dans différentes stations au Sénégal

Stations	Description du site	âge (an)	<i>A. holosericea</i>			<i>A. trachycarpa</i>		
			Nod	VAM	ECM	Nod	VAM	ECM
SA 1	Brise vent en sec	4	-	+	-	.	.	.
SA:6	Plantation irriguée	3	-	-	+	.	.	.
SA 7	Subspontané, berge du canal du Taouey	3	-	+	+	.	.	.
SA:10	Plantation irriguée	2	+	-	+	-	+	-
SA.11	Régénération dans brise vent irrigué	1/4	-	-	+	.	.	.
	Brise vent irrigué	2	-	-	+	.	.	.
SA:12	Plantation en sec	6	-	+	-	.	.	.
SA:12	Semi direct en sec	5	-	+	-	.	.	.
SS1-2	Arbre isolé	3	-	+	-	.	.	.

(Tableau 5 suite)

SS1 5	Plantation sur dunes	5	+	+	+	.	.	.
SS1 6	Plantation sur dunes	2	-	+	-	.	.	.
SS1 7	Plantation en sec	4	-	+	-	.	.	.
SS1 9	Brise vent	2	-	+	-	.	.	.
SS2 1	Plantation en sec	4	-	+	-	.	.	.
SS2 2	Plantation en sec	4	-	+	-	.	.	.
SS2 3	Plantation en sec	4	-	+	-	-	-	+
SS2 4	Plantation en sec	2	+	+	-	.	.	.
SO.3	Bois villageois	3	-	+	-	-	+	-
SO.4	Bois villageois	3	-	+	-	.	.	.
SO.5	Bois villageois	4	-	-	+	-	-	+
SG 4	Plantation en sec	2	-	+	-	.	.	.
GS.3	Régénération pyrophile 1/4		+	+	-	.	.	.
	Plantation en sec	4	+	+	-	-	+	-

+ : observation positive , - : observation négative , . : espèce non présente sur la station

Les caractéristiques des ECM de ces espèces sont reportées dans le tableau 6. Les ECM formées par *Pisolithus sp.* sur *Acacia holosericea* et *Acacia trachycarpa* sont jaune vif et ont un diamètre moyen de 330 μm . Les différences anatomiques entre les ECM de ces deux espèces se situent au niveau de l'épaisseur du manteau : 32 μm pour *Acacia holosericea* et 38 μm pour *Acacia trachycarpa*, et de la profondeur de pénétration radiale du réseau de Hartig : 38 μm pour *Acacia holosericea* et 20 μm pour *Acacia trachycarpa* (Planche 10). Des rhizomorphes émanant du manteau ont fréquemment été observés dans les deux cas.

Tableau 6 . Principales caractéristiques anatomiques des mycorhizes récoltées *in situ* sur *Acacia holosericea* et *A. trachycarpa* au Sénégal

Espèce hôte	Station	couleur	Diam.	Manteau	RH
<i>A. holosericea</i>	SA.6	Jv	320	36	36
	SA.7	Jv	430	26	44
	SA.10	Jv	280	34	40
	SA.11	Jv	310	32	38
	SS1:5	Jv	350	30	36
	SO 5	Jv	290	28	32
<i>A. trachycarpa</i>	SS2:3	Jv	320	40	20
	SO 5	Jv	340	36	20

Jv = Jaune vif , Diam. = Diamètre de la mycorhize en μm ; Manteau = épaisseur du manteau fongique en μm ; RH = profondeur radiale de pénétration du réseau de Hartig en μm .

4 2- Les espèces introduites d'Australie autres que les acacias

L'état symbiotique des espèces australiennes observées *in situ* est reporté dans le tableau 7.

Tableau 7 . Etat symbiotique *in situ* de sept espèces australiennes introduites au Sénégal et au Fouta Djallon.

Espèces	Nodules	MVA	ECM	Régions
Casuarinaceae				
<i>Casuarina equisetifolia</i>	+	+	+	SA
Myrtaceae				
<i>Eucalyptus apodophylla</i>	-	-	+	SA
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	-	+	+	SA, SS1, SS2, SO, SG, GS, FD
<i>Eucalyptus pentaleuca</i>	-	-	+	SA
<i>Eucalyptus robusta</i>	-	+	+	SS1
<i>Eucalyptus sp.</i>	-	-	+	FD
<i>Melaleuca leucadendron</i>	-	+	+	SA, SS1, SS2

+ : observation positive , - : observation négative.

Des nodules à *Frankia sp.* ont été observés sur *Casuarina equisetifolia*. La présence de MVA a été mise en évidence sur quatre des sept espèces examinées. Nous n'avons pas observé de MVA sur trois espèces d'*Eucalyptus* ectomycorhizées. Une triple symbiose *Casuarina equisetifolia*-*Frankia*-MVA-ECM a été mise en évidence à la station SA:3. Des ECM ont été observées sur toutes les espèces originaires d'Australie introduites au Sénégal : au total, quatre espèces de champignons présumés ectomycorhiziens, réparties dans les familles des *Sclerodermataceae* (trois espèces) (Planche 11) et dans la famille de *Boletaceae* (une espèce), ont été observées dans ces plantations (Tableau 8). Des ECM ont été mises en évidence uniquement avec les *Sclerodermataceae*. *Pisolithus sp.* forme sur les racines courtes des ECM jaune vif droites tandis que les Sclérodermes, *Scleroderma capense* et *S. verrucosum*, forment des ECM blanches sinueuses à odeur sclérodermique typique (Planche 11).

Tableau 8 Champignons présumés ectomycorhiziens récoltés sous sept espèces australiennes introduites au Sénégal et au Fouta Djallon et présence d'ECM.

Espèce fongique	Hôte présumé	Régions	ECM
<i>Pisolithus sp.</i>			
	<i>Casuarina equisetifolia</i>	SA, SS1	+
	<i>Eucalyptus apodophylla</i>	SA	+
	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	SA, SS1, SS2 SO, SG, GS	+
	<i>Eucalyptus pentaleuca</i>	SA	+
	<i>Eucalyptus robusta</i>	SS1	+
	<i>Melaleuca leucadendron</i>	SA, SS1, SS2	+
<i>Scleroderma capense</i>			
	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	SS1	+
	<i>Eucalyptus robusta</i>	SS1	+
<i>Scleroderma verrucosum</i>			
	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	SS1, FD	+
	<i>Eucalyptus sp.</i>	FD	+

(Tableau 8 suite)

Phlebopus sudanicus

<i>Casuarina equisetifolia</i>	SS1, GS	-
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	SS1	-

+ : observation positive ; - : observation négative

Dans les stations SS1:5 et SS1:3, nous avons observé le système racinaire d'un même *Eucalyptus camaldulensis* ectomycorhizé par *Pisolithus sp.* et *Scleroderma capense*.

Les caractéristiques des ECM récoltées sont reportées dans le tableau 9. Les ECM de toutes les espèces observées ont un manteau plus ou moins épais et un réseau de Hartig bien formé. Le diamètre moyen des ECM est de 207 μm , l'épaisseur du manteau de 19 μm et la profondeur de pénétration radiale du réseau de Hartig de 20 μm (Planche 10).

Tableau 9 : Principales caractéristiques anatomiques des ECM récoltées *in situ* sur sept espèces australiennes introduites au Sénégal.

Champignons/ espèce hôte	Station	Couleur	Diam.	Manteau	RH
<i>Pisolithus sp.</i>					
<i>Casuarina equisetifolia</i>	SA:3	Jv	200	20	22
<i>Eucalyptus apodophylla</i>	SA:10	Jv	190	20	23
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	SA:6	Jv	240	26	24
<i>Eucalyptus pentaleuca</i>	SA:10	Jv	190	19	18
<i>Eucalyptus robusta</i>	SS1:3	Jv	210	22	20
<i>Melaleuca leucadendron</i>	SA:10	Jv	210	12	10
	SS1:8	Jv	200	23	15
<i>Scleroderma capense</i>					
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	SS1:3	Bl	200	20	22
	SS1:5	Bl	230	20	16
<i>Eucalyptus robusta</i>	SS1:3	Bl	190	16	24
<i>Scleroderma verrucosum</i>					
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	SS1:3	Bl	150	14	23

Jv = Jaune vif, Bl = Blanc, Diam = Diamètre de la mycorhize en μm ; Manteau = épaisseur du manteau fongique en μm , RH = profondeur de pénétration radiale du réseau de Hartig en μm

Parmi ces sept espèces introduites, *Eucalyptus camaldulensis*, présent dans six des sept régions phytogéographiques du Sénégal, est de loin l'espèce introduite la plus répandue au Sénégal. Dans toutes les plantations où nous avons observé *Eucalyptus camaldulensis*, nous avons pu mettre en évidence des ECM jaune vif, des carpophores de *Pisolithus sp.*, ou ces deux éléments réunis (Planche 11), sauf au Fouta Djallon (station FD:5) où cette espèce n'a pas été récoltée. Dans ce cas, les *Eucalyptus* étaient ectomycorhizés par *Scleroderma verrucosum*. Le fait que *Pisolithus sp.* n'ait pas été observé au Fouta Djallon peut résulter de l'isolement géographique et politique des stations (Le Fouta Dalon est une région montagneuse de la Guinée, pays dont l'accès est très limité depuis 1960) aussi bien que de la période de prospection, celle-ci ne coïncidant pas avec la fructification de cette espèce.

4.3- Les autres espèces (non *Acacia* et non australiennes).

La détermination du statut symbiotique des espèces de ce dernier groupe résulte d'observations de terrain complétées par une compilation bibliographique, récapitulée dans le tableau 10

Tableau 10 . Etat symbiotique de 67 espèces locales et de 12 espèces introduites dans la région (à l'exclusion des *Acacia* et des espèces originaires d'Australie).

Origines/Espèces	Nod.	MVA	ECM	Régions	Réf.
AFRIQUE					
DILLENIACEAE					
<i>Tetracera alnifolia</i>	-	+	-	GS	1
OCHNACEAE					
<i>Lophira lanceolata</i>	-	+	-	SG	1
GUTTIFERACEAE					
<i>Mammea africana</i>	-	+	-	G	1
BOMBACACEAE					
<i>Adansonia digitata</i>	-	+	-	SS1	1
ULMACEAE					
<i>Celtis integrifolia</i>	-	+	-	SG	1
MORACEAE					
<i>Treulia africana</i>	-	+	-	G	1
TAMARICACEAE					
<i>Tamarix senegalensis</i>	-	-	-	SS1	1
ROSACEAE					
<i>Parinari excelsa</i>	-	+	-	SG	1
CAESALPINIACEAE					
<i>Afzelia africana</i>	-	+	+	SG, GS, G, FD1,2	
<i>Afzelia bracteata</i>	-	+	+	FD	1,3
<i>Anthonothea crassifolia</i>	-	+	+	FD	1,3
<i>Cassia sieberiana</i>	-	+	-	SG	1
<i>Cordyla pinnata</i>	-	+	-	SG	1
<i>Danielia ogea</i>	-	+	-	SG	1
<i>Danielia oliveri</i>	-	+	-	SG	1
<i>Detarium microcarpum</i>	-	+	-	SG	1
<i>Detarium senegalense</i>	-	+	-	SG	1
<i>Dialium guineense</i>	-	+	-	GS	1
<i>Erythrophleum guineense</i>	+	+	-	SG, GS	1
<i>Piliostigma reticulatum</i>	-	+	-	GS	1
PAPILIONACEAE					
<i>Abrus stictosperma</i>	+	+	-	GS	1
<i>Afromosia laxiflora</i>	-	+	-	SG	1
<i>Dalbergia boehmii</i>	+	+	-	GS	1
<i>Dalbergia melanoxylon</i>	+	+	-	SS1	1
<i>Dalbergia rufa</i>	+	+	-	G	1
<i>Erythrina senegalensis</i>	-	+	-	SG	1
<i>Leptoderris brachyptera</i>	+	+	-	G	1
<i>Leptoderris fasciculata</i>	+	+	-	SG	1
<i>Lonchocarpus laxiflorus</i>	-	+	-	SG	1

(Tableau 10 suite)

<i>Moghania faginea</i>	+	+	-	GS	1
<i>Ostrioderris stuhlmanii</i>	+	+	-	SG	1
<i>Pterocarpus erinaceus</i>	+	+	-	SG	1
MIMOSACEAE					
<i>Albizia adianthifolia</i>	+	+	-	SG	1
<i>Albizia zigia</i>	+	+	-	GS	1
<i>Dichrostachys glomerata</i>	-	+	-	G	1
<i>Parkia biglobosa</i>	-	+	-	G, SS1	1
<i>Prosopis africana</i>	+	+	-	SG	1,4
<i>Samanea dinklagei</i>	+	+	-	GS	1
<i>Tetrapleura tetraptera</i>	+	+	-	GS	1
MYRTACEAE					
<i>Syzygium guineense</i>	-	+	-	SG	1
COMBRETACEAE					
<i>Combretum glutinosum</i>	-	+	-	SS1	1
<i>Terminalia glaucescens</i>	-	+	-	SG	1
<i>Terminalia ivorensis</i>	-	+	-	SG	1
<i>Terminalia laxiflora</i>	-	+	-	SG	1
<i>Terminalia macroptera</i>	-	+	-	GS, G	1
<i>Terminalia mantaly</i>	-	+	-	SS1	1
<i>Terminalia superba</i>	-	+	-	GS	1
CELASTRACEAE					
<i>Maytenus senegalensis</i>	-	+	-	SS1	1
EUPHORBIACEAE					
<i>Anthosthema senegalensis</i>	-	+	-	SG	1
<i>Bridelia micrantha</i>	-	+	-	GS	1
<i>Euphorbia balsamifera</i>	-	+	-	SS1	1
<i>Ricinodendron heudelotii</i>	-	+	-	SG	1
<i>Uapaca chevalieri</i>	-	+	+	FD	1,3
<i>Uapaca guineensis</i>	-	+	+	SG, GS, G, FD	1,2,3
<i>Uapaca sp.</i>	-	.	+	FD	1,3
SAPINDACEAE					
<i>Allophyllus africanus</i>	-	+	-	SG, GS	1
<i>Dodonea viscosa</i>	-	+	-	SS1	1
SIMAROUBACEAE					
<i>Balanites aegyptiaca</i>	-	+	-	SS1	1
MELIACEAE					
<i>Carapa procera</i>	-	+	-	G	1
RUTACEAE					
<i>Fagara leuprieurii</i>	-	+	-	G	1
ASCLEPIADACEAE					
<i>Calotropis procera</i>	-	+	-	SS1	1
BORAGINACEAE					
<i>Rotula aquatica</i>	-	+	-	SS1	1
RUBIACEAE					
<i>Cephaelis peduncularis</i>	-	+	-	G	1
<i>Mitragyna inermis</i>	-	+	-	SG	1
<i>Mitragyna stipulosa</i>	-	+	-	GS	1
<i>Pavetta corymbosa</i>	-	+	-	GS	1

(Tableau 10 suite)

ARECACEAE

<i>Elaeis guineensis</i>	-	+	-	SG	1
--------------------------	---	---	---	----	---

AMERIQUE/ASIE

PINACEAE

<i>Pinus kesiya</i>	-	-	+	FD	1,3
<i>Pinus patula</i>	-	.	+	FD	1,3

LAURACEAE

<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	-	.	+	FD	1,3
------------------------------	---	---	---	----	-----

CAESALPINIACEAE

<i>Cassia siamea</i>	-	+	-	SS1	1
----------------------	---	---	---	-----	---

MIMOSACEAE

<i>Albizia lebbbeck</i>	+	+	-	SS2	1,4
<i>Leucaena leucocephala</i>	+	+	-	SS1	1,4
<i>Prosopis juliflora</i>	+	+	-	SS1	1,4

(Tableau 10 suite)

ANACARDIACEAE

<i>Anacardium occidentale</i>	-	+	-	SS2, GS	1
<i>Mangifera indica</i>	-	+	-	SS1	1

MELIACEAE

<i>Azadirachta indica</i>	-	+	-	SS1	1
---------------------------	---	---	---	-----	---

VERBENACEAE

<i>Gmelina arborea</i>	-	+	-	SG	1
<i>Tectona grandis</i>	-	+	-	GS	1

+ observation positive ; - . observation négative ; . observation non réalisée ; Réf : références : 1 : Thoen et Ducouso, 1990 ; 2 : Thoen et Ba, 1989 ; 3 : Thoen et Ducouso, 1989 et 4 : Diagne, 1989.

Des nodules sont signalés dans les trois familles que regroupent les légumineuses (*Caesalpinaceae*, *Mimosaceae* et *Papilionaceae*), et nos observations de terrain le vérifient. Parmi treize espèces de *Caesalpinaceae* observées, une seule espèce, *Erythrophleum guineense*, porte des nodules. La nodulation des *Papilionaceae* et des *Mimosaceae* semble beaucoup plus fréquente avec, respectivement, 8 espèces sur 12 et 8 espèces sur 10 nodulées.

Des MVA ont été observées dans 24 des 27 familles étudiées, soit dans 75 des 79 espèces étudiées.

Au total, neuf espèces ectomycorhizées ont été observées. Au Sénégal, seul *Afzelia africana* (*Caesalpinaceae*) et *Uapaca guineensis* (*Euphorbiaceae*) sont présents uniquement dans les secteurs G, GS et SG. Au Fouta Djallon, nous avons pu observer au moins un représentant de chaque espèce ectomycorhizée. Les champignons récoltés sous les espèces locales se répartissent en 7 ordres pour 33 espèces au Fouta Djallon (Thoen et Ducouso, 1989) et en 8 ordres pour 41 espèces au Sénégal (Thoen et Ba, 1989) où les prospections ont été plus complètes. Que ce soit au Sénégal ou en Guinée, 85% des espèces fongiques de la flore ectomycorhizienne des essences locales sont réparties dans 3 ordres : les Bolétales, les Agaricales et les Russulales. Cette diversité est illustrée par les planches 12 et 13, extraites de l'article "Champignons et ectomycorhizes du Fouta Djallon" (Thoen et Ducouso, 1989). La diversité de cette flore est beaucoup plus réduite sous les espèces introduites où seulement 8 espèces fongiques supposées ectomycorhiziennes ont été récoltées. Parmi celles-ci, une nouvelle espèce de *Corditubera*, récoltée sous *Pinus kesiya* est à l'étude au laboratoire de J.M. Trappe.

La présence de plusieurs espèces fongiques ectomycorhiziennes sur un même arbre, bien connue dans les régions tempérées, a été retrouvée fréquemment sur les essences locales (Thoen et Ba, 1989 ; Thoen et Ducouso, 1989). Des ECM composites, c'est-à-dire que le mycélium de la première espèce forme sur la racine courte un réseau de Hartig et un manteau, le mycélium de la seconde espèce épaissit ce manteau en le recouvrant plus ou moins complètement. Les relations trophiques entre les différents partenaires restent encore inconnues. Quatre exemples d'ECM observées sur des espèces de ce troisième groupe sont illustrés planche 14.

Les principales caractéristiques morphologiques et anatomiques des ECM d'*Afzelia africana* et *Uapaca guineensis* récoltées au Sénégal sont décrites par Thoen et Ba (1989). Ces caractéristiques sont sensiblement équivalentes à celles décrites pour ces mêmes espèces au Fouta Djallon (Thoen et Ducouso, 1989). En moyenne, les espèces locales forment des ECM d'un plus gros diamètre que les espèces introduites : 412,7 μm contre 351,8 μm en moyenne, avec des manteaux sensiblement plus épais : 39,3 μm contre 24,8 μm en moyenne. Ces différences sont significatives au seuil de 5%. Les profondeurs de pénétration du réseau de Hartig ne sont pas significativement différentes (au seuil de 5%) : 34,5 μm contre 32,4 μm .

5- DISCUSSION

5.1- Observations concernant la nodulation.

Des nodules à *Frankia* ont été observés sur *Casuarina equisetifolia*. L'importance de cette symbiose a déjà été mise en évidence au Sénégal par Dommergues (1963).

Au champ, nous avons pu dans certains cas mettre en évidence des nodules sur des légumineuses. Cependant, cette recherche est aléatoire et n'est réalisable avec un certain succès que lorsque les nodules sont pérennes et visibles toute l'année, comme c'est le cas pour *Erythrophleum guineensis*, ou dans les sols meubles, ou lorsque les racines portant les nodules affleurent dans la litière, cas d'*Acacia mangium* notamment (Planche 5). En dehors de ces conditions, il est très difficile de déterrer les racines sans les casser, donc d'être sûr de leur identité. La recherche des nodules dans les sols argileux ou compactés est très difficile et quasiment impossible dans les sols cuirassés. Les observations réalisées à la station GS:2 ont montré que pour *Acacia holosericea* et *A. mangium* les nodules sont annuels et apparaissent avec le début de la saison des pluies. Ceux-ci ne sont bien développés et visibles que trois mois après le début de celle-ci. Les faits énoncés ci-dessus sont sans doute à l'origine de l'observation de la nodulation sur seulement cinq des neuf espèces d'*Acacia* signalés nodulés (Allen et Allen, 1981 ; Hallyday et Nakao, 1982 ; Badji *et al.*, 1988a). En ce qui concerne les autres espèces, nous avons trouvé des nodules sur 18 espèces de légumineuses ; 10 espèces locales n'ont, à notre connaissance, jamais été signalées nodulées (Hallyday et Nakao, 1982) , ceci montre bien que les connaissances sur les symbioses racinaires de la zone d'étude sont encore très fragmentaires. Pochon et De Barjac (1958) indiquent une répartition du pourcentage des espèces nodulées selon les familles de légumineuses comme suit : *Caesalpiniaceae*, 35 % ; *Mimosaceae*, 90 % ; *Papilionaceae*, 95 %. Parmi ces familles, nos observations vont dans le même sens malgré une légère sous estimation des valeurs, liée aux techniques de prélèvement. Les valeurs observées sont respectivement de 8%, 60% et 75 % pour les trois familles considérées.

Des études sur les *Rhizobium s.l.* d'*Acacia* ont montré qu'il existait pour ces espèces trois groupes de nodulation croisée (Dreyfus et Dommergues, 1981). Un premier groupe comprend les espèces qui nodulent avec des souches à croissance rapide (ou *Rhizobium*), comme par exemple *Acacia laeta*, *A. senegal*, *A. raddiana* ; un deuxième groupe, les espèces qui nodulent avec des souches à croissance lente (ou *Bradyrhizobium*) comme *Acacia bivenosa*, *A. holosericea*, *A. mangium* ; un troisième groupe, les espèces qui sont nodulées indifféremment par les souches à croissance rapide et à croissance lente comme *Acacia ampliceps*, *A. seyal*. Dans ce dernier groupe, certaines espèces montrent des différences quant à la capacité des souches à fixer l'azote ou l'efficacité. Par exemple, *Acacia seyal* forme des nodules inefficients, c'est-à-dire non fixateurs d'azote avec les *Bradyrhizobium* tandis qu'avec les *Rhizobium*, les nodules fixent activement l'azote. Trois des cinq espèces d'*Acacia* originaires d'Australie ont été observées nodulées spontanément dans les sols sénégalais. La présence de *Rhizobium s.l.* capable de former des nodules (efficaces) fixateurs d'azote (efficaces) sur les espèces locales était déjà connue dans la région (Cornet, 1982 ; Diagne, 1989 ; Badji *et al.*, 1988a). Malgré une certaine spécificité d'hôte des *Rhizobium* tropicaux (Dreyfus et Dommergues, 1981 ; Cornet, 1982), la présence de souches de *Rhizobium s.l.* compatibles avec les espèces australiennes est intéressante car elle constitue un élément important pour la réussite de l'introduction de ces espèces en assurant aux arbres une certaine autonomie vis-à-vis de l'azote et par la même une bonne reprise lors de la plantation et une croissance accrue dans les sols tropicaux souvent très pauvres en azote combiné.

La fixation d'azote semble avoir un rôle déterminant dans les zones tropicales sèches, notamment au Sénégal où le cortège floristique des ligneux est très nettement dominé par les légumineuses (Trochain, 1940). La présence dans les sols sénégalais de bactéries capables de fixer symbiotiquement l'azote aussi bien avec les espèces locales qu'avec les espèces introduites est un atout important pour la réussite des reboisements dans cette zone.

5.2- Observations concernant les MVA.

Les *Endogonaceae*, champignons inférieurs responsables de la formation des MVA, sont non spécifiques, c'est-à-dire à très large spectre d'hôte (Mosse, 1975a). En effet, un champignon comme *Glomus mosseae* est capable d'infecter et d'accroître significativement la productivité aussi bien de plantes herbacées : *Arachis hypogea* (arachide), *Vigna unguiculata* (niébbé) (Gueye, 1983), que de plantes ligneuses, *Acacia holosericea*, *Acacia raddiana*, *Casuarina equisetifolia* (filao) (Cornet et Diem, 1982, Cornet *et al.*, 1985). L'importance de l'endomycorhization dans l'amélioration de la nutrition minérale et notamment phosphatée est bien connue (e.g. Pairunan *et al.*, 1980) et peut contribuer à une meilleure reprise et une productivité accrue des plantations (e.g. Cornet *et al.*, 1982).

Selon Redhead (1980), 95% des espèces forestières tropicales seraient à MVA. Nos résultats sont en accord avec ces chiffres puisque 91 des 95 espèces examinées sont à MVA. Ces dernières sont beaucoup plus rares dans les sols hydromorphes et halomorphes (Trappe, 1987). D'ailleurs, nos observations ont montré l'absence de MVA chez *Tamarix senegalensis*, espèce des milieux salés. Les MVA sont aussi rarement observées sur les espèces dont le système racinaire est bien ectomycorhizé, cas d'*Eucalyptus ssp.*. Les travaux de Lapeyrie et Chilvers (1985) ont clairement établi pour *Eucalyptus dumosa* une succession dans le temps des types mycorhiziens. Le type MVA domine chez les jeunes plants et le type ECM chez les plants plus âgés. C'est sans doute la raison pour laquelle nous n'avons observé que des ECM dans la plupart des plantations d'*Eucalyptus* âgées de plus d'un an.

La non spécificité de l'endomycorhization a permis l'installation de MVA pour toutes les espèces introduites étudiées, notamment les *Acacia* australiens.

5.3- Les doubles symbioses : Nodule-MVA.

En zones tropicales sèches où le cortège floristique des ligneux est largement dominé par les légumineuses, la fixation d'azote a un rôle très important ; toutefois, le phosphore est un facteur limitant de la fixation d'azote par les arbres (e.g. Badji *et al.*, 1988b). Les MVA, bien connues pour leur rôle dans l'amélioration de la nutrition minérale et notamment phosphatée, permettent, comme un apport d'engrais phosphaté, à la symbiose fixatrice d'azote de s'exprimer (Badji *et al.*, 1988b). Il ne faut pas négliger les autres rôles des MVA dans l'amélioration de l'absorption de l'eau, de la nutrition azotée, de l'absorption d'oligo-éléments, de la production d'hormones (Gianinazzi-Pearson, 1982) surtout dans les conditions d'aridité et de température extrême qui règnent au Sahel.

Par leur effet de synergie, les doubles symbioses *Rhizobium*-MVA sont un atout important pour la réussite des plantations (Cornet *et al.*, 1982), surtout dans les sols tropicaux souvent très pauvres en azote et en phosphore. D'ailleurs, dans les régions tropicales, de plus en plus de projets de reboisement et de ligniculture intensive utilisent des espèces fixatrices d'azote à croissance rapide et très performantes dans des conditions édapho-climatiques particulièrement

rigoureuses. Dans ce cas, une double inoculation des plants en pépinière par des bactéries fixatrices d'azote et des MVA constitue un atout important pour la réussite de ces plantations en assurant des taux de reprise élevés et une croissance accrue. Dans ce cadre, la sélection des endophytes devra être envisagée non seulement sur les capacités propres de chaque couple Bactérie-MVA à accroître la productivité des plantations mais aussi sur la compétitivité de ces couples sélectionnés vis-à-vis de la microflore locale.

L'observation systématique de MVA chez les 27 espèces de légumineuses que nous avons trouvées nodulées n'est donc pas étonnante. L'extrême rigueur édapho-climatique à laquelle est soumise la végétation sahélienne donne certainement un avantage écologique important aux plantes capables d'avoir un équipement symbiotique aussi complet. Dans le cas de certains *Acacia*, nous avons observé des symbioses quadripartites, c'est-à-dire de la plante hôte associée à trois partenaires microbiens : une bactérie, un champignon endomycorhizien et un champignon ectomycorhizien. Dans la quatrième partie de ce mémoire, nous avons cherché quelle pouvait être l'importance dans la physiologie des plantes de systèmes symbiotiques aussi complexes.

5.4- Observations concernant les ECM.

Des ECM provoquées par *Pisolithus* sp. sur *Acacia holosericea* et *A. trachycarpa* ont été observées dans plusieurs stations au Sénégal. A notre connaissance, les ECM n'avaient, à ce jour, pas encore été observées sur ces deux espèces. Des ECM provoquées par *Thelephora ramariodes* sur *Acacia mangium* ont été signalées au Sabah (NRC, 1984), de même Le Tacon *et al.* (1989) signalent *Acacia mangium* ECM en Australie sans indiquer l'espèce responsable de cette symbiose ni la technique qui a permis de mettre en évidence cette symbiose. Le fait que nous n'ayons pas observé d'ECM au champ sur *Acacia mangium* est sans doute lié à l'introduction récente (1982) et timide (3 plantations) de cette espèce dans la région. D'ailleurs, à Pointe Noire au Congo, où des plantations plus importantes ont été réalisées, *Acacia mangium* partage avec les *Eucalyptus* le même type d'ECM due à un Scléroderme indéterminé [Garbaye, communication personnelle]. D'autres espèces d'*Acacia* australiens sont signalées ectomycorhiziennes, mais les observations résultent d'inoculation en pépinière et non d'observations de terrain (Warcup, 1980). Aucune ECM n'a été observée sur les espèces originaires d'Afrique malgré la présence sous certaines espèces de carpophores de *Phlebopus sudanicus*. La capacité de cette dernière espèce à former des ECM n'a pas encore été clairement établie, même si Ba (1990) a montré pour cette espèce un pouvoir ectomycorhizien faible avec *Acacia holosericea* et *Pinus caribaea*.

Des différences importantes ont été mises en évidence entre les *Acacia* australiens et les *Acacia* africains. Une révision récente du genre (Pedley, 1986) a conduit au transfert de 276 espèces australiennes natives du Queensland dans le genre *Racosperma*. Des différences importantes de croissance et de nodulation en pépinière ont également été mis en évidence (Ducousso *et al.*, 1989).

Nos observations de terrain apportent des éléments supplémentaires pour différencier les *Acacia* australiens des *Acacia* africains. Les *Acacia* africains semblent être exclusivement à MVA, tandis que les *Acacia* australiens peuvent être soit à MVA, soit à ECM, soit à MVA et ECM simultanément. Nos observations de terrain réalisées sur 12 espèces d'*Acacia* ne peuvent pas nous permettre de conclure sur un genre riche de plus de 1200 espèces. Le type mycorhizien est un élément de plus qui sépare les *Acacia* australiens (MVA et ECM) des *Acacia* africains (exclusivement MVA).

Parmi les autres espèces introduites d'Australie, toutes ont été observées ectomycorhizées par *Pisolithus* sp.. Ce dernier est la première espèce ectomycorhizienne décrite au

Sénégal (Thoen, 1986) et est également l'espèce la plus répandue dans ce pays. Des ECM provoquées par *Scleroderma verrucosum* et *S. capense* ont également été observées sur *Eucalyptus camaldulensis*. *Scleroderma capense*, ectomycorhizien d'*Eucalyptus camaldulensis*, a été récolté dans les stations SS1:3 et SS1:5. A notre connaissance, cette espèce décrite en Afrique du Sud n'a encore jamais été signalée ectomycorhizienne. En raison de son habitat hypogé et de la très petite taille de ses carpophores, la prospection de cette espèce est difficile et son importance dans l'ectomycorhization des espèces introduites au Sénégal a sans doute été sous-estimée. Des observations au champ ont montré la présence simultanée de ces deux espèces sur un même *Eucalyptus camaldulensis*. Des observations à la serre ont montré que *Scleroderma capense* était une espèce très compétitive vis-à-vis de *Pisolithus* sp.. Des plants de pépinière ectomycorhizés spontanément par ces deux espèces fongiques ont été entretenus à la serre dans des pots de terre cuite (contenant environ 4 kg de sol sec) arrosés quotidiennement à la capacité de rétention du sol. Après un an, invariablement, *Pisolithus* sp. avait disparu au profit de *Scleroderma capense*.

Nous constatons que, pour toutes les espèces australiennes introduites au Sénégal et en Guinée, la flore ECM est limitée à trois espèces de Sclerodermataceae à large spectre. Ces espèces sont des mycorhizateurs précoces que l'on rencontre fréquemment en pépinière. Cependant, en Australie, la flore fongique est beaucoup plus diversifiée et les espèces ECM des *Eucalyptus* sont beaucoup plus nombreuses et variées, notamment en espèces hypogées comme peuvent en témoigner les récentes récoltes réalisées conjointement par le CSIRO, le CTFT et l'INRA (résultats non publiés), et la découverte récente d'un nouveau genre d'Ascomycète, *Muciturbo*, constitué de trois espèces ectomycorhiziennes des *Eucalyptus* et des *Acacia* (Warcup et Talbot, 1989).

La flore ectomycorhizienne potentielle des espèces australiennes, notamment des *Acacia*, n'est donc sûrement pas limitée à une seule espèce de *Pisolithus* sp., comme nous l'avons observée au Sénégal.

L'intérêt de la diversité fongique des cortèges ectomycorhiziens pour les *Acacia* n'est pas encore connu. Cependant, nous savons des régions tempérées que la flore ectomycorhizienne évolue avec le vieillissement des peuplements : les champignons "stade jeune", responsables de la mycorhization en pépinière, perdent progressivement de leur importance et d'autres espèces "stade âgé" s'installent (Mason *et al.*, 1982). Ce phénomène est probablement à l'origine de la très grande diversité mycologique généralement observée dans les peuplements plus âgés. Une évolution similaire a été constatée en pépinière avec *Afzelia africana* (Ba, 1990).

La seule présence des *Sclerodermataceae* reconnues à large spectre d'hôte, responsable de l'ectomycorhization précoce des plants et l'absence d'une flore ectomycorhizienne plus spécifique des stades âgés ne permettent pas l'évolution du cortège ectomycorhizien. C'est peut-être là une des raisons pour lesquelles une mortalité prématurée des espèces australiennes a si souvent été constatée au Sénégal. La diversité de la flore fongique des autres espèces introduites non originaires d'Australie est également faible dans la région. Au Fouta Djallon, Thoen et Ducouso (1989) signalent pour ces espèces un total de sept champignons présumés ECM. Parmi ceux-ci, on trouve *Suillus granulatus*, strictement inféodé aux pins ainsi que deux espèces de *Sclerodermataceae*. En ce qui concerne les autres espèces : une nouvelle espèce de *Corditubera*, une amanite indéterminée, *Strobilomyces luteolus* et *Phallus indusiatus*, leur aptitude ectomycorhizienne n'a pas été encore clairement établie.

Ces résultats nous invitent à ne pas négliger l'importance des *Sclerodermataceae* dans l'ECM contrôlée des espèces introduites. La sélection et l'inoculation par des souches particulièrement efficaces de *Sclerodermataceae* peuvent être importantes pour l'implantation et

l'accroissement de la productivité des plantations (Momoh et Gbadegesin, 1980 ; Delwaulle *et al.*, 1982 ; Garbaye, 1988). D'autre part, les pisolithes et les sclérodermes ont l'avantage d'être des espèces à très large spectre d'hôte. *Pisolithus tinctorius* a été reconnu ectomycorhizien de 44 espèces (Marx, 1977) réparties dans huit familles. Cependant, le pisolithe que nous avons récolté au Sénégal diffère de *Pisolithus tinctorius* s.s. par certains caractères botaniques (Thoen, 1986), notamment le diamètre et l'ornementation des spores ainsi que la couleur de la base du péridium. Le spectre d'hôte de cette espèce n'est pas entièrement connu. Nous savons qu'on la rencontre au Sénégal sous deux espèces d'*Acacia*, quatre espèces d'*Eucalyptus*, *Melaleuca leucadendron* et *Casuarina equisetifolia*. Malgré la capacité de cette espèce à former en conditions contrôlées des ECM jaune vif avec un manteau et un réseau de Hartig bien développé sur *Azelia africana* (Haoua, 1989; Ba, 1990), aucun carpophore de *Pisolithus* sp. n'a été récolté sous les espèces locales ectomycorhiziées. Nous ne l'avons pas observé non plus dans l'unique plantation de *Pinus caribaea* du Sénégal.

L'ensemble de ces observations milite en faveur d'une origine australienne du *Pisolithus* sp. que nous avons récolté. L'introduction fortuite de cette espèce en Afrique a sans doute été réalisée avec les premières plantations d'*Eucalyptus*. Actuellement, cette espèce est largement répandue sur le continent africain. Des récoltes réalisées au Tchad, au Niger, en Côte d'Ivoire, au Mali et au Kenya ont montré la présence de cette espèce dans les plantations d'*Eucalyptus*. Un échantillon de cette espèce a également été récolté en Nouvelle Calédonie dans une plantation d'*Eucalyptus*. Dans la région de Pointe Noire au Congo, les plantations d'*Eucalyptus* sont naturellement ectomycorhiziées par un scléroderme indéterminé (Garbaye, communication personnelle). L'introduction de souches de pisolithe d'origine américaine dans les plantations de pins (Delwaulle *et al.*, 1982) ne s'est pratiquement pas étendue aux *Eucalyptus* (Garbaye, communication personnelle). Récemment, l'inoculation des *Eucalyptus* a été réalisée avec des souches d'origine australienne. La spécificité d'hôte de chacune de ces deux espèces de pisolithe est un argument de plus pour une origine australienne du pisolithe que l'on trouve en Afrique dans la plupart des plantations d'*Eucalyptus*.

Parmi la très grande diversité des champignons présumés ectomycorhiziens des espèces locales, (33 espèces signalées en Guinée (Thoen et Ducouso, 1989) et 43 au Sénégal (Thoen et Ba, 1989)), une seule espèce, *Scleroderma verrucosum*, a été trouvée commune avec les espèces introduites. Cette espèce à très large spectre d'hôte (Thoen et Ducouso, 1989) est également capable de mycorhizer des semis d'*Azelia africana* encore au stade cotylédonnaire (Thoen et Ba, 1989) ou le canellier de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*) ou encore *Eucalyptus camaldulensis* (Thoen et Ducouso, 1989).

Parmi les 43 espèces décrites ECM au Sénégal, seulement 6 espèces sont communes à *U. guineensis* et *A. africana*, 12 n'ont été récoltées que sous *U. guineensis* et 25 que sous *A. africana*. Le peu d'éléments communs qui existent entre les symbiotes ECM de ces deux espèces locales témoignent de la grande spécificité d'hôte des champignons ectomycorhiziens des stades âgés, comme les Bolétales, les Agaricales et les Russulales. Il est intéressant de remarquer que de nombreuses espèces sont communes aux flores fongiques du Sénégal et du Zaïre (Thoen, communication personnelle). La continuité qui existe entre les bassins forestiers d'Afrique de l'ouest et d'Afrique centrale a sans doute permis une co-évolution des espèces ectomycorhiziennes et par là même, la constitution d'un élément guinéo-congolien typique, très diversifié comme le sont les flores fongiques européennes ou australiennes par exemple (Thoen, communication personnelle).

Pour conclure, nous pouvons dire que la flore ectomycorhizienne africaine est presque entièrement incompatible avec les espèces introduites notamment d'Australie. A part une espèce à très large spectre d'hôte (*Scleroderma verrucosum*), également connue des régions tempérées, aucun

autre élément commun n'a pu être démontré *in situ*. Les ECM des espèces australiennes sont uniquement des espèces de stade jeune et semblent issues d'introductions fortuites à partir du pays d'origine des plantes, au moins pour *Pisolithus sp.* L'introduction d'espèces fongiques ectomycorhiziennes plus spécifiques des stades âgés est sans doute un élément important de la réussite de nouvelles introductions d'espèces australiennes en Afrique.

5 5- Les doubles symbioses : Nodule-ECM.

Les doubles symbioses nodules-endomycorhizes sont bien connues pour leur effet bénéfique sur la plante hôte (Cornet et Diem, 1982). Le cas des doubles symbioses nodules-ectomycorhizes reste encore très mal connu. Les effets de ce type de double symbiose n'ont, à notre connaissance, pas encore été étudiés sur des espèces tropicales. Les observations réalisées par le Tacon *et al.* (1989) en Australie sur *Acacia mangium* confirment nos résultats acquis sur *A. holosericea* où nous avons observé simultanément des nodules et des ECM dans les stations SS1:5 et SA 10. L'ectomycorhization ne semble pas antagoniste de la fixation d'azote dans le cas des *Acacia* et nous verrons dans la quatrième partie de ce mémoire que, comme dans le cas de l'endomycorhization, il existe une synergie entre l'ectomycorhization et la fixation d'azote. A la différence de la double symbiose nodule-MVA, la double symbiose nodule-ECM met en jeu deux types de micro-organismes symbiotiques dont nous maîtrisons parfaitement la culture. Les phénomènes d'interactions qui peuvent exister entre une bactérie symbiotique (*Bradyrhizobium sp.*) et un champignon ectomycorhizien (*Pisolithus sp.*) ont été abordés dans la cinquième partie de ce mémoire.

5 6- Les doubles symbioses : MVA-ECM.

Une succession entre les deux types mycorhiziens a été observée sur *Eucalyptus dumosa* (Lapeyrie et Chilvers, 1985), de même la présence simultanée de ces deux types dans une même racine a été mise en évidence sur *E. dumosa* (Chilvers *et al.*, 1987). Cependant, au champ, les observations conduisent souvent à observer la dominance très nette d'un type mycorhizien sur l'autre. Ceci a été le cas notamment pour les essences introduites où la présence d'ECM semble incompatible avec l'observation de MVA et inversement. Des exceptions ont été trouvées sur *Acacia holosericea* dans les stations SA:7 et SS1:5, ainsi que sur *Uapaca guineensis*, essence locale où nous avons pu observer des MVA et des ECM sur le système racinaire d'un même arbre. Le rôle, l'importance et la stabilité de tels systèmes symbiotiques sont encore très mal connus. Les connaissances des doubles symbioses MVA-ECM en zones tropicales sèches sont encore très fragmentaires. Sur les *Eucalyptus* dont les systèmes racinaires sont souvent totalement envahis par les ECM, nous n'avons pas observé de MVA, inversement l'inoculation par des souches ECM d'*Acacia* dont le système racinaire est complètement envahi par les MVA ne permet pas d'obtenir des ECM stables. Cela suggère au moins trois hypothèses

- i)- le caractère mycotrophe des arbres évolue avec leur âge et ceux-ci sont de préférence à MVA aux stades jeunes et à ECM aux stades plus âgés.
- ii)- des facteurs extérieurs déterminent le type mycorhizien, comme le type de sol, l'évolution de la litière...
- iii)- la surabondance d'une source d'inoculum, soit endomycorhizien, soit ectomycorhizien
- iv)- ou une combinaison de ces hypothèses.

Cependant, Lopez-Aguillon (1985) a montré un effet bénéfique de la double inoculation *Glomus mosseae-Paxillus involutus* sur la croissance de boutures de peuplier. L'importance des doubles symbioses MVA-ECM que nous avons observés chez les acacias n'est pas à négliger et les triples symbioses qui en résultent, constituent le modèle d'étude développé dans la quatrième partie de ce mémoire.

5.7- Les triples symbioses : Nodule-MVA-ECM

Deux cas de triple symbiose ont été observés au Sénégal. La symbiose *Casuarina equisetifolia*-*Frankia* sp.-MVA-ECM, déjà observée au Sénégal (Ba *et al.*, 1987), a été observée à la station SA:3 et la symbiose *Acacia holosericea*-nodule-MVA-ECM, à la station SS1:5, triple symbiose qui à notre connaissance n'a jamais encore été signalée. Parmi les quatre espèces d'*Acacia* connues pour être MVA et ECM (Reddel et Warren, 1986), seul *A. myrtifolia* est connu comme nodulant (Hallyday et Nakao, 1982). Or cette espèce n'a pas été observée en symbiose simultanément avec ces trois types de partenaires. D'après Reddel et Warren (1986), de nombreuses espèces d'*Acacia* australiens pourraient potentiellement former des ECM et les triples symbioses seraient très répandues dans le genre *Acacia*. Cet aspect aux débouchés pratiques très importants sera développé dans la troisième partie de ce mémoire. Cependant, l'avantage de la triple symbiose pour la plante hôte, ainsi que les interactions entre micro-organismes dans ces systèmes symbiotiques complexes, sont encore totalement inconnus. On peut penser toutefois que les plantes disposant d'un système symbiotique aussi complet seront mieux armées face aux rigueurs édapho-climatiques du Sahel.

Planche 3 :

Quelques exemples de la dégradation de la forêt dans la région d'étude :

fig 1 : Vallée du fleuve Sénégal, destruction d'une gonakeraie, forêt d'*Acacia nilotica*, par exploitation abusive.

fig 2 : Fouta Djallon, destruction d'une forêt par brûlis pour la culture du maïs.

fig 3 et 4 : Casamance, destruction d'une forêt de Linké (*Afzelia africana*) par brûlis pour la culture du Sorgho. Les terres sont abandonnées après deux ans de culture.

fig 5 : Vallée du fleuve Sénégal, dépérissement d'une gonakeraie, forêt d'*Acacia nilotica*, par aggravation de la sécheresse.

fig 6 : Région de Mbiddi, mortalité dans une plantation d'*Acacia holosericea* âgée de quatre ans par aggravation de la sécheresse.



Planche 4 :

Les principales plantations au Sénégal d'espèces d'*Acacia* originaires d'Australie :

fig 1 : *Acacia trachycarpa* (3 ans), station SO:3.

fig 2 : *Acacia holosericea* (5 ans), station SA:12.

fig 3 : *Acacia mangium* (5 ans), station GS:2.

fig 4 : *Acacia mangium* (1 an), station SG:4.

fig 5: *Acacia holosericea* (4 ans), station SO:5.

fig 6 : Régénération d'*Acacia holosericea*, station SA:11.

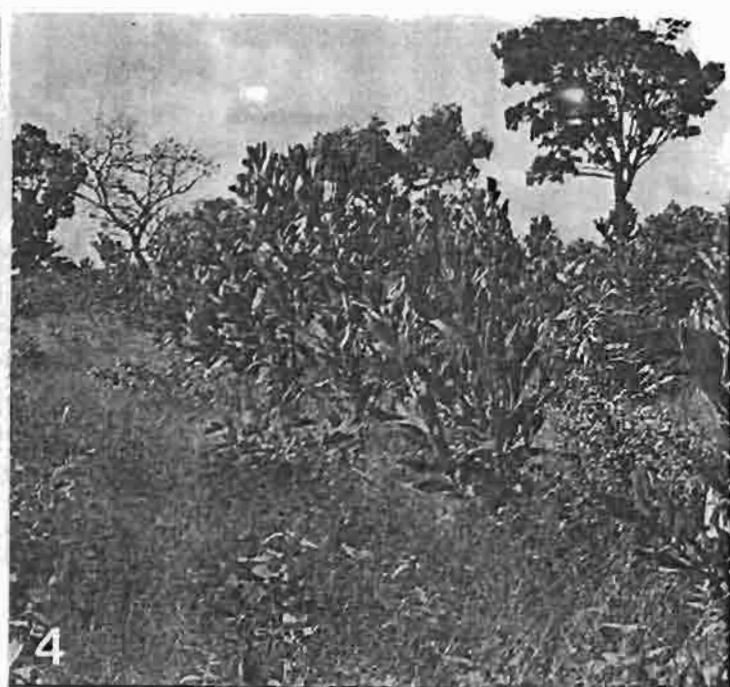


Planche 5 :

Observation au champ de nodules d'*Acacia ssp.* :

fig 1 : Nodules observé sur un jeune plant d'*Acacia holosericea* issu d'une régénération spontanée. Station GS:2.

fig 2 : Nodules observés dans une plantation d'*Acacia senegal* âgée de quatre ans. Station SS1:9.

fig 3 : Nodules observés dans une plantation d'*Acacia holosericea* âgée de trois ans. Station GS:2.

fig 4 : Nodules observés dans une plantation d'*Acacia mangium* âgée de six ans. Station GS:2.

(L'allumette représente environ 45 mm).

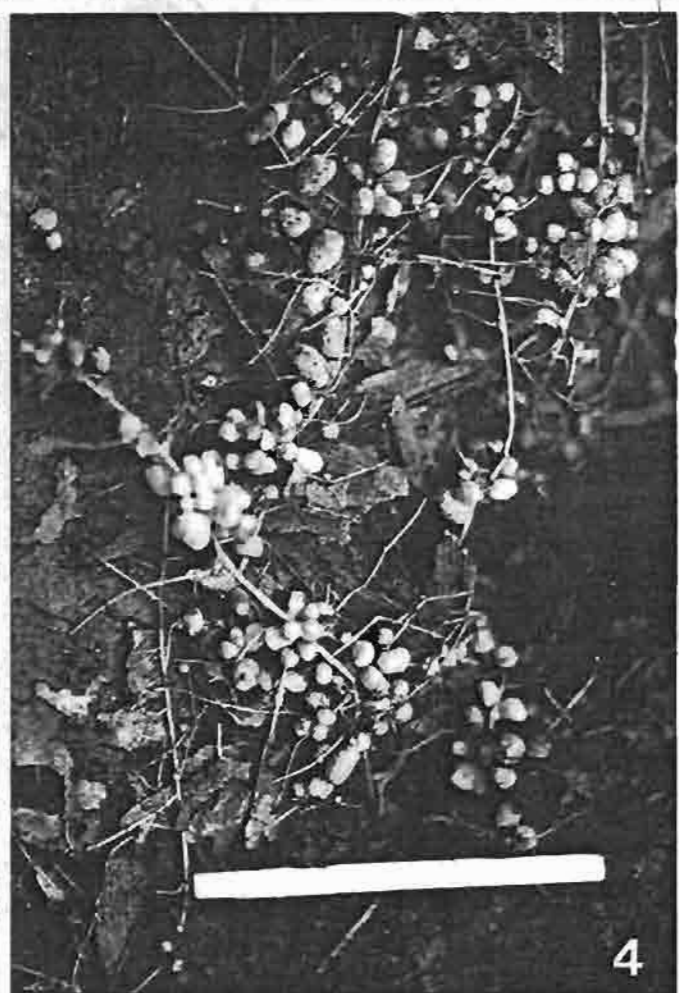
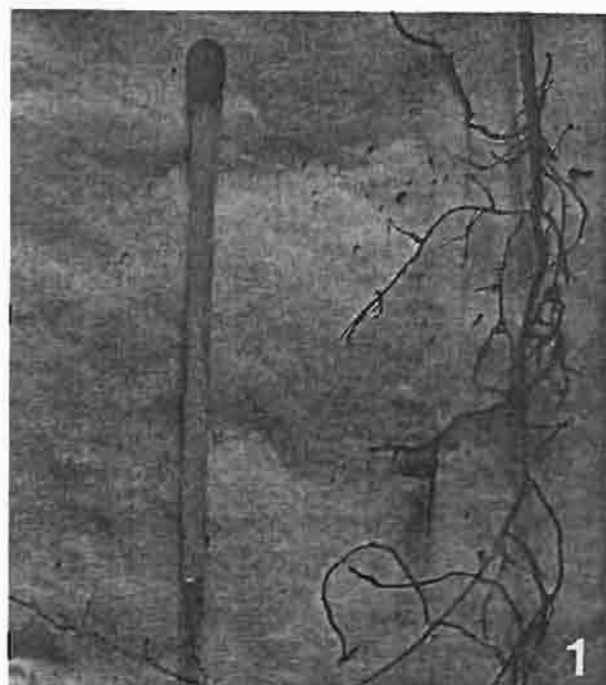


Planche 6 :

Observation des MVA sur des fragments de cortex racinaire dilacéré. Les échantillons racinaires ont été prélevés entre 10 et 30 cm de profondeur sous la surface du sol sur des arbres *in situ* :

fig 1 et 3 : Vésicules et hyphes endocellulaires dans des racines d'*Acacia holosericea*.

fig 2 : Arbuscules en voie de dégénérescence et poils absorbants dans des racines d'*Acacia chisholmii*.

fig 4 : Hyphes endocellulaires dans des racines d'*Acacia chisholmii*.

fig 5 et 6 : Arbuscules, vésicules et hyphes mycéliens dans des racines d'*Afzelia bracteata*.

(La barre représente 20 μm).



Planche 7 :

Champignons présumés mycorhiziens récoltés au Sénégal sous différentes espèces d'*Acacia* :

fig 1 : carpophores de *Pisolithus* sp. récoltés sous *Acacia holosericea*.

fig 2 : carpophores de *Pisolithus* sp. récoltés sous *Acacia trachycarpa*.

fig 3 a et b : carpophore de *Phallus roseus* (stade oeuf) récolté sous *Acacia holosericea*.

fig 4 a et b : Jeune carpophore de *Phlebopus sudanicus* récolté sous *Acacia senegal*.

(L'allumette représente environ 45 mm).

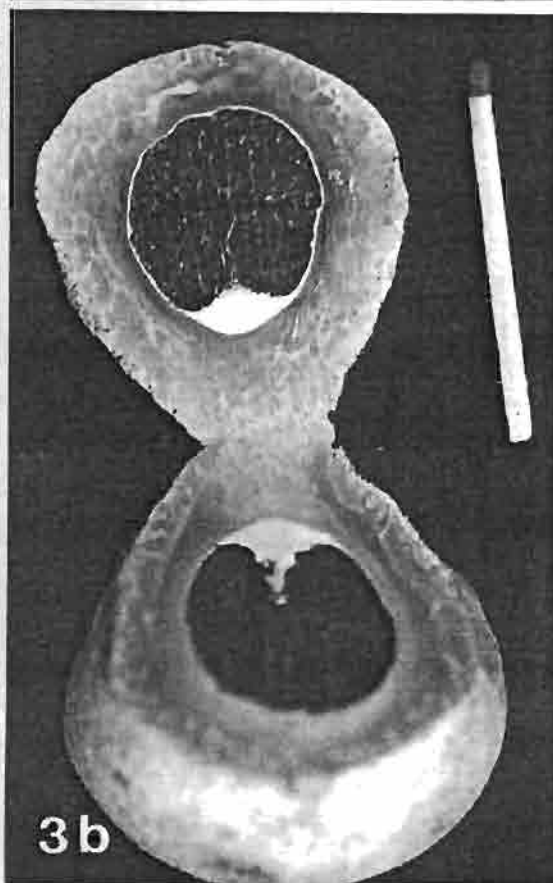
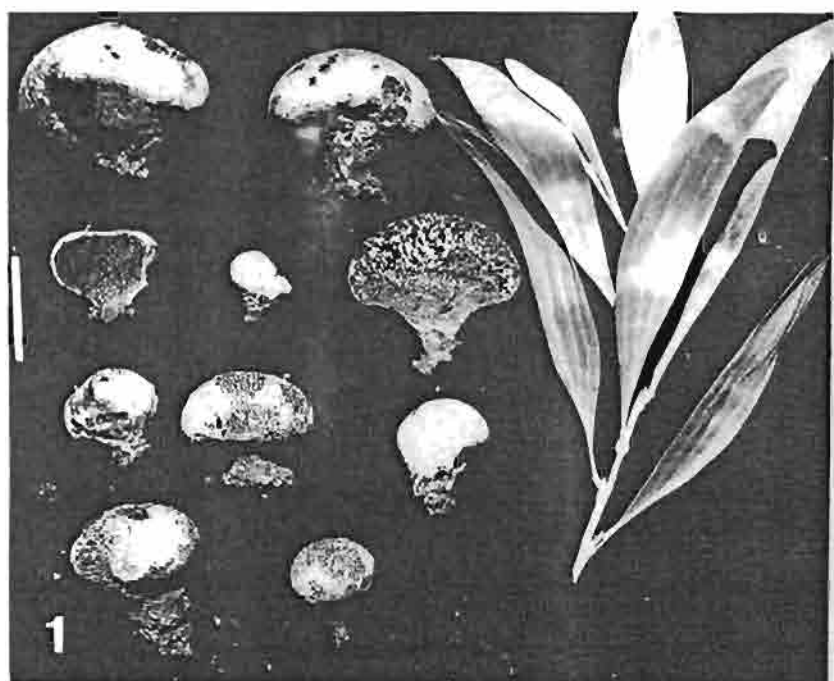


Planche 8 :

Observation au Sénégal de carpophores de *Pisolithus* sp. sous différentes espèces d'*Acacia* originaires d'Australie :

fig 1 a et b : *Pisolithus* sp. sous *Acacia holosericea*, station SO:5.

fig 2 : *Pisolithus* sp. sous *Acacia holosericea*, station SS1:5.

fig 3 : *Pisolithus* sp. sous *Acacia trachycarpa*, station SO:5.

fig 4 a et b : *Pisolithus* sp. sous *Acacia holosericea*, station SA:7.



Planche 9 :

ECM de *Pisolithus sp.* observées *in situ* au Sénégal sur des racines d'*Acacia holosericea* :

fig 1 : ECM jaune vif de *Pisolithus sp.* sur un plant d'*Acacia holosericea* âgé de trois mois issu d'une régénération, station SA:11.

fig 2, 4 et 5 : ECM jaune vif de *Pisolithus sp.* sur *Acacia holosericea*, station SA:7, SO:4 et SA:10.

fig 3 : Nodule à *Bradyrhizobium sp.* et ECM jaune vif de *Pisolithus sp.* sur *Acacia holosericea*, station SA:10.

(La barre représente 4 cm).

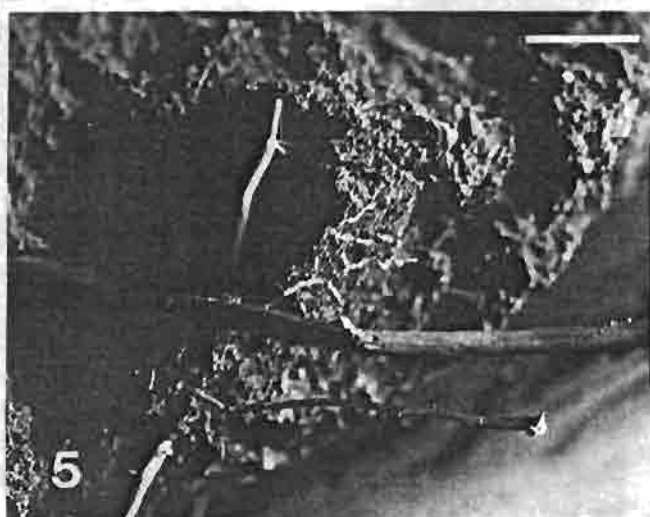
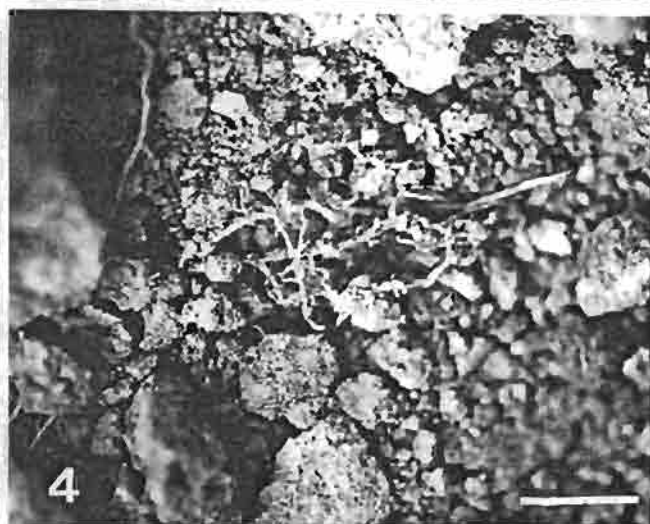
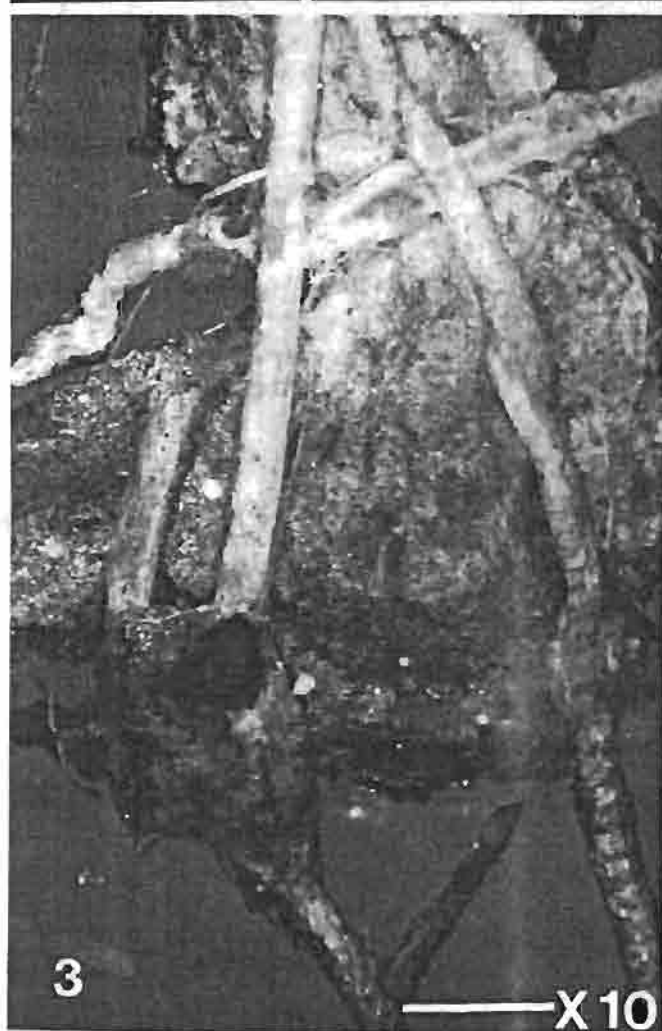
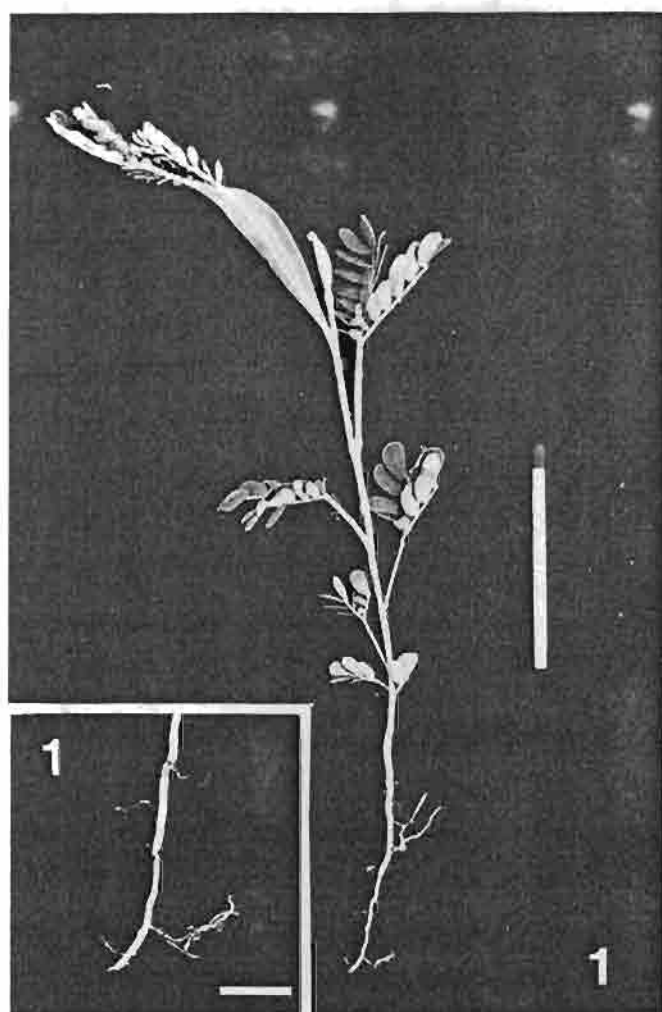


Planche 10 :

Observations en coupe d'ECM d'*Acacia* et d'*Eucalyptus* :

fig 1 et 2 : coupes transversales d'une ECM formée par *Pisolithus sp.* sur *Acacia holosericea*.

fig 3 : coupes transversales d'une ECM formée par *Pisolithus sp.* sur *Eucalyptus apodophylla*.

fig 4 : coupes longitudinales d'une ECM formée par *Scleroderma capense* sur *Eucalyptus camaldulensis*.

fig 5 : coupes transversales d'une ECM formée par *Pisolithus sp.* sur *Eucalyptus camaldulensis*.

(La barre représente 20 μm).

M : manteau fongique ; E : cellule épidermique ; H : réseau de Hartig ; C : cellule corticale.

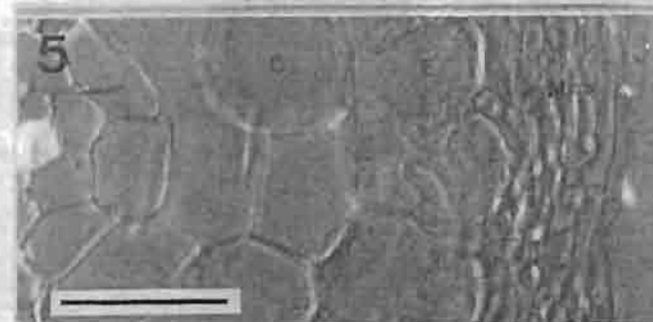
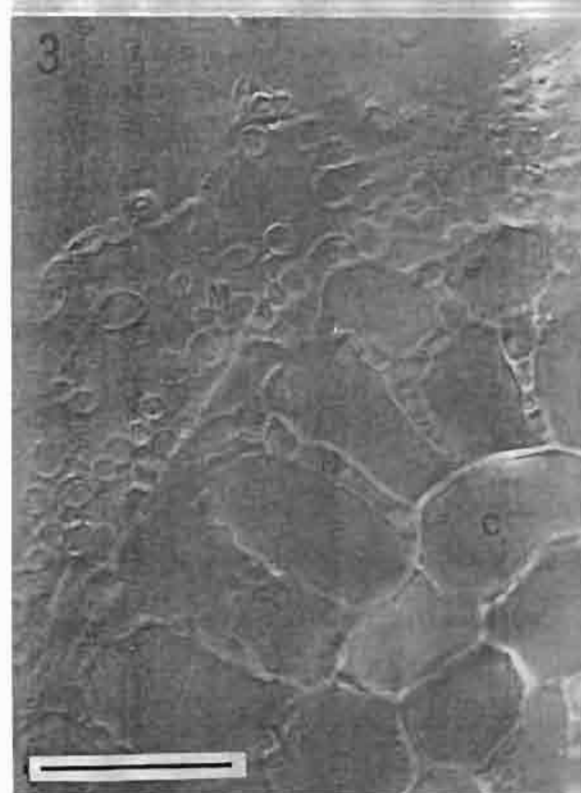
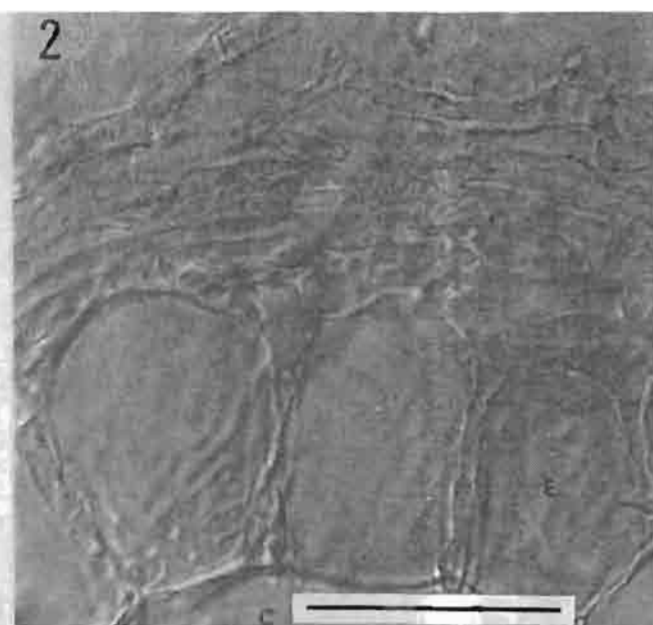
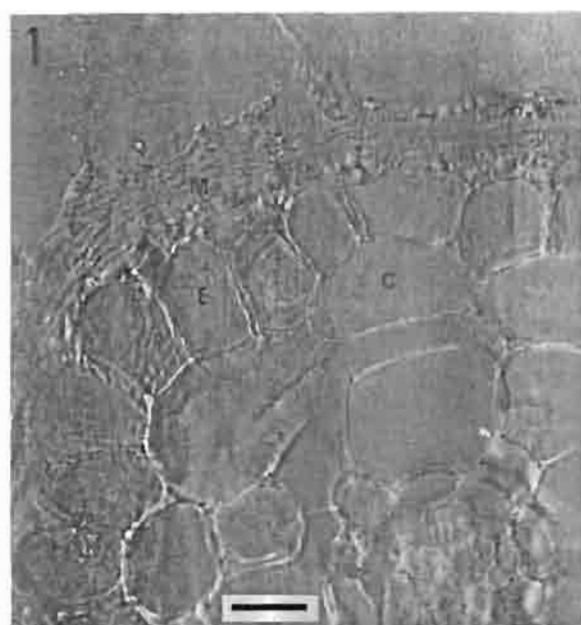


Planche 11 :

Champignons ectomycorhiziens et ECM des espèces introduites d'Australie autres que les acacias :

fig 1 : carpophore de *Pisolithus* sp. récolté sous *Eucalyptus camaldulensis* (station SO:6).

fig 2 et 3 : carpophores de *Scleroderma capense* récoltés sous *Eucalyptus camaldulensis* (station SS1:5).

fig 4 : carpophore de *Pisolithus* sp. observé in situ sous *Eucalyptus camaldulensis* (station SA:6).

fig 5 : ECM de *Scleroderma capense* sur *Eucalyptus camaldulensis* (station SS1:3).

fig 6 : ECM de *Pisolithus* sp. sur *Eucalyptus camaldulensis* (station SA:6).

(L'allumette représente environ 45 mm et la barre 1 cm).

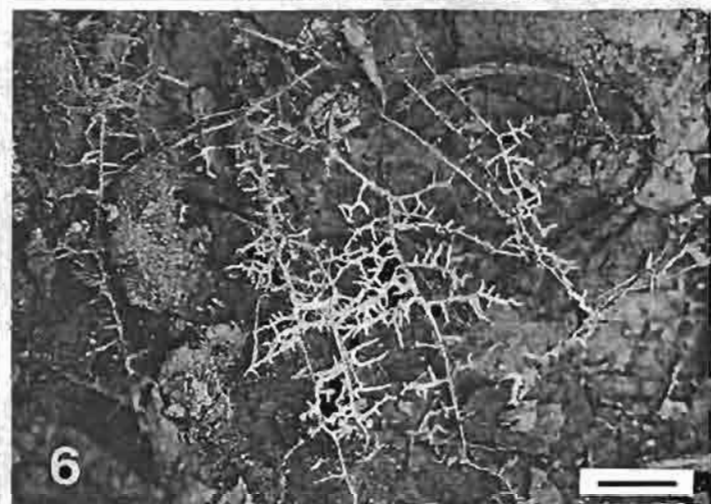
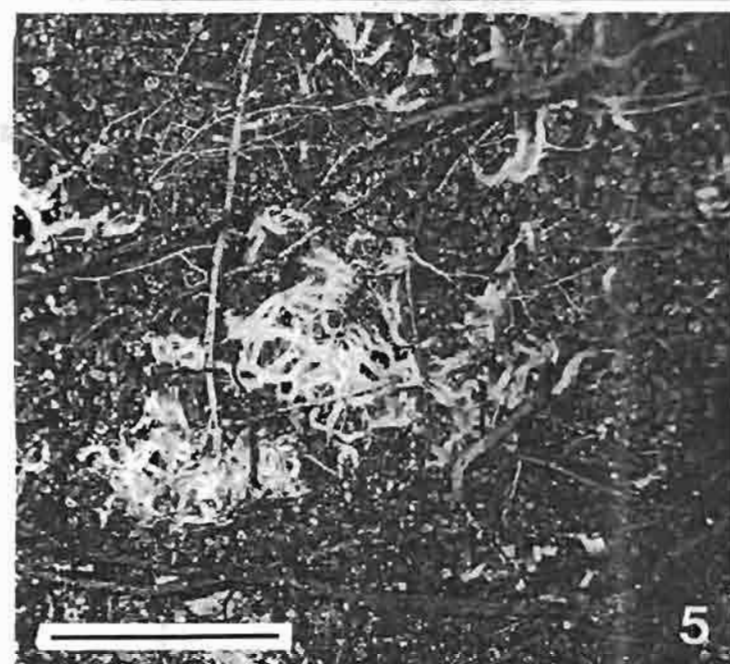
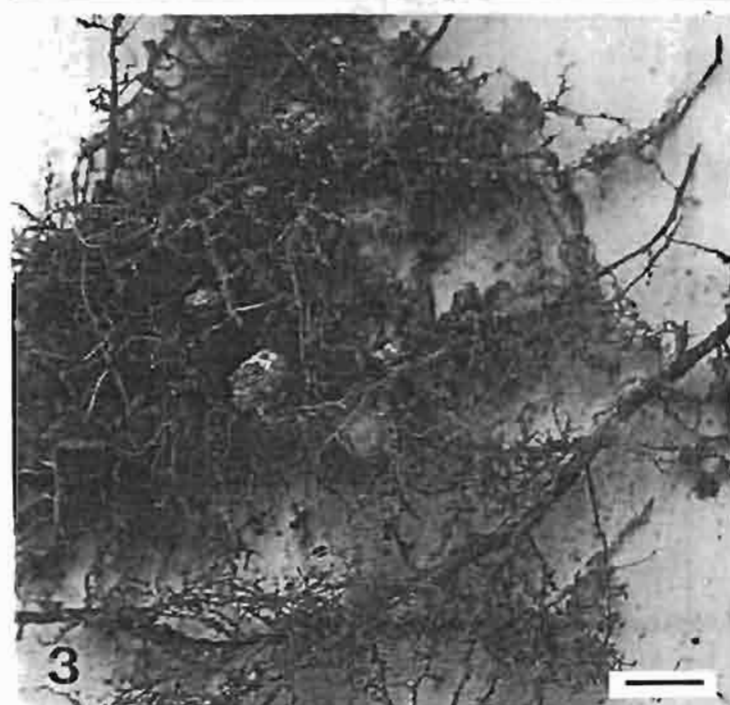
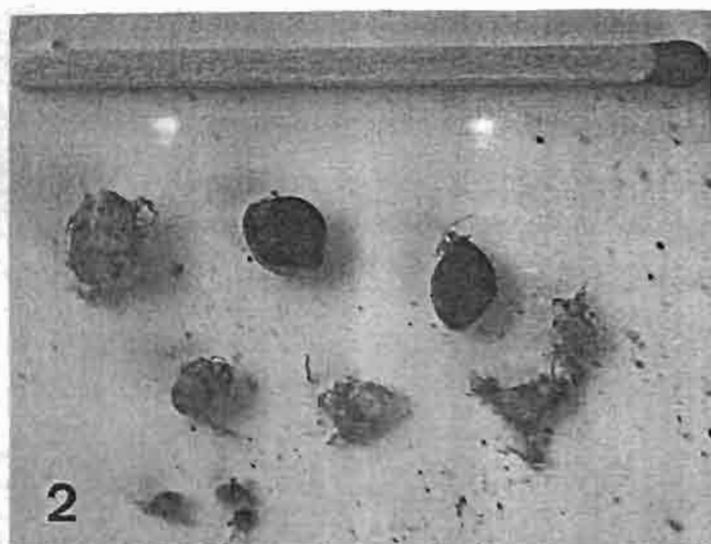


Planche 12 :

Quelques exemples de la diversité de la flore fongique présumée ectomycorhizienne des espèces indigènes du Fouta Djallon :

Champignons présumés ectomycorhiziens de *Anthonothea crassifolia* :

a : *Lactarius* sp.

c : *Amanita annulatovaginata*.

d : *Xerocomus* aff. *subspinulosus*.

e : *Boletelus* aff. *lepidospora*.

f : *Amanita crassiconus*.

g : *Inocybe* sp.

h : *Russula* sp.

Champignons présumés ectomycorhiziens de *Uapaca guineensis*.

b : *Strobilomyces luteolus*.

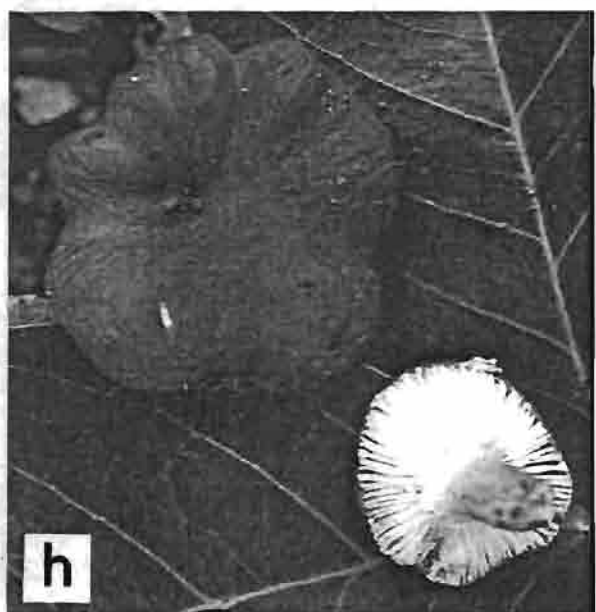
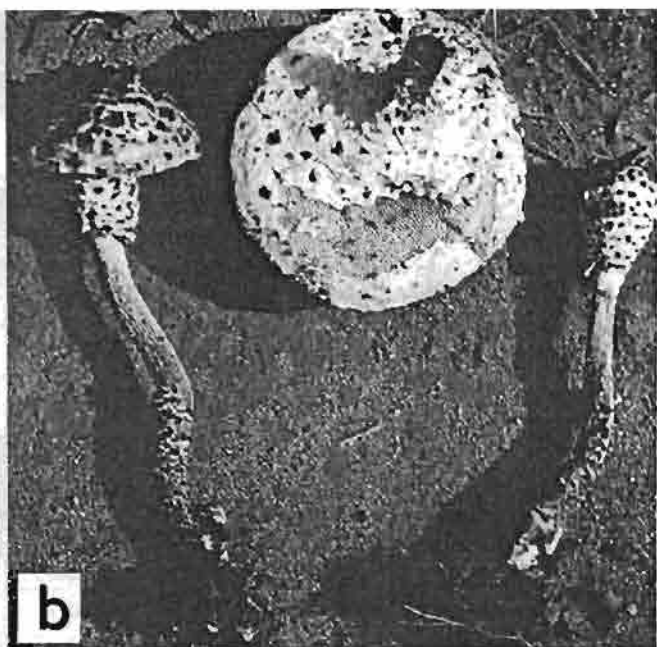


Planche 13 :

Quelques exemples de la diversité de la flore fongique présumée ectomycorhizienne des espèces indigènes du Fouta Djallon (suite de la planche 12) :

Champignons présumés ectomycorhiziens de *Anthonotha crassifolia* :

- a : *Cantharellus rufopunctatus*.
- b : *Amanita aff. fulvopulverulenta*.
- c : *Amanita baccata*.
- d : *Porphyrellus sp.*
- e : *Sclerogaster sp.*

Champignons présumés ectomycorhiziens de *Uapaca chevalieri* :

- f : *Leccinum sp.*
- g : *Russula sp.*

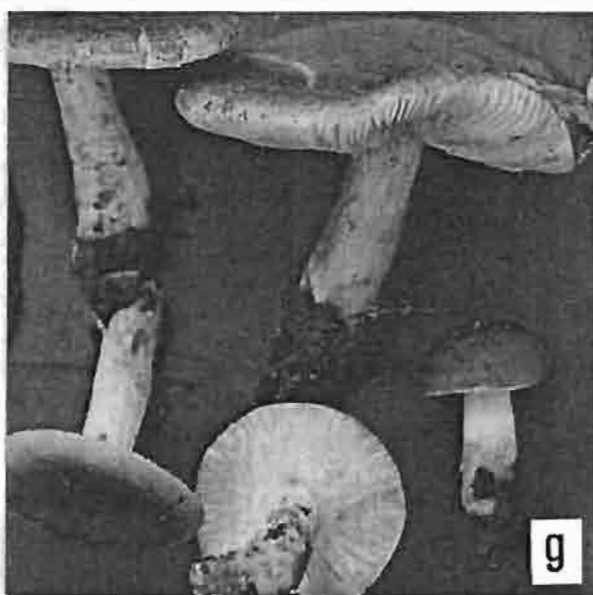
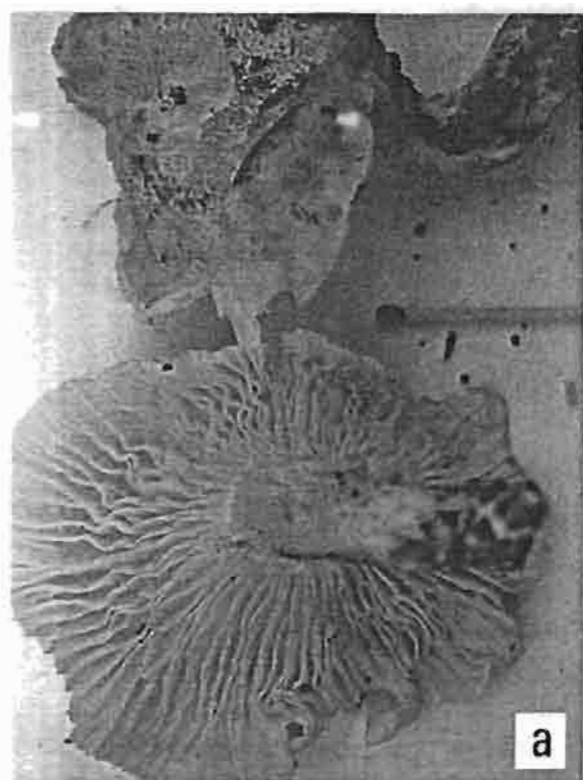


Planche 14 :

Exemples d'ECM observées sur les espèces locales et introduites au Fouta Djallon :

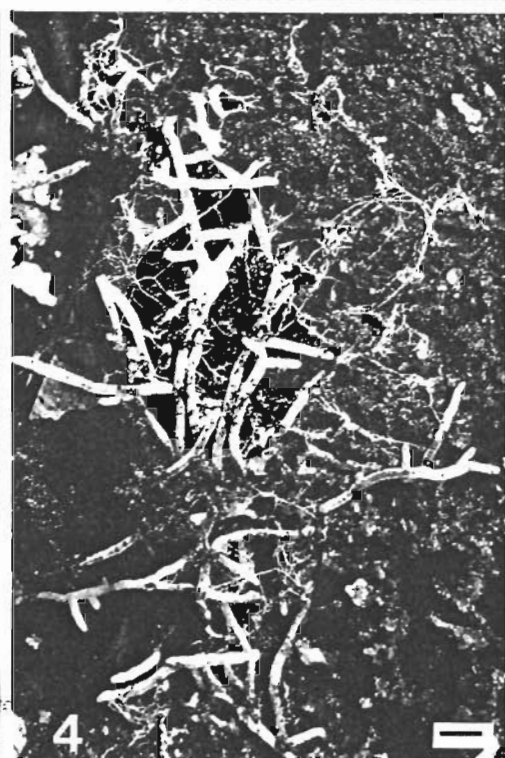
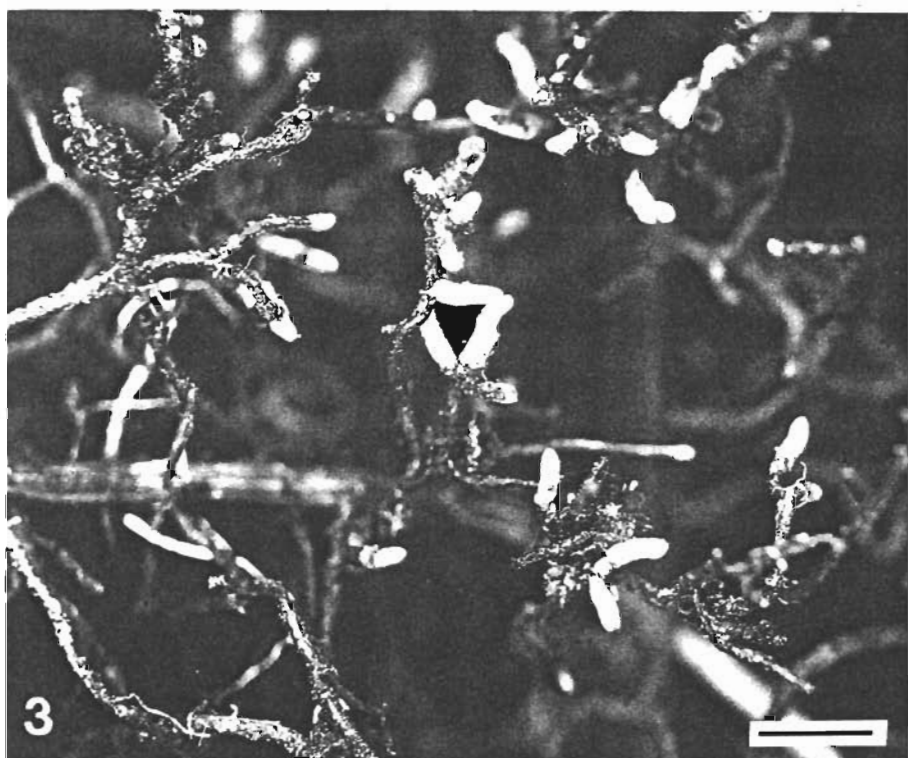
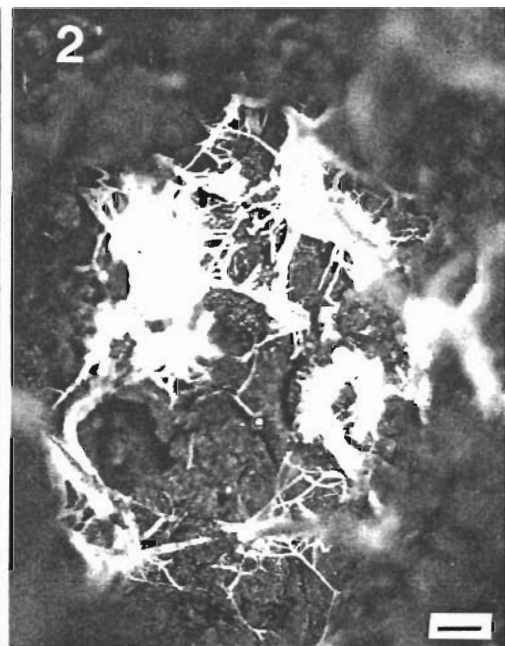
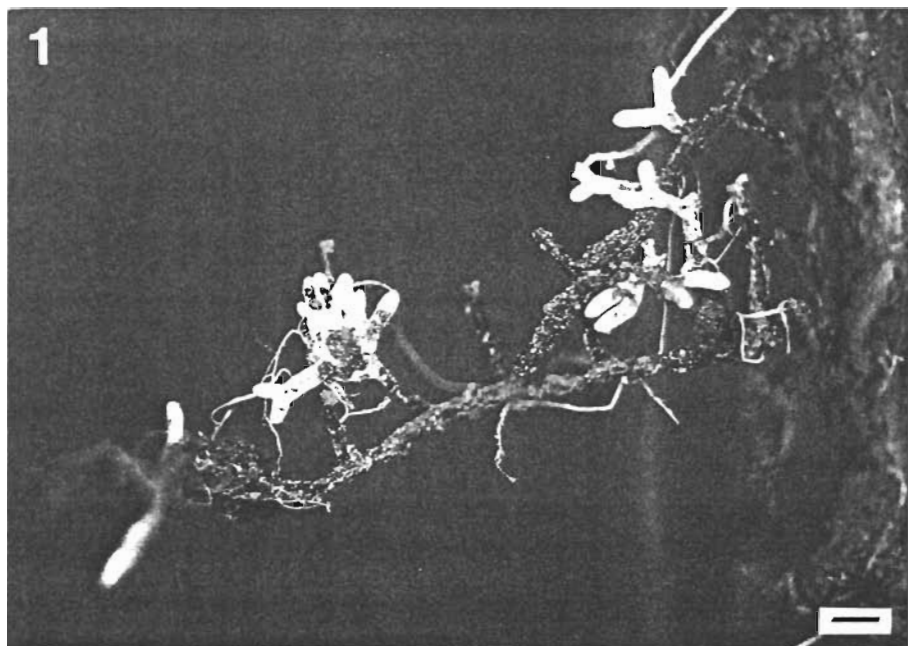
fig 1 : ECM de *Suillus granulatus* sur *Pinus kesiya*.

fig 2: ECM de *Scleroderma cepa* sur *Pinus kesiya*.

fig 3 : ECM indéterminées sur *Uapaca sp.*

fig 4 : ECM indéterminées sur *Anthonotha crassifolia*.

(La barre représente 1 cm).



DEUXIEME PARTIE

CONSTITUTION ET CONSERVATION DES COLLECTIONS DE MICRO-ORGANISMES

1- INTRODUCTION

Les prospections que nous avons réalisées au Sénégal et en Guinée ont permis de mettre en évidence la présence des trois principaux groupes de micro-organismes symbiotiques des acacias : les bactéries fixatrices d'azote, les champignons endomycorhiziens et les champignons ectomycorhiziens. Il était important, dans la mesure du possible, de déterminer, d'isoler et de conserver ces micro-organismes en collection afin de pouvoir les étudier et les diffuser dans d'autres laboratoires.

Pour les *Rhizobium s.l.*, les techniques d'isolement à partir de nodules sont bien au point (Vincent, 1970). De nombreuses variantes de cette technique d'isolement ont été décrites. Les principales modifications portent sur la culture des plants pour l'obtention des nodules et sur la désinfection des nodules avant de réaliser l'isolement. Nous disposons actuellement de peu de souches d'*Acacia* et afin de constituer rapidement une collection de référence, nous avons réalisé les isollements à partir de nodules en suivant les techniques décrites par Dreyfus, (1982) et Badji *et al.*, (1988a).

En ce qui concerne l'entretien et la conservation des souches, les techniques sont bien au point. Les souches peuvent être incubées à +4°C afin d'augmenter le temps entre les repiquages. Cependant, pour conserver une collection de façon durable, il est préférable d'utiliser la congélation à -80°C dans le glycérol à 20% ou la lyophilisation.

Pour les champignons endomycorhiziens, les méthodes d'isolement par tamisage humide et de purification par désinfection des spores sont maîtrisées. L'obstacle principal à la création d'un mycothèque d'*Endogonaceae* reste son entretien. Le seul moyen efficace de conservation que nous connaissions reste la culture sur racines de plante hôte, car la culture axénique de ces micro-organismes strictement symbiotiques n'est pas encore possible (Burggraaf et Beringer, 1989). Ce procédé oblige à isoler et à déterminer la souche régulièrement. De ce fait, l'entretien d'une mycothèque d'*Endogonaceae* est une tâche très ardue. Nous nous sommes donc limités à poursuivre l'entretien, sur plante hôte (*Vigna unguiculata*), de la souche de *Glomus mosseae* fournie antérieurement au laboratoire de Microbiologie des sols de l'ORSTOM Bel-Air par Rothamsted Institut (Grande Bretagne).

Pour les champignons ectomycorhiziens, trois méthodes peuvent être utilisées pour réaliser les isollements. La première méthode consiste à prélever aseptiquement à partir d'un carpophore un fragment de chair piléique et de le transférer sur un milieu nutritif adapté. La composition du milieu nutritif est variable selon les espèces fongiques. Cette méthode convient parfaitement pour les champignons qui fructifient régulièrement. Une deuxième méthode consiste à mettre en culture des ECM. La réussite des isollements réside dans la qualité de la désinfection des ECM qui doit être suffisante pour éliminer tous les contaminants du sol et assez douce pour permettre la reprise du mycélium à partir des hyphes du réseau de Hartig. Le désinfectant qui donne les meilleurs résultats est le OsO_4 (Lapeyrie, 1983 ; Ba, 1990). Cette méthode convient pour les champignons qui fructifient rarement. La troisième méthode consiste à réaliser les isollements à partir de sclérotés. Cette dernière méthode est bien évidemment strictement limitée aux rares souches qui en forment.

Les champignons ectomycorhiziens ne développant en culture pure que des structures végétatives, l'entretien de celles-ci se fait par repiquage d'une bouture sur milieu neuf. En ce qui concerne la conservation, de nombreuses méthodes ont été décrites. En tout état de cause, l'entretien d'une mycothèque de champignons ectomycorhiziens est une tâche extrêmement lourde. C'est pourquoi nous avons recherché les méthodes de conservation les plus simples et les mieux adaptées à nos préoccupations.

2- MATERIELS ET METHODES

2.1- La collection de *Rhizobium* sp.

2.1.1- Obtention des souches de *Rhizobium* sp.

Les souches ont toutes été isolées à partir de nodules qui ont été soit obtenus par piégeage en serre, soit récoltés *in situ* sur des arbres d'âge variable.

2.1.2- Le piégeage

Nous avons réalisé des piégeages de *Rhizobium* sp. à partir de différents sols du Sénégal et de Guinée avec 60 espèces d'*Acacia* (Tableau 11). Les graines des différentes espèces ont été fournies par les laboratoires de graines du CTFT et de la DRPF/ISRA. Celles-ci ont été prétraitées à l'acide sulfurique concentré pendant une durée déterminée par la dureté des téguments propre à chaque espèce (Tableau 11), rincées abondamment à l'eau stérile afin d'éliminer toute trace d'acide puis semées par trois dans des sachets de polyéthylène contenant 1 kg de sol de piégeage. Les plants sont arrosés quotidiennement à la capacité de rétention du sol. Après trois mois, les systèmes racinaires sont mis à nu et les nodules prélevés.

2.1.3- La récolte des nodules

Au champ, les nodules ont été recherchés et récoltés comme décrit au 3.2 de la première partie.

2.1.4- L'isolement des souches

Les isollements ont été réalisés selon deux méthodes :

i)- La technique décrite par Dreyfus (1982) : les nodules frais sont cassés aseptiquement, à l'aide d'un filament de platine stérilisé à la flamme ; on pique la partie centrale du nodule avant d'ensemencer, par la méthode des stries sur milieu YEM¹ gélosé. Cette technique n'est utilisable qu'avec des nodules frais, en très bon état physiologique.

ii)- La technique décrite par Badji *et al.* (1988a) : les nodules sont lavés, séchés, désinfectés superficiellement par 5 minutes de trempage dans une solution à 0,1% d'HgCl₂, rincés huit fois à l'eau stérile puis écrasés. L'isolement est réalisé en étalant, par la méthode des stries, une goutte du broyat sur milieu YEM gélosé (Vincent, 1970). Cette technique permet de réaliser des isollements avec des nodules sénescents ou des nodules desséchés.

Les boîtes de Petri ensemencées sont incubées à 37°C jusqu'à apparition des colonies. Une colonie bien individualisée est reprise dans chaque boîte pour procéder à la purification.

¹ la composition des milieux de cultures utilisés est présentée en annexe 1

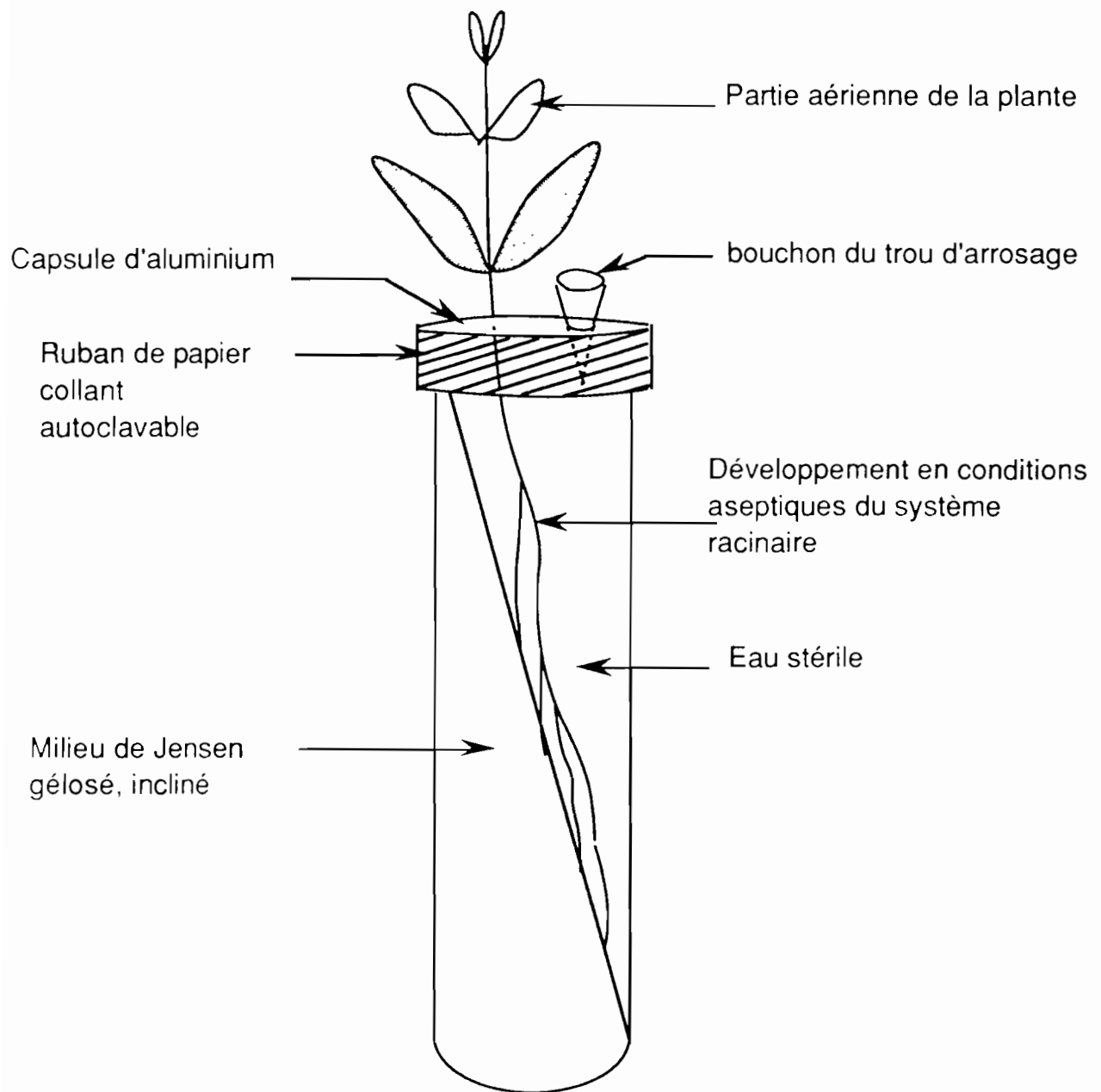


Figure 5 : Schéma du dispositif pour la culture des plants en tube Gibson

2.1.5- La purification des souches

Après plusieurs repiquages en boîte de Petri, les souches sont cultivées en Erlenmeyer de 250 ml contenant 100 ml de milieu YEM liquide agité. Après saturation de la culture, nous avons effectué une gamme de dilution au 10^{ième}. A l'aide d'un étaleur en verre, on ensemence des boîtes de Petri avec 0,1 ml des dilutions 10⁻⁴ ; 10⁻⁵ et 10⁻⁶. Pour chaque souche, une colonie bien individualisée est reprise dans une boîte où se développent au total moins de 25 colonies.

2.1.6- Vérification de l'infectivité

Afin de s'assurer que les souches isolées sont bien des *Rhizobium s.l.*, on réalise un test d'infection sur plante hôte.

Les graines d'*Acacia* sont mises à germer aseptiquement sur eau gélosée (comme décrit au 2.1.2). Dès que la racine atteint 1 à 2 cm, les cotylédons sont débarrassés des téguments et les jeunes plants repiqués en tube de Gibson sur milieu Jensen (Fig 5) et inoculé, avec 1 ml d'une culture réalisée sur milieu YEM liquide. Les nodules sont observables sur les racines après un temps variable de 5 jours à 2 mois. Pour chaque souche, nous avons réalisé 5 tubes de vérification.

2.1.7- La conservation des souches

Les souches purifiées dont l'infectivité a été vérifiée ont été conservées soit à -80°C dans le glycérol à 20%, soit à +4°C en boîte de Petri sur milieu YEM gélosé. Dans ce dernier cas, il est nécessaire de repiquer les souches tous les quatre mois environ.

A chacune des étapes d'isolement, de purification et de conservation, nous avons vérifié au microscope à objectif à immersion (10x100) que les bactéries sont bien des bâtonnets mobiles de 0,8 à 2 µm de longueur.

2.2- L'entretien de la souche de *Glomus mosseae*.

La souche de *Glomus mosseae* a été conservée par multiplication sur racines de Niébbé (*Vigna unguiculata*). Des graines de Niébbé sont mises à germer dans des pots en terre cuite contenant 4 kg de sol Deck stérilisé à l'autoclave (1h à 120°C). Après la levée, les plantes sont inoculées par environ cinq grammes de poids frais de racines de Niébbé infectées par la souche de *Glomus mosseae*. Les plants sont placés à la serre où ils sont arrosés quotidiennement à la capacité de rétention du sol avec de l'eau stérilisée à l'autoclave (1h à 120°C). A la fin de la culture, on contrôle la pureté et l'infectivité de la souche. Pour cela, nous observons à l'objectif X40 les spores montées dans le glycérol à 20% et à l'objectif X20, des fragments de racines infectées, colorées par du bleu Trypan dans le lactophénol (Phillips et Hayman, 1970). Les racines infectées sont placées avec de la terre dans des sachets en plastique et conservées à +4°C pendant quatre mois. Passé ce délai, afin d'éviter de perdre la souche, on doit effectuer un nouveau passage sur plante hôte. Régulièrement, nous avons procédé au réisolement de la souche. Après un tamisage humide sur une colonne de tamis, les spores de *Glomus mosseae* sont déterminées, désinfectées par une solution à 0,2% d'HgCl₂, puis inoculées de façon axénique à des plants de Niébbé. Les racines infectées nouvellement obtenues sont alors utilisées pour multiplier la souche.

2.3- La collection de souches ectomycorhiziennes.

2.3.1- Isolement des souches ectomycorhiziennes.

Les cultures fongiques ont été obtenues à partir de sporocarpes frais prélevés sur le terrain. Les champignons sont conservés dans une glacière pendant la journée et isolés dès que possible. Le champignon, débarrassé grossièrement de l'excédent de terre avec un pinceau, est cassé aseptiquement sous une hotte portative et un fragment de la chair piléique est transféré dans une boîte de Petri contenant soit du milieu MNM gélosé (Marx, 1969), soit du milieu PDA. Les boîtes sont scellées et incubées à température ambiante en climat tropical (Planche 15).

2.3.2- Le contrôle des souches ectomycorhiziennes

L'aspect général de la culture est un élément important d'appréciation qu'il est nécessaire de compléter par un examen au microscope des hyphes mycéliens. Aucune préparation particulière des échantillons n'est nécessaire, l'observation se réalise *in situ* avec un microscope inversé (objectif X40).

2.3.3- L'entretien des souches ectomycorhiziennes

Les souches sont entretenues par un repiquage régulier de boutures mycéliennes sur milieu neuf. Les boutures sont prélevées avec la gélose à l'aide d'un emporte pièce de 8 mm de diamètre. L'intervalle de temps entre chaque repiquage dépend de chaque souche et peut dans certaine mesure être augmenté par un abaissement de la température d'incubation.

2.3.4- La conservation des souches ectomycorhiziennes

Afin de faciliter la conservation de la mycothèque de champignons ectomycorhiziens, nous avons recherché sur différentes souches, l'effet d'une augmentation de l'intervalle de temps entre les repiquages et d'une température d'incubation de +4°C sur la reprise des implants mycéliens après transfert sur milieu neuf.

3- RESULTATS

3.1- Constitution de la collection de *Rhizobium s.l.*

Les piégeages ont permis l'observation de nodules sur 58 des 60 espèces d'*Acacia* testées. Cependant, nous n'avons réussi à isoler que 45 souches de 34 espèces différentes (Tableau 11). Les récoltes de nodules aux champs ont permis l'isolement de 6 souches à partir de 5 espèces (Tableau 12).

Tableau 11 Temps de traitement des semences à l'acide sulfurique concentré ; observation de la nodulation à partir de piégeages sur 60 espèces d'*Acacia* ; vitesse de croissance et références des souches isolées

Espèces hôte	Trait. H ₂ SO ₄	Nod.	V. croiss	Souche	Prov.	Réf
<i>Acacia acradenia</i>	30	+	l	ARCBA	SS1:2	-
<i>Acacia adsurgens</i>	60	+	-	-	-	-
<i>Acacia ampliceps</i>	60	+	r	AMPBA	SS1:2	5
			r	AMPBY	GS:2	-
			r	AMPSK	SS1:5	-
			r	AMPMB	SA:12	-
			r	AMPNO	SS1:6	-
<i>Acacia ancistrocarpa</i>	60	+	l	ANCBA	SS1:2	-
<i>Acacia aneura</i>	30	+	l	ANEBA	SS1:2	1,2
<i>Acacia arabica</i>	60	+	r	ARABA	SS1:2	1,2
<i>Acacia argyraea</i>	30	+	-	-	-	-
<i>Acacia aulacocarpa</i>	60	+	-	-	-	2
<i>Acacia auriculiformis</i>	60	+	l	AURBA	SS1:2	1,2
			l	AURDL	FD:7	-
<i>Acacia baileyana</i>	20	+	-	-	-	1,2
<i>Acacia bivenosa</i>	20	+	l	BIVBA	SS1:2	3
<i>Acacia cavegna</i>	60	+	r	CAVBA	SS1:2	1,2
<i>Acacia chisholmii</i>	60	+	l	CHIBA	SS1:2	-
			l	CHIBY	GS:2	-
<i>Acacia coriacea</i>	60	+	l	CORBA	SS1:2	-
<i>Acacia cowleana</i>	150	+	l	COWBA	SS1:2	-
<i>Acacia cyanophylla</i>	60	+	r	CYABA	SS1:2	-
<i>Acacia dictyophleba</i>	40	-	-	-	-	-
<i>Acacia difficilis</i>	180	+	-	-	-	-
<i>Acacia drepanocarpa</i>	60	+	-	-	-	-
<i>Acacia dunii</i>	240	+	-	-	-	-
<i>Acacia eriopoda</i>	60	+	-	-	-	-
<i>Acacia farnesiana</i>	45	+	r	FARBA	SS1:2	1,2,3
<i>Acacia gonoclada</i>	30	-	-	-	-	-
<i>Acacia hemignosta</i>	60	+	-	-	-	-
<i>Acacia hilliana</i>	15	+	l	HILBA	SS1:2	-

(Tableau 11 suite)

<i>Acacia hippuroides</i>	60	+		HIPBA	SS1:2	-
<i>Acacia holosericea</i>	60	+		HOLBA	SS1 2	2,5
				HOLMB	SA:12	
<i>Acacia horrida</i>	30	+	-	-	-	1,2
<i>Acacia inaequilatera</i>	75	+		INABA	SS1:2	-
				INAMB	SA:12	
<i>Acacia jennerae</i>	20	+	-	-	-	-
<i>Acacia laccata</i>	30	+	-	-	-	-
<i>Acacia laeta</i>	14	+	r	LAEBA	SS1:2	4
<i>Acacia ligulata</i>	60	+		LIGBA	SS1 2	1
<i>Acacia limbata</i>	30	+	-	-	-	-
<i>Acacia lysiphloia</i>	80	+	-	-	-	-
<i>Acacia mangium</i>	60	+		MANBA	SS1.2	2,5
				MANDL	FD:7	
<i>Acacia monticola</i>	60	+	-	-	-	-
<i>Acacia nilotica</i>	120	+	r	NILBA	SS1.2	2,3
<i>Acacia orthocarpa</i>	60	+	-	-	-	-
<i>Acacia pachycarpa</i>	60	+		PACBA	SS1:2	-
<i>Acacia pallidifolia</i>	20	+	-	-	-	-
<i>Acacia pellita</i>	30	+		PELBA	SS1:2	-
<i>Acacia platycarpa</i>	60	+		PLABA	SS1 2	-
<i>Acacia plectocarpa</i>	120	+	-	-	-	-
<i>Acacia pyrifolia</i>	30	+	-	-	-	-
<i>Acacia raddiana</i>	60	+	r	RADBA	SS1 2	2
			r	RADMB	SA:12	
<i>Acacia retivenia</i>	20	+	-	-	-	-
<i>Acacia salicina</i>	60	+	r	SALBA	SS1 2	1,2
<i>Acacia senegal</i>	14	+	r	SENBA	SS1 2	2,5
<i>Acacia seyal</i>	30	+	r	SEYBA	SS1 2	1,2,5
<i>Acacia shirleyi</i>	30	+	-	-	-	-
<i>Acacia stenophylla</i>	60	+	r	STEB A	SS1 2	1*,2*
			r	STEMB	SA 12	
<i>Acacia stipuligera</i>	30	+	-	-	-	-
<i>Acacia tenuississima</i>	40	+	-	-	-	-
<i>Acacia tephрина</i>	30	+	-	-	-	-
<i>Acacia tetragonophylla</i>	30	+	-	-	-	-
<i>Acacia Torulosa</i>	60	+	-	-	-	-
<i>Acacia trachycarpa</i>	60	+		TRABA	SS1 2	-
<i>Acacia translucens</i>	30	+		TRNBA	SS1:2	-
<i>Acacia tumida</i>	30	+		TUMBA	SS1.2	-

Trait. temps de traitement des semences à l'acide sulfurique concentré en minutes

Nod. observation de la nodulation + : présence de nodules ; - : absence de nodules.

V. croiss. vitesse de croissance en culture pure sur milieu YEM des souches isolées | lent , r : rapide

Souche code de référence de la souche

Prov. Provenance du sol de piégeage (correspondant aux stations prospectées).

Réf. références des publications qui font état de la nodulation pour ces espèces 1 : Allen et Allen, 1981 ; 2 : Hallyday et Nakao, 1982 ; 3 : Dreyfus et Dommergues, 1981 ; 4 : Badji *et al.*, 1988a ; 5 : Ducousso *et al.*, 1989 * Publication signalant l'absence de nodule pour cette espèce.

Tableau 12 : caractéristiques des souches isolées à partir de nodules récoltés *in situ* ; espèce hôte, âge (de l'espèce hôte) et lieu de prélèvement des nodules.

Espèce hôte	âge	station	V croiss.	souche
<i>Acacia auriculiformis</i>	2	SS1:2	l	RABA
<i>Acacia holosericea</i>	4	SS1:5	l	RHSK1
	4	SS1:5	l	RHSK2
	1/4	GS:2	l	RHBY
<i>Acacia mangium</i>	6	GS:3	l	RMBY
<i>Acacia raddiana</i>	4	SS1:9	r	RRTH
<i>Acacia senegal</i>	4	SS1:9	r	RSTH

âge âge de l'espèce hôte, en années

station lieu de prélèvement des nodules

V. croiss. vitesse de croissance en culture pure sur milieu YEM. l : lent ; r : rapide

souche code de référence de la souche

Pour 24 espèces d'*Acacia*, les nodules formés étaient ineffectifs et n'ont pas permis d'isoler de souches

La vérification de l'infectivité a été réalisée avec 35 souches. Dix souches n'ont pas été retestées sur plante hôte, car la culture en tube Gibson des *Acacia* dont sont issus les nodules n'a pas été possible

Sur *Acacia dictyophleba* et *A. gonoclada*, nous n'avons pas observé de nodules.

3.2- La conservation des souches de *Rhizobium s.l.*

La conservation à -80°C dans le glycérol à 20% a permis de conserver vivantes pendant trois ans les souches que nous avons isolées au départ de nos travaux.

La conservation à +4°C en boîte de Petri sur milieu YEM gélosé permet de conserver très facilement les souches à croissance lente (*Bradyrhizobium*). Des souches conservées de la sorte pendant 18 mois repoussent dès qu'on les transfère sur milieu neuf. Par contre, les souches à croissance rapide (*Rhizobium*), sont beaucoup moins résistantes et, dans ces conditions, les souches sont perdues systématiquement. Il est nécessaire de repiquer ces souches très régulièrement.

3.3- Constitution de la collection de souches de champignons ectomycorhiziens

Les isollements à partir de fragments de chaire piléique ont permis d'isoler la plupart des souches en collection au laboratoire, soit 47 des 51 souches isolées au Sénégal et en Guinée. Des isollements à partir d'ECM d'*Afzelia africana* ont été réussis par A. Ba. Deux isolats n'ont pas pu être identifiés, les autres ont été identifiés à *Scleroderma dictyosporum* et *S. verrucosum*.

Tableau 13 : Espèce, code et origine des champignons en collection au laboratoire de Microbiologie des sols à Dakar.

Espèce fongique	Code*	P.	A.	E.
Souches isolées au Sénégal et en Guinée à partir de fragments de chair piléique				
<i>Amanita aurea</i>	ORS.7734	SE	Ba	Aa
<i>Amanita aff. rubescens</i>	ORS.7566	SE	DT	Aa
<i>Amanita aff. rubescens</i>	ORS.7998	GU	MD	Ab
<i>Amanita sp.</i>	ORS.7735	SE	Ba	Aa
<i>Austrogautiera sp.</i>	ORS.7873	SE	Ba	Ug
<i>Boletus sp.</i>	Bev	GU	MD	Ac
<i>Corditubera sp.</i>	ORS.7954	GU	MD	Pk
<i>Gyrodon intermedius</i>	ORS.7729	SE	Ba	Aa
<i>Mutinus bambusinus</i>	Mut	GU	MD	Aa
<i>Phallus indusiatus</i>	ORS.7955	GU	MD	Pk
<i>Phallus roseus</i>	PHSK	SE	MD	Ah
<i>Phlebopus sudanicus</i>	ORS.7468	SE	DT	Pj
<i>Phlebopus sudanicus</i>	ORS.7744	SE	DT	Ah
<i>Phlebopus sudanicus</i>	ORS.7587	SE	DT	
<i>Phlebopus sudanicus</i>	ORS.X010	SE	DT	
<i>Phlebopus sudanicus</i>	ORS.7589	SE	DT	
<i>Phlebopus sudanicus</i>	ORS.7866	SE	MD	An
<i>Phlebopus sudanicus</i>	ORS.7868	SE	MD	As
<i>Phlebopus sudanicus</i>	PhIEca	SE	MD	Ec
<i>Phlebopus sudanicus</i>	PhIPju	SE	MD	Pj
<i>Pisolithus sp.</i>	ORS.X003	SE	DT	Ec
<i>Pisolithus sp.</i>	ORS.7537	SE	DT	Ec
<i>Pisolithus sp.</i>	ORS.X004	SE	DT	Ec
<i>Pisolithus sp.</i>	ORS.7871	SE	MD	Ec
<i>Pisolithus sp.</i>	ORS.7865	SE	MD	Ec
<i>Pisolithus sp.</i>	ORS.7870	SE	MD	Ah
<i>Pisolithus sp.</i>	ORS.7869	SE	MD	Ec
<i>Pisolithus sp.</i>	ORS.7867	SE	MD	Ec
<i>Pisolithus sp.</i>	ORS.8021	SE	MD	Ec
<i>Pisolithus sp.</i>	ORS.8023	SE	MD	Ec
<i>Pisolithus sp.</i>	ORS.8053	SE	MD	Ec
<i>Pisolithus sp.</i>	ORS.8058	SE	MD	Ec
<i>Pisolithus sp.</i>	ORS.8063	SE	MD	Ah
<i>Pisolithus sp.</i>	PTB1	SE	MD	Ec
<i>Pisolithus sp.</i>	PSMH	SE	MD	Ah
<i>Pulveroboletus aff. tritinensis</i>	ORS.7461	SE	DT	Ug
<i>Scleroderma capense</i>	Scap	SE	MD	Ec
<i>Scleroderma cepa</i>	ORS.7938	GU	MD	Pk
<i>Scleroderma dictyosporum</i>	ORS.7731	SE	Ba	Aa
<i>Scleroderma verrucosum</i>	ORS.7732	SE	Ba	Aa
<i>Scleroderma verrucosum</i>	ORS.7952	GU	MD	Ab
<i>Sclerogaster sp.</i>	ORS.7861	SE	Ba	Aa

(Tableau 13 suite)

<i>Sclerogaster</i> sp	SCLE	GU	MD	Uc
<i>Suillus granulatus</i>	ORS.7924	GU	MD	Pk
<i>Suillus granulatus</i>	ORS.7944	GU	MD	Pk
<i>Tubosetae bruneosetosa</i>	ORS.7573	SE	DT	Ug
<i>Xerocomus aff. hypoxanthus</i>	ORS.7603	SE	DT	Ug
<i>Xerocomus spinulosus</i>	ORS.7514	SE	DT	Aa
<i>Xerocomus subspinulosus</i>	ORS.7540	SE	DT	Ug

Souches isolées à partir d'ECM

Isolat identifié à

<i>Scleroderma verrucosum</i>	ORS.XM01	SE	Ba	Aa
<i>Scleroderma dictyosporum</i>	ORS.XM03	SE	Ba	Aa
non identifié	ORS.XM02	SE	Ba	Aa
non identifié	ORS.XM04	SE	Ba	Aa

Souches provenant de laboratoires extérieurs

<i>Hebeloma crustuliniforme</i>	Heb.Crus	FR	IN	Qu
<i>Laccaria laccata</i>	LL238A	FR	IN	
<i>Laccaria laccata</i>	LL MOL JG		Mo	Dg
<i>Laccaria</i> sp	NQ 10		FR	IN
<i>Laccaria</i> sp	PIN	FR	IN	
<i>Paxillus involutus</i>	PaxInv	FR	IN	Qu
<i>Pisolithus tinctorius</i>	F9	FR	IM	
<i>Pisolithus tinctorius</i>	F10	FR	IM	
<i>Pisolithus tinctorius</i>	F11	FR	IM	
<i>Pisolithus tinctorius</i>	F14	FR	IM	
<i>Pisolithus tinctorius</i>	F15	FR	IM	
<i>Pisolithus tinctorius</i>	S125	BE	Ga	
<i>Pisolithus tinctorius</i>	S382	AC	LT	
<i>Pisolithus tinctorius</i>	Pt		LT	
<i>Pisolithus tinctorius</i>	PR32	AS	Rd	
<i>Pisolithus tinctorius</i>	PR86	AS	Rd	
<i>Pisolithus tinctorius</i>	PR94	AS	Rd	
<i>Pisolithus tinctorius</i>	PR100A	AS	Rd	
<i>Pisolithus tinctorius</i>	R		LT	
<i>Pisolithus tinctorius</i>	T		LT	
<i>Pisolithus tinctorius</i>	C	US	Mx	
<i>Pisolithus tinctorius</i>	M	US	Mx	
<i>Pisolithus tinctorius</i>	PtMarx	US	Mx	Pn
<i>Scleroderma</i> sp	MON		LT	

P. Pays d'origine des souches AC : Amérique centrale ; AS : Australie ; BE : Belgique ; FR : France ; GU : Guinée ; SE : Sénégal ; US : Etats unis.

A. Auteur de l'isolement. Ba : A. Ba ; DT : D. Thoen ; Ga : Gaie ; IN : INRA de Nancy ; IM : INRA de Montpellier ; LT : F. Le Tacon ; MD : M. Ducouso ; Mx : D. Marx ; Mo : R. Molina ; Rd : P. Reddell.

E. Espèce présumée hôte Aa : *Afzelia africana* ; Ab : *Afzelia bracteata* ; Ac : *Anthonotha crassifolia* ; Ah : *Acacia holosericea* ; An : *Acacia nilotica* ; As : *Acacia senegal* ; Dg : Douglas ; Ec : *Eucalyptus camaldulensis* ; Pj : *Prosopis juliflora* ; Pk : *Pinus kesiya* ; Pn : *Pinus* ; Qu : *Quercus* ; Uc : *Uapaca chevalieri* ; Ug : *Uapaca guineensis*

* pour les souches dont le code commence par ORS., les quatre chiffres correspondent au numéro de l'échantillon dans l'herbier de référence

Les examens au microscope inversé des cultures ont permis d'observer des hyphes cloisonnés et parfois des boucles typiques des Basidiomycètes. L'aspect général des cultures est très variable selon les souches et le milieu de culture utilisé (Planche 15).

Aucune souche n'a été isolée à partir de sclérotés.

3 4- La conservation des souches ectomycorhiziennes

Ces études ont mis en évidence de grandes variations entre les souches. La conservation à température ambiante des souches ne produisant pas de sclérotés *in vitro* oblige à un repiquage tous les deux mois. La conservation à +4°C après une phase de développement à température ambiante est impossible pour *Sclerogaster sp.*. Cette technique permet pour les autres souches testées de porter l'intervalle de temps entre les repiquages à 6, voire à 12 mois sans risque de perdre les souches. Avec certaines souches de *Pisolithus sp.*, cet intervalle a pu être porté à 24 mois dans ce cas, le nombre d'implants qui reprennent est très faible.

Comme cela est indiqué dans le tableau 14, la conservation des souches de *Phlebopus sudanicus* (qui forment toutes *in vitro* des sclérotés, Planche 15) peut sans problème atteindre 12 mois à température ambiante.

Tableau 14 Redémarrage de différentes souches de champignons ectomycorhiziens après différents temps de conservation à +4°C et à température ambiante.

Espèce fongique	Souche	Intervalle entre les repiquages				
		4	6	8	12	24
Conservation à +4°C						
<i>Pisolithus sp</i>	ORS.X003	+	+	+	+	-
<i>Pisolithus sp</i>	ORS.X004	+	+	+	+	+
<i>Pisolithus tinctorius</i>	S125	+	+	+	-	-
<i>Pisolithus tinctorius</i>	PR86	+	+	+	-	-
<i>Pisolithus tinctorius</i>	PR100A	+	+	+	-	-
<i>Pisolithus tinctorius</i>	C	+	+	+	+	+
<i>Scleroderma dictyosporum</i>	ORS.7731	+	+	+	-	-
<i>Scleroderma verrucosum</i>	ORS.7732	+	+	+	-	-
<i>Sclerogaster sp</i>	ORS.7861	-	-	-	-	-
<i>Phallus roseus</i>	PHSK	+	+	+	+	+
<i>Phlebopus sudanicus</i>	ORS.XO10	+	+	+	+	+
<i>Phlebopus sudanicus</i>	ORS.7468	+	+	+	+	+
<i>Pulveroboletus aff tritinensis</i>	ORS.7461	+	+	+	+	+
Conservation à température ambiante						
<i>Phallus roseus</i>	PHSK	+	+	+	+	.
<i>Pisolithus sp</i>	ORS.X003	+	-	-	-	.
<i>Pisolithus sp.</i>	ORS.X004	+	+	-	-	.
<i>Phlebopus sudanicus</i>	ORS.XO10	+	+	+	+	.
<i>Phlebopus sudanicus</i>	ORS.7744	+	+	+	+	.

(Tableau 14 suite)

<i>Phlebopus sudanicus</i>	ORS.7587	+	+	+	+	.
<i>Phlebopus sudanicus</i>	ORS.7468	+	+	+	+	.
<i>Pulveroboletus aff. tritinensis</i>	ORS.7461	+	+	-	-	.

Intervalle entre les repiquages : temps en mois entre deux repiquages + redémarrage d'au moins un explant parmi 16 mis en culture sur milieu neuf , - redémarrage d'aucun explant ; test de redémarrage non effectué

4- DISCUSSION

4.1- La nodulation des *Acacia*.

Parmi les 60 espèces d'*Acacia* testées sur sol sénégalais, 58 portaient des nodules. Seul *Acacia dictyophleba* et *A. gonoclada*, originaires d'Australie ne portaient pas de nodules. 24 autres espèces, également originaires d'Australie, portaient de petits nodules ineffectifs. Les possibilités de nodulation croisée entre espèces d'*Acacia*, démontrées entre autres par Dreyfus et Dommergues (1981) et Badji *et al* (1988a), semblent beaucoup plus limitées pour ces espèces. Ces résultats indiquent une certaine spécificité d'hôte des *Acacia* pour les *Rhizobium*.

Des informations concernant la nodulation de 40 espèces d'*Acacia* sont relatées ici pour la première fois. 38 d'entre elles ont nodulé, et 2, *Acacia dictyophleba* et *A. gonoclada* n'ont pas nodulé dans nos conditions expérimentales. *Acacia stenophylla*, espèce considérée comme non nodulée (Naudin, 1897, cité par Allen et Allen, (1981)), portait des nodules après trois mois de pépinière sur les sols des stations SS1.2 et SA:12. Ces deux souches à croissance rapide sont infectives et effectives sur cette espèce.

Faria *et al.* (1988) indiquent que parmi environ 1200 espèces d'*Acacia* connues, 204 sont nodulées et 12 ne le sont pas. Les résultats que nous avons obtenus portent à 243 le nombre des espèces d'*Acacia* nodulées et à 13 les non nodulées. L'ensemble de ces observations permet de penser que la plupart des espèces restantes, environ 950, seront nodulées. Parmi les légumineuses, le genre *Acacia* possède le plus grand potentiel d'arbres fixateurs d'azote. Cette particularité permet aux *Acacia* de croître sur des sols très pauvres en azote et d'en augmenter la teneur en cet élément. De ce fait, ces arbres sont d'excellents candidats pour la reforestation des zones tropicales d'Afrique. Cependant, les carences en *Rhizobium s.l.* efficaces pour certaines espèces australiennes peuvent constituer un facteur limitant de l'introduction de ces espèces au Sénégal (Cossalter, 1984).

La congélation dans le glycérol à -80°C nous paraît la méthode la plus efficace pour la conservation de l'ensemble des souches.

4.2- Les souches ectomycorhiziennes

La plupart des souches de la collection ont été isolées à partir de fragments de chair piléique prélevés sur des carpophores frais récoltés *in situ*. Cette méthode nous paraît la plus simple et la plus efficace pour isoler la plupart des souches. Et ainsi, nous avons créé au laboratoire de Microbiologie des Sols de l'ORSTOM à Dakar un soucier d'espèces fongiques ectomycorhiziennes d'origine tropicale. Cependant, les fragments de chair piléique de nombreuses espèces fongiques ectomycorhiziennes des essences locales, notamment les russules et les lactaires, ne se développent pas ou ont un développement très limité après leur transfert aseptique sur le milieu nutritif. De ce fait, le nombre de souches isolées à partir de ces espèces est limité.

D'une façon générale, on peut remarquer que les températures optimales de croissances des souches africaines sont très supérieures à ce qui est communément observé pour les souches d'origine tempérée.

Parmi les très nombreuses techniques de conservation de souches fongiques décrites dans la littérature, peu concernent les champignons ectomycorhiziens. La technique qui consiste à conserver les implants mycéliens prélevés à l'emporte pièce dans l'eau stérile à +4°C n'a pas donné de résultats satisfaisants. Dans l'ensemble, la conservation à +4°C des cultures mycéliennes a donné de bons résultats et permis de faciliter l'entretien de ce soucier.

Les souches produisant *in vitro* des sclérotas sont très résistantes à la conservation. Le temps entre les repiquages peut être d'un an à température ambiante et de deux ans à +4°C pour certaines d'entre elles. La recherche de souches produisant des sclérotas *in vitro* est une voie intéressante pour rendre plus simple et plus sûre la conservation d'un soucier de champignons ectomycorhiziens.

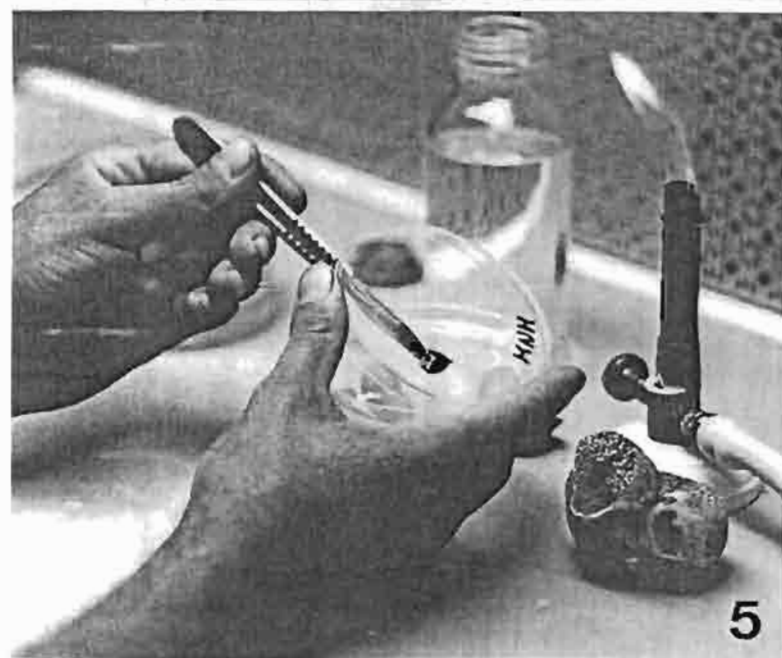
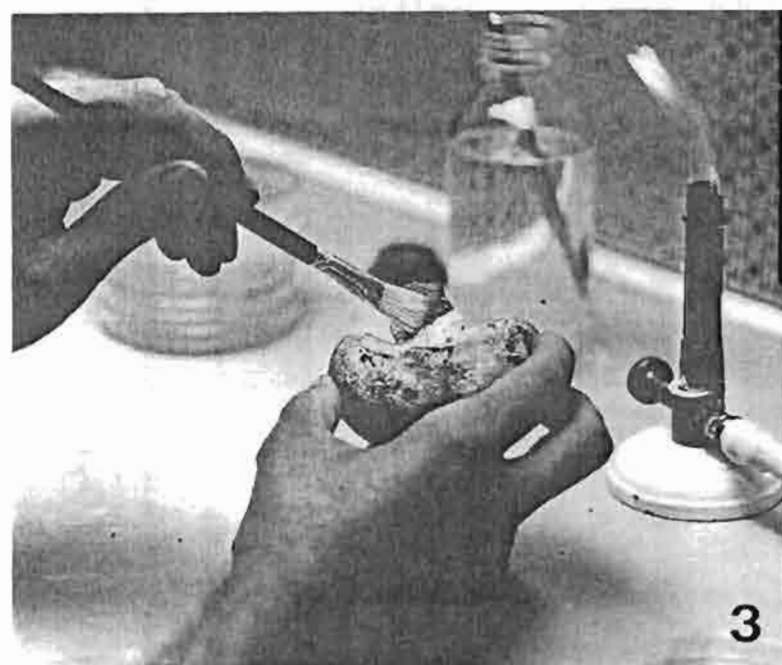
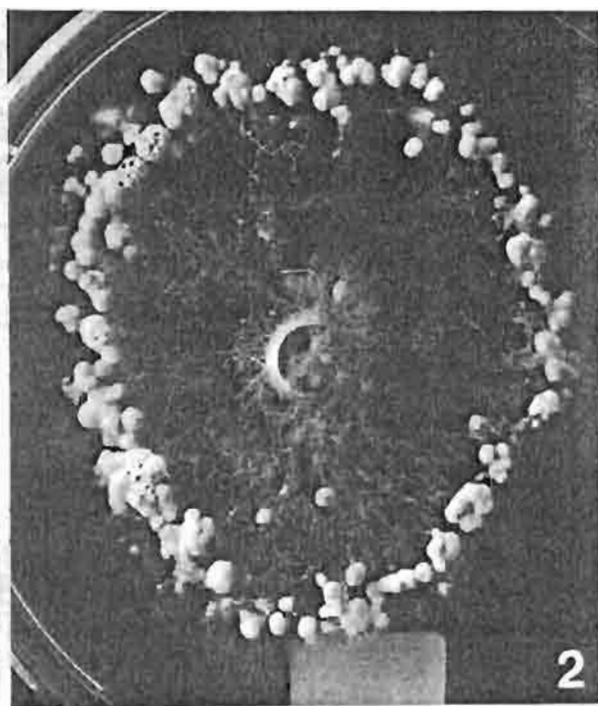
Planche 15 :

Dispositif et méthode d'isolement des champignons ectomycorhiziens :

fig 1 : dispositif de terrain pour réaliser les isollements de façon axénique.
Ce dispositif permet de travailler avec des taux d'infections inférieurs à 5%.

fig 2 : jeunes sclérotas de *Phlebopus sudanicus* observées en culture pure.

fig 3,4,5 et 6 : illustration des différentes étapes de l'isolement d'une souche ectomycorhizienne : exemple de *Pisolithus* sp..



TROISIEME PARTIE

**DETERMINATION EXPERIMENTALE DES TYPES
MYCORHIZIENS DANS LE GENRE *ACACIA S.L.***

1- INTRODUCTION

Seul un très petit nombre de familles comme les *Chenopodiaceae*, les *Polygonaceae*, les *Juncaceae*, les *Cyperaceae*, les *Caryophyllaceae*, les *Rhizophoraceae* et certaines espèces des milieux marginaux halomorphes et hydromorphes ne sont qu'occasionnellement mycorhizées et toujours très peu dépendantes de cette symbiose (Trappe, 1987 ; Le Tacon *et al.*, 1989). Par ailleurs, la mycorhization VA a été observée sur de nombreuses espèces de végétaux supérieurs et on suppose actuellement que 95 % des espèces d'arbres tropicaux seraient endomycorhizées (Redhead, 1980). Les champignons responsables des MVA appartiennent à une famille de champignons inférieurs, les *Endogonaceae* (Zygomycètes) qui se répartissent en sept genres tous strictement symbiotiques (Trappe et Schenck, 1982). Les récents progrès réalisés dans la systématique de ce groupe ont conduit à la description de nombreuses espèces nouvelles. Cependant, très peu d'investigations concernant les espèces sénégalaises ont été entreprises. De ce fait, nos connaissances des espèces endomycorhiziennes locales sont très limitées (Diem *et al.*, 1981). Ces champignons sont non ou très peu spécifiques et ont un rôle important dans l'alimentation minérale, notamment phosphatée et dans l'économie en eau des plantes.

Les ECM se forment principalement sur les plantes ligneuses, arbres ou arbustes et ne concernent qu'un nombre restreint de familles. Cependant, en foresterie, l'importance des ECM ne peut être négligée, des espèces d'intérêt économique, feuillues et résineuses, qui constituent une part importante du couvert arboré des zones tempérées, sont ectomycorhizées. En zones tropicales, l'importance des *Pinaceae*, des *Myrtaceae* et des *Dipterocarpaceae* ne peut non plus être négligée.

Sur la base de critères évolutifs floraux (Heywood, 1978; Cronquist, 1981), aucun lien entre les familles ectomycorhizées n'a pu être trouvé (Trappe, 1987). Les ECM se rencontrent aussi bien dans des familles peu évoluées comme les *Lauraceae* et les *Rosaceae* que dans des familles considérées comme beaucoup plus évoluées comme les *Casuarinaceae* et les *Rubiaceae*. De même, la totalité des espèces d'un même genre peuvent être ECM comme chez *Shorea* (*Dipterocarpaceae*) ou *Pinus* (*Pinaceae*), ou seulement certaines espèces d'un genre sont à ECM comme chez *Cassia* (*Caesalpinaceae*) ou *Terminalia* (*Combretaceae*). Enfin, pour certaines espèces, le type mycorhizien MVA ou ECM semble déterminé par d'autres facteurs comme, par exemple, l'âge de l'arbre. Ainsi, pour les jeunes plants d'*Eucalyptus dumosa*, le type MVA domine alors que sur les arbres adultes, c'est le type ECM qui est dominant (Lapeyrie et Chilvers, 1985). Dans le cas d'*Acacia holosericea* au Sénégal, nous avons observé selon les stations des MVA ou des ECM sur des arbres de même âge, sans que nous puissions pour autant établir de relations évidentes avec le type de sol ou un autre élément de l'environnement.

Parmi les trois familles qui composent les légumineuses (*Caesalpinaceae*, *Mimosaceae* et *Papilionaceae*), de nombreuses espèces de *Caesalpinaceae* sont reconnues à ECM, surtout dans la tribu des *Amherstieae* où de nombreuses espèces sont déjà connues à ECM (Fassi et Fontana, 1961 et 1962 ; Jenik et Mensah, 1967 ; Högberg et Nylund, 1981 ; Högberg, 1982 ; Högberg et Pearce, 1986). En ce qui concerne les *Papilionaceae* et les *Mimosaceae*, l'ectomycorhization semble beaucoup moins fréquente.

Le genre *Acacia*, qui regroupe environ 1200 espèces d'arbres et d'arbustes, a été signalé MVA, ECM et MVA-ECM (Warcup, 1980 ; Reddel et Warren, 1986 ; Le Tacon *et al.*, 1989). Cependant, nos connaissances concernant la mycorhization des *Acacia* sont très réduites. En effet, nous ne possédons d'informations que pour 48 espèces d'*Acacia*, soit 4% du total des espèces connues. 32 espèces sont à MVA, 12 à ECM et 4 à MVA et ECM (tableau 15). Nos observations de terrain (développées dans la première partie de ce mémoire) ont contribué à augmenter nos connaissances en décrivant l'état mycorhizien au Sénégal de trois espèces australiennes : *Acacia ampliceps*, *A. mangium* et *A. trachycarpa*. Une est à MVA et les deux autres sont à MVA et à ECM. De même en apportant des précisions sur cet état pour deux autres espèces australiennes, *Acacia aneura* et *A. holosericea* qui sont toutes deux potentiellement à MVA et à ECM. Cependant une révision du genre *Acacia* concernant uniquement les espèces natives du Queensland et quelques espèces introduites en Nouvelle-Zélande ont conduit au transfert de 255 espèces dans le genre *Racosperma* décrit en 1835 par Martius. Il est intéressant de remarquer que toutes ces espèces sont à phyllodes et non à feuilles. D'ailleurs, parmi les 18 espèces d'*Acacia* signalées à ECM, toutes sont à phyllodes et 13 d'entre elles ont été transférées dans le genre *Racosperma* (Pedley, 1987). Toutefois, en raison du caractère incomplet de cette révision, nous avons préféré conserver l'appellation *Acacia* pour l'ensemble de ces espèces.

Tableau 15 Etat de nos connaissances sur le type mycorhizien des *Acacia* au départ de nos travaux

Espèces	Type mycorhizien		Réf
	MVA	ECM	
<i>Acacia albida</i>	+	.	2
<i>Acacia aneura</i>	.	+	1, 2
<i>Acacia arabica</i>	+	.	2
<i>Acacia aulacocarpa</i>	+	.	2
<i>Acacia ouriculiformis</i>	+	.	2, 6
<i>Acacia concurens</i>	+	.	2
<i>Acacia constricta</i>	+	.	2
<i>Acacia cyanophylla</i>	+	.	2
<i>Acacia dealbata</i>	.	+	1, 2
<i>Acacia decurrens</i>	.	+	1, 2
<i>Acacia farnesiana</i>	+	.	2
<i>Acacia floribunda</i>	+	.	2
<i>Acacia Goetzei</i>	+	.	2
<i>Acacia greggii</i>	+	.	2
<i>Acacia harmandiana</i>	+	.	6
<i>Acacia holosericea</i>	+	.	2, 3
<i>Acacia laeta</i>	+	.	4
<i>Acacia latescens</i>	+	.	2
<i>Acacia mangium</i>	+	+	2, 5
<i>Acacia melanoxylon</i>	.	+	1, 2
<i>Acacia mellifera</i>	+	.	2
<i>Acacia mitchellii</i>	.	+	1, 2
<i>Acacia myrtifolia</i>	+	+	2

(Tableau 15 suite)

<i>Acacia nigrescens</i>	+	.	2
<i>Acacia nilotica</i>	+	.	2
<i>Acacia nubica</i>	+	.	2
<i>Acacia platycarpa</i>	.	+	2
<i>Acacia polyacantha</i>	+	.	2
<i>Acacia pulchella</i>	+	.	2
<i>Acacia pycnantha</i>	.	+	1, 2
<i>Acacia pyrifolia</i>	+	.	2
<i>Acacia raddiana</i>	+	.	2
<i>Acacia retinodes</i>	.	+	1, 2
<i>Acacia rhodoxylon</i>	+	+	2
<i>Acacia richii</i>	+	.	2
<i>Acacia rothii</i>	+	+	2
<i>Acacia rubida</i>	.	+	1, 2
<i>Acacia salicina</i>	.	+	1, 2
<i>Acacia saligna</i>	+	.	2
<i>Acacia senegal</i>	+	.	2, 4
<i>Acacia seyal</i>	+	.	2
<i>Acacia simsii</i>	+	+	2
<i>Acacia sophorae</i>	.	+	1, 2
<i>Acacia sparsiflora</i>	.	+	1, 2
<i>Acacia suaveolens</i>	+	.	2
<i>Acacia torulosa</i>	+	.	2
<i>Acacia verticillata</i>	.	+	1, 2
<i>Acacia yirrkalensis</i>	+	.	2

Réf. références bibliographiques des publications qui font état de la mycorhization pour les espèces considérées 1 : Warcup, 1980 ; 2 : Reddell et Warren, 1986 ; 3 : Cornet et Diem, 1982 ; 4 : Badji *et al.*, 1989 ; 5 : NRC, 1984 ; 6 : Chalempongse, 1984, cité par Le Tacon *et al.*, 1989.

Les champignons responsables de l'ectomycorhization sont le plus souvent des Basidiomycètes, ou des Ascomycètes. Ces champignons sont beaucoup mieux connus et plus diversifiés en nombre d'espèce que les champignons endomycorhiziens. On admet couramment une division en deux groupes des champignons ectomycorhiziens : les champignons à large spectre ou très peu spécifiques que l'on rencontre fréquemment en pépinière comme les sclérodermes, les laccaires et les inocybes (Mason *et al.*, 1982 ; Thoen et Ba, 1989) et les champignons beaucoup plus spécifiques (capable de s'associer avec un nombre d'espèce hôte très réduit, parfois une seule espèce), largement plus diversifiés que dans le premier groupe et que l'on rencontre sous les arbres plus âgés comme les lactaires, les russules, les bolets, les amanites.

En ce qui concerne les espèces fongiques responsables de l'ectomycorhization des *Acacia*, seulement 5 espèces ont été signalées : *Thelephora ramarioides* au Sabah sur *Acacia mangium* (NRC, 1984), trois espèces du genre *Muciturbo* (Warcup et Talbot, 1989) et *Coenococcum graniforme* qui après inoculation en pépinière a formé des ECM sur 12 espèces d'*Acacia* (Warcup, 1980). Cette dernière espèce à très large spectre et à distribution mondiale est connue pour sa capacité à former des structures d'ECM avec des plantes réputées non ectomycorhiziennes ; de plus elle a été observée comme saprophyte dans la litière (Gourbière, communication personnelle). Nos observations de terrain ont permis de décrire une autre espèce, *Pisolithus sp.*, à large spectre et

souvent observée comme ectomycorhizatrice précoce en pépinière. A l'aide des collections de graines du CTFT et de la DRPF/ISRA, nous avons cherché à préciser et à approfondir nos connaissances :

i)- sur l'état symbiotique des *Acacia*. Pour cela, dans une première expérience, nous avons observé pour les MVA des échantillons racinaires de 32 espèces d'*Acacia* cultivées en serre sur un sol non stérile riche en propagules endomycorhiziennes. Dans une seconde expérience, ces 32 espèces cultivées sur un mélange stérile ont été inoculées par 5 souches ectomycorhiziennes à large spectre. Les inoculums ont été produits selon la méthode décrite par Molina (1979) et celle décrite par Chilvers *et al.* (1986).

ii)- sur les espèces fongiques impliquées dans l'ectomycorhization des *Acacia*. Parmi les espèces potentiellement intéressantes pour les reboisements, nous en avons choisi trois particulièrement bien ectomycorhizées : *Acacia chisholmii*, *A. holosericea* et *A. mangium*, espèces avec lesquelles nous avons tenté, en serre, des synthèses ectomycorhiziennes avec un total de 24 souches de 10 espèces fongiques différentes.

iii)- sur les différences qui existent entre *Pisolithus tinctorius* et *Pisolithus sp.* pour leur spectre d'hôte sur *Acacia holosericea*. Nous avons alors choisi 8 souches de *Pisolithus spp.* d'origines géographiques différentes, deux souches européennes, deux souches américaines, deux souches australiennes et deux souches sénégalaises, que nous avons inoculées à de jeunes plants d'*Acacia holosericea*, cultivés en serre, sur un mélange stérile dans des minirhizotrons de plexiglass.

iv)- les possibilités d'établissement d'une double symbiose nodule-ECM chez les *Acacia*. En effet, la double inoculation *Rhizobium sp.*-champignon endomycorhizien permet une amélioration spectaculaire de la croissance et de la nodulation des *Acacia* cultivés en pépinière (Cornet et Diem, 1982 ; Cornet *et al.*, 1982, Kun-Piao *et al.*, 1986 ; Dela Cruz *et al.*, 1988, Umali-Garcia *et al.*, 1988). Cependant, nous ne disposons d'aucune donnée concernant l'importance de l'ectomycorhization pour la croissance et la nodulation des *Acacia* (Reddell et Warren, 1986). Dans un premier temps, nous nous sommes donc attachés à vérifier l'existence de la double symbiose *Rhizobium*-champignon ectomycorhizien chez les *Acacia*. Pour cela, nous avons réalisé des doubles inoculations sur trois espèces d'*Acacia* avec des souches de *Bradyrhizobium* spécifiques de chaque espèce et la souche de *Pisolithus sp.* ORS.X004. Dans la partie suivante, nous nous sommes attachés à montrer les effets de la symbiose ECM pour la croissance en pépinière d'*Acacia holosericea*.

2- MATERIELS ET METHODES

2.1- Choix et obtention des plants.

Sur les 60 espèces d'*Acacia* utilisées précédemment pour les piégeages de *Rhizobium*, nous avons retenu cinq espèces d'*Acacia* africains (à feuilles) et 27 espèces d'*Acacia* australiens (à phyllodes).

Les techniques de prétraitement des semences à l'acide sulfurique concentré et de prégermination ont été les mêmes que celles décrites au 2.1.2 de la deuxième partie.

2.2- Mise en culture et entretien des plants à la serre.

Les graines germées ont été semées :

i)- dans des sachets de polyéthylène contenant (1kg) du sol Dior prélevé dans une plantation d'*Acacia senegal* âgée de 5 ans dont les systèmes racinaires étaient endomycorhizés à 100%, ou un mélange du même sol (50%¹) stérilisé à l'autoclave 1h à 120°C avec des billes de polystyrène expansé (25%), de la vermiculite ou de la perlite (25%) selon l'expérience, ajusté au départ de la culture à pH 5,6-5,8 avec de la tourbe.

ii)- dans les minirhizotrons en plexiglass contenant (300g) le même mélange mais à partir du sol Deck (Figure 6).

iii)- après huit mois de culture, une partie des plants cultivés en sachets de polyéthylène a été repiquée dans des pots de terre cuite contenant 1kg de sol. Les plants ont été placés à la serre et arrosés quotidiennement à la capacité de rétention du sol.

2.3- Les souches fongiques utilisées.

Vingt huit souches de dix espèces fongiques différentes entretenues sur milieu MNM (Marx, 1969) gélosé ont été utilisées (tableau 13). Les souches ont été repiquées en boîte de Petri sur MNM gélosé et incubées 15 jours à l'obscurité à 28°C avant leur utilisation pour la préparation des inoculums

2.4- Les souches bactériennes utilisées.

Trois souches de *Bradyrhizobium* sp., RCBA, RHSK1 et RMBY conservées sur milieu YEM (Vincent, 1970) gélosé à 4°C ont été utilisées comme source d'inoculum

¹ les proportions des mélanges sont exprimés en pour cent par rapport au volume

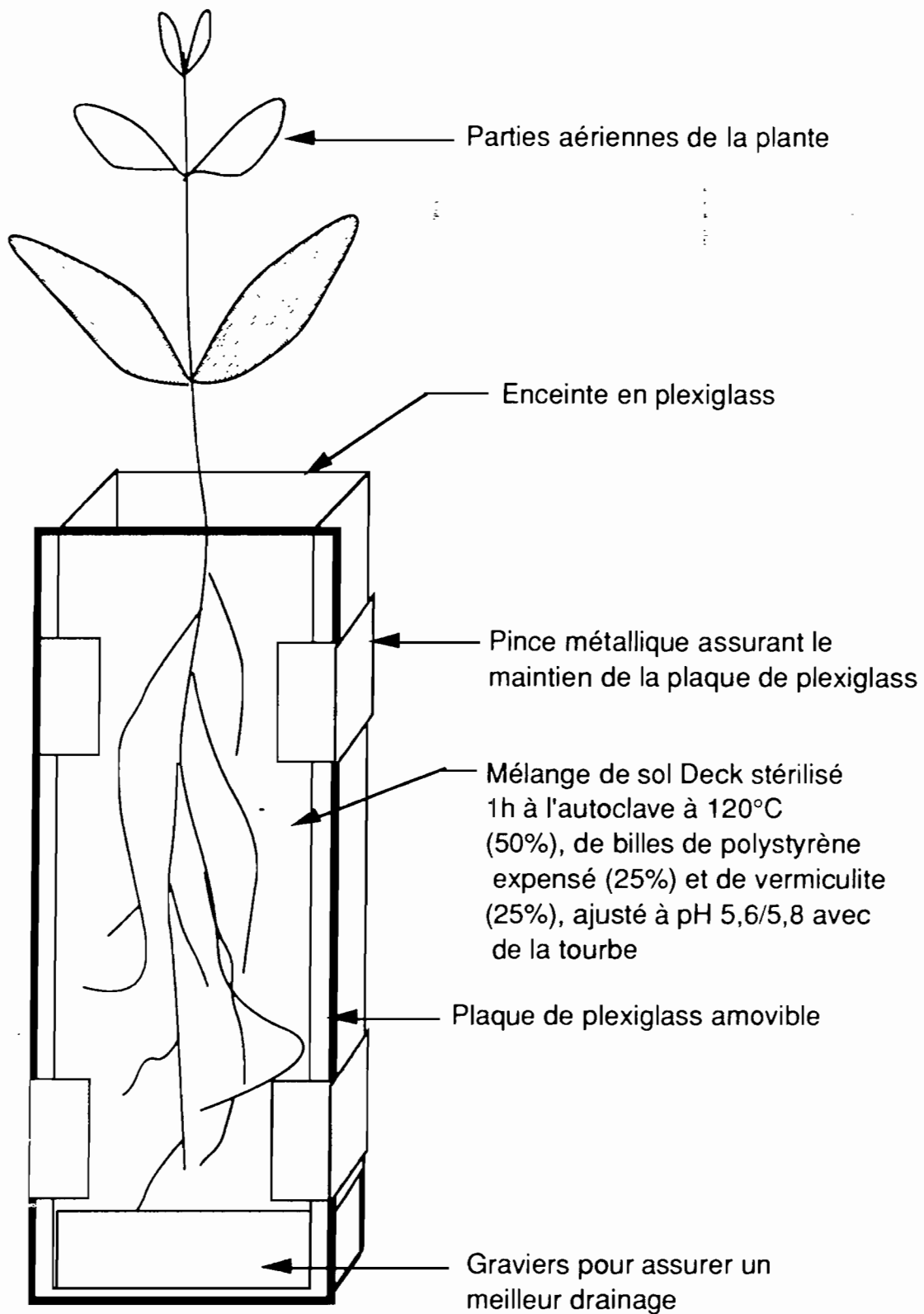


Figure 6 : Schéma du dispositif pour la culture des plants en minirhizotron

2.5- La production d'inoculum.

2.5.1- Les inoculums ectomycorhiziens.

Ceux-ci ont été produits de deux façons différentes :

i)- la technique du "Paper sandwich" (Chilvers *et al.*, 1986) : 5 implants mycéliens issus de culture en boîte de Petri sur milieu MNM gélosé ont été déposés sur un papier filtre dans des boîtes de Petri remplies de milieu MNM gélosé. Les boîtes de Petri scellées ont été incubées à 28°C à l'obscurité jusqu'à recouvrement de la surface du papier filtre par le mycélium. Le temps de culture a été variable de 10 à 30 jours selon les souches.

ii)- la technique décrite par Molina (1979) : des Erlenmeyers de 250 ml contenant 100 ml d'un mélange stérile de tourbe (10%) et de vermiculite (90%), ont été imprégnés de 100 ml de milieu MNM liquide stérilisé à l'autoclave 20 mn à 120° C. Chaque Erlenmeyer a été ensemencé par dix implants mycéliens issus d'une culture en boîte de Petri sur milieu MNM gélosé. Les cultures ont ensuite été incubées à 28°C à l'obscurité jusqu'à un envahissement satisfaisant des Erlenmeyers. Le temps de culture a été variable de 3 à 6 semaines selon les souches.

2.5.2- Les inoculums bactériens.

Ceux-ci ont été produits en Erlenmeyer sur milieu YEM liquide agité. Les cultures ont été incubées à 28°C à l'obscurité jusqu'à saturation du milieu en micro-organismes. Nous avons alors observés une densité de l'ordre de $1,6.10^9$ cellules.ml⁻¹. Le temps de culture a été de 4 à 6 jours selon les souches.

2.6- Les techniques d'inoculation.

2.6.1- L'inoculation par les champignons endomycorhiziens.

Nous avons cultivé les plants sur un sol non stérile, riche en propagules MVA.

2.6.2- L'inoculation par les champignons ectomycorhiziens.

Selon les conditions de culture des plants, nous avons utilisé des techniques d'inoculation différentes.

i)- Les plants âgés de 6 semaines cultivés en sachet de polyéthylène ont été inoculés selon la technique de Molina (1979) ; les plants ont été déracinés superficiellement et on applique 50 ml d'inoculum végétatif produit sur tourbe vermiculite aux racines qui étaient au centre de la motte, à une profondeur de 2 à 5 cm sous la surface.

ii)- Ou bien nous avons inoculé avec des "Paper sandwiches" des plants âgés de deux mois cultivés en minirhizotron de plexiglass. Dans ce cas, les minirhizotrons ont été ouverts latéralement et nous avons appliqué aux racines le papier recouvert de mycélium. Ou bien nous avons inoculé des plants cultivés 8 mois en sachet de polyéthylène, trois semaines après leur repiquage dans des pots en terre cuite contenant 1 kg de sol. Dans ce cas, les plants ont été dépotés et nous avons appliqué le papier recouvert de mycélium contre les jeunes racines qui apparaissaient à la périphérie de la motte.

2.6.3- L'inoculation par *Rhizobium* sp.

Les jeunes plants cultivés en sachet de polyéthylène ont été inoculés 2 jours après le repiquage avec 2 ml de culture liquide contenant environ $1,6 \cdot 10^9$ bactéries.ml⁻¹

2.7- Dispositifs expérimentaux.

2.7.1- Screening des *Acacia* pour les MVA.

Nous avons cultivé les 32 espèces d'*Acacia* en sachet de polyéthylène sur du sol Dior riche en propagules MVA. Pour chaque espèce, nous avons réalisé des observations sur 5 plants différents.

2.7.2- Screening des *Acacia* pour les ECM.

Dans un premier temps, les 32 espèces d'*Acacia* cultivées en sachet de polyéthylène sur un mélange stérilisé de sol Dior (50%), de vermiculite (25%) et de billes de polystyrène expansé (25%), ajusté au départ de la culture à pH 5,6-5,8 avec de la tourbe, avaient reçu 50 ml d'inoculum végétatif préparé selon la méthode de Molina (1979). Nous avons utilisé les souches de *Pisolithus* sp. ORS.7870 et de *Scleroderma cepa* ORS.7938. Pour chaque espèce et pour chaque souche, nous avons réalisé 5 répétitions.

Dans un second temps, les 32 espèces d'*Acacia*, non mycorhizées, repiquées dans des pots en terre cuite, ont été inoculées avec des "Paper sandwiches" préparés avec les souches de *Pisolithus* sp. ORS.X004 et ORS.8023 et avec la souche de *Scleroderma dictyosporum* ORS.7731. Pour chaque espèce et pour chaque souche, nous avons réalisé trois répétitions.

2.7.3- Spectre de souches de trois espèces d'*Acacia*.

Trois espèces d'*Acacia* ectomycorhiziens, utilisées dans les programmes de reboisement, *Acacia chisholmii*, *A. holosericea* et *A. mangium*, cultivées en sachet de polyéthylène sur le mélange à base de sol Dior précédemment décrit, ont reçu 50 ml d'inoculum végétatif préparé selon la méthode décrite par Molina (1979), avec 24 souches de 10 espèces fongiques différentes (tableau 19). Pour chaque souche et chaque espèce, nous avons réalisé les synthèses avec trois plants.

2.7.4- Infectivité de *Pisolithus* spp. d'origines différentes sur *Acacia holosericea*.

Acacia holosericea, cultivé en minirhizotron de plexiglass sur le mélange à base de sol Dior précédemment décrit, a été inoculé avec des "Paper sandwiches" préparés avec 8 souches de *Pisolithus* spp. d'origines géographiques différentes : 2 souches européennes, Pt 125 et F11, 2 souches américaines C et M, 2 souches australiennes PR32 et PR94 et 2 souches sénégalaises ORS.X004 et ORS.7870. Pour chaque souche, nous avons tenté les synthèses avec cinq plants.

2.7.5- La double inoculation *Bradyrhizobium* sp.-*Pisolithus* sp. avec trois espèces d'*Acacia*.

Acacia chisholmii, *A. holosericea* et *A. mangium* cultivés en sachet de polyéthylène sur le mélange à base de sol Dior précédemment décrit ont reçu 2 ml d'inoculum bactérien préparé respectivement avec les souches CHIBA, RHSK1 et RMBY, puis 50 ml d'inoculum ectomycorhizien préparé sur tourbe vermiculite avec la souche ORS.X004. Pour chaque espèce, nous avons réalisé 5 observations.

2.8- Observations

2.8.1- Les MVA

Après 8 mois de culture, un échantillon de 1 à 5 g de racines fines ont été prélevés sur chaque plant puis traités selon la technique décrite par Phillips et Hayman (1970) pour la coloration des endomycorhizes (voir 3.4- de la première partie). Les espèces ont été considérées à MVA lorsque nous avons observés des hyphes internes, des vésicules et/ou des arbuscules.

2.8.2- Les-ECM

i)- Six mois après l'inoculation par la technique de Molina (1979), le système racinaire des plants a été examiné macroscopiquement afin de noter la présence et la couleur des ECM formées.

ii)- Une semaine après l'application des "Paper sandwiches", le système racinaire des plants a été examiné macroscopiquement sur la zone d'application du mycélium afin de noter la présence et la couleur des ECM formées.

Les ECM ont été prélevées, fixées puis observées au microscope comme décrit au 3-5 de la première partie.

2.8.3- Les doubles symbioses nodules-ECM

Six mois après l'inoculation, les systèmes racinaires des plants ont été disséqués sous la loupe binoculaire afin de rechercher la présence simultanée de nodules et d'ECM.

3- RESULTATS

3.1- Résultats du screening des 32 espèces d'*Acacia* pour les MVA et les ECM.

3.1.1- Observation des MVA

Le screening des *Acacia* pour les MVA nous a permis d'observer des hyphes internes, des vésicules et/ou des arbuscules dans les systèmes racinaires de toutes les plantes étudiées. L'inoculation ayant été réalisée avec un mélange inconnu d'espèces endomycorhiziennes locales, nous avons observé des différences importantes dans la morphologie des MVA. De telles différences ont fréquemment été observées dans d'autres cas similaires. Les espèces d'*Acacia* sont certainement à MVA pour la plupart d'entre elles.

3.1.2- Observation des ECM

Le screening des *Acacia* pour les ECM nous a permis d'observer l'ectomycorhization de 18 espèces australiennes à phyllodes. Aucune ECM n'a été observée sur les *Acacia* à feuilles. L'inoculation par la technique du "Paper sandwich" a permis d'obtenir des ECM avec 18 espèces d'*Acacia* avec la souche de *Pisolithus* sp. ORS.8023 et avec 17 espèces d'*Acacia* avec la souche de *Pisolithus* sp. ORS.X004. Nous n'avons pas obtenu d'ECM avec *Acacia platycarpa* et *A. salicina* alors que Warcup (1980) en a obtenu sur ces espèces.

L'inoculation des plants âgés de six semaines avec du mycélium végétatif préparé selon la méthode décrite par Molina (1979) a permis d'obtenir des ECM avec 7 espèces d'*Acacia* avec la souche de *Pisolithus* sp. ORS.7870. Aucune ECM n'a été obtenue avec la souche de *Scleroderma cepa* ORS.7938 (Tableau 16).

Tableau 16 . Résultats des synthèses mycorhiziennes tentées en serre par endomycorhization spontanée et ectomycorhization par inoculation avec les souches : ORS.7870, ORS.X004, ORS.8023 de *Pisolithus* sp., ORS.7938 de *Scleroderma cepa* et ORS.7731 de *Scleroderma dictyosporum*, préparées selon la méthode décrite par Molina (1979) ou par la méthode décrite par Chilvers *et al* (1986).

Espèces	MVA	ECM				
		7870*	7938*	X004**	8023**	7731**
Espèces à feuilles originaires d'Afrique et d'Amérique						
<i>Acacia arabica</i>	+	-	-	-	-	.
<i>Acacia cavegna</i>	+	-	-	-	-	.
<i>Acacia farnesiana</i>	+	-	-	-	-	.
<i>Acacia horrida</i>	+	-	-	-	-	.
<i>Acacia raddiana</i>	+	-	-	-	-	.
Espèces à phyllodes originaires d'Australie						
<i>Acacia ancistrocarpa</i>	+	-	-	-	-	.
<i>Acacia aneura</i>	+	+	-	+	+	.

(Tableau 16 suite)

<i>Acacia auriculiformis</i>	+	+	-	+	+	.
<i>Acacia bivenosa</i>	+	-	-	+	+	.
<i>Acacia chisholmii</i>	+	+	-	+	+	-
<i>Acacia coriacea</i>	+	-	-	+	-	.
<i>Acacia cowleana</i>	+	-	-	+	+	.
<i>Acacia cyanophylla</i>	+	-	-	-	-	.
<i>Acacia dunii</i>	+	-	-	-	-	.
<i>Acacia eriopoda</i>	+	-	-	+	+	.
<i>Acacia hilliana</i>	+	-	-	+	+	.
<i>Acacia hippuroides</i>	+	-	-	+	+	.
<i>Acacia holosericea</i>	+	+	-	+	+	+
<i>Acacia inaequilatera</i>	+	-	-	-	-	.
<i>Acacia lysiphloia</i>	+	-	-	+	+	.
<i>Acacia mangium</i>	+	+	-	+	+	-
<i>Acacia monticola</i>	+	-	-	+	+	.
<i>Acacia pellita</i>	+	+	-	+	+	.
<i>Acacia platycarpa</i>	+	-	-	-	-	.
<i>Acacia plectocarpa</i>	+	-	-	+	+	.
<i>Acacia pyrifolia</i>	+	-	-	-	-	.
<i>Acacia retivenea</i>	+	-	-	+	+	.
<i>Acacia salicina</i>	+	-	-	-	-	.
<i>Acacia stenophylla</i>	+	-	-	-	-	.
<i>Acacia trachycarpa</i>	+	+	-	+	+	.
<i>Acacia translucens</i>	+	-	-	+	+	.
<i>Acacia tumida</i>	+	-	-	-	-	.

+ : observation positive ; - : observation négative ; . : observation non réalisée

7870 : souche de *Pisolithus* sp. ORS.7870 ; 7938 : souche de *Scleroderma cepa* ORS.7938 ; X004 : souche de *Pisolithus* sp. ORS X004 ; 8023 : souche de *Pisolithus* sp. ORS.8023 ; souche de *Scleroderma dictyosporum* ORS 7731

* : inoculum réalisé selon la méthode décrite par Molina (1979) ; ** : inoculum réalisé selon la méthode décrite par Chilvers *et al* (1986)

Parmi les 18 espèces d'*Acacia* pour lesquelles nous avons observé des ECM, 16 d'entre elles n'avaient pas encore été décrites ectomycorhiziennes.

L'observation des principales caractéristiques anatomiques des ECM observées (tableau 17 et 18) nous permet de diviser en deux groupes les espèces d'*Acacia* ectomycorhizées : un premier groupe qui forme des ECM typiques avec un manteau et un réseau de Hartig bien développé (Planche 16) et un second groupe qui forme des mycorhizes incomplètes se caractérisant par l'absence du réseau de Hartig et la présence d'un manteau fongique d'épaisseur variable. Ces dernières résultent probablement d'une compatibilité limitée entre les partenaires symbiotiques.

Tableau 17 : Principales caractéristiques anatomiques des ECM obtenues sur 18 espèces d'*Acacia* cultivées dans des pots de terre cuite sur un mélange stérile par inoculation avec des cultures préparées selon la méthode décrite par Chilvers *et al.* (1986). ECM obtenues respectivement sur 17 et 18 espèces d'*Acacia* et sur *Acacia holosericea* avec les souches ORS.X004 et ORS.8023 de *Pisolithus* sp. et la souche ORS.7731 de *Scleroderma dictyosporum*.

Espèces	Souches	Diam.	Manteau	RH
<i>Acacia aneura</i>	ORS.X004	300	32	10
	ORS.8023	320	26	14
<i>Acacia auriculiformis</i>	ORS.X004	350	36	16
	ORS.8023	360	40	18
<i>Acacia bivenosa</i>	ORS.X004	310	30	0
	ORS.8023	280	25	0
<i>Acacia chisholmii</i>	ORS.X004	380	40	32
	ORS.8023	400	48	32
<i>Acacia coriacea</i>	ORS.8023	290	20	0
<i>Acacia cowleana</i>	ORS.X004	400	28	28
	ORS.8023	410	28	26
<i>Acacia eriopoda</i>	ORS.X004	320	32	0
	ORS.8023	300	34	0
<i>Acacia hilliana</i>	ORS.X004	340	26	12
	ORS.8023	360	26	14
<i>Acacia hippuroïdes</i>	ORS.X004	380	18	0
	ORS.8023	380	16	0
<i>Acacia holosericea</i>	ORS.X004	420	30	40
	ORS.8023	460	44	38
	ORS.7731	360	36	22
<i>Acacia lysiphloia</i>	ORS.X004	440	40	36
	ORS.8023	450	38	38
<i>Acacia mangium</i>	ORS.X004	360	34	18
	ORS.8023	380	38	16
<i>Acacia monticala</i>	ORS.X004	280	24	16
	ORS.8023	330	22	20
<i>Acacia pellita</i>	ORS.X004	280	26	10
	ORS.8023	280	27	12
<i>Acacia plectocarpa</i>	ORS.X004	290	18	0
	ORS.8023	280	24	0
<i>Acacia retivenia</i>	ORS.X004	300	34	10
	ORS.8023	320	35	11
<i>Acacia trachycarpa</i>	ORS.X004	320	36	20
	ORS.8023	320	40	20
<i>Acacia translucens</i>	ORS.X004	330	22	18
	ORS.8023	360	30	16

Diam. : diamètre des ECM en μm ; Mantel : épaisseur du manteau fongique en μm ; RH : profondeur de pénétration radiale du réseau de Hartig.

Tableau 18 : Principales caractéristiques anatomiques des ECM obtenues en serre sur 7 espèces d'*Acacia*, cultivées en sachet de polyéthylène sur un mélange stérile, avec la souche ORS.7870 de *Pisolithus sp.*, par inoculation avec des cultures préparées selon la méthode de Molina (1979).

Espèces	Diam.	Manteau	RH
<i>Acacia aneura</i>	310	28	12
<i>Acacia auriculiformis</i>	400	38	16
<i>Acacia chisholmii</i>	380	42	32
<i>Acacia holosericea</i>	420	30	40
<i>Acacia mangium</i>	360	34	18
<i>Acacia pellita</i>	300	30	14
<i>Acacia trachycarpa</i>	340	28	20

Diam. : diamètre des ECM en μm ; Mantéau : épaisseur du manteau fongique en μm ; RH : profondeur de pénétration radiale du réseau de Hartig.

3.2- Spectre de souches de trois espèces d'*Acacia*.

Parmi les 10 espèces fongiques testées en pépinière avec *Acacia chisholmii*, *A. holosericea* et *A. mangium*, nous avons obtenu des ECM : avec la souche de *Paxillus involutus* Pi sur *Acacia mangium*; avec 4 souches de *Pisolithus tinctorius*, PR32, PR86, PR94 et PR100 sur les trois espèces d'*Acacia* ; avec la souche de *Pisolithus tinctorius* F11 sur *Acacia holosericea* ; avec 5 souches sénégalaises de *Pisolithus sp.*, ORS.X004, ORS.7865, ORS.7867, ORS.7869 et ORS.7870 sur les trois espèces d'*Acacia* ; avec la souche de *Pisolithus sp.* ORS.X003 sur *Acacia chisholmii* et *A. holosericea* ; enfin avec la souche de *Scleroderma dictyosporum* ORS.7731 sur *Acacia holosericea* (Tableau 19).

Tableau 19 : Résultats des synthèses mycorhiziennes tentées en serre par inoculation avec 24 souches ectomycorhiziennes, cultivées selon la méthode décrite par Molina (1979), sur *Acacia chisholmii*, *A. holosericea* et *A. mangium* cultivés en sachet de polyéthylène sur un mélange stérile.

Espèce fongique	Souche	<i>Acacia chisholmii</i>	<i>Acacia holosericea</i>	<i>Acacia mangium</i>
<i>Austrogautiera sp.</i>	ORS.7873	-	-	-
<i>Phallus roseus</i>	PhSK1	-	-	-
<i>Gyrodon intermedius</i>	ORS.7729	-	-	-
<i>Paxillus involutus</i>	Pi	-	-	+
<i>Phlebopus sudanicus</i>	ORS.7866	-	-	-
	ORS.X010	-	-	-
	ORS.7868	-	-	-
	ORS.7744	-	-	-
	ORS.7468	-	-	-
<i>Pisolithus tinctorius</i>	PR32	+	+	+
	PR86	+	+	+
	PR94	+	+	+
	PR100	+	+	+
	F11	-	+	-

(Tableau 19 suite)

<i>Pisolithus sp.</i>	ORS.X003	+	+	-
	ORS.X004	+	+	+
	ORS.7865	+	+	+
	ORS.7867	+	+	+
	ORS.7869	+	+	+
	ORS.7870	+	+	+
<i>Scleroderma dictyosporum</i>	ORS.7731	-	+	-
<i>Scleroderma cepa</i>	ORS.7938	-	-	-
<i>Tubosetae bruneosetosa</i>	ORS.7573	-	-	-

+ : présence d'ECM ; - absence d'ECM.

Les inoculations avec les 11 souches des 6 autres espèces fongiques n'ont pas permis d'obtenir d'ECM. Il est intéressant de remarquer que *Scleroderma cepa*, qui appartient à un genre de champignon ectomycorhizien réputé à large spectre, n'a formé d'ECM avec aucune des trois espèces d'*Acacia* utilisées.

Les ECM obtenues sont de couleur variable selon les souches considérées (Planche 17) ; brun foncé avec *Paxillus involutus*, brun pâle avec les souches australiennes de *Pisolithus tinctorius*, jaune avec des parties blanches avec la souche européenne de *Pisolithus tinctorius*, jaune vif avec l'ensemble des souches sénégalaises de *Pisolithus sp.* et blanche avec la souche de *Scleroderma dictyosporum* ORS.7731. Pour les trois espèces d'*Acacia* et toutes les souches utilisées, nous avons obtenu des ECM d'un diamètre moyen compris entre 320 et 450 μm . L'épaisseur du manteau fongique et la profondeur de pénétration du réseau de Hartig sont variables selon les espèces et les souches considérées et sont comprises respectivement entre 20 et 80 μm et entre 12 et 48 μm . La pénétration intercellulaire des hyphes du réseau de Hartig se limite à la première couche de cellules corticales (Tableau 20).

Tableau 20 : Couleur et principales caractéristiques anatomiques des ECM obtenues en serre sur *Acacia chisholmii*, *A. holosericea* et *A. mangium*, cultivés en sachet de polyéthylène sur un mélange stérile, par inoculation avec des cultures de *Paxillus involutus*, *Pisolithus tinctorius*, *Pisolithus sp.* et *Scleroderma dictyosporum*, préparées selon la technique décrite par Molina [1979].

Espèce hôte/ Espèce fongique	Souche	Couleur	Diam.	Manteau	RH
<i>Acacia chisholmii</i>					
<i>Pisolithus tinctorius</i>	PR32	Br	400	60	26
	PR86	Br	360	58	30
	PR94	Br	400	40	32
	PR100	Br	400	46	32
<i>Pisolithus sp.</i>	ORS.X003	Jv	380	50	30
	ORS.X004	Jv	390	48	32
	ORS.7865	Jv	360	36	28
	ORS.7867	Jv	340	38	30
	ORS.7869	Jv	410	55	36
	ORS.7870	Jv	400	46	34

(Tableau 20 suite)

Acacia holosericea

<i>Pisolithus tinctorius</i>	PR32	Br	360	36	34
	PR86	Br	380	36	40
	PR94	Br	380	40	42
	PR100	Br	380	32	42
	F11	JB	400	28	38
<i>Pisolithus sp.</i>	ORS.X003	Jv	410	32	40
	ORS.X004	Jv	430	35	42
	ORS.7865	Jv	380	37	37
	ORS.7867	Jv	400	40	40
	ORS.7869	Jv	390	30	38
	ORS.7870	Jv	450	34	42
<i>Scleroderma dictyosporum</i>	ORS.7731	Bl	340	18	30

Acacia mangium

<i>Paxillus involutus</i>	Pi	Bf	320	14	8
<i>Pisolithus tinctorius</i>	PR32	Br	360	28	14
	PR86	Br	330	34	14
	PR94	Br	380	26	17
	PR100	Br	350	26	20
<i>Pisolithus sp.</i>	ORS.X004	Jv	380	34	18
	ORS.7865	Jv	390	28	12
	ORS.7867	Jv	400	32	18
	ORS.7869	Jv	400	35	16
	ORS.7870	Jv	420	36	24

Diam. : diamètre de la mycorhize en μm ; Manteau : épaisseur du manteau fongique en μm ; RH : profondeur de pénétration radiale du réseau de Hartig en μm .

Couleur : Br : brun ; Jv : jaune vif ; Bl : blanc ; Bf : brun foncé.

3.3- Screening des souches de *Pisolithus spp.* compatibles avec *Acacia holosericea*.

Parmi les 8 souches de *Pisolithus spp.* testées en minirhizotron de plexiglass avec *Acacia holosericea*, nous avons obtenu des ECM avec les deux souches australiennes PR32 et PR94, avec les deux souches sénégalaises ORS.X004 et ORS.7870, avec une souche américaine M et une souche européenne F11. Deux souches, une américaine C et l'autre européenne Pt 125 n'ont pas permis, dans nos conditions, d'obtenir d'ECM. Les ECM obtenues se caractérisent par la couleur du manteau, jaune vif pour les souches sénégalaises, brun pâle pour les souches australiennes, jaune pâle avec la souche américaine et jaune avec des parties blanches avec la souche européenne (Tableau 21).

L'ensemble des caractéristiques des ECM obtenues sur *Acacia holosericea* avec les différentes souches ne diffère pas de ce qui a été observé précédemment en serre ou au champ pour les souches sénégalaises (Tableau 21).

Tableau 21 : Résultats des essais de synthèse mycorhizienne tentés en serre et principales caractéristiques anatomiques des ECM obtenues avec 8 souches de *Pisolithus spp.*, cultivées selon la méthode décrite par Chilvers *et al.* (1986), sur *Acacia holosericea* cultivé en minirhizotron sur un mélange stérile.

ORIGINE	Souche	ECM	Couleur	Diam.	Manteau	RH
EUROPE						
	Pt125	-				
	F11	+	JB	400	28	38
AMERIQUE						
	C	-				
	M	+	Bp	420	36	32
AUSTRALIE						
	PR32	+	Br	360	36	34
	PR94	+	Br	380	40	42
SENEGAL						
	ORS.X004	+	Jv	430	35	42
	ORS.7870	+	Jv	450	34	42

+ : présence d'ECM ; - : absence d'ECM ; Diam. : diamètre de la mycorhize en μm ; Manteau : épaisseur du manteau fongique en μm ; RH : profondeur de pénétration radiale du réseau de Hartig ; JB : jaune avec des parties blanches ; Bp : brun pâle ; Br : brun ; Jv : jaune vif.

3.4- Observation de la double symbiose nodule-ECM

Six mois après l'inoculation, *Acacia chisholmii*, *A. holosericea* et *A. mangium* avaient établi une double symbiose avec *Bradyrhizobium sp.* et *Pisolithus sp.* ORS.X004. Dans certains cas, nous avons observé un nodule sur une racine courte ectomycorhizée (Planche 18). Dans les expériences de synthèse ectomycorhizienne avec les différentes espèces d'*Acacia*, sur certaines espèces comme *Acacia auriculiformis* et *A. pellita*, nous avons observé une nodulation profuse sur des plants ectomycorhizés. La nodulation spontanée de ces espèces résulte sans doute d'une contamination par des souches locales contenues dans l'eau d'arrosage. L'ectomycorhization ne semble pas antagoniste de la nodulation chez les *Acacia*.

4- DISCUSSION

4.1- Détermination du type mycorhizien des *Acacia*.

4.1.1- Les MVA

Malgré le peu de connaissances que nous avons de la systématique des *Endogonaceae* impliquées dans l'endomycorhization des espèces ligneuses au Sénégal (Diem *et al.*, 1981), nous avons, en utilisant comme source d'inoculum un sol riche en propagules endomycorhiziennes, toutes les chances d'observer des MVA sur l'ensemble des espèces capables de s'associer symbiotiquement avec des champignons endomycorhiziens. En effet, les champignons endomycorhiziens sont réputés pour leur non ou très faible spécificité d'hôte (Gianinazzi-Pearson, 1984). Une même espèce de champignon endomycorhizien est capable de former des MVA aussi bien avec des plantes ligneuses qu'avec des plantes herbacées, parfois de familles botaniquement très éloignées. Nos observations, qui ont permis de montrer la capacité de toutes les espèces d'*Acacia* à former des MVA avec les *Endogonaceae* présentes dans les sols sénégalais, résultent certainement de la non spécificité de ces espèces.

Les endomycorhizes jouent certainement un rôle important dans le genre *Acacia* et il est probable qu'une très large majorité de ces espèces soit capables de former des MVA. Thoen (1987) a montré l'existence de MVA sur des espèces hydrophiles et halophiles. Cependant, il n'est pas à exclure que certaines espèces d'*Acacia* des milieux hydromorphes ou halomorphes fassent exception et ne soient pas ou peu mycotrophes. En effet, ces milieux sont caractérisés par une grande pauvreté mycologique et il est fréquent que les espèces de ces milieux ne soient pas mycorhiziennes.

Cornet et Diem (1982), Cornet *et al.* (1982) et Badji *et al.* (1989) ont montré l'effet bénéfique de l'endomycorhization sur la croissance et la nodulation d'*Acacia holosericea*, d'*A. raddiana* et d'*A. laeta*. Cependant, la souche de *Glomus mosseae* utilisée est d'origine tempérée et aucun travail concernant l'efficacité des souches endomycorhiziennes locales n'a encore été entrepris. Il est toutefois fort probable que l'endomycorhization ne soit pas un facteur limitant de l'introduction des *Acacia* australiens au Sénégal.

4.1.2- Les ECM

Les espèces des genres *Pisolithus* et *Scleroderma*, réputées très peu spécifiques, sont fréquemment observées en pépinière. Donc, afin de déterminer la capacité de différentes espèces d'*Acacia* à former des ECM, nous avons inoculé des jeunes plants avec *Pisolithus sp.* et *Scleroderma cepa*. Parmi les souches de *Pisolithus sp.* choisies, deux, ORS.X004 et ORS.8023, ont été isolées à partir de carpophore récolté sous *Eucalyptus camaldulensis* et une, ORS.7870, a été isolée à partir d'un carpophore récolté sous *Acacia holosericea*. L'espèce de *Pisolithus sp.* récoltée au Sénégal semble avoir un spectre d'hôte assez large comme *Pisolithus tinctorius* qui a déjà été signalé ectomycorhizien de 77 espèces (Marx, 1977). Des carpophores de *Pisolithus sp.* ont été récoltés aussi bien sous *Eucalyptus spp.*, sous *Melaleuca leucadendron*, sous *Casuarina equisetifolia*, sous *Acacia holosericea* et *A. trachycarpa*. Le choix de cette dernière souche, ORS.7870, nous assure de lever au moins en partie les problèmes de spécificité qui pourraient exister pour certaines d'entre elles. La souche de *Scleroderma cepa* ORS.7938 a été isolée à partir d'un carpophore récolté sous *Pinus Kesiya*.

Dans un premier temps, nous avons apporté aux plants l'inoculum sous forme de papier recouvert de mycélium. Cette technique a l'avantage d'être rapide et simple à mettre en oeuvre. Cependant, certaines souches se développent peu ou pas dans ces conditions : c'est le cas des 4 espèces de *Scleroderma* que nous possédons en collection. Par cette technique, le mycélium végétatif actif du champignon est directement en contact avec les racines courtes réceptives à l'ectomycorhization. L'apport massif de mycélium sur les racines courtes permet d'obtenir très rapidement des ECM : en trois jours pour *Acacia holosericea* et *A. mangium* avec la souche ORS 7870. Cependant, dans cinq cas, les ECM formées n'ont pas développé de réseau de Hartig et ne se sont pas maintenues au delà d'un mois après leur formation.

Dans un second temps, nous avons apporté aux plants l'inoculum "tourbe vermiculite". Cette technique ne nous a permis de tester que 2 souches : une de *Pisolithus sp.* ORS.7870 et une de *Scleroderma cepa* ORS.7938. Cette technique a l'inconvénient de perturber le système racinaire de la plante hôte lors de l'inoculation mais aussi de stopper momentanément la croissance du mycélium. L'apport de ce type d'inoculum ne permet pas d'obtenir d'ECM aussi rapidement qu'avec les "Paper sandwiches", mais les ECM obtenues se sont révélées stables. Dans ce cas, la profondeur de pénétration du réseau de Hartig varie de 10 à 40 μm selon les espèces.

Selon le choix du type d'inoculum, les résultats ont été différents. Dans le premier cas, les ECM obtenues peuvent ne pas former de réseau de Hartig. L'importance d'ECM de ce type dans la croissance en pépinière de *Pinus caribaea* a été mise en évidence (Thoen et Ducouso, 1988) ; cependant, leur rôle reste encore inconnu chez les *Acacia*.

Ces observations résultent probablement d'une compatibilité limitée de ces espèces d'*Acacia* avec les souches de *Pisolithus sp.* utilisées. En effet, *Pinus caribaea* qui est bien connu pour former des ECM typiques avec un réseau de Hartig bien développé avec, par exemple, *Suillus granulatus* ou *Pisolithus tinctorius* forme des ECM incomplètes, sans réseau de Hartig, avec *Phlebopus sudanicus* (Thoen et Ducouso, 1988). Il n'est donc pas à exclure qu'en symbiose avec d'autres espèces fongiques, on puisse observer sur ces *Acacia* des ECM avec un réseau de Hartig.

C'est aussi pour cela que nous n'avons pas cherché à déterminer *in vitro* la capacité des *Acacia* à s'associer avec des champignons ectomycorhiziens. Car, entre autre effet, la culture axénique de la plante hôte et du champignon place les racines courtes dans un état de surinfection permanente et la plante hôte ne peut pas toujours contenir son partenaire symbiotique. Ainsi, Thoen et al (1990) ont observé sur *Allocasuarina stricta* avec la souche ORS.X004 de *Pisolithus sp.*, des Ectendomycorhizes caractérisées par la pénétration des hyphes mycéliens jusqu'à la troisième assise de cellules corticales. De même, l'inoculation d'une espèce avec des souches incompatibles peut aboutir à la formation d'ECM ; toutefois, l'observation en microscopie électronique à transmission des phénomènes précoces de reconnaissance permet d'observer des figures très différentes (Lapeyrie et al, 1988). Dans le cas d'une souche compatible, il s'établit, au niveau des premiers contacts entre les partenaires symbiotiques, des ponts glycoprotéiques. Dans le cas d'une souche peu compatible, on observe alors la formation de callose au niveau du contact entre les symbiotes.

4.2- Le spectre de souche

Des ECM ont été obtenues avec seulement 4 espèces fongiques sur 10 testées. Les espèces compatibles sont caractérisées par un spectre d'hôte très large, bien connu, notamment pour *Pisolithus tinctorius* (Marx, 1977). Parmi les autres espèces, le caractère ectomycorhizien de *Phallus roseus* est incertain. Les autres souches sont incompatibles, en serre, au moins sur les trois *Acacia*

testés. Ces essais de synthèse confirment nos observations de terrain concernant l'incompatibilité des espèces fongiques ectomycorhiziennes des espèces locales pour les *Acacia* introduits d'Australie. Il est probable que la diversité du cortège ectomycorhizien des *Acacia* soit beaucoup plus grande en Australie dans les peuplements âgés. La prospection réalisée conjointement par le CTFT, l'INRA et le CSIRO en Australie a permis de mettre en évidence la grande diversité des espèces ectomycorhiziennes des *Eucalyptus*. Il est probable que certaines espèces soient compatibles avec les *Acacia*. Mais la spécificité d'hôte de ces espèces est encore inconnue.

4.3- Spectre d'hôte des différentes origines de pisolithe

Thoen (1986) a mis en évidence des différences importantes dans la morphologie des carpophores et des spores entre le pisolithe qu'on trouve au Sénégal et celui des régions tempérées. Les synthèses que nous avons réalisées en serre avec des inoculums préparés selon la méthode décrite par Chilvers *et al.* (1986), donc avec un mycélium très infectif, nous ont permis de mettre en évidence une compatibilité beaucoup plus limitée des origines tempérées, européennes et américaines de pisolithe pour *Acacia holosericea*. Les quatre souches d'origine tropicale, australienne et sénégalaise ont permis l'obtention rapide d'abondantes ECM. Les différences constatées dans la morphologie et dans le spectre d'hôte entre les origines de pisolithe permettent de penser qu'on a à faire à deux espèces distinctes.

4.4- La double symbiose nodule-ECM

Le Tacon *et al.* (1989) signalent que l'ectomycorhization des *Acacia* ne semble pas antagoniste de la nodulation. Nos observations le confirment. En effet, nous avons mis en évidence ces doubles symbioses pour tous les *Acacia* où nous avons observés des ECM. Dans un cas, *Acacia pellita*, nous avons même trouvé un nodule et une ECM sur une même racine. Nous avons aussi observé du mycélium de *Pisolithus sp.* à la surface de nodules d'*Acacia auriculiformis*, sans pour autant mettre en évidence la présence d'hyphes mycéliens dans le nodule.

Pour les *Acacia* australiens à phyllodes, les champignons ectomycorhiziens semblent pouvoir jouer un rôle important dans les symbioses tripartites *Acacia*-bactérie fixatrice d'azote-champignon mycorhizien.

Planche 16 :

Coupes transversales dans des racines de trois espèces d'*Acacia* ectomycorhizés par la souche ORS.7870 cultivée selon la méthode décrite par Molina (1979) :

fig 1 : *Acacia auriculiformis*.

fig 2, 3 et 4 : *Acacia trachycarpa*.

fig 5 et 6 : *Acacia pellita*.

(La barre représente 20 μm).

M : Manteau fongique ; C : cellule corticale ; H : réseau de Hartig ; E : cellule épidermique

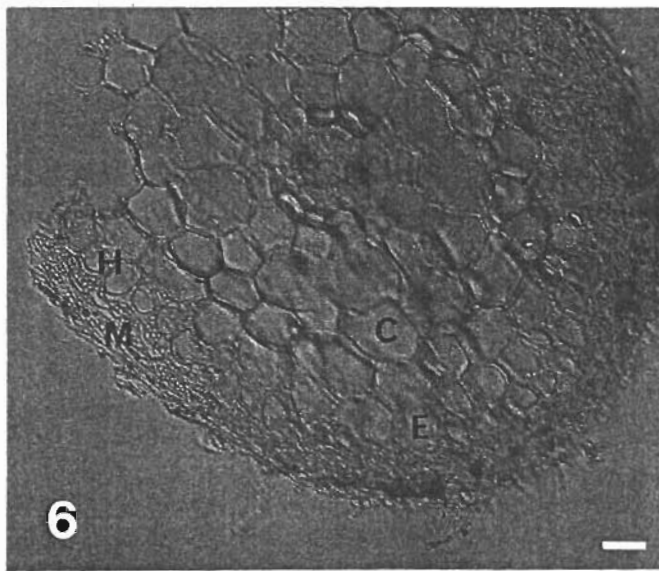
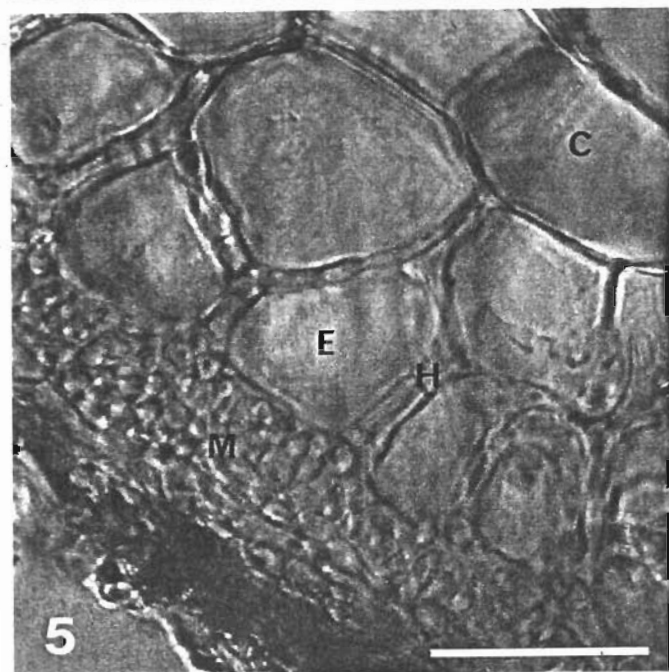
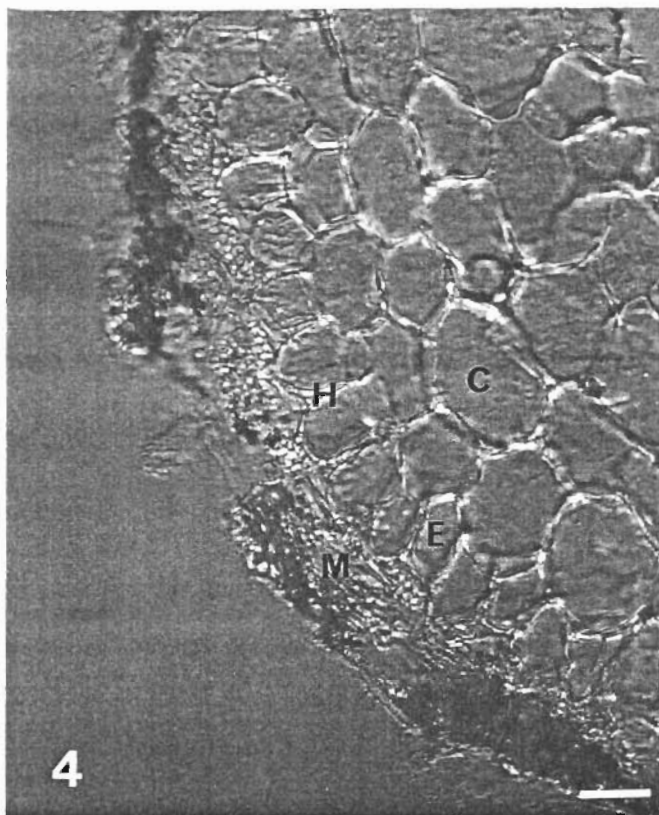
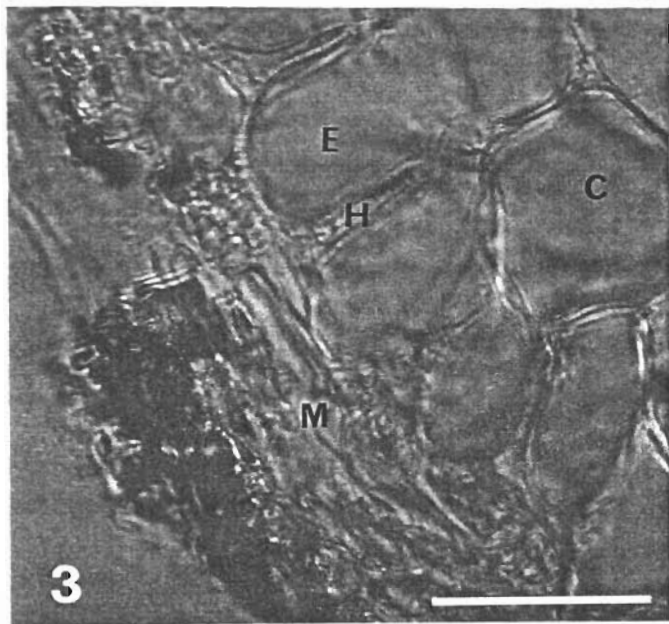
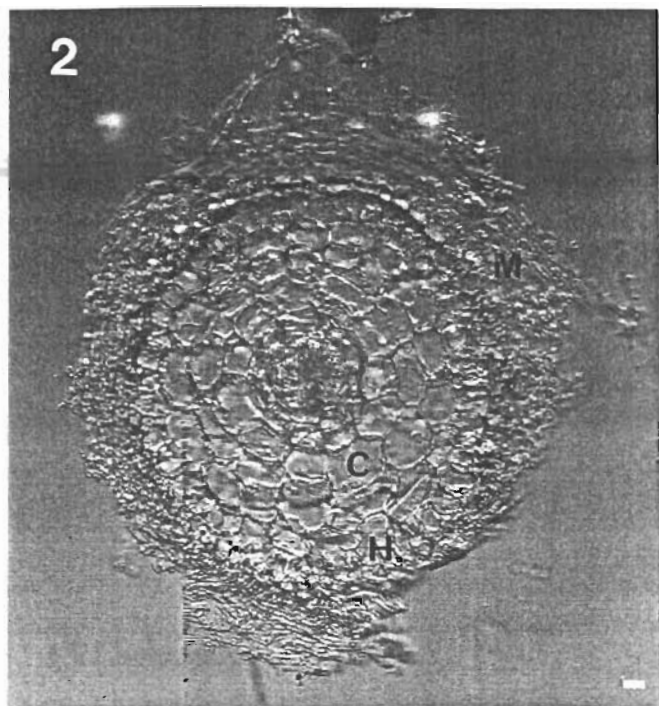
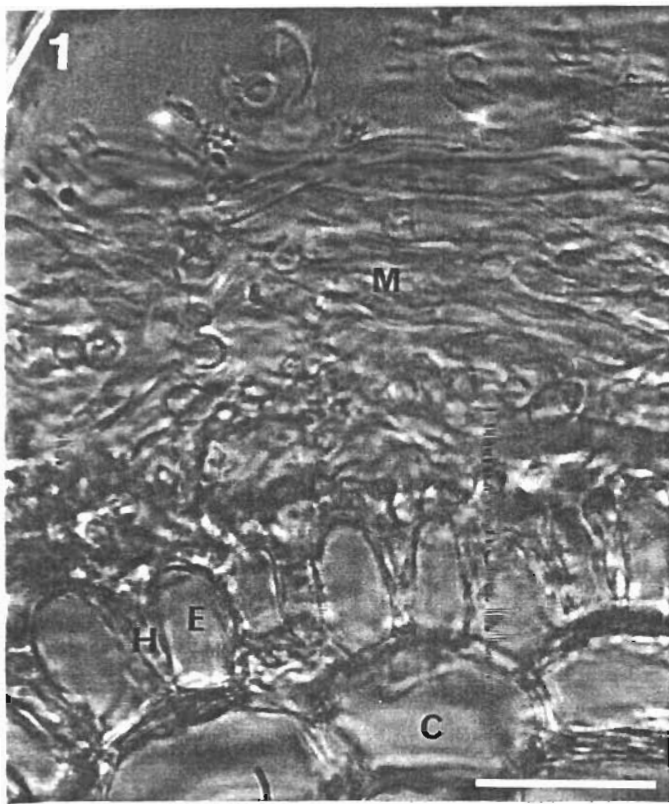


Planche 17 :

ECM obtenues avec différentes souches de *Pisolithus* ssp. et la souche ORS.7731 de *Scleroderma dictyosporum* sur *Acacia holosericea* :

fig 1 et 2 : ECM de *Pisolithus* sp. ORS.X004*.

fig 3 : ECM de *Pisolithus tinctorius* M*.

fig 4 : ECM de *Scleroderma dictyosporum* ORS.7731*.

fig 5 : ECM de *Pisolithus tinctorius* M**.

fig 6 : ECM de *Pisolithus tinctorius* F11**.

fig 7 et 8 : ECM de *Pisolithus tinctorius* PR94**.

(La barre représente 1 mm).

* : inoculum produit selon la technique décrite par Chilvers *et al.* (1986).

** : inoculum produit selon la technique décrite par Molina (1979).

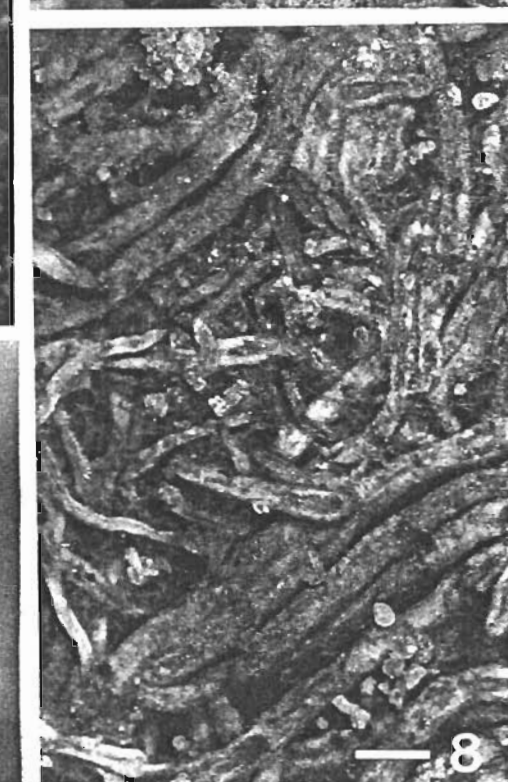
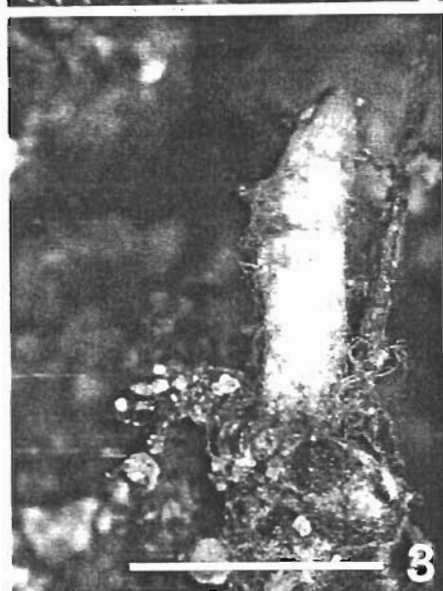
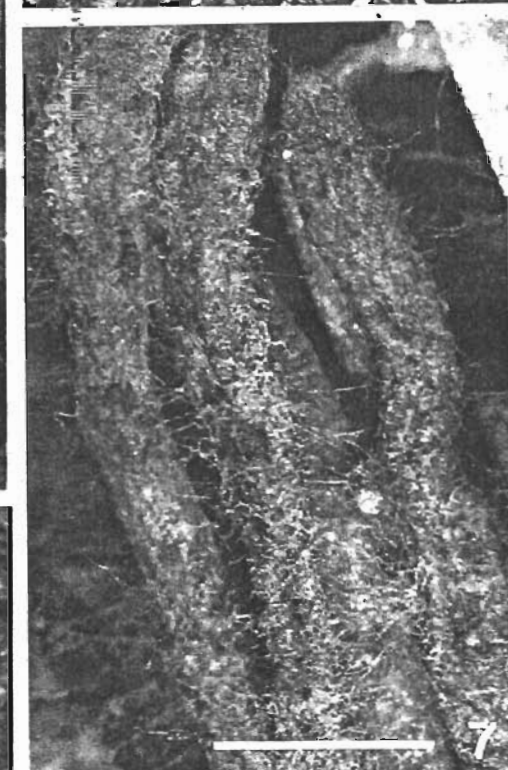
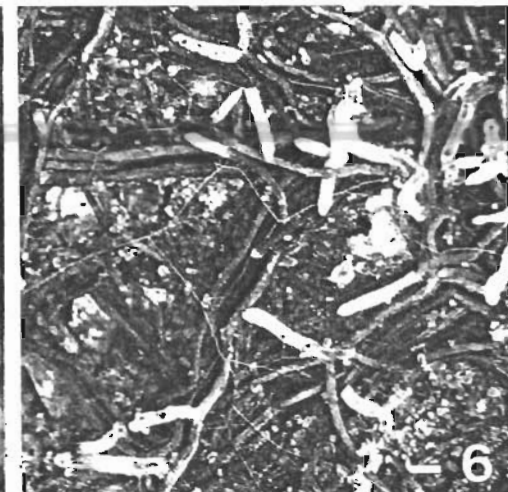


Planche 18 :

Observation de la double symbiose nodule-ECM sur quelques espèces d'*Acacia* :

fig 1 : rhizomorphes, ECM de *Pisolithus* sp. ORS.7870 et nodules sur *Acacia chisholmii*.

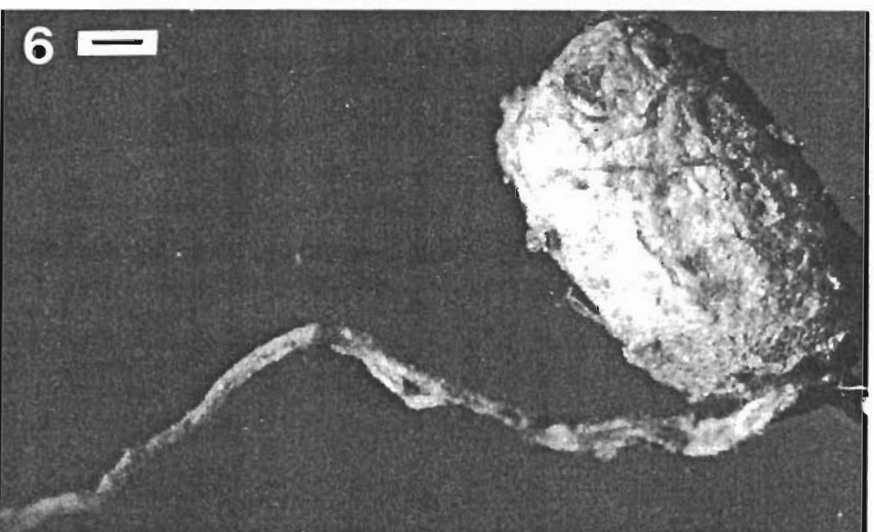
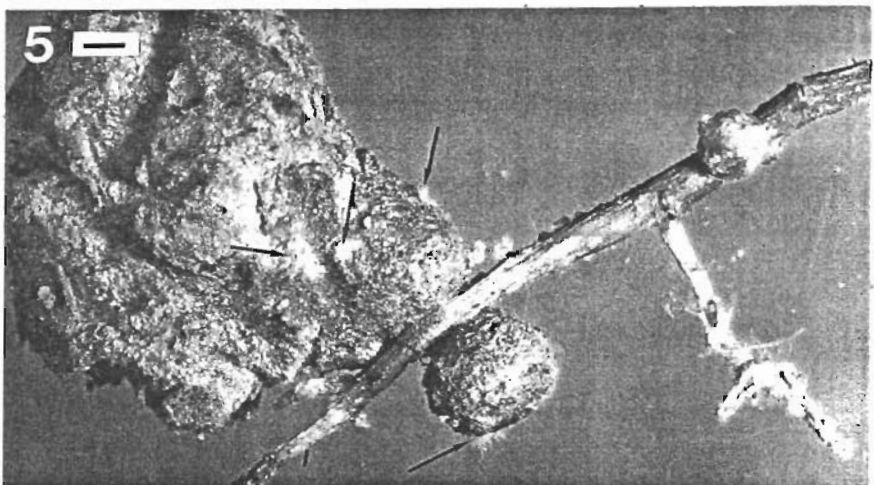
fig 2 : ECM de *Pisolithus* sp. ORS.7870 et nodules sur *Acacia holosericea*.

fig 3 et 4 : ECM de *Pisolithus* sp. ORS.7870 et nodules sur *Acacia mangium*.

fig 5 : ECM de *Pisolithus* sp. et nodules sur *Acacia auriculiformis*.
Remarquer la présence de mycélium de *Pisolithus* sp. en plusieurs points de la surface du nodule.

fig 6 : ECM de *Pisolithus* sp. et nodule sur la même racine d'*Acacia pellita*.

(La barre représente 1 mm).



QUATRIEME PARTIE

**INFLUENCE DE L'AZOTE ET
DU PHOSPHORE SUR L'ETABLISSEMENT ET
LE FONCTIONNEMENT DE LA SYMBIOSE
QUADRIPARTITE *ACACIA HOLOSERICEA*-
BRADYRHIZOBIUM SP.-GLOMUS
*MOSSEAE-PISOLITHUS SP.***

1. INTRODUCTION

De très nombreux travaux ont mis en évidence, sur les légumineuses les effets bénéfiques de la double inoculation *Rhizobium s.l.*-champignons endomycorhiziens. Les légumineuses fixatrices d'azote constituent typiquement des symbioses tripartites composées de la plante, d'un *Rhizobium s.l.* et d'un champignon endomycorhizien (Rose et Youngberg, 1981 ; Roskoski *et al.*, 1986). Malgré le peu de données dont nous disposons, la plupart des arbres de la famille des légumineuses examinés ont la double capacité de former des nodules et des MVA (Redhead, 1968 ; Possingham *et al.*, 1971 ; Janos, 1983). D'ailleurs, nos observations présentées dans la première et la troisième parties de ce mémoire, le confirment. Nos travaux ont également mis en évidence la capacité de certains *Acacia* à phyllodes originaires d'Australie à former des symbioses quadripartites composées de la plante, un *Rhizobium s.l.*, un champignon endomycorhizien et un champignon ectomycorhizien. C'est un modèle de ce type, constitué d'*Acacia holosericea*-*Bradyrhizobium sp.*-*Glomus mosseae*-*Pisolithus sp.*, que nous avons choisi d'étudier.

Les effets de la double symbiose *Rhizobium s.l.*-champignon endomycorhizien ont été étudiés sur certaines espèces d'*Acacia*. Johnson et Michelini (1974), ont illustré les gains de croissance obtenus par l'inoculation d'*Acacia farnesiana* avec *Gigaspora calospora*. De même, Cornet et Diem (1982), ont précisé sur *Acacia holosericea* et *A. raddiana* les effets très bénéfiques de la double inoculation *Rhizobium s.l.*-*Glomus mosseae* sur la croissance, la nodulation et les teneurs en azote et en phosphore des parties aériennes des plants cultivés sur un sol sableux très pauvre en azote et en phosphore. Sur *Acacia auriculiformis*, Kun-Piao *et al.* (1986) ont souligné les effets bénéfiques de la double inoculation pour l'ensemble des paramètres étudiés. Les augmentations observées sont très significatives pour le nombre et le poids sec des nodules par plant et l'assimilation d'azote par les plants. Des essais de double inoculation avec 4 souches d'*Endogonaceae* (Dela-Cruz *et al.*, 1988), *Glomus fasciculatus*, *Gigaspora margarita*, *Scutellospora persica* et *Sclerocystis clavispora* ont provoqué sur *Acacia auriculiformis* et *A. mangium* d'importantes augmentations de croissance. Seul *Sclerocystis clavispora* n'a pas eu d'effet sur la croissance par rapport au témoin non inoculé ou inoculé par *Rhizobium* seul. Cette dernière inoculation n'a pas eu, non plus, d'effet significatif sur la croissance par rapport au témoin non inoculé. Badji *et al.* (1989) ont également mis en évidence les effets bénéfiques de la double symbiose *Rhizobium sp.*-*Glomus mosseae* sur la croissance et la fixation d'azote par *Acacia laeta*. Des résultats similaires ont aussi été obtenus avec *Acacia senegal* (Colonna *et al.*, 1990).

Des essais, réalisés au champ, avec *Acacia holosericea* et *A. raddiana* (Cornet et Diem, 1982) et avec *Acacia pennatula* (Roskoski *et al.*, 1986) ont démontré l'importance de la double inoculation *Rhizobium s.l.*-champignon endomycorhizien sur le maintien après transplantation des effets observés en pépinière.

Comme nous l'avons vu dans les chapitres précédents de ce mémoire, nos connaissances concernant les ECM des *Acacia* sont très réduites. Et en ce qui concerne l'importance des ECM sur la croissance des *Acacia*, nous ne disposons actuellement d'aucune donnée (Reddell et Warren, 1986). Par contre, les effets bénéfiques des ECM sont bien connus sur des espèces des régions tempérées, mais aussi sur quelques espèces tropicales, comme par exemple les pins (e.g. Marx *et al.*, 1976 ; Delwaulle *et al.*, 1982), ou *Azalia africana* (Ba, 1990). Et on peut penser que les ECM, comme les VAM, pourront améliorer, sous certaines conditions, la croissance des *Acacia*.

- **La fertilisation**, avec cinq modalités : azote 20 ppm, azote 100 ppm, phosphore 10 ppm, phosphore 50 ppm et témoin non fertilisé
- **L'inoculation par *Bradyrhizobium sp.***, avec deux modalités : inoculé par la souche RHSK1 et témoin non inoculé
- **L'inoculation par *Glomus mosseae***, avec deux modalités : inoculé par *Glomus mosseae* et témoin non inoculé
- **L'inoculation par *Pisolithus sp.***, avec trois modalités : inoculé par la souche ORS.7870, inoculé avec la souche ORS.8023 et témoin non inoculé.

Pour chaque traitement, nous avons réalisé quatre répétitions disposées en randomisation totale. Les 5X2X2X3X4 = 240 parcelles élémentaires ainsi définies sont composées chacune de trois plants, soit un total de 720 plants. Les variables étudiées résultent donc, soit de la moyenne des valeurs mesurées sur les trois plants, soit d'une valeur mesurée globalement sur les trois plants.

2.7- Les variables mesurées

Au cours de l'expérience, nous avons mesuré l'évolution de la hauteur des plants à intervalles de quatre semaines, pendant 20 semaines. Nous avons ainsi obtenu les 5 variables suivantes : H04, H08, H12, H16 et H20 qui représentent respectivement la hauteur (en centimètres) des plants âgés de 4, 8, 12, 16 et 20 semaines.

Après 20 semaines de culture, l'expérience a été exploitée et nous avons mesuré le poids de matière sèche des parties aériennes PSPAE (en grammes), le poids de matière sèche des racines sans les nodules, PSRAC (en grammes) et le poids de matière sèche des nodules par plant, PSNOD (en milligrammes). Nous avons également dénombré les nodules de chaque plant, NBNOD (en nombre de nodules par plant) et les plants ectomycorhizés, nECM (en fréquence d'ectomycorhization pour 12 plants). Les plants ont été considérés ectomycorhizés lorsque des ECM sont bien visibles au moins dans la zone d'application de l'inoculum. Nous avons quantifié l'endomycorhization, %MVA (en pourcentage de longueur de racines infectées par les MVA) par la technique décrite par Giovannetti et Mosse (1981). Les teneurs relatives en azote, %AZOT (en pour cent) et en phosphore, %PHOS (en pour cent) des parties aériennes ont été déterminées respectivement par la méthode du Kjeldhal et par spectrophotométrie.

Les variables : H04, H08, H12, H16, H20, PSPAE, PSRAC, PSNOD, NBNOD et nECM ont été mesurées sur chaque plant. Les variables : %MVA, %AZOT et %PHOS résultent d'une valeur globale observée sur trois plants.

2.8- Les variables calculées

Le rapport des poids de matière sèche des parties aériennes sur les parties racinaires, variable SRR, a été calculé :

$$SRR = PSPAE.PSRAC^{-1}$$

Les contenus totaux en azote NTOT (en centigrammes par plant) et en phosphore, PTOT (en centigrammes par plant) des parties aériennes ont été calculés de la façon suivante :

$$\text{NTOT} = \% \text{AZOT} \cdot \text{PSPAE}$$

$$\text{PTOT} = \% \text{PHOS} \cdot \text{PSPAE}$$

Le taux de nodulation, variable INOD (en nombre de nodules par gramme de PSRAC), a été calculé en rapportant le nombre de nodules par plant au poids de matière sèche de la partie racinaire :

$$\text{INOD} = \text{NBNOD} \cdot \text{PSRAC}^{-1}$$

L'efficience des systèmes racinaires pour l'azote, ESRN (en NTOT par PSRAC+PSNOD), et pour le phosphore ESRP (en PTOT par PSRAC) ont été calculés en rapportant le contenu total en azote des parties aériennes au poids de matière sèche des racines avec les nodules et en rapportant le contenu total en phosphore des parties aériennes au poids de matière sèche des racines sans les nodules :

$$\text{ESRN} = \text{NTOT} \cdot (\text{PSRAC} + \text{PSNOD})^{-1}$$

$$\text{ESRP} = \text{PTOT} \cdot \text{PSRAC}^{-1}$$

Pour l'élaboration de la variable ESRN, nous avons tenu compte du poids de matière sèche des racines avec les nodules car ces derniers, par la fixation d'azote, jouent un rôle très important pour la nutrition azotée de la plante. Dans le cas de la variable ESRP, nous n'avons pas pris en compte le poids de matière sèche des nodules car ces derniers n'ont pas un rôle conséquent dans l'assimilation du phosphore.

En ce qui concerne l'azote, nous n'avons pas cherché à calculer la quantité d'azote fixée pour deux raisons : d'abord, la plupart des plants non inoculés par *Bradyrhizobium* sp. étaient nodulés, donc potentiellement fixateurs d'azote. D'autre part, Sougoufara *et al.* (1990) ont très clairement démontré, en utilisant plusieurs méthodes d'estimation de la fixation d'azote, que des plants de *Casuarina equisetifolia* inoculés fixateurs d'azote, assimilent mieux l'azote que les plants témoins. Dans notre cas, il était impossible d'obtenir une valeur approchée de la fixation d'azote. Nous nous sommes donc limités à une estimation globale de l'efficience de la partie racinaire pour cet élément.

2.9- Les analyses statistiques

Deux types d'analyses ont été réalisées sur micro-ordinateur avec le logiciel STATITCF ; des analyses en composantes principales ou ACP et des analyses de variances ou ANOVA. Dans ce dernier cas, des transformations de données ont pu être opérées pour des nécessités d'analyse. Par exemple, les variables exprimées en pourcentage ont été transformées en ARCSIN de $\sqrt{X}$, de sorte à obtenir une distribution normale des valeurs. Cependant, tous les résultats ont été exprimés en valeur réelle

2.9.1- Les ACP

Ce type d'analyse va nous permettre de présenter sous une forme graphique essentiellement descriptive un maximum d'informations. Les calculs ont été réalisés sur les facteurs et

les variables suivants : inoculation par *Bradyrhizobium sp.*, inoculation par *Glomus mosseae*, inoculation par *Pisolithus sp.*, H04, H08, H12, H16, H20, PSPAE, PSRAC, PSNOD, %AZOT, %PHOS, SRR, NTOT, PTOT et sur les répétitions. Le facteur fertilisation du sol a été considéré comme une variable supplémentaire. De ce fait, nous avons obtenu 5 graphiques, un pour chaque modalité de fertilisation, où sont répartis les 48 parcelles élémentaires des 5 traitements de fertilisation. La position dans le plan de chacune des parcelles élémentaires est définie par ses coordonnées sur la première composante principale (axe horizontal) qui exprime environ 80% de la variabilité observée sur l'expérience et sur la seconde composante principale (axe vertical) qui exprime environ 15% de la variabilité observée sur l'expérience. Pour chaque graphique, les deux composantes principales sont des variables non corrélées, calculées à partir des 17 variables, toutes plus ou moins corrélées entre elles. Sur chaque axe, nous avons reporté les variables ou groupes de variables qui sont déterminants dans leur élaboration. Nous avons ensuite entouré les ensembles de points qui s'individualisent parfaitement ou, si cela n'était pas évident, les ensembles de points qui se rapportent à la même inoculation. Nous avons ainsi obtenu des nuages de points plus ou moins distincts, répartis selon les deux axes définis par les composantes principales. Ces graphiques vont nous permettre d'appréhender les facteurs et les variables déterminants qui permettront d'interpréter nos résultats le plus clairement possible.

2.9.2- Les ANOVA

Les ANOVA, réalisées sur une expérience faisant intervenir 5 facteurs contrôlés, donnent une masse de résultats considérable difficilement utilisable directement. En effet, la présentation des résultats des interactions entre les fertilisations et chaque micro-organisme représente un tableau de 60 lignes sur 19 colonnes, soit 1140 moyennes. En conséquence, nous avons choisi de ne pas les donner ici de façon exhaustive. Nous avons cherché à tirer le plus clairement possible un maximum d'informations pertinentes.

Nous présentons donc l'ensemble des traitements ayant eu des effets significatifs au seuil de 5%. Les traitements sans effet significatif (NS) ou les traitements dont la puissance a posteriori était inférieure à 80% (PI), n'ont pas été traités.

2.9.2.1- Estimation de l'infection

Afin d'estimer l'état d'infection des plants par les différents partenaires symbiotiques, nous avons réalisé des ANOVA sur les variables : INOD, %MVA, nECM.

2.9.2.2- Efficience des systèmes racinaires

Des ANOVA sur les variables ESRN et ESRP ont été réalisées afin de déterminer les variations d'efficience des systèmes racinaires pour ces éléments en fonction des différentes modalités d'inoculation.

2.9.2.3- La réaction de la plante

Les ACP ont montré que la croissance (hauteur des plants et poids de matière sèche des parties aériennes) traduisait le mieux les variations de comportement des plants aux différentes inoculations. La variable PSPAE reflète parfaitement la croissance des plants ; nous nous sommes donc limités aux ANOVA sur cette variable afin de déterminer les effets des différents traitements sur la croissance des plants.

3- RESULTATS

3.1- Analyse descriptive de l'ensemble des résultats [Figure 7]

3.1.1- Remarques concernant l'élaboration des composantes principales

En ce qui concerne les CP, on remarque, pour le témoin fertilisation et les deux niveaux de fertilisation en phosphore, que le facteur inoculation par *Bradyrhizobium sp.* et les paramètres de croissance, hauteur des plants, PSPAE, PSRAC et la teneur en azote total des parties aériennes, NTOT, sont déterminants pour l'élaboration de l'axe 1. L'inoculation par *Bradyrhizobium sp.* est liée à une augmentation de la croissance et de la teneur totale en azote. Sur l'axe 2, le facteur inoculation par *Glomus mosseae* et la teneur en phosphore des parties aériennes, %PHOS et PTOT sont déterminants. L'inoculation par *Glomus mosseae* provoque une augmentation des teneurs en phosphore des parties aériennes de la plante. Cette augmentation est indépendante de la croissance.

Avec l'apport de 20 ppm d'azote, on remarque que le facteur inoculation par *Glomus mosseae* et les paramètres de croissance ainsi que la teneur en azote, NTOT et en phosphore, %PHOS et PTOT sont, dans ce cas, déterminants pour l'élaboration de la première CP. Le facteur inoculation par *Bradyrhizobium sp.* ainsi que les teneurs relatives en phosphore, %PHOS sont déterminants pour l'élaboration de l'axe 2. Pour l'apport de 100 ppm d'azote on utilise les mêmes variables pour l'élaboration de la première CP que pour l'apport de 20 ppm d'azote. En ce qui concerne l'axe 2, celui-ci est déterminé par la croissance des plants. L'essentiel de la variabilité est exprimé par la première CP.

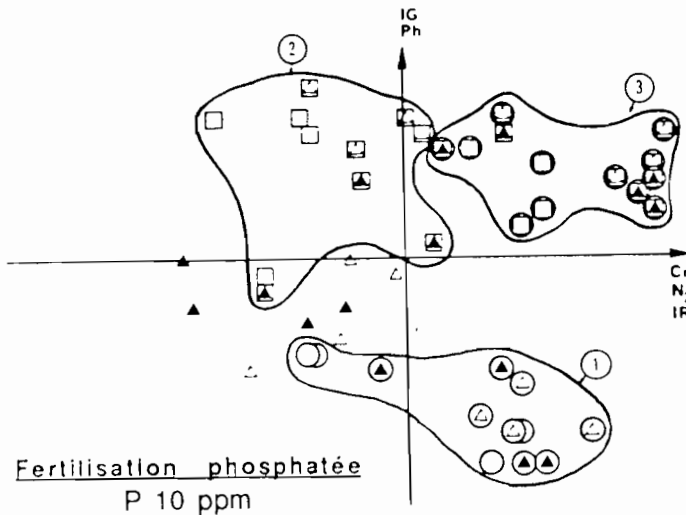
Il est important de remarquer qu'en présence d'azote, le facteur inoculation par *Bradyrhizobium sp.* ne représente plus une part prépondérante de la variabilité observée sur l'expérience. En présence de 100 ppm d'azote, ce facteur intervient de façon négligeable pour l'élaboration de la seconde CP.

Donc, pour le témoin fertilisation et les deux niveaux de fertilisation en phosphore, c'est l'inoculation par *Bradyrhizobium sp.*, la croissance et la teneur en azote des parties aériennes qui composent l'axe 1 et expriment une très grande part de la variabilité observée sur l'expérience. L'inoculation par *Glomus mosseae* et la teneur en phosphore des parties aériennes qui composent l'axe 2 expriment une beaucoup plus faible part de la variabilité observée sur l'expérience. En présence d'azote, l'inoculation par *Bradyrhizobium sp.* n'est plus déterminante dans l'élaboration de l'axe 1. Ce facteur contribue seulement à l'élaboration de la seconde CP, pour un apport de 20 ppm d'azote. Par contre, l'inoculation par *Glomus mosseae* devient le facteur déterminant de la première CP, avec la croissance et les teneurs en azote et en phosphore des parties aériennes.

En ce qui concerne les teneurs en azote et en phosphore, sur l'ensemble de l'expérience, on peut remarquer que : le NTOT est bien corrélé à la croissance des plants ; par contre, le %AZOT ne prend jamais part de façon déterminante à l'élaboration des axes. Le cas du phosphore est différent. Les variables %PHOS et PTOT sont toujours liées à l'inoculation par *Glomus mosseae* et ont une part importante dans l'élaboration des CP.

Cela signifie que le %AZOT est une caractéristique peu variable de la plante tandis que le %PHOS varie de façon beaucoup plus importante.

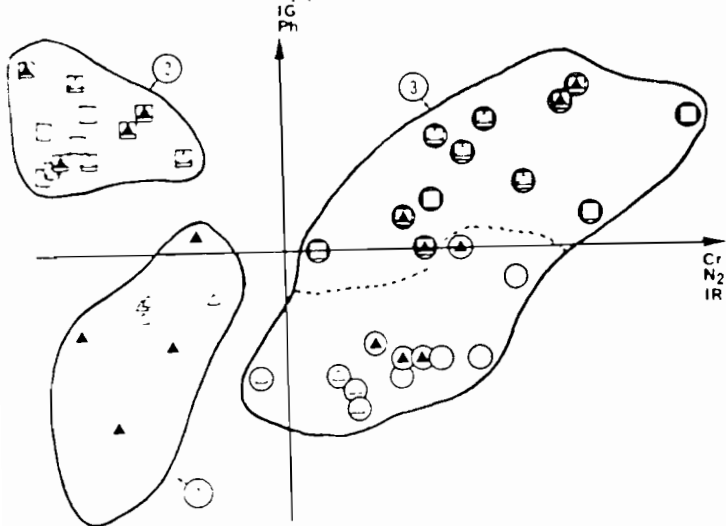
Témoin non fertilisé



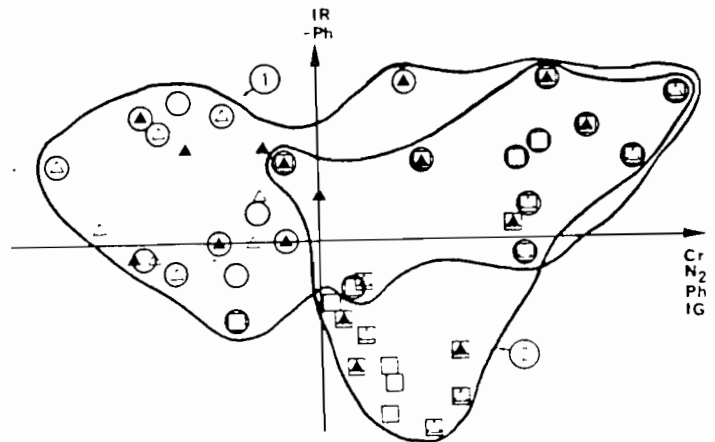
Légende :

- inoculé par *Bradyrhizobium* sp. (RHSK1)
- inoculé par *Glomus mosseae*
- ▲ inoculé par *Pisolithus* sp. (ORS.7870)
- △ inoculé par *Pisolithus* sp. (ORS.8023)
- IR : Facteur inoculation par *Bradyrhizobium* sp.
- IG : Facteur inoculation par *Glomus mosseae*
- Cr : Croissance (hauteur, PSPAE, PSRAC)
- N₂ : Teneur en azote total (NTOT)
- Ph : Teneurs en phosphore (%PHOS, PTOT)
- (Axe 1 horizontal, axe 2 vertical)

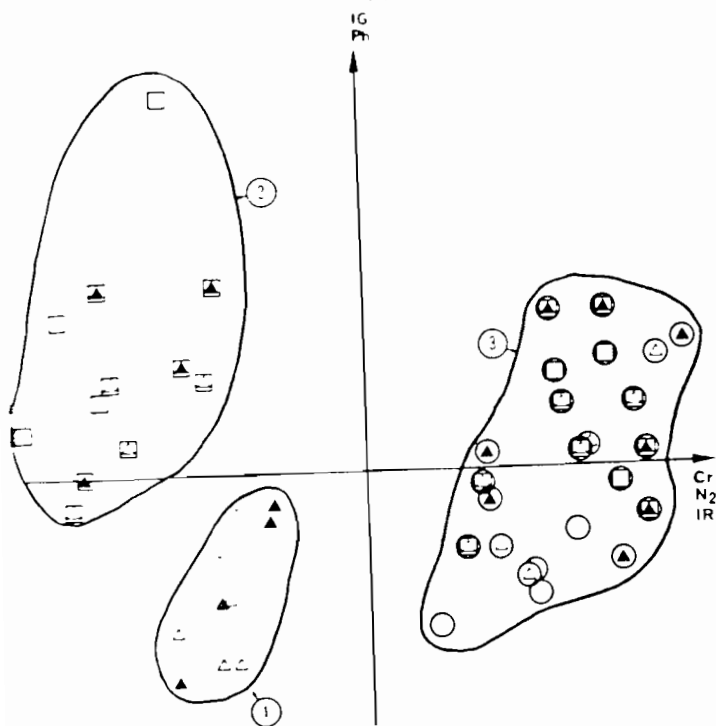
Fertilisation phosphatée
P 10 ppm



Fertilisation azotée
N 20 ppm



Fertilisation phosphatée
P 50 ppm



Fertilisation azotée
N 100 ppm

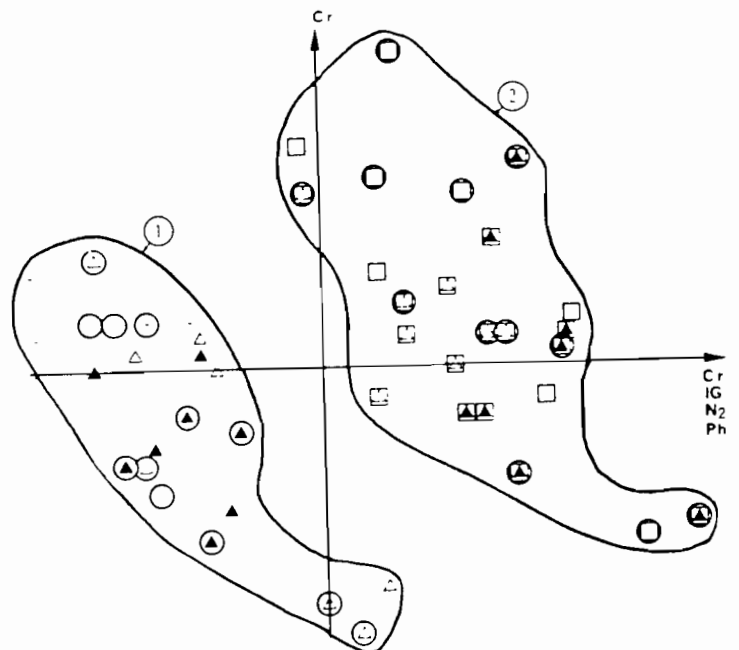


Figure 7 : Résultats graphiques des ACP

Enfin, il est important de remarquer que l'inoculation par *Pisolithus* sp. n'a jamais été déterminante dans l'élaboration des CP. Cela signifie que l'inoculation par ce micro-organisme n'est pas une cause importante de variation des variables analysées.

3.1.2- Identification des nuages de points et de leur position dans les plans

Sur le graphique TF, où sont représentées les parcelles élémentaires des plants qui n'ont pas reçu de fertilisation, trois nuages de points ont pu être identifiés. Le premier nuage est constitué des plants inoculés par *Bradyrhizobium* sp. et des plants inoculés par *Bradyrhizobium* sp. et *Pisolithus* sp. Les individus ainsi regroupés ont une croissance assez bonne et des teneurs en azote élevées ; par contre, les teneurs en phosphore sont relativement faibles. Le deuxième nuage est constitué des plants inoculés par *Glomus mosseae* et des plants inoculés par *Glomus mosseae* et *Pisolithus* sp.. Les individus ainsi regroupés ont une croissance et des teneurs en azote relativement médiocres et, par contre, des teneurs en phosphore relativement élevées. Le troisième nuage de points qui a été individualisé regroupe les individus inoculés par *Bradyrhizobium* sp. et *Glomus mosseae* et les individus inoculés par *Bradyrhizobium* sp., *Glomus mosseae* et *Pisolithus* sp.. Les individus qui forment ce nuage de points ont une très bonne croissance et des teneurs en azote et en phosphore élevées. Les points représentatifs des plants inoculés par *Pisolithus* sp. ou non inoculés s'étendent entre le premier et le deuxième nuages de points définis. Leur croissance et leur teneur en azote sont les plus faibles. Par contre, leur teneur en phosphore est intermédiaire entre les plants inoculés par *Bradyrhizobium* sp. et les plants inoculés par *Glomus mosseae*.

Dans le cas d'un apport de 10 ppm de phosphore, nous avons pu identifier trois nuages de points. Le premier, regroupe les plants non inoculés et inoculés par *Pisolithus* sp. Ce nuage se situe sur l'axe 1 vers les croissances et les teneurs en azote les plus faibles et sur l'axe 2, vers les teneurs en phosphore les plus faibles. Le deuxième nuage de points regroupe les plants inoculés par *Glomus mosseae* et inoculés par *Glomus mosseae* et *Pisolithus* sp.. Il se situe vers des croissances et des teneurs en azote qui paraissent encore plus faibles que celles observées pour le premier nuage. Par contre, sur l'axe 2, cet ensemble de points se place vers les teneurs en phosphore les plus élevées. Le troisième nuage de points regroupe l'ensemble de plants inoculés au moins par *Bradyrhizobium* sp.. Au sein de ce nuage, on peut identifier deux zones. Une première regroupe les plants inoculés par *Bradyrhizobium* sp. et par *Bradyrhizobium* sp. et *Pisolithus* sp., et une seconde, les plants inoculés par *Bradyrhizobium* sp. et *Glomus mosseae* et par *Bradyrhizobium* sp., *Glomus mosseae* et *Pisolithus* sp.. La première zone se situe sur l'axe 1 vers les croissances et les teneurs en azotes élevées. Par contre, sur l'axe 2, cette zone s'identifie par des teneurs en phosphore moins élevées que pour les plants inoculés par *Bradyrhizobium* sp. et *Glomus mosseae* et *Bradyrhizobium* sp. *Glomus mosseae* et *Pisolithus* sp., regroupés dans la seconde zone de ce troisième nuage de points. Cette seconde zone se situe sur l'axe 2 vers des teneurs en phosphore élevées et sur l'axe 1 vers des croissances et des teneurs en azote légèrement plus élevées que la première zone, ce qui a pour effet d'incliner ce nuage de points sur l'axe 1.

L'apport de 50 ppm nous permet d'identifier trois nuages de points. Ces nuages, par leurs positions relatives sur les axes et leur composition, présentent de nombreuses similitudes avec ce que nous avons observé pour l'apport de 10 ppm de phosphore. Cependant, la position sur les axes permet de mieux visualiser les plus faibles croissances et les plus faibles teneurs en azote des points du deuxième nuage, par rapport au premier. Par contre, dans le troisième nuage de points, les différences observées entre les deux zones tendent à s'estomper. On peut également remarquer que ce dernier est beaucoup moins incliné sur l'axe 1 que dans le cas d'un apport de 10 ppm de phosphore.

Avec un apport de 20 ppm d'azote, il est difficile de regrouper les différents points en nuages bien individualisés. Un premier ensemble regroupe les plants inoculés au moins par *Bradyrhizobium* sp. et le second, les plants inoculés au moins par *Glomus mosseae*. Dans l'intersection, on retrouve les plants inoculés au moins par *Bradyrhizobium* sp. et *Glomus mosseae*. La partie du premier nuage de points qui comprend les plants inoculés au moins par *Bradyrhizobium* sp. et exclut les plants inoculés par *Bradyrhizobium* sp. et *Glomus mosseae*, englobe également les plants non inoculés ou inoculés par *Pisolithus* sp.. Cette zone s'étend vers les croissances, les teneurs en azote et en phosphore les plus faibles. La partie du second nuage de points qui comprend les plants inoculés au moins par *Glomus mosseae* et exclut les plants inoculés par *Bradyrhizobium* sp. et *Glomus mosseae*, se situe vers des croissances et des teneurs en azote moyennes et de fortes teneurs en phosphore. L'intersection des deux nuages, constituée par les plants inoculés au moins par *Bradyrhizobium* sp. et *Glomus mosseae*, s'étend vers les croissances et les teneurs en azote les plus fortes ; par contre, les teneurs en phosphore sont moyennes.

Pour l'apport de 100 ppm d'azote, nous avons identifié deux nuages de points. Un premier, vers les croissances et les teneurs en azote et en phosphore les plus faibles, est constitué des plants qui ne sont pas inoculés par *Glomus mosseae*. Le second nuage de points se situe vers les croissances et les teneurs en azote et en phosphore les plus élevées ; il est constitué des plants inoculés au moins avec *Glomus mosseae*. Pour ce niveau de fertilisation en azote, l'inoculation par *Bradyrhizobium* sp. ne permet pas de distinguer un groupe de points.

Nous pouvons remarquer que, sur les 5 graphiques, l'inoculation par *Pisolithus* sp. ne nous a pas permis d'identifier un nuage de points.

3.1.3- Conclusions de nos observations sur les ACP

Les ACP nous ont permis de synthétiser sous une forme graphique descriptive une masse considérable d'informations. Ainsi nous avons pu remarquer, que les plants réagissent de façon très différente aux fertilisations en azote et en phosphore et aux inoculations par *Bradyrhizobium* sp. et par *Glomus mosseae*. L'inoculation par *Pisolithus* sp. ne semble pas une source importante de variation. En ce qui concerne les variables analysées, les teneurs en azote et en phosphore sont de bons indicateurs des variations observées, de même que la croissance de plants

Après avoir vérifié ces observations en réalisant les ANOVA complètes sur toutes les variables, nous avons structuré les résultats en trois parties. Dans la première partie, nous présentons l'étude des facteurs qui ont modifié significativement l'installation des symbioses. Dans la deuxième et la troisième partie, nous présentons de la même façon les résultats qui ont eu des effets significatifs respectivement sur les modifications d'efficacité des systèmes racinaires pour l'azote et le phosphore et sur les modifications de la croissance des plants. Par ailleurs, les ANOVA réalisées sur les autres variables relatives à la croissance ont confirmé ces observations.

Les constatations que nous avons pu faire grâce aux ACP nous ont permis de réaliser des simplifications avant de poursuivre l'analyse de nos résultats.

3.2- Estimation de l'infection par les différents partenaires symbiotiques

3.2.1- Le taux de nodulation : INOD

Les contaminations par des bactéries nodulant *Acacia holosericea* ont été relativement fréquentes ; cependant, l'inoculation par la souche de *Bradyrhizobium* sp. RSK1 a,

dans tous les cas, augmenté très significativement le taux de nodulation qui passe de 8,4 sur les plants témoins à 72,2 sur les plants inoculés, soit en moyenne une multiplication par un facteur 8,6.

Comme nous pouvons l'observer sur le tableau 23, les apports d'azote aux doses de 20 et 100 ppm réduisent INOD respectivement de 25 et de 50% par rapport aux témoins. Par contre, les apports de phosphore, aux doses de 10 et de 50 ppm, augmentent INOD respectivement de 39 et de 97%.

Tableau 23 : Variations du taux de nodulation (INOD) des plants inoculés par *Bradyrhizobium sp.* en fonction des fertilisations en azote et en phosphore (ΔTF % : différence en pour cent par rapport au témoin non fertilisé).

Témoin Fertilisation			Apport N 20 ppm			Apport N 100 ppm		
INOD			INOD			INOD		
64,4			48,5			32		
			ΔTF %			ΔTF %		
			-25			-50		

Apport P 10 ppm		
INOD		
89,5		
ΔTF %		
39		

Apport P 50 ppm		
INOD		
126,8		
ΔTF %		
97		

L'inoculation par *Glomus mosseae* (tableau 24) augmente INOD de 98% pour les plants qui n'ont pas reçu de fertilisation. En terme d'équivalent en apport de phosphore, le gain sur la nodulation produit par l'inoculation par *Glomus mosseae*, revient à une fertilisation phosphatée de 10 ppm sur des plants non inoculés. L'inoculation par *Glomus mosseae*, avec des apports d'azote aux doses de 20 et de 100 ppm, augmente INOD respectivement de 230 et de 714%. Par contre, cette même inoculation, avec des apports de phosphore aux doses de 10 et de 50 ppm réduit INOD respectivement de 20 et de 34%.

Tableau 24 : Variations du taux de nodulation (INOD) des plants inoculés par *Bradyrhizobium sp.* en fonction de l'inoculation par *Glomus mosseae* et des fertilisations en azote et en phosphore (Δt % : différence en pour cent par rapport au témoin non inoculé par *Glomus mosseae*).

Témoin Fertilisation				Apport N 20 ppm				Apport N 100 ppm			
Traitement				Traitement				Traitement			
INOD				INOD				INOD			
Δt %				Δt %				Δt %			
Témoin				Témoin				Témoin			
43,3				22,6				7			
G. mosseae				G. mosseae				G. mosseae			
85,5				74,4				57			
98				230				714			

Apport P 10 ppm			
Traitement			
INOD			
Δt %			
Témoin			
99,42			
G. mosseae			
79,6			
-20			

Apport P 50 ppm		
Traitement	INOD	Δt %
Témoin	152,6	-
<i>G. mosseae</i>	100,92	-34

Les inoculations par les souches de *Pisolithus* sp. ORS.7870 et ORS.8023 (tableau 25), avec un apport de 10 ppm de phosphore, ont provoqué respectivement une baisse de INOD de 18 et de 21% par rapport aux témoins. Dans tous les autres cas, l'inoculation par *Pisolithus* sp. n'a pas eu d'effet significatif sur la variable INOD. Il en est de même pour la double inoculation, *Glomus mosseae*-*Pisolithus* sp. qui n'a pas eu d'effet sur cette variable.

Tableau 25 : Variations du taux de nodulation (INOD) des plants inoculés par *Bradyrhizobium* sp. en fonction de l'inoculation par *Pisolithus* sp. et des fertilisations en azote et en phosphore (Δt % : différence en pour cent par rapport au témoin non inoculé par *Pisolithus* sp.).

Témoin Fertilisation			Apport N 20 ppm			Apport N 100 ppm		
Traitement	INOD	Δt %	Traitement	INOD	Δt %	Traitement	INOD	Δt %
Témoin	73,5	-	Témoin	64,9	-	Témoin	31,3	-
ORS 7870	64,4	NS	ORS 7870	39,4	NS	ORS 7870	20,9	NS
ORS 8023	55,3	NS	ORS 8023	41,9	NS	ORS 8023	43,9	NS

Apport P 10 ppm		
Traitement	INOD	Δt %
Témoin	102,6	-
ORS 7870	84,6	-18
ORS 8023	81,3	-21

Apport P 50 ppm		
Traitement	INOD	Δt %
Témoin	126,1	-
ORS 7870	132,6	NS
ORS 8023	121,5	NS

3.2.2- Le pourcentage de racines endomycorhizées : %MVA

Sur les 360 plants non inoculés par *Glomus mosseae* que comprend notre expérience, nous avons observé 10 plants contaminés par des endomycorhizes. Pour ces cas, le %MVA n'a jamais été supérieur à 10%, alors que cette valeur est comprise entre 10% et 100% pour l'ensemble des plants inoculés par *Glomus mosseae*. La valeur moyenne est de 45%.

L'addition de 20 ppm d'azote a provoqué une augmentation du %MVA de 108% par rapport aux témoins non fertilisés. Dans les autres cas, à savoir, un apport d'azote de 100 ppm ou de phosphore, 10 ou 50 ppm, les variations du %MVA par rapport aux témoins non fertilisés sont non significatives (tableau 26).

Tableau 26 : Variations du pourcentage de racines endomycorhizées (%MVA) des plants inoculés par *Glomus mosseae* en fonction des fertilisations en azote et en phosphore (ΔTF % : différence en pour cent par rapport au témoin non fertilisé).

Témoin Fertilisation			Apport N 20 ppm			Apport N 100 ppm		
	%MVA			%MVA	ΔTF %		%MVA	ΔTF %
	35,6	-		74,2	108		43,8	NS

Apport P 10 ppm		
	%MVA	ΔTF %
	38,5	NS

Apport P 50 ppm		
	%MVA	ΔTF %
	41,3	NS

L'inoculation par *Bradyrhizobium* sp. a diminué le %MVA de 29% pour le témoin fertilisation. Cette inoculation avec des apports de 20 et de 100 ppm d'azote diminue le %MVA respectivement de 22 et de 16%, bien que, dans ce dernier cas, cette différence par rapport aux témoins ne soit pas significative. Les apports de phosphore aux doses de 10 et de 50 ppm avec l'inoculation par *Bradyrhizobium* sp. ont, par contre, augmenté le %MVA respectivement de 10 et de 44%. L'augmentation de 10% par rapport aux témoins, constatée pour les plants inoculés par *Bradyrhizobium* sp. ayant reçu 10 ppm de phosphore, est non significative (tableau 27).

Tableau 27 : Variations du pourcentage de racines endomycorhizées (%MVA) des plants inoculés par *Glomus mosseae* en fonction de l'inoculation par *Bradyrhizobium* sp. et des fertilisations en azote et en phosphore (Δt % : différence en pour cent par rapport au témoin non inoculé par *Bradyrhizobium* sp.).

Témoin Fertilisation				Apport N 20 ppm				Apport N 100 ppm			
Traitement	%MVA	Δt %		Traitement	%MVA	Δt %		Traitement	%MVA	Δt %	
Témoin	41,7	-		Témoin	83,3	-		Témoin	47,5	-	
<i>Bradyrhizobium</i>	29,6	-29		<i>Bradyrhizobium</i>	65	-22		<i>Bradyrhizobium</i>	40	-16	

Apport P 10 ppm			
Traitement	%MVA	Δt %	
Témoin	36,7	-	
<i>Bradyrhizobium</i>	40,4	NS	

Apport P 50 ppm			
Traitement	%MVA	Δt %	
Témoin	33,8	-	
<i>Bradyrhizobium</i>	48,8	44	

Dans le cas des plants non fertilisés, l'inoculation par la souche de *Pisolithus sp.* ORS.7870 a diminué de 49% le %MVA ; la souche ORS.8023 n'a pas eu d'effet significatif sur le %MVA dans ce cas. Par contre, cette même souche, avec un apport de 100 ppm d'azote, diminue le %MVA de 43% par rapport aux témoins et, dans ce cas, la souche ORS.7870 n'a pas eu d'effet significatif sur cette variable (tableau 28).

Tableau 28 : Variations du pourcentage de racines endomycorhizées (%MVA) des plants inoculés par *Glomus mosseae* en fonction de l'inoculation par *Pisolithus sp.* et des fertilisations en azote et en phosphore (Δ % : différence en pour cent par rapport au témoin non inoculé par *Pisolithus sp.*).

Témoin Fertilisation			Apport N 20 ppm			Apport N 100 ppm		
Traitement	%MVA	Δ %	Traitement	%MVA	Δ %	Traitement	%MVA	Δ %
Témoin	43,8	-	Témoin	75	-	Témoin	51,6	-
ORS 7870	22,5	-49	ORS 7870	68,8	NS	ORS 7870	50,6	NS
ORS 8023	40,6	NS	ORS 8023	78,8	NS	ORS 8023	29,4	-43

Apport P 10 ppm		
Traitement	%MVA	Δ %
Témoin	36,3	-
ORS 7870	44,4	22
ORS 8023	35	NS

Apport P 50 ppm		
Traitement	%MVA	Δ %
Témoin	48,1	-
ORS 7870	44,4	NS
ORS 8023	31,3	NS

3.2.3- Le nombre de plants ectomycorhizés : nECM

Sur l'ensemble des plants non inoculés, nous n'avons pas observé de contamination par *Pisolithus sp.* ou par d'autres champignons ectomycorhiziens.

Par rapport aux témoins, les apports d'azote aux doses de 20 et de 100 ppm ont diminué le nECM respectivement de 30 et de 51% avec la souche ORS.7870 et de 13 et de 26% avec la souche ORS.8023. Dans ce dernier cas, les différences sont non significatives. Les apports de phosphore aux doses de 10 et de 50 ppm ont réduit le nECM respectivement de 81 et de 100% avec la souche ORS.7870 et 55 et de 94% avec la souche ORS.8023. La dose de 50 ppm de phosphore a inhibé totalement et réduit considérablement l'ectomycorhization par les souches ORS.7870 et ORS.8023. Il est donc logique, dans ce cas, que nous n'ayons pas observé d'effet de l'inoculation par *Pisolithus sp.* sur la nodulation ou l'endomycorhization (tableau 29).

Tableau 29 : Variations du nombre de plants ectomycorhizés (nECM) des plants inoculés par *Pisolithus* sp. en fonction des fertilisations en azote et en phosphore (ΔTF % : différence en pour cent par rapport au témoin non fertilisé).

Témoin Fertilisation			Apport N 20 ppm			Apport N 100 ppm		
	nECM			nECM	ΔTF %		nECM	ΔTF %
ORS 7870	9,3	-	ORS 7870	6,5	-30	ORS 7870	4,5	-51
ORS 8023	7,8	-	ORS 8023	6,8	-13	ORS 8023	5,8	-26

Apport P 10 ppm		
	nECM	ΔTF %
ORS 7870	1,8	-81
ORS 8023	3,5	-55

Apport P 50 ppm		
	nECM	ΔTF %
ORS 7870	0	-100
ORS 8023	0,5	-94

L'inoculation par *Bradyrhizobium* sp. (tableau 30) augmente le nECM respectivement de 18 et de 58% avec les souches ORS.7870 et ORS.8023 pour les plants non fertilisés. L'addition de phosphore aux doses de 10 et de 50 ppm avec l'inoculation par *Bradyrhizobium* sp. ne permet pas d'observer des variations significatives du nECM. Il en est de même pour un apport de 20 ppm d'azote. L'apport de 100 ppm d'azote avec l'inoculation par *Bradyrhizobium* sp. augmente le nECM de 100 et de 88% par rapport aux témoins respectivement pour les souches ORS.7870 et ORS.8023.

Tableau 30 Variations du nombre de plants ectomycorhizés (nECM) des plants inoculés par *Pisolithus* sp. en fonction de l'inoculation par *Bradyrhizobium* sp. et des fertilisations en azote et en phosphore (Δt % : différence en pour cent par rapport au témoin non inoculé par *Bradyrhizobium* sp.)

Témoin Fertilisation			Apport N 20 ppm			Apport N 100 ppm		
Traitement	nECM	Δt %	Traitement	nECM	Δt %	Traitement	nECM	Δt %
7870 + Témoin	8,5	-	7870 + Témoin	7	-	7870 + Témoin	3	-
8023 + Témoin	6	-	8023 + Témoin	7,5	-	8023 + Témoin	4	-
7870 + Brady	10	18	7870 + Brady	6	NS	7870 + Brady	6	100
8023 + Brady	9,5	58	8023 + Brady	6	NS	8023 + Brady	7,5	88

Apport P 10 ppm		
Traitement	nECM	Δt %
7870 + Témoin	2	-
8023 + Témoin	4	-
7870 + Brady	1,5	NS
8023 + Brady	4	NS

Apport P 50 ppm		
Traitement	nECM	Δt %
7870 + Témoin	0	-
8023 + Témoin	0,5	-
7870 + Brady	0	NS
8023 + Brady	0,5	NS

L'inoculation par *Glomus mosseae* (tableau 31) réduit le nECM respectivement de 39 et de 37% par rapport au témoin, pour les plants non fertilisés. L'apport de 20 ppm d'azote avec l'inoculation par *Glomus mosseae* provoque des baisses du nECM respectivement de 38 et de 50% pour les souches ORS.7870 et ORS.8023. L'apport de 100 ppm d'azote avec l'inoculation par *Glomus mosseae* ne modifie pas le nECM pour la souche ORS.7870 ; par contre, celui-ci diminue de 56% avec la souche ORS.8023.

Tableau 31 : Variations du nombre de plants ectomycorhizés (nECM) des plants inoculés par *Pisolithus* sp. en fonction de l'inoculation par *Glomus mosseae* et des fertilisations en azote et en phosphore (Δt % : différence en pour cent par rapport au témoin non inoculé par *Glomus mosseae*)

Témoin Fertilisation			Apport N 20 ppm			Apport N 100 ppm		
Traitement	nECM	Δt %	Traitement	nECM	Δt %	Traitement	nECM	Δt %
7870 + Témoin	11,5	-	7870 + Témoin	8	-	7870 + Témoin	4,5	-
8023 + Témoin	9,5	-	8023 + Témoin	9	-	8023 + Témoin	8	-
7870 + <i>glomus</i>	7	-39	7870 + <i>glomus</i>	5	-38	7870 + <i>glomus</i>	4,5	NS
8023 + <i>glomus</i>	6	-37	8023 + <i>glomus</i>	4,5	-50	8023 + <i>glomus</i>	3,5	-56

Apport P 10 ppm		
Traitement	nECM	Δt %
7870 + Témoin	1,5	-
8023 + Témoin	4,5	-
7870 + <i>glomus</i>	2	NS
8023 + <i>glomus</i>	2,5	NS

Apport P 50 ppm		
Traitement	nECM	Δt %
7870 + Témoin	0	-
8023 + Témoin	0,5	-
7870 + <i>glomus</i>	0	NS
8023 + <i>glomus</i>	0,5	NS

En présence de phosphore, les effets de l'inoculation par *Glomus mosseae* sur le nECM ne sont pas quantifiables.

3.3- Estimation des variations d'efficacité des systèmes racinaires

3.3.1- Efficacité des systèmes racinaires pour l'azote : ESRN

Les apports de phosphore aux doses de 10 et 50 ppm ont diminué l'ESRN respectivement de 33 et 24%. L'apport de 20 ppm d'azote a également diminué l'ESRN de 34%, tandis que l'apport de 100 ppm n'a pas augmenté cette valeur de façon significative (tableau 32).

Tableau 32 : Variations d'efficacité des systèmes racinaires pour l'azote (ESRN) en fonction des fertilisations en azote et en phosphore (ΔTF % : différence en pour cent par rapport au témoin non fertilisé).

Témoin Fertilisation			Apport N 20 ppm			Apport N 100 ppm		
ESRN			ESRN			ESRN		
3,4			2,3			3,6		
-			ΔTF %			ΔTF %		
-			-34			NS		

Apport P 10 ppm		
ESRN		
2,3		
ΔTF %		
-33		

Apport P 50 ppm		
ESRN		
2,6		
ΔTF %		
-24		

L'inoculation par *Bradyrhizobium* sp. (tableau 33) a augmenté de 42% l'ESRN des plants non fertilisés. Les apports d'azote ont réduit les effets de l'inoculation par *Bradyrhizobium* sp.. Pour 20 ppm d'azote, l'augmentation est de 29%, et pour 100 ppm, la différence par rapport aux témoins n'est plus significative. L'inoculation par *Bradyrhizobium* sp. avec des apports de phosphore de 10 et de 50 ppm ont augmenté l'ESRN de 86 et 51%.

Tableau 33 : Variations d'efficacité des systèmes racinaires pour l'azote (ESRN) en fonction des inoculations par *Bradyrhizobium* sp., *Glomus mosseae* et de la double inoculation, *Bradyrhizobium*-*Glomus mosseae* et des fertilisations en azote et en phosphore (Δt % : différence en pour cent par rapport au témoin non inoculé par *Bradyrhizobium* sp. et/ou *Glomus mosseae*).

Témoin Fertilisation				Apport N 20 ppm				Apport N 100 ppm			
Traitement				Traitement				Traitement			
ESRN				ESRN				ESRN			
Δt %				Δt %				Δt %			
Témoin				Témoin				Témoin			
2,7				2,2				3,8			
-				-				-			
<i>Bradyrhizobium</i>				<i>Bradyrhizobium</i>				<i>Bradyrhizobium</i>			
3,8				2,5				2,8			
42				NS				-27			
<i>Glomus mosseae</i>				<i>G. mosseae</i>				<i>G. mosseae</i>			
3				1,8				3,4			
NS				-19				NS			
<i>Brady</i> + <i>Glomus</i>				<i>Brady</i> + <i>Glomus</i>				<i>Brady</i> + <i>Glomus</i>			
4,2				2,6				4,3			
57				20				13			

Apport P 10 ppm		
Traitement		
ESRN		
Δt %		
Témoin		
1,7		
-		
<i>Bradyrhizobium</i>		
2,8		
63		
<i>Glomus mosseae</i>		
1,5		
-13		
<i>Brady</i> + <i>Glomus</i>		
3,2		
84		

Apport P 50 ppm		
Traitement		
ESRN		
Δt %		
Témoin		
2,4		
-		
<i>Bradyrhizobium</i>		
3,1		
31		
<i>Glomus mosseae</i>		
1,8		
-23		
<i>Brady</i> + <i>Glomus</i>		
3,2		
36		

Dans tous les cas, la double inoculation (tableau 33) *Bradyrhizobium sp.*-*Glomus mosseae* a permis d'augmenter l'ESRN des plants par rapport aux témoins. Pour les plants non fertilisés, cette augmentation est de 57% et celle-ci décroît lorsqu'on réalise des apports d'azote. Ainsi, 20 et 100 ppm d'azote réduisent cette augmentation, liée à la double inoculation, qui n'est plus que de 20 et 13%. La double inoculation avec des apports de 10 et 50 ppm de phosphore ont augmenté respectivement l'ESRN de 84 et 36%.

L'inoculation par *Glomus mosseae* sans inoculation par *Bradyrhizobium sp.* (tableau 33) a eu un effet dépressif sur l'ESRN des plants qui ont reçu une fertilisation phosphatée. Dans ces conditions, une diminution de l'ESRN a également été constatée pour les plants ayant reçu 20 ppm d'azote. Dans les autres cas, les variations par rapport aux témoins sont non significatives.

L'inoculation par *Pisolithus sp.*, ainsi que les interactions multiples faisant intervenir *Pisolithus sp.*, *Bradyrhizobium sp.* + *Pisolithus sp.*, *Glomus mosseae* + *Pisolithus sp.* et *Bradyrhizobium sp.* + *Glomus mosseae* + *Pisolithus sp.* n'ont pas modifié l'ESRN des plants.

3.3.2- Efficience des systèmes racinaires pour le phosphore : ESRP

L'apport de 10 ppm de phosphore n'a pas eu d'effet significatif. Par contre, la dose de 50 ppm de phosphore a provoqué une augmentation de 155% de l'ESRP. Les apports d'azote aux doses de 20 et 100 ppm ont réduit l'ESRP respectivement de 32 et 24% (tableau 34).

Tableau 34 : Variations d'efficience des systèmes racinaires pour le phosphore (ESRP) en fonction des fertilisations en azote et en phosphore (ΔTF % : différence en pour cent par rapport au témoin non fertilisé).

Témoin Fertilisation			Apport N 20 ppm			Apport N 100 ppm		
ESRP			ESRP ΔTF %			ESRP ΔTF %		
0,38 -			0,26 -32			0,29 -24		

Apport P 10 ppm		
ESRP	ΔTF %	
0,39	NS	

Apport P 50 ppm		
ESRP	ΔTF %	
0,97	155	

L'inoculation par *Bradyrhizobium sp.* (tableau 35) a augmenté l'ESRP de 33% par rapport aux témoins pour les plants non fertilisés. Les apports de 20 et 100 ppm d'azote et de 10 ppm de phosphore avec l'inoculation par *Bradyrhizobium sp.* n'ont pas d'effets significatifs sur l'ESRP. L'inoculation par *Bradyrhizobium sp.* avec un apport de 50 ppm de phosphore réduit l'ESRP de 14%.

Tableau 35 : Variations d'efficience des systèmes racinaires pour le phosphore (ESRP) en fonction des inoculations par *Bradyrhizobium* sp., *Glomus mosseae* et de la double inoculation, *Bradyrhizobium-Glomus mosseae* et des fertilisations en azote et en phosphore (Δt % : différence en pour cent par rapport au témoin non inoculé par *Bradyrhizobium* sp. et/ou *Glomus mosseae*).

Témoin Fertilisation			Apport N 20 ppm			Apport N 100 ppm		
Traitement	ESRP	Δt %	Traitement	ESRP	Δt %	Traitement	ESRP	Δt %
Témoin	0,13	-	Témoin	0,12	-	Témoin	0,11	-
<i>Bradyrhizobium</i>	0,20	NS	<i>Bradyrhizobium</i>	0,13	NS	<i>Bradyrhizobium</i>	0,12	NS
<i>G. mosseae</i>	0,53	308	<i>G. mosseae</i>	0,40	233	<i>G. mosseae</i>	0,39	255
<i>Brady + Glomus</i>	0,67	415	<i>Brady + Glomus</i>	0,39	225	<i>Brady + Glomus</i>	0,53	382

Apport P 10 ppm		
Traitement	ESRP	Δt %
Témoin	0,28	-
<i>Bradyrhizobium</i>	0,29	NS
<i>G. mosseae</i>	0,49	75
<i>Brady + Glomus</i>	0,51	82

Apport P 50 ppm		
Traitement	ESRP	Δt %
Témoin	0,91	-
<i>Bradyrhizobium</i>	0,90	NS
<i>G. mosseae</i>	1,18	30
<i>Brady + Glomus</i>	0,87	NS

Dans presque tous les cas, l'inoculation par *Glomus mosseae* (tableau 35) a fortement augmenté l'ESRP des plants. Ces augmentations sont de 275% pour les plants non fertilisés et de 200 et 283% respectivement pour les plants ayant reçu 20 et 100 ppm d'azote. Les apports de phosphore réduisent considérablement les effets de l'inoculation par *Glomus mosseae* sur l'ESRP. L'augmentation n'est plus que de 79% pour les plants ayant reçu un apport de 10 ppm de phosphore et devient non significative pour les plants ayant reçu un apport de 50 ppm de phosphore.

La double inoculation *Bradyrhizobium* sp.-*Glomus mosseae*, (tableau 35), n'a pratiquement pas modifié l'ESRP des plants qui ont reçu une fertilisation phosphatée. Les différences observées restent non significatives pour les plants qui ont reçu 50 ppm de phosphore et elles sont de 82% pour les plants qui ont reçu 10 ppm de phosphore ; cette augmentation n'est pas significativement différente de celle observée dans le cas de l'inoculation par *Glomus mosseae* (79%). Par contre, la double inoculation augmente très significativement l'ESRP des plants non fertilisés (415%), des plants ayant reçu un apport de 20 ppm d'azote (225%) et des plants ayant reçu un apport de 100 ppm d'azote (383%). Pour les traitements n'ayant pas reçu de phosphore, on constate entre *Bradyrhizobium* sp. et *Glomus mosseae* un effet de synergie qui augmente de façon très significative l'ESRP des plants (tableau 35).

3.4- Etude des variations de croissance d'*Acacia holosericea*

Les ACP que nous avons réalisées ont permis de mettre en évidence que les variations de PSPAE constituent une bonne estimation des effets sur la plante hôte des inoculations par les

différents micro-organismes et des différentes doses d'azote et de phosphore ajoutées. Une analyse des corrélations entre variables a permis de confirmer ces observations. De plus, nous avons vérifié, en réalisant des ANOVA sur l'ensemble des variables relatives à la croissance, que ces dernières n'apportent pas d'élément nouveau par rapport à l'analyse de la variable PSPAE. Donc, afin d'analyser les variations de croissance liées à l'inoculation ou à la fertilisation, nous avons limité les ANOVA à la variable PSPAE. De plus, nous avons limité l'énoncé des résultats aux variations significatives.

Les apports d'azote aux doses de 20 et 100 ppm ont des effets non significatifs sur l'augmentation du PSPAE (Tableau 36). L'apport de 10 ppm de phosphore produit une augmentation de 103% du PSPAE par rapport au témoin. Cette augmentation est de 137% pour les plants qui ont reçu un apport de 50 ppm de phosphore (Tableau 36).

Tableau 36 : Variations du poids sec des parties aériennes (PSPAE) en fonction des fertilisations en azote et en phosphore (ΔTF % : différence en pour cent par rapport au témoin non fertilisé).

Témoin Fertilisation			Apport N 20 ppm			Apport N 100 ppm		
PSPAE			PSPAE ΔTF %			PSPAE ΔTF %		
1,53 -			1,40 NS			1,82 NS		

Apport P 10 ppm		
PSPAE ΔTF %		
3,11 103		

Apport P 50 ppm		
PSPAE ΔTF %		
3,63 137		

L'inoculation par *Bradyrhizobium sp.* (Tableau 37) a augmenté le PSPAE de 46, 14 et 28% respectivement pour les plants qui n'ont pas reçu de fertilisation, et reçu 10 et 50 ppm de phosphore. L'inoculation par *Bradyrhizobium sp.* n'a pas d'effet significatif sur les variations de PSPAE des plants qui ont reçu des doses d'azote de 20 et 100 ppm.

Tableau 37 : Variations du poids sec des parties aériennes (PSPAE) en fonction des inoculations par *Bradyrhizobium* sp., *Glomus mosseae* et de la double inoculation, *Bradyrhizobium-Glomus mosseae* et des fertilisations en azote et en phosphore (Δt % : différence en pour cent par rapport au témoin non inoculé par *Bradyrhizobium* sp. et/ou *Glomus mosseae*).

Témoin Fertilisation			Apport N 20 ppm			Apport N 100 ppm		
Traitement	PSPAE	Δt %	Traitement	PSPAE	Δt %	Traitement	PSPAE	Δt %
Témoin	1,27	-	Témoin	1,14	-	Témoin	1,52	-
<i>Bradyrhizobium</i>	1,85	46	<i>Bradyrhizobium</i>	1,16	NS	<i>Bradyrhizobium</i>	1,60	NS
<i>G. mosseae</i>	1,21	NS	<i>G. mosseae</i>	1,56	37	<i>G. mosseae</i>	2,05	35
<i>Brady + Glomus</i>	1,80	42	<i>Brady + Glomus</i>	1,74	53	<i>Brady + Glomus</i>	2,13	40

Apport P 10 ppm		
Traitement	PSPAE	Δt %
Témoin	2,96	-
<i>Bradyrhizobium</i>	3,38	14
<i>G. mosseae</i>	2,31	-22
<i>Brady + Glomus</i>	3,78	28

Apport P 50 ppm		
Traitement	PSPAE	Δt %
Témoin	3,31	-
<i>Bradyrhizobium</i>	4,25	28
<i>G. mosseae</i>	2,71	-18
<i>Brady + Glomus</i>	4,25	28

L'inoculation par *Glomus mosseae* seul ne modifie pas de façon significative le PSPAE des plants non fertilisés. Par contre, les apports d'azote de 20 et 100 ppm ont provoqué des augmentations respectives de 37 et 35% du PSPAE par rapport aux plants témoins. Les apports de phosphore avec l'inoculation par *Glomus mosseae* ont des effets inverses. Pour des apports de 10 et 50 ppm, on observe une diminution du PSPAE de 22 et 18% par rapport au témoin non inoculé.

Par contre, la double inoculation a, dans tous les cas, provoqué une augmentation du PSPAE des plants par rapport au témoin. Cette augmentation est de 42% pour les témoins fertilisation, 53 et 40% pour des apports d'azote de 20 et 100 ppm et de 28% pour des apports de phosphore de 10 et 50 ppm.

Nous n'avons pas observé d'effet significatif de l'inoculation par *Pisolithus* sp. sur les variations de PSPAE des plants. La souche ORS.7870, isolée sous *Acacia holosericea*, comme la souche ORS.8023, isolée sous *Eucalyptus camaldulensis*, n'ont pas, dans nos conditions de serre, modifié la croissance d'*Acacia holosericea*.

4- DISCUSSION

4.1- Le choix des analyses statistiques

Le dispositif que nous avons analysé comprend 4 facteurs contrôlés. L'énoncé exhaustif des résultats n'aurait permis ni de saisir, ni de démontrer clairement les éléments importants de cette expérience. C'est pourquoi nous avons choisi de procéder aux analyses statistiques en deux étapes. Une première (les ACP) a permis de cibler les éléments importants et une seconde (les ANOVA) a permis de démontrer l'origine et la nature des variations observées.

De par leur conception, les ACP ne tiennent pas compte d'une partie des variations observées. Dans notre cas, les analyses ont été limitées à deux axes représentatifs, en moyenne, de 95% des variations observées (STATITCF, 1986). De la sorte, nous avons pu percevoir les éléments importants, responsables des variations observées, mais aussi les variables qui reflètent le mieux ces variations. Il a été nécessaire, alors, de compléter ces analyses par des analyses statistiques démonstratives : les ANOVA. Cela nous a permis de vérifier que la perte d'informations liée au mode de calcul des ACP n'avait pas masqué de phénomène biologique important. Les résultats mis en évidence par l'examen des ACP ont alors été analysés en détail (ANOVA) et seuls les résultats importants ont été présentés.

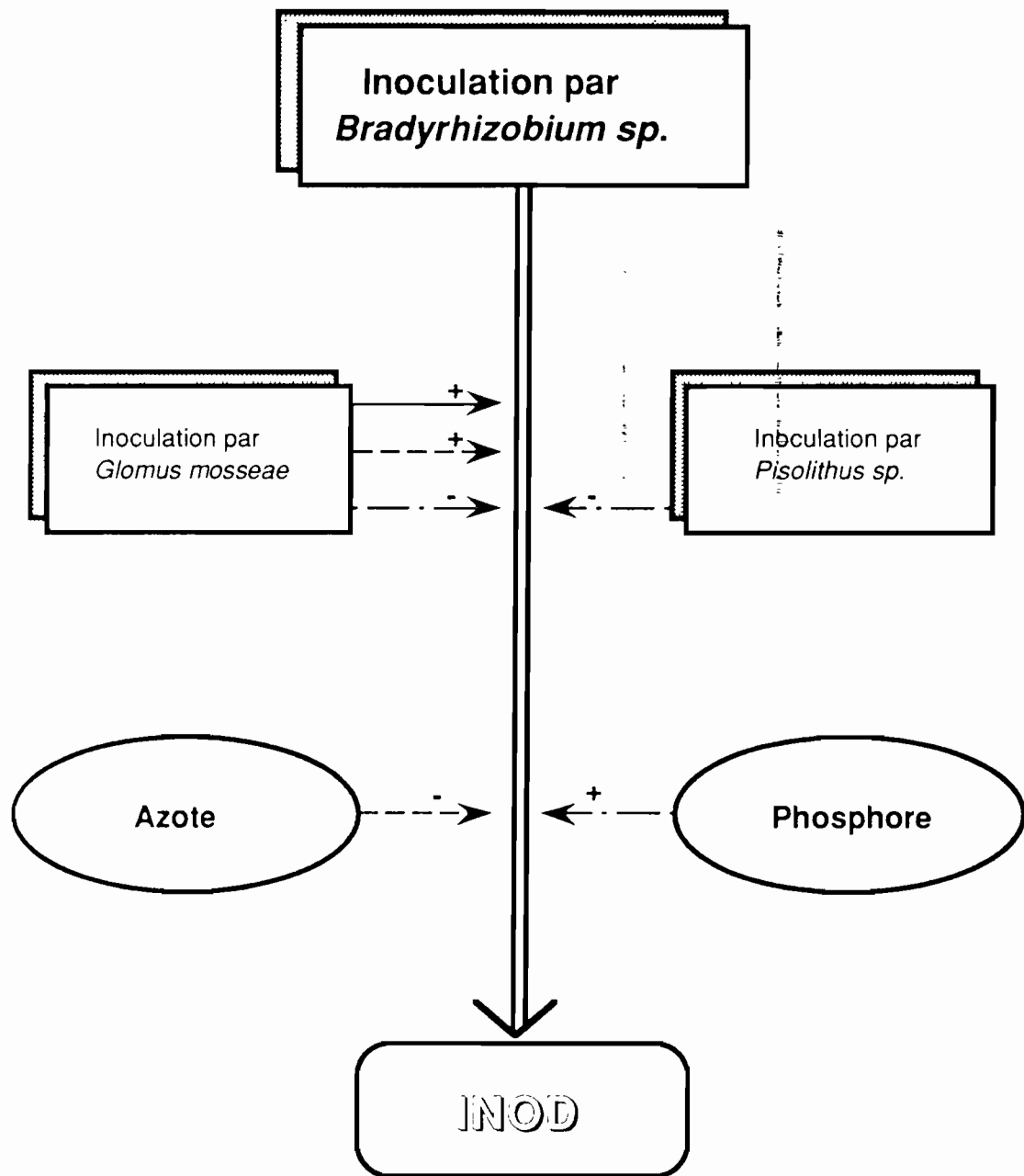
Cette approche statistique, dans l'état actuel de nos connaissances, nous paraît un bon moyen pour l'interprétation des résultats d'une expérience sur les triples symbioses (Jambu, 1989).

4.2- L'installation des symbioses

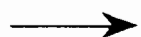
En ce qui concerne l'installation des symbioses, nous avons déterminé trois catégories de facteurs : le facteur déterminant et les facteurs qui interagissent de façon positive ou négative sur le facteur principal

4.2.1- La nodulation (Figure 8).

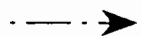
Le facteur déterminant de la nodulation est l'inoculation par *Bradyrhizobium* sp.. Ce résultat est constamment retrouvé, quelles que soit l'espèce, lorsqu'on inocule avec des souches efficaces. D'ailleurs, Cornet et Diem (1982) et Cornet *et al.* (1985) ont rapporté des résultats similaires sur *Acacia holosericea* inoculé par la souche ORS.841. Cependant, dans leurs expériences, les contaminations semblent avoir été beaucoup moins fréquentes que dans notre cas. Le taux de contamination peut être influencé par l'espèce (Dela-Cruz *et al.*, 1988), la poussière ou l'eau d'arrosage (Cornet, 1982 ; Cornet et Diem, 1982), mais aussi par les conditions de culture. En effet, nous avons observé une augmentation très significative du taux de contamination des plants qui ont reçu 50 ppm de phosphore et une très forte réduction de ce taux pour les plants qui ont reçu 100 ppm d'azote. Cependant, la quantité de *Bradyrhizobium* sp. contaminants dans le sol est insuffisante pour produire un effet significatif sur la plante hôte. Des observations similaires ont été réalisées sur *Acacia holosericea* (Cornet et Diem, 1982), *A. mangium* (Umali-Garcia *et al.*, 1988), *A. senegal* et *A. laeta* (Badji *et al.*, 1988b).



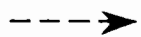
Action du micro-organisme sur INOD :



seul



en présence de phosphore



en présence d'azote

+

augmentation d'INOD

-

diminution d'INOD

Figure 8 : Schéma des interactions avec les autres partenaires symbiotiques et/ou les fertilisations en azote et en phosphore sur la nodulation par *Bradyrhizobium sp.*

L'inoculation par *Glomus mosseae*, seul et en présence d'azote et le phosphore, a amélioré la nodulation d'*Acacia holosericea* par *Bradyrhizobium* sp.. Les MVA sont bien connues pour leur rôle dans l'amélioration de la nutrition minérale, notamment phosphatée (Kormanick *et al.*, 1977 ; Schultz *et al.*, 1979 ; Krikun et Levy, 1980 ; Manjunath *et al.*, 1984). Le rôle des MVA dans l'amélioration de la nodulation est en partie lié au phosphore (Mosse *et al.*, 1976). La stimulation de la nodulation des *Acacia* par le phosphore a déjà été observée. Ainsi, Cornet et Diem (1982) et Cornet *et al.* (1982) sur *Acacia holosericea*, Badji *et al.* (1988b) sur *Acacia senegal* et *A. laeta* ont montré une augmentation très significative de la nodulation, en présence de K_2HPO_4 ou de *Glomus mosseae*. Cependant, l'ion potassium introduit avec la fertilisation phosphatée, est un élément important pour les plantes. Et, dans ces expériences, il est impossible de faire la part de ces deux éléments dans la stimulation de la nodulation. Dans notre expérience, nous avons utilisé du NaH_2PO_4 . Le sodium est un élément qui a un rôle mineur pour les plantes. Ainsi, dans notre cas, nous sommes certains que l'effet observé sur la nodulation est provoqué par le phosphore. Cet élément est clairement un facteur limitant de la nodulation. Donc, sur un sol pauvre en phosphore assimilable, des apports de cet élément stimulent très vivement ce phénomène. Le mécanisme d'action du phosphore dans la nodulation des *Acacia* n'est pas encore clairement établi. Nous rappelons ici que la fixation d'azote est un phénomène très exigeant en énergie. Cette dernière est fournie par la plante sous forme d'ATP (Adénosine Tri-Phosphate), donc de phosphore. C'est actuellement l'hypothèse la plus vraisemblable de l'action de cet élément sur la nodulation.

La fertilisation azotée, associée à l'inoculation par *Glomus mosseae*, stimule également la nodulation. Or, les apports d'azote sont bien connus pour réduire la nodulation. La symbiose endomycorhizienne accroît la tolérance à l'azote du couple symbiotique *Acacia holosericea*-*Bradyrhizobium* sp. et suggère un rôle des MVA dans l'assimilation ou la régulation de la nutrition azotée. A ce sujet, nous pouvons émettre l'hypothèse que l'urée a été assimilée par *Glomus mosseae* et transférée à la plante hôte après sa réduction en ion ammonium par les uréases fongiques.

Les apports d'azote et l'inoculation par *Glomus mosseae* ou *Pisolithus* sp. en présence de phosphore, ont altéré la nodulation d'*Acacia holosericea* par *Bradyrhizobium* sp. L'inhibition de la nodulation en présence de fortes doses d'azote combiné est bien connue. L'urée est connue pour ne pas altérer la nodulation, mais peut agir indirectement sur ce phénomène. En effet, en condition de serre, cette molécule, sous l'action de contaminants extérieurs, est dégradée en ions ammonium. Ce sont ces derniers qui agissent sur la nodulation. D'ailleurs, l'urée semble pas ou très mal assimilée directement par *Acacia holosericea*. Il est probable que l'absorption ne se fasse qu'après la réduction de cette molécule en ion ammonium. Indirectement, l'apport d'urée revient à un apport de NH_4^+ . Ces observations confirment la faiblesse, déjà bien connue, des rendements des engrais azotés.

Les inoculations par *Glomus mosseae* ou *Pisolithus* sp., en présence de phosphore ont réduit la nodulation. Bien que, dans l'ensemble, les effets de *Pisolithus* sp. n'aient pas été déterminants, il est probable que son action porte, entre autre, comme *Glomus mosseae*, sur une amélioration générale de la nutrition minérale, notamment phosphatée. Cependant, les mesures des teneurs en phosphore que nous avons réalisées ne permettent pas de mettre en cause une suralimentation des plantes en phosphore, d'où résulterait une toxicité de cet élément pour la plante hôte (Cornet et Diem, 1982). En présence de phosphore, les mycorhizes apportent à la plante un élément dont elle dispose facilement par ailleurs. Or, la plante continue à fournir au champignon des photosynthétats. Ce déséquilibre des échanges entre symbiotes provoque un ralentissement général de la croissance des plants et, par la même, de la nodulation.

4.2 2- L'endomycorhization (Figure 9)

Le facteur déterminant de l'endomycorhization est l'inoculation par *Glomus mosseae*. D'ailleurs, l'inoculation d'*Acacia holosericea* par cette souche avait permis à Cornet *et al.* (1982) d'obtenir une fréquence d'infection de 37,3%, fréquence très voisine de ce que nous avons observé (35,6%).

L'apport de 20 ppm d'azote (urée) est le seul facteur qui augmente très significativement le %MVA (108%) des plants. De plus, on observe une augmentation de la valeur d'INOD. L'apport de 100 ppm n'a pas modifié le %MVA par rapport au témoin non fertilisé. Or, des doses d'azote ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) de 12,5, 25, 50, 100 et 200 ppm n'ont pas modifié de façon significative le taux d'infection par les MVA d'un hybride de peuplier (Lopez-Aguillon et Garbaye, 1988). Ces expériences ont également montré que des apports de 25 et 50 ppm de phosphore ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$) réduisent de façon significative le taux d'endomycorhization. Dans notre expérience, les doses de 10 et de 50 ppm de phosphore n'ont pas modifié de façon significative le %MVA des plants. Les différences observées ont probablement leur source dans la nature du sol utilisé, l'espèce végétale, les conditions expérimentales, ou l'ion d'accompagnement du phosphore.

L'inoculation par *Pisolithus sp.*, seul ou avec des apports d'azote ou de phosphore, a diminué la valeur du %MVA. Bien que les inoculations par *Glomus mosseae* et *Pisolithus sp.* aient été réalisées en même temps, sur des portions différentes du système racinaire, la réduction du %MVA peut s'expliquer par une compétition entre les deux micro-organismes. Cette compétition peut intervenir soit sur la vitesse de colonisation du système racinaire (Lopez-Aguillon et Mosse, 1987), soit sur la disponibilité des hydrates de carbone fournis par l'activité photosynthétique de la plante pour les micro-organismes (Bayne *et al.*, 1984).

L'inoculation par *Bradyrhizobium sp.*, seule ou en présence d'azote ou de phosphore, réduit le %MVA d'*Acacia holosericea*. Dans une expérience d'inoculation *Vigna unguiculata*-*Rhizobium*-*Glomus mosseae*, Ganry *et al.* (1985) n'ont pas observé ce phénomène. Cependant, nos résultats sont à mettre en rapport avec ceux de Bethlenfalvay *et al.* (1985) qui observent une diminution du %MVA de *Glycine max* inoculé par *Glomus mosseae*. Ceci peut s'expliquer, comme pour les relations MVA-ECM, par une compétition entre les symbiotes pour les photosynthétats. On a aussi remarqué l'absence d'hyphes mycéliennes dans les nodules (Mosse, 1975b ; Smith *et al.*, 1979). Ceci suggère l'existence d'un mécanisme d'exclusion (Bethlenfalvay *et al.*, 1985). Ce dernier pourrait agir sur des portions de systèmes racinaires proches des nodules et par la même, réduire l'espace disponible pour les MVA.

4.2.3- L'ectomycorhization (Figure 10)

Le facteur déterminant de l'ectomycorhization est l'inoculation par *Pisolithus sp.*. Ce facteur constitue également le facteur limitant de l'obtention des triples symbioses. D'ailleurs, la détermination du nECM est basée sur la fréquence de réussite de l'ectomycorhization. En effet, nous n'avons pas obtenu d'ECM pour tous les plants inoculés. Or, les inoculations par *Bradyrhizobium sp.* ou *Glomus mosseae* nous ont permis d'observer, dans tous les cas, des nodules et des MVA.

L'inoculation par *Bradyrhizobium sp.*, seul ou avec un apport d'azote (20 ou 100 ppm) augmente la valeur du nECM. La stimulation de l'ectomycorhization par des bactéries rhizosphériques a été étudiée. Ainsi, Bowen et Théodorou (1979) et Garbaye et Bowen (1989) ont montré l'existence de bactéries rhizosphériques qui stimulent la croissance *in vitro* des champignons ectomycorhiziens et l'ectomycorhization. A notre connaissance, la stimulation de l'ectomycorhization par une bactérie symbiotique, *Bradyrhizobium sp.*, n'était pas connue. La détoxification de la rhizosphère par les bactéries est actuellement l'hypothèse la plus souvent retenue pour expliquer ce genre de phénomène.

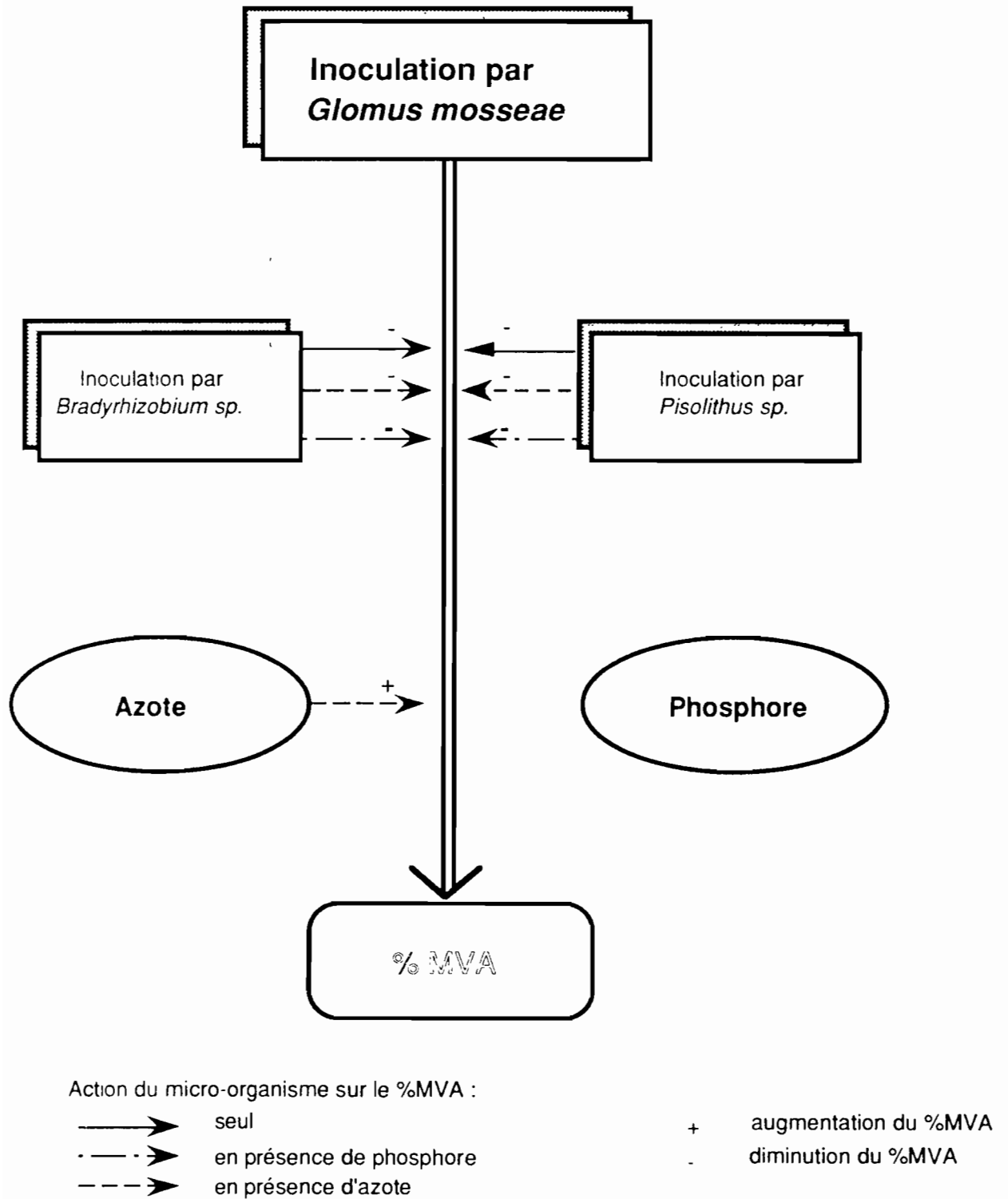


Figure 9 : Schéma des interactions avec les autres partenaires symbiotiques et/ou les fertilisations en azote et en phosphore sur l'endomycorhization par *glomus mosseae*

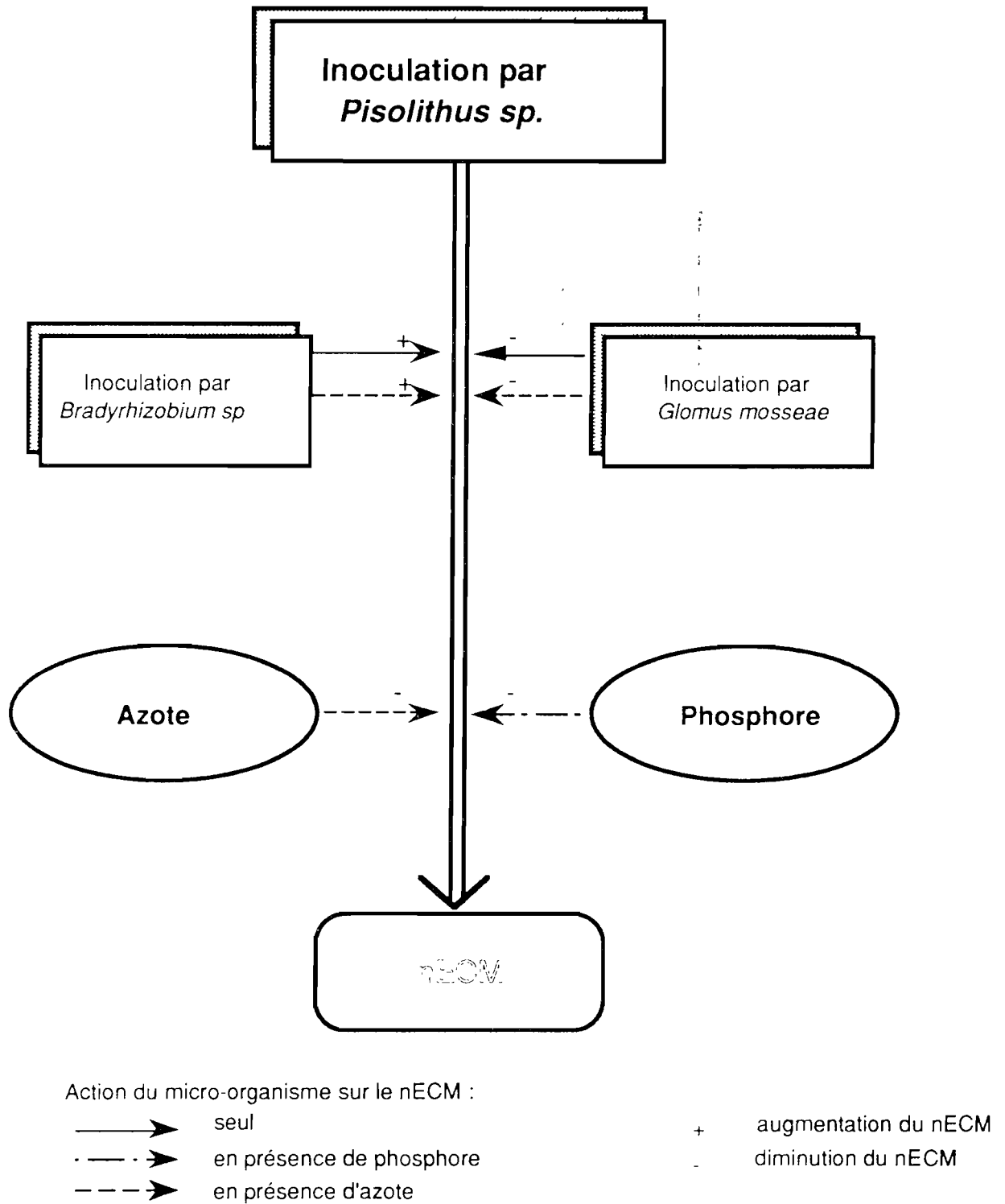


Figure 10 : Schéma des interactions avec les autres partenaires symbiotiques et/ou les fertilisations en azote et en phosphore sur l'ectomycorhization par *Pisolithus sp.*

L'ectomycorhization par *Pisolithus* sp. semble très sensible au phosphore. En effet, 10 ppm de phosphore réduisent considérablement le nECM ; 50 ppm inhibent totalement l'ectomycorhization par la souche ORS.7870 et réduit le nECM de la souche ORS.8023 à 0,5. Les différences de comportement observées entre les souches ne sont pas étonnantes. Ainsi, Ho (1987) a observé de grandes différences de croissance, d'activités enzymatiques et de production de phytohormones entre huit isolats de *Pisolithus tinctorius*. Ces observations nous invitent à une grande prudence dans la sélection de souches de *Pisolithus* sp. efficaces pour leur utilisation en pépinière.

L'espèce de *Pisolithus* dont sont issues les souches ORS.7870 et ORS.8023 semble très sensible au phosphore. D'ailleurs, les réductions du nECM observées avec l'inoculation par *Glomus mosseae*, seul ou avec un apport d'azote, sont à mettre en relation, entre autres, avec l'amélioration de la nutrition phosphatée par les MVA, sans exclure, pour autant, d'éventuels phénomènes de compétition entre ces micro-organismes. L'action de l'azote sur la réduction du nECM n'était pas connue pour cette espèce de *Pisolithus*.

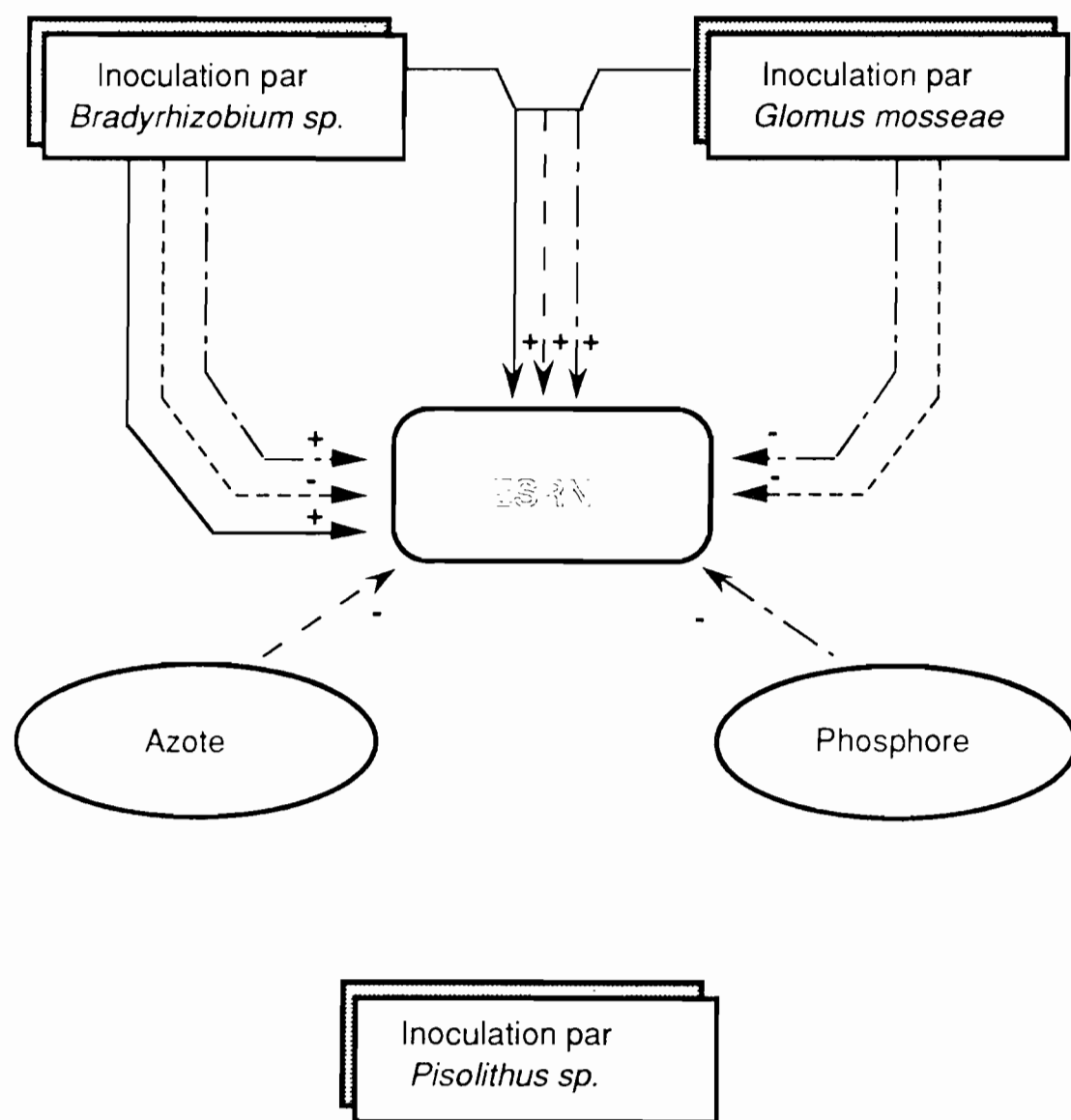
4 3- Les variations d'efficacité des systèmes racinaires (Figures 11 et 12)

Ces variations ont été calculées, pour l'azote et le phosphore, en rapportant la quantité totale de ces éléments dans les parties aériennes de la plante au poids sec des racines. Ce mode de calcul a l'avantage de ne pas tenir compte des variations causées par les autres facteurs sur les variations de PSRAC et de PSPAE et, donc de rendre compte de l'activité racinaire spécifique pour ces éléments

Les fertilisations, en général, ont réduit l'efficacité des systèmes racinaires, sauf les fortes doses de phosphore qui ont augmenté considérablement l'ESRP des plants. Il semble, que ces fertilisations, même si elles stimulent la croissance dans certains cas, provoquent des perturbations dans l'alimentation minérale des plants.

L'observation des ACP a suggéré que le contenu en azote (pour cent) des parties aériennes de la plante varie dans des proportions beaucoup plus faibles pour l'azote que pour le phosphore. Les mesures d'ESRN et d'ESRP indiquent qu'*Acacia holosericea* régule les excès d'azote, mais pas, ou mal, ceux de phosphore. D'ailleurs, dans tous les cas, l'inoculation par *Glomus mosseae* a augmenté l'ESRP et, cela, même avec un apport de 50 ppm de phosphore. Des observations similaires ont été réalisées sur *Leucaena leucocephala* (Yost, 1981). *Glomus mosseae* agit donc comme une pompe à phosphore non régulée par la plante. Ce rôle a déjà été mis en évidence à maintes reprises, et les plantes inoculées, infectées par les MVA, cultivées sur un sol riche en phosphore, ont des teneurs très élevées en cet élément. Par contre, l'inoculation avec ce champignon diminue l'ESRN des plants, comme un apport de phosphore, seul ou avec l'inoculation par *Glomus mosseae*.

Pour l'ESRN, *Bradyrhizobium* sp., seul ou avec un apport de phosphore, joue un rôle déterminant par la fixation biologique de l'azote. Les apports d'azote ont inhibé la fixation d'azote et, par la même, réduit l'ESRN. A la différence de l'action de *Glomus mosseae* pour le phosphore, la plante contrôle la fixation d'azote par *Bradyrhizobium* sp..



Action du micro-organisme sur l'ESRN :

- seul
- - -→ en présence de phosphore
- . - . -→ en présence d'azote

- + augmentation de l'ESRN
- diminution de l'ESRN

Figure 11 : schéma des actions et des interactions des différents partenaires symbiotiques et des fertilisations en azote et en phosphore sur les variations d'efficacité des systèmes racinaires des plants pour l'azote (ESRN).

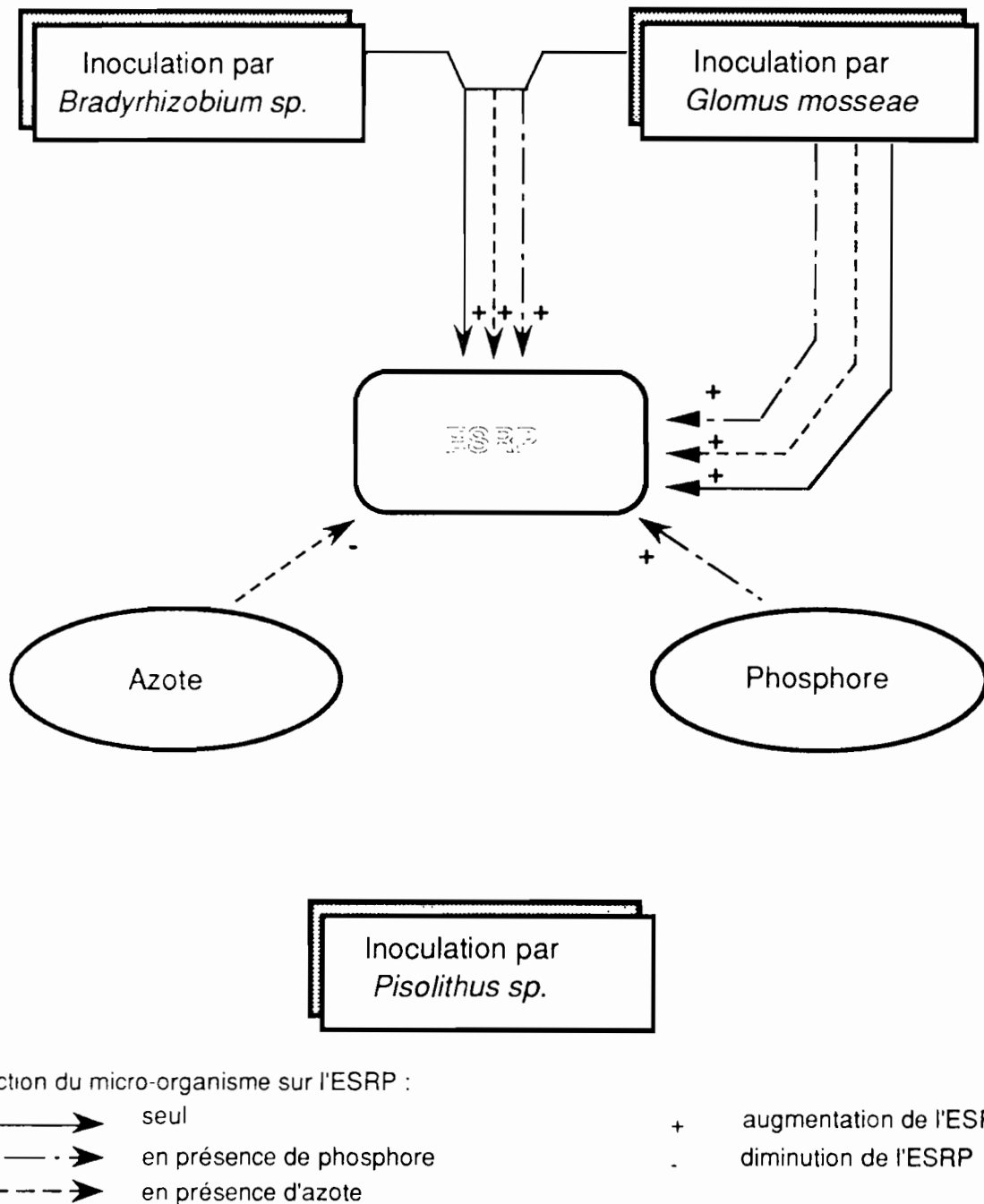


Figure 12 : schéma des actions et des interactions des différents partenaires symbiotiques et des fertilisations en azote et en phosphore sur les variations d'efficacité des systèmes racinaires des plants pour le phosphore (ESRP).

La double inoculation *Bradyrhizobium sp.-Glomus mosseae*, seule ou avec des apports d'azote ou de phosphore, a augmenté l'ESRN des plants d'environ 42% et l'ESRP des plants d'environ 220%. La double symbiose permet d'observer des effets bénéfiques sur la plante hôte dans une gamme de conditions beaucoup plus étendue que l'inoculation par ces symbiotes pris séparément. De ce fait, il n'est pas étonnant que, dans l'abondante littérature sur les doubles symbioses, les auteurs aient très souvent observé des effets bénéfiques de l'inoculation *Rhizobium*-champignon endomycorhizien et pas forcément des symbiotes pris isolément.

Pisolithus sp. n'a pas eu une action significative sur les variations d'ESRN et d'ESRP des plants. Or, le rôle de *Pisolithus tinctorius*, espèce voisine de celle étudiée, est bien connu dans l'amélioration de la nutrition minérale, notamment phosphatée des plants. Dans nos conditions expérimentales, les deux souches, ORS.7870, isolées sous *Acacia holosericea* et ORS.8023, isolées sous *Eucalyptus camaldulensis*, sont inefficaces pour l'amélioration de la nutrition azotée ou phosphatée de jeunes plants d'*Acacia holosericea*.

4.4- Les variations de croissance (Figure 13)

Les variations de croissance ont été estimées par l'étude de la variable PSPAE.

En ce qui concerne les fertilisations, l'azote n'a pas modifié le PSPAE des plants. Or, l'inoculation par *Bradyrhizobium sp.*, seule ou avec un apport de phosphore, stimule la croissance et permet à la plante, par la nodulation et la fixation d'azote, d'être en partie autotrophe pour cet élément. Nous pouvons dégager deux hypothèses de ces observations :

- i)- L'urée est une substance difficilement assimilable par *Acacia holosericea* et en fait, cette molécule n'est utilisée par la plante qu'après sa réduction en ion ammonium. La vitesse de dégradation de l'urée dans le sol conditionne donc la disponibilité en azote pour la plante. Il est probable qu'en utilisant directement une forme ammoniacale d'azote, on ait observé une stimulation de la croissance initiale des plants. Mais, les formes ammoniacales d'azote sont très facilement volatilisées, adsorbées ou lessivées. D'autre part, l'ion ammonium est bien connu pour inhiber la nodulation or, un des objectifs de notre expérience était l'étude de l'influence de l'apport d'azote sur l'établissement et le fonctionnement de la symbiose quadripartite *Acacia holosericea-Bradyrhizobium sp.-Glomus mosseae-Pisolithus sp.* Il était donc important d'utiliser une source d'azote non inhibitrice de la nodulation. De plus, l'urée est un engrais qui a un effet moins immédiat et de plus longue durée que l'ion ammonium.
- ii)- *Bradyrhizobium sp.* n'agit pas uniquement par la fixation d'azote. En effet, nous savons aussi que cette bactérie peut agir entre autre par la production de phytohormones (e.g. Kefford *et al.*, 1960 ; Kaneshiro et Kwolek, 1985). L'inhibition du fonctionnement des nodules par des apports d'azote ne porterait pas uniquement sur la fixation d'azote.

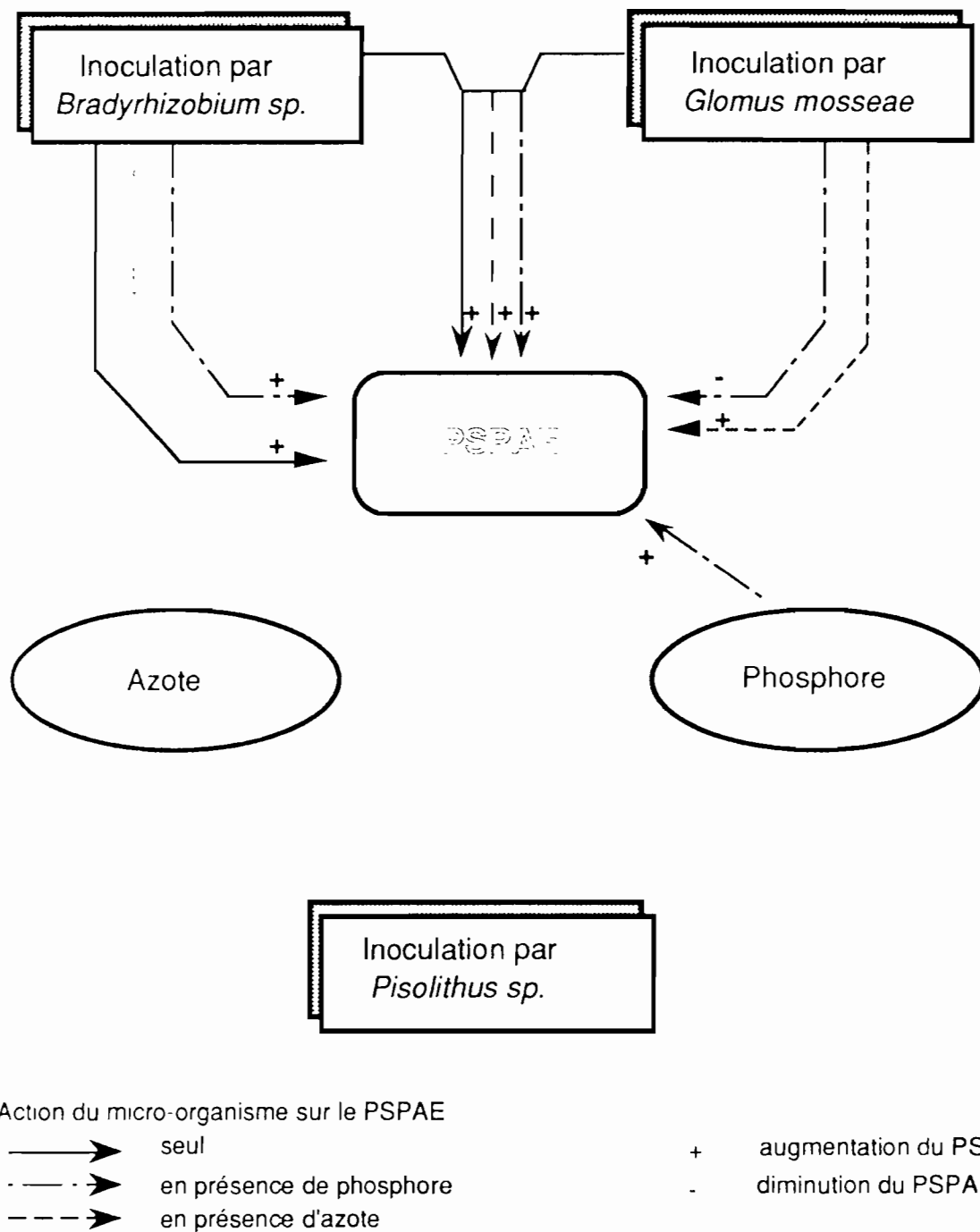


Figure 13 : schéma des actions et des interactions des différents partenaires symbiotiques et des fertilisations en azote et en phosphore sur les variations du poids sec des parties aériennes des plants (PSPAE).

L'inoculation par *Glomus mosseae* avec un apport d'azote stimule également la croissance. Le rôle de *Glomus mosseae* dans l'assimilation de l'urée n'est pas connu. Par contre, cette même inoculation, avec un apport de phosphore diminue le PSPAE des plants. Le rôle de *Glomus mosseae* et de tous les champignons endomycorhiziens dans l'assimilation du phosphore est bien connu. Un apport de cet élément supplée ce rôle, pendant que, la plante continue à fournir des photosynthétats au champignon. Ce déséquilibre des échanges symbiotiques est l'hypothèse qui est retenue actuellement pour expliquer la diminution de croissance due à l'inoculation de *Glomus mosseae* avec un apport de phosphore.

La double inoculation *Bradyrhizobium* sp.-*Glomus mosseae*, seule ou avec un apport d'azote ou de phosphore, dans tous les cas, a augmenté de façon significative le PSPAE (en moyenne de 40%), ainsi que l'ESRN et l'ESRP d'*Acacia holosericea* (en moyenne de 42 et 220%). Ce qui confirme bien que cet arbre, comme la plupart des légumineuses fixatrices d'azote, est typiquement une symbiose tripartite, constituée d'une bactérie et d'un champignon mycorhizien (Rose et Youngberg, 1981).

On remarque que *Pisolithus* sp. n'a pas une action significative sur les variations de PSPAE d'*Acacia holosericea*. Les effets bénéfiques de l'inoculation par *Pisolithus tinctorius* sur la croissance des pins (e.g. Kabre, 1982 ; Momoh et Gbadegesin, 1980 ; Delwaulle et al., 1982, 1987) et des *Eucalyptus* (e.g. Garbaye et al., 1988 ; Heinrich et al., 1988) sont bien connus. Des effets contraires ont été observés dans l'étude de la mycorhization d'*Azadirachta africana* par *Pisolithus tinctorius* (Houa, 1989). Ces dernières observations résultent probablement de la faible compatibilité de ce champignon pour les semis d'*Azadirachta africana* (Ba, 1990). Dans notre cas, on peut invoquer l'inefficacité des souches pour *Acacia holosericea* dans nos conditions de culture. Un autre facteur important est l'âge des plants. En effet, des successions MVA-ECM ont été observées chez *Helianthemum chamaecistus* (Read et al., 1977), *Alnus glutinosa* (Beddiard, 1984) et *Eucalyptus dumosa* (Lapeyrie et Chilvers, 1985). Il est possible qu'un phénomène similaire existe chez *Acacia holosericea* et que les jeunes plants d'*Acacia holosericea* soient plus réceptifs aux MVA qu'aux ECM. Un rôle plus tardif de *Pisolithus* sp. dans la symbiose tripartite *Acacia holosericea*-bactérie-champignon mycorhizien n'est pas à exclure.

5- RECAPITULATIF DES PRINCIPAUX RESULTATS OBTENUS

Nous allons tout d'abord énoncer les résultats qui ont confirmés des faits déjà publiés.

- i)- Ainsi, nous avons observé les effets bénéfiques de l'inoculation par *Bradyrhizobium sp.* sur la nutrition azotée (par la fixation d'azote), et la croissance d'*Acacia holosericea*.
- ii)- Nous avons également confirmé les effets bénéfiques de la double inoculation, *Bradyrhizobium sp.-Glomus mosseae* sur les nutriments azotés et phosphatés ainsi que sur la croissance des plants.
- iii)- Le rôle de véritable pompe à phosphore joué par *Glomus mosseae* a été démontré.
- iv)- En ce qui concerne *Pisolithus sp.*, nous avons mis en évidence comme pour *Pisolithus tinctorius*, la réduction de l'ectomycorhization par ce champignon en présence de phosphore.
- v)- Nous avons aussi mis en évidence le faible rendement de l'urée comme engrais azoté. Cette molécule semble très difficilement assimilée par les plantes.
- vi)- Le rôle du phosphore comme facteur limitant de la nodulation, connu pour *Acacia senegal* et *A. laeta*, a aussi été confirmé. Les apports de phosphore stimulent très fortement la nodulation et la croissance des plants.

Nous apportons aussi de très nombreux résultats nouveaux. Parmi ceux-ci, nous allons souligner les plus originaux.

- i)- Ainsi nos résultats suggèrent un rôle de *Glomus mosseae* dans l'assimilation de l'urée, probablement via une activité uréasique de ce champignon.
- ii)- Nous avons aussi démontré qu'*Acacia holosericea* est typiquement une symbiose tripartite constituée de la plante hôte, d'une bactérie et d'un champignon mycorhizien. Dans tous les cas, avec la double inoculation *Bradyrhizobium sp.-Glomus mosseae*, nous avons observé une augmentation de la valeurs de tous les paramètres étudiés et, cela, même en présence de fortes doses d'azote ou de phosphore. Nous verrons que cela a des conséquences pratiques très importantes.
- iii)- L'inefficacité des souches de pisolithes locales pour l'assimilation de l'azote et du phosphore par de jeunes plants d'*Acacia holosericea* est un point important mis en évidence.

iv)- En ce qui concerne la mycorhization, nous avons observé une stimulation de l'endomycorhization par un apport de 20 ppm d'urée. Cette stimulation est à mettre en relation avec un éventuel rôle de ce champignon dans l'assimilation de cette molécule. Dans des études ultérieures, ce point mérite d'être approfondi afin de mieux connaître et comprendre l'importance de ce mécanisme.

v)- D'autre part, une stimulation de l'ectomycorhization produite par l'inoculation de *Bradyrhizobium* sp. a été observée. Ce phénomène n'a, à notre connaissance jamais été signalé et, nous a conduit à aborder ce point dans la cinquième partie de ce mémoire. Nous nous sommes alors intéressés aux relations entre ces micro-organismes en l'absence de la plante hôte.

vi)- La double inoculation mettant en présence, sur des portions différentes du système racinaire un champignon endomycorhizien et un champignon ectomycorhizien a conduit systématiquement à la diminution des taux d'infection des deux partenaires symbiotiques.

Cette expérience a permis de dégager quelques points intéressants qui permettront d'améliorer la production de jeunes plants d'*Acacia holosericea*, sur ce type de sol. Tout d'abord, il est important pour la production de cette espèce d'inoculer les plants par une bactérie fixatrice d'azote et par un champignon mycorhizien. Outre les gains de croissance de l'ordre de 40% qu'on obtiendra par rapport au témoin non inoculé, cette double symbiose permet aux arbres d'exprimer leur capacité, même en présence de forte dose d'azote ou de phosphore. En plus de cela, l'efficacité des systèmes racinaires pour l'azote et le phosphore est accru. Donc, les symbioses, à la différence des engrais minéraux, constituent une fertilisation à haut rendement, en contribuant à améliorer les capacités d'assimilation des plants et de tolérance, notamment aux excès d'azote ou de phosphore.

Après le transfert aux champs, le forestier devra garder à l'esprit l'originalité symbiotique des acacias australiens. En effet, ces espèces sont capables aussi bien de former des MVA que des ECM. Même si nos travaux ont démontré l'inefficacité de deux souches de *Pisolithus* sp. sur de jeunes plants d'*Acacia holosericea*, il n'est pas à exclure que certaines souches puissent être particulièrement performantes, notamment sur des individus plus âgés. D'autre part, en dehors de son aire d'origine australienne, on doit porter une attention toute particulière à l'évolution de la composition spécifique de la flore ectomycorhizienne. Les effets d'une carence à ce niveau sont inconnus pour les *Acacia*, mais constitue potentiellement un obstacle à l'extension de la sylviculture de ces espèces.

A ce titre, le Sénégal constitue un champ d'application privilégié de la mycorhization contrôlée. En effet, au Sénégal, l'absence totale de champignon ectomycorhizien spécifique des stades âgés permet d'envisager des études sur les rôles, très mal connus, de ces espèces.

1

2

3

CINQUIEME PARTIE

**ETUDE *IN VITRO* D'UNE CO-CULTURE :
*BRADYRHIZOBIUM SP. - PISOLITHUS SP.***

1- INTRODUCTION

Chez les légumineuses, les doubles symbioses nodule-MVA sont connues pour leurs effets bénéfiques sur la croissance et la physiologie de la plante (e.g. Gueye, 1983 ; Cornet *et al.*, 1982). Des études menées sur *Acacia holosericea* ont montré les effets bénéfiques de la double inoculation *Bradyrhizobium sp.*-*Glomus mosseae* sur la croissance en pépinière et après transplantation sur le terrain (Cornet et Diem, 1982 ; Cornet *et al.*, 1982 et Roskoski *et al.*, 1986) ; de même nos travaux ont confirmé l'action très bénéfique de la double symbiose nodule-MVA sur la croissance en pépinière d'*Acacia holosericea*. Cependant, les relations qui existent entre les bactéries symbiotiques et le champignon mycorhizien sont encore très mal connues. Tous les modèles qui font intervenir les champignons endomycorhiziens ne peuvent être étudiés *in vitro* car la culture axénique des endogonacées n'est pas encore maîtrisée (Burggraaf et Beringer, 1989).

La double symbiose *Acacia holosericea*-*Bradyrhizobium sp.*-*Pisolithus sp* que nous nous proposons d'étudier a l'avantage de faire intervenir un champignon ectomycorhizien dont la culture axénique est parfaitement contrôlée. Ce modèle nous permet donc d'envisager l'étude *in vitro* des relations entre la bactérie symbiotique fixatrice d'azote et le champignon mycorhizien. Dans une première étape, nous avons étudié *in vitro*, en l'absence de la plante hôte, les relations entre la bactérie et le champignon pendant leur phase de vie saprophytique libre, donc avant l'infection et même les premiers phénomènes de reconnaissance entre les partenaires symbiotiques (Figure 14).

Des travaux ont montré l'existence d'interactions entre la microflore du sol et les champignons ectomycorhiziens. Parmi ceux-ci, Bowen et Théodorou (1979) ont montré *in vitro*, sans la plante hôte, l'effet dépressif de 8 bactéries sur la croissance de 8 champignons ectomycorhiziens, effet dépressif variable selon le milieu de culture. Cependant, en présence de la plante hôte, certaines bactéries peuvent avoir un effet stimulant sur la croissance et l'infectivité du champignon ectomycorhizien.

Garbaye et Bowen (1987), Mac Afee et Fortin (1988) et De Oliveira et Garbaye (1989) ont clairement montré l'existence de micro-organismes agissant comme auxiliaires de l'établissement des symbioses ectomycorhiziennes en stimulant le développement du champignon et l'infection de la plante par celui-ci. Le rôle de ces micro-organismes est important et détermine au moins en partie le succès de l'inoculation avec les champignons ectomycorhiziens (Bowen et Théodorou, 1987).

Les micro-organismes interagissent aussi bien pendant la phase de vie libre qu'au niveau de l'infection ou de l'expression des deux symbiotes. Dans un premier temps, nous avons étudié *in vitro* les interactions entre *Bradyrhizobium sp.* et *Pisolithus sp.*. Cela nous permettra de savoir si, pendant leur vie libre dans la rhizosphère, la bactérie peut stimuler ou inhiber la croissance du champignon et réciproquement. Les interactions à ce niveau sont d'une grande importance. En effet, l'inhibition comme la stimulation de la croissance d'un micro-organisme par l'autre peut en partie conditionner l'établissement des symbioses. L'étude de ce phénomène a été abordé par une simulation *in vitro* de ces conditions qui a consisté à réaliser la co-culture des deux micro-organismes, sans la plante.

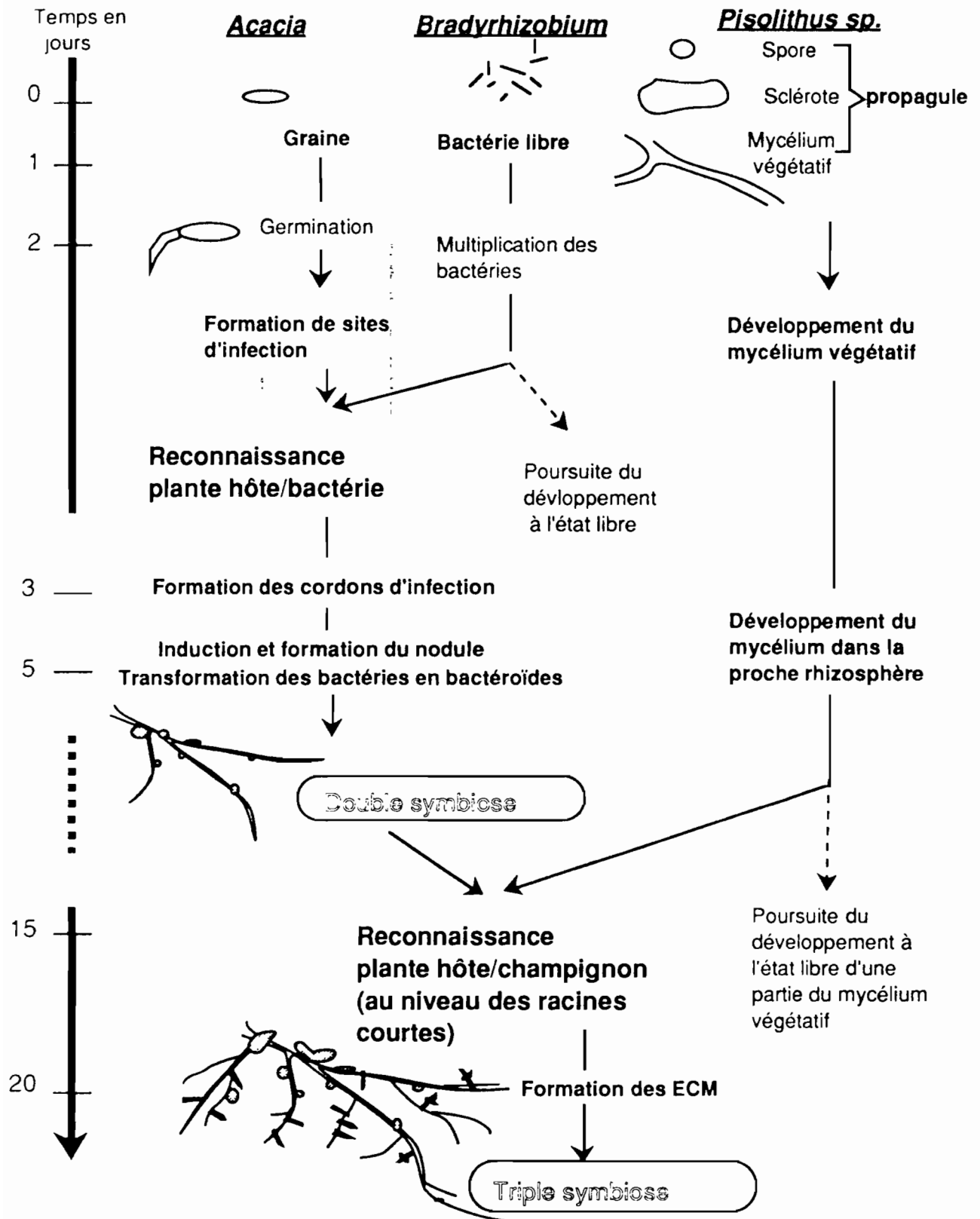


Figure 14 : Schéma des différentes étapes de développement et de l'établissement des symbiotes du trio *Acacia/Bradyrhizobium/Pisolithus sp*

2- MATERIELS ET METHODES

2.1- Choix des micro-organismes.

Pour étudier *in vitro* les relations entre bactérie symbiotique fixatrice d'azote et champignons mycorhiziens, nous avons choisi la souche de *Bradyrhizobium* sp. RHSK1 et la souche de *Pisolithus* sp. ORS.7870. Ces micro-organismes, isolés à la station SS1:5, étaient en symbiose simultanément sur le système racinaire d'un même *Acacia holosericea*.

La bactérie a été conservée à + 4°C en boîte de Petri sur milieu YEM gélosé et repiqué régulièrement sur milieu neuf. Le champignon a été conservé à température ambiante en boîte de Petri sur milieu MNM gélosé et repiquée régulièrement sur milieu neuf.

2.2- Choix du milieu de co-culture.

Afin de réaliser la co-culture, il est nécessaire de trouver un milieu adapté permettant une croissance correcte des deux micro-organismes. La bactérie *Bradyrhizobium* sp. est classiquement cultivée sur milieu YEM (Vincent, 1970). Pour réaliser la culture des champignons ectomycorhiziens, de nombreux milieux de culture sont utilisables. Parmi ceux-ci, nous avons retenu un milieu riche, le milieu MNM (Marx, 1969). Nous avons donc étudié la croissance de la bactérie et du champignon sur les milieux MNM et YEM ainsi que sur des mélanges de MNM (50%)¹ et de YEM (50%) à pH 5,6 et à pH 6,8 (MNM+YEM 5,6 et MNM+YEM 6,8). Les cultures ont été réalisées à l'obscurité, soit sur milieu gélosé en boîte de Petri de 9 cm de diamètre, soit en milieu liquide agité en Erlenmeyer de 250 ml contenant 100 ml de milieu.

2.3- Ensemencement des cultures.

Les boîtes de Petri contenant le milieu gélosé ont étéensemencées par étalement à l'ose pour la bactérie et, pour le champignon, par une bouture de mycélium végétatif de 8 mm de diamètre prélevée à l'emporte pièce avec la gélose de la boîte d'origine.

Les Erlenmeyers contenant le milieu liquide ont étéensemencés avec une culture sur YEM liquide agité de la bactérie, de sorte à obtenir environ 10^6 cellules.ml⁻¹ au départ de la culture. Pour le champignon, l'ensemencement a été réalisé par 8 boutures de mycélium végétatif de 8 mm de diamètre prélevées à l'emporte pièce en ayant soin de retirer au mieux la gélose de la boîte d'origine.

2.4- Mesures de la croissance.

2.4.1- Souche RHSK1.

Sur milieu gélosé, nous avons noté le temps d'apparition des colonies pour que celles-ci soient visibles à l'oeil nu, puis le temps de formation d'une bactérioglé.

¹ les proportions sont exprimées en pour cent par volume

En milieu liquide agité, nous avons mesuré quotidiennement la croissance pendant 9 jours en réalisant des comptages avec une cellule d'Agasse Lafont, ainsi que l'évolution du pH de la culture.

2.4.2- Souche ORS.7870.

Sur milieu gélosé, nous avons étudié l'évolution de la croissance en mesurant le diamètre des colonies à intervalles de deux jours pendant 15 jours.

En milieu liquide agité, nous avons quantifié l'évolution de la biomasse mycélienne produite à intervalles de quatre jours pendant 20 jours. Nous avons également mesuré le relargage des pigments dans le milieu de culture par spectrophotométrie à 360 nm (Prin *et al.*, 1989) ainsi que l'évolution du pH de la culture.

2.5- Dispositifs expérimentaux.

2.5.1- Choix du milieu de co-culture.

Dix boîtes de Petri et dix Erlenmeyers de chaque milieu ont étéensemencés par la bactérie et de même avec le champignon.

2.5.2- La co-culture bactérie-champignon.

Dix boîtes de Petri et dix Erlenmeyers de milieu MNM ont étéensemencés avec la bactérie seule (Rhi), le champignon seul (Pisol), la bactérie et le champignon repiqués simultanément (Rhi+Pisol) et le champignon sur la bactérie préalablement incubée 21 jours à l'obscurité à 28°C (Rh+Pis Dif). Dix Erlenmeyers de milieu MNM ont également étéensemencés avec la co-culture bactérie-champignon réalisée en boîte de Petri (Rh+Pis Syn).

3- RESULTATS

3.1- Croissance des micro-organismes sur différents milieux de culture.

3.1.1- La souche RSK1.

3.1.1.1- Sur milieu gélosé.

Le temps d'apparition des colonies sur milieu gélosé YEM, MNM+YEM pH 5,6 et MNM+YEM pH 6,8 est de trois jours, et de quatre jours sur milieu gélosé MNM; sur ce dernier milieu, nous n'avons pas observé de bactérioglyée. Les colonies cessent apparemment de croître lorsqu'elles ont atteint un diamètre de quelques mm. Sur le milieu YEM, la surface des boîtes est totalement recouverte après 9 jours d'incubation et après 11 jours sur les milieux MNM+YEM pH 5,6 et MNM+YEM pH 6,8 (Tableau 38).

Tableau 38 : temps d'apparition des colonies et de formation d'une bactérioglyée par la bactérie cultivée sur différents milieux gélosés.

Milieu de culture	Temps d'apparition des colonies (en jours)	Temps de formation d'une bactérioglyée (en jours)
MNM	4	-
YEM	3	9
MNM+YEM pH 5,6	3	11
MNM+YEM pH 6,8	3	11

3.1.1.2- En milieu liquide agité.

Nous obtenons des résultats similaires à ce que nous observons en boîte de Petri. Sur les milieux YEM, MNM+YEM pH 5,6 et MNM+YEM pH 6,8, les bactéries ont une phase de croissance active pour atteindre un maximum entre le 5^{ème} et le 6^{ème} jour de la culture et commence à se lyser à partir du septième jour. Une croissance significativement meilleure a été obtenue sur milieu YEM (Test de Newman et Keuls 5%). L'addition du milieu MNM et la variation du pH ont produit une légère baisse de la croissance, une diminution du nombre de bactéries au maximum ainsi qu'une phase de lyse plus marquée, surtout à pH 5,6. Sur milieu MNM, la croissance est très significativement plus lente et, après 10 jours d'incubation, la culture n'a toujours pas atteint son maximum (Figure 15). Le nombre de cellules dans la culture se stabilise à 3.10^8 cellules.ml⁻¹ après 12 jours de culture et se maintient à ce niveau après 40 jours de culture.

Sur milieu YEM, on observe une alcalinisation du milieu qui s'accroît légèrement entre le 7^{ème} et le 9^{ème} jour de la culture. Sur les trois autres milieux, on assiste à une acidification du milieu, relativement faible sur le milieu MNM+YEM pH 6,8 et plus forte sur les milieux MNM+YEM pH 5,6 et MNM et à une légère augmentation de pH entre le 7^{ème} et le 9^{ème} jour de la culture. L'augmentation de pH correspond au début de la phase de lyse pour les cultures réalisées sur les milieux YEM, MNM+YEM pH 6,8 et MNM+YEM pH 5,6.

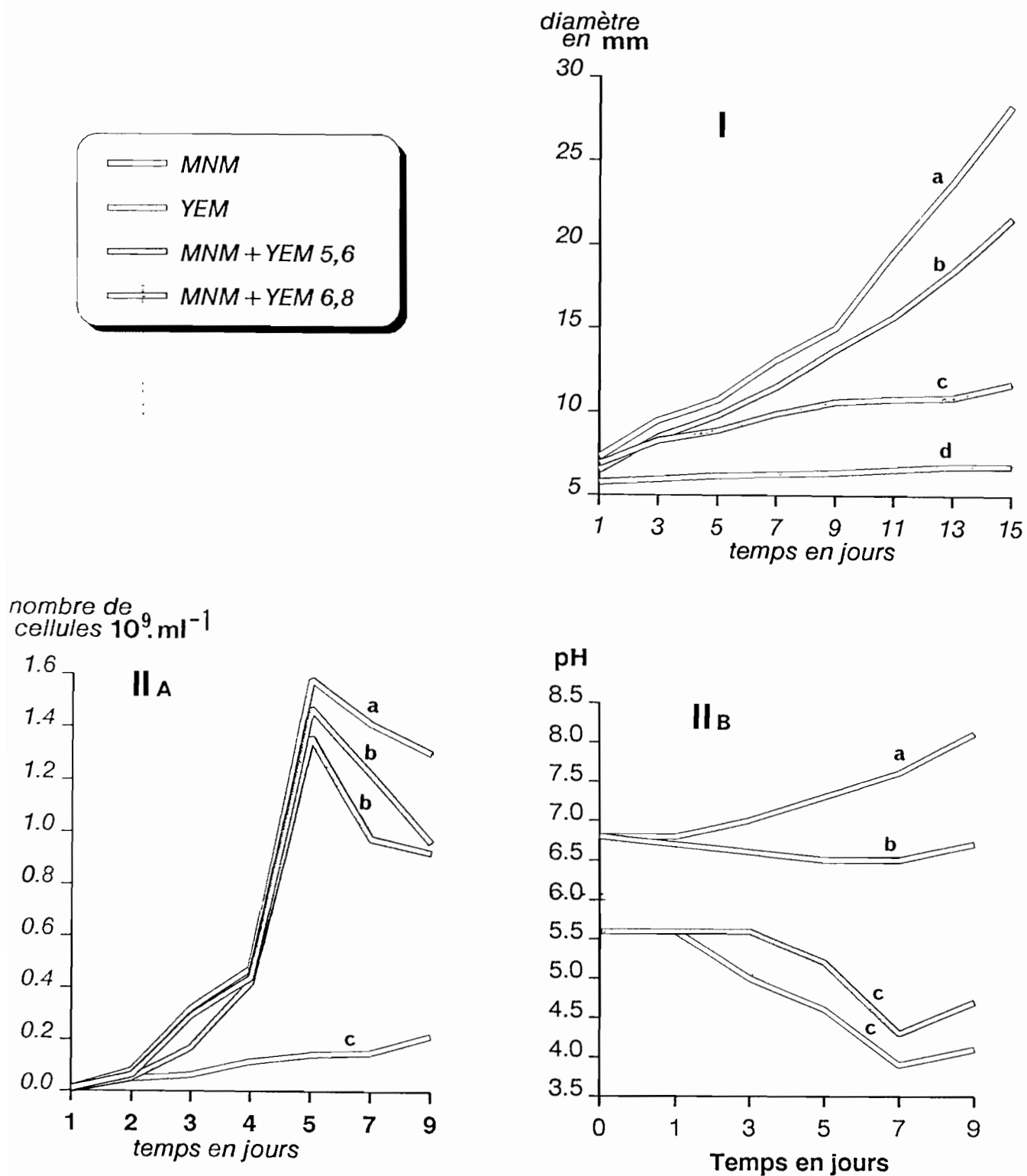


Figure 15: **I :** Croissance de *Pisolithus sp.* ORS.7870 en boîte de Petri sur différents milieux de culture gélosés à l'obscurité à 28°C. Evolution du diamètre des colonies de *Pisolithus sp.* (en cm) en fonction du temps. **II :** Croissance de *Bradyrhizobium sp.* RHSK1 sur différents milieux de culture liquide agité à l'obscurité à 28°C. **A :** Evolution du nombre de cellules. 10^9 en fonction du temps. **B :** Evolution du pH du milieu de culture en fonction du temps.

3.1.2- La souche ORS.7870.

3.1.2.1- Sur milieu gélosé.

Sur milieu YEM, nous avons obtenu une croissance quasi nulle. Sur les milieux MNM+YEM pH 5,6 et MNM+YEM pH 6,8, la croissance est très lente et hétérogène. Sur milieu MNM, la croissance est très homogène et rapide (Figure 15:I).

Sur les milieux à pH 6,8, nous avons observé dès le premier jour de culture le relargage d'un pigment brun dans le milieu; ce relargage s'est intensifié au cours du temps. Sur milieu MNM+YEM pH 5,6, nous avons observé à partir du 2^{ème} jour de la culture le relargage d'un pigment jaune vif dans le milieu de culture; ce relargage s'est intensifié au cours du temps et est devenu brun après 12 jours de culture. Sur milieu MNM, l'apparition de pigments dans le milieu de culture est très tardive et ne se produit pas avant trois semaines de culture (Planche 19).

3.1.2.2- En milieu liquide agité.

Sur les milieux YEM et MNM+YEM pH 6,8, la croissance du mycélium est quasi nulle; on observe également sur ces milieux un fort relargage de pigments dans le milieu de culture. Le milieu s'acidifie légèrement au cours de la culture (Figure 16:A, B, C).

Les milieux MNM et MNM+YEM 5,6 permettent respectivement un doublement de la biomasse en 17 et 20 jours (Figure 16:A). L'évolution de la densité optique du milieu de culture est significativement moins rapide qu'avec les milieux YEM et MNM+YEM pH 6,8. De même, c'est sur milieu MNM que le relargage de pigments dans le milieu est le plus faible (Figure 16:B). L'acidification du milieu de culture est par contre beaucoup plus forte avec le milieu MNM (Figure 16:C).

3.2- Co-culture bactérie-champignon.

Afin de réaliser la co-culture de la bactérie et du champignon, nous avons choisi le milieu MNM, car la vitesse de croissance de la bactérie est normalement très supérieure à celle du champignon, sauf sur MNM où la croissance de la bactérie est très ralentie. Ce milieu nous permet donc d'éviter l'envahissement total de la co-culture par la bactérie.

3.2.1- Sur milieu gélosé MNM.

3.2.1.1- Croissance de la bactérie.

La co-culture avec le champignon n'a pas modifié le temps d'apparition des colonies bactériennes qui deviennent visibles à l'oeil nu après quatre jours de culture comme sur la culture témoin (Tableau 38). La culture du champignon réalisée sur une culture bactérienne a provoqué le brunissement des colonies de cette dernière. Cette coloration devient visible après quatre jours de culture.

3.2.1.2- Croissance du champignon.

Le repiquage simultané de la bactérie et du champignon provoque une très nette augmentation de la vitesse d'accroissement du diamètre des colonies du champignon qui passe de 1,40 mm.jour⁻¹ à 5,08 mm.jour⁻¹. Cependant, lorsque l'on réalise la culture du champignon sur une culture bactérienne âgée de 21 jours, on constate alors une importante diminution de la vitesse de croissance du champignon qui passe à 0,24 mm.jour⁻¹ (Figure 17:I).

Pour ces deux conditions de co-culture, nous n'avons observé à aucun moment l'apparition de pigments dans le milieu de culture.

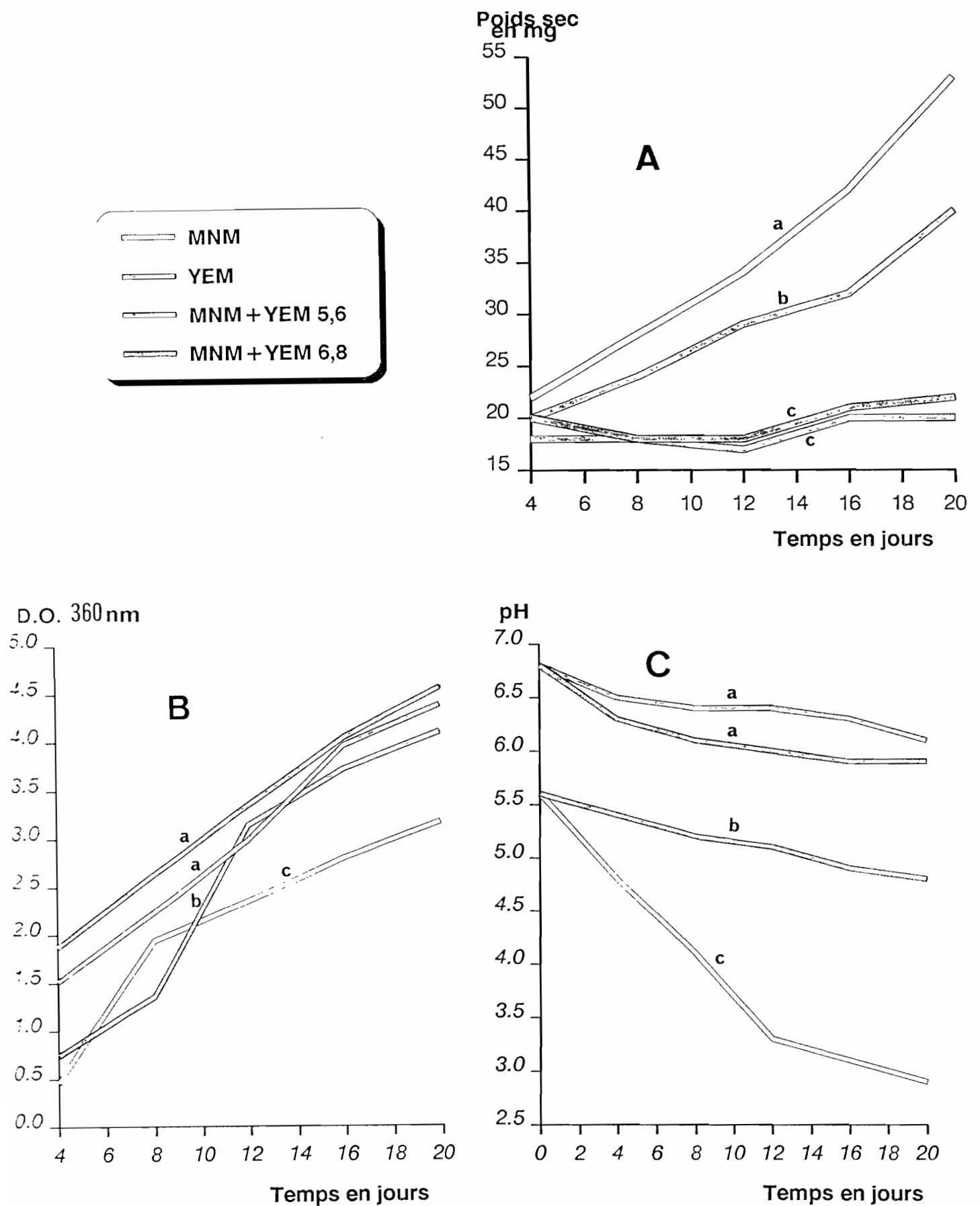


Figure 16: Croissance de *Pisolithus sp.* ORS.7870 sur différents milieux de culture liquide agitée à l'obscurité à 28°C. **A :** Variation de la biomasse mycélienne (en mg de poids sec) en fonction du temps. **B :** Variation de la densité Optique (D.O. 360 nm) du milieu de culture en fonction du temps. **C :** Variation du pH du milieu de culture en fonction du temps.

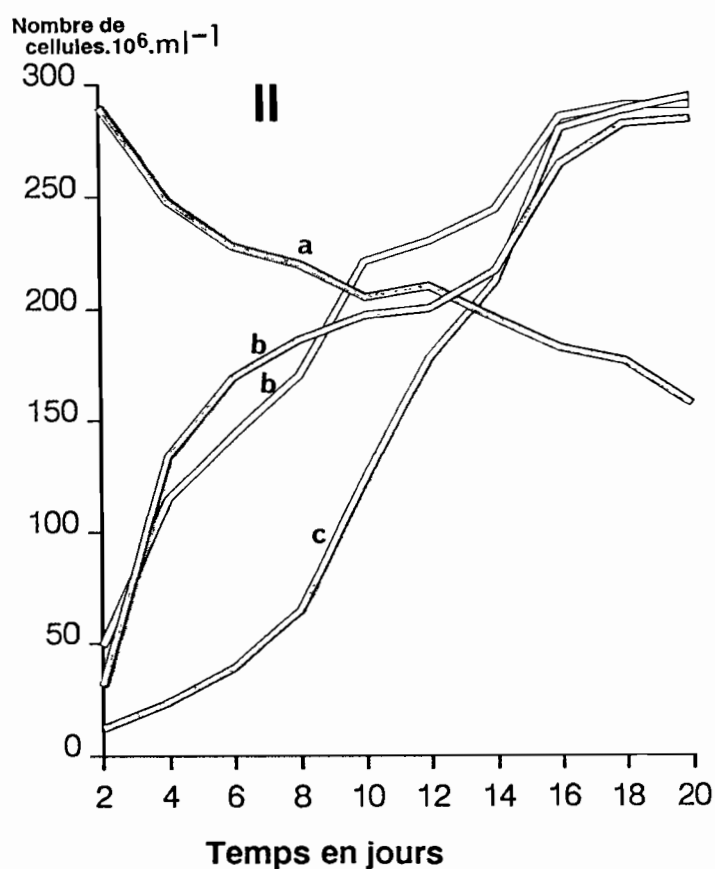
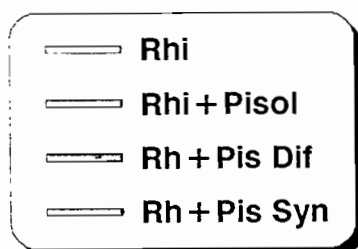
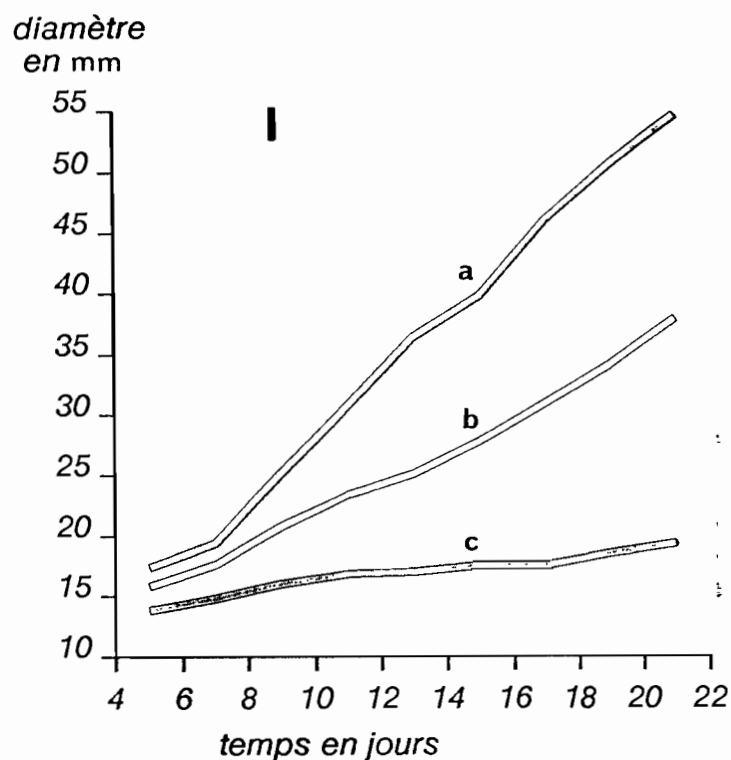
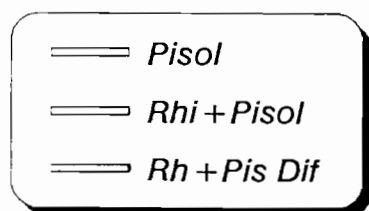


Figure 17: I : Co-culture *Bradyrhizobium* sp. RHSK1/*Pisolithus* sp. ORS.7870 sur milieu MNM liquide agité à l'obscurité à 28°C. Variation du nombre de cellules de *Bradyrhizobium* sp. RHSK1. 10^6 en fonction du temps. II : Co-culture *Bradyrhizobium* sp. RHSK1/*Pisolithus* sp. ORS.7870 en boîte de Petri sur milieu MNM gélosé à l'obscurité à 28°C. Variation du diamètre des colonies de *Pisolithus* sp. ORS.7870 (en cm) en fonction du temps.

3.2.2- En milieu liquide MNM agité

3.2.2.1- Croissance de la bactérie

La co-culture avec le champignon a considérablement réduit la vitesse de croissance pendant la première semaine de culture. Cependant, le maximum de 3.10^8 cellules.ml⁻¹, est atteint après deux semaines de culture comme pour le témoin.

L'ensemencement des cultures avec des implants gélosés de la co-culture bactérie-champignon a permis une évolution du nombre de cellules dans le milieu de culture similaire à celle du témoin (Figure 17:II).

La co-culture du champignon sur la culture bactérienne âgée de 21 jours provoque une baisse du nombre de cellules qui n'apparaît pas si on laisse évoluer la culture pure pendant un même laps de temps.

3.2.2.2- Croissance du champignon.

L'accroissement de la biomasse mycélienne de la culture pure du champignon est de 2,2 mg.jour⁻¹. Les co-cultures bactérie-champignon repiqués simultanément et bactérie-champignon issus d'une co-culture réalisée en boîte de Petri sur milieu gélosé ont permis respectivement un accroissement moyen de la biomasse mycélienne de 2,4 et de 3,0 mg.jour⁻¹ (Figure 18:A). Ces valeurs sont très significativement supérieures au témoin (test de Newman-Keuls au seuil de 1%).

Par contre, la co-culture réalisée avec une culture bactérienne âgée de 21 jours a réduit l'accroissement moyen de la biomasse mycélienne à 0,8 mg.jour⁻¹.

3.2.2.3- Evolution de la D.O. 360 nm et du pH du milieu de co-culture.

Comme cela est illustré figure 18:B, l'augmentation de la D.O. 360 nm du milieu de co-culture est significativement plus faible, respectivement pour la co-culture issue d'une co-culture préalablement réalisée en boîte de Petri sur milieu gélosé, puis pour la culture pure du champignon, et enfin pour les co-cultures bactérie-champignon repiqués simultanément et du champignon repiqué sur la culture bactérienne âgée de 21 jours qui évoluent de façon identique.

Les variations de pH illustrées figure 18:C montrent dans tous les cas une acidification du milieu de co-culture. Cette acidification est significativement moins rapide avec la culture pure du champignon et identique pour les autres conditions.

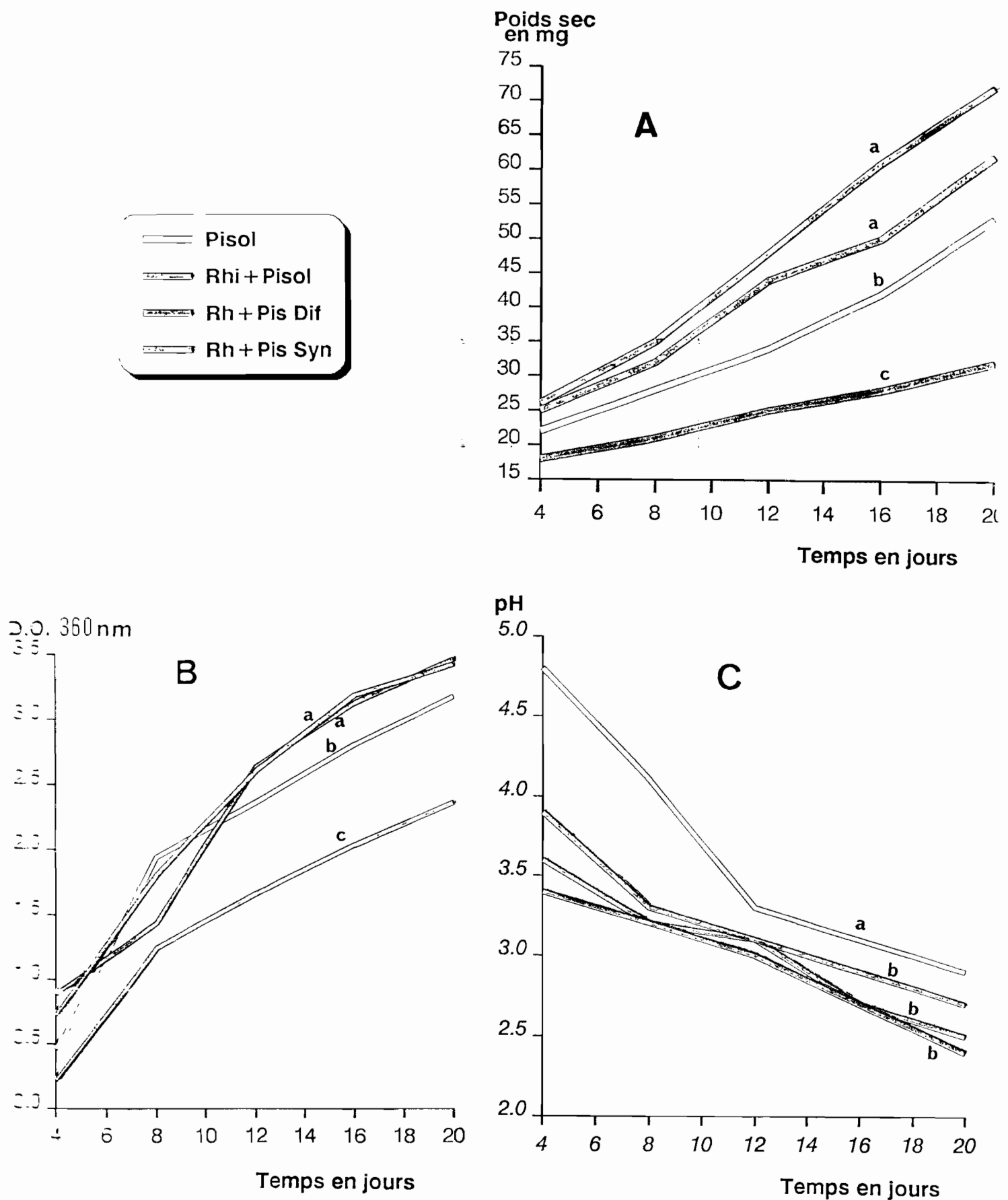


Figure 18: Co-culture *Bradyrhizobium* sp. RRSK1/*Pisolithus* sp. ORS.7870 sur milieu MNM liquide agité à l'obscurité à 28°C. **A :** Variation de la biomasse mycélienne (en mg de poids sec) en fonction du temps. **B :** Variation de la Densité Optique (D.O. 360 nm) du milieu de culture en fonction du temps. **C :** Variation du pH du milieu de culture en fonction du temps.

4- DISCUSSION

4.1- Le choix du milieu de culture

Les milieux de cultures utilisés, MNM et YEM, sont caractérisés par leur richesse en éléments nutritifs. Dans ces conditions, les micro-organismes ne sont pas limités dans leur croissance par les ressources du milieu. Les phénomènes de compétition trophiques qui pourraient intervenir entre la bactérie et le champignon pendant une co-culture sur des milieux moins riches sont à exclure. Dans nos expériences, nous pouvons déceler uniquement des effets produits par la synthèse par un des micro-organismes de métabolites assimilables par l'autre et/ou la détoxification du milieu de culture par un des micro-organismes pour l'autre. Les travaux de Bowen et Théodorou (1979) ont montré que les champignons mycorhiziens en co-culture avec des bactéries de la rhizosphère réagissaient de façon très différentes suivant le milieu de culture utilisé. Il est très probable, dans notre cas, que nous aurions obtenus des résultats différents avec d'autres milieux de culture.

Les milieux MNM, pour le champignon et YEM, pour la bactérie sont caractérisés par le glucose et le mannitol comme source de carbone respective. Dans le milieu MNM, l'azote est sous forme ammoniacale, cette dernière est rapidement assimilée par le champignon et a pour conséquence la libération de protons d'où résulte une acidification rapide du milieu de culture. Pour remédier à cela, de l'extrait de malt est ajouté au milieu de culture. Dans le milieu YEM, l'azote est sous forme d'acides aminés fournis par de l'extrait de levure. Au fur et à mesure de la culture, la bactérie alcalinise le milieu. Nos résultats indiquent que le mannitol est difficilement métabolisable par le champignon et la présence de ce composé dans le milieu réduit de façon très significative la croissance de ce micro-organisme. Pour ce qui concerne la bactérie, le glucose semble difficilement métabolisable et, sur milieu MNM, la croissance de la bactérie est très réduite. De plus, ce milieu s'acidifie au cours de la culture de la bactérie. Cette diminution du pH résulte probablement de la dégradation du $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ par la bactérie. L'acidification des milieux de culture liée à l'utilisation d'une forme ammoniacale d'azote apparaît comme un inconvénient majeur de l'utilisation de cet ion.

Cependant, pour le choix du milieu de culture, la croissance du champignon apparaît comme le principal facteur limitant de l'étude de la co-culture ; malgré la faible croissance de la bactérie sur le milieu MNM et l'acidification plus lente des autres milieux au cours de la culture du champignon. Nous avons retenu le milieu MNM pour la suite de nos travaux. Ce dernier a l'avantage de réduire considérablement la vitesse de croissance de la bactérie et par la même empêche l'envahissement du milieu de culture par cette dernière. Nous avons également constaté que le brunissement du milieu de culture provoqué par la culture du champignon est beaucoup moins important sur ce milieu.

4.2- Comportement de la bactérie

L'observation visuelle des cultures en milieu gélosé ne met pas en évidence une action du champignon sur le développement des colonies bactériennes. Par contre, la culture du champignon sur des colonies déjà bien développées provoque un brunissement de ces dernières. Les numérations de cellules sur de culture en milieu liquide nous ont permis de démontrer une légère réduction de la croissance de la bactérie par la présence du champignon. Celle-ci est probablement liée à

l'acidification du milieu par le champignon. La culture du champignon sur une culture saturée en bactérie provoque une réduction de la concentration en cellules dans le milieu. Cette réduction est à mettre en relation avec le brunissement des colonies bactériennes observées sur milieu gélosé. Il est probable, que l'acidification et le brunissement du milieu de culture par le champignon accélèrent aussi la lyse des cellules bactériennes.

4.3- Comportement du champignon

En boîte de Petri et en Erlenmeyer nous avons étudiés deux conditions. Soit le champignon se développe en même temps que la bactérie soit, le champignon se développe sur une culture bactérienne déjà développée. Dans le premier cas, on observe une importante stimulation de la croissance du mycélium par rapport à la culture pure du mycélium et dans le second cas, au contraire, une diminution de la vitesse de croissance du mycélium par rapport à la culture témoin. Cela, aussi bien sur milieu gélosé qu'en milieu liquide.

Une troisième condition, l'ensemencement des cultures liquides avec une co-culture réalisée en milieu gélosé a permis d'obtenir des résultats peu différents de ce qu'on a observé pour la co-culture réalisée en repiquant simultanément la bactérie et le champignon. Cependant, dans cette dernière condition, le nombre de cellules bactériennes au départ de la culture n'est pas contrôlé précisément ; le nombre de cellules bactériennes au départ de la culture est très certainement supérieur à 10^6

La stimulation par la bactérie de la croissance du champignon ne peut pas être imputée à une réduction de la vitesse d'acidification du milieu de culture. En effet, dans tous les cas, le pH des co-cultures est inférieur au pH de la culture pure du champignon. Nous émettons ici une hypothèse. La bactérie synthétise des acides organiques comme l'acide malique ou l'acide citrique ou encore des vitamines ou des régulateurs de croissance qui stimulent la croissance du champignon. Cela a déjà été observé chez certaines bactéries auxiliaires de la mycorhization (Strzelczyk et Rozycki, 1985 ; Duponnois et Garbaye, 1990). Dans notre cas, la production d'acides organiques serait la cause de la suracidification du milieu de culture et au moins en partie de la stimulation de la croissance du champignon. Cependant, l'acidification de la culture réalisée sur une culture bactérienne saturée est identique or, dans ce cas, la croissance est très réduite par rapport au témoin. Dans ce dernier cas, on peut invoquer une acidification par la lyse des cellules bactériennes.

Le brunissement du milieu de culture est provoqué par le relargage de pigments, probablement des polyphénols, pendant la culture du champignon. De l'accumulation de ces pigments dans le milieu de culture peut résulter une auto-intoxication du champignon. Duponnois et Garbaye (1990) ont parfaitement mis en évidence ce phénomène avec *Paxillus involutus* et *Hebeloma crustuliniforme*. Ces auteurs ont aussi montré la capacité de huit et neuf isolats bactériens à détoxifier le milieu de culture respectivement pour *Hebeloma crustuliniforme* et *Paxillus involutus* ; cela en réduisant les teneurs des milieux en pigments fongiques. Nous avons observé une diminution de la DO 360 nm du milieu pour les co-cultures issues d'une co-culture réalisée préalablement en boîte de Petri. Toutefois, cette réduction de DO 360 nm n'a pas été observée pour la co-culture ensemencée au départ avec 10^6 cellules.ml⁻¹, condition pour laquelle la production de mycélium a été légèrement inférieure.

L'hypothèse de la stimulation de croissance par détoxification du milieu par la bactérie pour le champignon n'explique pas entièrement ce phénomène. Cette détoxification ne serait

efficace que pour des concentrations en cellules bactériennes supérieures à 10^6 au départ de la culture. Ces concentrations restent encore indéterminées.

La stimulation comme l'inhibition de la croissance du champignon est un élément très important à prendre en compte pour la réussite des inoculations en pépinière. L'action de *Bradyrhizobium* sp. sur *Pisolithus* sp. pendant sa phase de croissance saprophytique libre conditionne au moins en partie l'installation de la symbiose. La stimulation de l'ectomycorhization par l'inoculation par *Bradyrhizobium* sp. que nous avons observée sur *Acacia holosericea* peut résulter, au moins en partie, de la stimulation de la croissance de *Pisolithus* sp. par la bactérie.

Planche 19 :

Pisolithus sp. ORS.7870 cultivé sur différents milieux gélosés :

fig 1 : sur milieu MNM après 7 jours de culture.

fig 2 : sur milieu MNM+YEM pH 5,6 après 21 jours de culture.

fig 3 : sur milieu MNM+YEM pH 6,8 après 21 jours de culture.

fig 4 : sur milieu YEM après 21 jours de culture.

fig 2 et 3, remarquer sur le mycélium l'exsudation de gouttelettes riches en pigments.

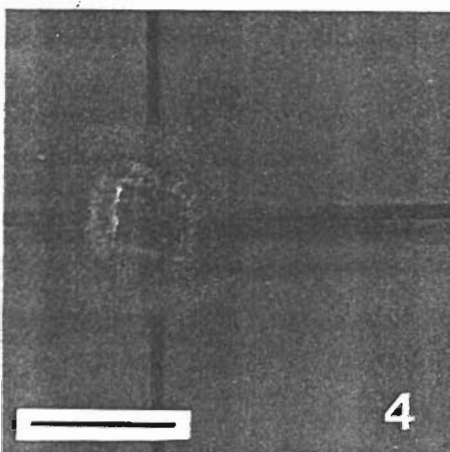
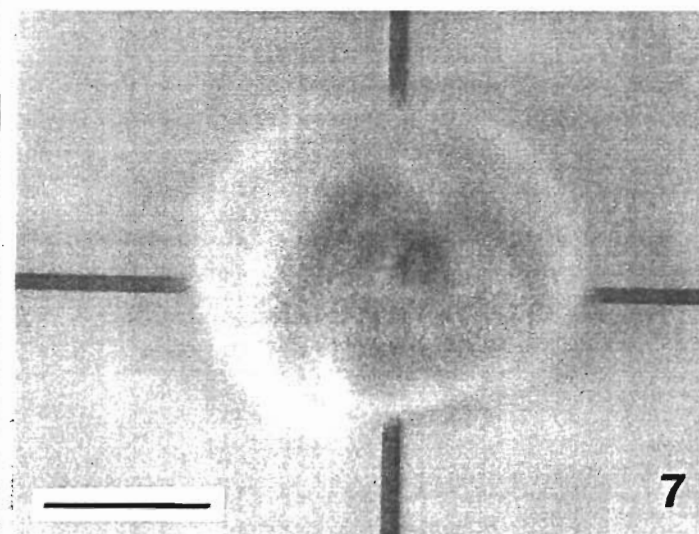
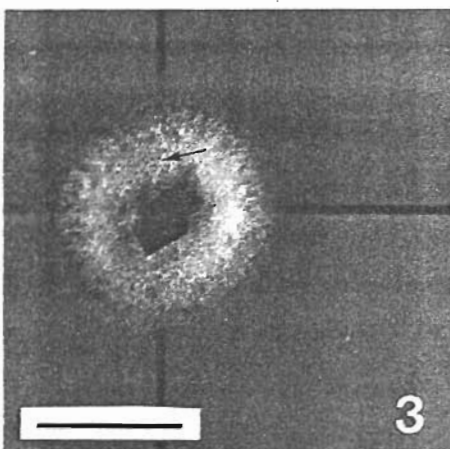
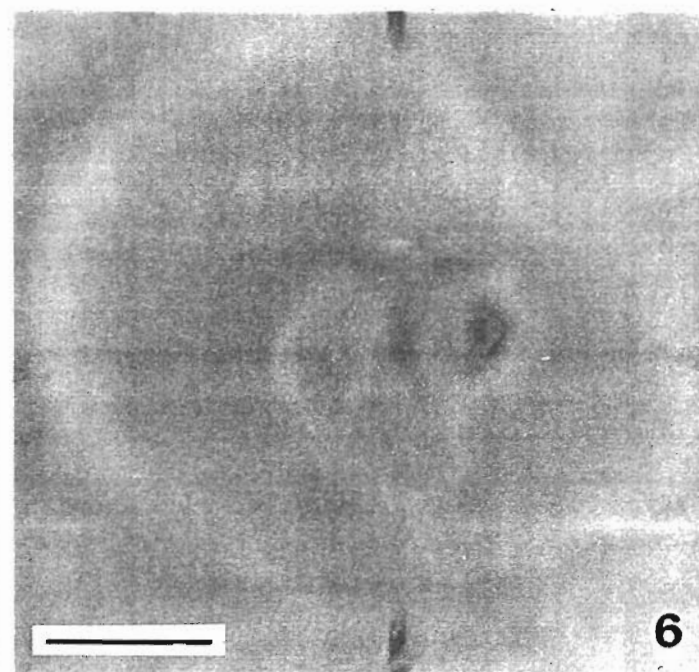
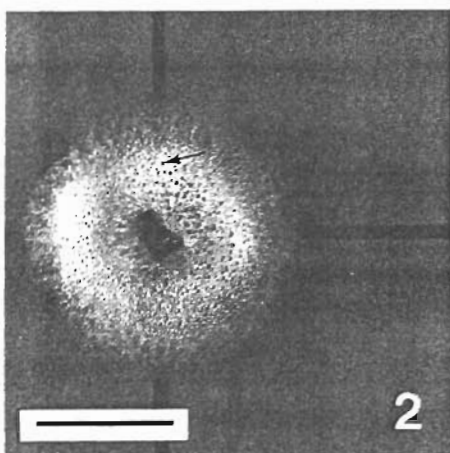
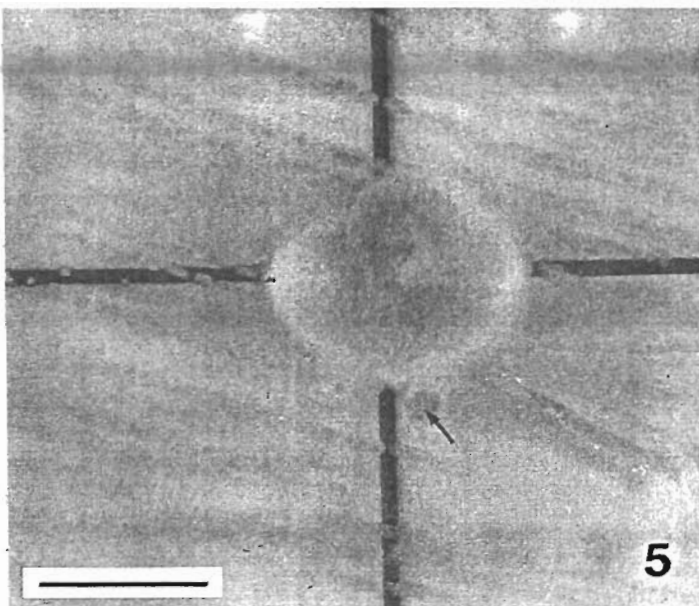
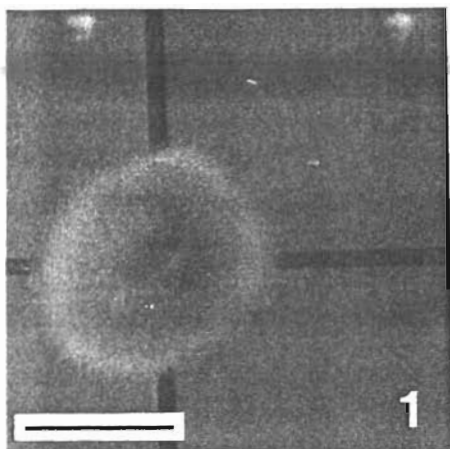
Co-culture *Pisolithus* sp. ORS.7870-*Bradyrhizobium* sp. RSK1 sur milieu MNM gélosé après 14 jours de culture :

fig 5 : *Pisolithus* sp. ORS.7870 repiqué sur une culture de *Bradyrhizobium* sp. âgée de 21 jours.

fig 6 : *Pisolithus* sp. cultivé simultanément avec *Bradyrhizobium* sp. RSK1.

fig 7 : culture pure de *Pisolithus* sp. ORS.7870.

fig 5, remarquer l'intensité du brunissement des colonies de *Bradyrhizobium* sp. RSK1 à proximité du mycélium de *Pisolithus* sp. ORS.7870.



CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

L'ensemble de nos observations de terrain et de nos résultats expérimentaux ont permis de dégager plusieurs points importants concernant les trois types de symbiotes des *Acacia* et les *Acacia* eux même

Tout d'abord, nos observations sur le terrain ont mis en évidence la présence de nodules fixateurs d'azote sur quelques espèces locales et introduites. Des observations complémentaires réalisées grâce à un piégeage sur 60 espèces d'*Acacia* attestent de la nodulation pour 58 d'entre elles. Cette observation n'avait jamais été effectuée pour 39 d'entre elles. Il est probable que parmi les 1200 espèces que comprend ce genre, une grande majorité soient nodulées. Les bactéries impliquées dans la nodulation sont soit des *Bradyrhizobium*, bactéries à croissance lente qui nodulent principalement les *Acacia* à phyllodes soit des *Rhizobium*, bactéries à croissance rapide qui nodulent principalement les *Acacia* à feuilles. Ces micro-organismes sont présents dans les sols sénégalais et assurent une nodulation souvent médiocre pour l'ensemble des espèces. Cette médiocrité a été attribuée à l'insuffisance numérique des populations naturelles présentes dans les sols, à la carence en phosphore du sol ou encore, à des phénomènes d'antagonismes avec les autres micro-organismes du sol

Donc, en ce qui concerne la nodulation des *Acacia*, en raison d'une spécificité d'hôte qui semble réduite à la distinction *Rhizobium-Bradyrhizobium*, dans un premier temps, la sélection de souches efficaces et efficientes peut être réalisée au Sénégal sur les souches locales. Nous avons vu, dans nos conditions de travail, que l'isolement et la conservation de ces souches ne posent pas de problème majeur, bien que *Rhizobium* soit moins résistant à la conservation que *Bradyrhizobium*.

L'insuffisance numérique des populations de *Rhizobium s.l.* rend l'inoculation des arbres en pépinière nécessaire afin d'assurer à ces derniers une bonne nodulation et par là même une certaine autotrophie vis-à-vis de l'azote.

Parmi les techniques d'inoculation dont nous disposons, l'inclusion de ces micro-organismes dans un polymère d'alginate nous paraît une excellente solution. D'abord, l'usage de ce type d'inoculum, possible à grande échelle est aisé. D'autre part, le protocole d'utilisation de cette inoculum rend nécessaire la dissolution des billes d'alginate dans un tampon phosphate. Chaque plant inoculé de la sorte en pépinière reçoit en plus de la bactérie symbiotique une dose de phosphore de l'ordre de 40 ppm. Or, nous savons que cet élément est un facteur limitant de la nodulation. Les plants ainsi inoculés sont bien nodulés et ont une croissance accrue.

In situ et en serre, en conditions contrôlées, nous avons observé des MVA dans le système racinaire de la plupart des plantes étudiées, qu'elles soient locales ou introduites et dans le système racinaire de tous les *Acacia* examinés. Les champignons endomycorhiziens sont très répandus et non ou très peu spécifiques. La compatibilité des *Endogonaceae* locales vis-à-vis des essences introduites, notamment les *Acacia* australiens est un point important pour le succès de leur introduction en Afrique. L'endomycorhization des espèces ne constitue pas un obstacle à l'introduction de nouvelles espèces d'arbres dans la région. Cependant, ces observations n'augurent en rien de l'efficacité de ces micro-organismes pour la plante hôte. D'ailleurs, de très grandes différences existent entre les champignons endomycorhiziens à ce niveau. La détermination, l'isolement et la sélection de nouvelles souches de champignons endomycorhiziens est un aspect important de l'amélioration par la voie symbiotique de la sylviculture des *Acacia*, mais aussi, de nombreuses autres

espèces endomycorhizées. En effet, nous avons vu dans la quatrième partie de ce mémoire, l'importance du rôle joué par *Glomus mosseae*, champignon d'origine tempérée, dans l'amélioration de la nutrition phosphatée d'*Acacia holosericea*, arbuste d'origine tropicale. Toutefois, la mise en collection et la conservation des souches d'*Endogonaceae* posent d'énormes problèmes. Les recherches sur ce thème sont à poursuivre ; il en va de même pour la production d'inoculum. Actuellement la multiplication sur plante hôte qui est une technique fastidieuse reste encore la plus utilisée et nous ne disposons d'aucun moyen simple qui permette de produire rapidement en grande quantité un inoculum de qualité ; c'est-à-dire, infectif et pure. L'inoculation en pépinière d'une grande quantité de plants est encore limitée au stade expérimental.

Pour ce qui concerne les champignons ectomycorhiziens, nous avons pu constater la très grande diversité des espèces fongiques présumées ectomycorhiziennes des essences locales du Sénégal et du Fouta Djallon. D'après les récentes récoltes réalisées conjointement par le CTFT, l'INRA et le CSIRO en Australie, il semble que la flore fongique ectomycorhizienne des espèces australiennes, dans leur aire d'origine, soit aussi très diversifiée, notamment en espèces hypogées. Ces espèces ont été trouvées en association avec les *Eucalyptus* mais, il est très probable que certaines d'entre elles soient commune avec les *Acacia*. En effet, toutes les espèces connues ectomycorhiziennes des *Acacia* le sont aussi pour les *Eucalyptus*.

Au Sénégal, la diversité des espèces fongiques présumées ectomycorhiziennes des essences introduites d'Australie est très réduite. Nos travaux ont démontré, *in situ*, l'ectomycorhization des essences australiennes avec seulement trois espèces de *Sclerodermataceae* et seulement une, *Pisolithus sp.*, pour les *Acacia*. L'origine de ce dernier champignon est probablement australienne. En effet, cette espèce n'a été récolté sur le terrain que sous des espèces introduites d'Australie. Dans aucun cas, nous ne l'avons trouvée sous des essences locales ou introduites d'autres continents. De plus, cette espèce est la seule qu'on rencontre dans les zones arides et semi arides d'Afrique et cela toujours en association avec les essences australiennes.

Les synthèses ectomycorhiziennes que nous avons réalisées au laboratoire ont mis en évidence l'ectomycorhization des *Acacia* avec quatre champignons, *Pisolithus sp.*, *Pisolithus tinctorius*, *Paxillus involutus* et *Scleroderma dictyosporum*, qui n'étaient pas encore connus ectomycorhiziens des *Acacia* ; ce qui porte à neuf le nombre des espèces connues ectomycorhiziennes des *Acacia*.

L'expérience d'inoculation triple a parfaitement démontré l'inefficience au stade de la pépinière de deux souches de l'unique espèce ectomycorhizienne des *Acacia* australiens au Sénégal.

Une carence au niveau de l'efficience et de la diversité des espèces paraît évidente. Le Sénégal constitue un terrain expérimental privilégié pour entreprendre ces études. En effet, l'introduction à partir de l'Australie de nouvelles espèces ectomycorhiziennes, efficaces ou plus spécifiques des stades âgés permettra aisément de mettre en évidence les effets de ces dernières sur la plante hôte.

Toutefois, la création et la conservation d'un soucier de champignons ectomycorhiziens est une tâche ardue. Nous avons vus que certaines souches s'isolent facilement à partir de fragment de carpophore. La récolte de ces derniers constitue alors un facteur limitant. Pour d'autres espèces comme les russules ou les lactaires, à l'instar des *Endogonaceae*, la culture *in vitro* n'est pas encore possible. Par ailleurs, la conservation exige qu'on repique régulièrement le mycélium de ces souches sur un milieu neuf. Même si l'intervalle de temps entre les repiquages peut être

augmenté par un abaissement de la température de conservation, l'entretien d'un soucier reste un travail fastidieux.

La production d'inoculum et l'inoculation des plants en pépinière constituent deux obstacles importants. Si l'on considère que 50 ml d'inoculum produit sur tourbe vermiculite est la dose minimum requise pour une bonne ectomycorhization des *Acacia*, pour le reboisement d'un hectare à la densité de 1000 plants il est nécessaire de produire 50 litres d'inoculum. Les capacités actuelles de production d'inoculum ne permettent pas d'alimenter les pépinières en inoculum ectomycorhizien. De plus, les techniques d'inoculation disponibles actuellement ne permettent pas l'inoculation en masse de pépinière avec du mycélium végétatif.

En ce qui concerne les *Acacia* nous avons mis en évidence, parmi les espèces étudiées, deux groupes selon leur type mycorhizien potentiel. Un premier groupe, constitué des *Acacia* à feuilles qui sont exclusivement à MVA et un second qui regroupe les *Acacia* à phyllodes qui sont à MVA ou MVA et à ECM. Ce dernier groupe est exclusivement australien. La nodulation semble possible pour la plus part des espèces. Trois groupes de nodulation croisée ont été définis. Le premier comprend les espèces (une majorité des *Acacia* à feuilles) qui sont nodulées uniquement par *Rhizobium*, le deuxième comprend les espèces (une majorité des *Acacia* à phyllodes) qui sont nodulés uniquement par *Bradyrhizobium* et enfin un troisième groupe qui comprend les espèces nodulées indifféremment par *Rhizobium* ou *Bradyrhizobium*.

Nous avons aussi mis en évidence que les *Acacia* constituent typiquement des symbioses tripartites composées de l'espèce hôte, d'une bactérie fixatrice d'azote et d'un champignon mycorhizien. Il est vraisemblable que ce dernier rôle puisse être joué par des champignons endomycorhiziens ou ectomycorhiziens pour les *Acacia* australiens. L'existence et le rôle d'une succession MVA-ECM et le rôle des ECM spécifiques des stades plus âgés sont encore inconnus. Pour *Acacia holosericea*, les effets bénéfiques de la double inoculation *Bradyrhizobium* sp.-*Glomus mosseae* sont spectaculaires et ont démontré que les fertilisations minérales ne remplacent pas les symbioses.

Les symbioses constituent un élément indissociable de l'amélioration des *Acacia* et de la réussite de leur plantations en Afrique.

BIBLIOGRAPHIE

ADAM, J.G., BRIGAUD, F., CHARREAU, C. et FAUCK, R. (1965). Etudes sénégalaises n°9. Connaissance du Sénégal-Climat-Sols-Végétation. C.R.D.S., Saint-Louis, Sénégal.

ALEXANDER, I.J. et HARDY, K. (1981). Surface phosphate activity of sitka spruce mycorrhizas from a serpentine site. *Soil Biol. Biochem.*, 13:301-305.

ALLEN, O.N. et ALLEN, E.K. (1981). The *Leguminosae*. The University of Wisconsin Press, 812 p.

BA, A.M. (1990). Contribution à l'étude de la symbiose ectomycorhizienne chez deux essences forestières d'Afrique intertropicale : *Azela africana* Sm. et *Uapaca guineensis* Müll. Arg. Thèse, Montpellier, 193 p.

BA, A.M., SOUGOUFARA, B. et THOEN, D. (1987). The triple symbiosis of *Casuarina equisetifolia* in Senegal. In : *Mycorrhizae in the next decade* (Ed. : SYLVIA, D.M., HUNG, L.L. et GRAHAM, J.H.), University of Florida, Gainesville, 121 p.

BADJI, S., DUCOUSSO, M., GUEYE, M. et COLONNA, J.P. (1988a). Fixation biologique de l'azote et possibilité de nodulation croisée chez les deux espèces d'acacias producteurs de gomme dure : *Acacia senegal* L. Willd. et *Acacia laeta* R. Br. ex Benth. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, 307:663-668.

BADJI, S., DUCOUSSO, M., GUEYE, M. et COLONNA, J.P. (1988b). Effect of the addition of phosphorus with *Rhizobium* inoculation on the nodulation and the growth of two species of gum arabic trees. In : III^{ème} Conférence de l'Association Africaine pour la fixation Biologique de l'Azote (AABNF) 7-12 Nov. Dakar, Sénégal.

BADJI, S., DUCOUSSO, M., THOEN, D. et COLONNA, J.P. (1989). Influence de la double inoculation *Rhizobium-Glomus mosseae* sur la nodulation et la croissance de jeunes *Acacia laeta* R. Br. ex Benth. In : *Trees for development in Sub-Saharan Africa*. ICRAF HQ., Nairobi, Kenya, 323-329.

BAYNE, H.G., BROWN, M.S. et BETHLENFALVAY, G.J. (1984). Defoliation effect on mycorrhizal colonization, nitrogen fixation and photosynthesis in the *Glycine-Glomus-Rhizobium* symbiosis. *Physiol. Plant*, 62:576-580.

BEDDIARD, D. (1984). Les possibilités d'association symbiotique de l'aulne glutineux dans divers sols de l'Est de la France. Thèse, Nancy I, 156 p.

BENTHAM, G. (1864). *Flora Australiensis*. Volume 2. London : Reeve & Co., 521 p.

BENTHAM, G. (1875). Revision of the suborder *Mimoseae*. *Transactions of the Linnean Society of London*, 30:335-650.

BERHAUT, J. (1967). Flore du Sénégal (Ed. Clairafrique), DAKAR, 485 p.

BETHLENFALVAY, G.J., BROWN, M.S. et STAFFORD, A.E. (1985). *Glycine-Glomus-Rhizobium* symbiosis. II. Antagonistic effects between mycorrhizal colonization and nodulation. *Plant Physiol.*, 79:1054-1058.

BOWEN, G.D. et THEODOROU, C. (1979). Interactions between bacteria and mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry* 11:119-126.

BRISCOE, C.B. (1959). Early results of mycorrhizal inoculation of pine in Puerto Rico. *Carib. Forester*, 20:73-77.

BURGGRAAF, et BERINGER, (1989). Absence of nuclear DNA synthesis in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi during *in vitro* développement. *New Phytol.*, 111:25-33.

CHILVERS, G.A., DOUGLASS, P.A. et LAPEYRIE, F.F. (1986). A paper sandwich technique for rapid synthesis of ectomycorrhizas. *New Phytol.*, 103:397-402.

CHILVERS, G.A., LAPEYRIE, F.F. et HORAN, D.P. (1987). Ectomycorrhizal versus endomycorrhizal fungi within the same root system. *New Phytol.*, 107:441-449.

COLONNA, J.P., DUCOUSSO, M. et BADJI, S. (1990). Peut-on améliorer le fonctionnement de l'*Acacia senegal* (L.) Willd. et du modèle symbiotique "*Acacia senegal-Rhizobium* " Session sur "La physiologie des arbres et des arbustes des zones arides", 25 mars-7 avril, Nancy, France.

CORNET, F. (1982). Recherches préliminaires sur la symbiose de deux *Acacia* tropicaux (*A. raddiana* Savi et *A. holosericea* A. Cunn.) avec *Rhizobium* sp. et un champignon endomycorhizien (*Glomus mosseae* Nicol. et Gerd.) D.E.A. Lyon I, 58 p.

CORNET, F. et DIEM, H.G. (1982). Etude comparative de l'efficacité des souches de *Rhizobium* d'*Acacia* isolées de sols du Sénégal et effet de la double symbiose *Rhizobium-Glomus mosseae* sur la croissance de *Acacia holosericea* et *A. raddiana*. *Bois et Forêts des Tropiques* 198:3-15.

CORNET, F., DIEM, H.G. et DOMMERGUES, Y.R. (1982). Effet de l'inoculation avec *Glomus mosseae* sur la croissance d'*Acacia holosericea* en pépinière et après transplantation sur le terrain. Les Mycorhizes, partie intégrante de la plante : biologie et perspective d'utilisation (Eds. : GIANINAZZI, S. et GIANINAZZI-PEARSON, V.) INRA N°13:287-293.

CORNET, F., OTTO, C., RINAUDO, G., DIEM, H.G. et DOMMERGUES Y. (1985). Nitrogen fixation by *Acacia holosericea* grown in field-simulating conditions. *Acta Oecologia, Oecol. Plant.*, 6:211-218.

COSSALTER, C. (1984). Introduction d'acacias australiens en Afrique tropicale sèche. Colloque : Etablissement et productivité des plantations forestières en région semi-aride. Texas A & I University, 29 avril - 3 mai, 1-33.

CRONQUIST, A. (1981). An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York.

CTFT, (1988). *Faidherbia albida*, Monographie. (Ed. : CTFT), Paris, 72 p.

DELA-CRUZ, R.E., MANALO, M.Q., AGGANGAN, N.S. et TAMBALO, J.D. (1988). Growth of three legume trees inoculated with VA mycorrhizal fungi and *Rhizobium*. Plant and Soil, 108:111-115.

DELWAULLE, J.C., GARBAYE, J. et OKOMBI, G. (1982). Stimulation de la croissance initiale de *Pinus caribaea* Morelet dans une plantation du Congo par contrôle de la mycorhization. Bois et Forêts des Tropiques, 196:25-31.

DELWAULLE, J.C., DIANGANA, D. et GARBAYE, J. (1987). Augmentation de la production du pin des Caraïbes dans la région côtière du Congo par introduction du champignon ectomycorhizien *Pisolithus tinctorius*. Revue Forestière Française, 39:409-417.

DE OLIVEIRA, V.L. et GARBAYE, J. (1989). Les micro-organismes auxiliaires de l'établissement des symbioses mycorhiziennes. Europ. J. For. Pathol., 19:54-64.

DIAGNE, O. (1989). Etude préliminaire sur quatre arbres fixateurs d'azote. Revue Sénégalaise des recherches Agricoles et Halieutiques 1:36-46.

DIEM, H.G., GUEYE, I., GIANINAZZI-PEARSON, V., FORTIN, J.A. et DOMMERGUES, Y.R. (1981). Ecology of VA mycorrhizae in the tropics : the semi-arid zone of Senegal. Acta Oecologia, Oecol. Plant., 2:53-62.

DIEM, H.G. et DOMMERGUES, Y.R. (1983). The isolation of *Frankia* from nodules of *Casuarina*. Can. J. Bot. 61:2822-2825.

DOMMERGUES, Y.R. (1963). Evaluation du taux de fixation de l'azote dans un sol dunaire reboisé en filao (*Casuarina equisetifolia*). Agrochimica 105:179-187.

DREYFUS, B.L. (1982). La symbiose entre *Rhizobium* et *Sesbania rostrata* légumineuse à nodules caulinaires. Thèse de doctorat d'état, Université de Paris VII, 119 p.

DREYFUS, B.L. et DOMMERGUES, Y.R. (1981). Nodulation of *Acacia* species by fast and slow growing tropical strains of *Rhizobium*. Applied and Environmental Microbiology 41:97-99.

DUCOUSSO, M., BADJI, S., COLONNA, J.P. et THOEN, D. (1989). Growth and nitrogen fixing abilities of three Australian and two African *Acacia* species. Nitrogen Fixing Tree Research Report 7:40-42.

DUPONNOIS, R. ET GARBAYE, J. (1990). Some mechanisms involved in growth stimulation of ectomycorrhizal fungi by bacteria. Can. J. Bot., sous presse.

FARIA S.M., LEWIS, G.P., SPRENT, J.I. et SUTHERLAND, J.M. (1988). Occurrence of nodulation in the Leguminosae. New Phytol., 111:607-619.

FASSI, B. et FONTANA, A. (1961). Le micorrize ectotrofiche di *Julbernardia seretii*, *Caesalpinaceae* del Congo. Allionia, 7:131-137.

FASSI, B. et FONTANA, A. (1962). Micorrize ectotrofiche di *Brachystegia laurentii* e di alcune altre di *Caesalpinaceae* minori del Congo. Allionia, 8:121-131.

GANRY, F., DIEM, H.G., WEY, J. et DOMMERGUES, Y.R. (1985). Inoculation with *Glomus mosseae* improves N₂ fixation by field-grown soybeans. *Biol. Fert. Soils*, 1:15-23.

GARBAYE, J. (1988). Les plantations forestières tropicales : un champ d'application privilégié pour la mycorhization contrôlée. *Bois et Forêts des Tropiques*. 216:23-24

GARBAYE, J. et BOWEN, G.D. (1987). Effect of different microflora on the success of mycorrhizal inoculum on *Pinus radiata*. *Can. J. For. Res.*, 17:941-943.

GARBAYE, J. et BOWEN, G.D. (1989). Stimulation of ectomycorrhizal infection of *Pinus radiata* by some microorganisms associated with the mantle of ectomycorrhizas. *New Phytol.*, 112:383-388.

GARBAYE, J., DELWAULLE, J.C. et DIANGANA, D. (1988). Growth response of *Eucalyptus* in the Congo to ectomycorrhizal inoculation. *Forest Ecology and Management*, 24:151-157.

GIANINAZZI-PEARSON, V. (1982). Importance des mycorhizes dans la nutrition et la physiologie des plantes. Les Mycorhizes, partie intégrante de la plante : biologie et perspective d'utilisation (Eds. : GIANINAZZI, S. et GIANINAZZI-PEARSON, V.) INRA, 13:51-59.

GIANINAZZI-PEARSON, V. (1984). Host fungus specificity, recognition and compatibility in mycorrhizae. In : *Genes involved in plant-microbe interactions* (Eds. : VERMA, D.P.S. et HOHN, T.H.), Springer Verlag, Wien, New York, 225-253.

GIFFARD, P.L. (1974). L'arbre dans le paysage Sénégalais. *Sylviculture en zone tropicale sèche*. (Ed : CTFT) Dakar, 432 p.

GIOVANNETTI, M. et MOSSE, B. (1981). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.*, 84:489-500.

GUEYE, M. (1983). *Vigna unguiculata* en symbiose avec *Rhizobium* et *Glomus mosseae*. O R S.T O.M. Paris, 150 p.

HACKSKAYLO, E. et VOZZO, J.A. (1967). Inoculation of pure culture of *Pinus caribaea* with pure culture of mycorrhizal fungi in Puerto Rico. In : *Proceedings of 14th International Union Forestry Research Organization*, Munich, 5:139-148.

HALLYDAY, J. et NAKAO, P.L. (1982). The symbiotic affinities of woody species under consideration as nitrogen-fixing trees. *University of Hawaii NiFTAL Project*, 85 p.

HAOUA, S. (1989). Essai de mycorhization de *Azvelia africana* Smith avec *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker et Cough. In : *Trees for developpement in Sub-Saharan Africa*. ICRAF HQ., Nairobi, Kenya, 342-345.

HARLEY, J.L. et LEWIS, D.H. (1969). The physiology of ectotrophic mycorrhizas. *Advances in Microbiol. Physiology*, 3:53-81.

HEINRICH, P.A., MULLIGAN, D.R. et PATRICK, J.W. (1988). The effect of ectomycorrhizas on phosphorus and dry weight acquisition of *Eucalyptus* seedling. *Plant and Soil*, 109:147-149.

- HEYWOOD, V.H. (1978).** Flowering plants of the world. Oxford University Press, 335 p.
- HO, I. (1987).** Comparison of eight *Pisolithus tinctorius* isolates for growth rate, enzyme activity, and phytohormone production. Can. J. For. Res., 17:31-35.
- HÖGBERG, P. (1982).** Mycorrhizal association in some woodlands and forest trees and shrubs in Tanzania. New Phytol., 92:407-415.
- HÖGBERG, P. et NYLUND, J.E. (1981).** Ectomycorrhizae in coastal Miombo woodland of Tanzania. Plant and Soil, 63:283-289.
- HÖGBERG, P. et PEARCE, G.D. (1986).** Mycorrhizas in Zambian trees in relation to host taxonomy, vegetation type and successional patterns. Journal of Ecology, 74:775-785.
- HÖWELER, R.H., EDWARDS, D.G. et ASHER, C.J. (1981).** Application of the flowing solution culture techniques to studies involving mycorrhizas. Plant and Soil, 59:179-183.
- JAMBU, M. (1989).** Exploration informatique et statistique des données. Dunod Informatique, Paris 505 p.
- JANOS, D.P. (1983).** Tropical mycorrhizas, nutrient cycles and plant growth. In : Tropical Rain Forest - Ecology and Management (Eds. : SUTTON, S.L., WHITMORE, T.C. et CHADWICK, A.C.), Blackwell Scientific Publications, Oxford, 327-345.
- JENIK, J. et MENSAH, K.O.A. (1967).** Root system of tropical trees. I. Ectotrophic mycorrhizae of *Azela africana* Sm. Preslia, 39:59-65.
- JOHANSEN, D.A. (1940).** Plant Microtechnique. Mac Graw-Hill, New-York.
- JOHNSON, C.R. et MICHELINI, S. (1974).** Effect of mycorrhizae on container grown *Acacia*. Proceeding of Florida State Horticultural Society, 87:520-522.
- KABRE, A. (1982).** Mycorrhization de *Pinus caribaea* Morelet var. *Hondurensis* dans différents sols du Sénégal Thèse, Nancy I, 115 p.
- KANESHIRO, T. et KWOLEK, W.F. (1985).** Stimulated nodulation of soybeans by *Rhizobium japonicum* mutant (B-14075) that catabolizes the conversion of tryptophan to indol-3yl-acetic acid. Plant Sci., 42:141-146.
- KEFFORD, N.P., BROCKWELL, J. et ZWAR, J.A. (1960).** The symbiotic synthesis of auxins by legumes and nodule bacteria and its role in nodule development. Aust. J. Biol. Sci., 13:456-467.
- KESSELL, S.L. (1927).** The dependance of pine on a biological soil factor. Emp. For. J., 6:70-74.
- KORMANIK, P.P., BRYAN, W.C. et SCHULTZ, R.C. (1977).** Influence of endomycorrhizae on growth of sweetgum seedlings from eight mother trees. For. Sci., 23:500-505.
- KRIKUN, J. et LEVY, Y. (1980).** Effect of vesicular-arbuscular mycorrhiza on *Citrus* growth and mineral composition. Phytoparasitica, 8:195-200.

KUN-PIAO, C., HUGH-TAU, H. et PAO-CHANG, K. (1986). Effect of endomycorrhizal fungi and *Rhizobium* inoculation on growth of *Acacia auriculiformis* A. Cunn. ex. Benth. Nitrogen Fixing Tree Research Report 4:40-41.

LAPEYRIE, F.F. (1983). Recherches préliminaires sur le rôle des ectomycorhizes dans l'implantation d'*Eucalyptus delegatensis* en France : -Conditions d'inoculation des plants ; -Comportement des partenaires en présence de calcaire. Thèse Docteur ingénieur, Lyon I, 175 p.

LAPEYRIE, F.F. et CHILVERS, G.A. (1985). An endomycorrhiza-ectomycorrhiza succession associated with enhanced growth of *Eucalyptus dumosa* seedlings planted in a calcareous soil. New Phytol., 100:93-104.

LAPEYRIE, F.F., LEI, J., MALAJCZUK, N. et DEXHEIMER, J. (1988). Ultrastructural and biochemical changes at the pre-infection stage of mycorrhizal formation by two isolates of *Pisolithus tinctorius*. Colloque: Physiologie et Sécheresse, Nancy.

LE TACON, F., GARBAYE, J., BA, A., BEDDIAR, A.F., DIAGNE, O. et DIEM, H.G. (1989). L'importance des symbioses racinaires pour les arbres forestiers en zone tropicale sèche et en zone tropicale humide. In : Trees for development in Sub-Saharan Africa. ICRAF HQ., Nairobi, Kenya, 302-318

LOPEZ-AGUILLON, R. (1985). Les complexes mycorrhiziens : interactions entre champignons et effet sur la croissance de la plante. Thèse, Nancy I, 127 p.

LOPEZ-AGUILLON, R. et GARBAYE, J. (1990). Some aspect of a double symbiosis with ectomycorrhizal and VAM fungi. IInd European Symposium on Mycorrhizae, 12-15 August 1988, Praha. Agriculture, Ecosystems and Environment 29 (1-4) : 263-266

LOPEZ-AGUILLON, R. et MOSSE, B. (1987). Experiments on competitiveness of endomycorrhizal fungi. Plant and Soil, 97:155-170.

MAC AFEE, B.J. et FORTIN, J.A. (1988). Comparative effects of the soil microflora on ectomycorrhizal inoculation of conifer seedling. New Phytol., 108:443-449.

MAC DONALD, R.M. et LEWIS, M. (1978). The occurrence of some acid phosphatases and dehydrogenases in the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. New Phytol., 80:135-141.

MANJUNATH, A., BAGYARAJ, D.J. et GOWDA, H.S.G. (1984). Dual inoculation with VA mycorrhiza and *Rhizobium* is beneficial to *Leucaena*. Plant and soil, 78:445-448.

MARX, D.H. (1969). The influence of ecto-trophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infection. I- Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic and soil bacteria. Phytopathology 59:153-163.

MARX, D.H. (1977). Tree host range and world distribution of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius*. Can. J. Microbiol., 23:217-223.

MARX, D.H., BRYAN, W.C. et CORDELL, C.E. (1976). Growth and ectomycorrhizal development of pine seedlings in nursery soils infested with the fungal symbiot *Pisolithus tinctorius*. Forest Science, 22:91-100.

MASON, P.A., LAST, F.T., PELHAM, J. et INGLEGY, K. (1982).

Ecology of some fungi associated with and ageing stand of Birches (*Betula pendula* and *Betula pubescens*) Forest Ecology and Management, 4:19-39.

MOLINA, R. (1979). Pure culture synthesis and host specificity of red alder mycorrhizae. Can. J. Bot., 57:1223-1228.

MOMOH, Z.O. et GBADEGESIN, R.A. (1980). Field performance of *Pisolithus tinctorius* as a mycorrhizal fungus of pines in Nigeria. In : Tropical Mycorrhiza Research, (Ed. : Mikola, P.), New York, Oxford University Press, 72-79.

MOSSE, B. (1973). Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. Annual Review of Phytopathology, 11:171-196.

MOSSE, B. (1975a). Specificity of VA Mycorrhizas. In : Endomycorrhizas (Eds. : SANDERS, F.E., MOSSE, B. et TINKER, P.B.), Academic Press, London and New York, 469-484.

MOSSE, B. (1975b). A microbiologist's view of root anatomy. In: N Walker, Ed. : Soil Microbiology, Butterworth, London, 39-66.

MOSSE, B., POWELL, C.L. et HAYMAN, D.S. (1976). Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhizae. IX. Interactions between VA mycorrhiza, rock phosphate, and symbiotic nitrogen fixation. New Phytol., 76:331-342.

NRC, (NATIONAL RESEARCH COUNCIL), (1984). *Mangium* and other acacias of the humid tropic. Washington D.C., National Academy Press.

OLSEN, S.T., COLE, C.U., WATANABE, F.S. et DEAN, L.A. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. U.S.D.A. Circular N° 959, 19.

OWUSU-BENNOAH, E. et WILD, A. (1980). Effects of vesicular-arbuscular mycorrhiza on the size of the labile pool of soil phosphate. Plant and Soil, 54:233-242.

PAIRUNAN, A.K., ROBSON, A.D. et ABBOTT, L.K. (1980). The effectiveness of Vesicular Arbuscular Mycorrhizas in increasing growth and phosphorus uptake of subterranean clover from phosphorus sources of different solubilities. New Phytol., 84:327-338.

PEDLEY, L. (1981). Classification of Acacias. International Group for the study of *Mimosoideae*. Bulletin 9:42-48. Toulouse.

PEDLEY, L. (1986). Australian acacias : Taxonomy and phytogeography. In: Australian Acacias in Developing Countries (Ed.: TURNBULL, J.W.). ACIAR Proceeding N° 16, 50-53.

PEDLEY, L. (1987). *Racosperma Martius* (Leguminosae : *Mimosoideae*) in Queensland : a checklist. Austrobaileya 2:344-357.

- PHILLIPS, J.M. et HAYMAN, D.S. (1970).** Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 55,158.
- POCHON, J. et DE BARJAC, H. (1958).** *Traité de microbiologie des sols. Applications agronomiques.* Dunod, Paris, 427 p.
- POSSINGHAM, J.V., OBBINK, G.J. et JONES, R.K. (1971).** Tropical legumes and vesicular-arbuscular mycorrhizae. *J. Aust. Inst. Agric. Sci.*, 160-171.
- PRIN, Y., NEYRA, M., DUCOUSSO, M. et DOMMERGUES, Y.R. (1989).** Viabilité d'un inoculum déterminé par l'activité réductrice de l'INT. *L'Agronomie Tropicale*, 44:13-19.
- READ, D.J., KIANMEHR, H. et MALIBARI, A. (1977).** The Biology of mycorrhiza in *Helianthemum* Mill. *New Phytol.*, 78:305-312.
- REDHEAD, J.F. (1968).** Mycorrhizal associations of some Nigerian forest trees. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 51:377-387.
- REDHEAD, J.F. (1980).** Mycorrhiza in natural tropical forest. In: *Tropical Mycorrhiza Research* (Ed. : MIKOLA, P.), Claredon Press, Oxford, 127-142.
- REDDELL, P. et WARREN, R. (1986).** Inoculation of acacias with mycorrhizal fungi : potential benefits. In : *Australian Acacias in Developing Countries* (Ed. : TURNBULL, J.W.). ACIAR Proceeding N° 16, 50-53.
- ROSE, S.L. et YOUNGBERG, C.T. (1981).** Tripartite association in snowbush (*Ceanothus velutinus*) : effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on growth, nodulation, and nitrogen fixation. *Can. J. Bot.*, 59:39-43.
- ROSKOSKI, J.P., PEPPER, I. et PARDO, E. (1986).** Inoculation of leguminous trees with *Rhizobia* and VA mycorrhizal fungi. *Forest Ecology and Management*, 16:57-68
- SCHNELL, R. (1977).** *Flore et végétation de l'Afrique tropicale. Tome 2.* Gauthier-Villars, Paris.
- SCHULTZ, R.C., KORMANIK, P.P. et BRYAN, W.C. (1979).** Vesicular-arbuscular mycorrhiza influence growth but not mineral concentrations in seedlings of eight sweetgum families. *Can. J. For. Res.*, 9:218-223.
- SMITH, S.E., NICHOLAS, D.J.D. et SMITH, F.A. (1979).** Effect of early mycorrhizal infection on nodulation and nitrogen fixation in *trifolium subterraneum* L. *Aust. J. Plant Physiol.*, 6:305-311.
- SOUGOUFARA, B., DIEM, H.G. et DOMMERGUES, Y.R. (1988).** Response of Field-grown *Casuarina equisetifolia* to inoculation with *Frankia* strain ORS.021001 entrapped in alginate beads. In : 7th Inter. Conf. on *Frankia* and actinorhizal plants, storrs, Connect. 7-10 August.
- SOUGOUFARA, B., DANSO, S.K.A., DIEM, H.G. et DOMMERGUES, Y.R. (1990).** Estimating N₂ fixation and N derived from soil by *Casuarina equisetifolia* using labelled ¹⁵N fertilizer: some problems and solutions. *Soil Biol. Biochem.*, sous presse.

STATITCF (1986). Comment interpréter les résultats d'une analyse en composante principale. (Ed. : STATITCF), 56 p.

STRZELCZYK, E. et ROZYCKI, H. (1985). Production of B-group vitamins by bacteria isolated from soil, rhizosphere and mycorrhizosphere of Pine (*Pinus sylvestris* L.). Zbl. Mikrobiol., 140:293-301

THEODOROU, C. (1967). Inoculation with pure cultures of mycorrhizal fungi of radiata pine growing in partially sterilized soil. Australian Forestry, 31:303-309.

THOEN, D. (1986). Is *Pisolithus* found under *Eucalyptus* in Senegal conspecific with the mycorrhizal *Pisolithus tinctorius* ? Abstract of the IXth European Mycological Congress, Oslo, Norway.

THOEN, D. (1987). First observation on the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizae (VAM) in hydrophytes, hygrophytes, halophytes and xerophytes in the region of lake Retba (Cap-Vert, Senegal) during the dry season. In : Mémoire de la société royale de Botanique de Belgique, 9:60-66.

THOEN, D. et BA, A. (1989). Ectomycorrhizae and putative ectomycorrhizal fungi of *Afzelia africana* and of *Uapaca guineensis* in southern Senegal. New Phytol., 113:549-559.

THOEN, D. et DUCOUSSO, M. (1990). Mycorrhizal habit and sclerogenesis of *Phlebopus sudanicus* (Gyrodontaceae) in Sénégal. IInd European Symposium on Mycorrhizae. Prague, 16-20 August, 1988. Agriculture, Ecosystems and Environment 29 (1-4) : 519-523

THOEN, D. et DUCOUSSO, M. (1989). Champignons et ectomycorhizes du Fouta Djallon. Bois et Forêts des Tropiques, 221 : 45-63

THOEN, D. et DUCOUSSO, M. (1990). Statut mycorrhizien et mycorrhizes de quelques plantes ligneuses indigènes et exotiques des secteurs soudanien et sahélien du Sénégal. Article en préparation.

THOEN, D., SOUGOUFARA, B. et DOMMERGUES, Y.R. (1990). *In vitro* mycorrhization of *Casuarina* and *Allocasuarina* species by *Pisolithus* isolates. Can. J. Bot., sous presse.

TRAPPE, J.M. (1987). Phylogenetic and ecologic aspects of mycotrophy in the angiosperms from an evolutionary standpoint. In : Ecophysiology of VA mycorrhizal plants (Ed. : SAFIR, G.R.) CRC Press, Boca Raton, FL. 6-23.

TRAPPE, J.M. et SCHENCK, N.C. (1982). Taxonomy of the fungi forming endomycorrhizae. A. Vesicular-arbuscular Mycorrhizal fungi (Endogonales). In : Methods and Principles of Mycorrhizal Research (Ed. : SCHENCK, N.C.), pp. 1-9. The American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota.

TROCHAIN, J.L. (1940). Contribution à l'étude de la végétation du Sénégal. Libr. Larose, Paris, 433 p.

UMALI-GARCIA, M., LIBUIT, J.S. et BAGGAYAN, L. (1988). Effects of *Rhizobium* inoculation on growth and nodulation of *Albizia falcataria* (L.) Fosh. and *Acacia mangium* Willd. in the nursery. Plant and Soil, 108:71-78.

VASSAL, J. (1972). Apport des recherches ontogéniques et séminologiques à l'étude morphologique, taxonomique et phylogénique du genre *Acacia*. Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de Toulouse, 108:125-247.

VASSAL, J. (1981). Tribe 4. *Acacieae*. In : Advances in legume systematics, (Eds. : POLHILL, R.M. et RAVEN, P.H.), Royal Botanic Gardens, Kew, 169-171.

VINCENT, J.M. (1970). A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. IBP handbook n° 15. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

VON MAYDELL, H.J. (1983). Arbres et arbustes du Sahel. - GTZ, Eschborn.

YOST, R.S. (1981). Influence of VA mycorrhizae on early growth and P nutrition of *Leucaena*. *Leucaena Research Report*, 2:84.

WARCUP, J.H. (1980). Ectomycorrhizal association of australian indigenous plants. *New Phytologist* 85, 531-535.

WARCUP, J.H. et TALBOT, P.H.B. (1989). *Muciturbo* : a new genus of hypogeous ectomycorrhizal Ascomycetes. *Mycological research*, 92:95-100.

ANNEXES

1111

Annexe 1

Composition des milieux de culture utilisés

Milieux	MNM	YEM	JENSEN
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	0,25 g		
Mannitol		10 g	
Extrait de malt	3 g		
Extrait de levure		1 g	
Glucose	10 g		
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,05 g		
CaHPO_4			1 g
KH_2PO_4	0,5 g	0,5 g	0,2 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,15 g	0,2 g	0,2 g
NaCl	0,025 g	0,2 g	0,2 g
Thiamine-HCl	1 ml		
FeCl_3		0,004 g	0,14 g
Citrate ferrique 1%	1,2 ml		
Solution oligo-éléments			1 ml
Agar	16 g	20 g	
Eau q.s.p.	1000 ml	1000 ml	1000 ml
pH	5,6	6,8	6,8

Annexe 2

Liste alphabétique des genres et des espèces de végétaux supérieurs cités

<i>Abrus stictosperma</i>	Berh.
<i>Acacia</i>	Mill.
<i>Acacia acradenia</i>	F. Muell.
<i>Acacia adsurgens</i>	Maiden & Blakely
<i>Acacia albida</i>	Del.
<i>Acacia ampliceps</i>	B.R. Maslin
<i>Acacia ancistrocarpa</i>	Maiden & Blakely
<i>Acacia aneura</i>	F. Muell. ex Benth.
<i>Acacia arabica</i>	Willd.
<i>Acacia argyrea</i>	Tindale
<i>Acacia aulacocarpa</i>	A. Cunn. ex Benth.
<i>Acacia auriculiformis</i>	A. Cunn. ex Benth.
<i>Acacia baileyana</i>	F. Muell.
<i>Acacia bivenosa</i>	DC.
<i>Acacia cavegna</i>	(Mol.) H. & A.
<i>Acacia chisholmii</i>	Bailey
<i>Acacia concurens</i>	Pedley
<i>Acacia constricta</i>	Benth.
<i>Acacia coriacea</i>	DC.
<i>Acacia cowleana</i>	Tate
<i>Acacia cyanophylla</i>	Lindl.
<i>Acacia dealbata</i>	Link.
<i>Acacia decurrens</i>	(Wendl.) Willd.
<i>Acacia dictyophleba</i>	F. Muell.
<i>Acacia difficilis</i>	Maiden
<i>Acacia drepanocarpa</i>	F. Muell.
<i>Acacia dunii</i>	Turrill.
<i>Acacia eriopoda</i>	Maiden & Blakely
<i>Acacia farnesiana</i>	(L.) Willd.
<i>Acacia floribunda</i>	Vent.
<i>Acacia goetzei</i>	Harms
<i>Acacia gonodada</i>	F. Muell.
<i>Acacia greggii</i>	Gray
<i>Acacia harmandiana</i>	Gagnepian
<i>Acacia hemignosta</i>	F. Muell.
<i>Acacia hilliana</i>	Maiden
<i>Acacia hippuroïdes</i>	Heward ex Benth.
<i>Acacia holosericea</i>	A. Cunn. ex G. Don
<i>Acacia horrida</i>	(L.) Willd.
<i>Acacia inaequilatera</i>	Domin.
<i>Acacia jennerae</i>	Maid.
<i>Acacia laccata</i>	Pedley
<i>Acacia laeta</i>	R. Br. ex Benth.
<i>Acacia latescens</i>	Benth.
<i>Acacia ligulata</i>	A. Cunn. ex Benth.
<i>Acacia limbata</i>	F. Muell.

<i>Acacia lysiphloia</i>	F. Muell.
<i>Acacia mangium</i>	Willd.
<i>Acacia melanoxylon</i>	R. Br.
<i>Acacia mellifera</i>	Benth.
<i>Acacia mitchellii</i>	Benth.
<i>Acacia monticola</i>	J. Black
<i>Acacia myrtifolia</i>	(Sm.) Willd.
<i>Acacia nigrescens</i>	Oliv.
<i>Acacia nilotica</i>	(L.) Willd.
<i>Acacia nubica</i>	Benth.
<i>Acacia orthocarpa</i>	F. Muell.
<i>Acacia pachycarpa</i>	F. Muell. ex Benth.
<i>Acacia pallidifolia</i>	Pindale
<i>Acacia pellita</i>	O. Schwarz
<i>Acacia platycarpa</i>	F. Muell.
<i>Acacia plectocarpa</i>	A. Cunn. ex Benth.
<i>Acacia polyacantha</i>	Willd.
<i>Acacia pulchella</i>	R. Br.
<i>Acacia pycnantha</i>	Benth.
<i>Acacia pyrifolia</i>	DC.
<i>Acacia raddiana</i>	Savi.
<i>Acacia rhodoxylon</i>	Maiden
<i>Acacia retinodes</i>	Schlechtld.
<i>Acacia retivenia</i>	F. Muell.
<i>Acacia richii</i>	Gray
<i>Acacia rothii</i>	Bailey
<i>Acacia rubida</i>	A. Cunn.
<i>Acacia salicina</i>	Lindley
<i>Acacia saligna</i>	Labill.
<i>Acacia senegal</i>	(L.) Willd.
<i>Acacia seyal</i>	Del.
<i>Acacia shirleyi</i>	Maiden
<i>Acacia simsii</i>	A. Cunn. ex Benth.
<i>Acacia sophorae</i>	(Labill.) R. Br.
<i>Acacia sparsiflora</i>	Maiden
<i>Acacia stenophylla</i>	A. Cunn. ex Benth.
<i>Acacia stipuligera</i>	F. Muell.
<i>Acacia suaveolens</i>	Smith
<i>Acacia tenuisissima</i>	F. Muell.
<i>Acacia tephрина</i>	Pedley
<i>Acacia tetragonophylla</i>	F. Muell.
<i>Acacia torulosa</i>	Benth.
<i>Acacia trachycarpa</i>	E. Pritzel
<i>Acacia translucens</i>	A. Cunn. ex Hook.
<i>Acacia tumida</i>	F. Muell. ex Benth.
<i>Acacia verticillata</i>	(L'Hér.) Willd.
<i>Acacia yirrkallensis</i>	Specht
<i>Adansonia digitata</i>	L.
<i>Afromosia laxiflora</i>	(Benth.) Harms
<i>Afzelia africana</i>	Sm.

<i>Afzelia bracteata</i>	T. Vogel
<i>Albizia adianthifolia</i>	(Sch.) W.F. Wight
<i>Albizia lebbek</i>	(L.) Benth.
<i>Albizia zigia</i>	(DC.) J.F. Macbr.
<i>Allocasuarina stricta</i>	(Lam.) L. Johnston
<i>Allophyllus africanus</i>	P. Beauv.
<i>Anacardium occidentale</i>	L.
<i>Anthonotha crassifolia</i>	(Baill.) J. Leon.
<i>Anthosthema senegalensis</i>	A. Juss.
<i>Arachis hypogaea</i>	L.
<i>Azadirachta indica</i>	A. Juss.
<i>Balanites aegyptiaca</i>	(L.) Del.
<i>Bridelia micrantha</i>	(Hochst.) Baill.
<i>Calotropis procera</i>	Ait.
<i>Carapa procera</i>	DC.
<i>Cassia siamea</i>	Lam.
<i>Cassia sieberiana</i>	DC.
<i>Casuarina equisetifolia</i>	Forst
<i>Celtis integrifolia</i>	Lam.
<i>Cephaelis peduncularis</i>	Salisb.
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Nees
<i>Combretum glutinosum</i>	Perr.
<i>Cordyla pinnata</i>	(Lepr.) Miln.-Red
<i>Dalbergia boehmii</i>	Taub.
<i>Dalbergia melanoxylon</i>	G. & Perr.
<i>Dalbergia rufa</i>	G. Don.
<i>Danielia ogea</i>	(Harms) Rolfe.
<i>Danielia oliveri</i>	(R.) Hutch. & Dalz.
<i>Dichrostachys glomerata</i>	(Forsk.) Chiov.
<i>Detarium microcarpum</i>	G. & Perr.
<i>Detarium senegalense</i>	J.F. Gmel.
<i>Dialium guineense</i>	Willd.
<i>Dodonea viscosa</i>	Jacq.
<i>Douglas</i>	(<i>Pseudotsuga menziesii</i> Franco)
<i>Elaeis guineensis</i>	Jacq.
<i>Erythrina senegalensis</i>	DC.
<i>Erythrophleum guineense</i>	G. Don.
<i>Eucalyptus</i>	L'herit.
<i>Eucalyptus apodophylla</i>	Blakely & Jacobs
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	Dehn
<i>Eucalyptus dumosa</i>	A. Cunn. ex Schau.
<i>Eucalyptus pentaleuca</i>	Johnson (non publié)
<i>Eucalyptus robusta</i>	Sm.
<i>Eucalyptus sp.</i>	
<i>Euphorbia balsamifera</i>	Ait.
<i>Faidherbia</i>	A. Chev.
<i>Faidherbia albida</i>	A. Chev.
<i>Fagara leuprieurii</i>	(G. & Perr.) Engl.
<i>Gmelina arborea</i>	Roxb.
<i>Leptoderris brachyptera</i>	(Benth.) A. Cunn.

<i>Leptoderris fasciculata</i>	(Benth.) A. Cunn.
<i>Leucaena leucocephala</i>	(Lam.) de Wit.
<i>Lonchocarpus laxiflorus</i>	G. & Perr.
<i>Lophira lanceolata</i>	Van Tiegh.
<i>Mammea africana</i>	Sabine
<i>Mangifera indica</i>	L.
<i>Maytenus senegalensis</i>	(Lam.) Exell.
<i>Melaleuca leucadendron</i>	L.
<i>Mitragyna inermis</i>	(Willd.) O. Kze.
<i>Mitragyna stipulosa</i>	(DC.) O. Kze.
<i>Moghania faginea</i>	(G. & Perr.) O. Kze.
<i>Ostrioderris stuhlmanii</i>	(Taub.) A. Cunn.
<i>Pandanus</i>	L.
<i>Parinari excelsa</i>	Sabine
<i>Parkia biglobosa</i>	(Jacq.) Benth.
<i>Pavetta corymbosa</i>	(DC.) F.N. Will.
<i>Piliostigma reticulatum</i>	(DC.) Hochst
<i>Pinus</i>	L.
<i>Pinus caribaea</i>	Morelet
<i>Pinus kesiya</i>	Royle
<i>Pinus patula</i>	Schlecht. & Cham.
<i>Prosopis africana</i>	(G. & Perr.) Taub.
<i>Prosopis juliflora</i>	(Swart.) DC.
<i>Pterocarpus erinaceus</i>	Poir.
<i>Quercus</i>	L.
<i>Raphia</i>	Beauv.
<i>Racosperma</i>	Martius
<i>Ricinodendron heudelotii</i>	(Baill.) Pierre
<i>Rotula aquatica</i>	Lour.
<i>Samanea dinklagei</i>	(Jacq.) Merr.
<i>Senegalia</i>	Benth.
<i>Sesbania rostrata</i>	Brem.
<i>Shorea</i>	Roxb.
<i>Styrax benzoin</i>	Dryand.
<i>Syzygium guineense</i>	(Willd.) DC.
<i>Tamarix senegalensis</i>	DC.
<i>Tectona grandis</i>	L.
<i>Terminalia glaucescens</i>	Planch.
<i>Terminalia ivorensis</i>	A. Chev.
<i>Terminalia laxiflora</i>	Engl.
<i>Terminalia macroptera</i>	G. & Perr.
<i>Terminalia mantaly</i>	Perrier
<i>Terminalia superba</i>	Engl. & Diels
<i>Tetracera alnifolia</i>	Willd.
<i>Tetrapleura tetraptera</i>	Sc. & Th.) Taub.
<i>Treculia africana</i>	Decne
<i>Uapaca chevalieri</i>	Beille
<i>Uapaca guineensis</i>	Müll. Arg.
<i>Uapaca sp.</i>	
<i>Vigna unguiculata</i>	(L.) Walp.

Annexe 3

Liste alphabétique des genres et des espèces de champignons cités

<i>Acaulospora</i>	Gerd. & Trappe
<i>Amanita annulatovaginata</i>	Beeli
<i>Amanita aurea</i>	Beeli
<i>Amanita baccata</i>	(Fr.) Gillet
<i>Amanita crassiconus</i>	Bas
<i>Amanita aff. fulvopulverulenta</i>	Bas
<i>Amanita aff. rubescens</i>	(Pers. : Fr.) S.F. Gray
<i>Amanita sp.</i>	
<i>Austrogautiera sp.</i>	
<i>Boletelus aff. lepidospora</i>	Gilb.
<i>Boletus sp.</i>	
<i>Cantharellus rufopunctatus</i>	(Beeli) Heinem.
<i>Coenococcum graniforme</i>	(Sow.) Ferd
<i>Corditubera</i>	P. Henn.
<i>Corditubera sp.</i>	
<i>Gigaspora</i>	Gerd. & Trappe
<i>Gigaspora calospora</i>	(Nicol & Gerd.) Gerd & Trappe
<i>Gigaspora margarita</i>	Becker & Hall
<i>Glomus</i>	Tul. & Tul.
<i>Glomus fasciculatum</i>	(Thaxter) Gerd. & Trappe
<i>Glomus mosseae</i>	Nicol. & Gerd.
<i>Gyrodon intermedius</i>	(Pat.) Sing.
<i>Hebeloma crustuliniforme</i>	(Fr.) Quel.
<i>Inocybe sp.</i>	
<i>Laccaria laccata</i>	(Scop. ex Fr.) Berk. & Br.
<i>Laccaria sp.</i>	
<i>Lactarius sp.</i>	
<i>Leccinum sp.</i>	
<i>Muciturbo</i>	Warcup & Talbot
<i>Mutinus bambusinus</i>	(Zoll.) Ed. Fisch.
<i>Paxillus involutus</i>	(Batsch ex Fr.) Fr.
<i>Phallus indusiatus</i>	Vent. Pers.
<i>Phallus roseus</i>	Delile
<i>Phlebopus sudanicus</i>	(Har. & Pat.) Heim
<i>Pisolithus</i>	Alb. & Schw.
<i>Pisolithus tinctorius</i>	(Mich. ex Pers.) Coker & Cough
<i>Pisolithus sp.</i>	
<i>Porphyrellus sp.</i>	
<i>Pulveroboletus aff. tritinensis</i>	Heinem.
<i>Russula sp.</i>	
<i>Sclerocystis</i>	Berck & Broome
<i>Sclerocystis clavispora</i>	Trappe
<i>Scleroderma</i>	Pers.

<i>Scleroderma capense</i>	Lloyd
<i>Scleroderma cepa</i>	Pers.
<i>Scleroderma dictyosporum</i>	Pat.
<i>Scleroderma verrucosum</i>	Pers.
<i>Scleroderma</i> sp.	
<i>Sclerogaster</i> sp.	
<i>Scutellospora persica</i>	(Koske & Walker) Walker & Sanders
<i>Strobilomyces luteolus</i>	Heinem.
<i>Suillus granulatus</i>	(L : Fr.) Kuntze
<i>Thelephora ramariodes</i>	D. Reid
<i>Tubosaeta brunneosetosa</i>	(Sing.) Horak
<i>Xerocomus</i> aff. <i>hypoxanthus</i>	Singer
<i>Xerocomus spinulosus</i>	Heinem. & Gooss.
<i>Xerocomus</i> aff. <i>subspinulosus</i> .	Heinem.
<i>Xerocomus subspinulosus</i>	Heinem.

Annexe 5

Liste alphabétique des Familles de végétaux supérieurs citées

Anacardiaceae
Areaceae
Asclepiadaceae
Bombacaceae
Boraginaceae
Caesalpiniaceae
Caryophyllaceae
Casuarinaceae
Celastraceae
Chenopodiaceae
Combretaceae
Cyperaceae
Dilleniaceae
Dipterocarpaceae
Euphorbiaceae
Guttiferaceae
Jonaceae
Lauraceae
Meliaceae
Mimosaceae
Moraceae
Myrtaceae
Ochnaceae
Papilionaceae
Pinaceae
Polygonaceae
Rhizophoraceae
Rosaceae
Rubiaceae
Rutaceae
Sapindaceae
Simaroubaceae
Tamaricaceae
Ulmaceae
Verbenaceae

Liste alphabétique des Familles de champignons citées

Boletaceae
Endogonaceae
Sclerodermataceae

Ducousso Marc. (1991).

Importance des symbioses racinaires pour l'utilisation
des acacias en Afrique de l'Ouest.

Paris : CIRAD, 205 p. multigr.

Th. Doct. : Microbiol., Lyon 1. 1990/06/27.

ISBN 2-85411-018-8.