F0000051

INSTITUT SENEGALAIS
DE RECHERCHE AGRICOLE

CENTRE NATIONAL DE
RECHERCHES FORESTIERES
B.P. 2312
Dakar - Sénégal

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
ET TECHNIQUE OUTRE--IER
Centre de Dakar
Laboratoire de Microbiologie
B.P. 1386
Dakar - Sénégal

CENTRE TECHNIQUE
FORESTIER TROPICAL
45 bis, Av. de la Belle Gabrielle
94130 Saint Mandé-France

N° 1198 181.354
(047) Sén.A 176.1

RECHERCHES PRELIMINAIRES SUR LA SYMBIOSE DE DEUX ACACIA TROPICAUX (A. RADDIANA SAVI ET A. HOLOSERICEA A. CUNN.) AVEC RHIZOBIUM SP. ET UN CHAMPIGNON ENDOMYCORYIZIEN (GLOMUS MOSSEAE NICOL. ET GERD.)

François CORNET
Elève de Troisième Année à l'Ecole Nationale
des Ingénieurs des Travaux des Eaux et Forêts
Domaine des Barres - 45290 NOGENT SUR VERNISSON
France.

1981

REMERCIEMENTS

A l'issue de ce travail, il m'est agréable d'exprimer ma reconnaissance à tous ceux qui m'ont aidé à le mener à bien, en particulier:

Monsieur DOMMERGUES, Directeur de recherches au CNRS, qui a bien voulu m'accueillir dans son équipe au laboratoire de microbiologie du centre ORSTOM de Dakar, et qui, tout au long de cette année, m'a prodigué conseils et encouragements.

Monsieur DIEM, chargé de recherches au CNRS, qui a suivi de très près mon travail et qui a su me faire partager son enthousiasme pour les mycorhizes.

Mes remerciements vont en outre à Messieurs BRUNCK et CORBASSON qui m'ont proposé ce sujet et qui se sont toujours très intéressés à mon travail.

Je remercie également Monsieur HAMEL, Directeur du CNRF, et Monsieur ROUSSEL pour l'aide logistique qu'ils m'ont apportée.

L'aide de Monsieur BOUREAU a été très précieuse pour les travaux photographiques et certains problèmes techniques que cette étude a posés,

Enfin, ma reeonnaissanve va à tous ceux du Zaboratoire de microbiologie qui ont contribué à rendre mon séjour au Sénégal aussi agréable que possible.

PLAN DU MEMOIRE

Page

Introduction 1

Chapitre I: RAPPELS SUR LES SYMBIOSES RACINAIRES DES LEGUMINEUSES 3

1. La symbiose Rhizobium-Légumineuses 3
   - 1.1. Occurence de la symbiose 3
   - 1.2. Spécificité des Rhizobium 4
   - 1.3. Développement des nodules 5
     - 1.3.1. L'infection 5
     - 1.3.2. La nodulation 5
   - 1.4. Mécanisme de la fixation symbiotique de N_2 6
   - 1.5. Influence des facteurs du milieu sur l'établissement et l'efficacité de la symbiose 7
     - 1.5.1. Influence des facteurs abiotiques 8
     - 1.5.2. Influence des facteurs biotiques 9
2. Les endomycorhizes à vésicules et arbascules 10
   - 2.1. Morphologie des MVA 11
   - 2.2. Taxonomie des champignons endomycorhiziens 12
   - 2.3. Influence de l'endomycorhization sur la croissance des plantes 12
     - 2.3.1. Effets trophiques 12
       - 2.3.1.1. Nutrition phosphatée 13
       - 2.3.1.2. Absorption des autres éléments minéraux 15
       - 2.3.1.3. Alimentation en eau 15
     - 2.3.2. Effets non trophiques 15
   - 2.4. Influence de l'environnement sur la symbiose endomycorhizienne et son efficacité 16
     - 2.4.1. Influence des facteurs abiotiques 16
     - 2.4.2. Influence des facteurs biotiques 18
3. La double symbiose Rhizobium-WA chez les Légumineuses 19

Chapitre II: MATERIEL ET METHODES 20

1. Matériel expérimental 20
1.1. Sols utilisés 20
1.2. Matériel végétal 21
1.2.1. Acacia raddiana 21
1.2.2. Acacia holosericea 22
1.3. Souches de microorganismes 23
1.3.1. Champignons endomycorhiziens VA 23
1.3.2. Rhizobium 23
2. Culture des plantes 23
2.1. Traitement des graines 23
2.2. Germination 24
2.3. Repiquage 24
2.4. Entretien des plants 24
3. Culture des microorganismes 25
3.1. Culture du champignon endomycorlizien VA 25
3.2. Inoculation endomycorhizienne 25
3.3. Culture des Rhizobium 26
3.4. Inoculation avec Rhizobium 26
4. Dénombrement et isolement des microorganismes 26
4.1. Estimation de la population de spores de champignons endomycorhiziens VA indigènes dans le sol 26
4.2. Isolement des Rhizobium 27
5. Critères utilisés pour l'appréciation des infections et de l'effet des symbiotes sur les plantes 27
5.1. Estimation des infections 27
5.1.1. Infection endomycorhizienne 27
5.1.2. Infection rhizobienne 23
5.2. Poids sec des plantes 28
5.3. Teneur en phosphore des parties aériennes des plantes 29
5.4. Estimation de la fixation de l'azote 30
5.4.1. Méthode par différence - Dosage de l'azote 30
5.4.2. Méthode de la réduction de l'acétylène 30
5.5 Traitement statistique des résultats 32
6, Méthodes utilisées pour étudier les relations entre la plante et le potentiel hydrique du sol 32
6.1. Mesure de la tension d'eau dans le sol 32
6.2. Evaluation du nombre de stomates ouverts 32
6.3. Mesure du potentiel hydrique des plantes: méthode de la chambre à pression 33

Chapitre III: COMPORTEMENT DES DIFFERENTS SYSTEMES SYMBIOTIQUES SUR SOL STERILISE 34

1. La symbiose Rhizobium-Acacia 34
1.1. Acacia holosericea 34
1.1.1. Isolements 35
1.1.2. Test de nodulation 35
1.1.2.1. Résultats 35
1.1.2.2. Discussion 36
1.2. Acacia raddiana 38
1.2.1. Isolements 38
1.2.2. Sélection des souches efficaces 39
1.2.2.1. Résultats 39
1.2.2.2. Discussion 39
2. La symbiose MVA- Acacia 41
2.1. Résultats 42
2.2. Discussion 42
3. Etude de la double symbiose Acacia - Rhizobium - MVA 43
3.1. Inoculation d'A. raddiana avec Rhizobium et G. mosseae sur un sol déficient en P mais pas en N, le sol Deck 44
3.1.1. Résultats 44
3.1.2. Discussion 45
3.2. Inoculation d'A. raddiana et A. holosericea avec Rhizobium et MVA sur un sol déficient en N et P, le sol de Kébémer 46
3.2.1. Résultats 46
3.2.2. Discussion 48
3.2.2.1. Amélioration de la nutrition phosphatée 48
3.2.2.2. Différences de comportement des deux Acacia 48
3.2.2.3. Augmentation du poids sec des racines 49
3.2.2.4. Amélioration de la résistance à une faible hygrométrie de l'air 50

Chapitre IV: ETUDE DU SYSTEME SYMBIOTIQUE RHIZOBIUM-MVA-ACACIA SUR SOL NON STERILISE 52

1. Dénombrement des spores de champignons VA indigènes du sol de Kébémer 52
2. Effets de la double inoculation avec, Rhizobium et MVA sur sol de Kébémer non stérilisé 53
2.1. Résultats 53
2.2. Discussion 54

Chapitre V: CONCLUSIONS GENERALES 56

Principaux ouvrages consultés

Glossaire

Abréviations

Annexe 1: Carte de la République du Sénégal
Annexe II: Renseignements sur la climatologie de Sénégal
Annexe III: L'appareil de Parnas-Wagner
Annexe IV: Le tensiomètre

Introduction

Le maintien des peuplements forestiers en zone semi-aride sénégalaise est limité par des facteurs climatiques, édaphiques et humains :

- écart important entre l'évapotranspiration potentielle et les précipitations (Tableau 1, annexe 2)
- pauvreté chimique des sols
- déboisement et coupes abusives
- surpâturage
- feux de brousse.

L'effet de ces facteurs est encore aggravé par la grande irrégularité des précipitations et de la durée de la saison des pluies. De plus, il semble que depuis quelques années, les précipitations soient en baisse sur l'ensemble du pays (Tableau 2, annexe 2), ce qui accélère encore le processus de désertification.

Un intense effort de reboisement est d'ores et déjà entrepris afin d'essayer de limiter ce processus. De par leur caractère de plantes peu exigeantes, les Légumineuses arborescentes sont appelées à jouer un rôle important dans ce programme. Or la nutrition de ces plantes est largement dépendante des symbiotes racinaires qu'elles hébergent :

- les *Rhizobium*

  Les *Rhizobium* sont des bactéries susceptibles de fixer l'azote atmosphérique (N_2) lorsqu'elles vivent en symbiose avec une légumineuse. Le siège de cette symbiose se trouve au niveau d'excroissances portées par le système racinaire : les nodules. Les bactéries bénéficient des glucides produits par la photosynthèse de la plante, qui, en contrepartie, utilise l'ammonium résultant de la fixation de N_2 pour la synthèse de ses protéines.

- les champignons endomycorhiziens à vésicules et arbuscules (VA).

"Les mycorhizes sont des organes complexes résultant de l'association intime d'une racine et d'un champignon qui réalisent ensemble une symbiose vraie" (DOMMERGUES et MANGENOT, 1970).

Leur fonction principale est d'améliorer la nutrition phosphatée des végétaux grâce à une meilleure exploitation du phosphore (P) du sol, mais elles peuvent aussi favoriser l'absorption d'autres éléments minéraux (S, Zn...) ou augmenter la résistance des plantes aux maladies ou à la transplantation.

La double inoculation par Les Rhizobium et les champignons endomycorhiziens VA permet aux Légumineuses de se développer dans les sols carencés en N et P, qui prévalent au Sénégal.

Les objectifs de ce travail sont les suivants :

1. Isoler et tester pour leur efficacité un certain nombre de souches de Rhizobium nodulant A. raddiana et A. holoscritea, deux Légumineuses arborescentes d'intérêt sylvo-pastoral.

2. Evaluer l'effet de l'inoculation avec un champignon endomycorhizien VA sur la croissance d'A. raddiana.

3. Déterminer dans quelles conditions ces deux Acacia bénéficient le plus de la double inoculation avec Rhizobium et un champignon endomycorhizien VA.

Ce mémoire comprend trois parties principales. Dans la première, j'ai exposé quelques rappels sur les symbioses des Légumineuses, puis j'ai décrit les méthodes employées au cours des expériences. L'exposé des résultats constitue la troisième partie de ce rapport.

Chapitre 1

RAPPELS SUR LES SYMBIOSES RACINAIRES DES LEGUMINEUSES

1. La symbiose Rhizobium - Légumineuses

Il existe trois types de microorganismes susceptibles de fixer symbiotiquement N_2 au niveau de nodules racinaires de diverses plantes-hôtes :

- des Bactéries du genre Rhizobium induisant la formation de nodules racinaires chez de nombreuses Légumineuses
- des Cyanobactéries, associées *aux* racines des Cycadales
- des Actinomycètes, formant des nodules sur les racines de plusieurs dicotylédones (Alnus spp., Casuarina spp., Elaeagnus spp.).

La symbiose Rhizobium -Légumineuses est de loin la plus importante dans la biosphère en terme de N_2 fixé annuellement. Bien que toutes les Légumineuses ne fixent pas N_2, ceci est dû à l'énorme importance de cette famille qui comprend plus de 14 000 espèces recensées sur les 5 continents.

1.1. Occurence de la symbiose

Hormis un genre de non-légumineuse (Parasponia sp., Ulmacées, (AKKERMANS, ABDULKADIR et TRINICK, 1978), cette symbiose est strictement spécifique de la famille des Légumineuses. Elle se manifeste toutefois à des degrés divers dans les différentes sous-familles. Le pourcentage d'espèces nodulées pour chacune d'entre elles se répartit comme suit :

Papilionacées	95 %
Mimosacées	90 %
Césalpiniacées	35 %

(D'après POCHON et DE BARJAC, 1958)

Tableau 1. Classification des *Rhizobium* tropicaux d'après leurs spécificités et leurs caractéristiques de croissance.

Caractéristiques de croissance	Spécificité des souches	Plante hôte
Souches à croissance lente (Cowpea sensu lato)	Peu spécifiques (Cowpea sensu stricto)	*Acacia albida* *A. holosericea* *Arachis hypogaea* *Psophocarpus tetragonolobus* *Stylosanthes guyanensis* *Vigna unguiculata*
	Spécifiques	*Centrosema* spp. *Coronilla* spp. *Lotus* spp
Souches à croissance rapide	Spécifiques	*Acacia raddiana* *Acacia senegal* *Leucaena leucocephala* *Sesbania rostrata*

d'après GIBSON, DREYFUS et DOMMERGUES, 1982; et DREYFUS, Comm. pers.

La présence de nodules sur les racines d'Acacia spp. (Mimosacées) est fréquemment signalée : CARROLL, 1933; BOWEN, 1956; LANGE, 1961; BASAK et GOYAL, 1980.

1.2. Spécificité des Rhizobium

La spécificité d'une souche de Rhizobium est liée d'une part à son infectivité = son aptitude à infecter les racines de la plante-hôte et à y induire la formation de nodules = et d'autre part, à son efficacité, c'est à dire sa capacité à fixer N_2 dans ce nodule.

En effet, une souche de Rhizobium ne peut pas infecter n'importe quelle légumineuse. L'ensemble des espèces végétales sur lesquelles elle induit la formation de nodules constitue son spectre d'hôte. La classification des Rhizobium repose sur cette notion : une espèce de Rhizohium est constituée de l'ensemble des souches infectives pour un même groupe d'espèces végétales, appelé groupe d'inoculation croisée.

Six espèces de Rhizobium ont ainsi été décrites dans les sols des régions tempérées, correspondant chacune à des groupes d'inoculation croisée rassemblant les espèces d'un ou plus fours genres de Légumineuses. Il est difficile de classer les Rhizobium des sols tropicaux car nombre de ceux-ci sont infectieux pour un très grand nombre de Légumineuses tropicales, ce qui ne permet pas de les rassembler en groupes d'inoculation croisée. On les distingue plutôt par des critères de croissance en culture pure sur milieu gélosé : après 7 jours à 25°C, les Rhizobium à croissance lente forment des colonies de petite taille (environ 1mm de diamètre), tandis que les Rhizohium à croissance rapide forment des colonies beaucoup plus étendues (jusqu'à 1cm de diamètre).

Les Rhizobium tropicaux à croissance lente constituent le groupe des Rhizobium "Cowpea", du nom anglais de la plante-hôte de référence, Vigna unguiculata. La plupart sont peu spécifiques, mais certains le sont.

Le tableau 1 indique quelques plantes-hôtes caractéristiques de chaque type de Rhizobium tropicaux.

Nous constatons que certains Acacia ne sont infectés que par des Rhizobium à croissance lente (A. albida, A. holosericea)

tandis que d'autres, comme A. raddiana et A. senegal, ne sont infectés que par des Rhizobium à croissance rapide. DREYFUS et DOMMERGUES (1981) ont également montré que certains Acacia tels que A. seyal et A. bivenosa peuvent être infectés indifféremment par les deux types de Rhizobium,

1.3. Dhvelopaement des nodules

On distingue schématiquement deux @tapes principales dans l'établissement de la symbiose Rhizobium . Légumineuses : l'infection rhizobienne et la nodulation proprement dite.

1.3.1. L'infection

Sous l'action d'exsudats racinajres libérés dans le sol par les Légumineuses, les Rhizobjum se multiplient activement dans la rhjzosphère (SCHMIDT, 1978). Ceci favorise la phase de préinfection : la fixation des Rhizobium sur les poils absorbants des racines de la plante-hôte. La spécificité de cette reconnaissance serait due à l'existence *d'une* glycoprotéine de la plante-hôte, une lectine, susceptible de réagir spécifiquement avec un exopolysaccharide du Rhizobium approprié (BOLHOOL et SCHMIDT, 1974).

La fixation des Rhizobium sur les poils absorbants est suivie d'une courbure de ces poils, probablement due à l'action d'une auxine produite par le Rhizobium (DART, 1977). La déformation des poils absorbants favorise la pénétration des Rhizobium dans la cellule au niveau du coude du poil. Les Rhizobium s'entourent alors d'une paroi cellulosique qui les isole du cytoplasme des cellules de la plante-hôte. Le cordon d'infection ainsi formé progresse vers le cortex racinaire où il provoque une dédifférenciation des cellules qui s'organisent en un méristème initial du nodule (DENARIE et TRUCHET, 1979).

1.3.2. La nodulation

Les cellules dédifférenciées se multiplient et forment le tissu nodulaire riche en cordons d'infection.

Les bactéries sont alors libérées et envahissent le cytoplasme des cellules de la plante-hôte. Elles en restent toutefois séparées par une membrane de séquestration élaborée par la plante.

Chaque sac ainsi formé isole un nombre déterminé de bactéries selon l'espèce de Rhizobium concernée (DART, 1977). L'infestation des cellules entraîne chez elles une polyploïdie due à la libération d'un nrincine bactérien, tandis que les bactéries changent de forme et deviennent plus grandes (bactéroïdes). Lorsque la souche de Rhizobium est efficace, c'est dans ce massif de cellules polyploïdes qu'a lieu la fixation symbiotique de N_2. Sur une cassure du nodule, ce massif se distingue alors à l'oeil nu, grâce à sa couleur rouge due à un pigment protéique d'origine mixte : la leghémoglobine ou hémoglobine des Légumineuses. (DENARIE et TRUCHET, 1979).

1.4. Mécanisme de la fixation symbiotique de N_2

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

$$N_2 + 6H^+ + 6\bar{e} \longrightarrow 2NH_3$$

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

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

Prises séparément, ces deux macro-molécules sont inactives. Leurs structures semblent remarquablement constantes parmi les différents microorganismes fixateurs de N_2 car on peut reconstituer une nitrogénase active à partir de deux sous-unités d'origine différente. La nitrogénase présente la particularité d'être irréversiblement inhibée par l'oxygène (O_2). L'abondance de léghémoglobine constitue un système protecteur : sa très forte affinité pour 0_2 permet de maintenir à l'intérieur des bactéroïdes

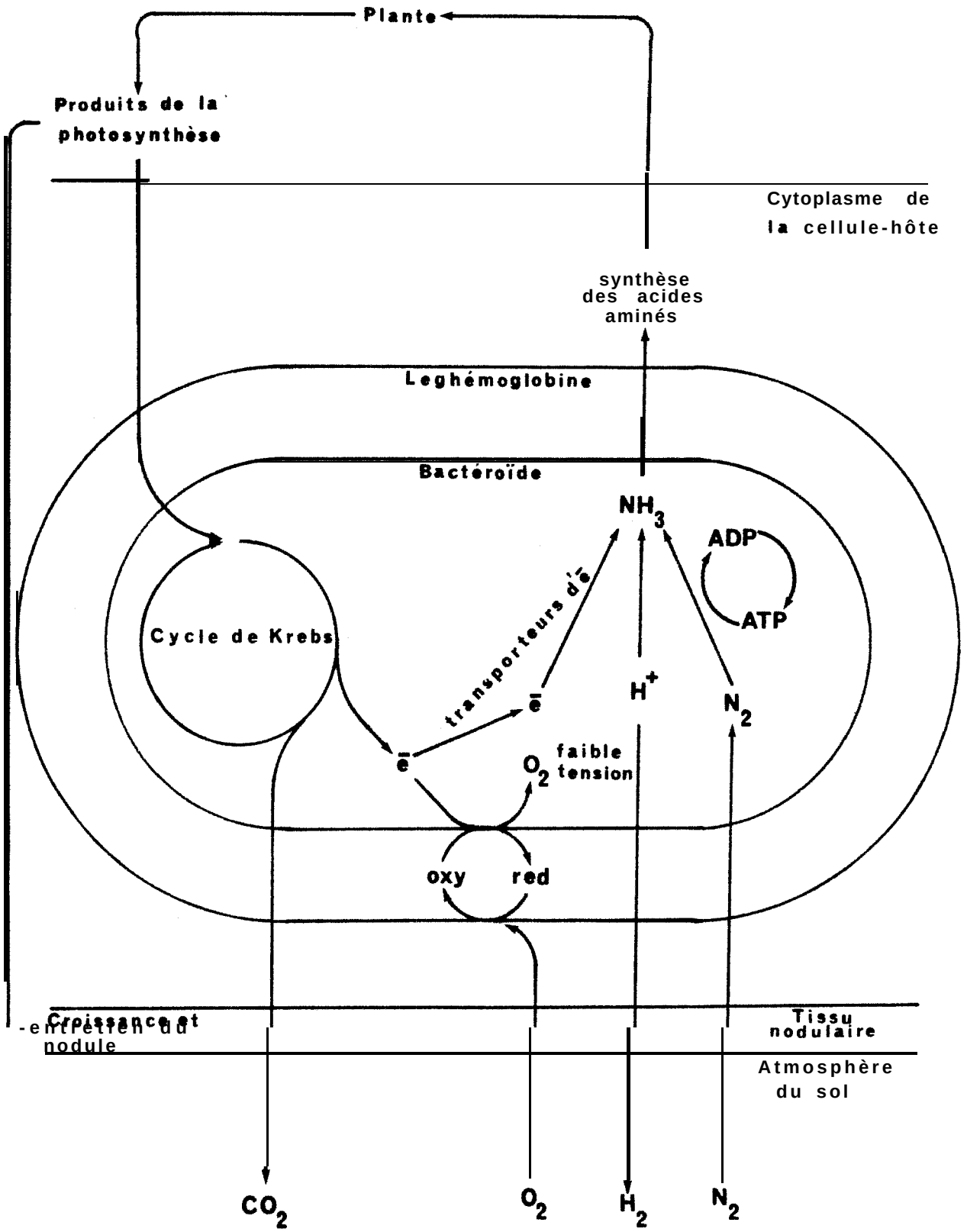


Figure 1: Représentation schématique des interactions entre la plante-hôte et les bactéroïdes lors, de fixation de N_2 dans les nodules des Légumineuses.
D'après BERGERSEN, 1978

une pression partielle en 0_2 très faible, suffisante toutefois pour permettre la production d'adénosine tri-phosphate (ATP) nécessaire pour fournir l'énergie indispensable à la réduction de N_2 (DENARIE et TRUCHET, 1979).

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

$$N_2 + 16\ ATP + 8H^+ + 8\bar{e} \longrightarrow 2NH_3 + H_2 + 16\ ADP + 16P$$

(PHILLIPS, 1980).

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

N_2 ainsi réduit passe dans les cellules de la plante-hôte sous forme d'ions ammonium. Ils sont alors intégrés à des molécules carbonées pour former des acides aminés qui seront ensuite exportés dans toute la plante. (voir figure 1).

1.5. Influence des facteurs du milieu sur l'établissement et l'efficacité de la symbiose

En dehors desfacteurs internes liés à la plante-hôte ou à la bactérie, que j'ai évoqués nu paragraphe 1 1.2.. (p. 4), le fonctionnement de la symbiose peut être plus ou moins affecté par l'environnement. Les facteurs du milieu peuvent agir :

- sur la plante-hôte : influence de la lumière, attaques de pathogènes, etc.
- sur la population de Rhizohium dans le sol : pH, potentiel hydrique et composition chimique du sol, prédateurs, etc.
- sur les processus d'infection et sur le fonctionnement de la symbiose : richesse du milieu en éléments minéraux nutritifs, température, etc.

1.5.1. Influence des facteurs abiotiques

- Richesse en éléments minéraux nutritifs du sol.

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

En revanche, de faibles doses permettent à la plante de mieux supporter la période critique comprise entre le début de la nodulation et celui de la fixation de N_2 (LIE, 1974). Un milieu riche en P assimilable stimule la nodulation et la fixation de N_2 en améliorant la synthèse de l'ATP, qui fournit l'énergie nécessaire à la réaction.

- Potentiel hydrique du sol.

La fixation symbiotique de N_2 a des exigences assez strictes vis à vis du potentiel hydrique du sol : dès que l'on s'écarte de l'optimum situé aux alentours de 65 - 70% de la capacité de rétention, le nombre de nodules formés et leur longévité sont diminués (LIE, 1974) ainsi que la fixation de N_2 (NAKOS, 1977). La diminution de fixation de N_2 semble due, dans le cas d'un engorgement, à une augmentation du métabolisme anaérobie au niveau des nodules, l'éthanol produit atteignant alors des concentrations inhibitrices. (SPRENT et GALLACHER, 1976).

- pH

L'absence de nodulation dans les sols acides est reconnue depuis longtemps. Elle est due à la difficulté de survie des Rhizobium dans les milieux à faible pH (LIE, 1974). Toutefois, DATE et HALLIDAY (1979) ont montré qu'il est possible de sélectionner des souches de Rhizobium tolérantes vis à vis des pH acides.

- Température :

  Les Rhizobium semblent adaptés aux conditions normales de température dans lesquelles vivent leur plante-hôte, ce qui fait que l'optimum pour la fixation chez une plante tempérée est plus faible que chez une plante tropicale.

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

- Lumière :

  La lumière est le facteur qui influence sans doute le plus la symbiose car elle commande la photosynthèse de la plante, donc l'approvisionnement en hydrates de carbone pour la croissance et le fonctionnement des nodules (LIE, 1971). Il est donc important de bien contrôler ce facteur, notamment dans les pépinières de légumineuses arborescentes, car un maintien prolongé des ombrières diminue fortement la fixation de N_2 (NAKOS, 1977).

1.5.2. Influence des facteurs biotiques

Lorsqu'aucun facteur abiotique ne peut être invoqué pour expliquer l'absence de nodulation dans certains sols, ou l'échec d'une inoculation, on a souvent recherché des interactions entre Rhizobium et d'autres microorganismes telluriques.

- Les nématodes ne semblent pas avoir d'influence directe sur la population de Rhizobium dans le sol ou la fixation de N_2, mais ils inhibent fortement le développement et la photosynthèse de la plante-hôte. Celle ci ne peut donc plus subvenir correctement aux besoins en glucides du mécanisme de la fixation symbiotique.

- Certains champignons, actinomycètes et bactéries du sol, dont des Rhizobium, libèrent dans leur environnement immédiat des antibiotiques ou des toxines plus spécifiques des bactéries, les bactériocines, qui peuvent limiter le développement des Rhizohium (CHOWDHURY, 1976).

- Les Rhizobium sont également sensibles à des virus bactériophages pouvant être présents dans le sol. (CHOWDHURY, 1976). DEMOLON et DUNEZ (1933) avaient ainsi attribué le dépérissement des cultures continues de luzerne (fatigue des luzernières) à l'action lytique des rhizobiophages sur les Rhizobium, entrafnant une diminution de la fixation de N_2.

- Enfin, d'autres microorganismes sont des prédateurs typiques des Rhizobium, notamment des bactéries et des protozoaires (HABTE et ALEXANDER, 1978).

- Les rndomycorhizes VA favorisont la fixation de N_2, mais comme cette stimulation résulte essentiellement d'une amélioration de la nutrition des plantes mycorhizées, je ne développerai ce cas particulier d'interaction qu'après avoir expose les principales caractéristiques de la symbiose endomycorhizienne.

2. Les endomycorhizes à vésicules et à arbuscules

Les mycorhizes sont classiquement réparties en deux groupes :

- les ectamycorhizes, ou mycorhizes ectotrophes
- les endomycorhizes, ou mycorhizes endotrophes.

A. - Les ectomycorhizes

Dans cette association, les hyphes mycéliennes ne se développent pas à l'intérieur des cellules des racines de la plante-hôte, mois forment seulement un manchon autour des racines courtes. De ce feutrage dense partent, vers l'intérieur, des hyphes qui s'insinuent entre les cellules du cortex racinaire, formant le réseau de Hartig (voir PIOU, 1977). Ce type de mycorhize était considéré comme fréquent surtout parmi les essences forestières

de la zone tempérée, mais l'on constate depuis quelques années que de nombreuses essences forestières tropicales sont également ectomycorhieées, notamment parmi les Césalpiniacées et les Diptérocarpacées. (REDHEAD, 1980, 1982).

B. - Les endomycorhizes

Les endomycorhizcs sont caractérisées, en revanche, nar des structures nettement intracellulaires et par l'absence constante de manchon. Selon leur morphologie, les endomycorhizes sont classées en deux groupes (GIANINAZZI-PEARSON, 1976) :

- celles qui font intervenir des champignons supérieurs à hyphes septées. Elles sont caractéristiques de trois familles : les Orchidacées, les Lricacées et les Gentianacées.

- celles dues à des champignons imparfaits à hyphes peu ou pas septées. Elles sont nommées mycnrhizes à vésicules et à arbuscules (MVA) en raison de ces structures que le champignon développe à l'intérieur des cellules corticales des racines de la plante-hôte. La distribut ion des MVA est quas i-universelle dans le règne végétal : seules quelques familles telles que les Crucifères et les Chénopodiacées semblent ne jamais en former.

La présente étude ne porte que sur ce dernier type de mycorhizes que je désignerai par les initiales WA.

2.1. Morphologie des MVA

Les hyphes , au niveau où elles pénètrent les racines, forment un appressorium et présentent un épaississement de la paroi (Figure 2, photo 1). Au delà de ce point d'infect ion, l'hyphe ce ramifie et colonise rapidement -et exclusivement- le cortex racinaire. A partir de ce moment se développent les structures caractéristiques :

- les arbuscules résultent de ramifications dichotomiques répetées un grand nombre de fois à l'intérieur même des cellules.
- les vésicules sont des renflements terminaux ou intercalaires des hyphes contenant de nombreuses gouttelettes

Figure 2: Structures caractéristiques des endomycorhizes VA.

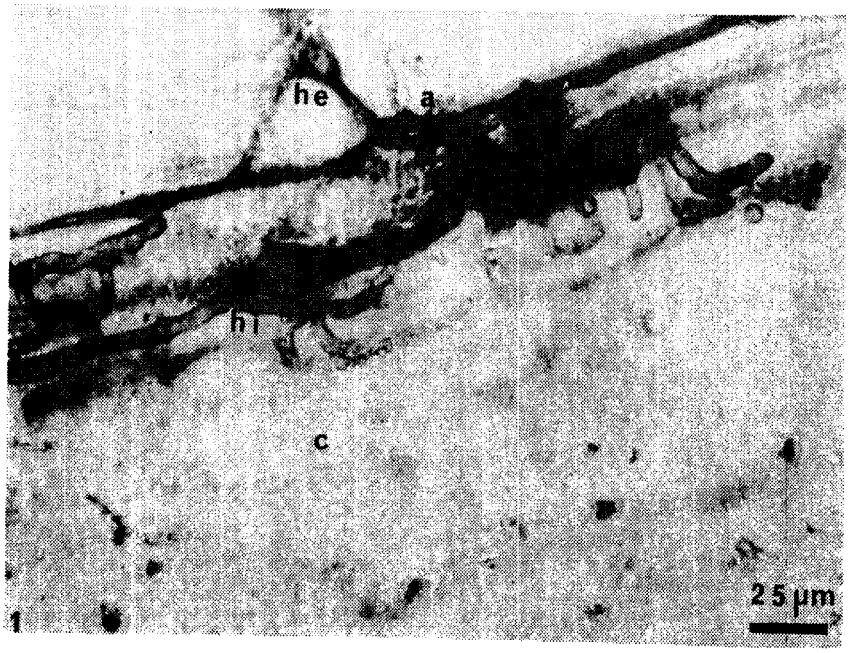


Photo 1: Stade précoce de l'infection endomycorhizienne: appressorium (a); hyphe externe (he) ; hyphe interne (hi); cortex racinaire non infecté (c).

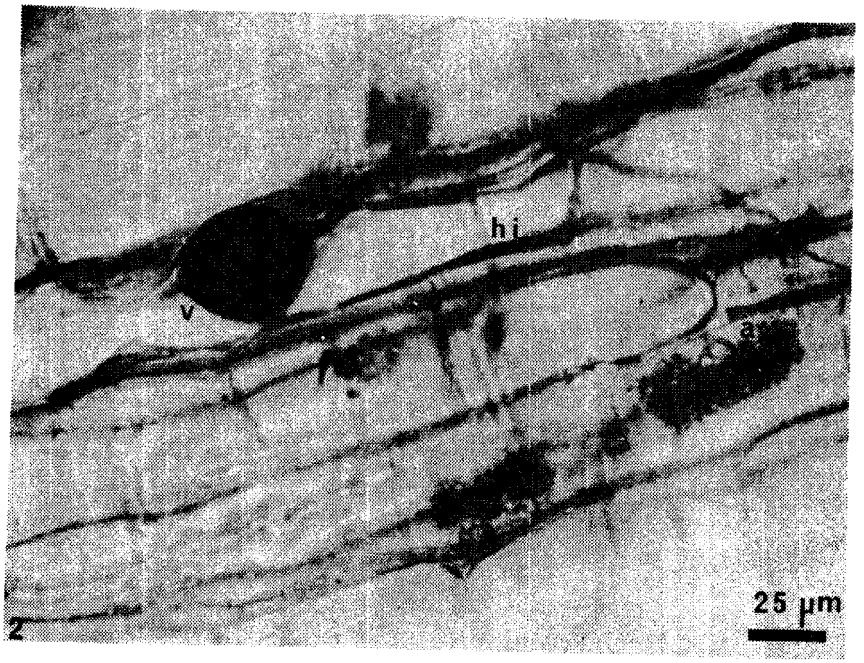


Photo 2: Différentes structures du champignon endomycorhizien VA dans les cellules corticales des racines de la plante-hôte (Vigna unguiculata): vésicule (v) ; arbuscule (a); hyphe interne (hi).

Photos B. OLLIVIER.

Le complexe endomycorhizien n'est pas une structure pérenne : les structures intracellulaires, vésicules exceptées, sont peu à peu digérées par la plante lorsque la racine vieillit. BEVEGE et BOWEN (1975) estiment ainsi la durée de vie des arbuscules chez l'oignon comme allant de 7 à 15 jours.

Cette phase de senes'cence coïncide avec celle de fructification du champignon. Les spores, remarquables par leurs dimensions, pouvant atteindre 400 microns de diamètre, sont formées en général au niveau du mycélium externe, mais aussi parfois à l'intérieur même des racines (NICOLSON et JOHNSTON, 1979; GIANINAZZI-PEARSON et DIEM, 1982). Ces spores assurent la survie et la multiplication du champignon d'une saison de végétation à la suivante.

'1.2. Taxonomie des champignons endomycorhiziens

Du fait de la présente impossibilité de cultiver les champignons endomycorhiziens in vitro, de nor breuses la cunes subsistent dans la connaissance de leurs cycles biologiques (GERDEMANN et TRAPPE, 1975) cc oui rend leur classification incertaine. Toutefois, GERDEMANN et TRAPPE (1974) les groupent tous dans la famille des Endogonacées, de l'ordre des Mucorales. D'après des caractères portant sur les spores et eventuellement sur les sporocarpes, ils distinguent 7 genres dans cette famille, dont 4 forment des MVA : Glomus, Gigaspora, Acaulospora et Sclerocystis (Figure 3).

2.3. Influence de l'endomycorhization sur la croissance des plantes

La croissance des plantes dans les sols pauvres en P assimilable est souvent largement stimulée après inoculation avec des champignons endomycorhiziens VA (GERDEMANN, 1968; MOSSE, 1973a). Ceci est particulièrement vrai pour de nombreux arbres forestiers (CLARK, 1969; BRYAN et RUEHLE, 1976; KABRE, 1978; POPE, 1980), dont une espèce d'Acacia (JOHNSON et MICHELINI, 1974). Cette stimulation de la croissance résulte de deux modes d'action : les effets trophiques et les effets non trophiques de l'endomycorhizati un.

2.3.1. Effets trophiques

Le principal intérêt agronomique des MVA est d'améliorer la nutrition minérale des plantes, notamment en ce oui concerne les éléments peu mobiles, tels que P ou Zn (MOSSE et HAYMAN, 1980). La nutrition en P des plantes mycorhizées a, en particulier, largement retenu l'attention des microbiologistes

Figure 3: Morphologie des spores des 4 genres de champignon endomycorhizien VA.

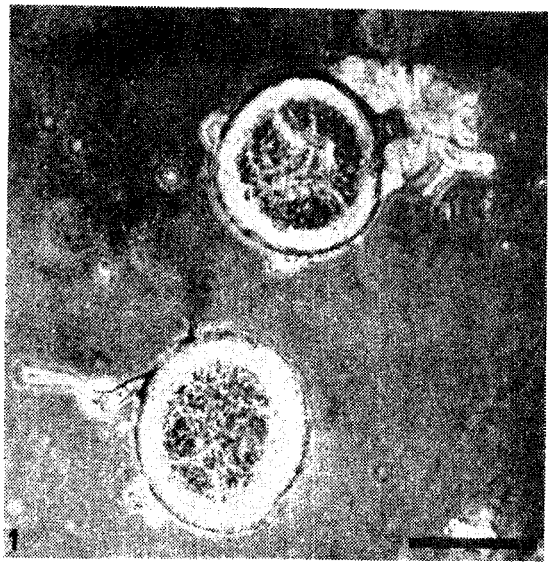


Photo 1: Glomus sp.

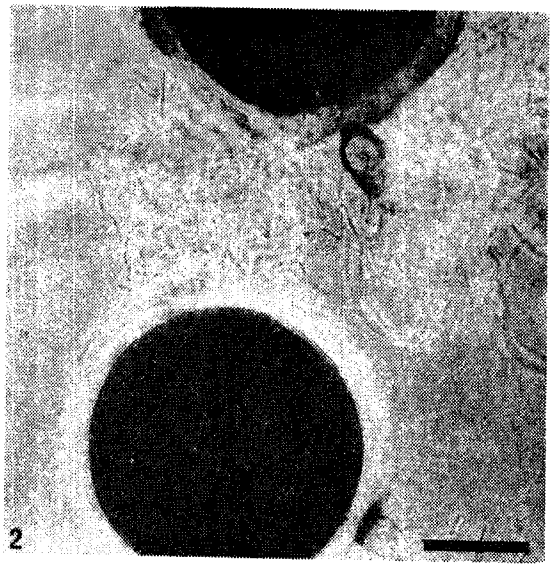


Photo 2: Gigaspora sp.

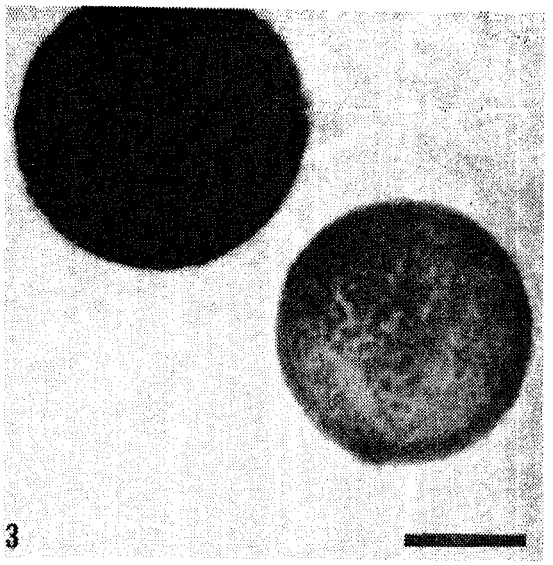


Photo 3: Acaulospora sp.

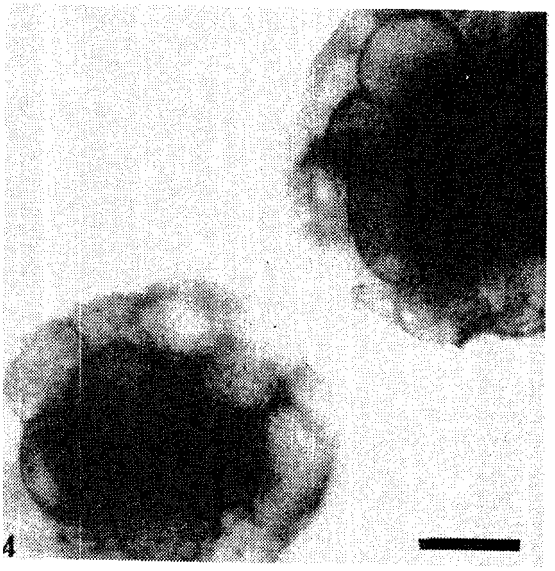


Photo 4: Sclerocystis sp. (sporocarpes)

Chaque barre représente 100 microns.

Photos B. OLLIVIER et F. CORNET.

en raison de l'importance de cet élément vis à vis de la croissance des végétaux. Depuis quelques années on attache en outre une importance croissante au rôle des endomycorhizes dans l'alimentation en eau des plantes.

2.3.1.1. Nutrition phosphatée :

P est présent dans le sol sous forme de composés de différentes solubilités. Par ordre de solubilité décroissante, on trouve :

(1) - des ions phosphates libres dans la solution du sol. Leur concentration est tris faible : l à 2 $_{Y}{}^{M}$ (MOSSE, 1973b)

(2) - des ions phosphates adsorbés sur la surface des particules du complexe absorbant du sol par l'intermédiaire de ponts calcium. Cette forme de P est en équilibre avec la solution du sol. Avec les ions en solution, elle constitue le pool du P assimilable par les plantes. (A)

(3) - des composés organiques : humo-phosphates, phytate, lécithine, etc.

(4) - des composés insolubles résultant soit de la rétrogradation de P entre des feuillets d'argile, soit de la précipitation avec des ions métalliques M l^{+++}, Fe+++) en milieu acide.

En milieu alcalin, P forme des composés cristallins de plus en plus insolubles avec le carbonate de calcium :

$$3\ Ca\ CO_3 + 2H_3\ PO_4 \longrightarrow Ca_3(PO_4)_{2a}t\ 3CO_2\ t\ 3H_2O$$

phosphate tricalcique

$$Ca_3(PO_4)_2 + CaCO_3 \longrightarrow Ca_3(PO_4)_2\ CaCO_3$$

carbonate-apatite.

Ces différentes formes de P participent au cycle

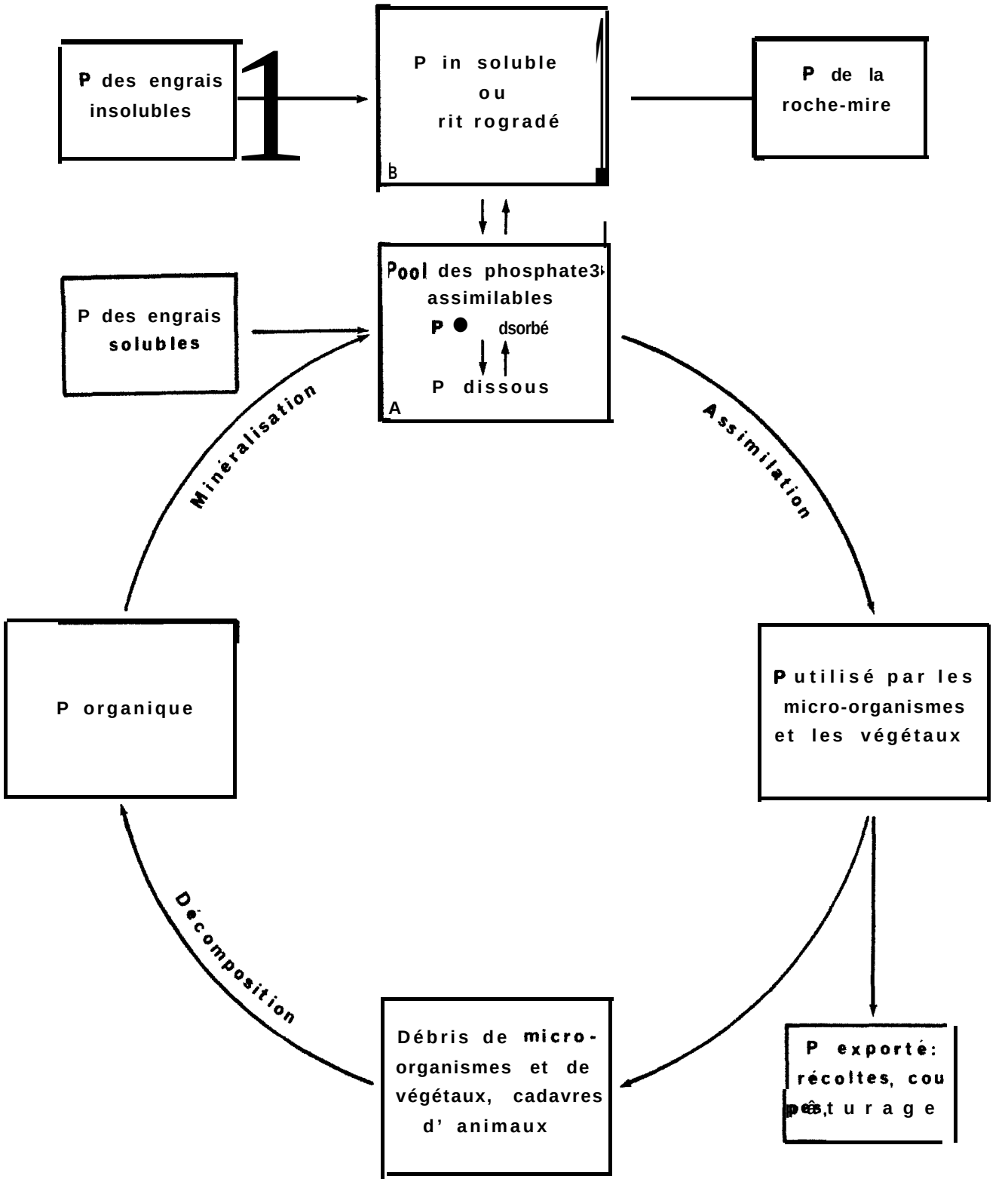


Figure 4: Le cycle du Phosphore.

La stimulation de croissance observée après inoculation avec des champignons VA est en général interprétée comme le résultat d'une meilleure nutrition phosphatée des plantes mycorhizées car un apport de P soluble à des témoins produit pratiquement le même effet (MOSSE, 1973a). Des expériences utilisant ^{32}P ont montré que les plantes mycorhizées utilisent la même source de P que les témoins non mycorhizés : le pool des phosphates assimilables (A) (GRAY ET GERDEMANN, 1969; GIANINAZZI-PEAHSON et al., 1981). En conséquence, l'amélioration de la nutrition phosphatée des plantes mycorhizées ne résulte pas de la solubilisation du P insoluble (B), mais d'une meilleure exploitation des formes solubles.

Ceci est dû au grand développement des hyphes externes qui permettent à la plante d'accéder à un volume de sol plus important,

P est ensuite transporté par les hyphes jusqu'à la plante grâce à des mécanismes actifs car le flux de P dans les hyphes ($0,3$ à $1,0.10^{-9}$ moles/cm^2/s) est supérieur à celui qui résulterait d'une simple diffusion. Les courants cytoplasmiqucs ont sans doute une grande importance dans ce phénomène (PEARSON et TINKER, 1975).

Il est probable que des phosphatases alcalines d'origine fongique jouent également un rôle non négligeable. (GIANINAZZI, GIANINAZZI-PEARSON et DEXHEIMER, 1979).

On suppose que le transfert de P à la plante se fait également de manière active à travers les membranes fongiques et végétales. Ce processus est peut être lui aussi dépendant des phosphatases spécifiques (GIANINAZZI-PEARSON et al., 1978).

2.3.1.2. Absorption des autres éléments minéraux

De nombreux travaux signalent des différences de concentration en azote, potassium, magnésium, manganèse, Cuivre, zinc, entre plantes mycorhizées et plantes non mycorhizées. Toutefois, les résultats sont souvent contradictoires, sauf pour lc cuivre qui atteint des concentrations supérieures chez les plantes mycorhiiées, et le manganèse pour lequel elles sont en général inférieures* (MOSSE, 1973a).

2.3.1.3. Alimentation en eau

Une attention toute particulière doit être portée sur l'alimentation en eau des plantes endomycorhizées. Les travaux de SIEVERDING (1979) montrent que l'utilisation de l'eau est meilleure chez les plantes mycorhizées que chez les plantes non mycorhizées. Cependant, cette amélioration de l'absorption de l'eau semble n'être qu'un effet secondaire de la meilleure nutrition minérale,qui diminuerait la résistance au transport de l'eau. (SAFIR, BOYER et GERDEMANN, 1972).

Une conséquence de l'amélioration de l'alimentation en eau des plantes mycorhizées est qu'elles résistent mieux au choc de transplantation. (MENGE et al., 1978). Cette propriété devrait Qtre très intéressante en zone semi-aride tropicale où l'essentiel des reboisements se fait par plantation. Il serait donc utile de vérifier si les conclusions de MENGE et al. (1978), concernant la transplantation d'avocats dans des pots, sont confirmées lors de transplantations sur le terrain.

2.3.2. Effets non trophiques

Les MVA peuvent aussi favoriser la croissance des plantes en améliorant leur résistance aux maladies et aux parasites ou en favorisant l' agrégation des particules du sol.

Les champignons endomycorhiziens VA peuvent lier les particules du sol en agrégats assez stables (SUTTON et SHEPPARD, 1976)grâce à une secrétion de gommes. Cette

propriété pourrait permettre aux plantes mycorhizées d'intervenir dans la réhabilitation des sites érodés. (MOSSE et HAYMAN, 1980).

L'amélioration de la résistance des plantes aux maladies ou aux parasites constitue sans doute l'effet non trophique des MVA le plus intéressant d'un point de vue pratique. En effet, certaines espèces de champignons endomycorhiziens VA semblent exercer un contrôle biologique sur plusieurs phytopathogènes et sur les nématodes gallicoles. (SCHENCK, 1981). Malheureusement, cet effet des MVA n'est pas constant : ROSS (1972) a constaté que les MVA augmentaient la sensibilité du Soja à Phytophtora. Il semble en fait que les interactions entre les champignons endomycorhiziens VA, les pathogènes et les plantes-hôtes soient très complexes, ce qui oblige à considérer chaque combinaison individuellement. (GIANINAZZI-PEARSON et DIEM, 1982).

2.4, Influence de l'environnement sur la symbiose endomycorhizienne et son efficacité

De même que pour la symbiose Rhixobium - Légumineuses (§I 1.5., p. 7), les facteurs du milieu peuvent agir indépendamment sur les deux partenaires de la symbiose, ou sur les processus d'infection et d'assimilation de P.

2.4.1. Influence des facteurs abiotioucs

- Richesse du sol en éléments miner-aux nutritifs :

L'endomycorhization atteint sa pleine efficacité dans des sols chimiquement pauvres, notamment dans ceux qui présentent une forte déficience en P. Toutefois, dans un sol totalement dépourvu de P assimilable (par exemple les sols où P est entièrement rétrogradé), les MVA ne peuvent améliorer la nutrition phosphatée des plantes. Une faible fertilisation avec un engrais phosphaté soluble (apport de 10-20ppmP) permet alors d'améliorer l'efficacité de la symbiose. En revanche, l'application de fortes doses (supérieur-es à 100ppmP) diminue l'endomycorhization chez

la plupart des espèces. (GERDEMANN, 1975). Certaines cependant continuent à bénéficier de la symbiose même à haut niveau de fertilité. (BRYAN et KORMANIK, 1977; KABRE, 1979). Ceci est dû aux différences de comportement des plantes vis à vis de l'absorption des éléments minéraux. Pour cette raison, les seuils cités ci-dessus ne sont donnés qu'à titre indicatif.

- Potentiel hydrique du sol.

La disponibilité des éléments minéraux dans le sol est largement tributaire du régime hydrique car l'eau est le support de tout transport d'ion, Les MVA permettent à la plante d'accéder encore aux éléments minéraux lorsque le sol est déficitaire en eau. Pour cette raison, elles semblent plus efficaces lorsqu'il existe un léger déficit hydrique dans le sol (SIEVERDING, 1979). Ce phénomène est différent de l'amélioration de l'absorption de l'eau étudiée ci dessus (§I 2.3.1.2., p. 15).

L'eau influe aussi directement sur le développement des champignons endomycorhiziens: un engorgement du sol limite notamment la formation des spores (REDHEAD, 1975).

- Lumière.

Un ombrage important peut réduire de façon très importante le nombre de spores produites, mais l'effet sur l'infection elle même est controversé (MOSSE, 1973.2).

- Température.

La température semble affecter l'activité physiologique des MVA plus que leur développement. La réponse à l'infection est maximum vers 30°C et diminue très rapidement dès que l'on s'écarte de part et d'autre de cette valeur (MOAWAD, 1980).

- pH.

Ce facteur a une très forte influence sur l'infection, mais il y a de trop grandes interactions avec la plante pour que l'on puisse tirer des conclusions en ce qui concerne son action sur les champignons eux mêmes (MOAWAD,

1980). Toutefois, certaines espèces semblent avoir un optimum aux pH acides (Glomus fasciculatus, forme E_3), tandis que d'autres sont plus neutrophiles (G. mosseae).

. Influence des produits phytosanitaires.

La désinfection du sol à l'aide de produits tels que la chloropicrine ou le bromure de méthyle élimine les champignons endomycorhiziens du sol (ROSS et HARPER, 1970). De même, les fongicides limitent le développement des MVA (BOATMAN et al., 1978), mais leur effet n'est en général pas rémanent. Cette non-remanence permet l'inoculation ultérieure avec un champignon endomycorhizien (EL-GIAHMI, NICOLSON et DAFT, 1976). En revanche, la plupart des autres pesticides (DOMMERGUES, communication personelle) et herbicides (SMITH, NOACK et COSH, 1981) n'ont pas d'influence sur l'endomycorhization. Certains nématicides tels que le DBCP (1,2 dibromo - 3 chloro - propane) semblent même favoriser l'infection mycorhizienne (BIRD, RICH et GLOVER, 1974; GERMANI, DIEM et DOMMERGUES, 1980).

2.k.2. Influence des facteurs biotiques

Outre les champignons phytopathogènes et les nématodes étudiés ci dessus (§12.3.2., p. 15), divers microorganismes du sol interagissent avec les MVA.

- Les champignons hyperparasites.

Comme de nombreux champignons phytopathogènes, les champignons endomycorhiziens sont susceptibles d'être infestés par des hyperparasites qui limitent leur développement et le bénéfice retiré par la plante (ROSS et RUTTENCUTTER, 1977; DANIELS et MENGE, 1980).

- Virus.

La meilleure nutrition de la plante-hôte, lorsqu'elle est mycorhizée accroît sa sensibilité aux virus (MOSSE, 1973a). Ceci risque d'être un facteur limitant dans l'utilisation contrôlée des MVA car les hyphes, pouvant relier les racines de plantes différentes (HEAP et NEWMAN, 1980), sont susceptibles de transmettre les virus aux plantes indemnes.

3. La double symbiose Rhizobium - MVA chez les Légumineuses

Nous avons vu précédemment que la symbiose Rhizobium - Légumineuse est très exigeante en P (§ I 1.4., p.6 et § 1 1.5.1., p.8); or, les Légumineuses sont connues pour la relative difficulté qu'elles ont à extraire P du sol, du fait de leur système racinaire peu développé (MUNNS et MOSSE, 1980). Il n'est donc pas surprenant de constater que l'inoculation des Légumineuses avec des champignons endomycorhiziens stimule notablement la nodulntion et la fixation symbiotique de N_2 (CRUSH, 1974; DAFT et EL-GIAHMI, 1975; ASIMI et al., 1978; SMITH, NICHOLAS et SMITH, 1979). Cette stimulation se manifeste quelques semaines avant l'effet des MVA sur la croissance (SMITH et DAFT, 1977; ASIMI, GIANINAZZI-PEARSON et GIANINAZZI, 1980), et se prolonge plus longtemps chez les plantes mycorhizées que chez les plantes ayant reçu une fertilisation phosphatée (ASIMI et al., 1978).

A côté de cette stimulation de la fixation de N_2 résultant directement de l'amélioration de la nutrition phosphatée de la plante-hôte, il semble que les MVA aient en plus d'autres effets synergiques sur la nodulntion et la fixation de N2 car DAFT et EL-GIAHMI (1975) ont observé que les plantes endomycorhizées avaient des nodules plus développés et fixaient plus de N_2 que celles ayant reçu des phosphates solubles. Toutefois, il ne semble pas que ltendomycorhization interagisse directement avec les Rhizobium au niveau de l'infection ou de la compétition entre souches (JARA, 1981). Peu de travaux ont encore porté sur ces aspects de la double symbiose. Néanmoins, le terme "interaction" étant couramment utilise dans la littérature, je continuerai à l'utiliser pour désigner l'influence de l'endomycorhization sur la nodulation et la fisation de N_2.

Il est clair quo les Légumineuses retirent un avantage important de cette double symbiose, ce qui leur permet fréquemment de jouer un rôle de plantes pionnières dans la colonisation des sols déficients en éléments minéraux assimilables : dunes, terrils de mines, éboulis... La nodulation et ltendomycorhization leur permettent de pallier dans une certaine mesure à l'infertilité de ces milieux.

Tableau 2. Principales caractéristiques des sols

Sol	Argile %	Limon %	Sables %	N total ppm	P pp
Bel Air	4,4	O,9	94,7	180	105
De ck	8,5	3,3	88,2	3OO	11
Kébémer	3,3	2,4	94,3	170	11

- N total est dosé après minéralisation à H_2SO_4
- P assimilable est dosé après extraction à $NaHCO_3$ O,5M selon la méthod
- P total est dosé après minéralisation à HNO_3
- le pH est mesuré dans un mélange sol - solution de KCl 1N(1/2,5 v/v).

Chapitre II

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel expérimental

1.10 Sols utilisés

J'ai utilisé pour ces expériences trois types de sols bruns ferrugineux tropicaux présentant une assez grande extension au Sénégal. Ces sols ont été choisis en raison de leur déficience *en* N et/ou P :

Sol Bel Air : déficient en N
Sol Deck : déficient en P assimilable
Sol de Kébémer : déficient en N et P assimilables

Les principales caractéristiques de ces sols figurent au tableau 2.

- Le sol de Bel Air est un sol peu évolué issu d'une roche mère constituée de sables dunaires quaternaire. Il a été prélevé sur le domaine de l'ORSTOM - Bel Air. Sa forte teneur en P assimilable (105ppm) est due à la proximité de la voie ferrée par où transitent les trains transportant les phosphates naturels de Thiès et de Taïba.

- Le sol de Kébémer est également un sol dunaire, mais encore moins évolué que le précédent, ce qui se traduit par des teneurs en N et P assimilable faibles (170ppm et 11ppm respectivement). Il provient d'un ancien champ d'arachide reboisé en A. albida et A. raddiana. Ces deux sols très sableux (≈ 95% de sables) s'apparentent à la classe des sols Diors ou "sols à arachide". Ils présentent la particularité d'être lessivés en Fe, mais pas en argile, ce qui se traduit par un niveau ferrugineux *en* profondeur0

- Le sol Deck provient de dépressions interdunaires de la région de Bambey, ce qui explique sa teneur en argile légèrement plus

élevée que les deux sols précédents (8,5%).

Sa teneur en N est notablement plus élevée (300ppm) que celle des deux sols précédents et l'essentiel du P est sous forme non assimilable (11ppm de P assimilable pour 85ppm de P total).

Tous ces sols ont été tamisés avant emploi (tamis de 2mm) afin de retenir les plus gros débris végétaux. Lorsque nécessaire, ils ont ensuite été stérilisés à l'autoclave pendant lh à 120°C. Lorsque les expériences comprennent des traitements de contrôle recevant N ou P, ces éléments ont été apportés par arrosage avec des solutions de $NaNO_3$ ou de KH_2PO_4.

1.2. Matériel végétal

Nous avons choisi deux espèces d'Acacia appelées à jouer un rôle important dans le programme de reforestation du Sénégal.

1.2.1. Acacia raddiana Savi

Cette espèce indigène est l'une des plus grandes du domaine sahélien (GIFFARD, 1974), pouvant atteindre 15m de haut pour un tronc de 50cm de diamètre (CHEVALIER, 1934). Son aire naturelle s'étend, au nord du Sahara, du Sud Marocain au Sud Tunisien, et au Sud, du Sénégal à la Mer Rouge (KARSCHON, 1961). Au Sénégal, elle constituait l'élément dominant de la strate arborée du Cayor et du Baol (voir Carte du Sénégal, annexe 1), mais elle a beaucoup régressé devant l'extension des terres agricoles.

C'est pourtant l'une des essences les plus intéressantes de cette région en raison de son excellente adaptation à l'aridité et de ses multiples usages :

- le bois donne un excellent charbon (4360 K Cal/kg)
- le feuillage et les gousses ont une haute valeur nutritive (1kg de gousses sèches = 1,02 U.F.)
- le système racinaire à la fois traçant et pivotant stabilise très bien les sols dunaires (ROY, KAUL et GYANCHAND, 1973).

D'une étude comparative portant sur 228 essences, il ressort qu'A. raddiana est le meilleur arbre multiusage à croissance rapide des zones arides et semi-arides de l'Inde (ROY et al., 1973). Son traitement en taillis à la rotation de 10 ans permet d'obtenir rapidement un excellent combustible (Anonyme, 1979). Curieusement, il est encore peu utilisé au Sénégal. Actuellement, on tente de le réintroduire en mélange avec A. albida pour fixer les dunes littorales du Cayor.

1.2.2, Acacia holosericea A. Cunn.

Ce't Acacia arbustif originaire de régions australiennes climatiquement proches du secteur soudano-sahélien du Sénégal (HAMEL, 1980), présente une disparition du limbe foliaire au profit du pétiole qui s'élargit en phyllode (voir figure 11).

Son introduction est à l'étude au Sénégal dans le but de constituer des rideaux hrise-vent en association avec Eucalyptus camnldulensis. A côté de cet objectif principal, A. holosericca pourra aussi fournir un fourrage aérien de bonne qualité grâce à sa forte teneur en protides. Son bois donne également un bon combustible et un excellent charbon. Son utilisation en apiculture n'est pas non plus à négliger du fait de ses fleurs très mellifères.

Dans les essais d'introduction déjà réalisés au Sénégal, la croissance d'A. holosericea est satisfaisante les deux premières années après la plantation, puis l'on observe en général un dépérissement qui pourrait être dû aux nématodes. En effet, on constate fréquemment que le système racinaire est infesté de nématodesgallicolcs du genre Meloidogyne.

Tableau 3. Hôte d'isolement, origine et sp
souches de *Rhizobium* utilisées.

Souches	Hôte d'isolement	Origine	*Glycine max* "Malayan"
CB756	*Dolichos africanus*	Australie	0
NIG	*Glycine max* cv. "Malayan"	Nigeria	E
ORS402	id	Sénégal	E
ORS403	id	id	e
ORS406	id	id	E
ORS407	id	id	E
TAL651	*Psophocarpus* sp.	Hawaï	inconnu

0 : pas de nodulation
e : nodulation peu efficace
E : nodulation très efficace
d'après JARA, DREYFUS et DOMMERGUES, 1981.

1.3. Souches de microorganismes

1.3.1. Champignons endomycorhiziens VA

La souche de champignon utilisée, Glomus mosseae (NICOL. et GERD.) GERD. et TRAPPE, a été fournie par la station expérimentale de Rothamsted, en Angleterre.,

1.3.2. Rhizobium

J'ai utilisé un certain nombre de souches de Rhizobium tropicaux isolés à partir de nodules d'A. raddiana (souches ORS 920 à ORS 930) et d'A. holosericea (ORS 831 et ORS 841) cultivés sur différents sols du Sénégal. En outre, un certain nombre de souches à large spectre d'hôte ont été utilisées comme références. Le tableau 3 indique pour chacune d'entre elles l'hôte d'isolement, l'origine et quelques espèces du spectre d'hôte.

2. Culture des plantes

2.1. Traitement des graines

Les Acacia possédant des graines à tégument externe très sclérifié, un prétraitement est. nécessaire afin d'obtenir une levée rapide et régulière. Je les ai traitées à l'acide sulfurique concentré pendant 1 heure, nuis rincées abondament à l'eau jusqu'à élimination de toute trace d'acidité. Ce traitement présente en outre l'avantage de stériliser superficiellement les graines.

Tableau 4. Composition de l'eau d'arrosage.
(concentrations maximales)

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

2.2. Germination

Les graines ainsi traitées ont été mises à germer dans du sable stérilisé. Les bacs de germination ont été maintenus à l'obscurité dans une étuve à 30°C. Après 48 heures, la plupart des graines ont germé, et j'ai transféré alors les bacs en serre.

2.3. Repiquage

Au bout de 10 à 15 jours, les plantules qui faisaient respectivement environ 5 et 10 cm de haut pour A. holosericea *et* A. raddiana, ont été repiquées dans le sol contenu dans des sachets de polyéthylène. Ces sachets présentent l'avantage d'être bon marché, légers et d'encombrement réduit. En outre, il n'est pas nécessaire de les stériliser car l'expérience a montré qu'ils sont exempts de Rhizobium et de champignons endomycorhiziens VA. J'ai pu constater que cette technique remplace avantageusement, dans le cas de mes expériences, la technique classique qui consiste à utiliser des pots à réserve d'eau (jarres de LEONARD: voir VINCENT, 1970).

Les dimensions des sachets utilisés ont été, à plat, 12 x 25cm pour les expériences concernant les mycorhizes et 8 x 20cm pour les tests *sur* les souches de Rhizobium. J'ai en effet utilisé dans ce deuxième cas des sachets plus petits afin de réduire la quantité de sol mis à la disposition de chaque plante. Ainsi, elles épuisent le N du sol plus rapidement et les effets de la fixation de N_2 apparaissent plus tôt.

2.4. Entretien des plants

Par suite des difficultés d'approvisionnement du laboratoire en eau distillée, les plantes ont été arrosées-quotidiennement à l'eau du robinet. Ceci ne porte guère à conséquence car elle est à peu près neutre et sa teneur en N et P est négligeable. (voir Tableau 4).

Tableau 5. Solution nutritive de HEWITT (1966).

	Sqlution stock g/l	Doses ml/l
$(NH_4)_2SO_4$	132,0	4
$Na_2HPO_4,12H_2O$	119,5	4
K_2SO_4	87,0	4
$MgSO_4,7H_2O$	92,0	4
$CaCl_2,2H_2O$	147,0	4
FeNaEDTA (Sigma Chemical Company)	2,5	4
$MnSO_4,4H_2O$	2,230	1
$CuSO_4,5H_2O$	0,250	
$ZnSO_4,7H_2O$	0,29	
H_3BO_3	3,100	
NaCl	5,850	
$Na_2MoO_4,2H_2O$	0,121	

Toutes les deux semaines, les plantes ont reçu environ 25ml de solution de HEWITT (1966) (Tableau 5) diluée de moitié, sans N pour les expériences sur les Rhizobium et sans N ni P pour celles faisant intervenir Rhizobium et champignons endomycorhiziens VA. Chaque fois que cela s'est averé nécessaire, les plants ont été traités avec un insecticide non systémique (Curacron à 1°/$_{oo}$: thiophosphate de 4-bromo-2chloro-phényl, éthyl et n-propyle), ou un fongicide non systémique à base de sulfate de cuivre (Moll s à 1°/$_{oo}$: Cu, 9%; Carbatène 8%; Manèbe 32%)

3. Culture des microorganismes

3.1. Culture du champignon endomycorhizien VA

La souche de G.mosseae utilisée a été maintenue en association avec Stylosanthes guyanensis dans des pots de sol Deck stérilsé. Pour la production d'inoculum, j'ai cultivé dans les mêmes conditions une plante annuelle à système racinaire très développe : Vigna unguiculata. Ces deux Légumineuses n'ont pas été inoculées avec des Rhizobium spécifiques afin d'éviter tout risque d'interaction avec les Rhizobium des Acacia. En revanche, elles ont reçu périodiquement un apport de N sous forme de $(NH_4)_2SO_4$ en solution.

3.2. Inoculation endomycorhizienne

Les plantules ont été inoculées avec un échantillon de 1g (poids frais) de racines de Vigna unguiculata soigneusement lavées et inoculées deux mois auparavant avec G. mosseae. Avant l'inoculation, consistant à appliquer cet échantillon contre les racines de la plantule au moment du repiquage, on vérifie la pureté de l'inoculum en examinant les spores formées à la loupe binoculaire. Si elles sont toutes semblables à celles de G. mosseae, l'inoculum peut être considérée comme pur en ce qui concerne le champignon endomycorhizien. Mais il contient aussi des bactéries indéterminées résultant des contamination du sol par l'atmosphère et l'eau d'arrosage. C'est pourquoi les témoins ont reçu en même temps lml de filtrat sur papier WHATMAN n° 1 de l'eau de lavage des racines, Ce filtre retient les spores de champignons endomycorhiziens VA mais laisse passer les bactéries. Les témoins ont ainsi reçu la même microflore bactérienne que les plantes inoculées avec G. mosseae.

Tableau 6. Composition du milieu Mannitol - Extrait de levure. (YEM - Yeast Extract Mannitol; FRED et WAKSMAN, 1928).

Mannitol	10,0 g
K_2HPO_4	0,5
$MgSO_4,7H_2O$	0,2
NaCl	0,2
$FeCl_3$	0,004
Extrait de levure	1,0
Eau distillée	1000 ml
pH ajusté à 6,8 avec HCl (N)	
Agar-agar	20 g.

3.3. Culture des Rhizobium

Les souches de Rhizobium ont été cultivées axéniquement sur du milieu Mannitol - Extrait de levure (Yeast Extract Mannitol - YEM, FRED et WAKSMAN, 1928), dont la composition est donnée au tableau 6. Les souches destinées à la collection ont été repiquées sur des pentes gélosées dans des tubes à vis, puis elles ont été mises à l'étuve à 30°C jusqu'à ce que les colonies aient atteint environ 1mm de diamètre (4 à 8 jours). Les tubes ont ensuite été places en chambre froide à 4°C. Avec ce système de conservation, il a été indispensable de repiquer-les souches' tous les, 3 mois. Par mesure de précaution, les souches ont aussi été conservées congelées à -80°C : lml de culture liquide de bactéries en fin de phase de croissance exponentielle a été mélangé aseptiquement à 1ml de glycérol stérile dans un-tube "Vacutainer" stérile, puis placé au congélateur.

3.4. Inoculation avec Rhizobium

lml de culture liquide contenant à peu près 10^9 bactéries/ml a été injecté à la pipette dans le système racinaire des plantules au moment du repiquage.

4. Dénombrement et isolement des microorganismes

4.1. Estimation de la population de spores de champignons endomycorhiziens VA indigènes dans le sol

J'ai extrait les spores du sol par décantation et tamisage selon la méthode décrite par GERDEMANN et NICOLSON (1963) :

1kg de sol sec à l'air a été mis en suspension dans environ 5l d'eau. Après une décantation de quelques dizaines de *secondes,* le surnageant a été passé sur une batterie de tamis de mailles décroissantes : 500, 250, 100 et 50 microns. Les filtrats des trois derniers tamis ont été soigneusement lavés puis remis en suspension chacun dans un volume d'eau adéquat (100 à 500ml).

Quelques ml de chaque suspension homogénéisée ont été versés sur un papier filtre quadrillé et les spores

ont été comptées sous une loupe binoculaire au grossissement x 25. J'ai effectué 5 répétitions pour chaque fraction, puis à partir de la moyenne, j'ai calculé le nombre de spores par kg de sol.

4.2. Isolement des Rhizobium

Des plants d'A. holosericea ou A. raddiana ont été élevés sur des sols de diverses origines placés en sachets de polyéthylène. Après 8 semaines, ils ont été dépotés et j'ai sélectionné quelques beaux nodules qui se sont éventuellement formés sur les racines. Les nodules ont alors été soigneusement lavés à l'eau courante, puis je les ai désinfectés superficiellement par immersion 30 s dans de l'alcool à 90°C, puis 3 mn dans une solution de $HgCl_2$ à 1°/$_{oo}$ (VINCENT, 1970). Chaque nodule a alors été rincé à l'eau stérile, puis transféré aseptiquement dans une boîte de Pétri contenant une goutte d'eau stérile.

A l'aide d'une paire de pinces et d'une pointe lancéolée flambées et refroidies, j'ai prélevé un fragment de tissu au coeur du nodule et je l'ai écrasé dans la goutte d'eau afin de disperser les bactéroïdes. Avec une anse de platine flambée puis trempée dans cette suspension, j'ai réalisé un épuisement sur une boîte de Pétri garnie de milieu YEM gélosé. Les boîtes ont ensuite été placées à l'étuve à 30°C. Après développement des bactéries, une colonie isolée et exempte de contaminants a été repiquée sur une autre boîte de Pétri pour vérifier sa pureté. Chaque isolat ainsi obtenu a enfin été repiqué sur pente gélosée en tube dans les conditions définies au paragraphe II 3.3. (p.25).

5. Critères utilisés pour l'appréciation des infections et de l'effet des symbiotes sur les plantes

5.1. Estimation des infections

5.1.1. Infection mycorhizienne

Un échantillon représentatif de chaque système racinaire a été prélevé et éclairci pendant 1h dans KOH à 10% à 90°C. Après rinçage à l'eau acidifiée, les racines ont été colorées au bleu Trypan au lactophénol à 0,05% pendant 3 minutes à 90°C (PHILLIPS et HAYMAN, 1970). Les racines ont été ensuite

rincées à l'eau et une vingtaine de segments de 2cm de longueur environ ont été déposés sur une rondelle de papier filtre mouillé de lactophénol dilué au 1/10^{e}. Chaque segment a été examiné sous la loupe binoculaire au grossissement x 25 et j'ai noté pour chacun :

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

J'ai obtenu la fréquence d'infection en calculant le rapport

$$\frac{\text{nombre de segments infectés}}{\text{nombre de segments examinés}}$$

L'intensité d'infection est la moyenne des pourcentages de volume de cortex infecté.

Remarque : lorsqu'une portion du système racinaire a été ainsi prélevée afin d'estimer l'infection endomycorhizienne, celle-ci et l'échantillon ont été pesés à l'état frais afin de pouvoir opérer la correction sur le poids de racines sèches,,

5.1.2. Infection rhizobienne

Elle est estimée par le nombre de nodules et leur poids sec (après 72h à 60°C) par plante.

5.2. Poids sec des plantes

Pour apprécier la croissance des plantes, j'ai évalué le poids de matière sèche produite de préférence au poids frais et à la hauteur car ces derniers paramètres varient beaucoup plus en fonction de facteurs non contrôlés. Les parties aériennes, et éventuellement les racines ont été mises à sécher dans des enveloppes individuelles en papier pendant 72h à 60°C. Elles ont ensuite été pesées avec une précision de l'ordre du mg. Après pesée, les parties aériennes des plantes du même traitement ont été regroupées et broyées ensemble en vue des dosages de N et P.

5.3. Teneur en phosphore des parties aériennes des plantes

100mg de matière sèche ont été attaqués par 3ml de HNO_3 concentré, à chaud, pendant 2h 30mn. Afin de limiter l'évaporation, un entonnoir bouché par une bille de verre a été placé sur l'ouverture du matras. L'extrait a ensuite été éclairci avec 0,5ml de $HClO_4$ concentré puis évaporé à sec. Le culot a été repris avec 3ml de HNO_3 concentré et ramené à 25ml avec de l'eau permutée. Le phosphore a été dosé colorimétriquement dans cette solution après complexation avec un mélange équivolumétrique de métavanadate et de molylbdate d'ammonium :

* Métavanadate d'ammonium :
  - $VO_3\ NH_4$ 2,5g
  - eau bouillante 500ml
  - après dissolution, laisser refroidir, ajouter 20ml de HNO_3 concentré et ajuster à 1l. Conserver en chambre froide à l'obscurité.

* Molylbdate d'ammonium :
  - $Mo_7O_{24}\ (NH_4)_6, 4H_2O$ 50g
  - eau à 50°C 800ml
  - après dissolution, filtrer si nécessaire et ajuster à 1l. Conserver en chambre froide à l'obscurité.

(JACKSON, 1958)

5ml de ce mélange, réalisé au moment de l'emploi, ont été ajoutés à 10ml d'extrait. J'ai laissé la coloration se développer pendant 30mn à la température ambiante, puis j'ai mesuré la densité optique au spectrophotomètre Zeiss PMQ II à λ = 470nm. Trois répétitions ont été effectuées par traitement.

La gamme étalon a été obtenue par dilution d'une solution de $KH_2\ PO_4$ titrée à 100ppm de P. La concentration en P des extraits A été déterminée graphiquement par lecture sur la droite d'étalonnage. Une règle de 3 permet ensuite de calculer la concentration en P des parties aériennes, exprimée en %. La teneur totale en P a été obtenue en multipliant Le poids sec des parties aériennes

de chaque plante par la concentration moyenne du traitement correspondanta

5.4. Estimation de la fixation de l'azote

5.4.1. Méthode par différence - Dosage de l'azote

J'ai dosé N dans les parties aériennes des plantes par la technique micro-Kjeldahl : 20 mg de matière sèche broyée ont été attaqués à chaud avec H_2SO_4 concentré. Lorsque l'émission des épaisses vapeurs blanches a cessé, j'ai éclairci l'extrait avec quelques gouttes de H_2O_2 110 vol. et j'ai remis à chauffer jusqu'à disparition des vapeurs blanches qui se sont reformées. Après refroidissement, l'extrait neutralisé par 5ml de NaOH, 10N, a été distillé dans un appareil de PARNAS-WAGNER (voir annexe 3). L'ammoniaque formé a été dosé titrimétriquement par HCl, N/70 dispensé par une microburette. Le virage de la solution est indiqué par le réactif de TASHIRO (Bleu de méthylène à 0,70% dans l'alcool à 95° : 1 volume; Rouge de méthyle à 0,15% dans l'alcool à 95% : 5 volumes).

La masse atomique de N étant 14, à iml de HC1 N/70 correspondent 0,2mg de N, soit une concentration en N de 1% (RINAUDO, 1970). La teneur totale en N a été calculée de la même façon que pour P (§ II, 5.3., p. 29). La différence entre la teneur totale en N des plantes nodufées et celle des témoins, exprimée en mg/plante, représente N_2 fixé symbiotiquement si le sol est pauvre en N.

5.4.2. Méthode de la réduction de l'acétylène

Cette méthode est fondée sur l'aptitude de la nitrogénase à catalyser la réaction :

$$HC \equiv CH + 2H^+ + 2\bar{e} \longrightarrow H_2C = CH_2$$

acétylène — éthylène

La quantité d'éthylène formé, dosée au chromatographe en phase gazeuse, permet de determiner l'activité réductrice d'acétylène (ARA) du système symbiotique.

On admet en général, en comparant cette réaction à la fixation

de N_2 ($N_2 + 6H^+ + 6\bar{e} \rightarrow 2NH_3$), que pour réduire 1 mole de N_2, il faut autant d'enzyme que pour réduire 3 moles de C_2H_2. Mais il semble que le rapport réel N_2/C_2H_2 s'écarte sensiblement du rapport 1/3 théorique, ce qui fait qu'il n'est guère possible de déduire la fixation de N_2 de l'ARA (GIBSON et al., 1982). Cette technique donne toutefois une indication qualititative intéressante sur l'aptitude d'un système symbiotiq à fixer N_2.

La procédure de la *mesure* est la suivante :

- Les systèmes racinaires, débarassés de leur terre ont été placés individuellement dans des flacons à sérum de 150ml.

- 15ml de C_2H_2 ont été injectés à la seringue dans ces flacons que j'ai laissé ensuite incuber 30 minutes à l'ombre.

- 7 ml du mélange gazeux ont alors été prélevés et transferés dans des tubes préalablement vidés de leur air. La quantité d'éthylène formé a été évaluée en mesurant la hauteur du pic formé après injection de 0,5ml du mélange dans un chromatographe en phase gazeuse (VARIAN AEROGRAPH, series 1400, colonr "Sphérosil"), et *en* la comparant à celle du pic formé après injection de 0,5ml d'un mélange éthylène-air à 1°/$_{oo}$. Soit Hcm la hauteur du pic-étalon. Il correspond à

$$\frac{0,5}{22400} \cdot \frac{1}{1000} \text{ moles de } C_2H_4$$

Si X est le nombre de moles de C_2H_4 formé après incubation dans les flacons de volume V, le pic de hauteur hcm obtenu alors correspond à

$$0,5 \cdot \frac{X}{V} \text{ moles de } C_2H_4$$

On a donc l'égalité suivante :

$$\frac{0,5}{22400} \cdot \frac{1}{1000} \cdot \frac{1}{H} = 0,5 \cdot \frac{X}{V} \cdot \frac{1}{h}$$

$$\Rightarrow X = \frac{h}{H} \cdot \frac{V}{22\ 400\ 000}$$

Soit, en nMoles de C_2H_4 : $X = 44,64 \cdot V \cdot \frac{h}{H}$

J'ai utilisé pour les incubations des flacons de 150ml, donc la formule s'écrit finalement :

$$X = 6696 \frac{h}{H}$$

L'ARA peut s'exprimer par plante (ARAP) ou par gramme de nodules (poids sec). Il s'agit alors de l'ARA spécifique (ARAS).

5.5. Traitement statistique des résultats

Tous les résultats numériques ont été soumis au test de DUNCAN (1955) au seuil de signification P = 0,05.

Les fréquences et intensités d'infection ont au préalable été transformées par la fonction $\sqrt{Arcsin}$ lorsque cela était nécessaire (SNEDECOR et COCHRAN, 1957; GOMEZ et GOMEZ, 1976).

6. Méthodes utilisées pour étudier les relations entre la plante et le potentiel hydrique du sol

6.1, Mesure de la tension d'eau dans le sol

J'ai utilisé un tensiométre à bougie de porcelaine fabriqué par Soil Hoisture Equipment Corporation, Santa Barbara, Californie (annexe 4). Ce matériel est facile à utiliser, bien que le temps nécessaire à l'obtention de l'équilibre soit assez long. La seule précaution à prendre est d'utiliser de l'eau distillée bouillie pour le remplissage et d'éviter la formation de bulles d'air dans le tube souple à ce moment là. Les mesures sont données en centibars de succion exercée par le sol sur l'eau, de 0 à-85 centibar.

6.2. Evaluation du nombre de stomates ouverts

J'ai évalué le nombre de stomates ouverts à un temps t. donné en appliquant un vernis à ongle "base" (transparent) sur la face inférieure dos folioles. Après séchage, cette empreinte a été décolléedélicatement avec des pinces fines et montée à sec sur une lame microscopique. J'ai estimé ensuite le pourcentage de stomates ouverte sur plusieurs champs du microscope. (voir figure 12).

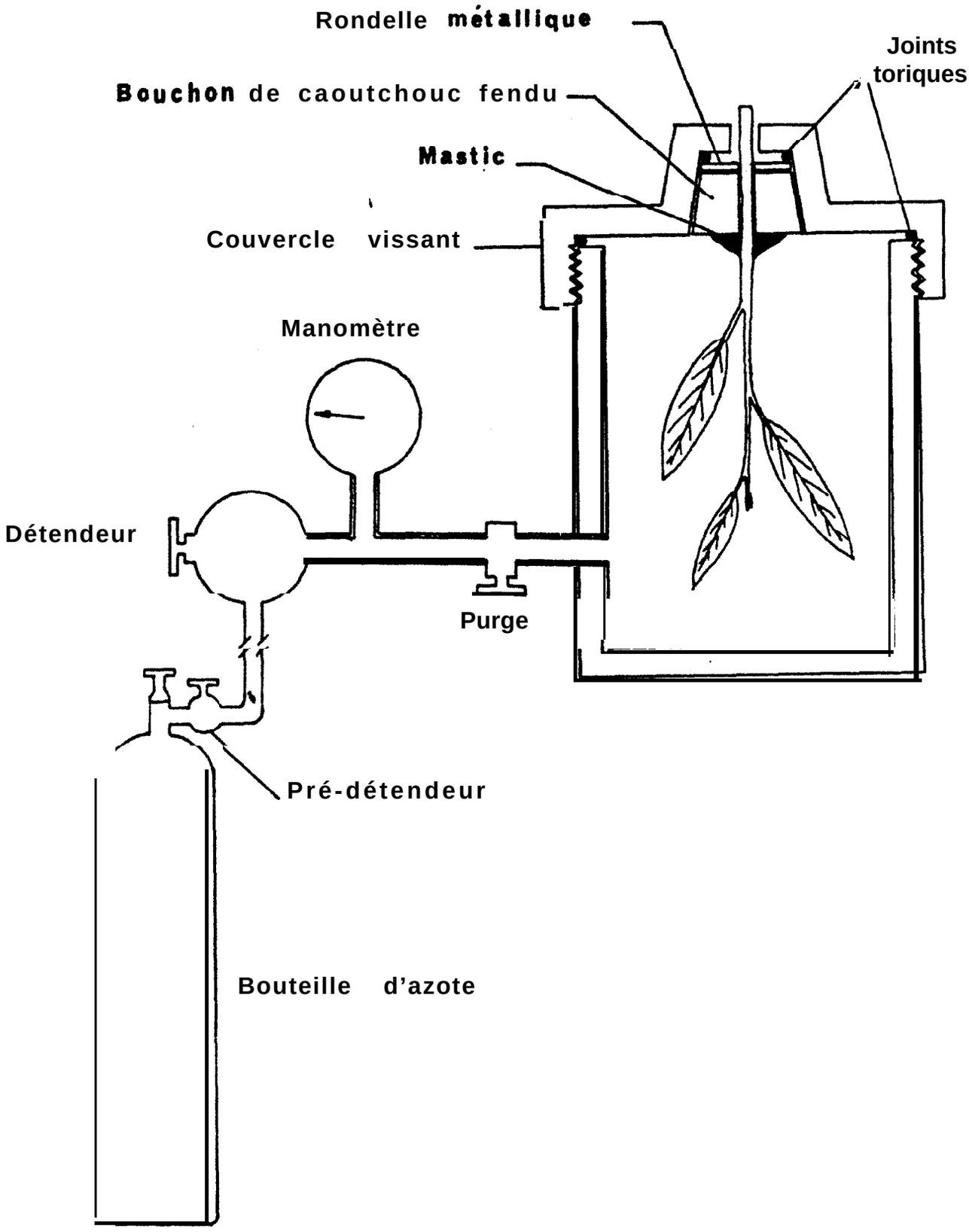


Figure 5: Schéma de la chambre à pression.

6.3. Mesure du potentiel hydrique des plantes : Méthode de la chambre à pression

L'évapotranspiration au niveau des feuilles d'une plante creé une dépression dans le xylème qui, avec la pression osmotique, la tension matricielle(absorption de l'eau par les colloïdes) et la pression hydrostatique, est responsable de l'existence d'un potentiel hydrique dans la plante (MEIDNER et SHERIFF, 1976). Une conséquence de ce phénomène est que, lorsque l'on coupe une tige feuillée en train de transpirer, les colonnes d'eau du xylème se rétractent rapidement à partir du plan de coupe. Si l'on applique alors une pression sur la partie feuillée tandis que l'extrémité coupée reste à la pression atmosphérique, la sève sera exprimée hors de la tige par l'extrémité coupée. C'est le principe de la chambre à pression (figure 5) qui permet ainsi de mesurer le notentiel hydrique dans la tige : il est égal à la pression qu'il faut réaliser dans l'enceinte pour que la sève affleure juste le plan de la coupe. Cette mesure permet d'évaluer directement le déficit hydriquc d'une nlante (BOYER et GROUZIS, 1977). L'avantage principal do cet appareillage réside dans sa simplicité et sa rapidité de mise en oeuvre. En effet il ne nécessite nas les conditions contrôlées requises pour les déterminations psychrométriques (Voir : MEIDNER et SHERIFF, 1976).

Au cours de ce travail, je me suis essentiellement familiarisé avec le fonctionnement de ces appareils dans le but d'étudier ultérieurement, grâce à eux, l'influence de l'endomycorhization sur l'économie de l'eau chez les plantes.

Chapitre III

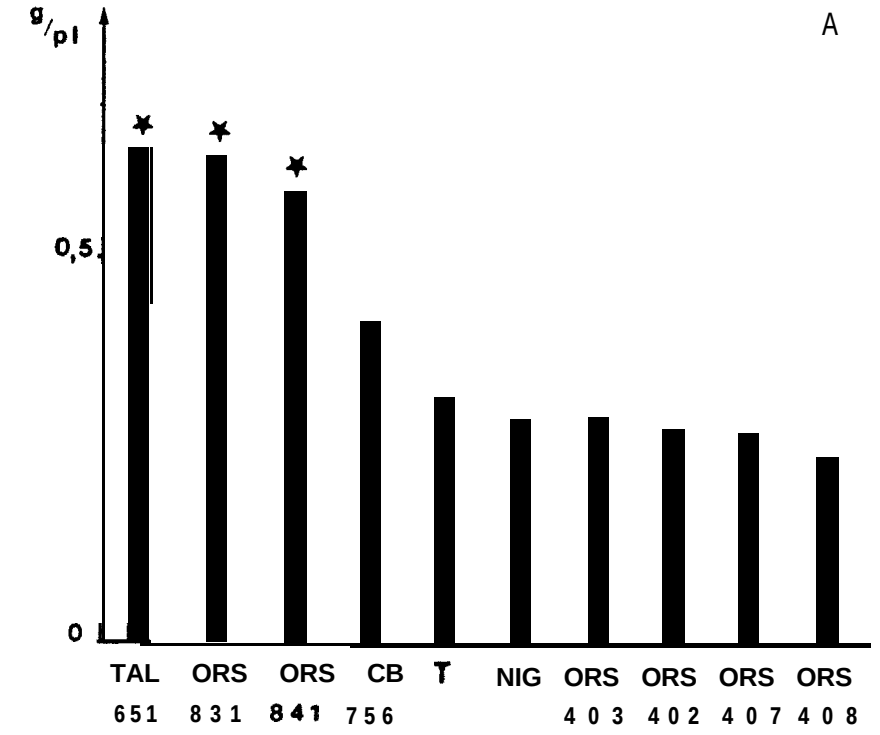
COMPORTEMENT DES DIFFERENTS SYSTEMES SYMBIOTIQUES SUR SOL STERILISE

Jusqu'à présent, trés peu de travaux ont porté sur l'étude des systèmes symbiotiques des Légumineuses arborescentes. Dans un premier temps, mon étude a porté séparément sur chacune des symbioses : Rhizobium - Acacia et MVA - Acacia. Le but de ces premières expériences a été d'obtenir des isolats de Rhizobium efficaces pour A. raddiana et A. holosericea, et d'évaluer le bénéfice maximal que peuvent retirer ces plantes de l'inoculation soit avec Rhizobiun, soit avec un champignon endomycorhizien VA. Ensuite, j'ai étudié la double symbiose Hhizobium - MVA - Acacia afin de déterminer s'il existait une interaction entre les deux symbiotes en association avec la mbme plante - hôte.

1. La symbiose Rhixobium - Acacia

1.1. Acacia holosericea

J'ai testé l'efficacité d'un certain nombre de souches de Khizobium sur A. holosericea car je ne possédais aucune donnée chiffrée relative au potentiel fixateur de N_2 de cette espèce. Les travaux de DREYFUS et DOMMERGUES (1981) ont montré qu'A. holoscricea n'est nodule que par des Rhizobium à croissance lente réputés peu spécifiques, les Rhizobium Cowpea. J'ai donc employé quelques souches de Rhizobium Cowpea (ORS 402, 403, 406 et 407; NIG) isolées à partir d'un cultivar asiatique de Soja (Glycine max, CV. "Malayan") et nossédant un large spectre d'hôte (Tableau 3, p. 23). J'ai en outre inclus dans ce test une souche de collection isolée sur Psophocarnus sp. (TAL 651) et deux souches que j'ai obtenues à oartir de nodules d'A. holosericea (ORS 831 et 841). La souche CB 756 a servi de référence car c'est une souche très peu spécifique couramment utilisée comme inoculum pour un grand nombre de Légumineuses tropicales.



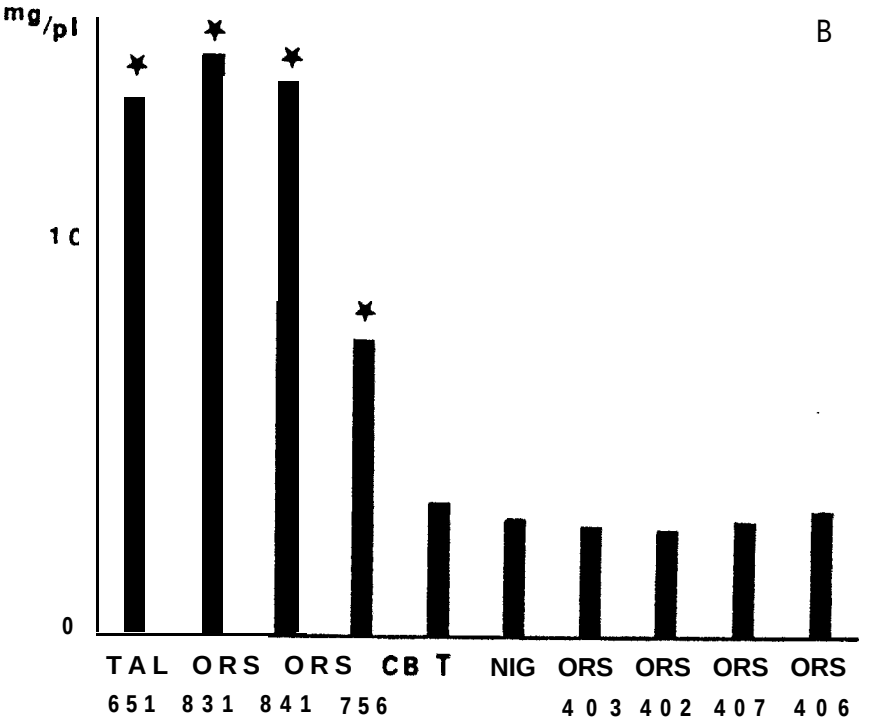


Figure 6 : Résultats du test de nodulation sur A. holoseri-cea

A : Poids sec des parties aériennes

B : Teneur totale en N des parties aériennes

- T : Témoin
- Pl: Plante
- Les traitements surmontés d'une étoile sont significativement différents du témoin au seuil de 5%.

1.1.1. Isolements

Les souches ORS 831 et ORS 841 ont été piégées dans le sol utilisé à la pépinière du CNRF à Dakar-Hann. L'une et l'autre de ces souches sont à croissance lente, mais elles diffèrent morphologiquement lorsqu'elles sont cultivées sur milieu YEM gélosé : ORS 831 forme des colonies muqueuses, couleur crème, tandis que ORS 841 présente des caractères plus typiques des souches à croissance lente : minuscules colonies translucides et ponctiformes.

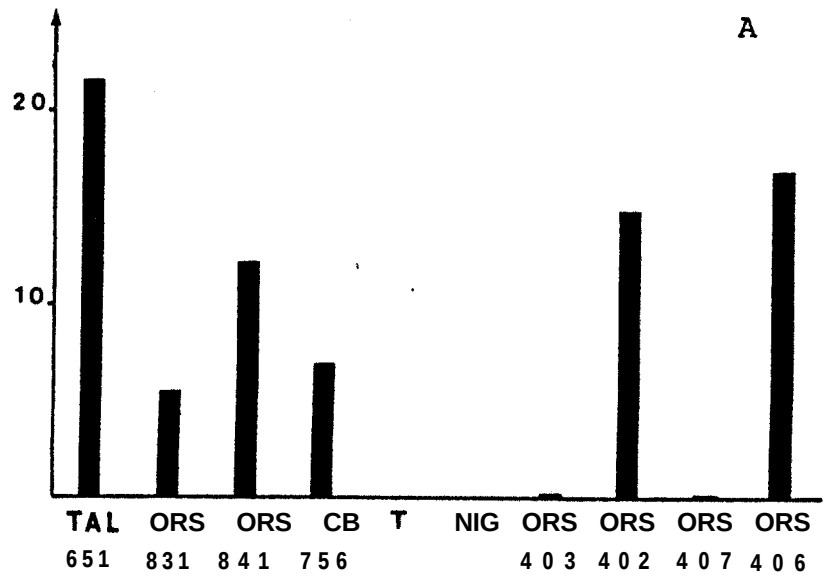
1.1.2. Test de nodulation

Le test de nodulation, qui consistait à comparer à des témoins les plantes inoculées avec les différentes souches de Rhizobium, a été réalisé sur du sol de Bel Air stérilisé, selon la méthode décrite par VINCENT (1970) : l'absence de nodules chez les témoins non inoculés permet d'admettre qu'il n'y a pas eu de contaminations par des Rhizobium du même groupe d'inoculation croisée. J'ai arrêté l'expérience après 13 semaines, date à laquelle les effets des différentes souches étaient suffisamment visibles.

1.1.2.1. Résultats

Les résultats concernant la croissance, la teneur totale en N des parties aériennes et la nodulntion apparaissent aux figures 6 et 7. L'étude de la réduction de C_2H_2 a fait l'objet d'une expérience portant sur un nombre plus limité de souches, dont les résultats figurent au tableau 7.

Trois souches se distinguent nettement des autres au point de vue de la production de matière sèche : il s'agit de TAL 651, ORS 831 et ORS 841, présentant respectivement des gains de croissance par rapport au témoin de 100%, 97% et 83%. Toutefois, l'absence d'un lot témoin ayant reçu un apport de N ne nous permet pas d'évaluer l'efficacité relative des souches par rapport à une fertilization azotée optimale. L'efficacité de ces souches est confirmée par les teneurs totales en N des parties aériennes : pour ces trois traitements, elles sont plus de 4 fuis supérieures à



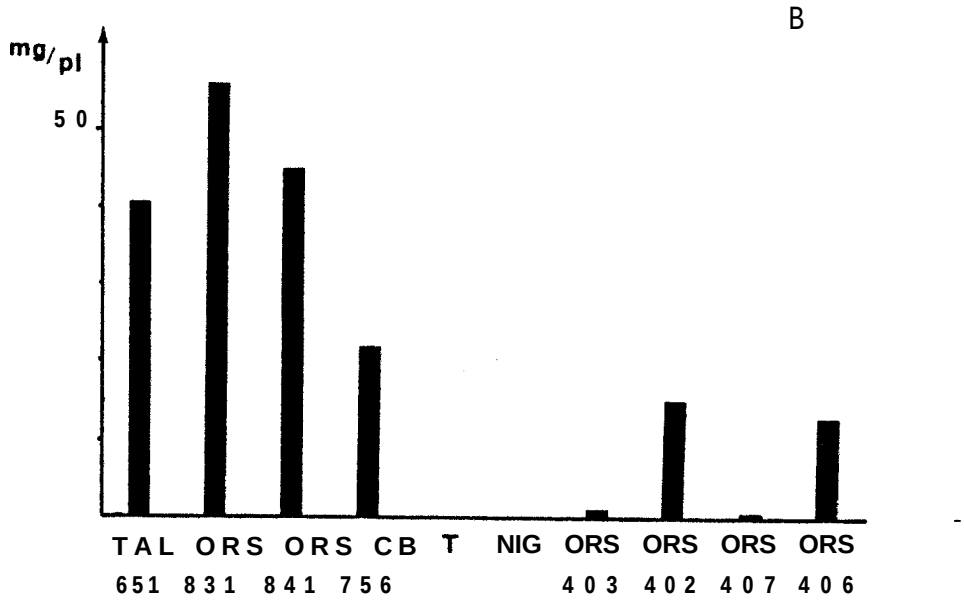


Figure 7 : Résultats du test de nodulation sur A. holcseri-cea (suite).

A : Nombre de nodules par plante

B : Poids sec de nodules par plante

- T : Témoin
- Pl : Plante

celle des plantes témoins (figure 6B). Le poids sec des nodules est egalement le plus élevé pour ces trois souches.

La souche CB 756 ne stimule pas significativement la croissance végétative de la plante -hôte, mais elle en augmente toutefois significativement la teneur totale en N.

Viennent ensuite 5 souches, NIG, ORS 402, 403, 406 et 407 qui ne se distinguent du témoin que par le nombre ou le poids sec des nodules formés. Seule la souche ORS 406 cause en outre un accroissement significatif de la concentration en N des parties aériennes, mais la teneur totale de cet élément n'est pas améliorée, La souche NIG est remarquable pour son absence totale d'infectivité.

1.1.2.2. Discussion

Ces résultats confirment les observations de DREYFUS et DOMMERGUES (1981) : A. holoserices est effectivement nodulé par des Rhizobium à croissance lente du groupe Cowpea. Mais une certaine spécificité se manifeste à l'intérieur du groupe car aucune des souches à large spectre utilisées (NIG, ORS 402, 403, 406 et 407) ne s'est montrée efficace lorsqu'elle est inoculée à A. hoiosericea (figure 6). De plus, JARA (1981) a montré que ces souches sont 'efficaces pour A. albida, espèce appartenant au même groupe de nodulation qu'A. holosericea (voir §I, 1.2., p. 4). Il semble donc qu'A. holosericea soit plus spécifique qu'A. albida.

Cependant, il est surprenant de constater que la souche TAL 651 isolée à partir de Psophocarpus sp. (Papilionacée) - plante taxonomiquement très éloignée d'A. holosericea (Mimosacée) est une des plus efficaces sur cette espèce. Ceci montre que, pour les plantes nodulées par des Hhizobium Cowpea, l'appartenance à

Tableau 7. Activités réductrices d'acétylène d'A. holosericea inoculé avec diverses souches de Rhizobium cowpea.

Souches	ARAP nM/pl/h	ARAS µM/g/h
ORS 841	4112	106
CB 756	4032	292
ORS 406	2702	175
NIG	0	0
Témoin	0	0

Mesures effectuées 60 jours après l'inoculation.

Les résultats sont exprimés en moles de C_2H_4 produites.

J'ai obtenu, au cours de cette expérience tous les intermédiaires entre l'absence de symbiose et la symbiose efficace, fixatrice de N_2. Les différentes souches de Rhizobium peuvent se classer comme suit :

- non infective : NIG
- peu infectives : ORS 403 et ORS 407
- infectives mais inefficaces : ORS 402 et ORS 406
- peu efficace : CB 756
- efficaces : TAL 651, ORS 831 et ORS 841

La symbiose A. holosericea - Rhizobium présente donc une gamme complète d'associations selon les souches de Rhizobium, depuis l'absence de nodulation jusqu'à la nodulation capable de fixer N_2, en passant par toutes les formes intermédiaires.

Les activités réductrices d'acétylène exprimées par plante (ARAP) confirment ce classement : les souches les plus efficaces réduisent le plus d'acétylène. En revanche, pour les activités spécifiques (ARAS), le classement des souches est perturbé du fait de l'influence du poids sec des nodules par plante : l'ARAS des plantes inoculées avec la souche efficace ORS 841 correspond aux ARAS des Légumineuses fixant activement N_2 telles que le Soja; les activités supérieures trouvées pour les plantes inoculées avec les souches moins efficaces sont dues aux poids de nodules très faibles enregistrés chez elles.

Il est intéressant de constater que toutes les plantes inoculées avec des souches de Rhizobium inefficaces ont une croissance végétative inférieure à celle des témoins, même si cette différence n'est pas significative à ce stade du développement des plantes.

Lorsqu'une plante est nodulée, une partie considérable des hydrates de carbone synthétisés par la plante est utilisée par les nodules pour leur respiration et leur développement. PATE (1977) a ainsi observé que . les nodules de Pisum sativum utilisent 17% des hydrates de carbone produits par la plante. On peut donc supposer que la présence de nodules chez A. holosericea inoculé avec des souches de Rhizobium inéfficaces (ORS 402, 403, 406 et 407) provoque un détournement des hydrates de carbone au détriment de la plante.

Comme la plante ne reçoit pas d'ammonium en contrepartie, on conçoit que cette plante puisse avoir une croissance légèrement inférieure à celle du témoin.

1.2. Acacia raddiana

Contrairement à A. holosericea, A. raddiana semble n'être nodulé que nar des Rhiaobium à croissance rapide (DREYFUS et DOMNERGUES, 1981

Ces souches sont généralement considérées comme plus spécifiques que les Rhizobium à croissance lente, ce qui se traduit par une réponse positive à l'inoculation sur sol non stérile (GUEYE, 1979). 11 apparaissait donc nécessaire d'isoler et de sélectionner des souches efficaces pour cette espèce.

1.2.1. Isolements

Afin d'augmenter les chances d'obtenir des souches efficaces, j'ai réalisé les piégeages dans des sols à bonne activité biologique provenant de périmètres irrigués de la région de Bakel.

J'ai observé la présence de nodules sur 11 des 14 sols étudiés, mais 3 seulement d'entre eux ont permis d'obtenir des nodules de taille satisfaisante et de forme coralloïde typique (CORBY, 1971). Les isolats ORS 924, 925 et 926 proviennent de ces nodules.

Sur les 8 autres sols, les nodules étaient de taille très réduite et rarement rouges sur leur cassure. Ces nodules ont fourni les isolats ORS 920, 921, 922, 923 et 927. J'ai aussi ob

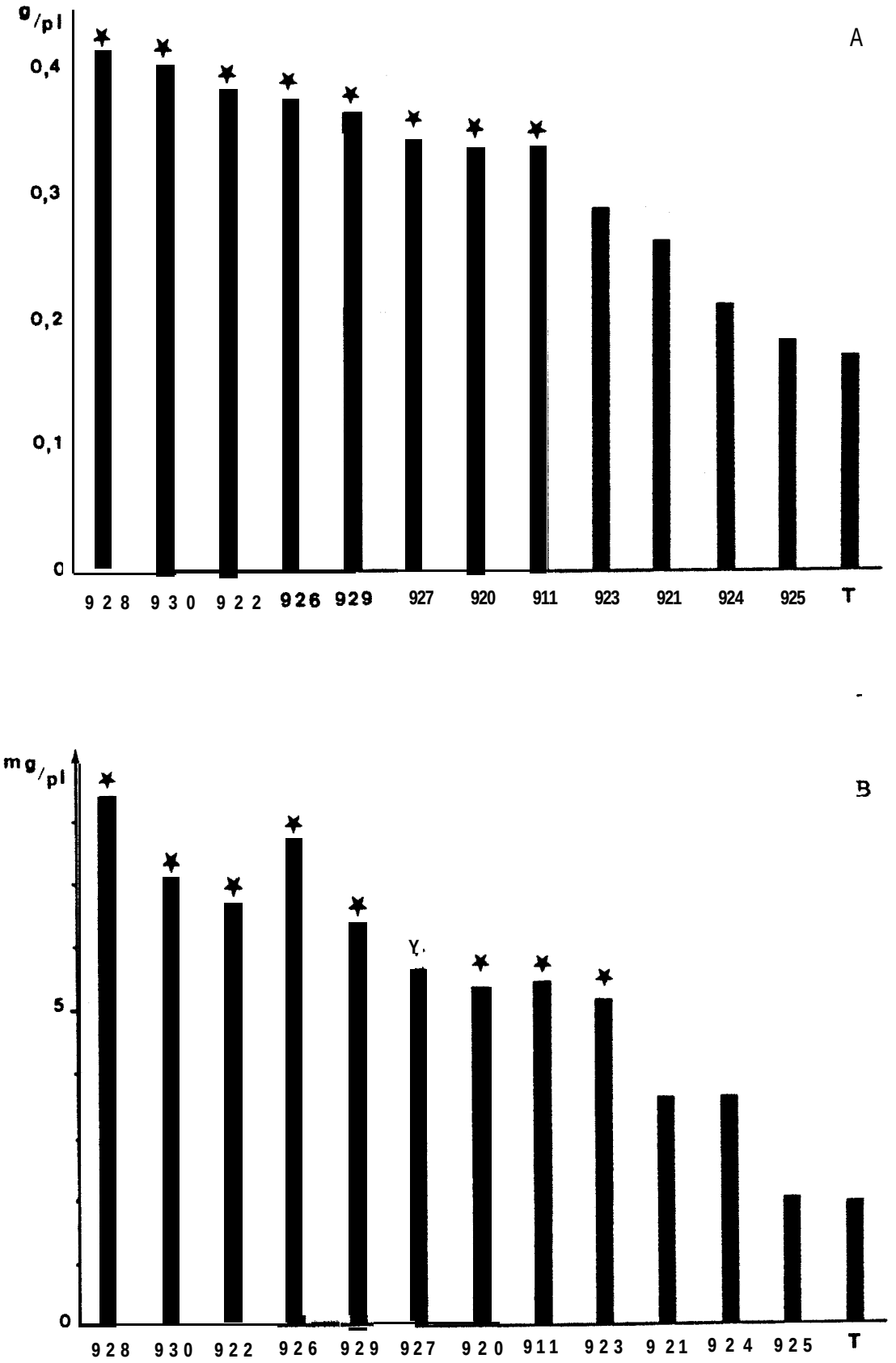


Figure 8: Résultats du test de nodulation sur A. raddiana.

A.=Poids sec des parties aériennes

B.-Teneur totale en N des parties aériennes

T: Témoin

pl: plante

les traitements surmontés d'une étoile sont significativement différents du témoin au seuil de 5%.

d'A. raddiana prélevé à Bambey, et un à partir du sol de Bel Air (ORS 928). Tous ces isolats sont à croissance rapide et produisent beaucoup de mucus en culture liquide, sauf les souches ORS 926, 928, 929 et 930.

1.2.2. Sélection. des souches efficaces

A. raddiana possédant beaucoup plus de réserves cotylédonaires qu'A. holosericea, j'ai réalisé le criblage des souches sur un sable lavé et stérilsé. Ce substrat étant beaucoup moins riche en N qu'un sol, l'effet dû à l'inoculation sera visible plus tôt.

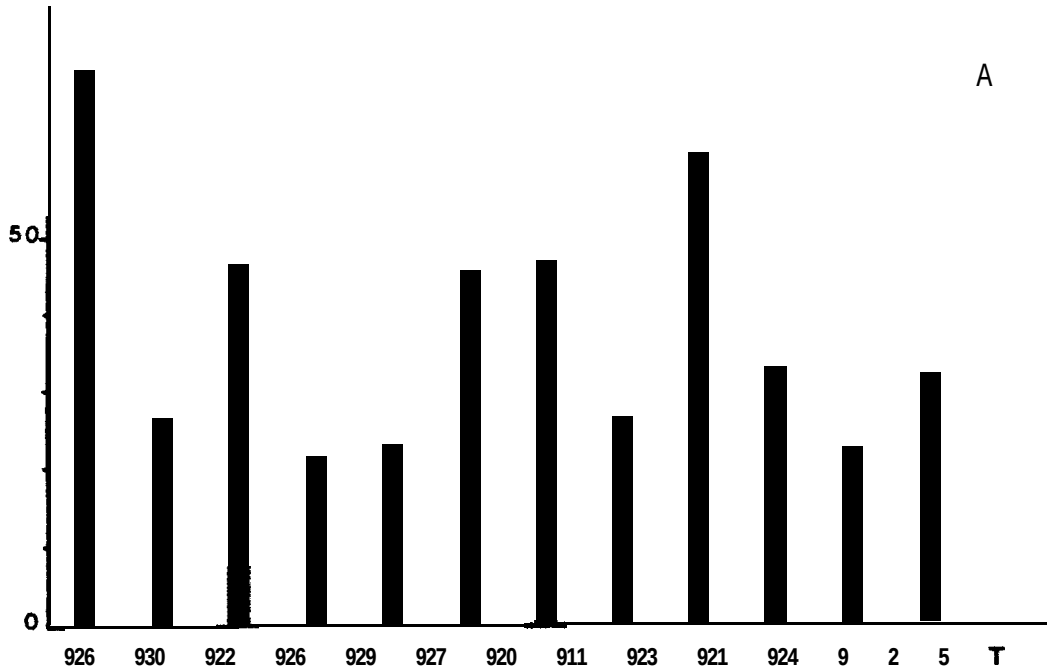
1.2.2.1. Résultats

Toutes les bactéries isolées soht infectives sur A. raddiana (figure 9). 8 souches (ORS 911, 920, 922, 926, 927, 928, 929 et 930) permettent d'obtenir des gains de croissance significatifs par rapport au témoin figure 8A). Ce gain atteint 147% pour la meilleure souche, ORS 928. La plupart des souches sont en outre responsables d'une augmentation significative des teneurs totales en N (figure 8B). Le calcul des coefficients de corrélation de rang de SPEARMAN (1904) (tableau 8) montre que le nombre et le poids sec des nodules ne sont pas corrélés au poids sec des parties aériennes* En revanche, malgré leur importante variabilité , l'ARAP et l'ARAS sont positivement corrélées à ce paramètre.

1.2.2.2. Discussion

Le fait que toutes les bactéries isolées à partir de nodules d'A. raddiana induisent la formation de nodules chez leur plante - hôte est une preuve suffisante de leur appartenance au groupe des Rhizobium (VINCENT, 1970).

L'efficacité de ces souches varie de façon continue depuis la souche ORS 925, totalement inefficace, à la souche ORS 928. Il est intéressant de constater que cette efficacité n'est pas liée à la taille des nodules à partir desquels les bactéries ont été isolées : en effet, les nodules les plus développés ont fourni aussi bien des



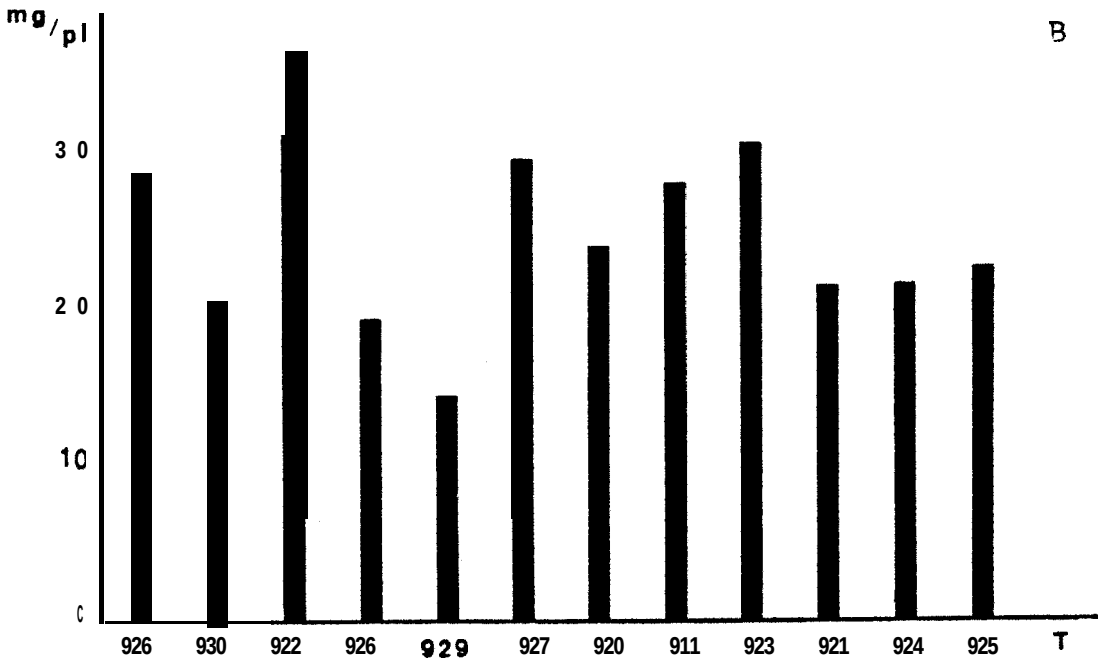
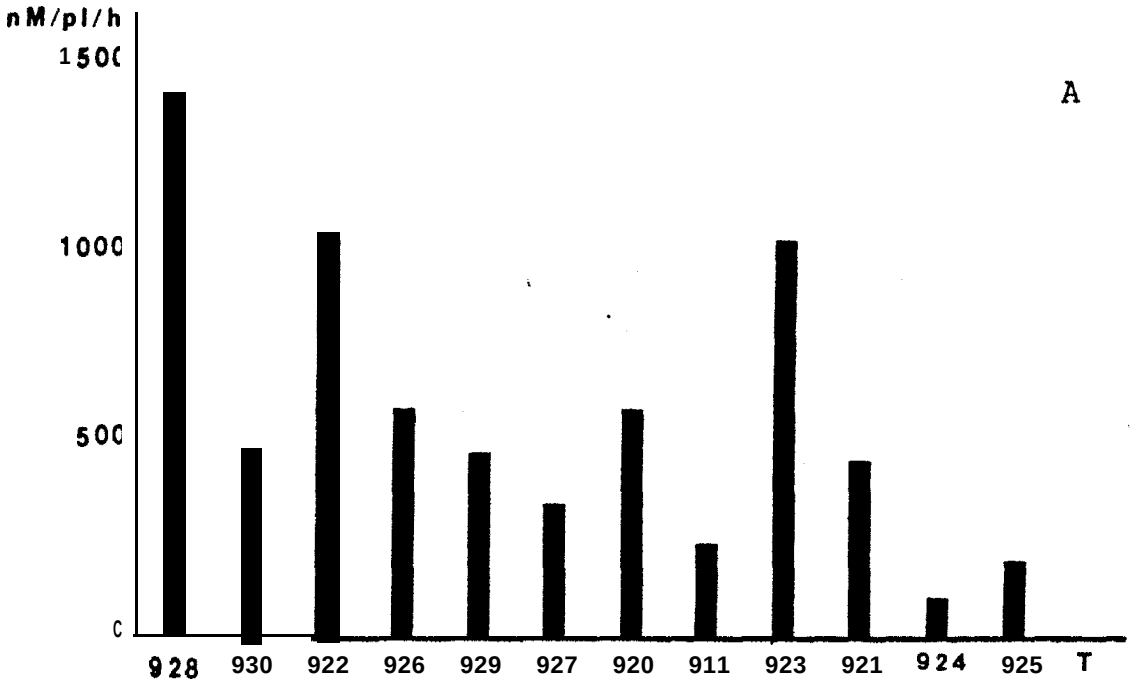


Figure 9: Résultats du test de nodulation sur A. raddiana.
A.-Nombre de nodules par plante
B.-Poids sec de nodules par plante
T: Témoin
pl: plante



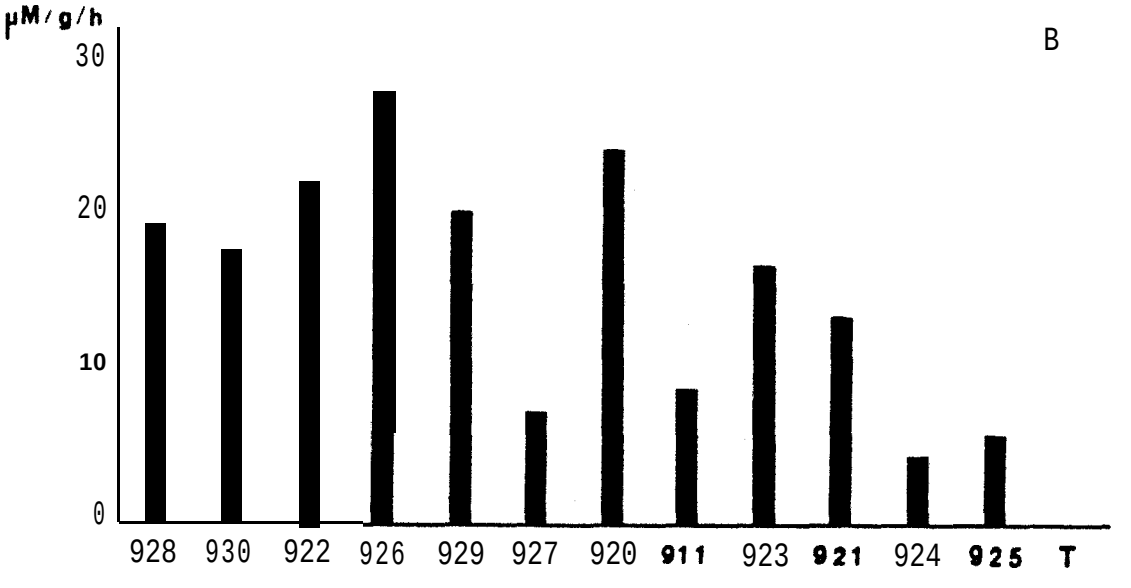


Figure 10.t' **Résultats** du test de nodulation sur A. raddiana

A**}**-ARAP

B.-ARAS

T: Témoin

pl: plante

Les résultats sont exprimés en moles de C_2H_4 produites.

Tableau 8. Résultats du test de corrélation de Spearman entre le poids sec des parties aériennes et les autres variables mesurées.

	Teneur totale en N	Nombre de nodules	Poids sec des nodules	ARAP	ARAS
ids sec des rties aérien-s	P	A	A	P	P

P. corrélation positive significative au seuil de 5%
A. absence de corrélation

souches inefficaces (ORS 924 et 925) que des souches très efficaces (ORS 926, 928, 929 et 930).

De même, le nombre *et* le poids sec des nodules produits est indépendant de la croissance et de la teneur en N total des plants. De plus, la variabilité de ces critères est très grande, ce qui rend leur mesure à peu près inutile lorsque l'on a affaire à des souches qui sont, comme dans ce cas, toutes infectives. L'estimation de la fixation, évaluée selon la méthode par différence, met en évidence une activité fixatrice de N_2 du même ordre de grandeur, mais légèrement plus faible que pour les Légumineuses fourragères. En effet, A. raddiana inoculé avec Rhizobium ORS 928 a fixé 15mg de N par gramme de parties aériennes, tandis que, d'après JARA (1981) le soja en fixe 21 et Vigna unguiculata, 19. Toutefois, si l'on rapportait N fixé au poids sec des feuilles, c'est à dire pratiquement au potentiel photosynthétique, il est probable que les fixations de N_2 seraient similaires car les feuilles d'A. raddiana *sont* particulièrement réduites. Ce n'est pourtant pas ce que laissent paraître les ARA par plante ou spécifiques : les valeurs obtenue9 sont nettement plus faibles que pour les Légumineuses fourragères. Elles sont toutefois similaires à celles obtenues par NAKOS (1977) sur A. cyanophylla.

Il n'est pas souhaitable d'attacher une trop grande valeur à une mesure d'ARA ponctuelle comme celle que j'ai effectuée car cette activité varie beaucoup avec l'état physiologique de la plante (age, heure du jour, régime hydrique...). Ceci explique sans doute la grande irrégularité obtenue pour ces résultats.

Finalement, il ressort de cette étude que, des 16 sols utilisés pour les piégeages, 8 seulement ont permis d'isoler des souches de Rhizobium permettant d'augmenter significativement la croissance d'A. raddiana. Ceci va dans le sens de la théorie selon laquelle les Rhizobium à croissance rapide sont plus rares dans les sols tropicaux que les Rhizobium à croissance lente (DREYFUS ot DOMMERGUES, 1981), ce qui peut rendre intéressante l'inoculation de plantules élevées sur *sol* non stérile

comme l'a observé GUEYE (1979) avec A. sénégal.

J'ai remarqué en outre au cours de cette expérience que 4 des 5 souches les plus efficaces en terme de matière sèche produite - ORS 926, 928, 929 et 930 (différence par rapport au témoin significative au seuil de 5%) - sont précisément celles qui ne produisent pas de mucus *en* culture liquide. HERRIDGE et ROUGHLEY (1975) ont fait une observation analogue pour différents isolats de la souche CB 756 : les moins efficaces sont ceux qui produisent de grandes colonies muqueuses tandis que les plus efficaces produisent des colonies ponctiformes.

2. La symbiose MVA - Acacia

Il est admis que les champignons endomycorhiziens VA, à l'encontre des Rhizobium, ne présentent pas de spécificité marquée vis à vis de leur plante-hôte. Or, OLLIVIER (1981) a montré que la souche de G. mosseae dont je disposais se développe bien en association avec Vigna unguiculata sous les conditions climatiques de Dakar. Je pouvais donc tenter d'étudier l'influence de l'endomycorhization sur le comportement d'A. raddiana en utilisant G. mosseae, sans qu'il soit nécessaire de sélectionner des souches indigènes efficaces.

J'ai choisi de réaliser cette expérience sur sol Deck stérilisé car la faible teneur en P assimilable (11ppm) de ce sol devrait permettre d'obtenir un effet appréciable dû à l'endomycorhization. L'expérience a comporté trois traitements :

- Témoin
- Inoculation avec G. mosseae
- Apport de 57ppm de P (0,25g KH_2PO_4/kg de sol)

Etant donné que j'avais décidé d'étudier la symbiose MVA - Acacia, je n'ai pas inoculé les plants avec Rhizobium. La durée de l'expérience a été de 8 semaines.

Tableau 9. Effets de l'inoculation avec Glomus mosse'ae sur la croissance d'Acacia raddiana cultivé sur un sol stérilisé pauvre en P assimilable, le sol Deck.

raitement	Production de matière sèche (g/pl)			Infection	
	Tiges	Racines ,	Total	Fréquence	Inte
O	0,251 a	O,113 a	0,364 a	0	0
G.m.	1,096 b	0,239 b	1,335 b	75	44
P	0,766 c	0,183 b	0,949 c	0	0

0 : témoin
Gm: inoculation avec Glomus mosseae
P : apport de 57 ppm de P
Chaque valeur est la moyenne de 5 répétitions
Les nombres suivis de la même lettre ne diffèrent pas significativement a seuil de 5% selon le test de DUNCAN
Durée de l'expérience: 8 semaines.

Tableau 10. Effets de l'inoculation avec Glomus mosseae sur la teneur en N et P des parties aériennes d'A. raddiana cultivé sur sol Deck stérilisé.

Traitement	N .		P	
	%	mg/pl	%	mg/pl
0	1,64 a	4,1 a	0,075 a	O,18 a
G.m	1,80 b	19,7 b	0,188 b	2,06 b
P	1,87 c	14,3 c	0,162 c	1,24 c

Légende identique à celle du Tableau 9.

2.1. Résultats

Après inoculation avec G. *mosseae* sur sol Deck, j'ai enregistré un gain de 340% dans la production de matière sèche des parties aériennes. Cette stimulation de croissance est largement supérieure à celle due à l'apport de phosphates solubles (Tableau 9). Parallèlement à l'augmentation de la croissance végétative des plantes, on constate que les concentrations et les teneurs totales en N et P dans les parties aériennes sont plus élevées chez les plantes mycorhizées ou ayant reçu un apport de P que chez les témoins, La teneur totale en P est notamment augmentée de façon spectaculaire (+ 1040%) pour le traitement G.m. (Tableau 10).

2.2. Discussion

Cette expérience montre que sur un sol pauvre en P assimilable, la croissance des plants mycorhizés est largement supérieure à celle des plants non mycorhizés. Ceci confirme pour A. raddiana les résultats obtenus pour de très nombreuses plantes (MOSSE, 1973a, HAYMAN, 1978), dont un certain nombre d'arbres cultivés sur des sols peu fertiles : A. farnesiana (JOHNSON et MICHELINI, 1974), Liquidambar styraciflua (BRYAN et RUEHLE, 1976), Platanus occidentalis (POPE, 1980).

L'augmentation de la concentration en P des plantes mycorhizées explique le gain de croissance enregistré après inoculation avec G. mosseae. En effet, les plantes sont stimulées de façon à peu près équivalentepar l'inoculation avec G. mosseae ou par l'apport de P. L'inoculation correspond dans ce cas à une fertilisation supérieure à l'apport de KH_2PO_4 à la dose de 0,25g/kg de sol, ce qui est équivalent à une fertilisation de 395 kg de P_2O_5/ha, très largement supérieure aux doses habituellement employées en agronomie. Le comportement d'A. raddiana est donc similaire à celui de Vigna unguiculata cultivé sur le même sol (OLLIVIER, 1981), ainsi qu'à ceux de nombreuses autres plantes cultivées sur des sols déficients en P (ROSS et HARPER, 1970; ROSS, 1971; SANNI, 1976; BARBA, ESCUDERO et AZCON G. DE AGUILAR, 1980; MENGE et al., 1980).

L'augmentation des teneurs en N observée chez les plantes inoculées avec G. mosseae ou ayant reçu un apport de P provient sans doute d'un meilleur développement du système racinaire de

ces plantes, qui leur permet de mieux exploiter le N du sol. Le sol Deck est d'ailleurs assez riche en N total (300ppm) et la stérilisation par autoclavage a sans doute permis d'en minéraliser une notable proportion. MENGE et al. (1980) ont constaté également que l'absorption de N et P par l'avocatier sont étroitement liées. Toutefois, n'ayant pas toujours observé d'augmentation du système racinaire chez les plantes mycorhizées, il formule une autre hypothèse : le grand développement des tiges de plantes mycorhizées serait responsable de l'augmentation de la transpiration par les feuilles, entrainant à son tour une augmentation du flux de l'eau - contenant des ions azotés en solution - vers les racines des plantes mycorhizées. Quelqu'en soit le mécanisme, ce phénomène est intéressant sur le plan pratique car les MVA devraient donc permettre aux plantes de mieux rentabiliser une fertilisation azotée.

Sur un sol déficient en P tel que le sol Deck, la nutrition minérale d'A. raddiana semble donc très dépendante de l'endomycorhization. Pourtant l'intensité de l'infection est faible (44%) comparée à celle observée par OLLIVIER (1981) sur Vigna unguiculata inoculé dans les mêmes conditions et estimée de la même façon (70%). Ceci souligne le fait déjà remarqué par HAYMAN et MOSSE (1971) : la réponse à l'inoculation n'est pas corrélée à l'intensité de l'infection endomycorhizienne.

3. Etude de la double symbiose Acacia - Rhizobium - MVA.

Les 3 expériences précédentes ont montré l'importance des effets que l'on peut obtenir après inoculation avec chacun des symbiotes pris isolément. Il est intéressant maintenant de voir comment ces deux microorganismes interagissent en fonction du type de sol sur lequel on élève les plantes. J'ai utilisé deux sols différents notamment par leurs teneurs en N et P :

- le sol Deck est très pauvre *en* P assimilable (11ppm) mais relativement riche en N (300ppm)
- le sol de Kfbémer est à la fois déficient en P (11ppm de P assimilable) et en N (170ppm).

(Voir § IX 1.1., p.20).

Tableau 11. Effets de l'apport de N et P et de l'inoculation avec *Rhizobium* et *G. mosseae* sur la croissance d'*A. raddiana*, cultivé sur sol Deck stérilisé.

	Production de matière sèche (g/pl)			Nombre de nodules	Infection mycorhizie	
raitement	Tiges	Racines	Total		Fréquence	Intens
0	0,160 a	0,130 a	0,290 a	0	0	0
R	0,169 a	0,149 a	0,318 a	0	0	0
N	0,171 a	0,123 a	0,294 a	0	0	0
P	0,733 b	0,401 b	1,134 b	0	0	0
NP	0,598 b	0,296 b	0,894 b	0	0	0
NM	1,541 c	0,639 c	2,180 c	0	85,8	28,
RM	1,463 c	0,735 c	2,198 c	10,6	85,9	27,

: témoin
: inoculation avec *Rhizobium* ORS911
: apport de 17 ppm N
: apport de 10 ppm P
P : apport de 17 ppm de N et 10 ppm de P
M : apport de 17 ppm de N et inoculation avec *G. mosseae*
M : double inoculation avec *Rhizobium* ORS911 et *G. mosseae*
Chaque valeur est la moyenne de 5 répétitions
Les nombres suivis de la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5% selon le test de DUNCAN
Durée de l'expérience: 10 semaines.

3.1. Inoculation d'A. raddiana avec Rhizobium et G. mosseae sur un sol déficient en P mais pas en N_2 : le sol Deck

Nous avons vu que sur ce sol, la croissance d'A. raddiana est très stimulée par l'inoculation avec G. mosseae. J'ai voulu, grâce à cette expérience :

- étudier l'influence de G. mosseae sur la fixation symbiotique de N_2
- comparer la fertilisation chimique (apport de N et P solubles) et la fertilisation "biologique" (inoculation avec Rhizobium et G. mosseae)

Le protocole de l'expérience a donc été le suivant :

0 : Témoin absolu

R : Inoculation avec Rhizobium ORS 911

N : Apport de 17ppm de N (103mg $NaNO_3$/kg sol)

P : Apport de 10ppm de P (43mg KH_2PO_4/kg sol)

NP : Apport de 17ppm de N et de 10ppm de P

NM : Apport de 17ppm de N et inoculation avec Glomus mosseae

RM : Inoculation avec Rhizobium ORS 911 et Glomus mosseae

L'expérience a été arrêtée 10 semaines après inoculation.

3.1.1. Résultats

Dès la quatrième semaine après le début de l'expérience la croissance végétative d'A. raddiana a été stimulée tant par l'apport de P que par l'inoculation avec G. mosseae. En revanche, même en fin d'expérience, aucun effet dû à l'apport de nitrates ou à l'inoculation par Rhizobium n'est visible (Tableaux 11 et 12).

L'apport de Rhizobium seul n'a *en* fait pas permis d'obtenir la nodulation d'A. raddiana. En revanche, la double inoculation avec Rhizobium et G. mosseae a permis à la nodulation de s'exprimer, quoique de façon très irrégulière, en

Tableau 12. Effets de l'apport de N et P et de l'inoculation avec *Rhizobium* et *G. mosseae* sur les teneurs en N et P d'*A. raddiana* cultivé sur sol Deck stérilisé.

Traitement	N		P	
	%	mg/pl	%	mg/pl
0	3,63 a	5,8 a	0,099 a	0,16 a
R	3,77 a	6,4 a	0,109 a	0,18 a
N	3,61 a	6,2 a	0,102 a	0,17 a
P	2,91 b	21,3 ab	0,152 b	1,11 b
NP	2,98 b	17,8 a	0,154 b	0,92 b
NM	2,40 c	37,0 c	0,246 c	3,79 c
RM	2,47 c	36,1 bc	0,241 c	3,53 c

Légende identique à celle du tableau 11.

effet, sur 5 plants, 3 seulement portaient des nodules.

3.1.2. Discussion

J'ai constaté grâce à cette expérience que le sol Deck répond très différemment à l'apport de N ou de P : un apport de P stimule la croissance végétative tandis qu'un apport de N reste sans effet. L'apport simultané de N et P n'apporte pas d'avantage supplémentaire par rapport à l'apport de P seul.

Nous pouvons en déduire que sur sol Deck, P est le facteur qui limite la croissance des plantes. Ceci explique pourquoi A. raddiana répond si bien à l'inoculation endomycorhizienne sur ce sol : les MVA permettent d'annuler l'effet de ce facteur limitant car elles améliorent l'assimilation de P du sol par la plante.

Il est également reconnu qu'une déficience en P peut limiter la nodulation et la fixation symbiotique de N_2 (MUNNS, 1977). C'est sans doute la raison pour laquelle je n'ai pas constaté de nodulation sur les plants inoculés avec Rhizobium seul. L'inoculation simultanée avec G. mosseae permet de lever cette inhibition de la nodulation, mais, j'ai toutefois constaté que la formation des nodules était irrégulière et peu abondante comparée à celle obtenue précédemment (§ III 1.2.2.1., p.39). Ceci peut être db à la relative richesse du sol en N, car des doses relativement elevées de N combiné inhibent la nodulation (cf. par exemple : MUNNS , 1977; PATE, 1977). Cette hypothèse semble confirmée par l'absence de réponse des plantes à l'apport de N, même lorsque la déficience majeure du sol (P) a été corrigée.

Sur un sol pauvre en P assimilable (P < 50ppm) mais relativement riche en N tel que le sol Deck, l'inoculation avec Rhizobium n'est pas indispensable à la croissance d'A. raddiana. En revanche, la déficience du sol en P assimilable doit obligatoirement être corrigée soit par un apport d'engrais phosphatés solubles, soit par l'inoculation avec un champignon endomycorhizien efficace. Une certaine prudence est nécessaire avant d'appliquer ces résultats sur le terrain. En effet, les phénomènes de lessivage de N et de dénitrification qui inter-

viennent in-situ peuvent rendre nécessaire la double inoculation avec un champignon endomycorhizien et Rhizobium.

3.2. Inoculation d'A. raddiana et A. holosericea avec Rizobium et MVA sur un sol déficient en N et P, le sol de Kébémer

Au cours de l'expérience précédente, j'ai pu constater qu'A. raddiana bénéficiait surtout de l'inoculation avec G. mossene car la nodulation restait faible même lorsque la déficience en P du sol avait été corrigée par l'intermédiaire de l'inoculation avec G. mosseae. Comme ceci semble dû à la relative richesse en N du sol Deck , j'ai conçu une expérience similaire sur un sol pauvre en N et P : le sol de Kébémer (voir analyses § II 1.1., p.20). Le protocole comporte trois traitements auxquels ont été soumis A. raddiana et A. holosericea :

R : témoin

RM : inoculé avec G. mosseae

RP : apport de 57ppm de P

Toutes les plantes ont en outre été inoculés avec un Rhizobium spécifique :

CB 756 pour A. holosericea
ORS 911 pour A. raddiana

Je n'ai pas pu utiliser les souches de Rhizobium les plus efficaces car je ne disposais pas encore des résultats des tests de sélection lorsque j'ai mis en route cette expérience.

3.2.1. Résultats

Peu après le début de l'expérience, j'ai été amené à modifier le protocole expérimental car les plants d'A. holosericea auxquels j'avais apporté P à la dose de 57ppm (0,25g KH_2PO_4/kg de sol) ont rapidement présenté une importante chlorose qui a abouti à la mort des plants en 2 à 3 semaines. J'ai attribué ce phénomène à une toxicité due à P et non pas à K car un phénomène analogue avait également été constaté à

Tableau 13. Effets de l'inoculation avec *G. mosseae* sur la croissance et la nodulation d'*A. raddiana* et *A. holosericea* cultives sur un sol pauvre en N et P, le sol de Kébémer.

Espèces	Traitement	Production de matière sèche (g/pl)			Nodules		Infection mycorhizienne (%)	
		Tiges	Racines	Totale	Nombre	Poids sec (mg/pl)	Fréquence	Intensité
A. raddiana	R	0,185 a	0,273 a	0,458 a	6,4 a	2,2 a	3 a	0,8 a
	RM	0,481 b	1,166 c	1,647 b	31,8 b	37,8 b	96 b	43,7 c
	RP	0,901 c	0,777 b	1,678 b	43,4 b	100,8 c	5 a	1 a
A. holosericea	R	0,074 x	0,081 x	0,155 x	0 x	0 x	1 x	0,3 x
	RM	0,566 y	0,981 z	1,547 y	4,8 Y	19,4 Y	96 Y	30,8 y
	RP	1,043 z	0,396 y	1,439 y	19,8 z	54,2 z	0 x	0 x

R : témoin

RM : inoculation avec *G. mosseae*

RP : apport de 57 ppm de P pour *A. raddiana* et de 10 ppm de P pour *A. holosericea*

Toutes les plantes sont en outre inoculées avec un *Rhizobium* spécifique : ORS911 pour *A. raddiana* et CB756 pour *A. holosericea*

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

Les calculs statistiques ont été effectués séparément pour les deux espèces.

Durée de l'expérience: 14 sémaines.

la pépinière du CNRF de Dakar = Hann après un apport de $CaHPO_4$ (ROUSSEL, communication personnelle). J'ai donc réduit la dose de P à 10ppm. Les plantes ayant subi ce traitement ont été maintenues en serre le même nombre de jours que le reste de l'expérience. L'apport de P à la dose de 10ppm a stimulé la croissance d'A. holosericea et je n'ai pu déceler aucun signe de chlorose.

L'apparition de l'effet de l'endomycorhization varie selon l'espèce d'Acacia : dès la 5e semaine après l'inoculation, les plants mycorhizés d'A. holosericea apparaissent plus développés que les témoins; tandis que pour A. raddiana il faut attendre la 8e semaine pour voir un effet se manifester. Au delà de ces deux dates, la croissance des témoins est pratiquement nulle, ce qui fait que la différence avec les traitements RM s'accroît jusqu'en fin d'expérience où l'on enregistre un gain de croissance de 66596 pour A. holosericea contre 160% pour A. raddiana (Tableau 13)

L'amélioration des rendements a surtout porté sur le système racinaire (figure 11) et se traduit par une diminution du rapport $\frac{\text{Poids sec des parties aérienne}}{\text{Poids sec des parties racinaires}} \left(\frac{PA}{PR}\right)$ chez les plantes mycorhizées comparées aux plantes non inoculées (Tableau 14). Le développement du champignon endomycorhizien VA n'est pas non plus le même pour les deux espèces : si les fréquences d'infection sont identiques, l'intensité est nettement plus importante chez A. raddiana. L'infection endonyco rhizienne comme l'apport de P ont également stimulé la symbiose rhizobicnnc, lui permettant même de se manifester chez A. holoscricea alors qu'elle est absente des témoins ayant pourtant reçu un inoculum rhizobien identique (figure 11). Ceci se traduit par des teneurs totales en N des parties aériennes beaucoup plus élevées chez les plantes mycorhizées ou ayant reçu un apport de P. En revanche, les concentrations en N ne sont pas toujours auamentées comme c'est le cas pour P sur les traitements RP! et RP (tableau 15).

La très faible infection observée chez les témoins (Tableau 13) ne semble pas avoir eu d'effet marqué sur la croissance des plantes.

Tableau 14. Influence de l'endomycorhization et de l'apport d P sur la variation du rapport $\frac{PA}{PR}$ chez A. raddiana et A. holo ricea.

Traitement	A. holosericea	A. raddiana
R	0,91	0,68
RM	0,58	0,41
RP	2,63	1,16

R : témoin
RM : inoculation avec G. mosseae
RP : apport de 57 ppm de P pour A. raddiana et de 10 ppm de p pour A. holosericea
Tous les plants ont en outre été inoculés avec un Rhizobium spécifique ORS911 pour A.. raddiana et CB756 pour A. holoseric

Tableau 15. Effet de l'inoculation avec G. mosseae sur la teneur en N et en P des parties aériennes d'A. raddiana et A. holosericea cultivés sur sol de Kébémer stérilisé.

Espèces	Traitement	N		P	
		%	mg/pl	%	mg/pl
A. raddiana	R	1,35 a	2,5 a	0,035 a	0,07 a
	RM	1,62 b	6,5 a	0,058 a	0,28 b
	RP	1,95 c	12,2 b	0,171 b	1,54 c
A. holoseri'cea	R	2,29 x	1,7 x	0,035 x	0,03 x
	RM	2,12 Y	12,0 Y	0,055 x	0,31 y
	RP	2,16 y	22,3 z	0,087 y	0,91 z

3.2.2. Discussion

Cette expérience m'a permis de tirer quatre conclusions principales : la première est très classique compte tenu des études déjà réalisées sur les endomycorhiaes, mais les trois autres présentent une certaine originalité*

3.2.2.1. Amélioration de la nutrition phosphatée

Sur sol de Kébémer, très déficient en P, la croissance des plantes est, comme sur sol Deck (§ III 2, p.41) très stimulée par l'inoculation mycorhizienne lorsque le sol a été préalablement stérilisé . Nous avons vu précédemment que cette stimulation est due à une amélioration de la nutrition phosphatée des plantes, qui se traduit par une augmentation des teneurs totales *en* P des parties aériennes des plantes mycorhizées.

L'endomycorhization a également stimulé la nodulation de façon notable (Tableau 13, Figure 11). Ce phénomène semble également résulter de l'amélioration de la nutrition phosphatée car la nodulation a également été améliorée chez les plants ayant reçu un apport de P. Cc résultat confirme, pour les Légumineuses aborescentes que j'ai étudiées, les observations de DAFT et EL - GIAHMI (1975) sur l'arachide, le haricot vert et la luzerne, et celles d'ASIMI et al. (. 1978) sur le soja. Sur sol de Kébémer, la nodulation semble donc limitée par la faible teneur en P assimilable; par conséquent, avant d'envisager l'inoculation avec *un* Rhizobium spécifique, il faut au préalable corrigerla déficience en P de ce sol, soit en apportant un engrais phosphaté, soit en réalisant une double inoculation avec Rhizobium et un champignon endomycorhizien.

3.2.2.2. Différences de comportement des deux Acacia

Le tableau 16 résume les différences dans les réponses d'A. raddiana et A. holosericea à l'endomycorhization ou à l'apport de P : A. holosericea répond bien à un faible apport de P, ce qui peut expliquer pourquoi la croissance d'A. holosericea est la plus stimulée par l'endomycorhization. Il semble donc que les deux espèces

Tableau 16. Influence de 2 apports de P et de l'endomycorhization sur l'accroissement en poids sec des parties aériennes d'*A. holosericea* et *A. raddiana*.

Traitement	Accroissement du poids sec des parties aériennes	
	A. holosericea	*A. raddiana*
Apport de 10 ppm de P	+ 1310 %	n.d.
Apport de 57 ppm de P	Toxicité	+ 387 %
Inoculation avec *G. mosseae*	+ 665 %	+ 160 %

La réponse est exprimée en % par rapport au témoin.
n.d.: non déterminé.

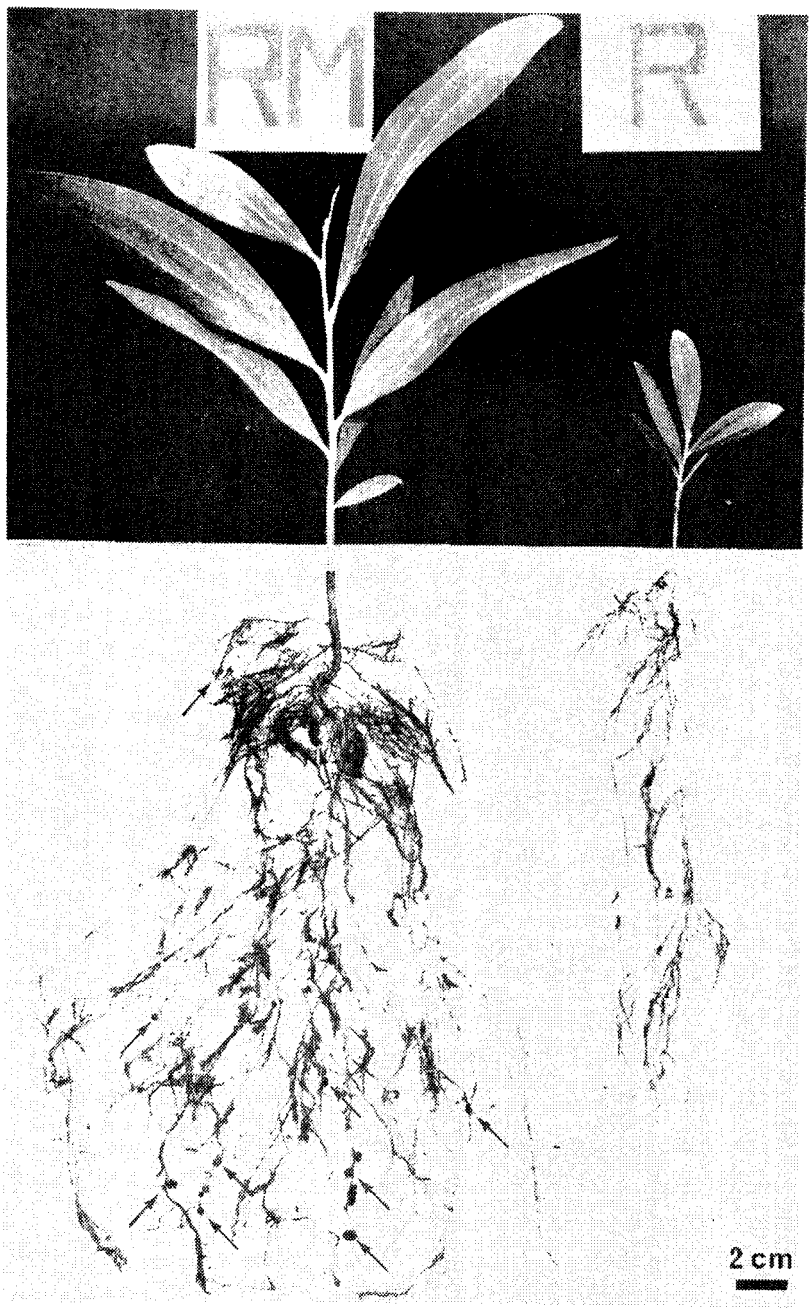


Figure 11 : Effets de l'inoculation avec G. mosseae sur la croissance, le développement racinaire et la nodulation d'A. holosericea.

Plants âgés de **5** mois, cultivés sur sol de Kébémer stérilisé.

R: inoculé avec Rhizobium seul (souche **CB.756)**

RM: inoculé avec Rhizobium et G. mosseae

↗ : nodules

employées diffèrent selon leur aptitude à utiliser P, et que cette différence conditionne la réponse à l'endomycorhization. Ce résultat est à rapprocher du fait que l'endomycorhization induit sensiblement le même accroissement des concentrations et des teneurs totales en P chez les deux espèces (tableau 15).

L'effet toxique de l'apport de 57ppm de P chez A. holosericea indique en outre que cette espèce est plus sensible à un excès de P qu'A. raddiana. Il serait intéressant de déterminer l'effet d'un apport de 10ppm de P sur A. raddiana afin de préciser si l'apport de 57ppm est situé en dessous ou au dessus de l'optimum.

3.2.2.3. Augmentation du poids sec des racines

Un autre effet de l'endomycorhization constaté à l'issue de cette expérience a été l'augmentation importante du poids sec des systèmes racinaires, ce qui se traduit par une diminution du rapport $\frac{PA}{PR}$ (tableau 14).

SANNI (1976) a fait une observation similaire sur la tomate, mais cet effet des endomycorhizes n'est pas systématiquement rapporté dans les publications. Ce phénomène n'est certainement pas dû à une meilleure nutrition phosphatée comme pour les parties aérienne car une fertilisation phosphatée a précisément l'effet *inverse,* qui se traduit par une augmentation du rapport $\frac{PA}{PR}$. On ne connait pas encore la raison exacte de l'augmentation de la production des racines chez les plantes mycorhizées. Cependant, puisque ALLEN, MOORE et CHRISTENSEN (1980) ont signalé une production accrue de phytohormones dans les racines de plantes mycorhizées, on peut penser que ces substances peuvent intervenir dans la stimulation de la rhizogénèse comme l'ont suggiré SLANKIS (1973) pour les ectomycorhizes et divers auteurs dont BARREA et BROWN (1974) pour des bactéries de la rhizosphère. Cette observation est importante au point de vue forestier, notamment en zone tropicale, car un système racinaire plus développé donne aux plantes mycorhizées un avantage notable en ce qui concerne la

et, plus généralement, l'alimentation en eau.

3.2.2.4. Amélioration de la résistance à une faible hygrométrie de l'air

Au cours de cette expérience, j'ai remarqué qu'en mi-journée en saison sèche, lorsque l'humidité relative de l'air est faible (environ 50%), les plantes non mycorhizées étaient flétries, tandis que les plantes mycorhizées étaient encore très turgescentes (figure 12, photo 1). Pourtant les potentiels hydriques des sols, mesurés au tensiomètre (voir § II, 6.1., p.32) étaient identiques et ne faisaient pas apparaître de déficit hydrique (pF ≤ 2). L'examen d'empreintes foliaires (voir § II, 6.2., p.32) m'a en outre permis de constater que sur les plantes mycorhizées, 70% des stomates étaient alors ouverts tandis que 3% seulement l'étaient sur les témoins (figure 12, photos 2 et 3).

Diverses théories ont été avancées pour expliquer l'amélioration de l'alimentation en eau des plantes mycorhizées :

- l'extension du système racinaire permettrait d'accroître la quantité d'eau absorbée qui pourrait alors compenser rapidement l'eau évapotranspirée.

- l'amélioration de la nutrition phosphatée des plantes mycorhizées induit une diminution de la résistance au transport de l'eau (SAFIR et al., 1972) qui pourrait-permettre à la plante de satisfaire plus facilement à une forte demande évaporative.

- enfin, comme pour l'extension du système racinaire, ce phénomène pourrait également être dû à l'augmentation de la production de cytokinines chez les plantes mycorhizées (ALLEN et al., 1980) car INCOLL et WHITELAM (1977) ont remarqué que ces substances provoquent l'ouverture des stomates.

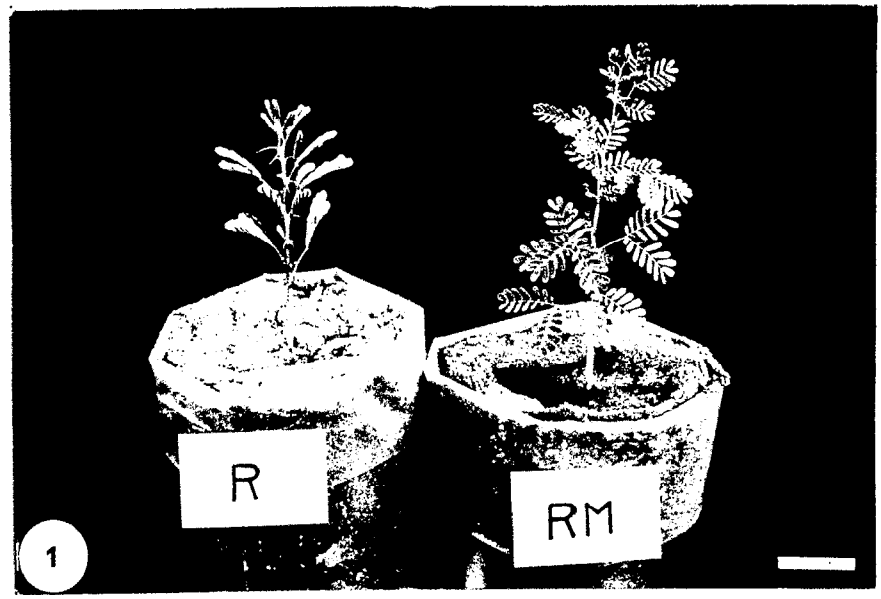


Photo 1. R: Plante inoculée avec Rhizobium seul; plante partiellement flétrie.

RM: Plante inoculée avec Rhizobium et G. mosseae; plante non flétrie.

La barre représente 2cm.

Photo 2. R : 3% des stomates ouverts

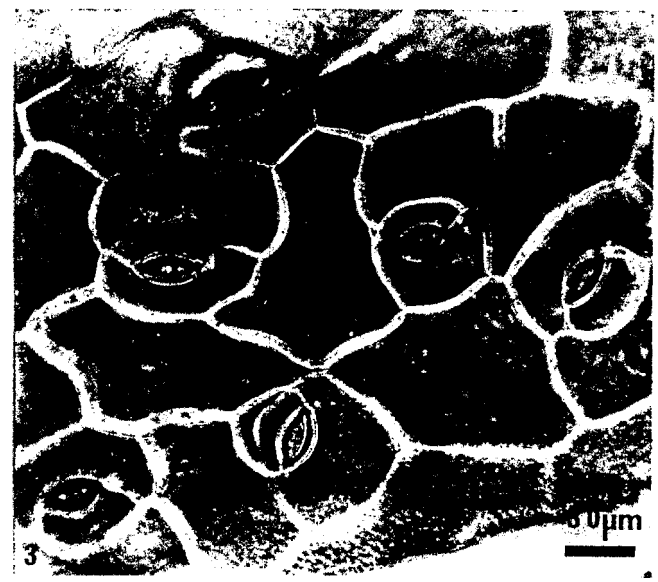


Photo 3. RM: 70% stomates ouverts

Figure 12: Effets de l'inoculation avec G. mosseae sur le comportement d'A. raddiana se trouvant dans une atmosphère relativement sèche (environ 50% d'humiditié relative) . La tension d'eau dans le sol est la même pour les deux traitements.

Ces phénomènes sont toutefois très mal connus : il serait utile de mieux les étudier en raison de l'intérêt qu'ils présentent pour le reboisement ou l'agriculture en zone semi-aride tropicale.

Tableau 17. Estimation de la population de spores d'endogo
indigènes dans 1 kg de sol de Kébémer.

Type de spores	Classes de diamètre (µm)			Total
	> 250	100-250	50-100	
Gigaspora sp. spores noires	65	0	0	65
Gigaspora sp. spores blanches	100	180	0	280
Gigaspora sp. spores jaunes	50	70	0	120
Gigaspora sp. spores brunes	60	675	0	735
Glomus sp.	0	0	1400	1400
Total	275	925	1400	2600

Chapitre IV

ETUDE DU SYSTEME SYMBIOTIQUE RHIZOBIUM - MVA - ACACIA SUR SOL NON STERILISE

Dans un but pratique, il est utile de savoir si les inoculations rhizobiennes et mycorhiziennes peuvent également stimuler la croissance des Plants élevés dans un sol non stérilisé. En effet, la désinfection des sols de pépinière, par exemple par fumigation au bromure de méthyle, n'est Pas encore une pratique répandue en milieu tropical, ce qui fait que les bactéries ou les champignons VA introduits risquent d'entrer en compétition avec la microflore indigène du sol, ou bien de se trouver limités dans leur développement Par des facteurs d'origine biotique (voir § I, 1.5.2., p.9, et 1, 2.4.2., p.15). J'ai donc étudié l'effet de l'inoculation avec G. mosseae sur A. raddiana et A. holosericea selon le même protocole que l'expérience Précédente (§ III, 3.2., p. 46), mais en utilisant le sol de Kébémer non stérilisé. Mais auparavant, j'ai dénombré les spores de champignons endomycorhiziens VA indigènes de ce sol afin de tenter d'évaluer son Potentiel d'infection mycorhixienne.

1. Dénombrement des spores de champignons VA indigènes du sol de Kébémer

Le nombre de chaque type de spores par catégorie de diamètre est donné RU tableau 17.

Deux genres de champignons endomycorhiziens VA sont présents dans le sol de Kébémer :

- Gigaspora, reconnaissable à ses spores de grande taille (supérieure à 100 µ) portés Par un suspenseur renflé (voir figure 3, photo 2, p.12).

  J'en ai distingué 4 types selon la couleur, la taille et la forme des spores :

  - spores noires brillantes, parfaitement sphériques, de grande taille (>250 µ), à suspenseur brun.

Tableau 18. Effets de l'inoculation avec *G. mosseae* sur la croissance et la nodulation d'*A. raddiana* et *A. holosericea* cultives sur sol de Kébémer non stérilisé.

Espèces	Traitement	Production de matière sèche (g/pl)			Nodules		Infection mycorhizienne(%	
		Tiges	Racines	Total	Nombre	Poids sec	Fréquence	Inténsité
	R	0,261 a	0,624 a	0,885 a	13,8 a	13,6 a	100	38,6 a
A. raddiana	RM	0,295 a	0,650 a	0,945 a	12 a	15,6 a	100	46,8 b
	RP	0,518 b	0,653 a	1,171 a	45 b	69,8 b	100	43,8 ab
	R	0,285 x	0,702 x	0,987 x	18 x	22,8 x	100	41,1 x
A. holosericea	RM	0,286 x	0,560 y	0,846 xy	19,8 x	26,8 x	100	37,6 x
	RP	0,384 x	0,288 z	0,672 y	46 Y	51,6 Y	100	38,1 x

R : témoin

RM : inoculation avec *G. mosseae*

RP : apport de 57 ppm de P pour *A. raddiana* et de 10 ppm de P pour *A. holosericea*

Toutes les plantes sont en outre inoculées avec un *Rhizobium* spécifique: ORS911 pour *A. raddiana* et CB756 pour *A. holosericea*

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

Les calculs statistiques ont été effectués séparément pour les deux espèces.

Durée de l'expérience: 14 semaines.

- spores blanches laiteuses, également parfaitement sphériques.
- spores jaunes citron vif, irrégulières
- spores brunes, irrégulières et contenant de nombreuses vacuoles.

- Glomus, possédant des spores beaucoup plus petites (< 100 µ), à suspenseur fin (voir. Figure 3, photo 2, p.12).

La plupart des spores sont blanches ou beige clair, opaques sphériques, et très riches en vacuoles,

Le sol, prélevé 2 mois après la fin de saison des pluies (Décembre), a un nombre total de spores assez faible comparé à celui obtenu par REDHEAD (1977) pour des sols de savane sahélienne et soudanienne prélevés à peu près à la même période.

En revanche, dans des sables dunaires, similaires à ceux de la région de Kébémer, NICOLSON (1960) n'a trouvé aucune spore d'endogonacées.

2. Effets de la double inoculation avec Rhizobium et MVA sur sol de Kébémer non stérilisé

2.1. Résultats

Cette expérience a été mise en route en même temps que celle sur sol stérile, ce qui fait que dans ce cas aussi, nous avons dû réduire à 10ppm la dose de P apportée à A. holosericea (voir § III, 3.2.1., p.46).

Les résultats qui apparaissent aux tableau 18 et 19 ne font ressortir que très peu de différences significatives hormis entre les plantes ayant reçu un apport de P et les témoins. L'inoculation avec G. mosseae n'a eu aucun effet sur la croissance et la nodulation des plants; pourtant la nutrition minérale des plantes semble Qtre quelque peu modifiée : les exnortations en N et P vers les parties aériennes sont toujours légèrement augmentées, mais sans toutefois atteindre le seuil de signification de 5%. Seule l'intensité d'infection chez A. raddiana est augmentée de façon significative, mais ce phénomène ne se retrouve pas chez A. holosericea.

Tableau 19. Effets de l'inoculation avec G. mosseae sur les teneurs en N et P des parties aériennes d'A. raddiana et A. holosericea cultivés sur sol de Kébémer non stérilisé.

Espèce	Traitement	N		P	
		%	mg/pl	%	mg/pl
A. raddiana	R	1,46 a	3,8 a	0,084 a	0,22 a
	RM	1,80 b	5,3 a	0,110 a	0,32 a
	RP	2,08 b	10,8 b	0,231 b	1,19 b
A. holosericea	R	2,39 x	6,8 x	0,091 x	0,26 x
	RM	2,69 y	7,7 x	0,104 x	0,30 x
	RP	2,02 z	7,7 x	0,259 y	1,00 y

Légende identique à celle du tableau 18.

2.2. Discussion

Sur sol non stérilisé, l'inoculation avec G. mosseae n'apporte pratiquement aucun bénéfice car le champignon introduit entre probablement en compétition avec les champignons indigènes du sol. En effet, le système racinaire des témoins est totalement infecté par ces champignons. Il Semble donc difficile pour G. mosseae de s'installer dans le cortex des racines déjà entièrement colonisé.

Ces résultats *posent* la question de l'évaluation du potentiel infectieux des sols en ce qui concerne les MVA. Le dénombrement des spores ne semble pas le refléter fidèlement car NICOLSON (1960) et KHAN (1974) ont constaté que des plantes pouvaient être très mycorhizées dans des sols dépouvus de spores de champignons VA. Il semble donc que le potentiel infectieux d'un sol dépende beaucoup des propagules (fragments d'hyphes ou de racines infectées) qu'il contient. Une méthode par dilutions de sol permet d'évaluer la densité de propagules qu'il contient (SMITH et BOWEN, 1979), mais cette technique est assez laborieuse.

L'abondance de champignons endomycorhiziens indigènes dans les sols risque donc bien souvent de limiter les possibilités d'introduction de souches exotiques plus efficaces,, En matière forestière, cette difficulté peut être contournée en réalisant l'inoculation au stade de la pépinière sur un sol désinfecté au bromure de méthyle, ou tout autre biocide à effet non rémanent. Toutefois, on ne sait si l'avantage que possède alors la souche introduite, bien installée dans le système racinaire des plants, peut se maintenir après la transplantation sur le terrain.

Une autre possibilité pour utiliser avec succès les champignons endomycorhiziens sur sol non stérilisé serait de sélectionner des souches indigènes efficaces et très compétitives. Cependant ce problème est très délicat car il n'existe aucun moyen pour différencier deux souches de champignon endomycorhizien à l'intérieur du cortex d'une racine, ce qui rend difficile la détermination de la compétitivité d'une souche.

Le problème de l'inoculation avec Rhizobium est différent de celui des MVA à cause de la plus grande spécificité des Rhizobium Sur un tel sol non stérile, l'inoculation avec Rhizobium seul peut être bénéfique, comme l'ont observé DREYFUS et GUEYE (1980,

résultats non publiés) sur certains Acacia de l'ouest africaine J'ai également constaté, au cours d'une expérience menée en pépinière sur un sol non stérile, qu'A. holosericea répond de façon nette à l'inoculation avec le Rhizobium ORS 841.

Tableau 20 : Représentation schématique des cas où l'inoculation avec Rhizobium ou un champignon endomycorhizien VA est nécessaire

N°	Caractéristiques des sols				Nécessité de l'inoculation		Cas étudiés dans ce mémoire
	N	P	Rhizobium	MVA	avec Rhizob.	avec MVA	
1	+	+	+	+	0	0	
2	+	+	+	0	0	0	
3	+	+	0	+	0	0	
4	+	+	0	0	0	0	
5	+	0	+	+	0	0	
6	+	0	+	0	0	+	
7	+	0	0	+	0	0	
8	+	0	0	0	0	+	Sol Deck st.
9	0	+	+	+	0	0	
10	0	+	+	0	0	0	
11	0	+	0	+	+	0	
12	0	+	0	0	+	0	Sol Bel-Air st.
13	0	0	+	+	0	0	Sol de Kébémer non s
14	0	0	+	0	0	+	
15	0	0	0	+	+	0	
16	0	0	0	0	+	+	Sol de Kébémer st.

+ : teneur optimale en N ou P; ou présence de Rhizobium ou de MVA efficaces; ou inoculation nécessaire.

0 : teneur en N ou P insuffisante; ou absence de Rhizobium ou MVA efficaces) ou inoculation inutile.

st. : stérilisé

Chapitre V

CONCLUSIONS GENERALES

Cette étude, dans un premier temps, m'a permis de sélectionner des souches de Rhizobium efficaces pour deux espèces d'Acacia appelées à avoir une certaine importance dans les programmes de reboisement des zones semi-arides du Sénégal. Compte tenu de la spécificité de la symbiose Acacia - Rhizobium que j'ai précisée, il était indispensable d'obtenir pour A. raddiana et A. holosericea des souches de Rhizobium efficaces. Cette conclusion est confirmée par une expérience que je conduis actuellement en pépinière : sur sol non stérilisé, A. holosericea répond favorablement à l'inoculation avec une des souches de Rhizobium que j'ai sélectionnée.

J'ai pu également vérifier que les deux espèces d'Acacia répondaient très bien à l'inoculation avec un champignon endomycorhizien VA.

En extrapolant mes résultats, j'ai pu construire le tableau 20 qui présente schématiquement les cas où L'inoculation avec Rhizobium et/ou un champignon endomycorhizien VA est nécessaire. Ce tableau considère les 16 combinaisons possibles entre les 4 facteurs majeurs régissant les deux symbioses :

- présence (+) ou absence (o) de Rhizobium ou de MVA
- teneur en N ou P du sol suffisante (+) ou insuffisante (o) pour la croissance de la plante considérée.

Nous constatons que sur 16 cas, 6 nécessitent l'inoculation avec l'un ou l'autre des symbiotes, tandis qu'un seul justifie la double inoculation. Ceci souligne la complexité des relations entre les micro-organismes telluriques, les plantes et les caractéristiques physiques du sol.

La caractéristique commune de tous les cas où l'inoculation est nécessaire est l'absence du symbiote approprié. Ces cas Correspondent

terrils de mines, dunes....), soit à des sols stérilisés. Le sol de Kébémer non stérilisé correspond au cas n° 13 où l'inoculation avec un champignon endomycorhizien n'apporte aucun bénéfice. En revanche, sur le même sol stérilisé (cas n° 16), la double inoculation est indispensable à la croissance des plantes. La double inoculation est donc surtout recommandée dans les conditions de pépinières stérilisées. Au Sénégal, la désinfection des sols de pépinières, par exemple au bromure de méthyle, serait d'ailleurs parfois souhaitable du fait de l'abondance 'des parasites, notamment des nématodes.

La réponse à l'inoculation avec Rhizobium est très marquée seulement lorsque le sol est pauvre en N et dépourvu de Rhizobium spécifique comme le sol Bel Air stérilisé (cas n° 12).

Pour cette raison, il n'est pas nécessaire d'apporter des Rhizobium en plus d'un champignon endomycorhizien sur sol Deck (cas n° 8). Inversement, il serait inutile d'apporter un champignon endomycorhizien sur sol Bel Air (cas n° 12).

En résumé, l'inoculation avec des Rhizobium et/ou des champignons endomycorhizien n'est nécessaire que lorsque le sol est:

- déficient en N et/ou P,
- dépourvu de Rhizobium spécifique de la légumineuse considérée et/ou de champignon endomycorhizien.

Ces conditions peuvent paraître très restrictives, mais en fait, elles son assez souvent réunies du fait des conditions de basse fertilité qui prévalent au Sénégal. Dans certains cas de sols très pauvres en P assimilable (moins de 10ppm), il serait même souhaitable d'apporter de faibles doses de P afin de permettre à l'effet des endomycorhizes de se manifester.

Avant d'envisager la pratique de ces inoculations à une grande échelle, il sera nécessaire de mettre au point un inoculum facile à utiliser, à conserver et à transporter, ce qui n'est pas le cas avec l'inoculum habituellement employé au laboratoire (racines mycorhizées excisées). L'inclusion dans des gels de polymères de racines mycorhizées broyées (DIEM et al., 1981) devrait permettre de résoudre ce problème,

comme c'est le cas pour les Rhizobium (MUGNIER, 1980).

Il sera également utile d'étudier la tolérance des Rhizobium et des MVA aux produits phytosanitaires car les attaques de parasites (pucerons, chenille, oïdium, nématodes, etc.) sont très fréquentes. J'ai également constaté au cours d'une des expériences que l'endomycorhization agit sur l'alimentation en eau des plantes. Ce comportement, encore mal connu, demanderait à être précisé car il devrait permettre aux plantes de mieux résister à la sécheresse et de moins souffrir de la crise de transplantation. La comparaison des réponses d'A. holosericea et A. raddiana à l'infection mycorhizienne conduit à proposer une sélection des espèces (voire des variétés) qui répondent le mieux à l'endomycorhization, ou à l'infection rhizobienne. Il ne faut toutefois pas perdre de vue qu'un tel caractère ne constitue qu'un seul de tous ceux qui conditionnent le succès de l'établissement d'une espèce forestière dans un environnement donné.

/ PRINCIPAUX OUVRAGES CONSULTES/

AKKERMANS, A.D.L.; ABDULKADIR, S. et TRINICK, M.J. 1978.
N_2-fixing root nodules in Ulmaceae: Parasponia or (and) Trema spp.?
Plant and Soil 49, 711-715.

ALLEN, M.F., MOORE, T.S. et CHRISTENSEN, M. 1980.
Phytohormones changea: in Bouteloua gracilis infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae: 1. Cytokinin increase in the host plant.
Journal Canadien de Botanique 58, 371-374.

ANONYME, 1979.
Tropical legumes: Ressources for the future.
National Academy of Science, Washington, D.C., 1979, p. 138.

ASIMI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; OBATON, M.; BERTHEAU, Y. et GIANINAZZI, S. 19
Interactions entre les endomycorhizes à vésicules et arbuscules et le Rhizobium chez le Soja.
Compte-rendu du 103e congrès des sociétés savantes, Nancy, Science, fasc. I., 247-256.

ASIMI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V. et GIANINAZZI, S. 1980.
Influence of increasing soil phosphorus levels on interaction between vesicular-arbuscular mycorrhiaae and Rhizobium in soybeans.
Journal Canadien de Botanique 58, 2200-2205.

BAREA, J.M.; et BROWN, M.E. 1974.
Effects on plant growth produced by Azotobacter paspali related to synthesis of plant growth regulating substances.
Jounal of Applied Bacteriology 37, 583-593.

BAREA, J.M.; ESCUDERO, J.L.; et AZCON-G. DE AGUILAR, C. 1980.
Effects of introduced and indigenous VA mycorrhizal fungi on nodulation, growth and nutrition of Medicago sativa in phosphate fixing soils as affected by P fertilisers.
Plant and Soil 54, 283-296.

BASAK, M.K. et GOYAL, S.X. 1980.
Studies on tree legumes. II. Further additions to the list of nodulating tree legumes.
Plant and Soil 56, 33-38.

BERGERSEN, P.J. 1978.
Physiology of the Legume Symbiosis.
In: Interactions between non pathogenic soi.1 microorganisms and plants, (Y.R. Dommergues et S. Krupa, eds.), Elsevier scientific publishing company, Amsterdam, 305-333.

BEVEGE, D.I. et BOWEN, G.D. 1975.
Endogone strain and host plant differences in development of vesicular-arbuscular mycorrhizas.
In: Endomycorrhizas, (F.E. Sanders, B. Mosse, et P.B. Tinker, eds.), Academic Press, New York, 77-86.

BIRD, G.W.; RICH, J.R. et GLOVER, S.U. 1974.
Increased endomycorrhizae of cotton roots in soil treated with nematicides.
Phytopathology 64, 48-51.

BOATMAN, N.; PAGET, D.; HAYMAN, D.S. et MOSSE, B. 1978.
Effects of systemic fungicides on vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and plant phosphate uptake.
Transactions of the British mycological Society 70, 443-450.

BOLHOOL, B.B. et SCHMIDT, E.L. 1974.
Lectins, a possible basis for specificity in the Rhizobium- Legume root nodule symbiosis.
Science 185, 269-271.

BOWEN, G.D. 1956.
Nodulation of legumes indigenous to Queensland.
Queensland Journal of Agricultural Science 13, 47-60.

BOYER, J.S. et GROUZIS, M. 1977.
Etude éco-physiologique de la productivité de quelques graminées fourragères cultivées au Sénégal. I. Influence de certains facteurs de milieu sur le comportement hydrique et la croissance.
Cahiers ORSTOM, Série Biologie XII, 249-267.

BRYAN, W.C. et RUEHLE, J.L. 1976.
Growth stimulation of sweetgum seedlings induced by the endoqycorrhixal fungus Glomus mosseae.
Tree Planters note 27, 9, 24.

BRYAN, W.C. et KORMANIK, P.P. 1977.
Mycorrhizae benefit survival and growth of sweetgum seedlings in the nursery.
Southern Journal of Applied Forestry 1, 21-23.

CARROL, W.R. 1933.
A study of the Rhizobium species in relation to nodule formation on the roots of Florida legumes: 1.
Soil Science 37, 117-135.

CHEVALIER, A. 1934.
Nouvelles observation sur quelques Acacias de l'Afrique occidentale.
Revue de Botanique Appliquée, 1934, p.6.

CHOWDHURY, M.S. 1976.
Effects of soil antagonists on symbiosis.
In: Exploiting the Legume-Rhizobium symbiosis in tropical agriculture.
College of tropical agriculture miscellaneous publication 145, University of Hawaï, 385411.

CLARK, F.B. 1969.
Endotrophic mycorrhizal infection of tree seedlings with Endogone spores.
Forest Science 15, 134-137.

CORBY, H.D.L. 1971.
The shape of leguminous nodules and the color of leguminous roots.
Plant and Soil, Special volume, 305-314.

CRUSH, J.R. 1974.
Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. VII. Growth and nodulation of some herbage legumes.
The New Phytologist 73, 743-749.

DAFT, M.J. et EL-GIAHMI, A.A. 1975.
Effects of Glomus infection on three legumes.
In: Endomycorrhizas, (F.E. Sanders, B. Mosse, et P.B. Tinker, eds.)
Academic Press, New York, 581-592.

DANIELS, B.A. et MENGE, J.A. 1980.
Hyperparasitization of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi.
Phytopathology 70, 584-588.

DART, P.J. 1977.
Infection and development of leguminous nodules.
In: A treatise on dinitrogen fixation, Section III, (R.W.F. Hardy et W.S. Silver, eds.), John Wiley and sons, New York, 367-472.

DATE, R.A. et HALLIDAY, J. 1979.
Selecting Rhieobium for acid, infertile soils of the tropics.
Nature 277, 62-64.

DEMOLON, A. et DUNEZ, A. 1933.

Comptes- rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des Sciences de Paris 197, 1344-1346.

DENARIE, J. et TRUCHET, G. 1979.
La symbiose Rhizobium-Légumineuses: rôles respectifs des partenaires.
Physiologie végétale 17, 643-667.

DIEM, H.G.; JUNG, G.; MUGNIER, J.; GANRY, F. et DOMMERGUES, Y.R. 1981.
Alginate-entrapped Glomus mosseae for crop inoculation.
Proceedings of the 5th NACOM, Université Laval, Québec, 16-21 août 1981.

DOMMERGUES, Y. et MANGENOT, F. 1970.
Ecologie microbienne du sol.
Masson et Compagnie, Paris, p.656.

DREYFUS, B.L. et DOMMERGUES, Y.R. 1981.
Nodulation of Acacia species by fast- and slow-growing strains of Rhizobium.
Applied and Environmental Microbiology 41, 97-99.

DUNCAN, D.B. 1955.
Multiple range and multiple F tests.
Biometrics II, 1-42.

EL-GIAHMI, A.A.; NICOLSON, T.H. et DAFT, M.J. 1976.
Effects of fungal toxicants on mycorrhizal maize.
Transactions of the British mycological Society 67, 172-173.

FRED, E.B. et WAKSMAN, S.A. 1928.
Yeast Extract Mannitol Agar.
Laboratory Manual of General Microbiology, ed. 1, Mc. Graw-Hill C°, p. 33.

GERDEMANN, J.W. 1968.
Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth.
Annual review of Phytopathology 6, 397-418.

GERDEMANN, J.W. 1975.
Vesicular-arbuscular mycorrhizae.
In: The development and fonction of roots, (J.G. Torrey et D.T. Clarkson, eds.), Academic Press, London, 575-591.

GERDEMANN, J.W. et NICOLSON, T.H. 1963.
Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soi.1 by wet-sieving and decanting.
Transactions of the British mycological Society 46, 235-244.

GERDEMANN, J.W. et TRAPPE, J.M. 1974.
The Endogonaceae in the Paoific Northwest.
Mycologia Memoir 5, 76 pp.

GERDEMANN, J.W. et TRAPPE, J.M. 1975.
Taxonomy of the Endogonaceae.
In: Endomycorrhizas, (F.E. Sanders, B. Mosse, et P.B. Tinker, eds.)
Academic Press, New York, 35-51.

GERMANI, G.; DIEM, H.G. et DOMMERGUES, Y.R. 1980.
Influence of 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP) fumigation on mycorrhizal infection of field-grown groundnut.
Revue de Nématologie 3, 75-79.

GIANINAZZI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V. et DEXHEIMER, J. 1979.
Enzymatic studies on the metabolism of vesicular -arbuscular mycorrhiza.
III, Ultrastructural localization of acid and alkaline phosphatases in onion roots infected by Glomus mosseae (Nicol. et Gerd.).
The New Phytologist 82, 127-132.

GIANINAZZI-PEARSON, V. 1976.
Les mycorhizes endotrophes: état actuel des connaissances et possibilités d'application dans la pratique culturale.
Annales de Phytopathologie 8, 249-256.

GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANAZZI, S.; DEXHEIMER, J.; BERTHEAU, Y. et ASIMI, S. 1978.
Les phosphatases alcalines solubles dans l'association endomycorhizienne à vésicules et arbuscules.
Physiologie végétale 16, 671-678.

GIANINAZZI-PEARSON, V.; FARDEAU, J.C.; ASIMI, S. et GIANINAZZI, S. 1981.
Source of additional phosphorus absorbed by vesicular-arbuscular mycorrhizal soybeans.
Physiologie végétale 19, 33-43.

GIANINAZZI-PEARSON, V. et DIEM, H.G. 1982.
Endomycorrhizae in the tropics.
In: Microbiology of Tropical Soils, (Y.R. Dommergues et H.C. Diem, eds.), Martinus Nijhoff, The Hague, (sous presse).

GIBSON, A.H.; DREYFUS, B.L. et DOMMERGUES, Y.R. 1982.
Nitrogen fixation by legumes in the tropics.
In: Microbiology of Tropical Soils, (Y.R. Dommergues et H.G. Diem, eds.), Martinus Nijhoff, The Hague, (sous presse).

GIFFARD, P.L. 1974.
L'arbre dans le paysage sénégalais. Sylviculture en zone tropicale sèche.
CTFT, Dakar, p. 157.

GOMEZ, K.A. et GOMEZ, A.A. 1976.
Statistical procedures for agricultural research with emphasis on rice.
The International Rice Research Institute, Los Baños, Laguna, Philipines, 197-199.

GRAY, L.E. et GERDEMANN, J.W. 1969.
Uptake of phosphorus-32 by vesicular-arbuscular mycorrhizae.
Plant and Soil 30, 415-422.

GUEYE, I. 1979.
Etudes sur la biologie du système racinaire de l'Acacia senegal L. Willd.
Thèse de maitre ès-sciences, Université Laval, Faculté de foresterie et de géodésie, Québec, 109 pp.

HABTE, M. et ALEXANDER, M. 1978.
Mechanisms of persistance of low numbers of bacteria preyed upon protoaoa.
Soil Biology and Biochemistry 10, 1-6.

HAMEL, O. 1980.
Acclimatation et utilisation des Acacias à phyllodes d'origine australienne au Sénégal.
Colloque international sur les fourrages ligneux en Afrique, Addis-Abeba, avril 1980.

HAYMAN, D.S. 1978.
Endomycorrhizae.
In: Interactions between non pathogenic soil microorganisms and plants, (Y.R. Dommergues et S.V. Krupa, eds.), Elsevier scientific publishing oompany, Amsterdam, 401-442.

HAYMAN, D.S. et MOSSE, B. 1971.
Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. Growth of Endogone-inoculated plants in phosphate-deficient soils.
The New Phytologist 70, 19-27.

HEAP, A.J. et NEWMAN, E.I. 1980.
Links between roots by hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizas.
The New Phytologist 85, 169-171.

HERRIDGE, D.F. et ROUGHLEY, R.J. 1975.
Variation in colony characteristics and symbiotic effectivness of Rhizobium.
Journal of Applied Bacteriology 38, 19-27.

HEWITT, E.J. 1966.
Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition.
Technical communication n° 22 (2nd ed.), Commonyealth Agricultural Bureau, London, 431-432.

INCOLL, L.D. et WHITELAM, G.C. 1977.
The effect of kinetin on stomata of the grass Anthephera pubescens Nees. Planta 1'37, 243-245.

JACKSON, M.L. 1958.
Soil Chemical Analysis.
Prentice Hall, Inc. , Englewood Cliffs, N.J.; 153-154.

JARA, P. 1981.
Le continuum Rhizobium japonicum-Rhizobium cowpea.
Thèse de 3e cycle, Université d'Aix-Marseille I.

JARA, P.; DREYFUS, B. et DOMMERGUES, Y.R. 1981.
Is it necessary to inoculate soybean in West African soils?
Proceedings of the 8th North American Rhizobium Conference, University of Manitoba, Winipeg, Canada, 2-7 août 1981.

JOHNSON, C.R. et MICHELIN1 , S. 1974.
Effect of mycorrhizae on container grown Acacia.
Florida Agricultural Experimental Stations Journal, Series n° 5649, 520-522.

KABRE, A. 1978.
Etude expérimentale de la fructification des champignons supérieurs en forêt et de l'influence de la mycorhization sur le comportement des arbres forestiers.
Mémoire 3e année ENITEF.

KABRE, A. 1979.
Influence de la mycorhization sur le comportement de l'érable sycomore (Acer pseudoplatanus Link).
Diplôme d'Etudes Approfondies de Biologie Végétale, Université de Nancy I., 18pp

KARSCHON, R. 1961.
Contribution to the arboreal flora of Israel: Acacia raddiana Savi and A. tortilis Hayne.
La-Yaaran 11, VI-XVI.

KHAN, A.G. 1974.
The occurence of mycorrhizas in halophytes, hydrophytes and xerophytes , and of Endogone spores in adjacent soils.
Journal of General Microbiology 81, 7-14.

LANGE, R.T. 1961.
Nodule bacteria associated with the indigenous Leguminosae of South Western Australia.
Journal of General Microbiology 61, 351-359.

LIE, T.A. 1971.
Symbiotic nitrogen fixation under stress conditions.
Plant and Soil, Special volume, 117-127.

LIE,T.A. 1974.
Environmental effscts on nodulation and symbiotic nitrogen fixation.
In: The Biology of Nitrogen Fixation, (A. Quispel, ed.) North Holland publishing company, Amsterdam. 555-582.

MEIDNER, H. et SHERIFF, D.W. 1976.
Water and Plants.
Blackie, Glasgow, 148pp.

MENGE, J.A.; DAVIS, R.M.; JOHNSON, E.L.V. et ZENTMYER, C.A. 1978.
Mycorrhizal fungi increase growth and reduce transplant injury in avocados.
California Agriculture 32, 6-7.

MENGE, J.A.; LA RUE, J.; LABANAUSKAS, C.K. et JOHNSON, E.L.V. 1980.
The effect of two mycorrhizal fungi upon growth and nutrition of avocado seedlings grown with six fertiliser treatements.
Journal of the American Society for Horticultural Science 105, 400-404.

MOAWAD, M. 1980.
Ecophysiology of vesicular-arbuscular mycorrhiza.
In: Tropical Mycorrhiza Research, (P. Mikola, ed.), Clarendon Press, Oxford, 203-205.

MOSSE, B. 1973a.
Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza.
Annual Review of Phytopathology 111, 171-196.

MOSSE, B. 1973b.
The role of mycorrhiza in phosphorus solubilization.
Global Impacts of Applied Microbiology, Fourth International Conference, São Paulo, Brésil,

MOSSE, B. et HAYMAN, D.S. 1980.
Mycorrhiza in agricultural plants.
In: Tropical Mycorrhiza Research, (P. Mikola, ed.) , Clarendon Press, Oxford, 213-230.

MUGNIER, J. 1980.
Procédé d'inclusion de Rhizobium dans les polymères. Application à l'inoculation du soja.
Thèse de 3e cycle, Université de Lyon I.

MUNNS, D.N. 1977.
Minera1 nutrition and the legume symbiosis.
In: A Treatise on Dinitrogen Fixation, Section IV, (R.W.F. Hardy et A.H. Gibson, eds.), John Wiley and sons, New York, 354391.

MUNIE, D.N. et MOSSE, B. 1980.
Mineral nutrition of legume crops.
In: Advances in legume science, (R.J. Summerfield et A.H. Bunting, eds.) Vol. 1 of the Proceedings of the International Legume Conference, Kew, Angleterre, 31 juillet-4 août 1978, 115-125.

NAKOS, G. 197'7.
Acetylene reduction by nodules of Aoaoia cyanophylla.
Soil Biology and Biochemistry 9, 131-133.

NICOLSON, T.H. 1960.
Mycorrhiza in the Graminaceae. II. Development in different habitats, particularly sand dunes.
Transactions of the British mycological Sooiety 43, 132-145.

NICOLSON, T.H. et JOHNSTON, C. 1979.
Mycorrhiza in the Graminaceae, III. Glomus fasciculatus as the endophyte of pioneer grasses in a maritime sand dune.
Transactions of the British mycological Society 72, 261-268.

OLLIVIER, B. 1981.
Endomycorhizes et Rhizobium en association avec Vigna unguiculata.
Thèse de 3e cycle, Université d'Aix Marseille I.

PATE, J.S. 1977.
Functional biology of dinitrogen fixation by legumes.
In: A Treatise on Dinitrogen Fixation, Section III, (R.W.F. Hardy et W.S. Silver, eds.), John Wiley and sons, New York, 473-517.

PEARSON, V. et TINKER, P.B. 1975.
Mesurement of phosphoruo fluxes in the external hyphae of endomycorrhizas.
In: Endomycorrhizas, (F.E. Sanders, B. Mosse et P.B. Tinker, eds.), Academic Press, New York, 277-287.

PHILLIPS, J.M. et HAYMAN, D.A. 1970.
Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular fungi for rapid assessment of infection.
Transactions of the British mycological Society 55, 158-161.

PHILLIPS, D.A. 1980.
Efficiency of symbiotic nitrogen fixation in legumes.
Annual Review of Plant Physiology 31, 29-49.

PIOU, D. 1977.
Importance de la mycorhization sur le comportement et la nutrition des arbres forestiers.
Mémoire 3e année ENITEF.

POCHON, J. et DE BARJAC, H. 1958.
Traité de microbiologie des sols. Applications agronomiques.
Dunod, Paris, p. 427.

POPE, P.E. 1980.
Influence of Glomus fasciculatus on some physical and chemioal characteristics of Platanus occidentalis seedlings.
Journal Canadien de Botanique 58, 1601-1606.

REDHEAD, J.F. 1975.
Endotrophic mycorrhisas in Nigeria: some aspects of the ecolgy of the endotrophic mycorrhizal association of Khaya grandifolia C. D.C.
In: Endomycorrhizas, (F.E. Sanders, B. Mosse et P.B. Tinker, eds.), Academic Press, New York, 447-459.

REDHEAD, J.F. 1977.
Endotrophic mycorrhiaas in Nigeria: species of Endogonaceae and their distribution.
Transactions of the British mycological Sooiety 69, 275-280.

REDHEAD, J.F. 1980.
Mycorrhiza in natural tropical forests.
In: Tropical Mycorrhiza Research, (P. Mikola, ed.), Clarendon Press, Oxford, 127-142.

REDHEAD, J.F. 1982.
Ectomycorrhizae in the tropics.
In: Microbiology of Tropical Soils, (Y.R. Dommergues et H.G. DIEM, eds.), Martinus Nijhoff, The Hague, (sous presse).

RINAUDO, G. 1970.
Fixation biologique de l'azote dans trois types de sols de rizière de Côte d'Ivoire.
Thèse de Docteur Ingénieur, Faculté des sciences de Montpellier, 25-27.

ROSS, J.P. 1971.
Effects of phosphate fertilization on yield of mycorrhizal and non-mycorrhizal soybeans.
Phytopathology 61, 1400-1403.

ROSS, J.P. 1972.
Influence of Endogone mycorrhiza on Phytophtora rot of soybean.
Phytopathology 62, 896-897.

ROSS, J.P. et HARPER, J.A. 1970.
Effect of Endogone mycorrhiza on soybean yields.
Phytopathology 60, 1552-1556.

ROSS, J.P. et RUTTENCUTTER, R. 1977.
Population dynamics of two vesicular-arbuscular endomycorrhizal fungi and the role of hyperparasitic fungi.
Phytopathology 67, 490-496.

ROY, A.D.; KAUL, R.N. et GYANCHAND, 1973.
Israeli Babool: a promising tree for the semi-arid lands.
Indian Farming 23, 19-20.

SAFIR, G.R.; BOYER, J.S. et GERDEMANN, J.W. 1972.
Nutrient status and mycorrhizal enhancement of water transport in soybean.
Plant Physiology 49, 700-703.

SANNI, S.O. 1976.
Vesicular-arbuscular mycorrhiza in some Nigerian soils and their effect on the growth of cowpea, tomato and maize.
The New Phytologist 77, 667-671.

SCHENCK, N.C. 1981.
Can myoorrhizae control root disease?
Plant Disease 65, 230-234.

SCHMIDT, E.L. 1978.
Ecology of the legume root nodule bacteria.
In: Interaction between non-pathogenic soil microorganisms and plants, (Y.R. Dommergues et S.V. Krupa, eds.), Eleevier scientific publishing company, Amsterdam, 269-303.

SIEVERDINC, E. 1979.
Einfluss der Bodenfeuchte auf die Effectivität der Vesiculär-arbusculären Mycorrhiza.
Angewandte Botanik 53, 91-98.

SLANKIS, V. 1973.
Hormonal relationships in mycorrhizal development.
In: Ectomycorrhizae, (G.C. Marks et T.T. Kozlowski, eds.), Academic Press, New York, 232-298.

SMITH, S.E. et DAFT, M.J. 1977.
Interaction between growth, phosphate content and nitrogen fixation in mycorrhizal and non-mycorrhizal Medicago sativa.
Australian Journal of Plant Physiology 4, 403-413.

SMITH, S.E. et BOWEN, G.D. 1979.
Soil temperature, mycorrhizal infection and nodulation of Medicago trunculata and Trifolium subterranewn.
Soil Biology and Biochemistry 11, 469-473.

SMITH, S.E.; NICHOLAS, D.J.D. et SMITH, F.A. 1979.
Efféct of early mycorrhizal infection on nodulation and nitrogen fixation in Trifolium subterraneum L.
Australian Journal of Plant Physiology 6, 305-316.

SMITH, T.F.; NOACK, A.J. et COSH, S.M. 1981.
The effect of some herbicides on vesicular-arbuscular endophyte abundance in the soil and on infection of host roots.
Pesticide Science 12, 91-97.

SNEDECOR, G.W. et COCHRAN, W.C. 1957.
Méthodes statistiques.
Association de Coordination Technique Agricole, Paris, 6e édition, 366-367.

SPEARMAN, C. 1904.
The proof and measurment of association between two things.
Annual Journal of Psychology 15, 72-101.

SPRENT, J.I. et GALLACHER, A. 1976.
Anaerobiosis in soybean root nodules under water stress.
Soil Biology and Biochemistry 8, 317-320.

SUTTON, J.C. et SCHEPPARD, B.R. 1976.
Aggregation of Sand-dune soil by endomycorrhizal fungi.
Journal Canadien de Botanique 54, 326-333.

VINCENT, J.M. 1970.
A manual for the practical study of the root nodule bacteria.
I.B.P. Handbook n°15, Blackwell scientific publications, Oxford, 164 pp.

GLOSSAIRE

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

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

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

1 - Cas d'une souche de Rhizobium:
Aptitude d'une souche de Rhizobium à fixer N_2 dans la nodule.

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

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

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

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

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

NODULATION : Résultat de la succession d'évènements, aboutissant à la formation d'un nodule,,

SPECIFICITE :

1 - Cas du Rhizobium,

Ce caractère peut se rapporter à la souche ou à la plante-hôte :

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

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

2 - Cas des MVA

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

SPECTRE D'HOTE : Ensemble des plantes-hôtes nodulées par une même souche de Rhizobium.

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

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

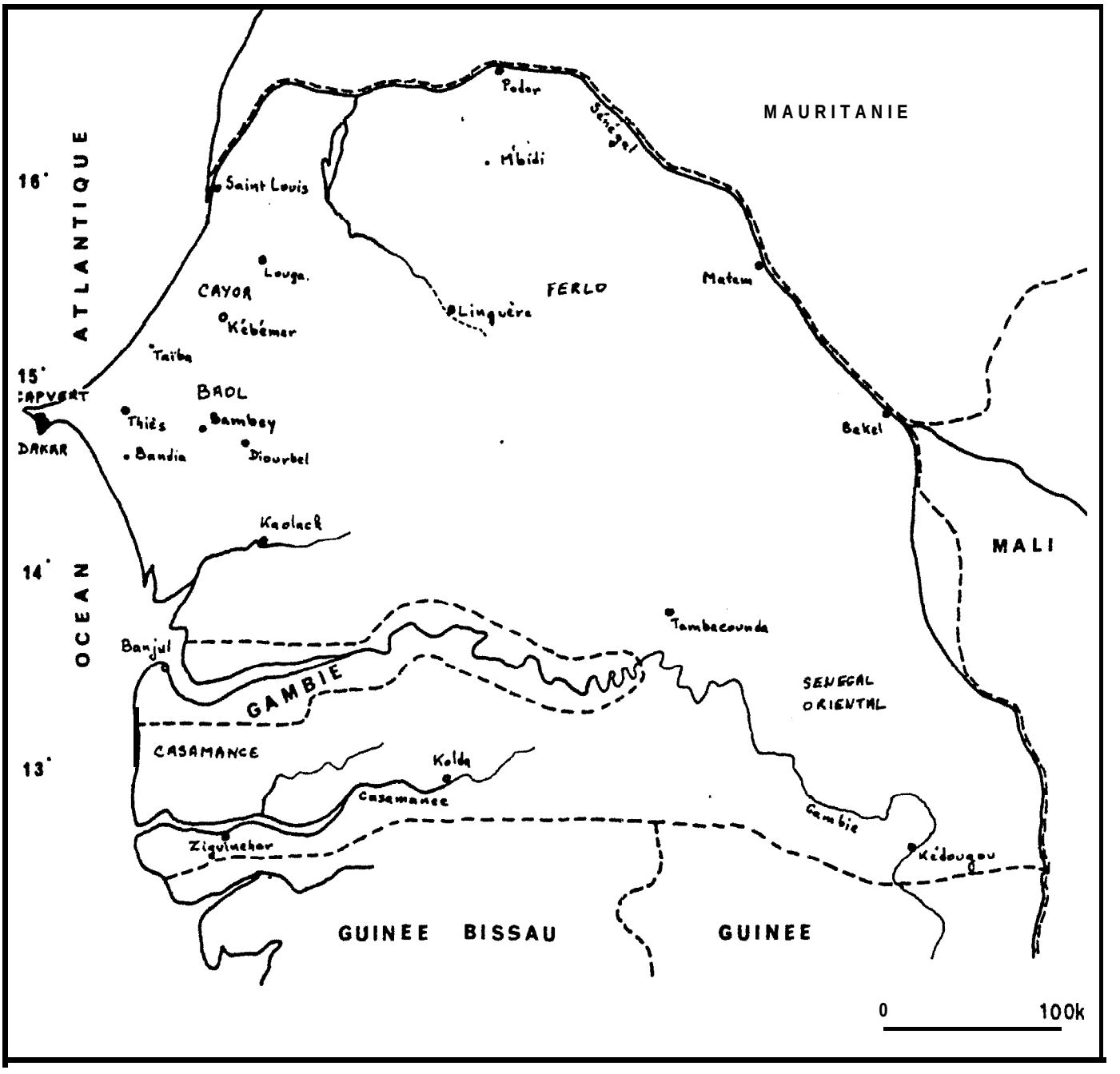
ABREVIATIONS

ARA : Activité Réductrice d'Acétylène. Elle peut être rapportée à la plante : ARAP, ou au poids sec de nodules: ARAS (Spécifique).

MVA : Mycorhizes à Vésicules et Arbuscules

VA : à Vésicules et Arbuscules.

ANNEXE I.



Carte de la République du SENEGAL.

ANNEXE II

Renseignements concernantnla climatologie du Sénégal.

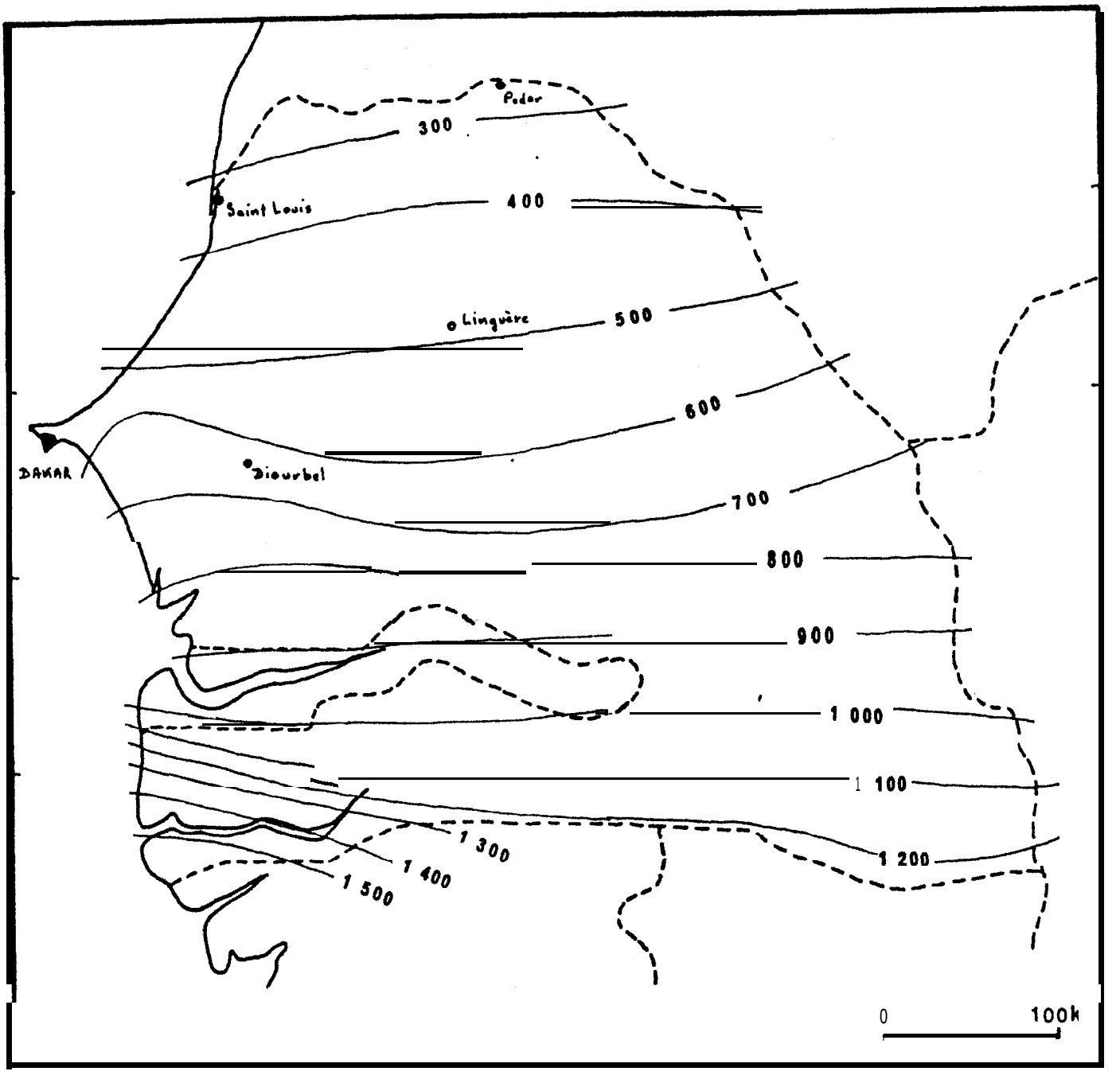


Figure 1: Carte des **isohyètes (période** 1935-1975).
Les **précipitations** sont exprimées en mm.

Tableau1 . Evapotranspiration potentielle et précipitations pour cinq stations du Sénégal réparties selon un gradient N-S.

Station	E.T.P. mm	Pluviométrie mm
Podor	2491	335
Saint-Louis	1296	347
Linguère	2333	535
Dakar	1144	569
Diourbel	2022	700

Tableau2 . Ecart entre la moyenne des précipitations des périodes 1931-1960 et 1968-1977 pour cinq stations du Sénégal réparties selon un gradient N-S.

Station	Latitude N	P (1931-1960) mm	P (1968-1977) mm	Ecart %
Podor	16°38'	335	217	- 35
Saint-Louis	16°03'	347	236	- 32
Linguère	15°23'	535	363	- 32
Dakar	14°44'	569	345	- 39
Diourbel	14°39'	700	528	- 26

ANNEXE III

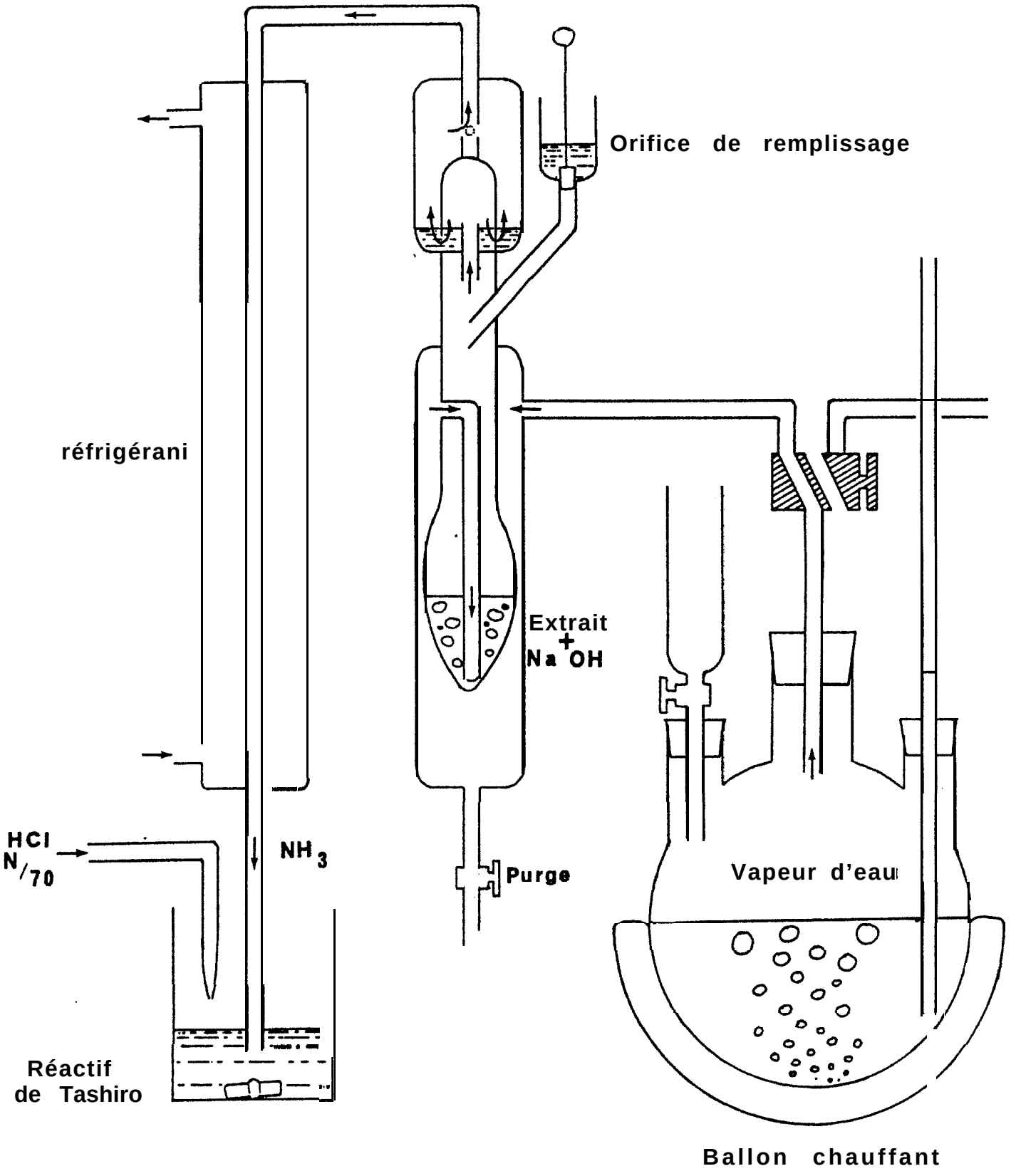


Schéma de l'appareil de PARNAS-WAGNER,

ANNEXE IV

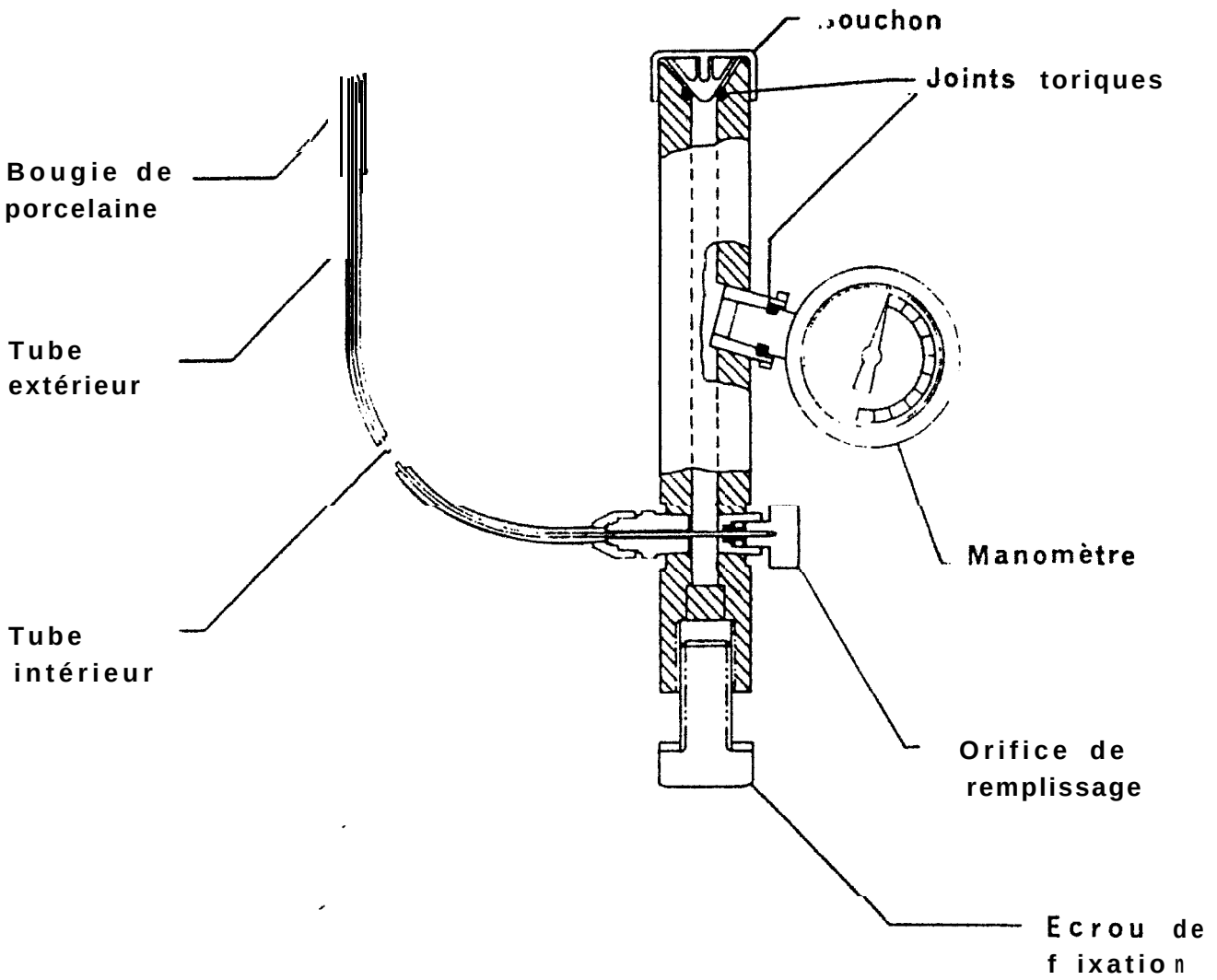


Schéma du tensiomètre.

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.)

Résume :
Les Légumineuses sont associees à deux types d'organismes symbiotiques :
- des Bactéries du genre Rhizobium induisant la formation de nodules racinaires au niveau desquels elles fixent N 2 atmosphérique;
- des champignons pouvant former avec des racines des organes appelés mycorhizes. Chez les plupart des légumineuses, ces champignons se développent à l'intérieur des cellules du cortex racinaire et y forment des structures caractéristiques: les vésicules et les arbuscules. Pour ces deux raisons, ces organes sont appelés endomycorhizes à vésicules et à arbuscules, désignées ici par les lettres MVA. Leur fonction principale est d'améliorer la nutrition des plantes, notamment en ce qui concerne P.

Au cours de ce travail, j'ai, dans un premier temps, étudié séparément les symbioses de deux Acacia utilises en reboisement au Sénégal (A. raddiana et A. holosericea) avec chacun de ces microorganismes en sol stérilisé dans le but :
- de sélectionner des souches de Rhizobium fixant activement N_2 lorsqu'elles sont en association avec Ces 2 Acacia,
- d'évaluer la stimulation de la croissance d'A. raddiana après inoculation avec un champignon endomycorhizien, Glomus mosseae.

Mes tests de sélection de souches de Rhizobium m'ont permrs d'obtenir 3 souches efficaces pour A. holosericea et 8 pour A. raddiana. Les résultats obtenus ont permis également de préciser la spécificité de la symbiose Acacia, Rhizobium. En outre, les mesures d'activité réductrice d'acétylène (ARA) ont montré qu'A. holosericea présente une activité spécifique (ARAS) équivalente à celle des légumineuses fourragéres fixant activement N_2, L'ARAS d'A. raddiana est en revanche nettement plus faible.

L'inoculation d'A. raddiana avec G. mosseae sur un sol déficient

en P mais pas en N a largement stimulé la croissance de cette plante. Cette stimulation semble due à une amélioration de la nutrition phosphatée de la plante car un apport de P soluble a à peu près le même effet sur la croissance.

J'ai ensuite étudié les effets de la double inoculation avec Rhizobium et G. mosseae sur deux types de. sols stérilisés. Sur le sol utilise dans l'expérience précédente, l'inoculation avec Rhizobium seul ne suffit pas pour obtenir la nodulation d'A raddiana.
En revanche, la double inoculation avec Rhizobium et MVA permet à la nodulation de s'exprimer. Ceci est un deuxième effet des endomycorhizes, résultant lui aussi de l'amélioration de la nutrition phosphatée. En effet, la nodulation et la fixation symbiotique de N_2 sont très exigeantes en P, ce qui explique pourquoi, sur ce sol déficient en P, seules les plantes mycorhizées portent des nodules. J'ai toutefois constaté que les plantes étaient peu nodulées et que les nodules citaient de taille très réduite. Il semble que la relative richesse en N de ce sol ait partiellement inhibé la nodulation. Au cours de cette expérience, j 'ai également comparé les effets d'un apport de N et d'un apport de P.

Il apparaît que sur ce sol, seul l'apport de P parvient à stimuler la croissance d'A. raddiana. J'ai donc conclu que P est le facteur limitant la croissance d'A. raddiana sur ce sol. L'intervention prioritaire est donc de corriger cette déficience soit par un apport de P soluble, soit par l'inoculation avec un champignon endomycorhizien; l'apport de N ou l'inoculation avec Rhizobium est, dans ce cas, inutile.

Le deuxième sol que j'ai utilisé était déficient en N et en P, ce qui fait que seule la double inoculation avec Rhizobium et un champignon endomycorhizien a permis d'obtenir une croissance satisfaisante pour A. raddiana et A. holosericea.

Outre ce résultat dû à l'amélioration de la nutrition phosphatée, j'ai constaté au cours de cette expérience deux autres effets

dûs aux MVA qu'il sera nécessaire de vérifier ultérieurement :
- la stimulation de croissance observée chez les plantes mycorhizées a porté essentiellement sur le système racinaire. Ce résultat ne semble pas dû à l'amélioration de la nutrition phosphatée car un apport- de P a eu l'effet inverse. Il est possible que cet effet résulte d'une production accrue de phytohormones chez les plantes mycorhizées,
- lorsque l'hygrométrie de l'air descendait en dessous d'un certain seuil (environ 50% d'humidité relative) les plantes mycorhizées restaient turgescentes plus longtemps que les témoins alors que la tension d'eau dans le sol était non limitante et identique dans les deux cas. Ce phénomène semble lié à l'extension du système racinaire, mais il peut résulter aussi de l'amélioration de la nutrition phosphatée qui cause une diminution de la résistance au transport de l'eau chez les plantes mycorhizées, ou encore d'une production de phytohormones régissant l'ouverture ou la fermeture des stomates.

Ces deux effets présentent un intérêt évident pour le reboisement par plantation dans les zones semi-arides tropicales. J'ai également remarqué qu'A. holosericea avait mieux répondu à l'inoculation avec Glomus mosseae qu'A. raddiana. Cette sensibilité de la plante à l'endomycorhization semble liée à ses exigences en P; elle constitue un des éléments à considérer lors du choix d'une essence de reboisement.

TOUS les effets des endomycorhizes décrits ci-dessus ont Bté *observés* sur sol stérilisé. Sur sol non stérilisé, je n'ai pas pu obtenir de stimulation de croissance après inoculation avec G. mosseae, sans doute parce que cette souche était peu compétitive par rapport aux champignons indigènes. Le dénombrement des spores de ces champignons indigènes n'indique pourtant qu'une population peu importante,

Ces travaux m'ont permis de définir dans quels cas l'inoculation avec ces symbiotes est souhaitable :
- déficience du sol en l'élément, N ou P, que le symbiote peut apporter à la plante,
- absence de symbiotes infectieux indigènes.

Ces conditions semblent très restrictives, mais en fait ces cas se présentent assez fréquemment compte tenu de la faible fertilité des sols tropicaux. De plus, en pratique forestière, on sera sans doute amené de plus en plus à stériliser les sols de pépinière afin de limiter l'action des pathogènes. Cette opération pourra permettre alors de remplacer la microflore symbiotique indigène par des Rhizobium ou des champignons endomycorhiziens plus efficaces en inoculant le sol après la stérilisation.