F0000054

4180 7
KAB
1982

no 1288
114.692
181.351

UNIVERSITE DE NANCY I
UER-PCB

INSTITUT SENEGALAIS DE RECHERCHES AGRICOLES
Centre National de Recherches Forestières
(DAKAR-SENEGAL)

OFFICE DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE OUTRE-MER
Laboratoire de Biologie des sols
(DAKAR-SENEGAL)

THESE

présentée à

L'UNIVERSITE DE NANCY I

pour obtenir

le grade de DOCTEUR-INGENIEUR en BIOLOGIE VEGETALE

par

Alphonse KABRE

M YCORHIZATION DE PINUS CARIBAEA (MORELET) VAR. HONDURENSIS DANS DIFFERENTS SOLS DU SENEGAL

Soutenu publiquement le 15 DECEMBRE 1982

devant la Commission d'Examen

Membres du Jury

MM. F.MANGENOT
Y. DOMMARGUES
L. LANIER
F. LE TACON

Président

Examineurs

Remerciements

Il m'est agréable d'exprimer ici, ma sincère reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à l'élaboration de ce travail.

Ma reconnaissance va tout d'abord, à :

Monsieur le Professeur J. MANGENOT, de l'Université de Nancy I, pour avoir accepté de présider ce jury et pour l'attention bienveillante qu'il a portée à la réalisation de cette thèse.

Monsieur Y. DOMMARGUES, Directeur de Recherches au CNRS, qui m'a accepté dans son laboratoire, à l'ORSTOM de Dakar, et dont le sens critique, les conseils et les encouragements m'ont été précieux pour la réalisation de ce mémoire.

Monsieur le Professeur J. DEXHEIMER, de l'Université de Nancy I et Monsieur L. LANIER, Professeur à l'ENGREF de Nancy, qui m'ont fait l'extrême obligeance de participer à ce jury.

Monsieur F. LE TACON, Maître de Recherches à l'INRA-CNRF de Nancy, qui m'a prodigué des conseils, de précieux encouragements et qui a souvent accepté de consacrer une partie de son temps à rechercher des solutions aux problèmes qui se sont posés à moi tout au long de la préparation de ce travail.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur H.G. DIEM, Maître de Recherches au CNRS (ORSTOM-Dakar) qui a suivi ce travail pas à pas et qui m'a beaucoup aidé par ses connaissances scientifiques, l'intérêt qu'il a bien voulu porter à mes résultats et les interprétations qu'il en a faites.

Je voudrais aussi remercier vivement Monsieur O. HAMEL, Directeur du CNRF/ISRA de Dakar qui a largement participé à la réussite de ce travail ; Monsieur M. BOUREAU, qui m'a fourni une aide efficace et désintéressée en ce qui concerne les documents photographiques et certaines techniques de laboratoire ; Monsieur F. CORNET qui, amicalement, a facilité mon séjour au Sénégal.

Je ne saurais oublier de remercier toute l'équipe du laboratoire de Biologie des Sols de l'ORSTOM ainsi que l'équipe du CNRF/ISRA de Dakar, pour leur amicale collaboration. Je tiens à remercier au même titre, Monsieur J. DIOP, pour la dactylographie et la présentation de ce mémoire.

Enfin, je remercie la Fondation Internationale pour la Science (STOCKHOLM, Suède) pour sa contribution financière à cette étude.

24 - <u>Méthode d'inoculation dans le sol - Conduite des expériences</u>	13
25 - <u>Paramètres retenus pour l'appréciation des effets des traitements étudiés</u>	13
251 - Croissance en hauteur et production végétale	13
252 - Pourcentage d'infection	14
253 - Analyses chimiques des parties aériennes des plantes	15
- Dosage de l'azote	15
- Dosage du phosphore	17
- Dosage des autres éléments	18

RESULTATS

Chapitre I : OPTIMISATION DE LA CULTURE DE PINUS CARIBAEA

1 - INTRODUCTION	19
2 - MATERIEL ET METHODES POUR L'OBTENTION DE PLANTULES STERILES	19
3 - RESULTATS	21
4 - DISCUSSION	24

Chapitre II : 1 - ENTRETIEN ET MULTIPLICATION DE LA SOUCHE DE PISOLITHUS TINCTORIUS

1 - CULTURE DE PISOLITHUS TINCTORIUS EN FIOLES	26
11 - <u>Objectifs de l'étude</u>	26
12 - <u>Etude de la croissance de Pisolithus tinctorius sur des milieux nutritifs gélosés ou non</u>	26
121 - Matériel et méthodes	26
122 - Résultats	28
123 - Discussion	31
13 - <u>Etude des effets de l'adjonction, ou non, de gélose dans le milieu de culture sur la production de boulettes mycéliennes de Pisolithus tinctorius</u>	31
131 - Matériel et méthodes	31
132 - Résultats -- Discussion	33
2 - CULTURE DE PISOLITHUS TINCTORIUS EN FERMENTEUR : INFLUENCE DE L'AERATION SUR LA PRODUCTION DE BOULETTES MYCELIENNES DU CHAMPIGNON	33
21 - <u>But de l'étude</u>	33

22 - <u>Matériel et méthodes</u>	33
221 - Description sommaire du fermenteur	33
222 - Méthode de multiplication de <i>Pisolithus tinctorius</i> en fermenteur	34
23 - <u>Résultats</u> - <u>Discussion</u>	37

II - COMPARAISON DE DIFFÉRENTES FORMES D'INOCULUM DE PISOLITHUS TINCTORIUS

1 - OBJET DE L'ETUDE	38
2 - MATERIEL ET METHODES	38
21 - <u>Sol utilisé</u>	38
22 - <u>Matériel végétal</u>	38
23 - <u>Traitements étudiés</u>	38
24 - <u>Préparation des inoculums</u>	39
241 - Inoculum produit selon la méthode de MARX et ZAK (1965)	39
242 - Inoculums sous forme de boulettes mycéliennes	39
25 - <u>Inoculation et repiquage des plantes</u>	40
3 - RESULTATS	40
4 - DISCUSSION	40

Chapitre III : ETUDE DU COMPORTEMENT DE PINUS CARIBAEA EN RELATION AVEC LA MYCORHIZATION ET LE TYPE DE SOL

1 - INTRODUCTION	44
2 - EXPERIENCE 1 : ETUDE DE L'EFFET DE LA TENEUR DU SOL EN P ASSIMILABLE	44
21 - <u>But de l'expérience</u>	44
22 - <u>Matériel et méthodes</u>	44
23 - <u>Résultats</u>	46
24 - <u>Discussion</u>	49
3 - EXPERIENCE 2 : COMPARAISON DE DIX SOLS DE CASAMANCE	51
31 - <u>Objet de l'expérience</u>	51
32 - <u>Matériel et méthodes</u>	53
33 - <u>Résultats</u>	53
34 - <u>Discussion</u>	61

Chapitre IV : INFLUENCE DE TROIS FACTEURS CHIMIQUES SUR
L'ETABLISSEMENT DE LA SYMBIOSE ECTOMYCORHIZIENNE
AVEC PISOLITHUS TINCTORIUS

INTRODUCTION	65
1 - INFLUENCE DU pH DU SOL SUR LE COMPORTEMENT DE JEUNES PLANTS DE <i>PINUS CARIBAEA</i> EN PRESENCE DE <i>PISOLITHUS TINCTORIUS</i>	65
11 - <u>Objectif de l'étude</u>	65
12 - <u>Matériel et méthodes</u>	66
13 - <u>Résultats</u>	67
131 - Sol de Dek	67
132 - Sol de Tendouk	67
14 - <u>Discussion</u>	70
2 - INFLUENCE DE LA FERTILISATION NPK	71
21 - <u>Introduction et but de l'expérience</u>	71
22 - <u>Matériel et méthodes</u>	72
23 - <u>Résultats</u>	73
231 - Effets sur la croissance en hauteur	73
232 - Effets sur le poids des plants	75
233 - Effets sur le développement des mycorhizes	75
234 - Effets sur la nutrition en N et P	78
24 - <u>Discussion</u>	70
3 - INFLUENCE DE DIFFERENTES FORMES ET DOSES DE PHOSPHATE	79
31 - <u>Expérience 1 : Etude du comportement de <i>Pinus caribaea</i> mycorhizé, ou non, en présence de différentes formes et doses de phosphate</u>	79
311 - But de l'expérience	79
312 - Matériel et méthodes	80
313 - Résultats	81
314 - Discussion	91
32 - <u>Expérience 2 : Effets de l'inoculation de <i>Pinus caribaea</i> avec <i>Pisolithus tinctorius</i> et des Thiobacilles sur un sol amendé en phosphate naturel de Taïba</u>	92
321 - Objet de l'étude	92
322 - Matériel et méthodes	92
323 - Résultats	93
324 - Discussion	101

Chapitre V : INHIBITION DE LA MYCORHIZATION ET DE LA CROISSANCE
DE PINUS CARIBAEA PAR UNE MICROFLORE ANTAGONISTE

1 - INTRODUCTION - BUT DE L' EXPERIENCE	102
2 - TRAITEMENTS ETUDIES ET DISPOSITIF EXPERIMENTAL	103
3 - RESULTATS	104
31 - <u>Effets sur la croissance en hauteur</u>	104
32 - <u>Effets sur le poids total des plants</u>	105
33 - <u>Effets sur la mycorhization</u>	105
34 - <u>Effets sur la nutrition en N et P des plants</u>	107
4 - DISCUSSION	110
<u>CONCLUSIONS GENERALES</u>	112
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	
<u>ANNEXES</u>	

INTRODUCTION

En zone de savane ouest-africaine (1), le maintien du potentiel forestier et des équilibres naturels, la satisfaction des besoins toujours croissants en produits forestiers (bois d'oeuvre et d'industriel nécessitent, non seulement une orientation des recherches vers la sylviculture des principales espèces indigènes, mais, aussi, une étude des possibilités d'introduction, dans ces régions, de certaines espèces exotiques à croissance rapide. Parmi ces dernières, on peut citer, entre autres, certaines espèces de *Pinus* comme *P. caribaea*, *P. oocarpa*, *P. merkusii* susceptibles de croître en milieu tropical. Cependant, comme toutes les espèces de la famille des Pinacées, ces arbres ne peuvent croître normalement que si leurs racines sont infectées par des champignons mycorhiziens tels que *Pisolithus tinctorius*.

L'association résultant de cette infection engendre la formation de complexes appelés ectomycorhizes qui se caractérisent, principalement, par la présence, autour des apex racinaires, d'un manchon fongique dont la partie interne s'insinue entre les cellules de l'exocortex pour donner naissance à un réseau mycélien intercellulaire ou réseau de HARTIG (voir photos 1 et 2).

Avec *Pinus caribaea*, des essais d'introduction en savane ouest-africaine ont été réalisés avec succès au Nigéria (cf. rapport FAO 1976 ; MOMOH et GBADEGESIN. 1980); en Côte d'Ivoire (FABRE, 19681 et au Ghana (OFOSU-ASIEDU, 1972, 19801.

111 D'après ONOCHIE (1976), cette zone concerne la Mauritanie, le Sénégal et la Gambie à l'ouest ; le Mali, certaines parties du Nord de la Guinée, de la Côte d'Ivoire, du Ghana, du Togo et du Bénin ; de la Haute-Volta, du Niger jusqu'aux quatre cinquièmes du Nigéria septentrional, du Tchad et du Nord Cameroun.

En Basse Casamance, région sud du Sénégal et la plus favorable, du point de vue climatique (voir carte en annexe, figure 1), à la production de bois d'oeuvre et d'industrie, les tentatives d'introduction de *Pinus caribaea* ont débuté en 1966.

OELWAULLE 119781 note que les résultats de ces essais n'ont pas été satisfaisants et pourraient être liés, entre autres hypothèses d'explication, à des problèmes de mycorhization. Il apparaissait donc intéressant de vérifier expérimentalement cette hypothèse. C'est ce que nous avons tenté d'effectuer ici.

Dans ce travail, nous nous sommes appliqués :

- à sélectionner, parmi les sols prélevés dans différentes stations du Sénégal, ceux pour lesquels la réponse à la mycorhization de *Pinus caribaea* par *Pisolithus tinctorius* est la plus marquée ;
- à étudier, sur certains de ces sols, les facteurs régissant l'établissement de la symbiose ectomycorhizienne et l'effet de celle-ci sur le comportement de *Pinus caribaea* ;
- à rechercher une technique de production massive et rapide d'inoculum de *Pisolithus tinctorius*.

Après avoir rappelé brièvement les études antérieures sur les associations ectomycorhiziennes en milieu tropical, nous présentons, dans ce mémoire, les méthodes et techniques que nous avons employées et nous exposons ensuite les résultats que nous avons obtenus.

Les connaissances sur la symbiose ectomycorhizienne en milieu tropical ont été revues récemment par plusieurs auteurs parmi lesquels on peut citer REDHEAD (1979, 1980, 1982) ; MIKOLA (1980 a et b) ; BOWEN (1980 j) ; IVORY (1980). Aussi, nous insisterons, plus particulièrement dans ces rappels, sur les travaux concernant la zone de savane ouest-africaine, ainsi qu'elle a été définie dans l'introduction.

1. INVENTAIRE DES ASSOCIATIONS ECTOMYCORHIZIENNES NATURELLES

Selon MEYER (1973), dans les pays tempérés, la majeure partie des espèces à vocation forestière sont ectomycorhizées. En revanche, dans les pays tropicaux, la proportion actuellement connue des espèces ligneuses ectomycorhizées est faible. En effet, REDHEAD (1980 a), au Nigéria, a observé que, sur 51 espèces végétales indigènes, 5 seulement sont ectomycorhizées. Sur 15 espèces exotiques examinées également par le même auteur, toutes se révèlent être endomycorhizées.

En Côte d'Ivoire, RAMSELLI a noté, en 1971, que très peu d'espèces forestières sont mycorhizées ; plus récemment, RIESS et RAMSELLI (1980) ont remarqué que les associations ectomycorhiziennes sont presque dix fois moins fréquentes que celles à endomycorhizes.

Ces observations sont en accord avec des résultats inventaires effectués dans d'autres régions tropicales et repris dans les travaux de REDHEAD (1979, 1980) et IVORY (1980).

Il se dégage, de toutes ces études, que les associations ectomycorhiziennes concernent, parmi les essences forestières tropicales, quelques espèces appartenant, notamment, à la famille des

Photo 1 : Mycelium (*Trichoderma reesei*) growing on the roots of *Pinus caribaea* (Mangrove forest, Sabah, Malaysia). (Bar, x 500)

Photo 2 : Mycelium (*Trichoderma reesei*) growing on the roots of *Pinus caribaea* (Mangrove forest, Sabah, Malaysia). (Bar, x 500)

ETAT ACTUEL DES CONNAISSANCES SUR
LA SYMBIOSE ECTOMYCORHIZIENNE EN MILIEU TROPICAL

Césalpinacées, des Diptérocarpacées et des Myrtacées, et que ce type d'association a une faible fréquence en milieu tropical. Sur ce dernier point, nos connaissances sont encore limitées et, pour expliquer cette observation, le facteur évoqué parmi d'autres est souvent la température du milieu ambiant. A ce sujet, DOMMERMUES et MANGENOT (1970) font remarquer qu'il y a une diminution de la mycorrhization dans le cas où il y a élévation marquée de la température du sol résultant des actions comme, par exemple, les feux de brousse ou l'exposition des humus à une insolation directe et intense.

Par ailleurs, on connaît peu de choses sur l'identité des champignons indigènes associés aux espèces ligneuses précitées, en raison du fait que ces champignons n'ont pas pu être isolés jusqu'à présent.

2 - RÔLES DES ECTOMYCORHIZES DANS LES PLANTATIONS FORESTIÈRES TROPICALES

Dans ce domaine, bien que plusieurs auteurs (cf. MIKOLA, 1980 a) aient très tôt remarqué l'importance des champignons ectomycorrhiziens dans l'introduction de nouvelles espèces forestières en zone tropicale, nos connaissances, ainsi que l'ont souligné MIKOLA (1980 b) ; IVORY (1980) ; BOWEN (1980) ; TRAPPE (1981) et d'autres, sont actuellement limitées. Néanmoins, nous pouvons retenir que des expérimentations en pépinière ou sur le terrain avec *Pinus caribaea*, conduites au Nigéria (EKWEBELAM, 1973, 1980 ; ODEYINDE et EKWEBELAM, 1974 ; MOMOH et GBADEGESIN, 1980), au Ghana (OFOSU ASIÉDU, 1980), en Ouganda (CHAUDRY, 1980) montrent que les mycorrhizes stimulent la croissance et améliorent la nutrition minérale de ces arbres. Des résultats analogues ont été enregistrés dans des études consacrées à diverses espèces de pins tropicaux et menées dans d'autres régions.

Il n'y a presque pas d'études consacrées à la mise en évidence des effets (autres que ceux précédemment développés) des ectomycorhizes en zone tropicale. Cependant, on peut espérer que, dans les années à venir, on pourra approfondir les connaissances actuelles. En effet, depuis quelques années, sous l'impulsion des nombreux travaux de MARX et de ses collaborateurs, on s'applique, dans certaines régions tropicales où l'on envisage l'implantation des pins, à sélectionner le champignon mycorrhizien efficace et adapté aux conditions locales, ce qui n'était pas le cas auparavant. Ces efforts devraient permettre d'expliquer certains points actuellement peu ou pas connus.

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL ET METHODES

i - MATERIEL

II - LES SOLS

Nous avons utilisé, dans nos expériences, des sols qui, pour la plupart, ont été prélevés en Casamance et à Bambey, c'est-à-dire dans des régions respectivement situées au sud et au centre-ouest du Sénégal (voir annexe, figure 2). Les prélèvements ont été effectués entre 5 et 15 cm de profondeur. Les analyses physico-chimiques correspondantes ont été effectuées par le laboratoire d'analyses de l'ORSTOM de Dakar.

Les sols de Casamance que nous avons utilisés sont classés comme suit, selon MAIGNIEN (1965) :

- . Diemberring, Kabrousse : sols peu évolués d'apports peu hydromorphes sur levées sableuses. Ces sols sont généralement assez humifères en surface sur 10 à 20 cm ;
- . Diakène : sol hydromorphe moyennement organique, sol humique à gley de surface sur vase marine ;
- . Santiaba-Manjak, Bignona, Tobor, Tendouk, Diégoune, Bayottes, Jibélor : sols faiblement ferralitiques modaux sur grès sablo-argileux. Ce sont des sols assez sableux, fragiles, à texture argileuse vers 50 - 70 cm de profondeur.

Dans le cas des sols provenant de Bambey, le sol Dior est classé dans le groupe des sols ferrugineux tropicaux faiblement lessivés sur sable, tandis que celui de Dek est défini comme étant un sol à hydromorphie temporaire de surface sur sable et marne calcaires.

Les sols utilisés dans notre étude sont passés dans un tamis de 2 mm et autoclavés à 120°C pendant 1 heure ou fumigés au bromure de méthyle (BM) à 98 % et chloropicrine 3 %.

12 - LE MATERIEL VEGETAL : *PINUS CARIBAEA* (MORELET) VAR. *HONDURENSIS*

Nos travaux ont porté sur *Pinus caribaea* (Morelet) var. *hondurensis*, une des rares espèces de pins dont l'adaptation, aux régions de basse altitude et de climats chauds, a été démontrée dans diverses études (LAMB, 1967 ; LAMB 1973, cité par YELLMAN et HUDSON, 1982 ; KEMP, 1970).

121 - RAPPELS GENERAUX SUR *PINUS CARIBAEA* VAR. *HONDURENSIS* (PIN DES CARAIBES)

Ce pin est originaire du Honduras Britannique, du Nicaragua et du Guatemala. Dans ces régions, la température moyenne annuelle est de l'ordre de 26°C, les températures minimales et maximales enregistrées sont respectivement de 5°C et de 35°C.

Dans son aire d'origine, *Pinus caribaea* bénéficie d'une pluviométrie comprise entre 1200 et 1800 mm et la durée de la saison sèche est estimée à 4 - 5 mois. Il est considéré comme essence de pleine lumière et se rencontre à des altitudes de 0 à 900 m. Le Pin des Caraïbes est également considéré comme une espèce rustique, calcifuge, capable de coloniser des sols relativement pauvres. En sol argileux, on pense qu'il peut s'adapter à condition que la structure du sol ne

152 - LES ELEMENTS FERTILISANTS INSOLUBLES

Ce sont :

- le phosphate naturel de Taïba (Sénégal). Le phosphate naturel D'après TRUONG BINH et al. (1978), c'est un phosphate tricalcique contenant 16 % de P. Il est constitué essentiellement d'apatites contenant, elles-mêmes, du calcium, du phosphate et un troisième

13 - LE MATERIEL FONGIQUE : *PISOLITHUS TINCTORIUS* (PERS.) COKER & COUCH

-Nous avons disposé de trois souches de collection qui nous sont été aimablement fournies par Mr. LE TACON du CNRF de Nancy (France). Ces souches ont été isolées, soit à partir de racines mycorhizées de *Pinus taeda* ou de *Quercus* sp., soit à partir d'un carpophore du champignon ILE TACON, communication personnelle]. De ces différents isolats, notre choix a porté sur celui obtenu à partir du carpophore, à cause de sa croissance plus rapide sur les différents milieux de culture classiques.

14 - LES BACTERIES SOLUBILISANT LES PHOSPHATES NATURELS ; THIOBACILLES

Nous avons employé une culture enrichie en thiobacilles. Cette culture nous a été fournie par Mr. OLLIVIER (ORSTOM, Dakar). L'enrichissement, d'après OLLIVIER (1981), a été réalisé par percolation d'un sol provenant de la Station INRA de Guadeloupe, avec le milieu de culture défini par ALLEN (1953) et composé comme suit : soufre : 10 g ; NH_4Cl : 0,1 g ; NaHCO_3 : 1 g ; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 0,2 g ; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 0,1 g ; eau distillée : 1000 ml. Le sol enrichi en thiobacilles a, ensuite, été mélangé à de la vermiculite stérile dans les proportions 1/5 (v/v) pour l'inoculation des plantes.

15 - LES ELEMENTS FERTILISANTS

Les éléments fertilisants, que nous avons utilisés au cours de notre travail, peuvent être classés en deux types : les formes solubles et les formes insolubles .

151 - LES ELEMENTS FERTILISANTS SOLUBLES

Il s'agit, principalement :

- pour l'azote, du sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$;
- pour le phosphore, du supertriple à 45 % de P_2O_5 ;
- pour le potassium, du chlorure de potassium KCl.

Ce sont :

- le phosphate naturel de Taïba (Sénégal). le phosphate naturel
D'après TRUONG BINH et *al.* 1'13781, c'est un phosphate tricalcique contenant 16 % de P. Il est constitué essentiellement d'apatites contenant, elles-mêmes, du calcium, du phosphate et un troisième élément qui peut être un groupement hydroxyle (OH), le fluor (F) ou le chlore (Cl) ; ou le chlore
- le phytate de calcium ($C_6H_{18}P_6O_{24}$, Sigma n° P 5253), phosphate organique, est un sel de calcium de l'acide phytique. Il contient 28,1 % de P.

Ces différents éléments solubles ou insolubles ont été mélangés au sol avant le remplissage dans les gaines de plastique.

2 - METHODES ET TECHNIQUES EMPLOYEES

21 - DESINFECTION DES SOLS

211 - AUTOCLAVAGE

Les sols sont introduits dans des sacs en toile de jute ou dans des pots en terre cuite (contenance 1 litre) et autoclavés à 120°C pendant une heure.

212 - FUMIGATION AU BROMURE DE METHYLE

Pour la fumigation au bromure de méthyle (BM), les sols, humidifiés à la capacité au champ, sont mis dans des bacs plastique (dimensions 87,5 cm x 54,5 cm x 22,5 cm) remplis à moitié ou en tas sur une bâche plastique (cas des grandes quantités) que l'on recouvre d'une autre bâche. Les bords de la bâche de couverture sont enfouis

dans le sol (préalablement humidifié) de façon à assurer l'étanchéité. On injecte le BM au travers de la bâche, à raison de 75 g/m² (soit 375 mg/kg de sol) et on obstrue l'orifice à l'aide d'un ruban adhésif. Deux jours après le traitement, on défait la bâche supérieure et le sol est laissé trois semaines environ à l'air avant d'être mis dans des gaines de plastique (dimensions à plat : 12 cm x 25 cm ou 30 cm x 12 cm).

22 - GERMINATION DES GRAINES ET CONDITIONS DE CULTURE DU PIN DES CARAIBES

Les graines de pin sont désinfectées en surface (voir chapitre I) et disposées ensuite, soit dans des boîtes de Pétri contenant de l'eau gélosée à 0,9%, soit dans des bacs remplis de sable préalablement stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant une heure. Les graines sont, ensuite, mises à germer à l'obscurité. Dès que la plupart d'entre elles a germé, le matériel est transféré en serre et arrosé quotidiennement à l'eau de robinet. Le repiquage des plantules n'est effectué que 4 à 5 semaines après le début de la germination.

23 - CULTURE DE *PISOLITHUS TINCTORIUS*

231 - MILIEUX DE CULTURE

Nous avons couramment utilisé les milieux de culture de MELIN NORKKRANS, modifié par MARX (1964), de PACHELEWSKI (1974), de MODESS, modifié par ZAK et RRYAN 119631 et, occasionnellement, les milieux de ODDOUX (1957), de malt à 1,5 % utilisé par KIFFER (1974). La composition de ces milieux est regroupée au tableau 1.

Le pH des milieux est ajusté à 5,4 - 5,5, à l'aide de solutions de HCl N/10 ou de KOH N/10 avant la stérilisation à l'autoclave (120°C, 20 minutes).

Tableau 1: Composition des milieux nutritifs pour champignons, pour un litre d'eau distillée

Milieux nutritifs		OURDOUX (1957)	PACHLEWSKI (1974)	MODESS, modifié par ZAK et BRYAN (1963)	MELTIL-NORKRANS, modifié par MARX (1969)
Produits utilisés					
Substrats azotés	Asparagine	0,50 g			
	Hydrolisat de caséine	1,0 g			
	Tartrate de NH ₄		0,50 g		
	NH ₄ Cl (NH ₄) ₂ HPO ₄			0,50 g	0,25 g
Substrats carbonés	Extrait de malt	8,0 g	5,0 g	5,0 g	3,0 g
	Glucose	7,0 g	20,0 g	5,0 g	10,0 g
Substances minérales	MgSO ₄ 7H ₂ O	0,50 g	0,50 g	0,50 g	0,15 g
	KH ₂ PO ₄	0,50 g	1,0 g	0,50 g	0,50 g
	NaCl				0,025g
	CaCl ₂				0,05 g
Vitamines	Bécozyme Roche (*)	ml			
	Thiamine HCl		50 mg		100 mg
Oligo-éléments	Citrate ferrique à 1 %		0,5 ml	5 gouttes	1,2 ml
	Zn SO ₄ 7H ₂ O au 1/500		0,5 ml		
Substrats	Gélose	15,0 g	15,0 g	15,0 g	15,0 g

(*) Bécozyme Roche : une ampoule de 2ml contient :

- Riboflavine (phosphate) 4mg	Pyridoxine 6 mg	Nicotinamide 40 mg
- Pantothénil 6 mg	Thiamine 10 mg	Phénol 10 mg

232 - CONDITIONS DE CULTURE

Pour multiplier les souches de collection de *P. tinctorius*, nous avons déposé, dans chaque fiole (cas des cultures sur milieux nutritifs non gélosés) et dans chaque boîte de Pétri (cas des cultures sur milieux nutritifs gélosés), respectivement 1 et 3 fragments de 4 mm environ de côté, d'une culture mycélienne pure. Les cultures sont ensuite placées dans une étuve réglée à 30°C.

24 - METHODE D'INOCULATION DANS LE SOL - CONDUITE DES EXPERIENCES

Au moment du repiquage des plantules de pin dans les gaines de plastique, les inoculum (cultures pures mycéliennes, ou inoculum de sol mycorhizien) sont introduits dans un trou de profondeur 10 cm environ. Apres insertion des racines des plantules dans le trou, pendant les trois premiers jours, on arrose abondamment (deux fois 50 ml environ d'eau de robinet par plant! pour tasser le sol.

Les pins ainsi traités sont placés en serre ou en pépinière. En serre, ils sont arrosés quotidiennement (25 à 30 ml d'eau de robinet apportés en une seule fois). En pépinière, les pins sont arrosés deux fois par jour à l'aide d'un arrosoir ou d'un pulvérisateur et, au début de leur séjour, protégés contre l'ensoleillement par des ombrières. Celles-ci sont enlevées dès que la reprise des pins est jugée satisfaisante.

25 - PARAMÈTRES RETENUS POUR L'APPRÉCIATION DES EFFETS DES TRAITEMENTS ETUDIÉS

251 - CROISSANCE EN HAUTEUR ET PRODUCTION VÉGÉTALE

En fin d'expérience, on a relevé, dans chaque traitement, les paramètres suivants :

- . la hauteur des plantes,
- . le poids de matière sèche des parties aériennes et des racines (après séchage jusqu'au poids constant : 72 heures à 60°C).

252 - POURCENTAGE D'INFECTION

Pour quantifier l'infection mycorhizienne, nous avons déterminé, dans la plupart des essais, le pourcentage de mycorhization et, dans des cas particuliers, nous avons évalué le pourcentage de longueur racinaire infectée. Ces paramètres ont été déterminés sur un échantillonnage limité : 10 racines latérales par plant (ou répétition). Compte tenu du nombre de répétitions (5 à 6 suivant les cas), nous avons observé 50 racines latérales au minimum pour chaque traitement.

Le pourcentage de mycorhization a été déterminé comme suit : les racines latérales sont prélevées au hasard sur le système racinaire de chaque plant et observées à la loupe binoculaire (Gr x 12), en comptant le nombre de racines courtes mycorhizées et celui des racines non mycorhizées. Pour les racines courtes mycorhizées, nous n'avons pris en compte que celles qui sont entourées d'un manchon mycélien visible, comme l'ont fait, entre autres, HARLEY et WAID (cités par GAY, 1978), MARX et BRYAN (1971). D'autre part, il est bien connu que, chez les pins, certaines mycorhizes se ramifient dichotomiquement plusieurs fois pour donner naissance à des mycorhizes dites coralloïdes. Aussi, afin de faciliter le comptage des racines mycorhizées, nous nous sommes référés aux travaux de HATCH (1937), en comptant pour 1 toute racine courte mycorhizée, sans tenir compte de leur éventuelle ramification. Les valeurs, ainsi obtenues, sont transformées, si nécessaire, par la fonction $\text{Arc sin } \sqrt{\text{pourcentage}}$ (GOMEZ et GOMEZ, 1976) et soumises au test de OUNCAN (1955).

Le pourcentage de longueur racinaire infectée, ou pourcentage de longueur de racine latérale effectivement colonisée par le champignon, a été relevé pour tenir compte de l'importance des mycorhizes coralloïdes. La procédure de détermination de ce paramètre est semblable à celle employée par MARX et ZAK (1965) pour l'estimation de la longueur de racines courtes mycorhizées.

Pour notre part, nous avons préalablement calculé, sur un échantillon de 11 racines prises au hasard, la droite de régression dont l'équation est $y = 11,81 X + 29,26$ et de coefficient $h = 0,98$. La lettre X désigne le poids moyen [poids de matière sèche en mg] des racines mycorhizées et la lettre y la longueur moyenne de ces racines (en mm) (voir figure II. A l'aide de cette droite, et connaissant le poids de matière sèche de racines courtes mycorhizées (x) prélevées sur plusieurs racines latérales quelconques de longueur connue (z), il nous est possible de déduire la longueur de racine effectivement colonisée par le champignon (y). Le calcul du rapport $(\frac{y}{z}) \times 100$ nous donne le pourcentage de longueur racinaire infectée.

253 - ANALYSES CHIMIQUES DES PARTIES AERIENNES DES PLANTES

Nous avons réalisé principalement les dosages de l'azote et du phosphore ; ceux des autres éléments (potassium, calcium, magnésium...) ont été effectués par le laboratoire de Mr. LE TACON, au CNRF de Nancy. De ce fait, nous ne décrivons ici que les méthodes que nous avons effectivement employées :

- Dosage de l'azote

Nous avons dosé cet élément par la méthode de KJELDAHL modifiée par RINAUDO (1970). On apporte, dans un matras, 20 mg de matériel végétal finement broyé et homogénéisé. On verse dans le matras 1 ml de H_2SO_4 pour analyse, puis on le dépose sur une rampe à minéralisation. On chauffe jusqu'à la disparition des fumées blanches, ensuite le matras est retiré

Figure 1 : Droite de régression entre le poids de matière sèche et la longueur des racines mycorrhizées

de la rampe à minéralisation et on le laisse refroidir. Après, on y ajoute quelques gouttes (15 à 25 gouttes? de H_2O_2 à 30 % pour analyse et on chauffe à nouveau le matras sur la rampe à minéralisation. On attend 3 à 5 minutes environ et, normalement, la solution se décolore complètement. S'il n'en est pas ainsi, on retire le matras, on le laisse refroidir, on rajoute quelques gouttes de H_2O_2 à 30 % et on reprend le chauffage jusqu'à décoloration complète de la solution de minéralisation.

Une fois ce résultat obtenu et après refroidissement, le contenu du matras est neutralisé par 5 ml de NaOH 10 N. L'extrait est distillé dans un appareil de PARNAS WAGNER et, à l'aide du 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], on dose l'ammoniaque formé par titrimétrie avec HCl N/70.

• Dosage du phosphore

La minéralisation s'effectue en ajoutant, à 100 mg de poudre de matériel végétal contenue dans un matras, 3 ml de HNO_3 RP. A l'aide d'un entonnoir bouché par une bille en verre, on ferme le matras pour éviter l'évaporation de la solution, puis on chauffe modérément sur une rampe à minéralisation pendant 30 minutes. Au bout de ce délai, on porte à ébullition pendant 2 heures et on laisse refroidir. La solution est éclaircie en ajoutant 0,5 ml de $HClO_4$ RP. On évapore à sec et on laisse refroidir à nouveau le matras avant de recueillir le résidu dans 3 ml de HNO_3 RP. On ajuste le minéralisat à 25 ml avec de l'eau distillée. Le phosphore est dosé par colorimétrie ($\lambda = 470 \text{ nm}$) à l'aide d'un mélange équivolométrique réalisé seulement au moment de l'emploi et composé de métavanadate d'ammonium à 0,25 % et de molybdate d'ammonium à 5 % (JACKSON, 39641).

, Dosage des autres éléments

Le potassium est dosé par spectrométrie d'émission atomique. Le calcium, le magnésium, le manganèse, le fer, le zinc et le cuivre par spectrométrie d'absorption atomique. Le détail de ces méthodes a été décrit par CLEMENT(1977),

RESULTATS

CHAPITRE 1

OPTIMISATION DE LA CULTURE DE *PINUS CARIBAEA*

1 - INTRODUCTION

Il est bien connu que le taux de germination des graines de nombreuses espèces végétales est affecté, entre autres, par le mode et la durée de conservation des graines. Pour *P. caribaea*, les observations effectuées en Guyane Française (POTDEVIN, 1980) indiquent que le taux de germination est de 90 % pour des graines âgées de deux à quatre mois, et de 40 % seulement pour des graines de plus d'un an. Pour ce pin également, DE LA MENSBRUGE (1969) note que la germination des graines est assez étalée et peut se poursuivre jusqu'à la fin du troisième mois après le semis.

Nous avons utilisé, au cours de notre travail, des lots de graines de *P. caribaea* âgées de plus d'un an et dont les pourcentages de germination, déterminés au laboratoire par le Centre Technique Forestier Tropical (France), sont de l'ordre de 40 %. Ces pourcentages ayant été obtenus dans des conditions suboptimales, il est probable, qu'en pépinière nu en serre [conditions semi-naturelles], ils soient plus faibles encore. C'est pourquoi, il nous a paru utile de rechercher une méthode qui permette d'obtenir, en deux ou trois semaines, le maximum de germinations.

2 - MATERIEL ET METHODES POUR L'OBTENTION DE PLANTULES STERILES

L'origine et la provenance des graines utilisées dans cette étude ont été définies dans le paragraphe 11 (voir Matériel et Méthodes).

Quatre agents stérilisants ont été testés. Il s'agit de l'eau oxygénée (H_2O_2) à 30 %, de l'hypochlorite de calcium ($CaClO$) à 0,7 %, du chlorure mercurique ($HgCl_2$) à 0,1 % et de l'acide sulfurique concentré (H_2SO_4).

A - H_2O_2 30 %

Nous avons désinfecté les graines de pin à l'eau oxygénée, en nous référant aux procédures suivies par MEJSTRIK et KRAUSE (1973) et par MARX et BRYAN (1970).

Dans la procédure suivie par MEJSTRIK et KRAUSE (1973), les graines sont désinfectées superficiellement à l'eau oxygénée à 30 % pendant 30 minutes et rincées plusieurs fois à l'eau stérile.

Dans la procédure suivie par MARX et BRYAN (1970), les graines sont trempées dans l'eau oxygénée à 1 % et conservées pendant cinq jours à 5°C. Ensuite, elles sont désinfectées superficiellement à l'eau oxygénée à 30 % pendant 20 minutes et rincées plusieurs fois à l'eau stérile.

B - $CaClO$ (0,7 %)

Cette procédure a été employée par CHU CHOU (1979) et se déroule en deux étapes qui sont :

- 1ère étape : soumettre les graines à un lavage continu à l'eau de robinet pendant deux heures, ensuite les tremper trois secondes dans l'alcool à 95 %, puis 20 minutes dans $CaClO$ (0,7 %). Rincer plusieurs fois et les conserver dans de l'eau stérile à 4 - 5°C pendant 12 heures.
- 2ème étape : tremper les graines deux minutes dans $CaClO$ (0,7 %) ; rincer plusieurs fois à l'eau stérile.

C - HgCl₂ (0,1 %)

Nous avons adopté le temps de stérilisation qui a donné les meilleurs résultats dans les travaux de GAY (1978) : trempage des graines 48 heures dans de l'eau distillée à 4°C, puis traitement au HgCl₂ 0,1 % pendant trois minutes et rinçages à l'eau stérile.

D - H₂SO₄

Les graines sont trempées deux à trois minutes dans H₂SO₄ concentré et rincées plusieurs fois à l'eau stérile.

Dans chacune de ces diverses modalités, les graines traitées ont été mises à germer dans les conditions exposées au paragraphe 22, page 13 .

3 - RESULTATS

Comme l'indiquent les tableaux 2 et 3, que ce soit sur eau gélosée à 0,9 % ou sur sable stérilisé, l'acide sulfurique et, à un degré moindre, le chlorure mercurique appliqués pendant deux à trois minutes permettent d'obtenir un pourcentage moyen de germination et une désinfection superficielle des graines de *Pinus caribaea* plus satisfaisants que l'hypochlorite de calcium ou l'eau oxygénée.

Si nous considérons, selon la définition de COME (1962 a), l'énergie de germination ou temps moyen de germination (obtenu par le calcul suivant : $E = \frac{a_1 b_1 + a_2 b_2 + \dots + a_n b_n}{a_1 + a_2 + \dots + a_n}$ où $b_1, b_2 \dots b_n$ désignent, dans l'ordre, le nombre de graines germées aux temps $a_1, a_2 \dots a_n$) des graines, on constate qu'avec l'acide sulfurique, les graines du pin des Caraïbes germent beaucoup plus vite qu'avec les autres stérilisants. C'est pourquoi, nous avons décidé de traiter les graines à l'acide sulfurique.

Tableau 2 : Tests de germination sur eau gélosée (0,9%) des graines de *Pinus caribaea*, suivant différentes méthodes de stérilisation.

TRAITEMENTS	Nombre de graines testées	% de graines contaminées	% de graines germées	Energie de germination (en jours)
Témoin	200	100.0	27.5	20.2
H ₂ O ₂ 30% (méthode de MEJSTRIK et KRAUSE, 1973)	200	22.5	24.1	21.2
H ₂ O ₂ 30% [méthode de MARX et BRYAN, 1970]	200	12.5	25.1	20.7
CaCl ₂ (0,7%)	200	44.0	26.7	22.4
HgCl ₂ (0,1%)	200	1.5	33.5	19.2
H ₂ SO ₄ (95%)	200	9.0	51.0	11.9

Chaque valeur est la moyenne de 4 répétitions

* d'après COME (1962 a), l'énergie de germination peut être exprimée par le temps moyen de germination obtenu par le calcul suivant :

$$E = \frac{a_1 b_1 + a_2 b_2 + \dots + a_n b_n}{a_1 + a_2 + \dots + a_n}$$

$b_1 ; b_2 ; b_n$ désignent, dans l'ordre, le nombre de graines germées aux temps $a_1 ; a_2 ; a_n$

Tableau 3 : tests de germination sur sable stérilisé des graines de *Pinus caribaea*, suivant différentes méthodes de stérilisation.

TRAITEMENTS	Nombre de graines testées	% de graines germées	Energie de germination (en jours)*
Témoin	200	24.5	24.2
CaClO (0,7%)	200	27.5	22.7
HgCl ₂ (0,1%)	200	30.5	18.2
H ₂ SO ₄	200	59.0	14.7

Chaque valeur est la moyenne de 4 répétitions.

* d'après COME (1962 a), l'énergie de germination peut être exprimée par le temps moyen de germination

obtenu par le calcul suivant :
$$E = \frac{a_1 b_1 + a_2 b_2 + \dots + a_n b_n}{a_1 + a_2 + \dots + a_n}$$

$b_1 ; b_2 ; b_n$ désignent, dans l'ordre, le nombre de graines germées aux temps $a_1 ; a_2 ; a_n$

4 - DISCUSSION

Etant donné l'intervention de divers facteurs (origine, provenance, durée et conditions de stockage des graines d'une part, et en l'absence d'observations (non effectuées, faute de temps) relatives à l'influence de la température sur la germination des graines de *Pinus caribaea*, d'autre part, nos résultats doivent être interprétés avec prudence. Néanmoins, nous pouvons souligner que nos observations sont similaires à celles rapportées par certains auteurs (SPAETH, 1932 a ; MEGINNIS, 1935, sur des graines de *Robinia pseudoacacia* ; LARSEN, 1925, sur des graines de *Pinus monticola* et MAC DONOUGH et CHADWICK, 1970, sur des graines de diverses plantes). HARTLEY, 1912, cité par BALDWIN (1942), a obtenu une amélioration de germination de plus de 55 % en utilisant de l'acide sulfurique pour désinfecter les graines de diverses essences résineuses.

Avec l'acide sulfurique, nous avons obtenu une amélioration de germination de plus de 50 % dans les tests que nous avons réalisés. De plus, par rapport au traitement témoin, le temps moyen de germination est avancé de 10 jours environ lorsque l'on traite les graines du pin des Caraïbes à l'acide sulfurique.

GAY (1978), étudiant l'influence de la concentration et du temps d'application du chlorure mercurique sur la désinfection des graines de *Pinus halepensis*, a montré qu'aux concentrations de 0,2 % et 0,1 % appliquées respectivement pendant 1 à 3 minutes, le chlorure mercurique permet une bonne désinfection. Dans notre cas, comparativement à l'acide sulfurique, le chlorure mercurique à 0,1 %, appliqué pendant 3 minutes, donne de moins bons résultats. A cette concentration et malgré un temps d'application de 30 minutes, TOOLE et DRUMMOND, 1924, cités par BALDWIN (1942), travaillant sur des graines de coton, ont noté la présence de *Rhizopus*. Selon ces auteurs, avec le chlorure mercurique, on ne peut

maîtriser l'attaque des moisissures que si la germination des graines est rapide. Un autre Inconvénient de ce produit est son action toxique sur les graines, ainsi que le mentionne BALDWIN (39421, d'après les travaux effectués en 3930 par LLJNDERGARDH, BURSTROM et EKSTRAND.

Contrairement à OUGGAR et DAVIS (19191, cités par BALDWIN (1942), qui ont trouvé l'hypochlorite de calcium plus satisfaisant que d'autres produits pour la désinfection et l'augmentation de germinations, SPAETH et AFANASIEV (1939), étudiant les effets de ce produit sur des graines de sept espèces ligneuses, ont montré qu'il provoquait un retard de germination dans tous les cas. Dans nos travaux, la méthode à l'hypochlorite de calcium donne des résultats équivalents à ceux obtenus dans le traitement témoin.

Avec l'eau oxygénée, contrairement aux observations de SIHANONTH et *al.* (19821, le pourcentage de germination obtenu dans notre étude est équivalent à celui du traitement témoin, Cependant, il est intéressant de noter que ce produit permet une bonne désinfection superficielle des graines.

CHAPITRE II

I - ENTRETIEN ET MULTIPLICATION DE LA SOUCHE DE <i>PISOLITHUSTINCTORIUS</i>
--

1- CULTURE DE *PISOLITHUSTINCTORIUS* EN FIOLES

11 - OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

L'objectif de cette étude est double. Il s'agit, d'abord, de tester, pour la multiplication et la production d'inoculum de *P. tinctorius*, différents milieux nutritifs classiques, afin de choisir celui sur lequel la croissance du champignon est meilleure. Ensuite, il s'agit d'étudier, sur le milieu qui aura été choisi, les effets de l'adjonction, ou non, de faibles quantités de gélose sur la production de boulettes mycéliennes de *P. tinctorius*, en vue d'étudier ultérieurement la croissance de ce champignon en fermenteur.

12 - ÉTUDE DE LA CROISSANCE DE *P. TINCTORIUS* SUR DES MILIEUX NUTRITIFS GÉLOSES OU NON

121 - MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons déjà défini la composition des milieux nutritifs que nous utilisons [voir tableau, page 15 1 et nous avons décrit partiellement les conditions de culture au paragraphe 232 (page 16)]. De ce fait, seuls les points ci-après seront précisés ici :

- matériel utilisé : boîtes de Pétri garnies de 20 ml de milieu nutritif gélifié et fioles de 150 ml contenant 50 ml de milieu nutritif liquide ;

Figure 2 : Diamètre moyen des colonies mycéliennes de *Pisolithus tinctorius* au bout de 3 semaines de culture sur différents milieux gélosés.

- — ○ milieu de MODESS, modifié par ZAK et BRYAN (1963)
- ★ — ★ " de MELIN-NORKRANS, modifié par MARX (1969)
- — ● " de PACHLEWSKI (1974)
- — ■ " de ODDOUX (1957)

- Chaque traitement est la moyenne de cinq répétitions

- Les points associés à la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 % selon le test de DUNCAN (1955)

- diamètre et âge des boutures mycéliennes repiquées en début d'expérience : 4 mm (environ 1,3 mg) et 10 jours ;
- temps de culture : étude sur milieux gélosés : 3 semaines et, sur milieux liquides : 4 semaines (ces délais correspondent aux temps où la croissance du champignon était maximale sur le milieu qui lui était le plus favorable) ;
- caractères relevés pour l'appréciation de la croissance du champignon :
 - , diamètre des colonies sur milieux gélosés, relevé une fois par semaine ;
 - , poids du mycélium [exprimé en matière sèche au milligramme près] en fin d'expérience et après lavage une heure à l'eau de robinet et séchage douze heures à 105°C dans le cas des cultures en milieux liquides ;
 - , nombre de répétitions par milieu nutritif étudié : cinq.

122 - RESULTATS

* Cultures sur milieux gélosés

La figure 2 indique que la croissance de *P. tinctorius* est meilleure sur les milieux de MODESS, modifié par ZAK et BRYAN (1963) et MELIN - NQRKRANS, modifié par MARX (1969). Sur les milieux de PACHLEWSKI (1974) et de ODDOUX (1957), la croissance est moins bonne : elle est significativement différents au seuil de 5 %, d'après le test de DUNCAN (1955) de celle obtenue dans les deux premiers milieux.

* Cultures sur milieux liquides

Le poids de mycélium de *P. tinctorius* est significativement plus important (seuil de 5 % d'après le test de DUNCAN, 1955) sur le milieu de PACHLEWSKI (1974) que sur les autres milieux que nous avons étudiés [voir figure 3]. Sur ce milieu, le pH a baissé de plus d'une unité (tableau 41

- Chaque valeur est la moyenne de 5 répétitions
- Les poids obtenus diffèrent significativement (au seuil de 5 %) lorsqu'ils ne sont pas indexés de la même **lettre**

Figure 3 : Poids de mycelium (matière sèche en mg/50 ml de milieu nutritif) de *Pisolithus tinctorius*, sur différents milieux nutritifs liquides

- Résultats après 4 semaines de culture -

Tableau 4: Variation du pH des milieux nutritifs liquides
 après environ quatre semaines de culture de
Pisolithus tinctorius.

VALEUR DU pH	ODDOUX (19571	PACHLEWSKI (19741	MODESS, modifié par ZAK et BRYAN (1963}	MELIN-NORKRANS, modifié par MARX, 1969
début de l'expérience	5.0	5.4	5.0	5.5
fin de l'expérience	4.8	4.0	4.3	4.7

123 - DISCUSSION

Nos résultats montrent que, sur le milieu de ODDOUX (1957), la croissance de *P. tinctorius* est faible. Sur les milieux de PACHELEWSKI (1974) ou de MODESS, modifié par ZAK et ERYAN (1963), la croissance de *P. tinctorius* est variable selon que ces milieux sont gélosés ou non. La croissance de *P. tinctorius* a été satisfaisante sur le milieu de MELIN-NORKRANS, modifié par MARX (1969), ce qui est en accord avec les résultats de MARX (1969) et justifie que nous ayons choisi ce milieu pour les études que nous présenterons ci-après.

13 - ETUDE DES EFFETS DE L'ADJONCTION, OU NON, DE GELOSE DANS LE MILIEU DE CULTURE SUR LA PRODUCTION DE BOULETTES MYCÉLIENNES DE P. TINCTORIUS

131 - MATERIEL ET METHODES

Dans cette étude, nous avons employé la procédure suivante : 25 ml de milieu nutritif de MELIN - NORKRANS, modifié par MARX (1969) avec ou sans gélose et un barreau aimanté, sont mis dans des fioles de 100 ml. Après stérilisation à l'autoclave (20 minutes à 120°C), nous avons déposé, aseptiquement et Fragment.6 sur agitateur magnétique, une rondelle mycélienne de *P. tinctorius* que nous avons découpée à l'aide d'un emporte-pièce de 4 mm de diamètre. Le poids sec d'une rondelle mycélienne préalablement débarrassée du milieu de culture est de 1,3 mg environ (valeur moyenne de 6 répétitions). Ensuite, nous avons placé les fioles sur une table d'agitation (vitesse de rotation : 130 - 150 tours/minute) installée dans une chambre de culture à 30 ± 2°C.

Trois traitements ont été étudiés, ce sont :

- milieu de culture sans gélose ;

Tableau 5 : Influence de la gélose sur la production
de boulettes mycéliennes de *Pisolithus tinctorius*.
Résultats obtenus après 3 semaines de culture avec agitation

Quantité de gélose(g/l)	pH initial	Pdc sec de mycélium (mg)	pH final
0	5,6	230,4 ± 23,0	4,8
0,5	5,6	407,8 ± 26,7	3,9
1	5,6	417,5 ± 17,9	3,7

- Les valeurs ci-dessus indiquées représentent la moyenne de trois répétitions.

- milieu de culture à 0,05 % de gélose ;
- milieu de culture à 0,1 % de gélose,

La gélose utilisée est du Bacto-agar (DIFCO). Chaque traitement a été répété trois fois. Nous avons arrêté cette étude après dix jours de culture.

132 - RESULTATS - DISCUSSION

Nous avons remarqué que les meilleurs résultats (Tableau 5) sont obtenus avec des milieux de consistance assez molle (0,05 % et 0,1% de gélose). Ces résultats sont à rapprocher de ceux obtenus par ODDOUX (1957) qui a montré que certains champignons ont une meilleure croissance sur des milieux légèrement solidifiés à la gélose.

2 - CULTURE DE P. TINCTORIUS EN FERMENTEUR : INFLUENCE DE L'AERATION SUR LA PRODUCTION DE BOULETTES MYCELIENNES DU CHAMPIGNON

21 - BUT DE L'ÉTUDE

Des techniques de culture de champignons mycorhiziens ou non ont été décrites dans des travaux récents comme ceux de RAIMBAULT et ALAZARD (1980), SMITH (1982), JUNG et MUGNIER (travaux non publiés). Notre intention dans la présente étude est de rechercher les conditions d'aération suboptimales permettant d'obtenir des grandes quantités de cultures mycéliennes pures de *P. tinctorius* utilisables telles qu'elles ou en mélange avec de la tourbe-vermiculite stérilisée comme nous le verrons plus loin, pour l'inoculation des pins en pépinière.

22 - MATÉRIEL ET MÉTHODES

221 - DESCRIPTION SOMMAIRE DU FERMENTEUR

Nous avons utilisé le fermenteur de marque "BIOLAFITTE". Les éléments qui le composent et que nous avons utilisés pour notre étude

peuvent être sommairement décrits comme suit : le corps du fermenteur se compose d'une cuve en pyrex de contenance 20 litres montée dans un châssis-support et recouverte d'une platine sur laquelle sont montés :

- une entrée et une sortie d'air raccordées à des filtres d'air garnis de coton ;
- des raccords stérilisables à la flamme pour l'inoculation ou le prélèvement de culture.

L'alimentation en air est assurée par une pompe à air de débit maximum 420 litres/heure ,

222 - METHODE DE MULTIPLICATION DE P. TINCTORIUS EN FERMENTEUR

La méthode que nous avons utilisée dérive de celle mise au point récemment par JUNG et MUGNIER (travaux non publiés¹ pour la culture d'*Hebeloma cylindrosporum*. Elle permet d'obtenir des boulettes mycéliennes du champignon que l'on cultive et les deux étapes qu'elle comporte sont les suivantes :

• première étape : obtention de précultures mycéliennes

Les précultures sont obtenues dans les fioles de 2 litres remplies avec 1000 ml de milieu MELIN - NORKRANS, modifié par MARX (1969), contenant 1 g de gélose. Après stérilisation à l'autoclave (20 minutes à 120°C), nous avons déposé, dans une enceinte stérile, quatre rondelles (diamètre 3 cm environ) de cultures mycéliennes âgées de dix jours. Celles-ci sont fragmentées sur agitateur magnétique pendant trois à quatre heures. Après cette opération, les fioles sont mises dans les conditions de cultures définies dans le paragraphe 131 (page 36). Au bout de dix jours, des boulettes mycéliennes de 2 à 3 mm de diamètre (photo ci-contre) se sont formées. Elles sont fragmentées à l'aide d'un barreau aimanté et la suspension ainsi obtenue utilisée pour l'inoculation du fermenteur.

• deuxième étape : culture en fermenteur

Le fermenteur, de contenance 20 litres, est rempli aux trois quarts avec le même milieu que dans la première étape. Après la stérili-

Fig. 1 *Chelle* *solitarius* *P. solitarius*
produit en France
chelle de la France

Tableau b Influence de l'aération sur la production de mycélium de *Pisolithus tinctorius* cultivé en fermenteur.

Débit d'air (litres/heure)	Poids sec de mycélium (mg/litre de milieu)	pH en début de culture	pH en fin de culture
50	247	5,4 - 5,5	4,9
100	488	5,4 - 5,5	4,5

sation du milieu et en conditions aseptiques, nous avons inoculé le fermenteur avec 1000 ml de suspension mycélienne, ce qui correspond à 150 mg environ.

Après inoculation, le fermenteur est placé dans une chambre de culture à $30 \pm 2^\circ\text{C}$. Nous avons étudié la croissance de *P. tinctorius* en fermenteur en fonction de l'aération à 50 et 90 litres environ par heure. La durée de la culture a été de dix jours dans chaque cas.

3 - RESULTATS - DISCUSSION

Le tableau 6 indique que la croissance de *P. tinctorius* en fermenteur est meilleure lorsque le milieu de culture est bien aéré (90 litres par heure). Lorsque l'on considère le poids sec de mycélium obtenu en fin de culture, nous constatons qu'il est quatre fois plus important avec 90 qu'avec 50 litres par heure. Parallèlement à cette croissance satisfaisante, nous avons remarqué, en fin de culture, que la valeur du pH du milieu nutritif est diminuée de presque une unité. Cette observation est en accord avec celle de HACSKAYLO et al. (1965).

En conclusion, nos résultats, bien que préliminaires, confirment ceux obtenus récemment par JUNG et MUGNIER (communication personnelle), par SMITH (1982) qui ont montré que la culture de champignons ectomycorrhiziens en fermenteur est une technique à développer. En effet, cette technique permet, non seulement de multiplier ces champignons en grandes quantités, mais encore, de réduire considérablement le temps habituellement nécessaire pour leur culture. Cependant, nous n'oublions pas que nous n'avons étudié qu'un seul facteur et que de nombreux autres peuvent aussi favoriser la croissance des champignons ectomycorrhiziens en culture pure comme, par exemple, les sucres (cf. PALMER, 1969 ; PALMER et HACSKAYLO, 1970 ; HACSKAYLO, 1973 ; LAMB, 1974 ; TAN et NOPANORRHOOT, 1979), les vitamines (SASEK et MUSILEK, 1969).

II - COMPARAISON DE DIFFÉRENTES FORMES D'INOCULUM DE *PISOLITHUS TINCTORIUS*

1 - OBJET DE L'ÉTUDE

Les résultats précédents montrent que l'on peut obtenir, en quelques jours, un développement abondant de mycélium de *Pisolithus tinctorius*. La question qui se pose maintenant est de savoir si ces cultures mycéliennes peuvent être utilisées telles quelles ou en mélange réalisé extemporanément avec un support inerte comme inoculum pour la mycorhization des pins en milieu tropical, C'est ce que nous avons essayé de vérifier dans la présente étude.

2 - MATÉRIEL ET MÉTHODES

21 - SOL UTILISÉ

Nous avons réalisé cette expérience sur sol de Tendouk fumigé au bromure de méthyle. Ce sol contient 11 ppm de P assimilable et 670 ppm de N total ; les autres propriétés physiques et chimiques de ce sol figurent en annexe, dans le tableau 2.

22 - MATÉRIEL VÉGÉTAL

Les graines de *Pinus caribaea* ont été désinfectées superficiellement à l'acide sulfurique et mises à germer dans du sable stérilisé (chapitre 11).

23 - TRAITEMENTS ÉTUDIÉS

Nous avons étudié les traitements suivants :

- plantes non inoculées (témoin absolu) ;

- plantes inoculées avec des cultures mycéliennes obtenues selon la méthode mise au point, en 1965, par MARX et ZAK (inoculum M Z) ;
 - plantes inoculées avec des boulettes mycéliennes mélangées juste avant l'inoculation à de la tourbe-vermiculite stérilisée (inoculum B M T V) ;
 - plantes inoculées avec des boulettes mycéliennes seules (inoculum B M).
- Chaque traitement a été répété six fois.

24 - PRÉPARATION DES INOCULUMS

241 - INOCULUM PRODUIT SELON LA METHODE DE MARX et ZAK (1965) (INOCULUM 'M Z)

Nous l'avons produit dans des fioles de 250 ml contenant un mélange de vermiculite retenue au tamis de 2 mm (145 ml), de la tourbe fine (5 ml) et de solution nutritive de MELIN - NORKRANS, modifiée, en 1969, par MARX (100 ml). Après stérilisation à l'autoclave (20 minutes à 120°C), nous avons déposé, en conditions aseptiques, dans les fioles, deux carrés (environ 1 cm de côté) de culture mycéliennes de trois semaines d'âge obtenues en boîte de Petri. Les fioles sont ensuite placées à l'étuve (30°C) jusqu'à ce que le support de culture soit entièrement colonisé par le champignon, c'est-à-dire quatre à six semaines environ.

242 - INOCULUMS SOUS FORME DE BOULETTES MYCELIENNES (INOCULUM B M ET INOCULUM B M T V)

Les boulettes mycéliennes sont obtenues à partir de cultures réalisées en fermenteur (page 38). Elles ont été lavées plusieurs fois à l'eau de robinet avant d'être utilisées telles quelles ou en mélange avec de la tourbe-vermiculite (5 ml de tourbe fine et 145 ml de vermiculite passée au tamis de 2 mm) humidifiée à l'eau et que nous avons préalablement stérilisée à l'autoclave 120 minutes à 120°C).

25 - INOCULATION ET REPIQUAGE DES PLANTES

Nous avons inoculé et repiqué les plantules de pin quand elles étaient âgées de 4 semaines avec 20 cm³ de chaque forme d'inoculum. Le traitement témoin a reçu la même quantité d'un mélange tourbe-vermiculite humidifié à l'eau et préalablement stérilisé à 1 'autoclave. L'expérience a été arrêtée au bout de quatre mois.

3 - RESULTATS [figure 4 et tableau 7]

La croissance en hauteur et le poids des parties aériennes ou des racines des pins inoculés avec des cultures mycéliennes obtenues selon la méthode de MARX et ZAK (1965) sont équivalents à ceux des pins inoculés avec des boulettes mycéliennes incorporées au moment de l'inoculation des plantes à de la tourbe vermiculite stérilisée. Avec les boulettes mycéliennes seules, la hauteur des pins est significativement plus importante que celles des pins ayant reçu l'inoculum produit suivant la méthode de MARX et ZAK (1965), mais, il n'en est pas ainsi lorsque l'on considère le poids des parties aériennes ou des racines des plantes.

En ce qui concerne les pourcentages de racines mycorhizées, ils sont significativement plus élevés chez les pins inoculés avec des boulettes mycéliennes mélangées juste avant l'inoculation à de la tourbe-vermiculite qu'avec les autres formes d'inoculum que nous avons testées.

4 - DISCUSSION

Nos résultats montrent que l'inoculum B M T V (boulettes mycéliennes tourbe-vermiculite) et, à un degré moindre, l'inoculum B M (boulettes mycéliennes) sont au moins aussi satisfaisants que l'inoculum M Z (inoculum produit selon la méthode de MARX et ZAK, 1965). Autrement dit, que l'on peut obtenir une bonne croissance et une mycorhization satisfaisante chez les pins

Figure 4 : Effets de l'inoculation de *Pinus caribaea* avec différentes formes d'inoculum de *Pisolithus tinctorius*

- Chaque valeur est la moyenne de six répétitions
- Les traitements repérés par la même lettre ne sont pas significativement différents entre eux au seuil de 5 % selon le test de DUNCAN (1955)

Légende : T : plantes non inoculées

Inoculum M Z : plantes inoculées avec des cultures mycéliennes obtenues selon la méthode de MARX et ZAK (1965)

Inoculum BMTV : plantes inoculées avec des boulettes mycéliennes mélangées juste avant l'inoculation à de la tourbe-vermiculite stérilisée

Inoculum BM : plantes inoculées avec des boulettes mycéliennes seules.

Tableau 7 : Effets de l'inoculation de *Pinus caribaea* avec différentes formes d'inoculum de *Pisolithus tinctorius*

Traitements	Poids des plantes (g)		Pourcentage de mycorhization (%)
	parties aériennes	racines	
Témoin	0,25 a	0,27 a	Ca
Inoculum M Z	3,16 b	2,23 c	41,39 b
Inoculum B M T V	3,45 b	1,90 bc	48,86 c
Inoculum B M	2,88 b	1,52 b	38,16 b

Légende : - Inoculum M Z : plantes inoculées avec des cultures mycéliennes obtenues selon la méthode de MARX et ZAK (1965) ;

▪ Inoculum B M T V : plantes inoculées avec des boulettes mycéliennes mélangées juste avant l'inoculation à de la tourbe-vermiculite stérilisée

- Inoculum B M : plantes inoculées avec des boulettes mycéliennes seules.

- Chaque valeur représente la moyenne de six répétitions ;

- Dans une une même colonne, les valeurs suivies de la même lettre indiquent que les traitements ne diffèrent pas significativement entre eux au seuil de 5 % selon le test de DUNCAN (1955).

en les inoculant avec des cultures mycéliennes produites en fermenteur. L'avantage de la méthode de production d'inoculum E M T V par rapport à celle mise au point par MARX et ZAK (1965) réside, principalement, dans la rapidité de la production de l'inoculum.

Dans les conditions de notre étude, trois semaines ont suffi pour obtenir, en fermenteur, un développement abondant de mycélium de *Pisolithus tinctorius* qu'il suffit de mélanger extemporanément à de la tourbe-vermiculite stérilisée avant l'application sur les plantes. En revanche, suivant la méthode de MARX et ZAK (1965), il faut, pour les mêmes quantités d'inoculum, deux à trois fois plus de temps. Notre méthode présente donc un avantage important.

CHAPITRE III

ETUDE DU COMPORTEMENT DE PINUS CARIBAEA EN RELATION AVEC LA MYCORHIZATION ET LE TYPE DE SOL

1 - INTRODUCTION

Jusqu'à présent, on connaît peu de choses de l'influence des facteurs édaphiques sur la mycorhization (infection) et sur son effet sur la croissance des plantes en milieu tropical. C'est pourquoi, le but de notre étude a été de tenter d'explorer l'effet de ces facteurs édaphiques en examinant la réponse de *Pinus caribaea* à la mycorhization dans des sols appartenant à des types variés.

2 - EXPERIENCE 1 : ÉTUDE DE L'EFFET DE LA TENEUR DU SOL EN P ASSIMILABLE

21 - BUT DE L'EXPERIENCE

Cette expérience a été conçue pour étudier, sur deux sols ayant des propriétés physiques et chimiques très proches, excepté la teneur en phosphore assimilable, les effets de l'inoculation de *Pinus caribaea* avec *Pisolithus tinctorius*.

22 - MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons utilisé les sols Dek et Dior provenant de Bambey (région centre-ouest du Sénégal). Les sols Dek et Dior (cf. tableau 1, annexe3 contiennent respectivement 11 et 82 ppm de P assimilable (teneurs déterminées suivant la méthode de OLSEN, 1954). Ces sols ont été tamisés et autoclavés comme il a été déjà décrit (paragraphe 21, page 13 1 et ont fait l'objet de deux traitements. Ces traitements

Figure 5 : Influence de la mycorhization par *Pisolithus tinctorius* sur la croissance en hauteur (cm) de *Pinus caribaea* cultivé sur deux sols à teneur différente en P assimilable (sols Dek et Dior).

- Chaque valeur est la moyenne de cinq répétitions
- Les traitements non indexés d'une même lettre diffèrent significativement entre eux au seuil de 5 % selon le test de DUNCAN (1953)

Figure 6 : Influence de la mycorhization par *Pisolithus tinctorius* sur le poids de matière sèche (g) des parties aériennes de *Pinus caribaea* cultivé sur deux sols à teneur différente en P assimilable (sols Dek et Dior).

- Même légende que dans la figure ci-dessus.

comprennent des plantes témoins non inoculées et des plantes inoculées avec *P. tinctorius*. Avant d'être soumises aux traitements ci-dessus, les plantules de pins (obtenues à partir de graines désinfectées superficiellement à de l'acide sulfurique) ont été élevées quatre semaines sur du sable stérilisé au préalable à l'autoclave (120°C pendant une heure),

L'inoculum de *P. tinctorius* (5 cm³) a été mis au contact du système racinaire de chaque plant. L'expérience a été arrêtée sept mois après la transplantation des pins en gaine.

23 - RÉSULTATS

Sur les deux sols étudiés (Dek et Dior), la hauteur des pins inoculés avec *P. tinctorius* est supérieure à celle des témoins non inoculés (figure 51. Il convient, cependant, de souligner que cette réponse à l'inoculation est plus importante sur sol Dek que sur sol Dior. Les gains de croissance respectifs calculés par rapport au traitement témoin sont de 144 % et 33 %. D'autre part, l'inoculation de *P. tinctorius* multiplie le poids des pins par dix sur sol Dek et par deux sur sol Dior (cf. figure 61. Par ailleurs, les plantes témoins sur sol Dek ont présenté plus tôt des symptômes de déficience (aiguilles de couleur brun-violet] en P que ceux cultivés dans les mêmes conditions sur sol Dior.

Toutes ces remarques laissent penser que la différence observée dans la réponse à la mycorhization pourrait s'expliquer par la différence de teneur en P assimilable dans ces sols : entre plantes témoins (c'est-à-dire non inoculées) et celles inoculées avec *P. tinctorius*, les différences de hauteur et de poids des parties aériennes sont plus importantes sur sol Dek (111 ppm de P assimilable) que celles observées sur sol Dior (82 ppm de P assimilable).

Tableau 8 : Effets de la mycorhization sur la concentration (%) et la teneur totale (mg/plante) en N, P, K, Ca et Mg dans les parties aériennes de *P. caribaea* cultivé sur deux sols à teneur différente en P assimilable (sols Dek et Dior1)

TRAITEMENTS	N		P		K		Ca		Mg		
	(%)	total (mg/plante)	(%)	total (mg/plante)	(%)	total (mg/plante)	(%)	total (mg/plante)	(%)	total	
ek	Témoïn	1,42 a	11,66 a	0,044 a	0,35 a	1,63	13,46 a	0,42	3,46 a	0,24	1,98 a
	Inoculation avec <i>P. tinctorius</i>	0,57 b	44,70 b	0,056 b	4,38 b	0,77	60,42 b	0,24	18,83 b	0,11	8,63 b
dior	Témoïn	0,63 x	21,68 x	0,064 x	2,20 x	1,18	40,71 x	0,48	16,56 x	0,20	6,90 x
	Inoculation avec <i>P. tinctorius</i>	0,57 x	37,52 y	0,075 x	4,94 y	0,96	63,26 y	0,24	15,81 x	0,11	7,24 x

- Les valeurs ci-dessus représentent la moyenne de cinq répétitions

- Dans chaque colonne et pour un sol donné, les valeurs suivies de la même lettre indiquent que les traitements ne diffèrent pas significativement entre eux, au seuil de 5 %, d'après le test de DUNCAN (1955)

Tableau 9 : Effets de la mycorhization sur la concentration ET. la teneur totale en Mn, Fe, Zn et Cu dans les parties aériennes de *P. caribaea* cultivé sur deux sols à teneur différente en P assimilable (sols Oek et Dior)

SOLS	TRAITEMENTS	Mn		Fe		Zn		CU	
		‰	total (mg/plante)	ppm	total (mg/plante)	ppm	total (mg/plante)	ppm	total (mg/plante)
Dek	Témoïn	0,86	0,70 a	200	0,16 a	20	0,01 a	0	0 U
	Inoculation avec <i>P. tinctorius</i>	0,32	2,50 b	140	1,09 b	16	0,12 b	2,9	0.02 b
Dior	Témoïn	0,34	1,17 x	140	0.48 x	12	0.036 x	0	0 x
	Inoculation avec <i>P. tinctorius</i>	0.16	1.05 x	140	0.91 y	30	0.192 y	1,8	0.01 Y

- Les valeurs ci-dessus représentent la moyenne de cinq répétitions

- Dans chaque colonne et pour un sol donné, les valeurs suivies de la même lettre indiquent que les traitements ne diffèrent pas significativement entre eux, au seuil de 5 % d'après le test de OUNCAN (1955)

Cependant, dans ces mêmes sols, nous avons observé chez tous les plants de *Pinus caribaea* inoculés avec *Pisolithus tinctorius*, de nombreuses racines mycorhizées et l'apparition de carpophores du champignon (photo ci-contre).

En ce qui concerne la nutrition en éléments minéraux des plantes (tableaux 8 et 9), les résultats indiquent :

- une augmentation de la teneur totale en N dans les parties aériennes des pins en présence de *P. tinctorius*, alors que les concentrations en N dans ce traitement sont plus faibles en présence qu'en l'absence de mycorhizes. Ceci est probablement dû à un effet de dilution ;
- que l'effet de la mycorhization sur la concentration en P dans les parties aériennes des plantes est plus marqué quand on utilise le sol très déficient en phosphore assimilable (sol Dek) que lorsque l'on utilise le sol moins déficient (sol. Dior) ;
- une concentration plus forte en K, Ca, Mg, et Mn dans les parties aériennes des plantes sans mycorhizes que dans celles avec mycorhizes, probablement un effet de dilution.

D'autre part, la concentration en Cu dans les tissus des pins est améliorée de façon considérable sur les deux sols lorsque les plantes sont mycorhizées par *P. tinctorius*. Par contre, pour Fe ou Zn, les résultats varient suivant les sols. Sur sol Dek, les pins témoins ont une concentration plus forte en Zn et en Fe que celle des pins mycorhizées, tandis que, sur sol Dior, l'inoculation avec *P. tinctorius* permet d'améliorer la concentration en Zn chez les plantes, mais n'a aucun effet sur la concentration en Fe.

24 - DISCUSSION

Plusieurs auteurs (MARX et collaborateurs, 1975, 1976 ; MOMOH et GBAOEGESIN, 1980 ; OIXDN et al., 1981 ; NAVRATIL et al., 1981 et d'autres) ont montré que les mycorhizes améliorent la croissance et la

Fig. 1 : *Arpogeomys* *Bonellinus tenebrosus*

nutrition en éléments minéraux des plantes. Nous avons pu vérifier ces observations dans les deux sols que nous avons testés dans la présente étude. Nous avons noté que la réponse des pins à l'inoculation avec *P. tinctorius*, aussi bien du point de vue de la croissance végétative que de la nutrition en P, est beaucoup plus marquée sur sol pauvre (Dek) que riche (Dior) en phosphore assimilable, ainsi qu'il a déjà été souligné dans de nombreux travaux.

En ce qui concerne la nutrition en N des plantes mycorhizées, nos résultats sont similaires à ceux de HART et collaborateurs (1980). Ils indiquent un effet de dilution.

En ce qui concerne les autres éléments minéraux, la mycorhization a un effet considérable sur la concentration et la teneur totale en Cu dans les tissus des pins. Des effets similaires ont déjà été rapportés dans diverses études par différents auteurs (GERDEMANN, 1964 ; DAFT et HACSKAYLO, 1977 ; LAMBERT et *al.*, 1979, KABRE, GARBAYE et LE TACON, 1981). Ce résultat s'explique aussi par le fait que les sols considérés sont caractérisés par une déficience assez nette en Cu.

3 - EXPERIENCE 2 : COMPARAISON DE DIX SOLS DE CASAMANCE

3.1 - OBJET DE L'EXPERIENCE

Dans cette expérience, il s'agit de comparer, dans dix sols de Casamance, la réponse à l'inoculation de *P. caribaea* avec *P. tinctorius* ou avec un inoculum mixte de sol contenant des champignons mycorhiziens afin de comparer les deux types d'inoculum (*P. tinctorius* ou inoculum mixte) et de tenter d'élucider l'origine des différences de comportement de l'association *Pinus caribaea*-*Pisolithus tinctorius* dans les différents sols testés,

Figure 7 : Réponse de *Pinus caribaea* à l'inoculation avec *Pisolixus tinctorius* ou avec un inoculum mixte (sol mycorhizien) dans dix sols de Casamance ; poids de matière sèche (g) des parties aériennes.

Légende : 1 : témoin non inoculé ; 2 : plantes inoculées avec *P. tinctorius* ; 3 : plantes inoculées avec un inoculum mixte

- Chaque valeur est la moyenne de cinq répétitions ;
- Pour chaque sol, les traitements indexés d'une même lettre ne diffèrent pas significativement entre eux au seuil de 5 %, d'après le test de DUNCAN (1955) ;
- GROUPE I : sols où les pins répondent le plus favorablement à l'inoculation avec *P. tinctorius*
- GROUPE II : sols où les effets de l'inoculation des pins avec *P. tinctorius* ou avec un inoculum mixte sont équivalents.
- GROUPE III : sols où les pins répondent le plus favorablement à l'inoculum mixte.

32 - MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le tableau 2 en annexe rassemble les principales caractéristiques physiques et chimiques des sols que nous avons utilisés. En dehors du fait que ces sols n'ont pas été stérilisés, leur préparation et le remplissage à moitié des gaines de plastique de dimensions 30 cm x 16 cm (soit environ 1,5 kg de sol par gaine), ont été effectués comme nous l'avons décrit au paragraphe 11 [dernier alinéa - début page 10 1.

Les engrais suivant:; ont été apportés en une fois dans les gaines de plastique :

- . N sous forme de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 75 mg/kg de sol ;
- . K sous forme de KCl, 45 mg/kg de sol.

Le matériel végétal, de même que l'inoculum de *P. tinctorius*, a été obtenu suivant la procédure décrite dans l'expérience 1

Pour chaque type de sol, les trois traitements étudiés comportent des plantes non inoculées (témoins) et celles inoculées avec *P. tinctorius* ou avec un inoculum mixte (*I.m* qui est un sol mycorhizien) prélevé 24 heures avant l'utilisation sur une parcelle plantée en pins des Caraïbes en 1978 en Casamance. Ces pins avaient été inoculés en pépinière avec: de la terre mycorhizée importée de Côte d'Ivoire (HAMEL et al., 19793. Les inoculums *P. tinctorius* ou *I.m* (5 cm³ par plantule d'inoculum sous forme de tourbe-vermiculite et mycélium de *P. tinctorius* ou d'inoculum sous forme de sol mycorhizien *I.m.*) ont été mis au contact des racines des pins. Cet essai a pris fin au bout de quatre mois d'observation.

33 - RÉSULTATS

Les résultats obtenus dans cette étude indiquent que tous les sols réagissent favorablement à l'inoculation des plantes, soit avec

Figure 8 : Pourcentage de mycorhization chez *Pinus caribaea* inoculé avec *Pisolithus tinctorius* ou avec un inoculum mixte (sol mycorhizien) dans dix sols de Casamance

Légende : 2 : plantes inoculées avec *P. tinctorius*

3 : plantes inoculées avec un inoculum mixte

- Chaque valeur est la moyenne de cinq répétitions.

- Pour chaque sol, les traitements indexés d'une même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 %, d'après le test de DUNCAN (1955).

- GROUPE I : sols où les pins répondent le plus favorablement à l'inoculation avec *P. tinctorius*

- GROUPE II : sols où les effets de l'inoculation des pins avec *P. tinctorius* ou avec un inoculum mixte sont équivalents.

- GROUPE III : sols où les pins répondent le plus favorablement à l'inoculation avec un inoculum mixte.

Figure 9 : Pourcentage de longueur racinaire infectée chez *Pinus caribaea* inoculé avec *Pisolithus tinctorius* ou avec un inoculum mixte (sol mycorhizien) dans dix sols de Casamance.

Légende : 2 : plantes inoculées avec *P. tinctorius* 3 : plantés inoculés avec un inoculum mixte.

- Dans chacun des traitements ci-dessus, les racines ont été regroupées pour la détermination du pourcentage de longueur racinaire infectée, de ce fait, le calcul statistique n'a pas été effectué.
- GROUPE I : sols où les pins répondent le plus favorablement à l'inoculation avec *P. tinctorius*
- GROUPE II : sols où les effets de l'inoculation des pins avec *P. tinctorius* ou avec un inoculum mixte sont équivalents.
- GROUPE III : sols où les pins répondent le plus favorablement à l'inoculation avec un inoculum mixte.

Pisolithus tinctorius, soit avec un inoculum mixte. Cependant, en fonction des effets obtenus dans chacun de ces traitements, nous pouvons classer les dix sols dans trois groupes :

331 - GROUPE I : SOLS CU LES PINS REPENDENT LE PLUS FAVORABLEMENT A L'INOCULATION AVEC *P. TINCTORIUS*

Il s'agit des sols de Diakène, de Kabrousse et de Tendouk. Dans ces sols, l'inoculation de *Pinus caribaea* avec *Pisolithus tinctorius* permet d'augmenter, par rapport au traitement témoin, le poids des parties aériennes des plantes de 410 % au minimum et de 1430 % au maximum, alors qu'avec l'inoculum mixte, cette augmentation varie entre 145 et 916 % seulement (figure 71). Dans ces sols également, nous constatons que le pourcentage de mycorhization (figure 8) et le pourcentage de longueur racinaire infectée [figure 9] sont plus élevés chez les pins inoculés avec *P. tinctorius* qu'avec un inoculum mixte.

Nous avons constaté sur le système racinaire des pins mycorhizés par *P. tinctorius*, la présence d'organes sphéroïdaux très durs, de couleur sombre et intimement associés aux racines mycorhizées (photo si-contre). Ces organes pourraient être des sclérotés du champignon, comme l'ont observé aussi DENNIS (1980) sur des racines de *Pinus contorta*, *P. ponderosa* et *P. taeda* cultivés en vases de végétation, en serre ou en conditions semi-contrôlées et sur *P. strobus* par PICHE et FORTIN (1982).

Nous avons effectué avec succès des isollements à partir de ces organes et la comparaison du mycélium issu de ces isolats à celui des souches de collection de *P. tinctorius* ne présente aucune différence morphologique.

Tableau 10 : Effets des inoculations avec *Pisolithus tinctorius* (P.t.) ou avec un inoculum mixte (sol mycorhizien I.m.) sur la nutrition en éléments majeurs de *Pinus caribaea* sur dix sols de Costa Rica.

SOLS	TRAITEMENTS	N		P		K		Ca		Mg		
		(%)	total (mg/plante)	(%)	total (mg/plante)	(%)	total (mg/plante)	(%)	total (mg/plante)	(%)	total (mg/plante)	
GROUPE I	Diakène	T	0,62 a	1,3 a	0,05 a	0,12 a	0,67	1,4 a	0,50	1,07 a	0,18	0,36 a
		P.t.	0,75 a	a,0 b	0,07 b	0,75 b	0,90	10,30 b	0,54	5,79 b	0,20	2,14 b
		7.m.	1,00 b	6,3 b	0,14 c	0,89 b	0,98	6,19 c	0,57	3,59 c	0,18	1,14 c
	Kabrousse	T	0,66 a	2,10 a	0,04 a	0,14 a	0,46	1,53 a	0,40	1,33 a	0,10	0,33 a
		P.t.	0,94 b	21,70 b	0,07 b	1,80 b	0,84	22,71 b	0,57	13,71 b	0,14	3,24 b
		7.m.	0,89 c	7,20 c	0,12 c	0,98 c	0,98	7,99 c	0,54	4,39 c	0,13	1,73 c
	Tendouk	T	1,07 a	1,90 a	0,01 a	0,02 a	0,67	1,25 a	0,43	0,80 a	0,12	0,19 a
		P.t.	1,03 a	28,40 b	0,04 b	1,10 b	0,81	22,40 b	0,54	14,93 b	0,13	3,59 b
		7.m.	1,36 b	16,80 c	0,05 c	0,55 c	0,85	10,66 c	0,51	6,32 c	0,11	1,36 c
GROUPE II	Bayottes	T	0,54 a	1,50 a	0,04 a	0,11 a	0,90	2,66 a	0,43	1,26 a	0,15	0,44 a
		P.t.	0,76 b	8,00 b	0,08 b	0,66 b	0,96	9,44 b	0,70	7,25 b	0,20	2,07 b
		7.m.	0,97 c	9,10 b	0,15 c	1,47 c	0,99	9,51 b	0,76	7,30 b	0,17	1,63 c
	Bignona	T	0,75 a	1,80 a	0,04 a	0,10 a	1,00	2,57 a	0,60	1,48 a	0,20	0,49 a
		P.t.	0,96 b	11,60 b	0,08 b	1,02 b	1,21	14,70 b	0,64	7,77 b	0,18	2,16 b
		7.m.	1,38 c	14,00 c	0,14 c	1,45 c	1,00	10,76 c	0,70	7,25 b	0,18	2,07 b
	Tobor	T	0,63 a	1,60 a	0,04 a	0,11 a	0,65	1,63 a	0,40	1,04 a	0,15	0,38 a
		P.t.	1,03 b	13,30 b	0,07 b	0,95 b	0,81	10,52 b	0,54	7,01 b	0,18	2,33 b
		7.m.	1,41 c	16,80 b	0,16 c	2,25 c	1,15	13,75 c	0,67	8,01 b	0,22	2,62 b
GROUPE III	Diégoune	T	1,08 a	7,10 a	0,02 a	0,10 a	0,72	4,79 a	0,45	2,99 a	0,19	1,26 a
		P.t.	1,13 ab	14,00 b	0,05 b	0,68 b	0,81	10,12 b	0,40	5,00 b	0,16	1,99 b
		7.m.	1,24 b	35,50 c	0,12 c	3,21 c	0,72	20,70 c	0,73	20,96 c	0,19	5,45 c
	Diembarring	T	1,08 a	4,20 a	0,07 a	0,28 a	0,72	2,82 a	0,73	2,87 a	0,18	0,70 a
		P.t.	1,32 a	7,90 a	0,01 a	0,46 a	0,60	3,64 a	0,67	4,07 a	0,19	1,15 a
		7.m.	1,25 a	14,00 b	0,00 a	0,89 b	0,62	6,95 b	0,76	8,52 b	0,17	1,90 b
	Djibélor	T	0,59 a	1,10 a	0,04 a	0,07 a	0,58	1,18 a	0,43	0,67 a	0,15	0,30 a
		P.t.	0,66 a	4,40 b	0,06 b	0,41 b	0,82	5,58 b	0,50	4,21 b	0,22	1,33 b
		7.m.	1,22 b	16,00 c	0,14 c	1,96 c	1,02	13,43 c	0,79	10,39 c	0,21	2,76 c
Santiaba-Manjak	T	0,63 a	2,50 a	0,04 a	0,19 a	0,60	2,64 a	0,48	2,10 a	0,16	0,70 a	
	7.m.	0,96 b	13,70 c	0,16 b	2,39 c	1,05	15,05 c	0,85	12,33 c	0,18	2,57 c	

* T = Témoin non inoculé

- Chaque valeur est la moyenne de cinq répétitions.

- Dans chaque colonne et pour chaque sol, les chiffres suivis de la même lettre, indiquent que les traitements ne diffèrent pas significativement entre eux, au seuil de 5 % d'après le test de DUNCAN (1955).

- GROUPE I : sols où les pins répondent le plus favorablement à l'inoculation avec *Pisolithus tinctorius*

- GROUPE II : sols où les effets de l'inoculation des pins avec *Pisolithus tinctorius* ou avec un inoculum mixte sont équivalents.

- GROUPE III : sols où les pins répondent le plus favorablement à l'inoculation avec un inoculum mixte.

Tableau 11 : Effets des inoculations avec *Pisolithus tinctorius* (P.t.) ou avec un inoculum mixte (sol mycorhizien I.m.) sur la nutrition en oligoéléments de *Pinus Caribaea* dans dix sols de Casamance

SOLS	TRAITEMENTS	Mn		Fe		Zn		
		(‰)	total (mg/plante)	(ppm)	total (mg/plante)	(ppm)	total (mg/plante)	
GROUPE I	Diakène	T	0.23	0.04 a	500	0.10 a	27	0.005 a
		P.t.	0.30	0.31 b	200	0.21 b	28	0.029 b
		I.m.	0.40	0.24 b	220	0.13 a	46	0.029 b
	Kabrousse	T	0.40	0.13 a	280	0.09 a	24	0.014 a
		P.t.	0.42	0.96 b	200	0.46 b	36	0.032 b
		I.m.	0.58	0.46 c	260	0.21 c	44	0.062 c
	Tendouk	T	0.50	0.09 a	170	0.02 a	50	0.009 a
		P.t.	0.32	0.88 b	740	0.66 b	30	0.082 b
		I.m.	0.30	0.36 c	240	0.29 c	4a	0.058 c
GROUPE II	Bayottes	T	0.63	0.18 a	660	0.13 a	33	0.009 a
		P.t.	6.82	0.55 b	240	0.20 b	50	0.047 b
		I.m.	0.54	0.59 c	200	0.22 c	42	0.043 b
	Signona	T	0.12	0.02 a	280	0.06 a	60	0.014 a
		P.t.	0.12	0.14 b	280	0.33 b	68	0.082 b
		I.m.	0.14	0.14 b	240	0.24 c	100	0.703 c
	Tobor	T	0.27	0.06 a	230	0.05 a	23	0.005 a
		P.t.	0.32	0.41 b	340	0.43 b	50	0.064 b
		I.m.	0.30	0.35 c	260	0.30 c	60	0.071 b
GROUPE III	Diégoune	T	0.16	0.11 a	180	0.11 a	24	0.015 a
		P.t.	0.16	0.19 b	220	0.27 b	30	0.036 b
		I.m.	0.20	0.57 c	340	0.97 c	42	0.120 c
	Diemberring	T	0.04	0.015 a	240	0.094 a	20	0.007 a
		P.t.	0.04	0.024 b	300	0.182 b	22	0.012 a
		I.m.	0.02	0.022 b	320	0.358 c	42	0.046 b
	Djibélor	T	0.20	0.03 a	250	0.04 a	15	0.002 a
		P.t.	0.23	0.15 b	230	0.15 b	23	0.015 b
		I.m.	0.38	0.49 c	260	0.33 c	64	0.003 c
Santiaba-Manjak	T	0.24	0.10 a	320	0.13 a	24	0.010 a	
	P.t.	0.24	0.21 b	300	0.23 b	36	0.032 b	
	I.m.	0.26	1.39 c	260	0.36 c	44	0.062 c	

- T = Témoin non inoculé

* Chaque valeur est la moyenne de cinq répétitions

* Dans chaque colonne et pour chaque sol, les chiffres suivis de la même lettre, indiquent que les traitements ne diffèrent pas significativement entre eux, au seuil de 5 % d'après le test de DUNCAN (1955).

* GROUPE I : sols où les pins répondent le plus favorablement à l'inoculation avec *Pisolithus tinctorius*

* GROUPE II : sols où les effets de l'inoculation des pins avec *Pisolithus tinctorius* ou avec un inoculum mixte, sont équivalents.

* GROUPE III : sols où les pins répondent le plus favorablement à l'inoculation avec un inoculum mixte.

En ce qui concerne la nutrition en éléments minéraux des plantes dans les sols de Diakène, Kabrousse et Tendouk, l'inoculation avec *P. tinctorius*, par rapport à celle avec l'inoculum mixte, a un effet beaucoup plus marqué dans presque tous les cas sur la teneur totale que sur la concentration en N, P, K, Ca, Mg (tableau 101 et en Fe et Zn (tableau III dans les parties aériennes des plantes.

332 - GROUPE II SOLS OÙ LES EFFETS DE L'INOCULATION DES PINS AVEC *P. TINCTORIUS* OU AVEC UN INOCULUM DE SOL SONT EQUIVALENTS

Il s'agit des sols de Bayottes, de Bignona et de Tobor. Dans ces sols, le poids des parties aériennes des pins inoculés avec *P. tinctorius* ou avec un inoculum mixte (figure 71, ne diffère pas significativement au seuil de 5 %, d'après le test de OUNCAN (1955). Il en est ainsi pour le pourcentage de mycorrhization (figure 81, sauf dans le cas du sol de Bignona. Par contre, nous remarquons, sur la figure 9, que les pourcentages de longueur racinaire infectée sont plus élevés chez les pins inoculés avec *P. tinctorius* qu'avec un inoculum mixte.

En ce qui concerne la nutrition en éléments minéraux (tableaux 10 et 11) des plantes dans les sols de Bayottes, de Bignona et de Tobor, nous constatons que, par rapport à l'inoculation avec *P. tinctorius*, l'inoculation avec un inoculum mixte accroît davantage la concentration et la teneur totale en P et la concentration en N seulement dans les parties aériennes des plantes. Pour les autres éléments minéraux majeurs (K, Ca et Mg) et les oligoéléments (Mn, Fe et Zn), les effets de l'inoculation avec *P. tinctorius*, ou avec un inoculum mixte, sont variables.

333 - GROUPE III: SOLS OU LES PINS REPONDENT LE PLUS FAVORABLEMENT A L'INOCULATION AVEC UN INOCULUM MIXTE (SOL MYCORHIZIEN)

Il s'agit des sols de Diéoune, de Diemberring, de Djibélor et de Santiaba-Manjak. Dans ces sols, l'inoculation de *Pinus caribaea* avec un inoculum mixte permet d'augmenter, par rapport au traitement témoin, le poids des parties aériennes des plantes de 187 % au minimum et de 538 % au maximum, alors qu'avec *P. tinctorius*, cette augmentation varie entre 54 et 100 % seulement (figure 7).

Dans ces sols, cependant, nous constatons que les pourcentages de mycorhization chez les pins inoculés avec l'inoculum mixte, ou avec *P. tinctorius*, ne diffèrent pas significativement (figure 8) et que les pourcentages de longueur racinaire infectée (figure 9) sont, dans presque tous les cas, plus faibles avec l'inoculum mixte qu'avec *P. tinctorius*.

En ce qui concerne la nutrition en éléments minéraux des plantes dans les sols de Diéoune, de Diemberring, de Djibélor et de Santiaba-Manjak, l'inoculation avec l'inoculum mixte, par rapport à celle avec *P. tinctorius*, a un effet beaucoup plus marqué dans tous les sols sur la teneur en N, P, K, Ca, Mg (tableau 10) et en Fe et Zn (tableau 11) dans les parties aériennes des plantes.

34- DISCUSSION

Nous avons montré, dans cette étude, que tous les dix sols de Casamance réagissent favorablement à l'inoculation de *Pinus caribaea* avec des champignons ectomycorhiziens. Autrement dit, que l'absence de champignons ectomycorhiziens Indigènes est l'une des principales raisons de la mauvaise croissance de *Pinus caribaea* dans ces sols.

Nous avons montré, dans cette étude, parmi les dix sols et avec les deux inoculum (inoculum de *Pisolithus tinctorius* et inoculum mixte sous forme de sol mycorhizien) que nous avons testés, que :

- dans une première catégorie de sols (sols de Diakène, de Kabrousse et de Tendouk), les pins se développent mieux lorsqu'ils ont été inoculés avec *Pisolithus tinctorius* qu'avec un inoculum mixte ;
- dans une deuxième catégorie de sols (sols de Dfégoune, de Diemberring, de Djibélor et de Santiaba-Manjak), les pins mycorhizés par *Pisolithus tinctorius* se développent moins bien que ceux mycorhizés par un inoculum mixte ;
- dans une troisième catégorie de sols (sols de Rayottes, de Bignona et de Tobor), la réponse des pins à la mycorhization par *Pisolithus tinctorius*, ou par un inoculum mixte, est identique. Il est intéressant de constater que, dans ce groupe de sols, bien qu'il n'y ait aucune différence dans l'effet de l'inoculum *Pisolithus tinctorius* et l'inoculum mixte en ce qui concerne le poids des plantes, il y a une différence significative dans l'effet de ces inoculum sur les teneurs des plantes en P notamment. Ce résultat indique que les mycorhizes inoculum mixte, contrairement aux mycorhizes *Pisolithus tinctorius*, agissent sur l'absorption de P sans agir sur la croissance. Ce qui suggère que l'on pourrait dissocier l'effet des mycorhizes sur l'absorption de P de l'effet sur la croissance. On peut aussi penser que l'inoculum mixte contiendrait des microorganismes autres que les champignons ectomycorhiziens qui pourraient Influencer sur l'absorption de P.

Dans la première et la deuxième catégorie de sols, nous avons constaté que, parallèlement à l'amélioration de la croissance végétative du fait de l'inoculation, la concentration et la teneur totale en P et la teneur totale en Zn chez les pins inoculés, soit avec *Pisolithus tinctorius*, soit avec un inoculum mixte, sont significativement plus fortes que celles déterminées chez les plantes non inoculées. Les résultats, concernant l'absorption de Zn, sont à rapprocher de ceux obtenus chez les

Tableau 12 : Etude de corrélations simples entre certaines propriétés chimiques du sol et la réponse à la mycorhization de *Pinus caribaea* par *Pisolithus tinctorius* dans dix sols de Casamance

Caractéristiques chimiques des sols	Paramètres étudiés chez la plante		
	Pourcentage d'augmentation des parties aériennes (1)	Pourcentage d'augmentation de la teneur totale en N (1)	Pourcentage d'augmentation de la teneur totale en P (1)
pH	$y = 24,32 x + 515,18$ $r = - 0,05$	$y = - 0,02 x + 530,38$ $r = - 4.10^{-5}$	$y = - 151,41 x + 1/43,96$ $r = - 0,09$
N total (ppm)	$y = 0,85 x - 11,76$ $r = 0,31$	$y = 0,61 x + 235,20$ $r = 0,23$	$y = 3,89 x - 839,67$ $r = 0,38$
P ₂ O ₅ assimilable (ppm)	$y = - 4,14 x + 573,29$ $r = - 0,24$	$y = - 3,48 x + 672,74$ $r = - 0,21$	$y = - 17,84 x + 1/80,35$ $r = - 0,28$

(1) Les pourcentages d'augmentation (valeurs absolues) ont été calculés par rapport au traitement témoin dans chaque sol.

ectomycorhizes par BOWEN et al. (1974) sur *Pinus radiata*, MOUSAIN et al. (1978) sur *Pinus pinaster* et, chez les endomycorhizes, par OLLIVIER et al. (1982), ainsi que GUEYE (1982) sur *Vigna unguiculata* en association avec *Glomus mosseae*.

Nous avons cherché à étudier la cause des différences de comportement de *Pinus caribaea* dans les dix sols de Casamance que nous avons utilisés. Une étude de corrélation simple avec certaines principales propriétés chimiques de ces sols nous a montré que la réponse de *Pinus caribaea* à la mycorhization par *Pisolithus tinctorius* n'est corrélée significativement à aucun des paramètres chimiques des sols (tableau 12). Cette observation ne nous permet pas d'expliquer la cause des différences de réponse des pins à la mycorhization par *P. tinctorius* dans les dix sols que nous avons étudiés. Cependant, elle incite à penser que, dans certains de ces sols, le faible effet de l'inoculation avec *P. tinctorius* pourrait peut-être s'expliquer par l'action de facteurs propres à ces milieux. Il s'agit là d'une hypothèse qui nous paraît vraisemblable et nous nous sommes proposés de la vérifier en étudiant, dans les deux chapitres suivants, sur un ou deux sols l'influence sur la mycorhization de *Pinus caribaea* par *Pisolithus tinctorius* de divers facteurs du sol de nature chimique ou biologique sans toutefois ignorer que ceux-ci sont multiples et complexes.

CHAPITRE IV

<p style="text-align: center;">INFLUENCE DE TROIS FACTEURS CHIMIQUES SUR L'ÉTABLISSEMENT DE LA SYMBIOSE ECTOMYCORHIZIENNE AVEC <u>PISOLITHUS TINCTORIUS</u></p>

INTRODUCTION

Plusieurs auteurs (BOULLARD, 1958 ; TRAPPE, 1977 ; DOMMERGUES et MANGENOT, 1970 ; SLANKIS, 1974 ; MEYER, 1974 ; SMITH, 1980) ont déjà souligné l'important rôle des facteurs chimiques du sol, entre autres, sur l'établissement de la symbiose ectomycorhizienne. Cependant, jusqu'à présent, très peu d'études ont été consacrées à ce sujet en milieu tropical. C'est pourquoi, après avoir sélectionné parmi différents sols ceux pour lesquels la réponse à la mycorhization de *Pinus caribaea* par *Pisolithus tinctorius* est la plus marquée (chapitre III), il nous est apparu intéressant d'étudier, sur certains sols, l'influence, sur les effets de la mycorhization de *Pinus caribaea* par *Pisolithus tinctorius*, des trois facteurs chimiques suivants : 1. e pH, la fertilisation N P K et l'influence de différentes formes et doses de phosphate.

1 - INFLUENCE DU pH DU SOL SUR LE COMPORTEMENT DE JEUNES PLANTS DE PINUS CARIBAEA EN PRESENCE DE PISOLITHUS TINCTORIUS

U, - OBJECTIF DE L'ÉTUDE

Cette expérience a été conçue pour étudier les effets de la modification du pH (acidification, alcalinisation) sur le comportement de *Pinus caribaea* inoculé avec *Pisolithus tinctorius*.

12 - MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous **avons** réalisé cette expérience sur le sol Dek (deuxième échantillon) et sur le sol de Tendouk :

le sol Dek est un sol neutre (pH 7,0) ; ses principales propriétés physiques et chimiques figurent en annexe, au tableau 3 ;

- le sol de Tendouk est un sol acide (pH 4,2) ; se reporter au tableau 2, en annexe, pour les autres propriétés physiques et chimiques de ce sol .

Ces **sols** ont été fumigués au **bromure de méthyle** et remplis dans des gaines de **plastique**. Sur chaque **sol**, les traitements, répétés six fois, ont été les suivants :

- a) - sol Dek
	- sol neutre (pH 7,0) que nous considérons comme témoin
	- sol acidifié (pH 4,0)

L'acidification du sol a été réalisée à l'aide d'une solution de H_2SO_4 1 N . Le traitement témoin a reçu la même quantité de la solution de H_2SO_4 1 N, neutralisée par une solution de NaOH 1 N

- b) - sol de Tendouk
	- sol acide (pH 4,2) que nous considérons comme témoin
	i - sol "alcalinisé" (pH 6,5)

Pour relever la valeur du pH de ce sol, de 2 unités et 1/2 (4,2 à 6,5), nous avons apporté, par kilogramme de sol, 5 grammes de carbonate de calcium ($CaCO_3$ RP NORMAPUR PROLABO). Cette quantité est comprise dans les valeurs limites (4 - 6 grammes par kilogramme de sol) indiquées par DEMOLON (cité par GROS, 19671 pour les sols suffisamment pourvus en limon comme celui de Tendouk.

Dans chacun des traitements ci-dessus, nous avons mesuré le pH de la solution de CaCl_2 0,01 M.

Les plantules de *Pinus caribaea* de trois semaines d'âge ont été repiquées, inoculées avec *Pisolithus tinctorius*, comme dans nos précédentes études, et arrosées quotidiennement à l'eau de robinet pendant la durée de l'expérience (quatorze semaines).

13 - RÉSULTAT~

131 - SUR SOL DE

Sur ce sol, à pH 7,0, nous observons que les pins se développent mal (aspect chlorotique, jaunissement des aiguilles) et que leurs racines sont très peu mycorhizées par *Pisolithus tinctorius*. Par contre, lorsque l'on acidifie le sol (pH 4,0), la hauteur des pins est multipliée par 3, leur poids total et le pourcentage de mycorhization sont multipliés par 4 et 6 respectivement (tableau 13). En outre, dans le sol acidifié (pH 4,0), par rapport au sol témoin (pH 7,0), il y a une augmentation considérable de la concentration (119 %) et de la teneur totale (577 %) en P dans les parties aériennes des pins. Dans les mêmes conditions, seule la teneur totale en N est augmentée (tableau 14).

Nous remarquons, dans le tableau 13, que la valeur du pH en fin d'expérience est légèrement supérieure à celle relevée en début d'expérience dans le traitement sol acidifié (pH 4.01).

132 - SUR SOL DE TENDOUK

Sur ce sol, à pH 4,2, les pins se développent bien et plus de 30 % de leurs racines sont mycorhizées (tableau 13). Par contre, lorsque l'on alcalinise le sol (pH 6,5), les pins se développent mal : la hauteur des plantes, leur poids total et le pourcentage de

Tableau 13 Influence du pH du sol sur la mycorrhization et son effet sur le comportement sur sol Dek et sur sol de Tendouk

SOLS - TRAITEMENTS	Hauteur (cm)	Production végétale (mg/plante)			Pourcentage de mycorrhization (%)	pH en fin d'expérience	
		Tiges + feuilles	racines	Total			
Dek	Témoïn (pH 7,0)	6,80	0,18	0,13	0,31	4,30	6,9
	Sol acidifié (pH 4,0)	11,30	0,56	0,70	1,26	28,83	5,6
Tendouk	Témoïn (pH 4,2)	10,30	0,91	0,55	1,46	33,18	4,0
	Sol "alcalinisé" (pH 6,5)	7,60	0,26	0,11	0,37	3,07	6,6

- Toutes les plantes ont été inoculées avec
- Le sol Dek a été acidifié avec une solution de H_2SO_4 1 N ; le sol de Tendouk a été "alcalinisé" avec 5 g de $CaCO_3$ par kilogramme de sol
- Les valeurs ci-dessus représentent la moyenne de six répétitions. Dans chaque colonne, et pour chaque sol, les valeurs indiquées diffèrent significativement à 1 % selon le test de DUNCAN (1955) lorsqu'elles ne sont pas suivies de la même lettre
- Les calculs statistiques ont été effectués séparément pour les deux sols.

Tableau 14 : Influence du pH sur la nutrition en N et en P de *Pinus caribaea* mycorhizé par *Pisolithus tinctorius* sur sol Dek et sur sol de Tendouk.

SOLS	TRAITEMENTS	N		P	
		(%)	total (mg/plante)	(%)	total (mg/plante)
Dek	Témoïn (pH 7.0)	1,30 a	2,38 a	0,047 a	0,086 a
	sol acidifié (pH 4.0)	1,42 a	8,04 b	0,103 b	0,583 b
Tendouk	Témoïn (pH 4.2)	1,77 y	16,22 y	0,116 y	1,063 y
	sol "alcalinisé" (pH 6.5)	1,42 x	3,78 x	0,026 x	0,069 x

- Toutes les plantes ont inoculées avec *Pisolithus tinctorius* ;
- Le sol Dek a été acidifié avec une solution de H_2SO_4 1 N ; le sol de Tendouk a été "alcalinisé" avec 5 g de $CaCO_3$ par kilogramme de sol ;
- Les valeurs ci-dessus représentent la moyenne de six répétitions. Dans chaque colonne, et pour chaque sol, les valeurs indiquées diffèrent significativement à 5 % d'après le test de DUNCAN (1955) lorsqu'elles ne sont pas suivies de la même lettre.
- Les calculs statistiques ont été effectués séparément pour les deux sols.

racines infectées par *Pisolithus tinctorius* sont significativement plus faibles [seuil de 5 %] que celles déterminées chez les pins cultivés sur sol à pH acide (4,2). Dans les mêmes conditions, la teneur totale en N, dans les parties aériennes des plantes, diffère significativement, mais il n'en est pas ainsi pour la concentration en N dans les tissus des plantes (tableau 141).

14- DISCUSSION

Il ressort de cette étude que, sur sol à pH initial neutre (Dek) ou rendu presque neutre (Tendouk), la mycorhization du pin des Caraïbes par *Pisolithus tinctorius* se fait mal ; ce qui explique la mauvaise croissance et la faible concentration en N et en P dans les tissus des plantes.

L'abaissement du pH, ainsi que nous l'avons constaté sur sol Dek, favorise la formation de mycorhizes chez les pins : il y a six fois plus de racines mycorhizées à pH acide (4,0) qu'à pH neutre (7,0). Ce résultat est à rapprocher de ceux obtenus par PARK (1971) qui, sur *Tilia americana* mycorhizé par *Cenococcum graniforme*, a montré une corrélation négative entre le pH et le pourcentage de mycorhization, et de ceux de TSERLING [cité par SLANKIS, 1974] montrant qu'un

les sols à pH élevé si la teneur de ces sols en nitrates est faible. Or, nous avons montré que la mycorhization de la même plante par *Pisolithus tinctorius* était affectée par le relèvement du pH du sol de Tendouk qui est pauvre en N. Dans le cas de l'expérience de RICHARDS, les champignons mycorhiziens indigènes n'étaient peut être pas acidiphiles comme l'est *P. tinctorius*. On sait, en effet, tout au moins dans le cas des champignons endomycorhiziens, que le comportement de ceux-ci, vis-à-vis du pH du sol, est différent : *Glomus mosseae* neutrophile et *Glomus fasciculatus* acidiphile (CORNET, travaux non encore publiés).

Toutefois, comme le remarque KIFFER (1974) "la modification du pH du sol est un problème assez délicat", il est possible - mais ceci, nous n'avons pas pu le vérifier - qu'en recherchant à élever le pH du sol de Tendouk, nous ayons altéré d'autres propriétés de ce sol, ce qui justifierait peut être les résultats que nous avons obtenus.

Par ailleurs, si le pH du sol peut être un facteur déterminant pour la réussite ou l'échec de la mycorhization de *Pinus caribaea* par *Pisolithus tinctorius* dans les sols que nous avons étudiés, il est surprenant de constater que les dix sols acides (chapitre III - expérience 2, page 54) réagissent très différemment à l'inoculation des pins avec *Pisolithus tinctorius*. Il y a donc des facteurs autres que le pH qui interviennent, d'où l'idée d'envisager l'étude de la fertilisation N P K, de l'influence de différentes formes et doses de phosphate en relation avec la mycorhization de *Pinus caribaea*.

2 - INFLUENCE DE LA FERTILISATION N P K

21 - INTRODUCTION ET BUT DE L'EXPÉRIENCE

Il est bien connu que :

- 1 - de nombreux sols tropicaux, notamment ceux des pays de savane, ont une faible teneur en éléments minéraux assimilables tels que P

(IPINMIDUN, 3973 ; KADEBA, 1976 ; ROCHE et collaborateurs, 1978 1980 et d'autres], N (voir travaux de NYE et GREENLAND, 1960 ; LAURIE, 1975 ; BATE, 1981) ;

- 2 - dans des sols insuffisamment pourvus en éléments minéraux, la mycorhization est notablement favorisée par un apport modéré d'éléments nutritifs (LOBANOW, 1960, cité par BAULE et FRICKER, 1969 ; PRITCHETT, 1973 ; MARDNEK et *al.*, 1981) ;
- 3 - la croissance optimale de *Pinus caribaea*, ainsi que l'ont montré PLATTEBORZE et *al.*, 1971 ; SUNORALIGAM et ANG, 1971 ; FIELOTNG, 1973 ; CAMERON, RANCE et WILLIAMS, 1981), ne peut pas être obtenue dans des sols contenant moins de 25 ppm de P assimilable. Or, c'est le cas pour la plupart des sols de Casamance étudiés dans le présent travail.

Pour ces trois raisons, il apparaissait intéressant de déterminer sur l'un des sols de Casamance favorable à l'introduction de *Pinus caribaea*, les doses de N P K à apporter pour améliorer la croissance de ce pin, d'une part, et de déceler si l'apport de certains éléments minéraux peut favoriser la mycorhization, d'autre part.

22 - MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons réalisé cette expérience dans des gaines de plastique contenant 0,7 kilogramme du sol de Tendouk fumigué au bromure de méthyle. Les éléments minéraux N, P et K ont été respectivement apportés sous forme de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, P_2O_5 et KCl. Nous avons étudié l'effet de ces engrais à deux doses :

- dose 1 : 75 kg/ha de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, de P_2O_5 et de KCl ;
- dose 2 : 150 kg/ha de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, de P_2O_5 et de KCl.

Cette dernière dose a été étudiée dans le cas d'une fertilisation complète NPK tandis que la première a porté sur toutes les combinaisons faisant intervenir ces différents éléments.

Ces traitements, répétés six fois, et avec ou sans inoculation des plantes avec *P. tinctorius*, peuvent être présentés comme suit :

- 1 - témoin absolu (sans apport d'éléments minéraux NPK)
- 2 - apport de NPK à la dose 1
- 3 - apport de NPK à la dose 2
- 4 - apport de NP à la dose 1
- 5 - apport de NK à la dose 1
- 6 - apport de PK à la dose 1
- 7 - apport de N à la dose 1
- 8 - apport de P à la dose 1
- 9 - apport de K à la dose 1

Les résultats obtenus ont été traités statistiquement, suivant la méthode des blocs décrite par LECOMPT (1965).

23 - RÉSULTATS

231 - EFFETS SUR LA CROISSANCE EN HAUTEUR

La figure 12 fait ressortir les points suivants :

- 1 - avec ou sans engrais, la croissance en valeur absolue est beaucoup plus forte chez les pins cultivés en présence de mycorhizes que chez les témoins sans mycorhizes ;
- 2 - dans le cas d'une fertilisation complète NPK, la réponse de *Pinus caribaea* à la mycorhization par *Pisolithus tinctorius* est plus marquée à la dose de 75 kg/ha [traitement 2) qu'à la dose de 150 kg/ha (traitement 3) ;
- 3 - la fertilisation par N [traitement 7) a un effet très marqué sur la croissance en hauteur des pins mycorhizés par *Pisolithus tinctorius*, celle-ci est significativement différente de celle des plantes mycorhitées sur sol non fertilisé [traitement 1).

Figure 12 : Influence de la fertilisation NPK et de la mycorrhization par *Pisolithus tinctorius* sur la croissance en hauteur de *Pinus caribaea*.

1 : témoin absolu	4 : NP dose 1	7 : N dose 1	dose 1 : 75 kg/ha de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, P_2O_5 et KCl
2 : NPK dose 1	5 : NK dose 1	8 : P dose 1	dose 2 : 150 kg/ha de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, P_2O_5 et KCl
3 : NPK dose 2	6 : PK dose 1	9 : K dose 1	

- Chaque valeur est la moyenne de six répétitions

- Les traitements indexés d'une même lettre ne diffèrent pas significativement entre eux au seuil de 5 %

232 - EFFETS SUR LE POIDS DES PLANTES

Les résultats [tableau 15] montrent, qu'en l'absence de mycorhizes, la fertilisation complète NPK à dose faible ou forte, ou encore l'apport combiné des différents éléments minéraux, ne permet pas d'améliorer le poids des parties aériennes et des racines des plantes. L'observation sur le développement meilleur du système racinaire en présence de mycorhizes est en accord avec celle de CORNET (1981) sur *Acacia raddiana* et *Acacia holosericea*, et son incidence pratique en milieu tropical est importante. En effet, il est bien connu qu'un bon développement du système racinaire des plantes permet d'accroître le pourcentage de reprise de celles-ci lors de la transplantation sur le terrain. De plus, les plantes résistent mieux à la sécheresse et le volume de sol exploré par leurs racines est plus important.

En présence de mycorhizes, nous constatons que le poids des parties aériennes des pins sur sol fertilisé en NPK à la dose de 150 kg/ha (traitement 31, est significativement plus élevé que celui des pins cultivés sur sol ayant reçu une fertilisation NPK à la dose de 75 kg/ha (traitement 2 1. Mais, il n'en est pas ainsi pour le poids des racines des plantes.

La fertilisation par N (traitement 71 a un effet positif très marqué sur le développement des parties aériennes et des racines des pins mycorhizés.

233 - EFFETS SUR LE DEVELOPPEMENT DES MYCORHIZES

Dans le tableau 15, les résultats indiquent que le pourcentage de mycorhization chez les pins cultivés sur sol ayant reçu une fertilisation complète NPK à la dose de 150 kg/ha, est significativement plus élevé que les pourcentages de mycorhization déterminés dans tous les autres traitements avec mycorhizes.

Tableau 15 : Influence de la fertilisation NPK et de la mycorhization par *Pisolithus tinctorius* (P.t.) sur le poids des parties aériennes et des racines des plantes de *Pinus caribaea*

N°- TRAITEMENTS	POIDS DE MATIERE SECHE (g)		Pourcentage de mycorhization
	tiges+feuilles	racines	
1 -Témoin absolu	0,3 ab	0,30 a	0 a
1 -Témoin + P.t.	1,1 cd	0,91 efg	41,06
2 -NPK dose 1	0,3 ab	0,48 abcde	0 a
2 -NPK dose 1 + P.t.	1,1 cd	0,78 bcdef	40,806
3 -NPK dose 2	0,5 b	0,45 abcd	0 a
3 -NPK dose 2 + P.t.	1,4 ef	0,80 cdef	46,36 c
4 -NP dose 1	0,4 ab	0,35 a6	0 a
4 -NP dose 1 + P.t.	1,4 ef	0,93 fg	42,91 b
5 -NK dose 1	0,2 a	0,28 a	0 a
5 -NK dose 1 + P.t.	1,2 cde	1,11 fg	40,33 b
6 -PK dose 1	0,4 ab	0,43 abc	0 a
6 -PK dose 1 + P.t.	1,4 ef	1,30 gh	39,64 b
7 -N dose 1	0,2 a	0,31 a	0 a
7 -N dose 1 + P.t.	1,5 f	1,56 h	36,46 b
8 -P dose 1	0,4 ab	0,45 abcd	0 a
8 -P dose 1 + P.t.	1,0 c	1,03 fg	42,28 b
-K dose 1	0,2 a	0,31 a	0 a
-K dose 1 + P.t.	1,3 def	0,88 defg	0,67 b

- Chaque valeur est la moyenne de six répétitions
- Dans une même colonne, les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes entre elles au seuil de 5 %

- dose 1 = 75 kg/ha de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, P_2O_5 et KCl

- dose 2 = 150 kg/ha de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, P_2O_5

Tableau 16 : influence de la fertilisation NPK et de la mycorhization par *Pisolithus tinctorius* (P. t) sur la nutrition en N et en P de *Pinus caribaea*

N° - TRAITEMENTS	N		P	
	(%)	total (mg/plant)	(%)	total (mg/plant)
1 [Témoin absolu	1,51 b	4,2 b	0,0155 a	0,043 a
- Témoin + P.t.	1,34 b	15,3 g	0,0485 efg	0,055 cd
2 [-NPK dose 1	2,05 cd	7,1 c	0,033 cd	0,115 a
- NPK dose 1 + P.t.	2,27 def	24,1 i	0,0830 k	0,885 f
3 [-NPK dose 3	2,24 def	11,1 f	0,0935 l	0,467 bc
- NPK dose 2 + P.t.	2,41 f	33,2 l	0,0715 j	0,989 f
4 [-NP dose 1	2,12 cde	8,4 d	0,0305 c	0,122 a
- NP dose 1 + P.t.	2,31 ef	32,3 l	0,0620 i	0,868 ef
5 [-NK dose 1	2,14 de	4,5 b	0,0455 ef	0,098 a
- NK dose 1 + P.t.	2,26 def	26,7 j	0,0400 de	0,473 bc
6 [-PK dose 1	2,24 def	9,6 e	0,0550 ghi	0,238 ab
- PK dose 1 + P.t.	2,06 cd	29,5 k	0,0565 hi	0,809 def
7 [-N dose 1	2,22 def	5,1 b	0,0275 bc	0,064 a
- N dose 1 + P.t.	2,87 g	43,9 m	0,0525 fghi	0,805 def
8 [-P dose 1	2,18 def	9,4 de	0,0570 hi	0,247 ab
- P dose 1 + P.t.	1,90 c	19,6 h	0,0580 i	0,599 cd
9 [-K dose 1	0,99 a	2,2 a	0,0190 ab	0,044 a
- K dose 1 + P.t.	1,10 a	14,6 g	0,0470 efg	0,626 cde

- Chaque valeur est la moyenne de six répétitions

- Dans une même colonne, les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes entre elles au seuil de 5 %

• dose 1 = 75 kg/ha de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ P_2O_5 et KCl

- dose 2 = 150 kg/ha de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ P_2O_5 et KCl

234 - EFFETS SUR LA NUTRITION EN N ET EN P (tableau 16)

En dehors des traitements avec N (traitement 7) et avec P (traitement 8), la concentration en N dans les parties aériennes des plantes non mycorhizées et mycorhizées, ne diffère pas significativement.

En ce qui concerne la concentration en P, nous constatons (tableau 16) qu'elle est significativement plus forte dans les tissus des pins mycorhizés par *P. tinctorius* que dans ceux des pins non mycorhizés. Par exemple, dans le cas d'une fertilisation par N (traitement 7), la concentration en P chez les pins mycorhizés est presque le double de celle déterminée chez les pins non mycorhizés. Nous constatons, dans le tableau 16 également, que dans le cas d'une fertilisation complète NPK à la dose 2 (traitement 3), la concentration en P dans les tissus des pins non mycorhizés, est significativement plus faible que celle des pins mycorhizés, alors que dans les mêmes conditions, la teneur totale en P est plus élevée. Il s'agit là probablement d'un effet de dilution.

24 - DISCUSSION

Les résultats de cette étude montrent que :

- 1 - le sol utilisé est probablement carencé en azote. SRIVASTAVA et al. (1979) ont tiré des conclusions analogues sur un sol contenant 0,1 % de N total, valeur qui, rappelons-le, est presque le double de celle déterminée dans le sol de Tendouk (0,067 %). Malgré cette carence, nous avons néanmoins observé que les pins mycorhizés par *P. tinctorius* croissent normalement. Cette observation permet de supposer que, dans des sols peu fertiles tels que le sol de Tendouk, le rôle des mycorhizes ne se limite pas seulement à l'amélioration de la nutrition de P dans les sols déficients en cet élément. La nutrition des plantes en d'autres éléments minéraux (comme c'est le cas ici pour N) peut être améliorée lorsqu'elles

sont en présence de mycorhizes (cf. travaux de HATCH, 1937, pour les ectomycorhizes et ceux de HOLEVAS, 1966 et POSSINGHAM et *al.*, 1971, cités par BOWEN et SMITH, 1981, pour les endomycorhizes) ;

- 2 - la mycorhization favorise, non seulement la croissance, mais augmente aussi le poids de matière sèche des racines (tableau 15). Par ailleurs, de la même façon que LAMB et RICHARDS (1974), ANWAR, 1977 cite par HADI (1980), HART et *al.* (1980), il ne semble pas, dans les conditions expérimentales de notre étude, que la fertilisation par P (apporté sous forme de supertriple) ait gêné le développement des mycorhizes : le pourcentage de mycorhization (tableau 15) chez les pins inoculés avec *P. tinctorius* sur sol non fertilisé (41,0) ne diffère pas significativement à 5 % de ceux des pins inoculés avec *P. tinctorius* sur sol fertilisé en P (42,28) ;
- 3 - l'apport de N seul, ou en combinaison avec P et K, améliore la concentration de cet élément chez les plantes mycorhizées. Cette observation est similaire à celle de POWERS et JACKSON (1978) ;
- 4 - dans le tableau 16, lorsque P est apporté en combinaison avec K (traitement 6), ou séparément (traitement 83, à la dose de 7.5 kg/ha, la concentration en P chez les pins mycorhizés ne diffère pas de celle déterminée chez les témoins.

3 - INFLUENCE DE DIFFÉRENTES FORMES ET DOSES DE PHOSPHATE

31 - EXPÉRIENCE 1 : ÉTUDE DU COMPORTEMENT DE P. CARIBAEA MYCORHIZÉ OU NON EN PRÉSENCE DE DIFFÉRENTES FORMES ET DOSES DE PHOSPHATE

311 - BUT DE L'EXPÉRIENCE

Dans cette expérience, nous voulons étudier la croissance et la nutrition en N et en P de *Pinus caribaea* inoculé ou non avec *Pisolithus tinctorius* et cultivé sur un sol où l'on a apporté du phosphore sous forme de phosphate soluble ou insoluble.

312 - MATERIEL ET METHODES

Cette expérience a été réalisée avec le même sol que dans l'étude précédente (sol de Tendoukl).

Le phosphore a été apporté sous forme de :

- phosphate naturel tricalcique insoluble (phosphate naturel de Taïba) ;
- phosphate organique insoluble (phytate de calcium)
- phosphate minéral soluble (supertriple).

Ces phosphates ont été mélangés au sol à deux doses différentes : 10 et 40 ppm.

L'inoculation a été réalisée en même temps que le repiquage des plantules de 4 semaines d'âge. Elle a consisté à déposer 20 cm³ d'inoculum de *P. tinctorius* sous forme de tourbe-vermiculite au voisinage des racines des plants. Les traitements étudiés pour chaque forme et dose de phosphate comprennent des témoins non inoculés et des pins inoculés avec *P. tinctorius*.

Le dispositif expérimental de cet essai est de type factoriel ($3^1 \times 2^2$) x 6 répétitions en bloc de 12 unités expérimentales, ce qui, en d'autres termes, peut être décomposé en :

- un facteur A à 3 niveaux désignant les trois formes de phosphate : supertriple, phosphate de Taïba et phytate de calcium ;
- un facteur B à 2 niveaux représentant les doses de phosphate étudiées (10 et 40 ppm) ;
- un facteur C indiquant l'absence ou la présence de mycorhizes désignées respectivement ici par 0 et 1.

Pour cette raison, nous avons traité les résultats de cette expérience suivant la méthode statistique décrite par BECK, DOMMERGUES et VAN DEN DRIESSCHE (1969).

L'expérience a été arrêtée au bout de 4 mois.

313 - RESULTATS [voir détail au tableau 5 en annexe]

3131 - Effets sur la croissance en hauteur

Les interactions AB1 et BC et les effets principaux A2 et C sont significatifs à 1%. Mais, du fait de la signification de l'interaction BC, nous n'interpréterons pas l'effet principal C.

. Composante de l'interaction AB1 : formes de phosphate x doses de phosphate

Elle se présente comme suit :

		doses de phosphate (ppm)	
		10	40
Formes de phosphate	supertriple	11,42	9,59
	Taïba et phytate de calcium	9,84	11,34

Ces résultats montrent que l'apport de phosphate soluble (supertriple) à faibles doses, favorise mieux la croissance des pins que les doses plus fortes. Par contre, avec les phosphates insolubles (phytate de calcium et phosphate de Taïba), les effets sont meilleurs à fortes doses.

. Composante de l'interaction BC : doses de phosphate x mycorhization

La composante significative de cette interaction est schématisée par le tableau ci-après :

		doses de phosphate (ppm)	
		10	40
Mycorhization	0	7,50	9,72
	1	12,89	11,95

Il se dégage de ce tableau, que quelle que soit la dose de phosphate appliquée (10 ou 40 ppm), la croissance en hauteur des pins mycorhizés est plus forte que celle des pins cultivés en l'absence de mycorhizes.

. Composante de l'effet principal A2

Elle se schématise comme suit :

formes de phosphate	Taïba	9,42
	phytate de calcium	11,50

Ce tableau indique, qu'avec les phosphates insolubles, la croissance en hauteur des pins est plus forte dans le cas de l'utilisation du phytate de calcium que dans celui du phosphate de Taïba

3132 - Effets sur le poids des plants

. Cas des parties aériennes

Au seuil de 1 %, les effets principaux A2, B et C et les interactions AB1, AB2 et BC sont significatifs. Cependant, il n'y a pas lieu de

discuter des effets principaux A2, B et C, du fait de la signification des interactions AB2 et BC.

La composante de l'interaction A131 permet de comparer les effets obtenus entre le phosphate soluble (supertriple) et les phosphates insolubles (phosphate naturel de Taïba et phytate de calcium) aux doses de 10 et 40 ppm que nous avons étudiées. Cette composante AB1 est schématisée comme suit :

		doses de phosphate (ppm)	
		10	40
Formes de phosphate	swpertriple	0,93	0,94
	Taïba et phytate de calcium	0,73	1,11

Ce schéma indique, qu'à fortes doses (40 ppm), les phosphates insolubles (phosphate de Taïba et phytate de calcium), par rapport au phosphate soluble (supertriple), ont un effet très marqué sur le poids des parties aériennes des plantes.

La composante de l'interaction AB2 permet de comparer les effets obtenus au niveau des deux formes de phosphate insoluble, c'est-à-dire le phosphate de Taïba et le phytate de calcium. Elle se présente comme suit :

		doses de phosphate (ppm)	
		10	40
Formes de phosphate	Taïba	0,75	0,86
	phytate de calcium	0,70	1,36

Il ressort de ce schéma que l'apport de 40 ppm de phosphate de Taïba a un effet positif peu marqué par rapport à celui de 10 ppm sur le poids des parties aériennes des plantes, alors que, dans les mêmes conditions, le phytate de calcium a un effet positif beaucoup plus net : le poids des parties aériennes des plantes est multiplié par 2 environ.

La composante de l'interaction BC est schématisée comme suit :

		doses de phosphate (ppm)	
		10	40
Mycorhization	0	0,47	0,89
	1	1,11	1,21

Ce schéma montre que, quelle que soit la dose de P, le poids des parties aériennes des plantes mycorhizées est plus important que celui des plantes non mycorhizées.

Cah du système racinaire

Seule la composante de l'interaction PC1 (formes de phosphate x mycorhization) est significative au seuil de 1 %. Cette composante se schématise comme suit :

		Mycorhization	
		0	1
Formes de phosphate	supertriple	0,91	0,54
	Taïba et phytate de calcium	0,55	0,99

Ce tableau montre clairement qu'avec le supertriple, le poids des racines des pins est plus faible en présence qu'en l'absence de

P. tinctorius. Par contre, avec les phosphates de Taïba ou le phytate de calcium, le poids des racines des pins mycorhizés par *P. tinctorius* est supérieur à celui des témoins. Cette observation est intéressante à retenir pour le reboisement en milieu tropical semi-aride.

3133 - Effets sur la mycorhization

Au seuil de 1 %, l'interaction AC1 et les effets principaux A1 et C sont significatifs. Cependant, il n'y a pas lieu de discuter des effets principaux A1 et C, du fait de la signification de l'interaction AC1. La composante de cette interaction se présente comme suit :

		Mycorhization	
		0	1
Formes de phosphate	supertriple	0	22,1
	Taïba et phytate de calcium	0	37,0

Les chiffres ci-dessus représentent les valeurs réelles de pourcentages de mycorhization.

Il se dégage de ce schéma que la mycorhization est plus abondante chez les pins cultivés sur sol ayant reçu du phosphate de Taïba ou du phytate de calcium que sur celui ayant reçu du supertriple.

3134 - Effets sur la concentration en N et en P dans les plantes

3134." - Concentration en N

Pour la concentration en N, au seuil de 1 %, les interactions AB1, AC1, AC2, BC et les effets principaux A1, A2, 5 et C sont significatifs. Cependant, en dehors de l'effet principal A2, les autres effets

principaux ne seront pas interprétés ici, compte tenu de la signification des interactions ci-dessus désignées.

• La composante de l'interaction AB1 est schématisée comme suit :

		doses de phosphate (ppm)	
		10	40
Formes de phosphate	supertriple	1,480	1,360
	Taïba et phytate de calcium	2,010	1,565

Il apparaît ici que la concentration en N dans les tissus des pins sur sol fertilisé en phosphates insolubles (phosphate de Taïba, phytate de calcium) est plus forte que celle des pins sur sol fertilisé en supertriple.

• La composante de l'interaction AC1 est schématisée comme suit :

		Mycorhization	
		0	1
Formes de phosphate	supertriple	1,525	1,435
	Taïba et phytate de calcium	2,040	1,555

Il se dégage, de ce schéma que, quelle que soit la forme de phosphate (soluble ou insoluble), la concentration en N dans les parties aériennes des plantes non mycorhizées est plus élevée que celle des pins mycorhizés.

• La composante de l'interaction A32 est schématisée comme suit :

		Mycorhization	
		0	1
Formes de phosphate	Taïba	2,430	1,585
	phytate de calcium	1,650	1,525

Ce schéma montre qu'avec le phosphate de Taïba et, à un degré moindre, avec le phytate de calcium, la concentration en N dans les tissus des pins non mycorhizés est plus forte que celle déterminée chez les pins mycorhizés.

- La composante de l'interaction BC est schématisée comme suit :

Nous remarquons, dans ce schéma, que la concentration en N dans les tissus des pins non mycorhizés est plus forte que celle des pins mycorhizés.

Pour la teneur en N, les interactions AB1, AB2, AC1, BC et les effets principaux A1, B et C sont significatifs. Cependant, nous n'interpréterons pas les effets principaux puisqu'ils ne sont pas libres de toute interaction.

- La composante de l'interaction AB1 se présente comme suit :

Ce tableau indique que la teneur totale en N dans les parties aériennes des pins cultivés sur sol ayant reçu du phosphate insoluble [phosphate de Taïba, phytate de calcium] est plus forte que celle des pins sur sol amendé en supertriple.

- La composante de l'interaction A82 est schématisée comme suit :

		doses de phosphate (ppm)	
		10	40
Formes de phosphate	Taïba	14,39	14,74
	phytate de calcium	12,50	18,20

Il apparaît, dans ce tableau, que la teneur totale en N dans les parties aériennes des plantes est plus élevée avec le phytate de calcium appliqué à forte dose (40 ppm) qu'à faible dose (10 ppm). Par contre, avec le phosphate de Taïba, la teneur totale en N dans les tissus des pins ne diffère pratiquement pas aux deux doses étudiées ici.

- La composante de l'interaction AC1 se présente comme suit :

		Mycorhization	
		0	1
Formes de phosphate	supertriple	11,32	15,69
	Taïba et phytate de calcium	11,69	18,23

Dans ce schéma, il apparaît clairement que, quelle que soit la forme de phosphate, la teneur totale en N est plus forte chez les plantes mycorhizées que chez les plantes non mycorhizées.

- La composante de l'interaction BC se présente comme suit :

		doses de phosphate (ppm)	
		0	1
Mycorhization	0	9,71	13,42
	1	16,89	17,86

Ce schéma indique que la teneur totale en N dans les tissus des plantes mycorhizées est plus forte que celle des plantes non mycorhizées.

3134.2 - Concentration en P

Pour la concentration en P, sont significatifs au seuil de 1 % les interactions AB1, AC1, BC et les effets principaux A1, AZ, B et C. Mais, nous n'interpréterons pas les effets principaux parce que les interactions ci-dessus désignées sont significatives.

- La composante de l'interaction AB1 est schématisée comme suit :

		doses de phosphate (ppm)	
		10	40
Formes de phosphate	supertriple	0,024	0,066
	Taïba et phytate de calcium	0,026	0,031

Lorsque l'on apporte du supertriple à forte dose (40 ppm), on augmente presque trois fois plus (en valeur absolue) qu'à faible dose (10 ppm) la concentration en P dans les tissus des pins. Dans les mêmes conditions, avec le phytate de calcium et le phosphate de Taïba, la concentration en P dans les parties aériennes des plantes est très faiblement augmentée (16 % seulement).

- La composante AC1 est schématisée comme suit :

		Mycorhization	
		0	1
Formes de phosphate	supertriple	0,026	0,063
	Taïba et phytate de calcium	0,017	0,039

Quelle que soit la forme de phosphate, en présence de mycorrhizes, la concentration en P dans les tissus des plantes est multipliée par 2.

- La composante de l'interaction RC se présente comme suit :

		doses de phosphate (ppm)	
		10	40
Mycorhization	L- - . - 01	0,0104	0,026 0,058

A faible dose de P (10 ppm) et en présence qu'en l'absence de mycorrhizes, il y a 61 % d'augmentation de la concentration en P dans les tissus des pins, tandis qu'à forte dose de P, il y a seulement 55 %.

Pour la teneur totale en P, les effets principaux, libres de toute interaction, A1, B et C sont significatifs au seuil de 1 %.

- L'effet principal A* se présente comme suit :

Formes de phosphate	[	supertriple	0,447
		Taiba et phytate de calcium	0,337

Il ressort de ce schéma que la teneur totale en P dans les tissus des pins est plus forte dans le cas de l'utilisation de phosphate soluble (supertriple) que dans le cas de l'utilisation de phosphates insolubles (phosphate de Taiba, phytate de calcium).

- L'effet principal B se schématise comme suit :

	doses de phosphate (ppm)	
	0	1
	0,230	0,457

Ce schéma montre qu'une augmentation de la dose de phosphate entraîne une augmentation de la teneur totale en P dans les tissus des pins.

- L'effet principal C se présente comme suit :

	r	-	0	0,150
Mycorhization	└───────────┘			3
				0,537

Ce tableau indique que la teneur totale en P est presque quatre fois plus élevée dans les parties aériennes des plantes mycorhizées que non mycorhizées.

314 - DISCUSSION

Analysant les résultats de notre expérience, il apparaît, qu'aussi bien en présence de phosphate soluble (supertriple) que de phosphates insolubles (phosphate naturel de Taïba, phytate de calcium), les mycorhizes favorisent la croissance des plantes.

Lorsque l'on augmente de 10 ppm à 40 ppm la dose de supertriple, il n'y a pas d'effet significatif sur le poids des plantes, leur concentration et leur teneur totale en N. Mais il y a une augmentation très nette de la concentration et de la teneur totale en P dans les tissus des pins.

Avec les phosphates insolubles, lorsque l'on augmente la dose de 10 ppm à 40 ppm, il y a un effet plus marqué sur le poids des plantes et un effet moins marqué sur la concentration et la teneur totale en P dans les tissus des plantes. Avec *Pinus caribaea*, LIM et SLJNDRALINGAM (1974), CHEW TEN KOK (1975) ont obtenu des résultats similaires en Malaisie.

Dans notre étude, cependant, il convient de préciser que l'effet significatif sur le poids des plantes est beaucoup plus marqué avec le phytate de calcium qu'avec le phosphate naturel de Taïba. Ceci, probablement en raison de la différence de solubilisation de P dans ces deux formes : le phosphate naturel est bien connu pour être un engrais à action progressive s'étendant sur plusieurs années (JACKSON, 1976) alors que le phytate de calcium est minéralisé plus rapidement

32 - EXPÉRIENCE 2 : EFFET DE L'INOCULATION DE PINUS CARIBAEA AVEC PISOLITHUS TINCTORIUS ET DES THIOBACILLES SUR UN SOL AMENDÉ EN PHOSPHATE NATUREL DE TAÏBA

321 - OBJET DE L'ÉTUDE

Divers travaux (SWABY, 1975 ; SUBBA-RAO, 1977 ; SCHOFIELD et al., 1981, OLLIVIER, 1981) ont montré, qu'en présence de soufre, les thiobacilles sont capables d'acidifier le milieu et de permettre ainsi la solubilisation d'engrais phosphatés très peu solubles comme le phosphate naturel de Taïba. Compte tenu de cela, et afin de permettre une valorisation du phosphate de Taïba, nous nous sommes proposés d'évaluer, sur un sol fertilisé avec cet engrais, les effets d'une inoculation mixte avec *Pisolithus tinctorius*-thiobacilles sur la croissance et la nutrition en éléments minéraux de *Pinus caribaea*.

322 - MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons effectué cette expérience sur sol Dek qui, rappelons-le, a un pH proche de la neutralité (6.2 - mesure au KCl 1 N) et contient 11 ppm de P assimilable. Pour les autres propriétés physiques et chimiques de ce sol, se reporter au tableau 1 en annexe.

Ce sol a été stérilisé à l'autoclave (1 heure à 120°C) et a reçu :

- 40 ppm de P, soit 250 mg de phosphate de Taïba (16 % de PI par kilogramme de sol ;
- 100 mg de soufre sublimé par kilogramme de sol.

Les traitements suivants, répétés 5 fois, ont été étudiés :

- 1 - témoin absolu (sans inoculation et sans apport de phosphate de Taïba)
- 2 - inoculation avec des thiobacilles autoclavés
- 3 - inoculation avec des thiobacilles vivants
- 4 - inoculation avec *P. tinctorius*
- 5 - inoculation avec *P. tinctorius* et thiobacilles vivants.

L'inoculation avec les thiobacilles a consisté en l'apport de 1 g d'une culture (sur support vermiculite³ enrichie en ces bactéries et celle avec *P. tinctorius*, en l'apport de 20 cm³ d'inoculum sous forme de tourbe -vermiculite mycélium.

Le repiquage des plantules de pin de quatre semaines d'âge, ainsi que leur arrosage à l'eau de robinet ont été effectués comme dans les expériences précédentes. Les plantes témoins absolues ont été arrosées une fois toutes les deux semaines à la solution de HEWITT (1966) diluée de moitié (voir composition de cette solution en annexe, tableau 41

L'expérience a été arrêtée seize semaines après la mise en place.

323 - RESULTATS

3231 - Croissance en hauteur et poids des plantes

Les effets des différents traitements sur la croissance en hauteur des pins [figure 11], le poids de matière sèche de leurs parties aériennes (figure 12 A) et de leurs racines (figure 12 B), se classent comme suit

Figure 11 : Croissance en hauteur de *Pinus caribaea* en présence ou en absence de *Pisolithus tinctorius* et de thiobacilles.

Légende

- 1 : témoin absolu
 - 2 : Thiobacilles autoclavés
 - 3 : Thiobacilles vivants
 - 4 : Inoculation avec *P. tinctorius*
 - 5 : Inoculation mixte *P. tinctorius*- thiobacilles vivants
- Chaque valeur est la moyenne de cinq répétitions
 - Dans les traitements 2, 3, 4 et 5 les plantes sont cultivées en présence de phosphate naturel de Taïba (250 mg/kg de sol) et de soufre élémentaire (200 mg/kg de sol).
 - Les traitements indexés de la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5% d'après le test de DUNCAN (1955).

- 1 : Témoin absolu
- 2 : Thiobacilles autoclaves
- 3 : Thiobacilles vivants
- 4 : Inoculation avec *P. tinctorius*
- 5 : Inoculation mixte *P. tinctorius*-Thiobacilles vivants

- Chaque valeur représente la moyenne de cinq répétitions
 * Les traitements indexés de la même lettre ne diffèrent pas significativement entre eux au seuil de 5% d'après le test de DUNCAN(1955).

Remarques : Dans le cas de la figure D, le calcul statistique n'a pas été fait parce que, pour chaque traitement, les racines ont été regroupées pour la détermination de ce paramètre

Figure 12 : Poids des parties aériennes (A), des racines (B), pourcentage de longueur racinaire infectée (C) et pourcentage de longueur racinaire mycorhizant (D) chez *Pinus caribaea* inoculé avec *Pisolithus tinctorius* et/ou avec des thiobacilles.

Tableau 17 : Concentration (%) et teneur totale (mg/plante) en N, P, K, Ca et Mg des parties aériennes de *Pinus caribaea* inoculé ou non avec *Pisolithus tinctorius* et/ou des thiobacilles (sol Dek fumigué)

TRAITEMENTS	N		P		K		Ca		Mg	
	%	total (mg/plante)	%	total (mg/plante)	%	total (mg/plante)	%	total (mg/plante)	%	total (mg/plante)
Témoin absolu	0,61 b	0,19 a	0,044 a	0,13 a	2,03	6,65 a	0,50	1,64 a	0,24	0,78 a
Thiobacilles autoclavés	0,72 c	0,73 b	0,137 d	1,39 b	1,48	15,18 b	0,51	5,22 b	0,20	2,05 b
Thiobacilles vivants	0,53 a	0,96 bc	0,124 c	2,26 cd	1,46	26,65 c	0,37	6,75 bc	0,14	2,55 bc
Inoculation avec <i>P. tinctorius</i>	0,51 a	0,94 bc	0,101 b	1,88 bc	1,36	25,48 c	0,51	9,52 d	0,17	3,18 cd
Inoculation mixte <i>P. tinctorius</i> -thiobacilles vivants	0,53 a	1,14 c	0,109 b	2,48 d	1,25	27,09 c	0,37	8,01 cd	0,16	3,46 d

- Chaque valeur est la moyenne de cinq répétitions
- Dans une même colonne, les valeurs suivies de la même lettre indiquent que ces traitements ne sont pas significativement différents entre eux, au seuil de 5 %, selon le test de DUNCAN (1955)

dans l'ordre décroissant :

P. tinctorius + thiobacilles ou *P. tinctorius* ou thiobacilles vivants
ou thiobacilles autoclavés > témoin absolu.

Toutefois, il convient de noter que les effets de l'inoculation avec *P. tinctorius* et/ou avec des thiobacilles, sont beaucoup plus marqués sur la croissance en hauteur que sur le développement des parties aériennes ou des racines des pins.

3232 - Pourcentage de mycorhization et de longueur racinaire infectée (figures 12 C et D)

Environ 10 % de racines sont mycorhizées chez les pins inoculés avec *P. tinctorius* et avec des thiobacilles, alors que chez les pins inoculés avec *P. tinctorius* seulement, il y a quatre fois plus de racines mycorhizées. Dans les mêmes traitements, les pourcentages de longueur racinaire infectée sont respectivement de 54 et 12 %

3233 - Nutrition en éléments minéraux des plantes (tableaux 18 et 193)

Les effets des différents traitements sur la concentration en N dans les parties aériennes des plantes (tableau 171 se classent comme suit, dans l'ordre décroissant :

thiobacilles autoclavés > témoin absolu) thiobacilles vivants ou *P. tinctorius* + thiobacilles ou *P. tinctorius*.

L'adjonction de thiobacilles n'a eu aucun effet sur la concentration en azote dans les tissus des pins.

Il apparaît (tableau 171) que l'inoculation avec *P. tinctorius* ou avec des thiobacilles vivants et même l'adjonction de thiobacilles autoclavés, accroît significativement la concentration en P dans les parties aériennes des pins par rapport à celle contenue chez les pins témoins.

Tableau 18 : Concentration (°/oo ou ppm) et teneur totale (mg/plante) Mn, Fe et Zn des parties aériennes de *Pinus caribaea* inoculé ou non avec *Pisolithus tinctorius* et/ou avec des thiobacilles (Sol Dek fumigué)

TRAITEMENTS	Mn		Fe		Zn	
	°/oo	total (mg/plante)	ppm	total (mg/plante)	ppm	total (mg/plante)
Témoin absolu	0,15	0,04 a	175	0,05 a	15	0,004 a
Thiobacilles autoclavés	0,54	0,54 b	220	0,21 b	28	0,028 b
Thiobacilles vivants	0,42	0,76 c	140	0,25 b	20	0,036 c
Inoculation avec <i>P. tinctorius</i>	0,36	0,67 bc	180	0,33 c	16	0,029 b
Inoculation mixte <i>P. tinctorius</i> - thiobacilles vivants	0,26	0,55 b	200	0,42 d	16	0,034 c

- Chaque valeur est la moyenne de cinq répétitions

- Dans une même colonne, les valeurs suivies de la même lettre indiquent que ces traitements ne sont pas significativement différents entre eux au seuil de 5 %, selon le test de DUNCAN (1955)

Les effets des différents traitements sur la concentration en P dans les tissus des plantes se classent comme suit, dans l'ordre décroissant :

thiobacilles autoclaves > thiobacilles vivants} *P. tinctorius* +
thiobacilles ou *P. tinctorius* > témoin absolu.

Dans le tableau 17, nous constatons que la teneur totale en P dans les tissus des pins inoculés avec *P. tinctorius* et des thiobacilles est significativement plus forte que celle des pins inoculés avec *P. tinctorius*.

Si l'on considère la teneur totale en K, Ca, Mg [tableau 17], on obtient toujours un effet positif très marqué de l'inoculation avec *P. tinctorius* ou avec *P. tinctorius* et thiobacilles par rapport à l'inoculation avec des thiobacilles pour Mg et un effet positif mais marqué pour K et Ca.

En ce qui concerne les oligoéléments (tableau 18), on notera l'effet très marqué de l'inoculation avec *P. tinctorius* et des thiobacilles sur la concentration en Fe et la teneur totale qui semble doublée par rapport au traitement thiobacilles.

3234 - Observations sur le pH du sol

Nous remarquons dans le tableau 19, que l'inoculation avec les thiobacilles entraîne une diminution de la valeur du pH du sol. Cette diminution est faible, ce qui pourrait faire penser qu'il n'y a pas eu d'acidification notable du sol. En fait, cette acidification a pourtant existé à l'échelle du microhabitat ; il s'agit là d'une hypothèse assez vraisemblable. En effet, comme l'ont déjà observé différents auteurs (SWABY, 1975 ; SUBBA-RAO, 1977 ; SCHOFIELD et *al.*, 1981), les thiobacilles acidifient le sol en présence de soufre élémentaire et favorisent ainsi la solubilisation des phosphates naturels.

Tableau 19 : Valeur du pH du sol en fin d'expérience

(mesure au CaCl_2 0,01 M)

Traitements	Répétitions		Valeur moyenne
	1	2	
Témoin absolu	6,1	6,2	6,1
Thiobacilles autoclavés	6,1	6,1	6,1
Thiobacilles vivants	5,9	5,7	5,6
Inoculation avec <i>P. tinctorius</i>	6,1	6,1	6,1
Inoculation mixte avec <i>P. tinctorius</i> - thiobacilles vivants	6,0	5,8	5,9

324 - DISCUSSION

Il peut paraître surprenant qu'il n'y ait pas de différence significative entre l'effet de l'apport de thiobacilles vivants et celui de thiobacilles autoclavés. Ceci résulte vraisemblablement de ce que nous avons insuffisamment lavé l'inoculum de thiobacilles autoclaves. Ce serait donc l'acide sulfurique formé pendant la culture des thiobacilles (avant leur autoclavage) qui a provoqué la solubilisation du phosphate de Taïba dans ce traitement.

D'autre part, lorsque l'on inocule les pins avec *Pisolithus tinctorius* et des thiobacilles, il y a une diminution du pourcentage de mycorhization, mais l'effet de l'inoculation sur la croissance des plantes est équivalent à celui obtenu dans le cas de l'inoculation avec *Pisolithus tinctorius* seul. Par ailleurs, l'inoculation mixte *Pisolithus tinctorius*-thiobacilles a un effet positif très net sur la nutrition en Fe des plantes.

En conclusion, nous pouvons retenir de cette étude que, dans des sols pauvres en P assimilable comme le sol Dek, l'apport de soufre et l'adjonction de thiobacilles pourraient, dans certains cas, permettre aux plantes de tirer meilleur profit de l'apport de phosphate naturel dans ces sols.

CHAPITRE V

INHIBITION DE LA MYCORHIZATION ET DE LA CROISSANCE DE <i>PINUS CARIBAEA</i> PAR UNE MICROFLORE ANTAGONISTE
--

1 - INTRODUCTION - BUT DE L'EXPERIENCE

Divers travaux ont mis en évidence une activité inhibitrice de certains microorganismes sur la croissance *in vitro* de champignons ectomycorhiziens . Citons, par exemple, les travaux de BRIAN et *al.*, (1945) qui ont montré que *Penicillium gensenii* produit un antibiotique auquel sont sensibles *Suillus bovinus*, *S. grevillei* et *Cenococcum graniforme*. LEVISHON, 1957 (cité par BOWEN et THEODOROU, 1979) a remarqué que la croissance *in vitro* du mycélium de divers bolets est inhibée par *Alternaria tenuis*.

Pour tenter de comprendre les différences de réponse à l'inoculation de *P. caribaea* avec *Pisolithus tinctorius* dans les dix sols que nous avons testés dans l'étude rapportée au chapitre III du présent mémoire, nous avons essayé de savoir si le mauvais développement des pins mycorhizés n'est pas dû à l'action de microorganismes présents dans certains sols. Pour cela, nous avons réalisé la présente étude sur deux sols où l'effet du pH ou celui de la teneur du sol en P assimilable ne pouvaient être mis en cause, puisqu'il s'agit, dans les deux cas, de sols acides et à faible teneur en P assimilable. Ces deux sols sont les suivants :

- , Tendouk, sol où les pins ont répondu le plus favorablement à l'inoculation avec *Pisolithus tinctorius* ;
- , Djibélor, sol où l'on a obtenu les plus mauvais résultats de la mycorhization de *P. caribaea* par *Pisolithus tinctorius*.

Les principales caractéristiques physiques et chimiques de ces deux sols figurent au tableau 2 en annexe.

2 - TRAITEMENTS ETUDIÉS ET DISPOSITIF EXPERIMENTAL

Chacun des sols ci-dessus désignés a été fumigé ou non au bromure de méthyle et rempli dans des gaines de plastique [dimensions a plat : 30 cm x 16 cm),

Les traitements étudiés ont été les suivants pour chaque sol :

- sol fumigé
- sol fumigé + suspension de sol de Djibélor à 10 %
- sol non fumigé
- sol non fumigé + suspension de sol de Djibélor à 10 %.

Les pins ont été repiqués à 4 semaines d'âge et ont tous été inoculés avec *Pisolithus tinctorius* : 20 cm³ d'inoculum (sous forme de tourbe-vermiculite, lavé plusieurs fois à l'eau de robinet par plante.

La suspension du sol de Djibélor a été obtenue comme suit : 500 g de sol sont versés dans 5 litres d'eau stérile. On agite ce mélange pendant une heure et on le fait passer sur un papier filtre. Le filtrat ainsi obtenu a été apporté aux plantes en trois fois (600 ml par plante à la 1ère, 5ème et 13ème semaine après la mise en place de l'expérience). Le ph de la suspension de sol relevé, après filtration, a été de 6,2 - 6,3 3 chaque fois.

Le dispositif expérimental de cet essai est de type factoriel 2³ x 3 répétitions en bloc de 8 unités expérimentales, ce qui, en d'autres termes, peut être décomposé en :

- , un facteur A à 2 niveaux désignant le type de sol utilisé (sol de Tendouk ou de Djibélor) ;
- , un facteur B à 2 niveaux indiquant que les sols ont été fumigués (+) ou non fumigués I-1 ;
- , un facteur C à 2 niveaux indiquant l'apport (+) ou non (-) de la suspension de sol de Djibélor.

Pour cela, nous avons traité les résultats de cette expérience suivant la méthode statistique décrite par BECK, DOMMERGUES et VAN DEN DRIESSE (1969).

L'expérience a été arrêtée au bout de quatre mois.

3 - RESULTATS (voir détail tableau 6 en annexe)

3.1 - EFFETS SUR LA CROISSANCE EN HAUTEUR

Au seuil de 1 %, l'interaction AB et les effets principaux A, B, C sont significatifs. Cependant, du fait de la signification de l'interaction AB, il est sans objet d'interpréter les effets principaux A et B.

La composante de l'interaction AB (type de sol x fumigation) est schématisée comme suit :

		Type de sol	
		Tendouk	D jibélor
Fumigation	-	16,55	10,70
	+	18,35	16,70

Il apparaît ici que la fumigation du sol favorise la croissance en hauteur des plants.

La composante de l'effet principal C (suspension de sol de Djibélor) se présente comme suit :

suspension de sol de Djibélor	
-	+
17,73	13,43

Ce tableau indique que les microorganismes de la suspension de sol de Djibélor inhibent très nettement la croissance en hauteur des plantes (photo ci-contre).

32 - EFFETS SUR LE POIDS TOTAL DES PLANTES

L'interaction BC et les effets principaux B et C sont significatifs à 1 %. Cependant, nous n'interpréterons pas les effets principaux B et C, du fait de la signification de l'interaction BC (fumigation x suspension) dont la composante se schématise comme suit :

		Fumigation	
		-	+
suspension de sol de Djibélor	L	-	+
		2,73	4,39
		+	-
		2,16	2,63

L'activité inhibitrice des microorganismes de la suspension de sol de Djibélor sur le poids total des plantes est beaucoup plus marquée sur sol fumi gué que non fumi gué.

33 - EFFETS SUR LA MYCORHIZATION

Au seuil de 1 %, les interactions AC, BC et les effets principaux A, B et C sont significatifs, Mais, comme les interactions AC et BC sont significatifs, nous n'interpréterons pas les effets principaux A, B et C.

Photo 1 : Sol de Tandoak - Croissance de *Pinus caribaea* mycorrhizé par *Pisolithus tinctorius* et en présence, ou non, de microorganismes de la suspension du sol de Djibélor

A = sol stérilisé	C = sol non stérilisé
B = sol stérilisé + micro-organismes du sol de Djibélor	D = sol non stérilisé + microorganismes du sol de Djibélor

Photo 2 : Sol de Djibélor - Croissance de *Pinus caribaea* mycorrhizé par *Pisolithus tinctorius* et en présence, ou non, de microorganismes de la suspension du sol de Djibélor

La composante de l'interaction AC (type de sol x suspension de sol de Djibélor) est représentée par le schéma ci-après :

		Type de sol	
		Tendouk	Djibélor
Suspension de sol de Djibélor	-	50	30,50
	+	30	14,70

Les chiffres ci-dessus représentent les valeurs réelles de pourcentage de mycorhization. Avec la suspension de sol de Djibélor, le pourcentage de mycorhization chez les pins diminue de 40 % sur sol de Tendouk et de 52 % sur sol de Djibélor.

La composante de l'interaction RC (fumigation x suspension de sol de Djibélor) est représentée par le schéma suivant :

		Fumigation	
		-	+
Suspension de sol de Djibélor	-	31,00	49,50
	+	15,00	23,50

Les chiffres ci-dessus représentent les valeurs réelles de pourcentage de mycorhization.

Il se dégage du schéma ci-dessus que l'action des microorganismes de la suspension de sol de Djibélor sur la mycorhization est identique sur sol fumigé et non fumigé. Dans ces deux cas, le pourcentage de mycorhization diminue de 50 % environ.

34 - EFFETS SUR LA NUTRITION EN N ET EN P DES PLANTES

341 - NUTRITION EN N DES PLANTES

a) - Pour la concentration en N dans les plantes, seul l'effet principal, libre de toute interaction, est significatif au seuil de 1 %.

342 - NUTRITION EN P DES PLANTES

a) - Pour la concentration en P dans les plantes, sont significatifs à 1% l'interaction AB et l'effet principal B. Cependant, l'effet principal B ne sera pas interprété **parce** que l'interaction AB est significative.

La composante de l'interaction AB (type de sol x fumigation) est représentée comme l'indique le schéma suivant :

		Type de sol	
		Tendouk	Djibélor
Fumigation	-	0,061	0,050
	+	0,070	0,090

Ce schéma montre clairement que la concentration en P est plus élevée dans les tissus des pins sur sol fumigué que non fumigué. Toutefois, nous pouvons préciser que cet effet positif de la fumigation est beaucoup plus marqué sur sol de Djibélor que sur celui de Tendouk, probablement en raison du fait que, dans ce dernier sol, nous avons remarqué que P n'est pas le facteur limitant principal, mais N (voir chapitre IV - Etude de la fertilisation NPK, pages 73 à 81)

b) - Pour la teneur totale en P dans les plantes, les interactions AB et BC et les effets principaux B et C sont significatifs à 1%. Cependant, comme l'interaction BC est significative, l'interprétation des effets principaux B et C est sans objet.

La composante de l'interaction AB se schématise comme suit :

		Type de sol	
		Tendouk	Djibélor
Fumigation	-	1,59	0,93
	+	2,31	3,02

Il ressort de ce tableau que la teneur totale en P est plus forte dans les tissus des pins sur sol fumigué que sur sol non fumigué. Nous ajouterons que la remarque que nous avons faite sur la concentration en P (c'est-à-dire, effet de la fumigation plus marqué sur sol de Djibélor que sur celui de Tendouk - voir paragraphe 342, alinéa 1) se vérifie également au niveau de la teneur totale en P dans les tissus des plantes.

La composante de l'interaction BC est schématisée comme suit :

		Fumigation	
		┌───────────┐	
		└───────────┘	
		+	
Suspension de sol de Djibélor	-	1,50	3,46
	+	1,02	1,82

Ce schéma indique que la teneur totale en P dans les parties aériennes des pins sur sol fumigué ou non fumigué est plus faible en présence qu'en l'absence des microorganismes de la suspension de sol de Djibélor.

4 - DISCUSSION

Faute de temps, nous n'avons pas poursuivi plus loin cette étude préliminaire. Néanmoins, les résultats que nous avons obtenus font ressortir les points suivants :

- 1 - les microorganismes de la suspension de sol de Djibélor exercent une activité inhibitrice sur la mycorhization de *Pinus caribaea* par *Pisolithus tinctorius*. Ces microorganismes réduisent aussi les effets de la mycorhization sur la croissance et la nutrition en éléments minéraux des pins. En effet, nous avons montré que, lorsque l'on réintroduit dans le sol de Djibélor stérilisé sa propre microflore sous forme de suspension de sol, la croissance en hauteur, le poids total, le pourcentage de racines mycorhizées et la nutrition en P des plantes sont considérablement affectés.

Dans le cas du sol de Tendouk, la microflore exogène (microflore de Djibélor) apportée par suspension de sol, est vraisemblablement compétitive puisque l'on a un effet inhibiteur très marqué de cette microflore exogène sur la croissance en hauteur, l'infection des racines de pins par *Pisolithus tinctorius* et leur nutrition en P dans le sol de Tendouk non stérilisé.

Ces résultats, bien qu'encore insuffisants pour expliquer les observations qui ont été faites dans cette étude, sont intéressants parce que :

- d'une part, ils montrent que la réponse des pins à la mycorhization par *Pisolithus tinctorius*, dans certains des sols de Casamance que nous avons étudiés (voir chapitre III), ne résulte pas toujours de l'influence des facteurs physico-chimiques des sols, mais, peut être influencée par des facteurs biologiques, vraisemblablement la présence de microorganismes antagonistes;
 - d'autre part, ils apportent un élément de réponse à l'échec des premières inoculations de *Pinus caribaea* en Casamance, rapporté par GIFFARD (1966, 1967) et par DELWAULLE (1978).
- 2 - L'intérêt de la fumigation au bromure de méthyle de certains sols de Casamance, tel que celui de Djibélor, pour favoriser une expression meilleure de l'inoculation de *Pinus caribaea* avec *Pisolithus tinctorius*,

CONCLUSIONS GENERALES

Comme le souligne IVORY (1980), jusqu'à présent, peu d'études ont été consacrées aux ectomycorhizes des pins exotiques en milieu tropical. Nos travaux sur l'un de ces pins (*Pinus caribaea* var. *hondurensis*) ont permis de montrer, sur plus de dix sols du Sénégal, l'absence de champignons mycorhiziens indigènes capables de former une symbiose avec ce pin. Cette observation suggère que l'introduction de *Pinus caribaea* au Sénégal pose, comme préalable, la maîtrise de la mycorhization de ce pin en pépinière, par un champignon ectomycorhizien tel que *Pisolithus tinctorius*.

Dans cette optique, nous avons comparé différentes techniques de production de l'inoculum de *Pisolithus tinctorius*. Au cours de cette étude, nous avons observé, comme JUNG et MUGNIER (communication personnelle) sur *Hebeloma cylindrosporum*, que la culture en fermenteur permet d'obtenir un développement abondant et rapide du mycélium de *Pisolithus tinctorius*. Cette technique de culture nous a permis d'accélérer la préparation de l'inoculum du champignon en comparaison de la technique de culture habituelle, c'est-à-dire, celle mise au point par MARX et ZAK (1965) : 2 à 3 semaines, au lieu de 6 à 8, suffisent pour disposer de grandes quantités de mycélium de *Pisolithus tinctorius* utilisable tel quel ou après incorporation juste avant l'inoculation des plantes à un support tel que la tourbe-vermiculite.

Dans nos expériences (réalisées dans des conditions naturelles de température et de lumière au Sénégal), l'inoculation de *Pinus caribaea* avec *Pisolithus tinctorius* nous a permis de montrer que les effets de la mycorhization et le comportement de *Pisolithus tinctorius* varient considérablement suivant les sols utilisés. Par exemple, nous avons montré, sur deux sols du Sénégal (Dek et Dior), que l'effet de la mycorhization par *Pisolithus tinctorius* sur la croissance de *Pinus caribaea* varie en fonction de la teneur

en P assimilable : sur sol Dek contenant 11 ppm de P assimilable, la mycorhization multiplie le poids des pins par 10 et, sur sol Dior contenant 82 ppm de P assimilable, par 2 seulement. De même, la concentration et la teneur totale en P dans les parties aériennes des pins mycorhizés sont respectivement augmentés (par rapport à celles des plantes témoins) de 27 % et de 151 % sur sol Dek ; de 47 % et de 125% sur sol Dior.

Par ailleurs, il convient de souligner que la nutrition en Cu des plantes mycorhizées a été améliorée de façon considérable (concentration en Cu chez les pins non mycorhizés sur les deux sols : 0 ppm ; chez les pins mycorhizés sur sol Dek : 2,9 ppm et sur sol Dior : 1,8 ppm).

Notre travail a également montré que le pH du sol peut être un facteur déterminant pour la réussite ou l'échec des inoculations. Nous avons pu vérifier, sur sol Dek, qu'un abaissement de la valeur du pH du sol de 7,0 à 4,0 favorise l'installation de la mycorhization chez les plants de *Pinus caribaea* et une expression meilleure de l'effet de leur inoculation avec *Pisolithus tinctorius*. Par contre, sur sol de Tendouk, un relèvement de la valeur du pH du sol de 4,2 à 6,5, gêne considérablement la formation des mycorhizes : le pourcentage de racines mycorhizées passe de 33,18 à 3,07 %.

Par ailleurs, nous avons constaté, qu'en combinant l'apport d'éléments minéraux N, P, K et la mycorhization, on améliore, non seulement le développement des parties aériennes des plantes et la nutrition de celles-ci en N ou en P, mais aussi le développement des racines des plantes. On a là un exemple parmi de nombreux autres d'un bénéfice supplémentaire de la conjugaison des effets de la fertilisation et de la mycorhization et dont l'incidence pratique est importante dans les reboisements en zone tropicale.

D'autre part, comme l'a déjà observé OLLIVIER (1981) sur *Vigna unguiculata*, nous avons remarqué que, dans certains cas, on peut améliorer l'utilisation de phosphates insolubles (comme, par exemple, le phosphate naturel de Ta'ba produit, au Sénégal) par les pins en les inoculant avec *Pisolithus tinctorius* et avec des thiobacilles.

Dans une étude réalisée sur dix sols de Casamance, nous avons montré que la réponse des pins à la mycorhization par *Pisolithus tinctorius*, ou par un inoculum mixte (sous forme de sol mycorhizien), est très variable. Dans une première catégorie de sols (sols de Diakène, de Kabrousse et de Tendouk), les pins se développent mieux lorsqu'ils sont mycorhizés par *Pisolithus tinctorius* que lorsqu'ils le sont par un inoculum mixte. Dans une deuxième catégorie de sols (sols des Bayottes, de Bignona et de Tobor), les effets de l'inoculation des pins avec *Pisolithus tinctorius*, ou avec un inoculum mixte, sont identiques. Dans une troisième catégorie de sols (sols de Diégoune, de Diemberring, de Ojibélor et de Santiaba Manjakl), les pins mycorhizés par *Pisolithus tinctorius* se développent moins bien que ceux mycorhizés par un inoculum mixte.

Nous avons cherché à étudier la cause des différences de comportement de *Pinus caribaea* observées dans ces différents sols. Une étude de corrélation simple avec les propriétés chimiques des sols nous a montré que la réponse de *Pinus caribaea* à la mycorhization par *Pisolithus tinctorius* n'était reliée à aucun des paramètres chimiques des sols étudiés. Dans un de ces sols (sol de Djibélor), nous avons constaté que l'échec de la mycorhization ne résulte pas toujours de l'intervention des facteurs physico-chimiques défavorables (tels que le pH trop élevé, la carence en certains éléments minéraux), mais pourrait être le fait de l'action d'une microflore antagoniste.

Dans la littérature, on trouve quelques informations sur la microflore de la mycorhizosphère. MARX (1389) a mis en évidence,

in vitro, l'effet inhibiteur des champignons mycorhiziens vis-à-vis des champignons phytopathogènes. Mais, inversement, on n'a peu d'information sur l'inhibition de la mycorhization par les microorganismes du sol. Nos résultats, indiquant la présence probable dans le sol de Djibélor de microorganismes antagonistes de *Pisolithus tinctorius*, sont intéressants, d'autant plus que ces microorganismes conservent cette activité antagoniste même quand ils sont artificiellement introduits dans un autre sol initialement favorable à l'inoculation avec *Pisolithus tinctorius* comme le sol de Tendouk. Cette observation appelle les hypothèses suivantes :

- 1 - les microorganismes antagonistes de *Pisolithus tinctorius*, présents dans le sol de Djibélor, devraient, pour exprimer leur activité inhibitrice, se développer dans la rhizosphère de *Pinus caribaea* cultivé dans le sol de Tendouk. Ce seraient donc des microorganismes de type "rhizosphérique" vivant aux dépens des éléments exsudés des racines de *Pinus caribaea* ;
- 2 - ces microorganismes expriment leur activité inhibitrice même en présence de la microflore naturelle du sol de Tendouk. Ce qui incite à penser qu'ils seraient :
 - ou bien des compétiteurs puissants croissant plus vite que les autres microorganismes dans la rhizosphère et empêchant ainsi l'infection des racines de *Pinus caribaea* par *Pisolithus tinctorius*,
 - ou bien des producteurs d'antibiotiques très efficaces contre *Pisolithus tinctorius*.

Du point de vue pratique, on peut retenir, de cette étude, que l'échec de l'inoculation en milieu tropical pourrait, parfois, être dû à l'activité inhibitrice des microorganismes du sol. On devrait donc, pour faciliter l'établissement des champignons mycorhiziens, éliminer les microorganismes compétiteurs et antagonistes.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLEY, G. N., 1953
Experiments in soil bacteriology
Burgess Publishing Co, p. 36-48.
- ANWAR, C., 1977
The effects of nitrogen and phosphorus fertilizers and
the inoculation method on the development of mycorrhiza
and the growth of *Pinus merkusii* seedlings.
Sarjana Thesis, Faculty of Forestry, Bogor Agricultural
University, Bogor.
- BALDWIN, H. I., 1942
Forest tree seed of the North temperate regions with
special reference to North America.
Waltham, Mass., USA 240 p.
- BATE, G. C., 1981
Nitrogen cycling in savanna ecosystems,
In Terrestrial Nitrogen Cycles. Ecol. Bull.
(F.E. CLARK et T. ROSSWALL, ed.) 33 : 463 - 475
- BAULE, H. et FRICKER, J., 1969
La fertilisation des arbres forestiers - 256 p.
BLV Verlagsgesellschaft mbH, München.
- BECK, G., DOMMERS, J. R. et VAN DEN OORIESSCHE, R., 1969
L'effet litier. II - Etude expérimentale du pouvoir
inhibiteur des composés hydrosolubles des feuilles et
des litières forestières vis-à-vis de la microflore
tellurique.
(Ecol. Plant, 4 : 237 - 266
- BOULLARD, B., 1958
Progrès récents dans l'étude des mycorhizes ectotrophes.
Bulletin de la Société Botanique de France, 105 : 60 - 93.
- BOWEN, G. D., 1980
Mycorrhizal roles in tropical plants and ecosystems.
In Tropical Mycorrhiza Research (P. MIKOLA, ed.)
p. 165 - 190 - Clarendon Press Oxford - New York.
- BOWEN, G. D. et THEODOROU, C., 1979
Interactions between bacteria and ectomycorrhizal fungi.
Soil Biol. Biochem., 11 : 119 - 126.

- BOWEN, G.D., SKINNER, M.F. et BEVEGE, D.I., 1974
Zinc uptake by mycorrhizal and uninfected roots of
Pinus radiata and *Araucaria cunninghamii*.
Soil Biol. Biochem. 6 : 141 - 144.
- BOWEN, G.D. et SMITH, S.E., 1981
'The effects of mycorrhizas on nitrogen uptake by plants.
In Terrestrial Nitrogen Cycles Ecol. Bull.
(F.E. CLARK et T. ROSSWALL, ed.) 33 : 237 - 247.
- BRIAN, P.W., HEMMING, H.G. et Mc GOWAN, J.C., 1945
Origin of a toxicity of mycorrhiza in Wareham Heath.
Nature, Lond., 155 : 637 - 638
- CAMERON, D.M., RANCE, S. J. et WILLIAMS, E.R., 1981
Fertilizer responses of *Pinus caribaea* var. *hondurensis*
on tropical red earth.
Aust. For. Res., 11 : 35 - 45.
- CHAUDRY, M.A., 1980
Ectomycorrhiza **of** *Pinus caribaea* in Uganda.
In Tropical Mycorrhiza Research (P. MIKOLA, ed.)
p. 88 - 89 - Clarendon Press Oxford - New York
- CHEW TEN KOK, 1975
Preliminary notes on the performance of experimental
plantations in Bahau F.R.
Malay. For., 38 : 140 - 148
- CHU-CHOU, M., 1979
Mycorrhizal fungi of *Pinus radiata* in New Zealand.
Soil Biol, Biochem., 11 : 557 - 562
- CLEMENT, A., 1977
Point 77 sur certaines analyses foliaires.
Document ronéo 24 p., INRA/CNRF - Station de Recherches
sur les sols Forestiers et la Fertilisation
- COME, D., 1962 a
Comment l'oxygène nécessaire à la germination des graines
parvient-21 à l'embryon ?
Rev. Gen. Bot., 69 : 563 - 573
- CORNET, F., 1981
Recherches préliminaires sur la symbiose de deux Acacia
tropicaux (*A. raddiana* SAVI et *A. holosericea* A. GUNN.)
avec *Rhizobium* sp et un champignon endomycorhizien
(*Glomus mosseae* NICOL et GERD. 3
Mémoire de 3ème année ENTTEF, 58 pages,

- DAFT, M.J. et HACSKAYLC E., 1977
 Growth of endomycorrhizal and non mycorrhizal red maple seedlings in and and anthracite spoil.
 Forest Sci., 3 : 207 - 216
- DE LA MENSBRUGE, M. G., 1969
 Rapport annue 1969
 CTFT Côte d'Ivoire, 85 pages
- DELWAULLE, J.C., 1978
 Plantations forestières en Afrique Tropicale sèche -
 Techniques et espèces à utiliser
 Centre Technique Forestier Tropical, 178 pages
- DENNIS, J.J., 1980
 Sclerotia of the gasteromycete *Pisolithus tinctorius*.
 Can. J. Microbiol., 26 : 1505 - 1507
- DTXON, R.K., GARRETT, H.E., BTXBY, J.A., COX, G.S. et TOMPSON, J.G., 1981
 Growth, ectomycorrhizal development and root soluble carbohydrates of black oak seedlings fertilized by two methods.
 Forest Sci., 7 : 617 - 624
- DOMMERMUES, Y. et MANGENOT, F., 1970
 Ecologie microbienne du sol.
 Masson, Paris 796 p.
- DUGGAR, B.M. et DAVIS, W., 1919
 Seed disinfection for pure culture work : the use of hypochlorites
 Ann. No. Bot. Gard., 6 : 159 - 170
- DUNCAN, D.B., 1955
 Multiple rang and multiple F tests
 Biometrics 11 : 1 - 42
- EKWEBELAM, S.A., 1973
 Studies on pine mycorrhizae at Ibadan
 Fed. Dept. Forest Res. Research Paper (Forest Series) 18 : 10 p.
- EKWEBELAM, S.A., 1980
 Preliminary studies of inoculation of *Pinus* species with ectomycorrhizal fungi in Nigeria
 In Tropical Mycorrhiza Research (P. MIKOLA, ed.)
 p. 80 - 81 -arendon Press Oxford.
- FABRE, J.P. 1968
 Recherches sur la mycorrhization des jeunes pins en Côte d'Ivoire.
 CTFT, Abidjan Côte d'Ivoire, 19 p.

- F A O, 1976
Boisement des savanes en Afrique
Kaduna, Nigéria, 353 p.
- FIELDING, J.M., 1973
Establishment of an experimental plantation and trial
plantations and investigation of **growth rates**,
fertilising and wood **characteristics** in West Malaysia
FAO, FO : SF/MAL/67/512
Working Paper 22, Kuala Lumpur, 130 p.
- GAY, G., 1978
Influence de trois champignons ectamycorhiziens,
Hebeloma sarcophyllum Peck, *Hebeloma hiemale* Bresadola
et *Suillus bellinii* (Inz.) Marchand, sur la croissance,
le développement et la nutrition de jeunes plantules
de Pinus *Pinus halepensis* Mill.
Thèse Doctorat de spécialité, Lyon, 159 p.
- GERDEMANN, J.W., 1964
The effect of mycorrhizae on the growth of maize
Mycologia 56 : 342 - 349.
- GIFFARD, P.L., 1966
Rapport d'activité 1966 - Programme de recherches 1967.
Doc. interne Centre Technique Forestier Tropical,
Sénégal, 173 p.
- GIFFARD, P.L., 1967
Rapport d'activité 1967 - Programme de recherches 1968
Doc. interne Centre Technique Forestier Tropical,
Sénégal, 184 p.
- 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, Philippines, 197 - 199.
- GROS, A., 1967
Engrais - Guide pratique de la fertilisation
436 pages, La Maison Rustique - Paris
- GUEYE, M., 1982
Vigna unguiculata en symbiose avec *Rhizobium* sp. OU
Glomus mosseae.
Thèse de 3ème cycle, Lyon, 100 p.

- HACSKAYLO, E., 1973
Carbohydrate physiology of ectomycorrhizae.
In *Ectomycorrhizae* (G.C MARKS et T.T. KOZLOWSKI, eds)
p. 207 - 230 - New York : Academic Press.
- HACSKAYLO, E., PALMER, J.G. et VOZZO, J.A., 1965
Effects of temperature on growth and respiration of
ectotrophic mycorrhizal fungi.
Mycologia, 57 : 748 - 758
- HAOI, S., 1980
Some characteristics of mycorrhizae associated with
Pinus merkusii.
In *Tropical Mycorrhiza Research* CP. MIKOLA, ed.)
p. 98 - 101 - Clarendon Press Oxford, New York
- HAMEL, O., MALAGNOUX, M. et TAMBA, A., 1978
Rapport d'activité des programmes de Basse Casamance
ISRA 48
Secrétariat d'Etat à la Recherche Scientifique et Technique
Doc. ronéo, 97 p.
- HARLEY, J.L. et WAID, J.S., 1955
The effect of light upon the roots of beech and its
surface population
Plant and Soil . 7 : 95 - 132
- HART, P.B.S., WIDDOWSON, P.P., WATTS, H.M. et CHU CHOU, M., 1980
Response of *Pinus caribaea* var. *hondurensis* seedlings
to mycorrhizal inoculum, phosphorus and pH
Aust. For. Res. 10 : 389 - 396
- HARTLEY, C., 1912
Use of soil fungicides to prevent damping-off of
coniferous seedlings
Proc. Soc. Am. For. 7 : 96 - 99
- HATCH, A.B., 1937
The physical basis of mycotrophy in *Pinus*.
Black Rock Forest Bull. 6 : 168 p.
- HEWITT, E.J., 1966
Sand and water culture methods used in the study
of plant nutrition
Technical communication n° 22 (2nd éd.)
Commonwealth Agricultural Bureau, London, 431 - 432.
- HOLEVAS, C.D., 1968
The effect of vesicular-arbuscular mycorrhiza on the
uptake of soil phosphorus by strawberry (*Fragaria* sp.
var. Cambridge Favourite)
J. hort. Sci. 41 : 57 - 64

- IPINMIDUN, W. B., 1973
 Comparison of some methods for determining organic phosphorus in some Nigerian soils.
 Soil. Sci., 115 : 324 - 325
- IVORY, M.H., 1980
 Ectomycorrhizal fungi of lowland tropical pines in natural forests and exotic plantations.
 In Tropical Mycorrhiza Research (P. MIKOLA, ed.) p. 110 - 117
 Clarendon Press Oxford, New York
- JACKSON, J.K., 1976
 Utilisation des engrais dans les plantations en savane.
 In Boisement des savanes en Afrique, Kaduna, Nigéria (FAO, ed.), p. 168 - 176, Rome
- JACKSON? M.L., 1964
 Soil chemical analysis.
 Prentice Hall, Inc - Englewood Cliffs NJ., 153 - 154
- KABRE, A., GARBAYE J. et LE TACON, F., 1981
 Influence de la mycorrhization et de la fertilisation sur le comportement de jeunes plants d'Erable sycomore (*Acer pseudoplatanus* Linkl).
 Eur. J. For. Path., 12 : 97 - 103
- KADEBA, CI., 1976
 Nutrition des pins (*Pinus caribaea* et *Pinus oocarpa*)
 In Boisement des savanes en Afrique
 Kaduna, Nigéria (FAO, ed.), p. 274
- KELLMAN, M. et HUDSON, J., 1982
 Nutrition of *Pinus caribaea* in its native savanna habitat.
 Plant and Soil, 64 : 381 - 391
- KEMP, R.H., 1970
 Trials of exotic tree species in the savanna region of Nigeria.
 Part II - Short notes on selected species - Samaru, Zaria, Nigeria.
 Savanna Forestry Research Station - Research Paper n° 6.
- KIFFER, E., 1974
 Etude des champignons mycorrhiziens et de quelques autres souches associées à l'*Epicea* en Lorraine.
 Thèse Doctorat de spécialité, Nancy, 109 pages.
- LAMB, A.F.A., 1967
 Choix des pins pour le boisement des plaines tropiques.
 Colloque international FAO sur les peuplements artificiels et leur importance industrielle.
 Rome, FAO ; 2 : 1009 - 1030.

- LAMB, A. F. A., 1973
Pinus caribaea
 Vol. 3 Fast Growing Timber Trees of Lowland Tropics n° 6
 Commonwealth Forestry Institute, Oxford.
- LAMB, R. J., 1974
 Effect of D-glucose on utilization of single carbon sources by ectomycorrhizal fungi,
 Trans. Br. Mycol. Soc., 83 : 295 - 306
- LAMB, R. J. et RICHARDS, B. N., 1974
 Inoculation of pines with mycorrhizal fungi in natural soils.
 1 - Effects of density and time of application of inoculum and phosphorus amendment on mycorrhizal infection.
 Soil Biol. Biochem., 6 : 167 - 171
- LAMBERT, D. H., BAKER, D. F. et COLE, H., 1979
 The role of mycorrhizae in the interactions of phosphorus with zinc, copper and other elements.
 Soil Science Society of America, Journal 43 : 976 - 980
- LARSEN, J. A., 1925
 Methods of stimulating germination of western white pine seed.
 Jour. Agr. Res., 31 : 889 - 899
- LAURIE, V., 1975
 Méthodes de plantation forestière dans les savanes africaines.
 Collection FAO : Mise en valeur des forêts n° 19, 194 pages.
- LECOMPT, M., 1965
 L'expérimentation et les engrais.
 Extrait du Bulletin des Engrais, 91 pages.
- LEVISHON, I., 1937
 Antagonistic effects of *Alternaria tenuis* on certain root-fungi of forest trees.
 Nature, 178 : 1143 - 1144.
- LIM, F. Y. et SUNDRALINGAM, P., 1974
 Some preliminary results of fertilizer applications on the growth of 5 years old *Pinus caribaea* Mor. var. *hondurensis* stand.
 Malay. For., 37 : 120 - 126
- LIDBANK, N. W., 1960
 Mykorrhizien der Holzpflanzen, VEB, Deutscher Verlag d. Wissenschaftler, Berlin.
- LUNDERGARDH, H., BURSTRÖM, H. et EKSTRAND, H., 1930
 Organiska näringsämnenas inverkan på groendens och groddtillväxten av stråsadd.
 Kgl. Landbruks - Akad. Handl. och Tidskr. 69 : 602 - 632

- MAC DONOUGH, W.T. et CHADWICK, D.L., 1970
 Pregerminative leaching losses from seeds.
 Plant and Soil, 32 : 327 - 334
- MAIGNIEN, R., 1965
 Carte pédologique du Sénégal au 1/1 000 000.
 Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer,
 Centre de Dakar-Hann
- MARONEK, O.M., HENORIX, J.W. et STEVENS, C.D., 1981
 Fertility - mycorrhizal - isolate interactions in production
 of containerized pin oak seedlings.
 Scientia Horticulturae, 15 : 283 - 289
- MARX, D.H., 1969
 The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the
 resistance of pine roots to pathogenic infections.
 I - Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic
 fungi and soil bacteria.
 Phytopath., 59 : 153 - 163
- MARX, D.H., 1976
 Synthesis of ectomycorrhizae on loblolly pine seedlings
 with basidiospores of *Pisolithus tinctorius*
 Forest Sci., 22 : 13 - 20
- MARX, D.H., 1977
 Tree host range and world distribution of ectomycorrhizal
 fungus *Pisolithus tinctorius*
 Can. J. Microbiol., 23 : 277 - 223
- MARX, O.H. et BRYAN, W.C., 1970
 Pine culture synthesis of ectomycorrhizae by
Telephora terrestris and *Pisolithus tinctorius*
 on different conifer hosts.
 Can. J. Bot., 48 : 639 - 643
- MARX, D.H. et BRYAN, W.C., 1971
 Influence of ectomycorrhizae on survival and growth of
 aseptic seedlings of loblolly pine at high temperature.
 For-est. Sci., 17 : 37 - 43
- MARX, D.H. et BRYAN, W.C., 1975
 Growth and ectomycorrhizal development of loblolly pine
 seedlings in fumigated soil infested with the fungal
 symbiont *Pisolithus tinctorius*.
 Forest Sci., 21 : 245 - 254
- MARX, O.H., BRYAN, W.C. et CORDELL, C.E., 1976
 Growth and ectomycorrhizal development of pine seedling
 in nursery soils infested with the fungal symbiont
Pisolithus tinctorius
 Forest. Sci., 22 : 91 - 100

- MARX, D.H., HATCH, A.E. et MENDICINO, J.F., 1977
 High soil fertility decreases sucrose content and susceptibility of loblolly pine roots to ectomycorrhizal infection by *Pisolithus tinctorius*
 Can. J. Bot., 25 : 1569 - 1574
- MARX, D.H. et ZAK, B., 1965
 Effect of p on mycorrhizal formation of slash pine in aseptic culture
 Forest Sci. 11 : 66 - 75
- MEGINNIS, H.G., 1955
 Sulphuric acid treatment for black locust seed.
 Occas. Paper: 47, So. For. Exp. Station
- MEJSTRIK, V.K. et KRAJE, H.H., 1973
 Uptake of ³²P by *Pinus radiata* roots inoculated with *Suillus luteus* and *Cenococcum graniforme* from different sources of available phosphate,
 New Phytol. 72 : 137 - 140
- MEYER, F.H., 1973
 Distribution of ectomycorrhizae in native and man-made forests.
 In Ectamycor rhizae - Their ecology and physiology (G.C. MARKS et T.T. KOZLOWSKI, eds), p. 79 - 105
 Academic Press New York.
- MEYER, F.H., 1974
 Physiology of mycorrhizae
 Ann. Rev. Plant Physiol. 25 : 567 - 586
- MIKOLA, P., 1980 a
 Tropical Mycorrhiza Research.
 Clarendon Press Oxford, New York, 270p.
- MIKOLA, P., 1980 b
 Importance of mycorrhiza in tropical soils.
 In Global Impacts Applied Microbiology. Sixth International Conference (S.O. EMEJUAWE., O. OGUNBI et S.O., SANNTI, eds) p. 97 - 105 Academic Press, London.
- MOMOH, Z.O. et GBADEGESIN, R.A., 1980
 Field performance of *Pisolithus tinctorius* as a mycorrhizal fungus of pines in Nigeria
 In Tropical Mycorrhiza Research (P. MIKOLA, ed.), p. 72 - 79 - Clarendon Press Oxford.
- MOUSAIN, O., POITOU, N. et DELMAS, J., 1978
 La symbiose mycorrhizienne : résultats obtenus avec 1 *Hebeloma cylindrosporum* et le *Pisolithus tinctorius*, et perspectives d'application agronomique.
 Mushroom Science, 10 : 949 -- 956

- NAVRATIL, S., PHILLIPS, N.J. et WYNIA, A., 1981
 Jack pine seedlings performance improved by
Pisolithus tinctorius
 Forestry Chronicle, 57 : 212 - 217
- NYE, P. H. et GREENLAND, D.J., 1960
 The soil under shifting communication
 Tech. Comm; 51, Com. Bur. Soils., Harpenden.
- ODEYINDE, M.A. et EKWEBELAM, S.A., 1974
 In search of a suitable fungus for pine mycorrhization
 in Southern Nigeria.
 Paper presented at Annual Conference of Forestry Association
 of Nigeria, 30s.
- ODDOUX, L., 1957
 Recherches sur les mycéliums secondaires des Homobasidiés
 en culture pure (morphologie, cytologie, exigences
 alimentaires].
 Thèse de Doctorat d'Etat, Lyon, 346 pages
- OFOSU ASIEDU, A., 1980
 Field performance of *Pinus caribaea*, inoculated with pure
 culture of four mycorrhizal fungi.
 In Tropical Mycorrhizal Research (P. MIKOLA, edl.
 p. 82 - 87 - Clarendon Press Oxford.
- OFOSU ASIEDU, A. et GYIMAH, A., 1972
 Assessment of the presence and types of mycorrhiza in
 some pine plots in Ghana
 Technical Newsletter 6, FPRT, Kumasi.
- OLLIVIER, B., 1983
 Endomycorhize et *Rhizobium* en symbiose avec *Vigna unguiculata*.
 Thèse de Doctorat de Spécialité, Aix-Marseille,
 100 p.
- OLLIVIER, B., DIEM, H.G., PINTA, M. et DOMMERGUES, Y.R., 1982
 Effect of endomycorrhizae on the concentration on F and Zn
 in *Vigna unguiculata* shoots.
 (sous presse)
- OLSEN, S.R., COLE, L.V., WATAMABE, F.S. et DEAN, L.A., 1954
 Estimation of available phosphorus in soils by extraction
 with sodium bicarbonate.
 Circ. U.S. Dep. Agric. 339
- ONIJCHIE, C.F.A., 1976
 Définition, classification et étendue de la savane africaine.
 In Boisement des savanes en Afrique - Kaduna, Nigeria
 (FAO, ed.) P: 1 - 10 - Rome

- PACHLEWSKI, R. et PACHLEWSKA, J., 1974
 Studies on symbiotic properties of mycorrhizal fungi of pine (*Pinus silvestris* L.) with the aid of the method of mycorrhizal synthesis in pure culture on agar. Forest Research Institute - Warsaw.
- PALMER, J. G., 1969
 Techniques and procedures for culturing ectomycorrhizal fungi. In Mycorrhizae (E. HACSAYLD, ed.) - Proceedings of the 1th North American Conference on Mycorrhizae - April 1969 - MISC. Publication 1189. USDA - Forest Service.
- PALMER, J. G. et HACSAYLD, E., 1970
 Ectomycorrhizal fungi in pine culture. I - Growth on single carbon sources. Physiologia Plantarum 23: 1187 - 3197.
- PARK, J. Y., 1971
 Some ecological factors affecting the formation of *Cenococcum* mycorrhizae on Basswood in Southern Ontario. Can. J. Bot. 49: 95 - 97
- PICHE, Y. et FORTIN, J. A., 1982
 Development of mycorrhizae extramatrical mycelium and sclerotia on *Pinus strobus* seedlings. New Phytol., 91: 231 - 220
- PLATTEBORZE, A., Ee CHONG SEN et SUNDRALINGAM, P., 1971
 A preliminary study of the correlation between the N, P and K content of the soils and growth of *Pinus caribaea* var. *hondurensis* in West Malaysia. Malay. For. 34: 113 - 132
- POSSINGHAM, J. V. et GROOT OBBINK, J., 1971
 Endotrophic mycorrhiza and the nutrition of grape vines Vitis, 30: 120 - 130
- POTDEVIN, D., 1980
Pinus caribaea Morelet en Guyanne Française
 Rapport de stage ENITEF, 37 pages.
- POWERS, R. F. et JACKSON, G. D., 1978
 Ponderosa pine response to fertilization: influence of bush removal and soil type. Res. Paper PSW - 132, 9. p.
- PRITCHETT, W. L., 1973
 The effect of nitrogen and phosphorus fertilizers on the growth and composition of loblolly and slash pine seedlings in pots. Proceedings, Soil and Crop Science Society of Florida 32: 161 - 165.

- RAIMBAULT, M. et ALAZARD, D., 1980
Culture method to study fungal growth in solid fermentation
Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 9 : 199 - 209
- RAMBELLI, A., 1971
Preliminary mycological studies on the forest and savanna
soils of the Ivory Coast
Rev. Ecol. Biol. Sol. 8 : 219 - 226
- REDHEAD, J.F., 1968 a
Mycorrhizal associations in some Nigerian forest trees
Trans. Br. Mycol. Soc. 51 : 377 - 387
- REDHEAD, J.F., 1979
Soil mycorrhiza in relation to soil fertility and productivity
In Soils Research in Agroforestry (H.M., MONGI et P.A., HUXLEY, eds)
p. 175 - 204 - Tech. Ed. DAVID SPURGEON ICRAF.
- REDHEAD, J.F. 1980
Mycorrhizae in natural tropical forests.
In Tropical Mycorrhiza Research
(P. MIKOLA, ed.), p. 127 - 142
Clarendon Press Oxford, New York
- REDHEAD, J.F., 1982
Ectomycorrhizae in the tropics.
In Microbiology of Tropical Soils and Plant Productivity
(Y., DOMMERGUES et H.G., DIEM, eds) p. 253 - 269
- RICHARDS, B.N., 1963
Soil pH and mycorrhiza development in Pinus.
Nature 190 : 105 - 106
- RIESS, S. et RAMBELLI, A., 1980
Preliminary notes on mycorrhizae in a natural tropical rain forest.
In Tropical Mycorrhiza Research (P. MIKOLA, ed.) p. 141 - 145
Clarendon Press Oxford, New York
- RINAUDO, G., 1970
Fixation biologique de l'azote dans trois types de sols de
rizière de Côte d'Ivoire.
Thèse de Docteur Ingénieur, Montpellier, 121 p.
- ROCHE, P., GRIERE, L., BABRE, D., CALBA, H. et FALLAVIER, P., 1978
La carence en phosphore des sols intertropicaux et ses
méthodes d'appréciation - Premières conclusions et premiers
résultats.
IMPHOS, Paris, 25 pages.
- ROCHE, P., GRIERE, L., BABRE, D., CALBA, H. et FALLAVIER, P., 1980
Le phosphore dans les sols intertropicaux : appréciation
des niveaux de carence et des besoins en phosphore.
Publication scientifique n° 2 - IMPHOS, Paris
48 pages.

- SLJNDRALIGHAM, P. et ANG, T.B., 1971
Responses of *Pinus caribaea* var. *hondurensis* to
fertilization on Eungor soil of Rantau Panjang Forest Reserve
Malay. For, 30 : 135 - 139
- SWABY, R.J., 1975
Biosuper biological superphosphate.
In Sulfur in Australian Agriculture (K.D., Mc LACHLAN, ed.)
p. 213 - 222 CSTR0 Glen Osmond.
- TAN, K.H. et NOPAMORNBOON, V., 1979
Fulvic acid and the growth of the ectomycorrhizal fungus
Pisolithus tinctorius.
Soil Biol. Biochem. 11 : 651 - 653
- THEODOROU, C. et BOWEN, D., 1969
The influence of pH and nitrate on mycorrhizal associations
of *Pinus radiata*. D. don.
Aust. J. Bot. 17 : 59 - 67
- TOOLE, E.H. et DRUMMOND, P.L., 1924
The germination of cotton seed.
Jour. Agr. Res. 28 : 285 - 293
- TRAPPE, J.M., 1977
Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries
Ann. Rev. Phytopathol. 15 : 203 - 222
- TRAPPE, J.M., 1961
Mycorrhizae and productivity of arid and semiarid rangelands.
In advances in food producing systems for arid and semiarid lands.
p. 581 - 599
Acad. Press Inc., New York
- TRUONG, B., PICHOT, J. et BEUNARD, P., 1978
Caractérisation et comparaison des phosphates naturels
tricalciques d'Afrique de l'Ouest en vue de leur utilisation
directe en agriculture
Agron. Trop. 13 : 136 - 145
- TSERLING, G., 1973
Importance of mycorrhiza in the nutrition of larch seedlings.
Mikologiya i fitopatologiya 7 : 30 - 33
- ZAK, B. et BRYAN, W.C., 1963
Isolation of fungal symbionts from pine mycorrhizae
Forest Sci. 9 : 270 - 278.

- SASEK, V. et MUSILEK, V., 1969
 Growth promotion of slowly growing mycorrhizal basidiomycetes in submerged culture.
 in Mycorrhizae (E. HACSAYLO, ed.) - Proceedings of the 1th North American Conference on Mycorrhizae - April 1969
 Misc. Publication 1189 - USOA - Forest Service
- SCHOFIELD, P.E., GREGG, P. E. H. et SYERS, J.K., 1981
 "Biosuper" as a phosphate fertiliser : a glasshouse evaluation,
 N.Z. Journal of Experimental Agriculture 9 : 63 - 67
- SCHRAMM, J.R., 1966
 Plant colonization studies on black wastes from anthracite mining in Pennsylvania.
 Trans. Am. Philos. Soc., 56 : 194 p.
- SIHANONTH, P., MAHAMONTRI, V. et BODHARAMIK, V., 1982
 Pure culture synthesis of ectomycorrhizae by *Pisolithus tinctorius* on *Pinus khasya*.
 In IFS Provisional report 12 - Training Course on Mycorrhiza Research Techniques - Serdang, Malaysia, 502 p.
- SLANKIS, V., 1974
 Soil factors influencing formation of mycorrhizae.
 Ann. Rev. Phytopathol. 12 : 437 - 457
- SMITH SALLY, S. E., 1980
 Mycorrhizas of autotrophic higher plants
 Biol. Rev. 55 : 475 - 510
- SMITH, R. A., 1982
 Nutritional study of *Pisolithus tinctorius*
 Mycologia 74 : 54 - 58
- SPAETH, J.N., 1932
 Hastening germination of basswood seeds.
 Jour. For, 30 : 925 - 928
- SPAETH, J. N. et AFANASIEV, N., 1939
 The effect of sterilization with calcium hypochlorite on germination of certain seeds.
 Jour. For, 37 : 371 - 372
- SRI VASTAVA, P.B.L., NARUDDIN, A. et ZAINORIN, B.A., 1979
 The response of *Pinus caribaea* Nor. var. *hondurensis* seedlings to nitrogen, phosphorus and potassium fertilizers.
 Plant and soil 51 : 215 - 232
- SUBBA-RAO, N. S., 1977
 Role of soil microorganisms in sulphur, phosphorus and trace element nutrition of plants.
 In soil Microorganisms and Plant Growth (N.S., SUBBA-RAO, ed.) 287 p. - Oxford IBH Publishing Co.

ANNEXES

Tableau 1 : Principales caractéristiques physiques et chimiques des sols prélevés à BAMBEY (analyses effectuées par le laboratoire de chimie de l'ORSTOM Dakar).

S O L S	Argile (%)	Limon (%)	Sable (%)	P assimilable (ppm) *	P total (ppm)	N total (ppm)	C/N	pH(KCl N)	pH(H ₂ O)
Dek (1er échantillon)	8.5	3.3	88.1	11	82	300	18.4	6.2	7.0
DIUI	4.0	3.3	92.5	82	118	320		7.0	8.0

* dosage selon la méthode de OLSEN (1954)

**Tableau 2 : Principales caractéristiques physiques et chimiques des sols prélevés en Casamance
(analyses effectuées par le laboratoire de chimie de l'ORSTOM Dakar)**

S O L S	Argile (%)	Limon (%)	Sable (%)	P assimilable* (ppm)	P total (ppm)	N total (ppm)	C/N	pH(KCl N)	p H (H ₂ O)
BAYOTTES	11.5	7.1	79.5	10	49	320	16.4	3.8	4.9
BIGNONA	9.5	6.4	80.9	13	67	540	13.9	6.5	7.5
OIAKENE	6.9	9.2	83.5	23	41	320	11.6	4.1	5.3
OIEGOUNE	4.5	15.1	78.8	11	35	570	13.7	3.0	4.8
DIEMBERRING	2.3	2.3	95.6	43	104	680	12.5	5.9	6.5
DJIBELOR	6.0	9.4	83.9	9	43	340	11.8	3.8	3.3
KABROUSSE	8.3	10.3	80.8	21	61	410	8.5	4.7	5.7
TENOOUK	18.5	41.6	37.7	11	52	670	13.9	4.2	5.4
TOBOR	9.8	8.9	79.5	19	54	660	12.9	5.0	5.8
SANTIABA-MANJAK	7.4	11.2	80.4	13	43	360	8.9	4.0	4.8

* Dosage selon la méthode de OLSEN (1954)

Tableau 3 : Principales caractéristiques physiques et chimiques
 du sol Dek (2è échantillon ; voir expérience page 67)

Argile (%)	Limon (%)	Sable	P assimilable (ppm)	P total (ppm)	N total (ppm)	C/N	pH	
							H ₂ O	KCl 1N
6,0	68	84,5	4,4	74,8	380	13,4	7,8	7,0

* Dosage selon la méthode de OLSEN (1954)

Tableau 4 : Composition de la solution de HEWITT (1966)

	Solution stock (g/l)	Doses (ml/l)
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	132,0	4
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	119,5	4
K_2SO_4	87,0	4
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	92,0	4
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	147,0	4
Fe Na EDTA (Sigma Chemical Company)	2,5	4
$\text{Mn SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2,230	
$\text{CU SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,250	
$\text{Zn SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,29	1
$\text{H}_3 \text{BO}_3$	3,100	
KaCl	5,850	
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,121	

TABLEAU 5

INFLUENCE DE DIFFERENTES FORMES ET DOSES DE PHOSPHATE SUR LE COMPORTEMENT DE *Pinus caribaea* MYCORHIZE
OU NON PAR *Pisolithus tinctorius* (voir expérience pages 81, 94)

Formes et doses de phosphate Traitements	Hauteur (cm)	Poids des parties aériennes (g)	Poids des racines (g)	% de mycor- hization	N %	N total (mg/plants)	P %	P total (mg/plants)
10 ppm (sans <i>P. tinctorius</i>)	8,17	0,62	0,75		1,70	10,48	0,008	0,049
(avec <i>P. tinctorius</i>)	14,67	1,23	0,62	26,98	1,26	15,54	0,0390	0,481
40 ppm (sans <i>P. tinctorius</i>)	10,00	0,90	1,07		1,35	12,15	0,0445	0,400
(avec <i>P. tinctorius</i>)	9,67	1,18	0,47	29,12	1,31	15,83	0,0870	0,856
10 ppm (sans <i>P. tinctorius</i>)	6,67	0,38	0,45		2,73	10,47	0,0135	0,052
(avec <i>P. tinctorius</i>)	11,67	1,12	0,37	38,31	1,34	18,31	0,0320	0,357
40 ppm (sans <i>P. tinctorius</i>)	7,67	0,53	0,58		2,13	11,36	0,0170	0,091
(avec <i>P. tinctorius</i>)	11,67	1,18	1,07	40,06	1,33	18,11	0,0420	0,497
10 ppm (sans <i>P. tinctorius</i>)	7,67	0,42	0,38		1,36	8,17	0,0210	0,088
(avec <i>P. tinctorius</i>)	12,33	0,98	1,05	35,53	1,71	16,82	0,0360	0,354
40 ppm (sans <i>P. tinctorius</i>)	11,50	1,25	0,75		1,34	16,75	0,0175	0,219
(avec <i>P. tinctorius</i>)	14,50	1,47	0,85	36,06	1,34	19,65	0,0460	0,675

Les valeurs ci-dessus sont la moyenne de 6 répétitions

TABLEAU 6 - INHIBITION DE LA MYCORHIZATION ET DE LA CROISSANCE DE *Pinus Caribaea* PAR UNE MICROFLORE ANTAGONISTE

	Sols Traitements	Hauteur (cm)	Poids to- tal (g)	% de mycor- hization	N %	N total (mg/plants)	P %	P total (mg/plants)
TENDOUK	(sans micro- (flore de (Djibelor	21,2	4,47	58	1,42	59,40	0,074	3,09
	(Désinfecté (avec micro- (flore de (Djibelor	15,5	2,48	31	1,69	39,99	0,065	1,53
	(Non (sans micro- (flore de (Djibelor	18,3	3,11	42	1,20	34,20	0,073	2,07
	(Désinfecté (avec micro- (flore de (Djibelor	14,8	2,46	23,5	1,50	34,25	0,049	1,11
DJIBELOR	(Désinfecté (sans micro- (flore de (Djibelor	20,2	4,31	41	1,43	57,67	0,095	3,83
	((avec microe (flore de (Djibelor	13,2	2,77	20,7	1,64	42,64	0,085	2,20
	(Non (sans micro- (flore de (Djibelor	11,2	2,35	11,7	1,40	30,10	0,044	0,93
	(Désinfecté (avec micro- (flore de (Djibelor	10,2	1,85	9,6	1,56	26,26	0,055	0,92

Chaque valeur est la moyenne de 6 répétitions

Figure 1 : Carte pluviométrique du Sénégal (période 1931 - 1960)

500 — isohyètes(en mm)

Chiffres des stations :

347 : Hauteur moyenne annuelle

161 : Hauteur moyenne du mois d'août.

Figure 2 : Situation des lieux cités dans le mémoire

1 - Bambey	6 - Djibélor
2 - Diégoune	7 - Bayottes
3 - Tendouk	8 - Diakène
4 - Rignona	9 - Santiaba-Manjak
5 - Tobor	10 - Diemberring
	11 - Kabrousse