

INSTITUT SENEGALAIS DE RECHERCHES AGRICOLES (ISRA)



CENTRE NATIONAL DE RECHERCHE AGRONOMIQUE (CNRA)

MEMOIRE DE CONFIRMATION

Option : Microbiologie du Sol

Présenté par : Dr. Nathalie DIAGNE, Chargée de Recherches

Sur le thème :

Titre : Optimisation des couples *Casuarina*/champignons mycorhiziens arbusculaires/bactéries fixatrices d'azote pour la valorisation agro-sylvo-pastorale des écosystèmes dégradés par le sel

Soutenu le 02 Mars devant la commission d'examen composée de :

Président :	Cl. Ibrahima THOMAS	Colonel ISRA/DG
Rapporteur :	Dr. Diégane DIOUF	Maître de Conférence UCAD/BV (Maître de stage)
Examineurs :	Dr. Mbaye DIOP	Maître de Recherches ISRA/CNRA
	Dr. Babou NDOUR	Chargé de Recherches ISRA/CNRA (Maître de stage)

INSTITUT SENEGALAIS DE RECHERCHES AGRICOLES (ISRA/CNRA)

MEMOIRE DE CONFIRMATION

Spécialité : Microbiologie du sol

Résumé

Nom et prénom de la candidate : DIAGNE Nathalie

Titre du mémoire: Optimisation des couples *Casuarina*/champignons mycorhiziens arbusculaires/bactéries fixatrices d'azote pour la valorisation agro-sylvo-pastorale des écosystèmes dégradés par le sel

Date et lieu de soutenance : 02 Mars 2016

Jury: Président:	Cl. Ibrahima Thomas	Colonel -ISRA/DG
Rapporteur :	Dr Diégane Diouf	Maître de Conférence - UCAD/BV (Maître de stage)
Examineurs :	Dr Mbaye Diop	Maître de Recherches - IRD
	Dr Babou Ndour	Chargé de Recherches - CNRA (Maître de stage)

Résumé :

Au Sénégal, la salinisation des terres touche environ 1 700 000 ha parmi les 3 800 000 ha de terres arables. Pour faire face à cette salinisation, l'utilisation de plantes fixatrices d'azote et tolérantes s'avère être une solution très prometteuse. Parmi ces plantes, on peut noter *Casuarina glauca* et *C. equisetifolia* ; espèces de la famille des Casuarinaceae. Ces plantes s'associent avec les bactéries fixatrices d'azote et les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA). Ces microorganismes améliorent leurs performances en condition de stress. L'objectif de cette étude est de sélectionner des couples symbiotiques *Casuarina*/CMA/bactéries fixatrices d'azote très tolérants au sel pour réhabiliter des terres salées. Une expérimentation a été conduite en serre où les plantes de *C. glauca* et de *C. equisetifolia* ont été inoculées avec *Rhizoglyphus fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. irregularis*. Trois concentrations de NaCl ont été appliquées graduellement : 0 mM, 100 mM et 300 mM. Six mois après, les plantes ont été récoltées. La hauteur, les teneurs en chlorophylle, en proline, en Na⁺ et K⁺ dans les parties racinaires et en P et N dans les parties aériennes ont été évaluées. Les résultats obtenus montrent que l'inoculation améliore la croissance des plantes en présence de sel. Une meilleure croissance et des teneurs plus élevées en chlorophylle, proline, N, P en K⁺ et Na⁺ et un métabolisme fongique plus actif ont été notés chez les plantes de *C. glauca* inoculées avec *R. fasciculatum*.

En parallèle, des essais ont été effectués sur des terres salées à Palmarin (région de Fatick) pour tester des couples *Casuarina*/microorganismes symbiotiques tolérants au sel. Des plantes de *C. glauca* et de *C. equisetifolia* ont été inoculées avec *R. intraradices*, *R. fasciculatum*, *CcI3* et/ou *CeD* en pépinière. Les plantes âgées de trois mois ont été transférées sur des terres salées. Leur taux de survie et leur croissance en milieu réel ont été évalués. Le taux de survie de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* est plus important sur les tannes herbacées et l'inoculation augmente le taux de survie et la croissance des plantes. Toutefois, la croissance et le taux de survie les plus importants ont été notés respectivement chez les plantes de *C. glauca* et *C. equisetifolia* co-inoculées avec *R. fasciculatum* et la souche bactérienne *CeD*. Ce résultat montre que la combinaison *Casuarina*/ *R. fasciculatum*/ *CeD* pourrait être utilisée dans la réhabilitation des terres dégradées par le sel au Sénégal.

Mots clés : *Casuarina*, salinisation, mycorhize à arbuscule, bactérie fixatrice d'azote, réhabilitation

Title: Optimization of Casuarina/Arbuscular mycorrhizal fungi/nitrogen fixing bacteria combinations for the restoration of lands degraded by salinity

Abstract:

In Senegal, among the 3 800 000 ha of arable lands, 1 700 000 ha are affected by salinity. Planting salt tolerant nitrogen fixing trees like *Casuarina glauca* and *C. equisetifolia* could alleviate this problem. These trees form relationship with nitrogen fixing bacteria (*Frankia*) and mycorrhizal fungi strains. Symbiotic microorganisms enable Casuarina to colonize disturbed soil. The aim of this project is to select the best combination of *Casuarina* and symbiotic microorganisms to be used for the rehabilitation of lands degraded by salt. To carry out this work, experimentation was conducted in greenhouse using *C. glauca* and *C. equisetifolia* trees inoculated with the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) strains *Rhizoglyphus fasciculatum*, *R. aggregatus* and *R. irregularis* in saline condition. Salt stress was applied gradually one month later using 0 mM, 100 mM and 300 mM of NaCl. After six months, plants were harvested and the height, proline content, root Na⁺ and K⁺ content and leaves P and N content were determined. Results obtained showed that inoculation with AMF increase *C. glauca* and *C. equisetifolia* growth. Higher chlorophyll, proline, N, P en K⁺ and Na⁺ and a better growth were obtained with *C. glauca* plants inoculated with *R. fasciculatum*.

In parallel some field trials have been established in Palmarin (Fatick region) to test some *Casuarina*/symbiotic microorganism's couples. *C. glauca* and *C. equisetifolia* seedling were inoculated with *R. intraradices*, *R. fasciculatum*, *CcI3* and/or *CeD* in nursery. A better growth and higher survival rate were obtained in saline land recovered by grasses. However, the highest growth and survival rate were observed respectively in *C. glauca* and *C. equisetifolia* co-inoculated with *R. fasciculatum* and *CeD*. These results suggest that *Casuarina/ R. fasciculatum/ CeD* is a right combination to be used for the rehabilitation of lands affected by salt in Senegal.

Key Words: *Casuarina*, Salinization, arbuscular mycorrhizal, nitrogen fixing bacteria, rehabilitation

Dédicace

A LA MEMOIRE DE PAPA

Remerciements

Je remercie de tout cœur

- *Dr. Mbaye DIOP, Directeur du Centre National de Recherche Agronomique (CNRA) pour l'accueil chaleureux au CNRA, pour l'enthousiasme qu'il a toujours manifesté et pour avoir accepté de juger ce travail.*
- *Dr. Babou NDOUR, chef de service du Département d'Agroforesterie pour son esprit collaboratif, ses pertinentes remarques et ses conseils précieux.*
- *Dr. Diégane DIOUF qui a suivi ce travail avec beaucoup d'intérêt, de disponibilité et de rigueur scientifique.*
- *Colonel Ibrahima Thomas pour l'honneur qu'il m'a fait d'avoir accepté de juger ce travail et d'en présider le jury.*
- *La Fondation Internationale pour la Science (FIS), the Third world Academy of Science (TWAS) et l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD) pour les financements qui ont permis la réalisation de ce travail.*
- *Les collègues partenaires des projets FIS et TWAS, Dr Laurent LAPLAZE, Dr Antony CHAMPION, Dr Sergio SVISTOONOFF, Dr Dioumacor FALL, Dr Valérie HOCHER, Dr Mathish Niambiar VEETIL, Professeur Ibrahima NDOYE, Professeur Mame Ourèye Sy, Dr Claudine FRANCHE et Dr Didier Bogusz. Merci pour les discussions scientifiques très riches et pleines de fruits.*
- *Pape Ibrahima DJIGHALY, Mariama NGOM, Hermann GL Prodjimoto et Maimouna Cissokho qui ont participé avec efficacité à la mise en oeuvre des projets FIS et TWAS.*
- *Alioune SARR pour avoir accepté d'apporter des corrections à la rédaction de ce document*
- *Toute l'équipe de l'unité de production de Spiruline pour la bonne ambiance quotidienne.*
- *Tous mes amis qui m'ont toujours soutenue et encouragée pour la réalisation de ce mémoire de confirmation.*
- *Tout le personnel du CNRA et du Laboratoire Commun de Microbiologie (IRD/ISRA/UCAD).*
- *Tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail.*
- *Ma maman, mes frères, mes sœurs, mes belles sœurs, mes neveux et nièces pour leur soutien constant.*

Abbréviations

ABBREVIATIONS

ANSD	Agence Nationale de la Statistique et de la Démographie
APP	Appareil de Pré-Pénétration
CMA	Champignon mycorhizien à arbuscules
CNRA	Centre National de Recherche Agronomique
CNRF	Centre National de Recherche Forestière
CP	Commune de Palmarin
CSIRO	Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization
CTFT	Centre Technique Forestier Tropical
DAB	Diaminobenzidine
DRO	Dérivés Réactifs de l'Oxygène
ECe	Conductivité Electrique
FAO	Food and Agriculture Organization
HKT1	High-affinity K ⁺
INP	Institut National de Pédologie
IRD	Institut de Recherche pour le Développement
ISRA	Institut Sénégalais de Recherches Agricoles
LADA	Land Degradation Assessment in Senegal
LAMA	Laboratoire des Moyens Analytiques
NBT	Nitro Blue Tetrazolium
nm	Nanomètre
NRC	National Research Council
mg	Miligramme
min	Minute
ml	Millilitre
mm	Millimètre

Abbréviations

mM	Millimole
nm	Nanomètre
pH	Potentiel Hydrogène
PAPIL	Projet d'Appui à la Petite Irrigation Locale
PSE	Pourcentage de Sodium Echangeable
PRASS	Projet de Restauration Agronomique des Sols Salés
PRECOBA	Projet de Reboisement du Centre Ouest du Bassin Arachidier
PROGERT	Projet de Gestion et de Restauration des Terres Dégradées du Bassin Arachidier
PRONASEF	Programme National de Semences Forestières
RBDS	Réserve de Biosphère du Delta du Saloum
ROS	Reactive Oxygene Species
SDH	Succinate Deshydrogénase
SOS	Salt Overly Sensitive
UCAD	Université Cheikh Anta Diop

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Effet du stress salin sur la plante.....7
Figure 2. La production de biomasse de différents groupes de plantes sous stress salin.....12
Figure 3. La voie de signalisation de l'homéostasie ionique en condition de stress.....14
Figure 4. Structure des Lipochitooligosaccharides des facteurs Myc.....19
Figure 5. Processus de colonisation racinaire par les champignons mycorhiziens arbusculaires.....20
Figure 6. Structure chimique d'un facteur Nod.....22
Figure 7. Structure des bactéries du genre *Frankia*.....24
Figure 8. Infections intra et inter-cellulaire chez les plantes actinorhiziennes.....25
Figure 9. Processus d'infection intracellulaire et organogenèse d'un lobe nodulaire chez les plantes actinorhiziennes.....25
Figure 10. Notation de l'infection mycorhizienne (classe 0 -5).....33
Figure 11. Croissance en hauteur de *C. equisetifolia* après quatre mois de culture en serre.....36
Figure 12. Croissance en hauteur de *C. glauca* après quatre mois de culture en serre.....37
Figure 13. Comparaison de la croissance en hauteur de *C. equisetifolia* et *C. glauca*.....38
Figure 14. Teneur en chlorophylle de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* inoculés avec *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* en condition de stress salin.....39
Figure 15. Teneur en proline de *C. equisetifolia* et *C. glauca* inoculés avec *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* en condition de stress salin.....41
Figure 16. Teneur en Pi dans les parties aériennes de *C. equisetifolia* et *C. glauca* inoculés avec *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* en condition de stress salin.....42
Figure 17. Teneur en azote (A et B), en carbone total (C et D) et le ratio C/N (E et F) dans les parties aériennes de *C. equisetifolia* et *C. glauca* inoculés avec *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* en condition de stress salin.....43
Figure 18. Teneur en Na⁺ et K⁺ dans les parties aériennes de *C. equisetifolia* et *C. glauca* inoculés avec *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* en condition de stress salin.....44
Figure 19. Intensité de mycorhization des racines de *C. equisetifolia* et *C. glauca*.....45
Figure 20. Métabolisme actif des structures fongiques chez *C. glauca*.....46

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques physico-chimiques des sols avant la plantation de 2012.....	60
Tableau 2 : Caractéristiques physico-chimiques des sols avant la plantation (suite).....	62
Tableau 3 : Détermination de la granulométrie des sols avant la plantation de 2012.....	63
Tableau 4 : Caractéristiques physico-chimiques des sols avant la plantation de 2013.....	64
Tableau 5 : Caractéristiques physico-chimiques des sols avant la plantation de 2013 (suite).....	64
Tableau 6 : Respiration basale dans le sol.....	64
Tableau 7 : Taux de survie de <i>C. equisetifolia</i> et de <i>C. glauca</i> à Palmarin en 2012.....	67
Tableau 8 : Taux de survie de <i>C. equisetifolia</i> et de <i>C. glauca</i> à Palmarin en 2013.....	68
Tableau 9 : Croissance des plantes de <i>C. equisetifolia</i> et de <i>C. glauca</i> inoculées avec la souche bactérienne <i>CeD</i> et/ la souche fongique <i>R. fasciculatum</i> à 6 mois après plantation.....	69

LISTE DES PHOTOS

Photo 1 . Le site de Palmarin.....	55
Photo 2 . Atelier de sensibilisation sur la dégradation des terres.....	65
Photo 3 . Des élèves du club scientifique du collège.....	66
Photo 4 . Préparation des pépinières avec les élèves.....	66
Photo 5 . Plantation de <i>C. equisetifolia</i> et <i>C. glauca</i> à Palmarin.....	69

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE

1° Introduction Générale	1
1) Contexte de l'étude	1
2) Plan du mémoire :	3
Avant Propos.....	4
I) La salinisation.....	4
1) Les causes de la salinisation	5
1 1) <i>La salinisation primaire</i>	5
1 2) <i>La salinisation secondaire</i>	5
2) Les conséquences de la salinisation des terres	5
2 1) <i>Conséquences du stress salin sur les végétaux</i>	5
2 2) <i>Conséquences du stress salin sur la composition physico-chimique des sols</i>	7
2 3) <i>Conséquences du stress salin sur la composition physico-chimique des sols</i>	8
2 4) <i>Impact de la salinité sur les conditions socio-économiques</i>	9
3) Les méthodes de lutte contre la salinisation.....	9
3 1) <i>Les méthodes mécaniques</i>	9
3 2) <i>Les méthodes chimiques</i>	10
3 3) <i>Les méthodes biologiques</i>	10
4) Mécanismes de tolérance des plantes au stress salin	11
4 1) <i>Comportement des plantes face au sel</i>	11
4 1 1) <i>Le stress osmotique</i>	12
4 1 2) <i>Le stress ionique</i>	12
5) Les Casuarinaceae et la tolérance au sel	15
6) Les microorganismes symbiotiques et la tolérance au sel des plantes	16
6 1) <i>Les champignons mycorhiziens et la tolérance au sel chez les plantes</i>	16
6 1 1) <i>Généralités sur les champignons mycorhiziens arbusculaires</i>	16
6 1 1 1) <i>Les endomycorhizes</i>	17
6 1 1 2) <i>Les ectomycorhizes</i>	17
6 1 1 3) <i>Les ectendomycorhizes</i>	17
6 1 2) <i>Etablissement de la symbiose mycorhizienne</i>	18
6 1 3) <i>Impact des champignons mycorhiziens sur la tolérance au sel des plantes</i>	20
6 2) <i>Les bactéries fixatrices d'azote et la tolérance au sel des plantes</i>	21
6 2 1) <i>Généralités sur les symbioses fixatrices d'azote</i>	21
6 2 3) <i>La symbiose racinaire Frankia- plantes actinorhiziennes</i>	22

6 2 4) Impact des bactéries fixatrices d'azote sur la tolérance au sel des plantes..... 26

Chapitre 1: IMPACT DE L'INOCULATION AVEC DES SOUCHES DE CMA (R. FASCICULATUM, R. AGGREGATUS ET R. INTRARADICES) SUR LES PERFORMANCES DE C.GLAUCA ET DE C. EQUISETIFOLIA EN DONDITION DE STRESS SALIN

Avant Propos.....28

I) Introduction.....29

II) Matériel et Méthodes30

1) Matériel..... 30

2) Méthodologie..... 30

2 1) Impact de l'inoculation avec *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* sur les performances de *C. glauca* et de *C. equisetifolia* en condition de stress salin30

2 1 1) Les paramètres morphométriques..... 31

2 1 2) Les paramètres physiologiques..... 31

2 1 2 1) Mesure des teneurs en chlorophylle..... 31

2 1 2 2) Mesure des teneurs en proline..... 32

2 1 2 3) Les teneurs en N₂, Pi, Na⁺ et K⁺ au niveau des parties aériennes..... 32

2 1 3) Les paramètres histologiques 33

2 2) Fonctionnement de la symbiose mycorhizienne chez les plantes de *C. equisetifolia* et *C. glauca* inoculées avec les souches fongiques les plus contrastées *R. fasciculatum* et *R. intraradices* 33

3) Analyses statistiques35

III) Résultats..... 35

1) Impact de l'inoculation avec *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* sur les performances de *C. glauca* et de *C. equisetifolia* en condition de stress salin 35

1 1) Impact de l'inoculation avec *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* sur la croissance de *C. glauca* et de *C. equisetifolia* en condition de stress salin 35

1 2) Comparaison de la croissance de *C. equisetifolia* et *C. glauca* inoculées avec *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* en condition de stress salin 37

1 3) L'impact de l'inoculation avec des souches de *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* sur la teneur en chlorophylle de *C. equisetifolia* et *C. glauca* en condition de stress salin..... 38

1 4) L'impact de l'inoculation avec des souches de *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* sur la teneur en proline de *C. equisetifolia* et *C. glauca* en condition de stress salin..... 40

1 5) L'impact de l'inoculation avec des souches de *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* sur les teneurs en Pi totale, N total, Carbone, Na⁺ et K⁺ dans les parties aériennes de *C. equisetifolia* et *C. glauca* en condition de stress salin 41

1 6) Taux de colonisation des racines de *C. equisetifolia* et *C. glauca* 45

2) Fonctionnement de la symbiose mycorhizienne 45

III) Discussion.....47

IV) Conclusion..... 52

Chapitre 2: ESSAI DE REHABILITATION DE TERRES DEGRADEES PAR SALINISATION DANS LA COMMUNE DE PALMARIN PAR L'UTILISATION DE COUPLES SYMBIOTIQUES CASUARINA/CMA/FRANKIA LE PLUS TOLERANT AU SEL

Avant Propos.....	53
I) Introduction	54
II) Matériel et Méthodes.....	55
1) Présentation du site d'étude	55
1 2) Les sols	56
1 3) La végétation	56
1 4) La population	56
2) Prospection des sites et rencontre avec la population	57
2 1) <i>Caractérisation physicochimique des sites avant plantation</i>	57
3) Plantation de Casuarina établie en 2012	57
4) Plantation de Casuarina établie en 2013	57
5) Analyses statistiques	59
III) Résultats.....	60
1) Prospection des sites et caractérisation physicochimique des sols.....	60
1 1) Site de Guissanda 2012.....	60
1 2) Site de Guissanda 2013.....	63
2) Sensibilisation de la population	65
3) Mise en place des plantations de 2012 et de 2013	67
3 1) Plantation de <i>C. equisetifolia</i> et de <i>C. glauca</i> établie en 2012.....	67
3 2) Plantation de <i>C. equisetifolia</i> et de <i>C. glauca</i> établie en 2013.....	68
3 2 1) Le taux de survie des plantes de <i>C. equisetifolia</i> et de <i>C. glauca</i> inoculées avec la souche bactérienne <i>CeD</i> et/ la souche fongique <i>R. fasciculatum</i>	68
3 2 2) Croissance des plantes de <i>C. equisetifolia</i> et de <i>C. glauca</i> inoculées avec la souche bactérienne <i>CeD</i> et/ la souche fongique <i>R. fasciculatum</i>	68
IV) Discussion.....	70
V) Conclusion	71

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

1) Conclusion Générale.....	73
2) Perspectives	74

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références76

ANNEXES

1) Conventions88
2) Encadrement.....89
3) Distinctions90
4) Collaborations91
5) Enseignement.....91

1° Introduction Générale

1) Contexte de l'étude

La salinisation des terres est un problème limitant la croissance et la productivité des végétaux (Hasanuzzaman *et al.*, 2014). Dans le monde, environ 831 Mha de terres sont affectées par la salinisation (FAO, 2000) ; soit environ 7% de terres (Kosava *et al.*, 2013). Selon les travaux de Wang *et al.*, (2003), 50% des sols arables seront perdus à cause de la salinisation d'ici la moitié du 21^{ème} siècle. Au Sénégal, cette salinisation ne cesse de s'amplifier ; elle est passée de 1 230 000 ha selon Sadio (1991) à 1 700 000 ha selon LADA (2003). En effet, sur les 3 800 000 ha de terres cultivables, plus de 1 700 000 ha sont affectés par le sel et ne sont plus propices à l'agriculture (LADA, 2009). La salinisation des terres est surtout accentuée par la forte pression anthropique sur les ressources naturelles et par les phénomènes de changement climatique. Elle provoque une destruction de la structure du sol, une perte considérable de sa fertilité et une réduction des rendements agricoles et de la biodiversité des écosystèmes. Par ailleurs, concomitamment à cette baisse des rendements, les besoins en productions agricoles et forestières augmentent considérablement à cause de la forte croissance démographique. Il devient alors urgent de trouver des solutions pour réhabiliter ces écosystèmes dégradés par la salinisation, augmenter leur productivité et à terme répondre aux besoins alimentaires croissants de la population.

Au Sénégal, la lutte contre la dégradation des terres par salinisation est devenue une préoccupation majeure pour le gouvernement. De nombreux programmes nationaux ont été initiés depuis plusieurs années par les institutions de recherches comme l'Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (ISRA), l'Institut National de Pédologie (INP), l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD), l'Université Cheikh Anta Diop (UCAD) et les Services des Eaux et Forêts. Parmi ces programmes, on peut noter des projets nationaux comme : le Projet d'Appui à la Petite Irrigation Locale (PAPIL), le Projet de Reboisement du Centre Ouest du Bassin Arachidier (PRECOBA), le Projet de Restauration Agronomique des

Sols Salés (PRASS) et le Projet de Gestion et de Restauration des Terres Dégradées du Bassin Arachidier (PROGERT).

Généralement, trois stratégies de lutte sont adoptées : (i) la lutte mécanique par la mise en place de barrages, bassins, digues et diguettes anti-sel ; (ii) la lutte chimique par l'utilisation du phosphogypse ou le chaulage et (iii) la lutte biologique portant sur les possibilités d'afforestation des tannes et de leurs abords. Cette dernière reste la moins coûteuse et la plus durable.

Les actions biologiques de restauration des terres dégradées consistent à exploiter la propriété de certaines espèces végétales de s'adapter à des environnements salés pour revégétaliser les sols et les rendre à nouveau productifs (Rasmussen *et al.*, 2009). Les plantes de la famille des Casuarinaceae, espèces fixatrices d'azote, sont largement utilisées dans ces programmes (Sayed, 2011) grâce à leur aptitude à croître sur des sols très pauvres. Ces Casuarinaceae entrent en symbiose avec une bactérie du sol du genre *Frankia* et aussi avec des champignons mycorhiziens qui améliorent respectivement la nutrition en N et Pi de la plante (Diagne *et al.*, 2013a). Certaines espèces d'arbres tropicaux de la famille des Casuarinaceae, comme *C. equisetifolia* et *C. glauca*, sont tolérantes au sel et pourraient être utilisées dans les programmes de réhabilitation des sols salés au Sénégal (Patil *et al.*, 2005). Cependant, une meilleure tolérance au sel est obtenue quand la plante est associée aux champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) et/ou aux bactéries fixatrices d'azote (Beltrano *et al.*, 2013 ; Evelin *et al.*, 2009, Frechill *et al.*, 2001). L'utilisation de ces biofertilisants pour renforcer la tolérance au sel des plantes est un outil très prometteur et respectueux de l'environnement (Javaid, 2010, Cekic *et al.*, 2012). Cependant, la sélection du couple approprié (plante/microorganismes symbiotiques) est un facteur clé pour la réussite des programmes de récupération des terres dégradées par salinisation (Diagne *et al.*, 2013c, Sinclair *et al.*, 2014).

L'objectif général de notre étude est de tester des méthodes de restauration des services écosystémiques (production de bois, séquestration de carbone...) dans des régions affectées par le sel au Sénégal. Il s'agit de manière spécifique d'optimiser la sélection et l'utilisation de

couples *Casuarina*/ champignons mycorhiziens arbusculaires/*Frankia* très tolérants au sel dans les programmes de valorisation agro-sylvo-pastorale des écosystèmes dégradés par le sel au Sénégal.

2) Plan du mémoire :

Ce mémoire est constitué des différentes parties suivantes :

-une introduction générale ;

-une revue bibliographique ;

-un chapitre portant sur l'impact de l'inoculation avec des souches de CMA (*R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices*) sur les performances de *C. glauca* et de *C. equisetifolia* en condition de stress salin;

-un chapitre sur la réhabilitation de terres dégradées par salinisation dans la commune de Palmarin par l'utilisation de couples symbiotiques *Casuarina*/souches CMA/ *Frankia* les plus tolérants au sel et ;

-une conclusion générale.

Chapitre 1 : Revue Bibliographique

Avant Propos

Cette partie donne l'état des connaissances sur la salinisation des terres, les symbioses mycorhiziennes et fixatrices d'azote et sur la plante hôte *C. equisetifolia*. Elle explique particulièrement le processus de salinisation des terres, les causes, les conséquences et l'impact des microorganismes symbiotiques sur la tolérance au sel des plantes.

I) La salinisation

La salinisation du sol est le processus d'accumulation de sels à la surface du sol et dans la rhizosphère. Ce sel entraîne des effets nocifs sur le sol ; il s'en suit une perte de sa fertilité et à terme une baisse des rendements (Mermoud, 2006). Les sols dégradés par salinisation sont caractérisés par des concentrations excessives en sels solubles (sols salins), en sodium absorbé (sols sodiques ou alcalins) ou les deux (sols alcalino-salins). La salinité et la sodocité des sols sont identifiées et qualifiées à partir de la composition ionique du sol. Elles posent un problème de dégradation des sols dans le monde où environ 23 % des terres cultivables sont salines et 37 % sont sodiques (Khan et Duke, 2001).

La salinité est la concentration de sels solubles dans un sol. Un sol est dit salin quand il contient un excès de sels solubles dans sa solution avec une conductivité électrique E_c supérieure à 4 dS/m. Contrairement au sol salin, les sols sodiques ont des quantités de sels solubles très faibles mais des quantités de cations échangeables de sels très élevées qui ont tendance à disperser les particules du sol et détruire sa structure. Ces types de sols disposent d'une faible aération (pores obstrués) qui limite l'infiltration et le drainage.

La sodocité se réfère à la quantité de Na^+ et surtout à sa prédominance dans le sol. Le Na^+ se lie aux particules d'argiles et sa quantité totale dans un sol permet de mesurer sa sodocité. Cette proportion de cation est appelée le pourcentage de sodium échangeable (PSE).

1) Les causes de la salinisation

La salinisation des terres peut être liée, soit à des effets naturels ou à des effets anthropiques. Ces effets sont à l'origine des deux types de salinisation appelées respectivement salinisation primaire ou salinisation secondaire.

1 1) La salinisation primaire

La salinisation primaire est souvent liée à des apports externes pouvant venir des processus géologiques, hydrologiques et pédologiques tels que l'altération ou la solubilisation des roches (Yadav *et al.*, 2011). Parmi ces apports externes, il y a les incursions maritimes ou les submersions des terres basses qui entraînent la déposition des sels sur le sol. Cette déposition de sels sur la terre peut être aussi liée au vent et à la pluie (Muns et Tester, 2008). La salinisation primaire peut être aussi liée aux inondations périodiques par une mauvaise eau ou par une remontée de la nappe phréatique salée.

1 2) La salinisation secondaire

La salinisation secondaire est due à l'activité humaine telle que les pratiques agricoles inappropriées. Parmi ces pratiques sont : l'utilisation d'une eau de mauvaise qualité, l'utilisation d'engrais chimiques et la déforestation.

A l'échelle mondiale, la surface de terres dégradées par salinisation sous l'action de l'homme peut être estimée à 76, 6 Mha (Ghassemi *et al.*, 1995).

2) Les conséquences de la salinisation des terres

La salinisation des terres a des conséquences négatives sur la croissance et le rendement des plantes, sur les caractéristiques physico-chimiques du sol, sur la communauté microbienne et sur la société.

2 1) Conséquences du stress salin sur les végétaux

Les conséquences de la salinisation sur les végétaux peuvent être d'ordre physiologique et/ou phénotypique. La réponse de la plante au stress salin est une dynamique qui se fait suivant

quatre phases : la phase d'alarme, la phase d'acclimatation, la phase de résistance et la phase d'épuisement (Kosova *et al.*, 2011).

Le sel peut affecter la plante quel que soit son stade de développement. Il inhibe la germination des graines par :

- l'augmentation de la pression osmotique qui diminue la quantité d'eau disponible et réduit l'imbibition des graines ;
- la présence d'ions toxiques qui inhibent le développement de l'embryon et des plants. Parmi ces ions, le CO_3^{2-} , NO_3^- , Cl^- , SO_4^{2-} sont plus toxiques ;
- l'inhibition de l'activité de certaines enzymes, qui modifie le métabolisme des graines durant le stockage.

La salinité du sol affecte le métabolisme de la plante par l'accumulation des ions Na^+ et Cl^- dans les chloroplastes inhibant la photosynthèse de la plante (Figure 1). Les enzymes photosynthétiques ou les enzymes responsables de l'assimilation du carbone sont sensibles à la présence du NaCl et une forte quantité de NaCl inhiberait le métabolisme du carbone et la synthèse de la chlorophylle (Jouyban, 2012, Abd_Allah *et al.*, 2015). L'accumulation de certains ions comme la chlorine et le calcium peut entraîner respectivement une dessiccation et une déshydratation suivie de la plasmolyse et de la mort des cellules et de l'arrêt de la croissance de la plante (Babour *et al.*, 1998). Cette plasmolyse des cellules modifie l'intégrité des membranes cellulaires car les ions Na^+ ont tendance à remplacer les ions Ca^{2+} qui jouent un rôle important dans le maintien de l'intégrité de la racine. La plasmolyse des cellules provoque aussi la diminution de la surface foliaire ce qui a un impact négatif sur sa biomasse, la quantité totale de lumière interceptée par cette surface foliaire et le taux de photosynthèse de la plante (Hasanuzzaman *et al.*, 2014).

Les ions Na^+ altèrent la synthèse de certains composés comme les protéines, les acides aminés et les sucres et aussi l'activité hormonale de la plante ce qui affecte la mobilité de ces éléments et par ailleurs leur distribution et leur utilisation pour la croissance de la plante.

Le stress salin provoque le retard de la floraison de la plante et réduit les organes reproductifs tels que les fleurs. Il peut également provoquer un stress oxydatif chez la plante. Ce stress oxydatif entraîne la production de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) en anglais « Reactive oxygen species » (ROS). Le stress oxydatif chez la plante augmente la fermeture des stomates et diminue la photosynthèse de la plante.

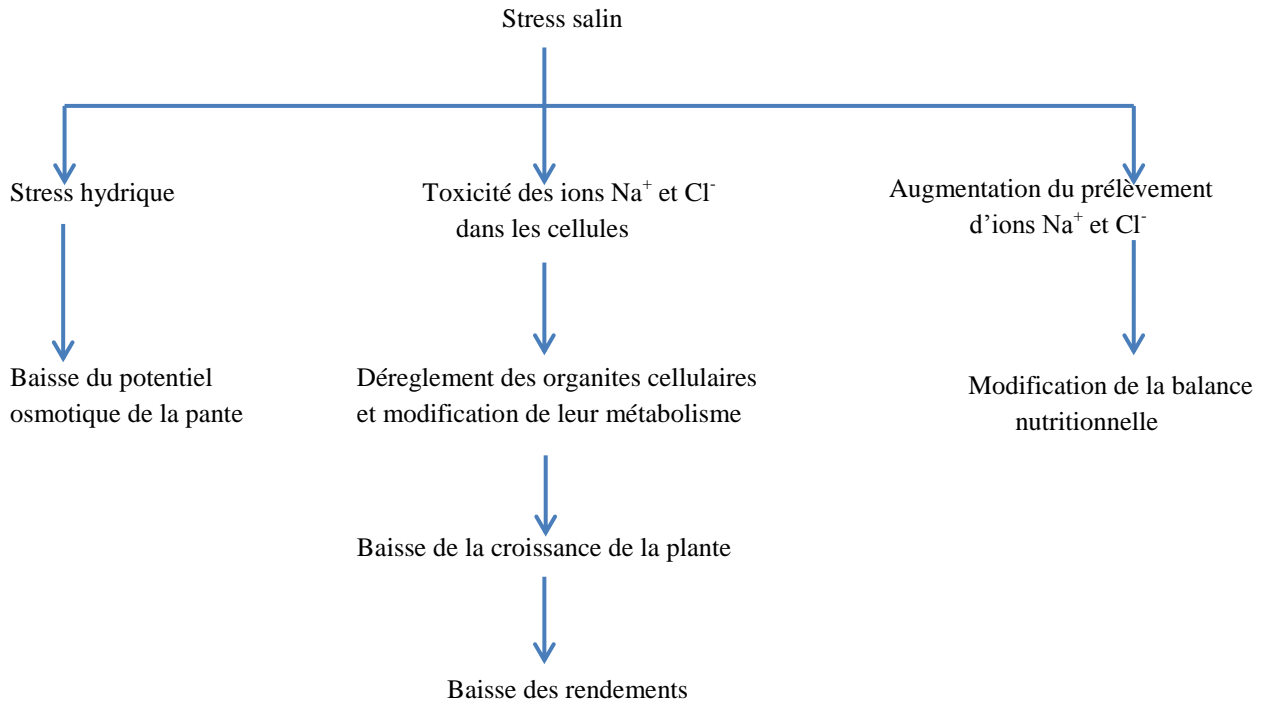


Figure 1 : Effet du stress salin sur la plante (Evelin *et al.*, 2009)

2 2) Conséquences du stress salin sur la composition physico-chimique des sols

Le sel modifie les caractéristiques physico-chimiques du sol. Les cations Na⁺ entraînent la destruction de la structure du sol en favorisant la dispersion des colloïdes. Cette dispersion, dépend de deux facteurs : la quantité de cations absorbés et la concentration de la solution saline au contact de la solution solide.

La salinité a un impact sur les propriétés physiques du sol en provoquant la formation d'agrégats. Ce phénomène est appelé flocculation et il favorise l'aération du sol, la pénétration des racines (Hanson *et al.*, 1999). Contrairement à la salinité, la sodocité réduit la porosité et l'aération du sol par la saturation en Na^+ provoquant une dispersion des particules de sol entraînant la séparation de ces composants (Nikos *et al.*, 2003). Ce type de sol dispersé est facilement inondable. La sodocité a pour conséquences : la réduction de l'infiltration, de la conductivité hydraulique et la formation de croûte à la surface du sol.

Les travaux de Asik *et al.*, (2009) ont montré que la salinité réduit la fertilité des sols. Toutefois quelques études ont montré que la salinité peut améliorer la structure du sol (Nikos, 2002).

2 3) Conséquences du stress salin sur la communauté microbienne du sol

Les fortes concentrations de sel affectent non seulement les propriétés physico-chimiques du sol mais aussi les propriétés microbiologiques (Borrusso *et al.*, 2014). Le stress osmotique ou la toxicité des ions due à l'accumulation du sel limite la croissance, l'activité microbienne et modifie la structure de la communauté microbienne du sol (Rietz et Haynes, 2003 ; Borrusso *et al.*, 2014). Etant donné que cette communauté microbienne joue un rôle très important dans la décomposition de la matière organique, une baisse de la population va entraîner une réduction de la décomposition de celle-ci par les microorganismes du sol et une baisse des éléments nutritifs disponibles dans le sol (Iwai *et al.*, 2012). En condition de stress salin, une corrélation négative a été trouvée entre les quantités de sels dans le sol, la quantité de matière organique décomposée et le ratio C : N (Morrissey *et al.*, 2014). Des résultats similaires trouvés par Iwai *et al.*, (2012) ont montré que l'augmentation de la conductivité électrique (EC) du sol est négativement corrélée à l'activité microbienne, à la biomasse microbienne et à la respiration basale dans le sol. La salinité a été identifiée par Sardinha *et al.*, (2003) comme étant l'un des stress environnementaux le plus astreignant pour la communauté microbienne.

2 4) Impact de la salinité sur les conditions socio-économiques

La salinisation provoque une dégradation des terres, une baisse de la fertilité des sols et des rendements agricoles. Cette dégradation diminue la surface des terres arables et rend beaucoup plus difficile l'accès à la terre particulièrement aux femmes et aux jeunes qui ont quand même un apport économique très important dans les exploitations familiales.

La salinisation entraîne l'accroissement dans les sols salés d'éléments minéraux comme le B, F, et le Se (Hu and Schmidhalter, 2002) qui ont des effets négatifs sur la santé humaine.

Dans les zones affectées par le sel, souvent, les productions agricoles ne peuvent pas assurer les revenus monétaires nécessaires pour le bien-être de la population. La plupart des jeunes ne trouvent plus dans ces régions un cadre épanouissant qui les encourage à y rester ou à y revenir quand ils sont partis en exode ou en émigration. Ce phénomène accentue l'exode rural qui est souvent à l'origine de l'insécurité et de la promiscuité dans les zones urbaines et périurbaines.

3) Les méthodes de lutte contre la salinisation

3 1) Les méthodes mécaniques

Plusieurs méthodes sont utilisées pour la valorisation agricole des terres dégradées par salinisation. Au Sénégal, les premiers travaux de valorisation ont démarré vers les années 1940 par la mise en place d'aménagements hydro-agricoles tels que les barrages, les digues et diguettes et les déversoirs.

Une méthode mécanique appelée l'« oukine » est traditionnellement utilisée par les paysans. Elle consiste à mettre en place des billons dans les cuvettes avec une voie d'entrée d'eau de ruissellement en amont et une autre de sortie en aval. Ce système permet de retenir l'eau de ruissellement et d'évacuer l'eau chargée de sel.

D'autres méthodes mécaniques sont utilisées ailleurs. Parmi ces méthodes, nous pouvons noter : i) le lessivage qui se fait autour de la plante en arrosant avec plus d'eau que la plante

aurait besoin ; ii) le lessivage combiné au drainage ; iii) le leaching qui ne peut se faire qu'après le drainage et dépend de la qualité de l'eau, de la texture du sol et du drainage; et iv) la délocalisation du sel de l'espace rhizosphérique vers d'autres parties du sol où il ne sera plus toxique à la germination des graines et aux racines.

3 2) Les méthodes chimiques

Pour réhabiliter des terres dégradées par le sel, des méthodes chimiques peuvent être utilisées. Cette stratégie consiste à enfouir des produits chimiques dans le sol à une profondeur voisinant 10 cm. Parmi les produits chimiques utilisés, on peut noter le gypse ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), l'acide sulfurique (H_2SO_4), le soufre (S), la solution Chaux-Soufre (24% de S), le sulfate de fer ($\text{Fe SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), le sulfate d'aluminium ($\text{Al}_2 (\text{SO}_4)_3 \cdot 18 \text{H}_2\text{O}$) et le calcaire (CaCO_3). Cependant, le choix des amendements chimiques dépend des caractéristiques du sol, de la disponibilité et du prix du produit à utiliser à l'endroit considéré (Lallemand Barrés, 1980). Toutefois, cette méthode souvent plus coûteuse reste utopique dans les pays en voie de développement.

3 3) Les méthodes biologiques

Elle consiste à utiliser des espèces herbacées et/ou ligneuses pour récupérer des terres dégradées par salinisation. Au Sénégal, la lutte biologique porte sur l'utilisation de plantes tolérantes au sel et/ou de la matière organique comme les ordures ménagères.

En 1967, le Centre Technique Forestier Tropical (CTFT) a initié des actions de réhabilitation des terres dégradées dans la région du Sine-Saloum. L'objectif de l'étude était de tester le comportement de certaines espèces exotiques et locales sur des sols salés. Parmi ces espèces figurent des espèces des genres *Melaleuca*, *Eucalyptus*, *Prosopis*, *Albizzia*, *Cordyla*, *Parkia* et des *Acacia* australiens. D'autres essais ont été aussi réalisés par le Centre National de Recherches Forestières (CNRF/ISRA) à Ngane et Factick (Sadio, 1991). Vers les années 1971, des reboisements ont été effectués à Keur Mactar (Hamel et Bailly, 1981). A côté des espèces utilisées dans les programmes précédents, d'autres espèces des genres *Casuarina*, *Combretum*, *Parkinsonia* et des *Acacia* locaux ont été aussi testées. Le genre *Atriplex* a été

introduit en 1978 mais la mortalité était très forte. Des résultats satisfaisants ont été obtenus dans la station de l'ISRA à Ndiaffate avec les espèces du genre *Melaleuca*.

Concernant l'utilisation de la matière organique, certains programmes comme le PRECOBA, le PRASS et le PROGERT ont utilisé des ordures ménagères pour réhabiliter des terres dégradées par la salinisation.

Une autre méthode traditionnelle appelée le «Boukoughene » est pratiquée par les paysans au Sénégal. Le boukoughene consiste à épandre des fumures organiques par un labour en billons sur les parcelles.

4) Mécanismes de tolérance des plantes au stress salin

Les plantes s'adaptent au stress salin soit en tolérant le sel soit en mettant en place des mécanismes leur permettant de supporter le sel.

4 1) Comportement des plantes face au sel

L'adaptation face au stress salin diffère d'une plante à une autre. Selon la quantité de sels pouvant être tolérée par la plante, elles sont classées en plantes tolérantes au sel ; les halophytes (A) et les plantes non tolérantes au sel les glycophytes (D) (Figure 2). Les halophytes sont des plantes tolérantes au sel et pouvant compléter leur cycle de vie à des concentrations de NaCl égales ou supérieures à 200 mM (Flowers et Colmer, 2013). Il a été démontré que la présence de certaines quantités de sel pouvait stimuler la production de la biomasse des plantes halophytes. Entre les halophytes et les glycophytes, il existe des plantes intermédiaires ; les halophytes facultatives (B) dont la biomasse est légèrement augmentée en condition de stress salin ; les résistants non halophytes (C) qui tolèrent des concentrations de sel très faibles (Figure 2).

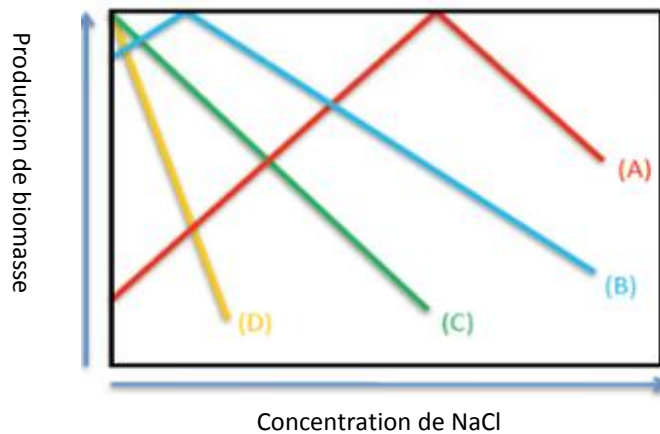


Figure 2: La production de biomasse de différents groupes de plantes sous stress salin (Hagemeyer, 1996 in MV2. 11 APE 2010; Plant Genetic and Biophysics Laboratory).

A: Halophytes ; B: Halophytes Facultative ; C: Resistant non halophytes ; D: Glycophyte

Chez la plante, le stress salin se manifeste par deux effets : un effet osmotique non spécifique très rapide et un effet ionique spécifique plus retardé (Muns et Tester 2008). Le stress osmotique est dû à une baisse du potentiel osmotique de l'eau du sol alors que l'effet ionique est lié à une accumulation d'ions dans les cellules végétales à un niveau toxique.

4 1 1) Le stress osmotique

La dissolution des ions Na^+ dans l'espace rhizosphérique entraîne une diminution du potentiel osmotique de l'eau autour des racines. Cette différence de potentiel entre le cytoplasme des cellules et la solution saline autour des racines a des effets néfastes très rapides sur le système racinaire. Si la concentration de Na^+ est supérieure dans la solution saline du sol comparée à la concentration de Na^+ à l'intérieur de la plante, le mouvement d'eau se fait de la plante au milieu extérieur ce qui crée un stress hydrique souvent appelé « stress hydrique chimique ». Ce stress salin affecte négativement la nutrition hydrique de la plante (Babu *et al.*, 2012). Dans ces conditions, les plantes dépensent plus d'énergie pour absorber l'eau de la solution saline.

Durant un stress hydrique, la perte de l'eau de la plante au profit du milieu extérieur entraîne une plasmolyse des cellules; un signal d'un stress osmotique (Figure 3). Ce signal est capté au niveau de la membrane plasmique où se trouvent des osmosenseurs comme l'Hisidine Kinase (HK) (Urao *et al.*, 1999). Grâce à des oscillations calciques et à des séries de phosphorylation (cascade des MAP Kinase), ce signal est transmis au noyau, là où il induit l'expression de gènes impliqués dans la tolérance au stress salin.

4 1 2) Le stress ionique

Le stress ionique dû à l'accumulation des ions dans les cellules végétales (Muns and Tester, 2008) entraîne une modification de la balance hormonale (Figure 3) par la compétition entre les ions Na^+ et K^+ pour la fixation sur les enzymes et les protéines (Zhu *et al.*, 1998). Le stress salin entraîne la modification de la concentration de certains ions comme le Na^+ , le Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , HCO_3^- , SO_4^{2-} et le bore. Le stress ionique est continu et a des effets à long terme dépendant de la quantité de sel dans les cellules. Il augmente avec la durée du stress salin mais aussi avec l'âge des tissus de la plante (Kosova *et al.*, 2013). En condition de stress salin, les plantes peuvent s'adapter en limitant l'absorption de sel et/ou en réduisant la concentration de Na^+ dans le cytoplasme. Afin de réguler ces quantités de NaCl toxiques sur le métabolisme de la plante, des protéines du tonoplaste H^+ -ATPases (V-ATPases) et H^+ -Pyrophosphatases (H^+ -PPases) créent un potentiel pour le transport du Na^+ dans les vacuoles en échange des ions H^+ . Beaucoup de transporteurs sont impliqués dans la régulation de cette balance ionique.

En condition de stress salin, la forte similarité de la structure chimique des ions Na^+ et K^+ font que les plantes ont tendance à absorber beaucoup plus de K^+ à la place de Na^+ (Evelin *et al.*, 2009). Ce qui perturbe le ratio $\text{Na}^+:\text{K}^+$, modifie la balance ionique dans le cytoplasmique (Giri *et al.*, 2007).

L'augmentation de la concentration en Na^+ à l'intérieur des plantes entraîne des oscillations calciques qui sont à l'origine des efflux de Na^+ . D'abord, ces oscillations activent le SOS3 une calcineurine de type B qui se liant à ces ions Ca^+ adhère à la membrane plasmique et active une protéine kinase de type serine/thréonine. Ensuite le complexe SOS3/SOS2 active à

son tour le SOS1 un transporteur Na⁺/H ATP-dépendant qui assure l'exclusion des Na⁺ des cellules végétales (Figure 3).

Les plantes tolérantes au sel possèderaient des gènes impliqués dans la tolérance au sel qui seraient absent chez les plus sensibles (Muns et Tester, 2008). En condition de stress salin, l'expression des gènes impliqués dans la tolérance au sel varie qualitativement et quantitativement chez les plantes tolérantes comparées aux plantes sensibles (Muns et Tester, 2008). Une différence dans la structure et l'activité des protéines impliquées dans la tolérance au sel a été notée chez les plantes tolérantes au sel comparée aux plantes sensibles (Kosova *et al.*, 2013).

La présence de ROS pendant le stress salin entraîne la diminution du flux de Na⁺ et réduit l'accumulation du Na⁺ dans le xylème, la rétention du K⁺ dans la racine et augmente la tolérance à la salinité (Jiang *et al.*, 2012).

Il faut noter qu'une plante peut être affectée par l'ensemble de ces stress. Cependant, un stress osmotique très sévère peut à lui seul limiter la croissance de la plante.

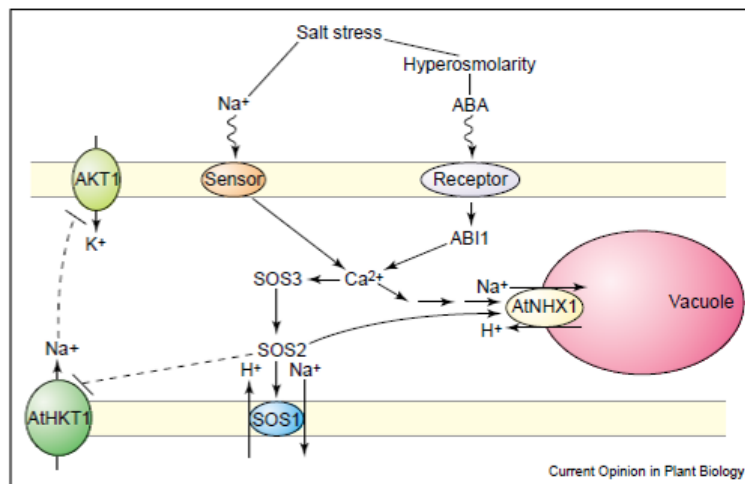


Figure 3 : La voie de signalisation de l'homéostasie ionique en condition de stress salin (Zhu, 2003)

5) Les Casuarinaceae et la tolérance au sel

Les plantes de la famille des Casuarinaceae sont des plantes actinorhiziennes d'origine australienne. Ces plantes sont réparties en 8 familles ; Casuarinacées, Elaeagnacées, Myricacées, Rhamnacées, Rosacées, Datisacées, Bétulacées et Coriacées (Wall, 2000). Ces familles sont réparties en 25 genres et comptent environ 290 espèces d'angiospermes (Dawson, 2008 ; Mansour *et al.*, 2014). Les Casuarina sont réparties en quatre genres que sont : *Allocasuarina* (Johnson, 1982), *Casuarina* (Jonhson, 1988), *Ceuthostoma* (Jonhson, 1988) et *Gymnostoma* (Johnson, 1980). En Afrique, trois genres ont été introduits : le genre *Casuarina* avec cinq espèces, le genre *Allocasuarina* avec trois espèces et le genre *Gymnostoma* avec une espèce (Gtari et Dawson, 2011). Cependant, les espèces *Casuarina equisetifolia*, *C. glauca* and *C. cunninghamia* sont les plus rencontrées en Afrique (Diagne *et al.*, 2013a). Ces plantes ont une croissance rapide et peuvent atteindre trois mètres par an (NRC, 1984). Elles jouent un rôle socio-économique très important. Elles sont utilisées comme brise vent et pour la fixation des dunes. Au Sénégal, une plantation de 10 000 ha de filao a été établie vers les années 1920 sur le littoral Nord entre Saint Louis et Dakar pour fixer les dunes (Bâ *et al.*, 2010). Cette plantation a permis d'aménager la région des Niayes et d'augmenter la surface de terres utilisables pour le maraichage. Les Casuarinaceae produisent un bois de qualité très dur et dense (densité 0,8 à 1,2) d'où le nom de « Iron Wood » ce qui signifie bois de fer. Ce bois peut être utilisé comme bois de construction, d'ouvrage ou de chauffe. Les aiguilles des filaos sont largement utilisées dans le compost pour l'amélioration de la fertilité des sols (Soumaré, 2004).

Ces plantes s'adaptent aux zones dégradés grâce à leurs propriétés : i) présence d'écailles verticillées cornées qui leur permettent de limiter les pertes d'eau et de s'adapter au stress hydrique ; ii) association avec les microorganismes symbiotiques comme les bactéries fixatrices d'azote du genre *Frankia* et les champignons mycorhiziens qui permettent d'améliorer la nutrition hydrominérale et particulièrement la nutrition azotée et phosphatée (Wang et Qiu, 2006); iii) présence de racines protéides souvent formées en condition de carence en phosphore et fer et améliorant l'absorption de ces dernières

(Neumann et Martinoia, 2002). Ces propriétés font des *Casuarina* des plantes pionnières largement utilisées en Agroforesterie, en sylviculture et dans la réhabilitation des terres dégradées (NRC, 1984 ; Zhong *et al.*, 2010).

Les espèces du genre *Casuarina* sont très tolérantes au sel et sont largement plantées au niveau des zones côtières comme brise vent dans les régions tropicales et subtropicales (Diem et Dommergues, 1990). Les études de Diem et Dommergues (1990) ont montré que *C. glauca*, *C. obesa*, et *C. equisetifolia* var *incana* toléraient le sel jusqu'à 500 mM. La tolérance au sel de ces plantes peut être améliorée en les associant avec des microorganismes symbiotiques tels que les bactéries fixatrices d'azote et les champignons mycorhiziens.

6) Les microorganismes symbiotiques et la tolérance au sel des plantes

6 1) Les champignons mycorhiziens et la tolérance au sel chez les plantes

6 1 1) Généralités sur les champignons mycorhiziens arbusculaires

Les champignons mycorhiziens sont des microorganismes du sol qui entre en relation symbiotique avec plus de 80% des plantes terrestres (Smith et Read, 2008). Ces microorganismes symbiotiques sont des symbiotes obligatoires, ne pouvant compléter leur cycle sans la plante hôte. Proposée pour la première fois par Albert Bernhard Frank en 1885, cette association symbiotique représente la relation formée par le champignon qui signifie en grec « mukês » et les racines de la plante « rhiza » d'où le terme **mycorhize**. Cette relation symbiotique est à bénéfice réciproque. Le champignon n'étant pas chlorophyllien, il reçoit les composés carbonés provenant de la photosynthèse de la plante. En retour, le champignon améliore considérablement la nutrition minérale de la plante grâce à un réseau d'hyphes qui explore un volume de sol plus important que les racines. Grâce à leur diamètre très fin, ces hyphes peuvent pénétrer les espaces interstitiels du sol inaccessibles aux racines et prélevés des éléments minéraux nécessaires pour la croissance et le développement de la plante (Smith et Read, 2008). Il a été démontré que ces champignons améliorent le développement de la plante (Lu *et al.*, 2015 ; Srinivasa Murthy and Narayanappa, 2015).

Les champignons mycorhiziens appartiennent au phylum des Gloméromycètes, des Ascomycètes et des Basidiomycètes et comptent environ 6000 espèces qui ont comme plantes hôtes des espèces de la famille des Bryophytes, des Ptéridophytes, des Gymnospermes, des Angiospermes, des Ericacées et des Orchidées.

Il existe différents types de champignons : les endomycorhizes, les ectomycorhizes et les ectendomycorhizes (Bonfante et Anca, 2009). La classification de ces mycorhizes est basée sur la structure du champignon en rapport avec les racines hôtes.

6 1 1 1) Les endomycorhizes

Le groupe des endomycorhizes forme des structures fongiques qui se développent à l'intérieur de la racine et qui ne sont généralement pas visibles à l'œil nu. Ce groupe est formé de trois catégories de champignons:

- **Les mycorhizes à arbuscules** qui appartiennent au phylum des Glomeromycota (Schüßler, 2002) et s'associent avec des plantes de la famille des Angiospermes, des Gymnospermes, des Fougères, des Lycopodes et des Bryophytes.
- **Les mycorhizes des Ericacées** sont caractérisés par la présence de pelotons d'hyphes dans les cellules épidermiques. Généralement, l'association symbiotique s'effectue entre un champignon de la famille des Ascomycètes et une plante de l'ordre des Ericales.
- **Les mycorhizes des Orchidées** forment des amas d'hyphes dans les cellules corticales. Elles réunissent comme partenaires symbiotiques un champignon de la famille des Basidiomycètes et une plante de la famille des Orchidées.

6 1 1 2) Les ectomycorhizes

Les ectomycorhizes forment des structures fongiques à l'extérieur des racines. Ils se caractérisent par trois tissus : i) les hyphes extracellulaires, qui partent des racines pour augmenter le volume de sol occupé par ces dernières ; ii) le manteau fongique qui entoure les

racines et qui est formé d'un réseau dense de mycélium ; et iii) le réseau de Hartig, un tissu se trouvant à l'intérieur de la racine et formé de cellules végétales et fongiques.

Certains champignons ectomycorhiziens sont utilisés dans l'alimentation humaine et la partie comestible du champignon est appelé le carpophore (Bâ et Thoen, 1990).

6 1 1 3) Les ectendomycorhizes

Les ectendomycorhizes forment des structures fongiques intermédiaires entre les endomycorhizes et les ectomycorhizes.

6 1 2) Etablissement de la symbiose mycorhizienne

La symbiose mycorhizienne s'établit selon trois phases : la phase asymbiotique, pré-symbiotique et symbiotique.

La phase asymbiotique

La phase asymbiotique se caractérise par la dormance de la spore et/ou son début de germination. Quand les conditions du milieu sont optimales, l'hyphe de la spore peut germer et aller à la recherche de l'hôte. Cependant si cet hôte n'est pas rencontré, l'hyphe développée dégénère pour passer en phase de dormance. Ce phénomène peut se poursuivre jusqu'à l'épuisement des réserves de la spore.

La phase pré-symbiotique

Cette phase est caractérisée par le développement extensif des hyphes appelés « branching ». Durant cette phase, la plante secrète des facteurs appelés les « branching factors » qui permettent au champignon de reconnaître leur hôte. Présents dans les exsudats racinaires de la plante, les branching factors ont été identifiés comme étant des strigolactones (figure 4) appartenant à la famille des sesquiterpènes. (Akiyama *et al.*, 2005).

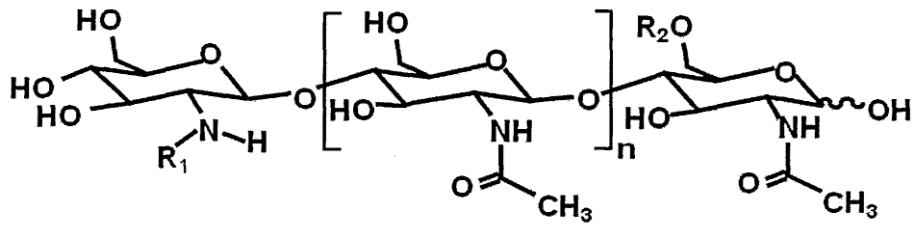


Figure 4. Structure des Lipochitooligosaccharides des facteurs Myc. (Maillet *et al.*, 2011).

$n = 0, 1, 2, 3, 4$ ou 5 , préférablement 2 ou 3 ;

R_1 représente une chaîne d'acide gras avec 14 à 20 atomes de carbones ;

R_2 représente H ou SO_3H .

La phase symbiotique

Cette phase correspond à l'infection et à la colonisation de la plante par le champignon. Elle débute par le contact entre l'hyphe et la racine et entraîne la formation de certaines structures comme : i) l'hypopodium qui résulte du développement de l'hyphe mature sur l'épiderme de la plante hôte ; ii) l'appareil de pré-pénétration (APP) naît d'une réorganisation des cellules épidermiques au contact de l'hyphe, cet APP est une sorte de tubule d'origine végétale qui permet à l'hyphe de traverser les cellules épidermiques ; iii) la ramification de ces hyphes dans les cellules corticales donne naissance aux arbuscules qui sont des zones d'échanges entre les deux partenaires symbiotiques en plus, iv) d'autres structures sphériques, les vésicules se forment aussi dans les cellules corticales et servent d'organes de réserves au champignon (figure 5).

Les hyphes intracellulaires (c'est-à-dire les hyphes à l'intérieur de la cellule végétale) et les hyphes extracellulaires (qui colonisent le sol) assurent le transport des nutriments vers la plante hôte (Smith et Read, 2008).

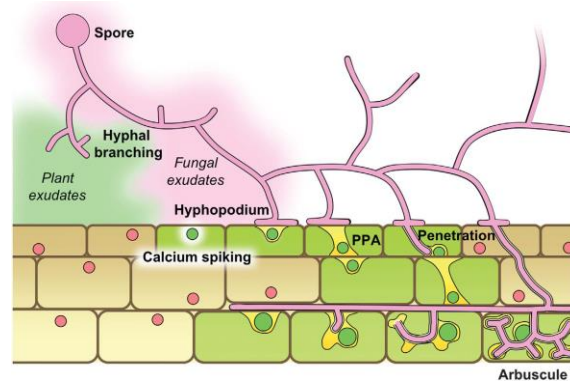


Figure 5. Processus de colonisation racinaire par les champignons mycorhiziens arbusculaires (Bonfante et Genre, 2010).

6 1 3) Impact des champignons mycorhiziens sur la tolérance au sel des plantes

Les microorganismes symbiotiques jouent un rôle important dans la tolérance au sel des plantes en atténuant les effets négatifs du stress salin sur sa croissance (Soliman *et al.*, 2012 ; Hajiboland, 2013) (Bhardwaj *et al.*, 2014, Mbadi *et al.*, 2015). Cet effet varie en fonction des espèces et de leur origine (Rosendahl, 1991). D'après Hajiboland, (2013), les souches isolées des zones salées sont plus efficaces dans l'amélioration de la tolérance au sel des plantes. L'inoculation avec les CMA peut réduire l'effet négatif du stress salin selon différents mécanismes. Parmi ces mécanismes, on peut noter la sélection d'ions durant l'absorption des nutriments à partir du sol ou durant le transfert dans la plante hôte (Estrada *et al.*, 2013). L'effet toxique du stress salin est réduit par la présence de champignon mycorhizien qui maintient la balance physiologique de la plante (Shokri et Maadi, 2009) par l'amélioration de la nutrition hydrominérale de la plante, la réduction de l'absorption des ions Na^+ , l'accumulation des osmolytes, l'activation des enzymes antioxydants et de la photosynthèse (Porcel *et al.*, 2012; Ruiz-Lozano *et al.*, 2012).

Shinde *et al.*, (2013) ont montré qu'en condition de stress salin, les plantes d'*Allium cepa* (oignons) inoculées avec les CMA se développent mieux que les plantes non inoculées et que la biomasse des plantes inoculées avec les CMA est plus importante que celle des plantes non inoculées. Les travaux de Abdul-Wasea *et al.*, (2014) ont aussi montré que l'inoculation avec des CMA stimule l'expansion de la surface foliaire et le développement des fleurs et donc la production des plantes. Ces champignons permettent aux plantes de faire face au stress oxydatif (Hajiboland *et al.*, 2010).

Les études de (Hajiboland, 2013 ; Sinclair *et al.*, 2014) ont montré que les effets des CMA dans la régulation de l'équilibre ionique pour la tolérance au sel dépend de l'espèce végétale, de son génome, de la souche fongique et la combinaison spécifique plante/champignon.

6 2) Les bactéries fixatrices d'azote et la tolérance au sel des plantes

6 2 1) Généralités sur les symbioses fixatrices d'azote

Les bactéries fixatrices d'azote comprennent les protéobactéries, les actinobactéries et les cyanobactéries. Les protéobactéries et les actinobactéries s'associent respectivement avec les légumineuses et les plantes actinorhiziennes alors que les cyanobactéries s'associent avec des algues telles que *Anabaena* et *Nostoc*.

6 2 2) La symbiose racinaire rhizobium légumineuse

Généralités sur la symbiose racinaire rhizobium-légumineuse

Les bactéries du genre rhizobium appartiennent à la famille des Rhizobiacées et sont de gram négatif. Récemment, les études poussées en biologie moléculaire ont permis de déterminer 15 genres dans cette famille.

Les légumineuses, plantes hôtes de ces bactéries sont subdivisées en trois sous-familles: les Caesalpiniciacées, les Fabacées et les Mimosacées (de Faria *et al.*, 1984 ; de Faria *et al.*, 1989 ; Young et Johnston, 1989; Käss et Wink, 1997).

L'établissement de la symbiose rhizobienne se fait selon un dialogue moléculaire qui permet une reconnaissance mutuelle entre les deux partenaires symbiotiques (Dommergues *et al.*, 1999). Ce dialogue démarre par la sécrétion d'exsudats racinaires par la plante. Ces exsudats activent l'expression de gènes de structures qui induisent la production chez cette dernière de facteurs Nod qui sont les signaux bactériens de nature Lipochito oligosaccharides essentiels pour l'infection et l'organogène du nodule (Figure 6).

C'est dans ce nodule que se passe la transformation du N₂ en NH₃. La réaction de fixation de l'azote est la suivante :

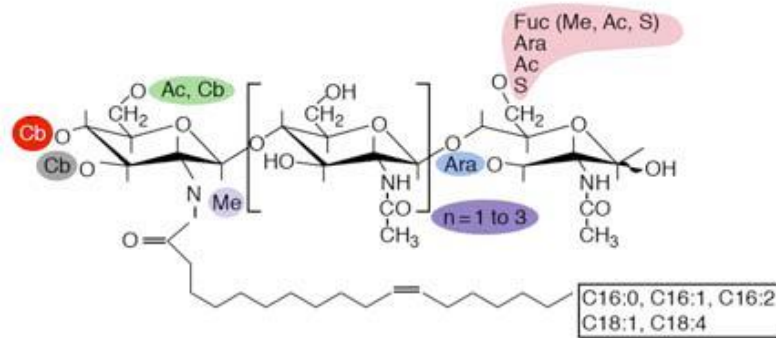
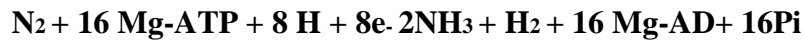


Figure 6. Structure chimique d'un facteur Nod (avec quelques substitutions observées chez les différentes espèces de *rhizobium* indiquées en couleur). Les variations les plus courantes de la chaîne d'acides gras sont également représentées. Ac, acétyl ; Ara, arabinosyl ; Cb, carbonyl ; Fuc, fucosyl ; Me, méthyl ; S, sulfuryl. (Source : Cullimore *et al.*, 2001).

6 2 3) La symbiose racinaire *Frankia*- plantes actinorhiziennes

La symbiose actinorhizienne résulte de l'association entre les plantes actinorhiziennes et la bactérie fixatrice du sol du genre *Frankia* (Baker et Mullin, 1992).

Les plantes actinorhiziennes

Les plantes actinorhiziennes ont la capacité de se développer sur des sols dégradés comme les sols affectés par la salinisation (Echbab *et al.*, 2007). Elles ont une large distribution géographique et sont retrouvées dans tous les continents à l'exception de l'Antarctique (Baker

et Schwintzer, 1990). Elles sont toutes des plantes ligneuses à l'exception de deux espèces de la famille des *Datisceae* (Dawson, 1986). Au sein de chaque famille, seuls quelques genres forment des nodules. Les plantes actinorhiziennes constituent le deuxième groupe de plantes fixatrices d'azote et sont responsables de 15% des entrées d'azote fixé biologiquement sur terre (Wall, 2000). Comparées aux légumineuses, les plantes actinorhiziennes fixent des quantités d'azote similaire estimées à 240-350 kg ha/an (Wall, 2000). Parmi les plantes actinorhiziennes, les plantes de la famille des Casuarinaceae sont les plus répandues. Cette famille forme quatre genres composés de 96 espèces. Ces plantes tolérantes au sel (Tani et Sasakawa, 2003) peuvent largement être utilisées dans la récupération des terres dégradées par le sel mais aussi dans l'amélioration de la fertilité du sol grâce à leur matière organique très abondante (Cissé et Gourbière, 2003).

Les bactéries du genre *Frankia*

Les *Frankia* sont des bactéries filamenteuses du sol caractérisées par une paroi à Gram positif, un génome de grande taille, un pourcentage élevé en Guanine et Cytosine (66-75%) et une croissance très lente (Benson et Silvester, 1993). Le genre *Frankia* est classé dans l'ordre des Actinomycétales et dans la famille des Frankiaceae. Dans cette famille, seules les espèces appartenant à ce genre ont la capacité de fixer l'azote (Wall, 2000 et Franche *et al.*, 2009). En culture liquide et en fonction des conditions de culture, la bactérie du genre *Frankia* possède des hyphes, des sporanges et des vésicules (figure 7).

Ces dernières sont le lieu de la fixation d'azote et sont généralement formées quand le milieu est très limité en N (Zhang et Benson, 1992). Toutefois, la morphologie des *Frankia* varie en fonction de la plante hôte.

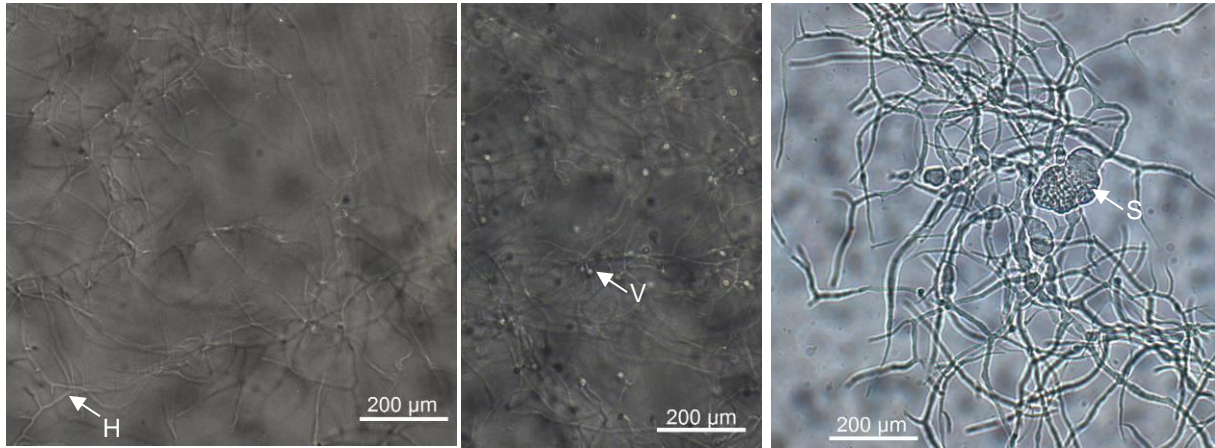


Figure 7: Structures des bactéries du genre *Frankia*

H: Hyphae, V: vesicule, S: sporange

L'association entre la bactérie *Frankia* et les plantes actinorhiziennes entraîne la formation d'une structure appelée nodule ou nodosité au niveau des racines. La mise en place de ce nodule se fait à la suite d'un dialogue moléculaire entre les deux partenaires de la symbiose. La nature biochimique des facteurs actinorhiziens reste toujours mal connue (Prin et Rougier, 1987 ; van Ghelue *et al.*, 1997 ; Laplaze *et al.*, 2000). Cependant, les études de Cérémonie *et al.* (1999) et de Normand *et al.*, (2007) ont révélé que ces facteurs étaient probablement différents des facteurs Nod des rhizobia.

Les signaux de la bactérie, perçus par la plante, provoquent la courbure des poils absorbants qui est la première étape dans le cas d'une infection de type intracellulaire (Figure 8). Chez les plantes actinorhiziennes, on peut noter deux types d'infections ; l'infection intracellulaire et l'infection extracellulaire (Figure 9).

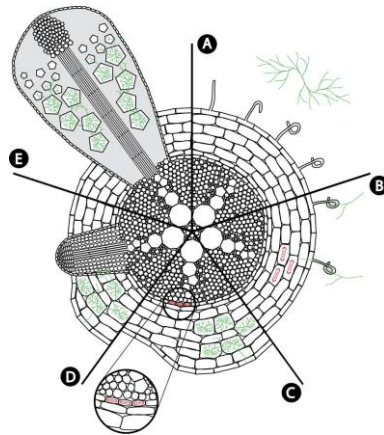


Figure 8. Infections intra et inter-cellulaire chez les plantes actinorhiziennes (Franche *et al.*, 1998) : Infection intracellulaire (*Myrica*, *Comptonia*, *Alnus* et *Casuarina*) et infection intercellulaire (*Elaeagnus*, *Ceanothus* et *Cercocarpus*).

Le nodule actinorhizien est différent du nodule des Légumineuses de par sa morphologie, son anatomie, son origine et son fonctionnement (Hocher *et al.*, 2009). Le nodule des plantes actinorhiziennes est une structure coralloïdale composée de multiples lobes nodulaires. Le nodule est considéré chez les plantes actinorhiziennes comme des racines latérales modifiées alors que chez les Légumineuses, ils sont des organes nouveaux.

Au niveau du nodule actinorhizien, quatre zones peuvent être distinguées : la zone méristématique, la zone d'infection, la zone de fixation et la zone de sénescence (Figure 9).

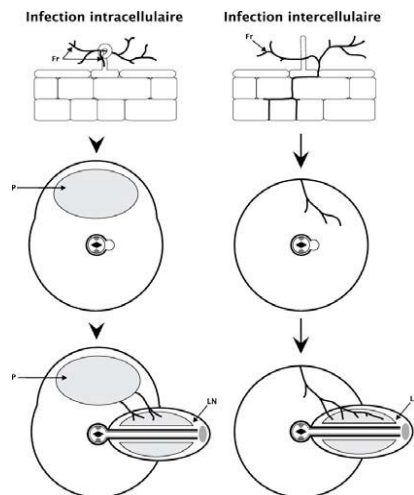


Figure 9. Processus d'infection intracellulaire et organogénèse d'un lobe nodulaire chez les plantes actinorhiziennes.

La formation de cette relation symbiotique entre les bactéries fixatrices d'azote et les plantes joue un rôle important dans l'établissement et le développement des plantes au niveau des zones dégradées (Sharma *et al.*, 2013). Cependant, une meilleure résistance au stress salin est obtenue quand la plante est associée aux champignons mycorhiziens à arbuscules CMA et/ou aux bactéries fixatrices d'azote (Frechill *et al.*, 2001 ; Evelin *et al.*, 2009).

6 2 4) Impact des bactéries fixatrices d'azote sur la tolérance au sel des plantes

La tolérance au sel des plantes a été démontrée chez certaines bactéries fixatrices d'azote (Ali *et al.*, 2009 ; Srivastava *et al.*, 2012). L'inoculation avec des rhizobia tolérants au sel pourrait améliorer la capacité des plantes à noduler et à fixer l'azote en condition de stress salin. Cependant, en condition de stress salin, une réduction du taux de fixation d'azote liée aux teneurs faibles d'hémoglobine peut être observée (Lopez *et al.*, 2008).

En condition de stress salin, l'inoculation avec des souches de rhizobia tolérants au sel améliore la croissance et le taux de survie des plantes (Shamseldin et Werner, 2005). Les bactéries du genre rhizobia sont plus tolérantes que leur plantes hôtes, ainsi certaines souches rhizobiennes comme *Rhizobia meliloti* tolèrent des concentrations allant de 300 à 700 mM de sel (Embalomatis *et al.*, 1994). La souche de *R. leguminosarum* tolère des concentrations de NaCl pouvant atteindre 350 mM de sel (Breedveld *et al.*, 1991). Les bactéries fixatrices d'azote du genre *Frankia* améliorent aussi la tolérance au sel des plantes (Srivastava *et al.*, 2012). Les travaux de Oshone *et al.*, (2013) ont montré que la souche de *CcI6* est très tolérante au sel. Il a été démontré que des plantes de *C. equisetifolia* inoculées avec la souche *Ceq1* formaient des nodules en présence de quantité de sel allant jusqu'à 300 mM (approximativement 28 dSm⁻¹) (Tani et Sasakawa, 2003). Le stress salin influence le métabolisme de l' N₂ et augmente la réduction des nitrates (Frechill *et al.*, 2001). Toutefois, l'inoculation avec des bactéries fixatrices d'azotes tolérantes au sel permettrait d'améliorer la nutrition minérale de la plante dans ces conditions. Généralement, les souches de *Frankia* sont

absentes dans les sols salins d'où l'importance d'inoculer les plantes avant de les transférer pour la réhabilitation des terres dégradées par le sel (Hafez *et al.*, 1999).

Il a été rapporté que la double inoculation avec des bactéries fixatrices d'azote et des champignons mycorhiziens améliore significativement les performances des plantes en condition de stress salin (Singh *et al.*, 2011). Cet effet est observé chez des plantes de *Vigna radiata* L. et pourrait s'expliquer par une réduction de l'absorption des ions Na^+ et une augmentation de l'absorption du P, N et du Mg^{2+} . Cette double inoculation permet à la plante d'ajuster le stress osmotique et d'augmenter la tolérance de la plante au stress salin (Soliman *et al.*, 2012).

Cependant, la sélection de souches de bactéries fixatrices d'azote et de CMA tolérantes au sel et compatibles avec la plante hôte est un facteur clé pour obtenir une bonne combinaison plante-bactérie-CMA à utiliser dans les programmes de réhabilitation des terres affectées par le sel.

Chapitre 1 : Impact de l'inoculation avec des souches de CMA (*R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices*) sur les performances des espèces de *C. glauca* et *C. equisetifolia* en condition de stress salin

Avant Propos

Cette première partie permet de mieux comprendre l'impact de l'inoculation avec les souches de CMA sur les performances de *C. glauca* et de *C. equisetifolia* en condition de stress salin. Elle porte sur une expérimentation qui a été effectuée en serre où les plantes de *C. glauca* et de *C. equisetifolia* ont été inoculées avec les souches fongiques *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices*.

Ces résultats ont été présentés à la 5th Conférence Internationale sur les Casuarinaceae à Chennai en Inde (03-07 Février, 2014) et ont fait l'objet d'un article qui a été publié dans le proceeding de cette conférence.

Ils ont été aussi présentés aux 3^{ème} Journées du LMI LAPSE, 01-02 Avril 2015 à Dakar.

I) Introduction

La dégradation des terres par perte de fertilité est l'un des facteurs limitant les productions agricoles. Au niveau mondial, la salinisation des terres constitue une des causes de cette dégradation. Selon les données de (FAO, 2000), 831 millions d'ha sont affectés par le sel dans le monde parmi lesquelles 397 ha sont des sols salins et 434 ha sont des sols sodiques. La salinisation des terres est un problème pour les pays dont l'agriculture est un secteur clé du développement. Au Sénégal sur les 3 800 000 ha de terres cultivables, 1 230 000 ha sont affectés par la salinité. Ce phénomène réduit considérablement la productivité et la biodiversité des écosystèmes. Chez les plantes, la salinisation entraîne des modifications au niveau moléculaire, biochimique et physiologique et a des effets négatifs sur leur croissance (Ahmad et Sharma, 2008). Toutefois, certaines plantes appelées plantes halophytes peuvent supporter de fortes concentrations de sel. Cependant, l'inoculation avec les CMA permet de renforcer la tolérance au sel des plantes (Bhushan *et al.*, 2014). Les CMA jouent un rôle très important dans les écosystèmes en colonisant le système racinaire de la plupart des plantes et en améliorant la nutrition hydrominérale de ces dernières grâce à l'extension du réseau mycélien (Smith et Read, 2008). Ces champignons mettent en place des mécanismes pour une absorption sélective d'ions comme le Pi, le Ca²⁺, le Mg²⁺ et le Zn²⁺ en condition de stress salin (Estrada *et al.*, 2013). L'absorption de certains ions comme le Mg²⁺ nécessaire à la biosynthèse de la chlorophylle permet à la plante de maintenir son métabolisme en condition de stress salin (Parisa et Das, 2005). Cependant, les travaux de Porras-Soriano *et al.*, (2009) ont montré que l'efficacité de la symbiose et les mécanismes mis en place pour améliorer la tolérance de la plante au stress salin varie en fonction des souches fongiques et de la plante hôte d'où la nécessité de sélectionner le couple plante- CMA à utiliser pour la réhabilitation de terres dégradées par le sel.

L'objectif de cette étude est de trouver le couple *Casuarina*-CMA les plus tolérants au sel pour la valorisation agrosylvopastorale de terres affectées par la salinisation.

II) Matériel et Méthodes

1) Matériel

Les graines de *C. equisetifolia* (L. Johnson) utilisées dans cette expérimentation ont été fournies par le Programme national de semences forestières (PRONASEF) et ont été récoltées à Notto Gouye Diama au nord de la région de Thiès. Celles de *C. glauca* ont été fournies par le Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO). Trois souches fongiques ont été utilisées *Rhizoglosum aggregatus* (N.C. Schenck and G.S. Sm.) Sieverd., G.A. Silva and Oeh., *R. intraradices* (N.C. Schenck and G.S. Sm.) Sieverd., G.A. Silva and Oehl et *R. fasciculatum* (N.C. Schenck and G.S. Sm.) Sieverd., G.A. Silva and Oeh (Sieverding *et al.*, 2014). Ces souches ont été sélectionnées au Laboratoire Commun de Microbiologie (LCM) d'après leur capacité à tolérer le sel.

2) Méthodologie

2 1) Impact de l'inoculation avec *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* sur les performances de *C. glauca* et de *C. equisetifolia* en condition de stress salin

Pour étudier l'impact de l'inoculation avec *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* sur les performances de *C. glauca* et de *C. equisetifolia* en condition de stress salin, une expérimentation a été effectuée en serre. Les plants de *C. glauca* et de *C. equisetifolia* ont été produits en terrine et transférés dans des gaines de dimensions (25x12x50 cm) remplies d'un sol stérilisé provenant de Sangalkam. Ce sol renferme de faibles teneurs en phosphore ce qui en fait un bon substrat pour les essais de mycorhization (Duponnois *et al.*, 2002). Avant la transplantation dans les gaines, l'inoculation a été effectuée avec 10g de sol contenant des propagules (spores, hyphes et racines mycorhizées). En début d'expérience, les plants ont été arrosés avec de l'eau déminéralisée. Après 45 jours de croissance en serre pour permettre l'établissement de la symbiose, l'arrosage a été effectuée avec des solutions de NaCl jusqu'à la fin de l'expérimentation. Trois concentrations de NaCl ont été utilisées 0 mM, 150 mM et 300 mM de NaCl. Des études préalables effectuées au laboratoire sur la tolérance au sel des

Casuarina ont permis de sélectionner ces concentrations. Le stress salin a été appliqué graduellement pour éviter un choc osmotique pouvant entraîner la mort des plantes. La concentration en NaCl est fréquemment mesurée avec le salinomètre et ajustée au besoin.

Pour chaque traitement, 12 répétitions ont été effectuées et le dispositif est une randomisation complète. Après de 4 mois en serre, les plantes ont été récoltées et les paramètres morphométriques et physiologiques ont été évalués pour déterminer la souche fongique conférant une meilleure tolérance au sel à la plante d'une part et d'autre part comparer les niveaux de tolérance au sel des deux espèces.

2 1 1) Les paramètres morphométriques

Les paramètres morphométriques évalués sont les suivants : la croissance en hauteur, la biomasse aérienne, racinaire et totale.

2 1 2) Les paramètres physiologiques

2 1 2 1) Mesure des teneurs en chlorophylle

Les teneurs en chlorophylle des parties aériennes ont été déterminées selon la méthode de Makeen *et al.*, (2007) modifiée et adaptée aux Casuarina. Une quantité de 100 mg de feuilles a été prélevée et gardée dans des sacs en polyéthylène noirs contenant du papier buvard pour éviter le contact avec la lumière. Pour chaque échantillon, l'extraction de la chlorophylle a été effectuée dans de l'acétone 80% (80 ml d'acétone plus 20 ml de phosphate de sodium 2,5 mM, pH= 7,8). Les broyats obtenus ont été versés dans un tube Falcon de 50 ml et centrifugés à 10 000 rpm à 4°C pendant 10 min, puis incubés à 4°C à l'obscurité pendant 24 h ; durée permettant de libérer toute la chlorophylle. Les teneurs en chlorophylle totale dans le surnageant ont été déterminées par la mesure de l'absorbance des chlorophylles a et b au spectrophotomètre. La solution d'acétone 80% a été utilisée comme le blanc de l'expérimentation. Les teneurs en chlorophylles a et b ont été dosées respectivement à une absorbance de 645 et 663. Les quantités de chlorophylle totale (chlorophylle a et b) ont été

calculées d'après Arnon, (1949) selon la formule suivante : $C = \{[20,2 (A_{645}) + 8,02 (A_{663})] \times V/M\}$. Ces quantités sont exprimées en milligramme par gramme de matière fraîche.

A_{645} : Absorbance de la chlorophylle b ; A_{663} : Absorbance de la chlorophylle a,
 V : Volume d'extraction (ml) ; M : Masse des feuilles broyées (mg).

2 1 2 2) Mesure des teneurs en proline

Pour mesurer les teneurs en proline dans les parties aériennes des feuilles, une quantité de 100g de matière végétale a été prélevée juste après récolte, coupée en petites morceaux et placée dans des tubes à essai. Le protocole de Monneveux et Nemmar (1986) a été adopté. Dans chaque tube, un volume de 2 ml de méthanol à 40 % a été ajouté. Les tubes fermés ont été ensuite portés à ébullition au bain-marie à 85 °C pendant 60 min. Après refroidissement, 1 ml d'extrait a été prélevé auquel a été ajouté 1ml d'acide acétique, 1ml d'un mélange contenant 120 ml d'eau distillée, 300 ml d'acide acétique, 80 ml d'acide orthophosphorique et 25 mg de ninhydrine. La solution a été chauffée pendant 30 min. Après refroidissement, 5 ml de toluène ont été rajoutés à la solution. Après agitation, deux phases se forment : la phase supérieure qui contient la proline a été récupérée et déshydratée par ajout de sulfate de sodium anhydre. La densité optique a été déterminée au spectrophotomètre à la longueur d'onde 528nm. Les valeurs obtenues ont ensuite été reportées sur une courbe d'étalonnage préalablement établie à partir d'une série de solutions de concentrations en proline connues.

2 1 2 3) Les teneurs en N_2 , Pi, Na^+ et K^+ au niveau des parties aériennes

Les teneurs en N et P des parties aériennes ont été déterminées par le Laboratoire des Moyens Analytiques (LAMA, IRD/Dakar). Les parties aériennes sèches broyées ont été calcinées à 500°C. Le phosphore total a été dosé par colorimétrie (John, 1970) en traitant les tissus calcinés dans 2 ml HCL 6N et 10 ml HNO₃ N. L'azote total a été dosé selon la méthode Kjeldhal, en traitant les tissus dans 15 ml H₂SO₄ 18 N contenant 50 g.l⁻¹ d'acide salicylique.

Les teneurs en Na^+ et K^+ dans les parties aériennes des plantes ont été aussi déterminées par le même laboratoire.

2 1 3) Les paramètres histologiques

Pour déterminer la fréquence et l'intensité de mycorhization, 100 fragments de 1 cm environ ont été prélevés du système racinaire de chaque plante. Les racines ont été décolorées dans du KOH 10% à 90 °C. Après décoloration, elles ont été colorées avec de l'Uvitex 2B selon le protocole décrit dans Diagne *et al.*, (2011). La fréquence et l'intensité de mycorhization ont été déterminées selon la méthode de Trouvelot *et al.*, (1986) (Figure 10).

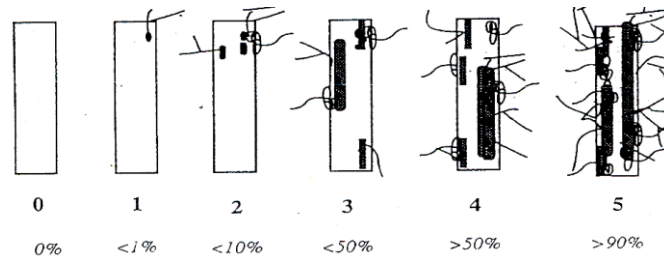


Figure 10. Notation de l'infection mycorhizienne (classe 0 à classe 5) Trouvelot et al., (1986)

La fréquence et l'intensité de mycorhization sont calculées selon les formules suivantes:

$$F\% = (\text{nombre de fragments mycorhizés} / \text{nombre total de fragments observés}) \times 100$$

$$I\% = (95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1) / \text{nombre total de fragments observés}$$

n_5 = nombre de fragments notés 5 ; n_4 = nombre de fragments notés 4 ; n_3 = nombre de fragments notés 3 ; n_2 = nombre de fragments notés 2 ; n_1 = nombre de fragments notés 1

2 2) Fonctionnement de la symbiose mycorhizienne chez les plantes de *C. equisetifolia* et *C. glauca* inoculées avec les souches fongiques les plus contrastées *R. fasciculatum* et *R. intraradices*

Pour étudier le fonctionnement de la symbiose mycorhizienne chez *C. equisetifolia* et *C. glauca*, les souches fongiques qui ont des réponses contrastées au stress salin ont été sélectionnées à partir de l'expérimentation précédente. La souche *R. fasciculatum* améliore la tolérance au sel jusqu'à des concentrations de sel de 300 mM alors que la souche de *R. intraradices* n'a pas d'effet positif sur la croissance de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* à des concentrations de NaCl supérieures à 150 mM. Une expérimentation similaire à la précédente

a été conduite en serre dans les mêmes conditions expérimentales avec des plantes de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* inoculées avec les deux souches fongiques les plus contrastées *R. fasciculatum* et *R. intraradices*. Elle nous permettra de comparer le fonctionnement en condition de stress salin de deux souches ayant des réponses contrastées. A côté des plantes témoins ayant reçu 0 mM de sel, deux autres concentrations de sel (50 mM et 100 mM) ont été appliquées soit un total de trois traitements. Pour chaque traitement, 12 répétitions ont été effectuées et un dispositif randomisé a été adopté. Au bout de deux mois en serre, les plantes ont été récoltées. Le système racinaire a été divisé en deux parties. Une partie a été utilisée pour étudier l'activité métabolique des structures fongiques. La deuxième partie a été trempée immédiatement dans de l'azote liquide et puis gardée à -80°C pour analyser les mécanismes moléculaires impliqués dans la tolérance au sel de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* inoculés avec *R. fasciculatum* et *R. intraradices*.

Les paramètres histochimiques

Pour déterminer le métabolisme des structures fongiques :

- Des colorants comme le chlorure de nitro blue tetrazolium (NBT) permettant de détecter une activité succinate deshydrogénase (SDH) relative au métabolisme actif des cellules ont été utilisés.

-La production de ROS reliée à des réactions de défense et à la sénescence des arbuscules a été évaluée en colorant les structures fongiques avec de la diaminobenzidine (DAB).

La visualisation de ces activités enzymatiques couplée à la technique des intersections a permis de comparer l'activité métabolique des structures fongiques chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum* et celles inoculées avec *R. intraradices* deux souches ayant une réponse contrastée en condition de stress salin.

3) Analyses statistiques

Les données obtenues ont été traitées par une analyse de variance à un facteur contrôlé et les moyennes ont été comparées 2 à 2 en utilisant le test de Newman-Keul ($p < 0,05$). Avant leur traitement statistique, les taux de mycorhization ont été transformés par la fonction Arc sin (\sqrt{x}). Ces analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel XL stat-pro.

III) Résultats

1) Impact de l'inoculation avec *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* sur les performances de *C. glauca* et de *C. equisetifolia* en condition de stress salin

1 1) Impact de l'inoculation avec *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* sur la croissance de *C. glauca* et de *C. equisetifolia* en condition de stress salin

Les résultats obtenus au niveau de la figure 11 et 12 montrent que l'inoculation avec les CMA améliore la croissance de *C. equisetifolia* et de *C. glauca*.

A 0mM de sel, les plantes de *C. equisetifolia* inoculées avec *R. fasciculatum* et *R. aggregatus* ont une croissance en hauteur significativement plus importante que les plantes non inoculées (Figure 11). Cependant, la différence de croissance n'est pas significative entre les plantes inoculées avec *R. intraradices* et les plantes témoins. En absence de sel, seules les souches de *R. fasciculatum* stimulent significativement la croissance en hauteur des plantes de *C. glauca* (Figure 12).

A 150 mM de sel, une croissance moins importante des plantes a été obtenue comparée à la croissance des plantes témoins cultivées en absence de sel. Une différence de 5,6 cm a été notée entre les plantes témoins de *C. equisetifolia* soumises aux concentrations de 0 mM et 150 mM. Pour les plantes de *C. glauca*, cette différence est de 3,74 cm entre les témoins à 0 mM et 150 mM. Chez les plantes inoculées, la différence de croissance est plus faible chez les plantes de *C. equisetifolia* inoculées avec *R. aggregatus* et celles de *C. glauca* inoculées avec *R. fasciculatum*. Malgré l'effet dépressif du sel sur la croissance de *C. equisetifolia* et de *C.*

glauca, l'inoculation avec le champignon a amélioré la croissance des plantes comparée à celle des plantes non inoculées. Les meilleures croissances ont été notées chez les plantes de *C. equisetifolia* inoculées avec *R. aggregatus* (Figure 11) et chez les plantes de *C. glauca* inoculées avec *R. fasciculatum* (Figure 12). Pour ces plantes, il n'y a pas différence significative de croissance entre les plantes à 0 mM et 150 mM.

A 300 mM de sel, la baisse de la croissance des plantes de *C. equisetifolia* est plus marquée comparée aux plantes à 0 et 150 mM. Quant aux plantes de *C. glauca*, une meilleure croissance a été notée chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum* et il n'y a pas de différence significative de croissance entre les plantes à 0 mM, 150 mM et 300 mM du sel. Une croissance plus importante des plantes de *C. glauca* comparées aux plantes de *C. equisetifolia* a été aussi notée à cette concentration.

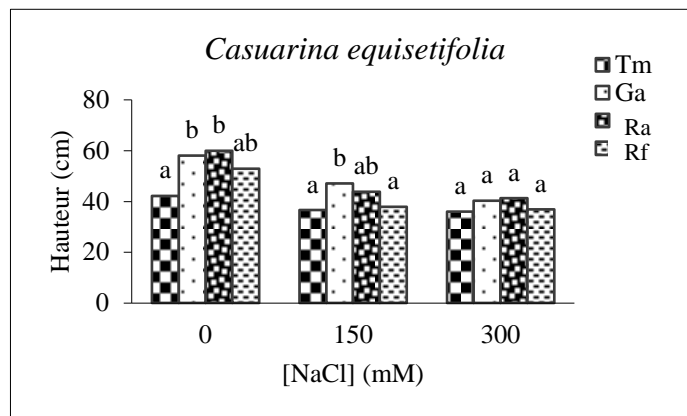


Figure 11. Croissance en hauteur de *C. equisetifolia* après 4 mois de culture en serre

Les données des colonnes suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes d'après le test de Newman-Keul ($p < 0,05$).

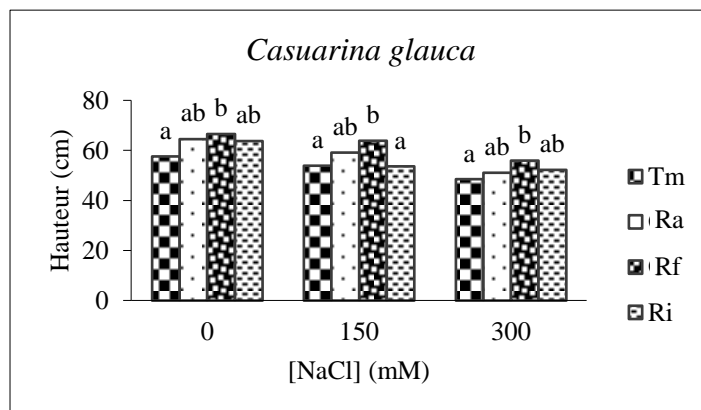


Figure 12 : Croissance en hauteur de *C. glauca* après 4 mois de culture en serre. Tm : Témoin, Ra : *R. aggregatus*, Rf : *R. fasciculatum*, Ri : *R. intraradices*.

Les données des colonnes suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes d'après le test de Newman-Keul ($p < 0,05$).

1 2) Comparaison de la croissance de *C. equisetifolia* et *C. glauca* inoculées avec *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* en condition de stress salin

A 0mM de sel, les plantes témoins de *C. glauca* ont une croissance plus importante que les plantes de *C. equisetifolia*. Pour les plantes inoculées avec les CMA, il n'y a pas de différence significative entre les deux espèces à 0mM de NaCl (Figure 13). A 150 mM de NaCl, une croissance plus importante des plantes témoins de *C. glauca* a été notée comparée aux plantes témoins de *C. equisetifolia*. L'inoculation avec les souches fongiques *R. fasciculatum* et *R. intraradices* a amélioré significativement la croissance de *C. glauca* comparé à *C. equisetifolia* (Figure 13). A 300 mM de NaCl, une meilleure croissance des plantes de *C. glauca* a été notée. L'inoculation avec les CMA a stimulé la croissance des plantes de *C. glauca* en présence de sel.

Une croissance significativement plus importante a été observée chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum* comparée aux plantes témoins (Figure 13).

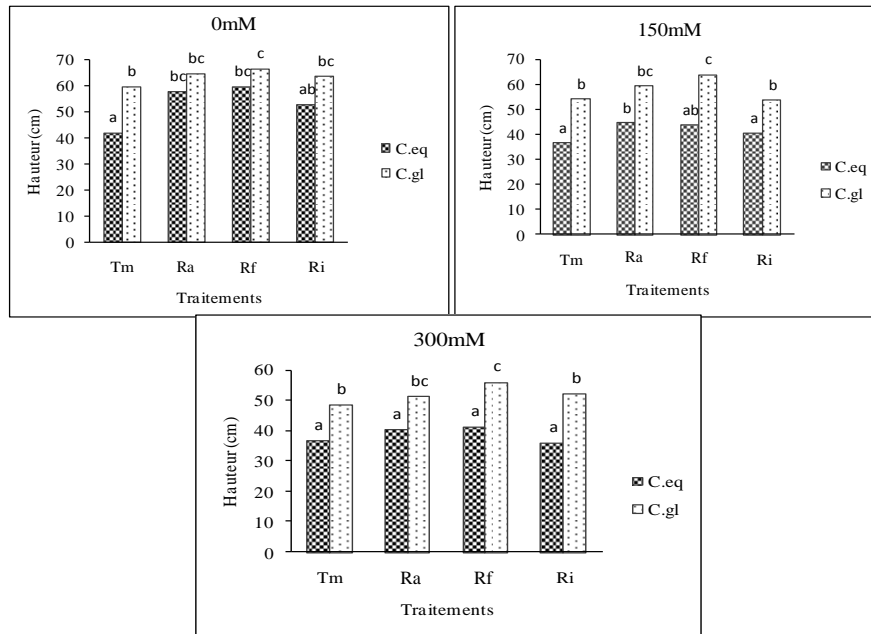


Figure 13. Comparaison de la croissance en hauteur de *C. equisetifolia* et de *C. glauca*.

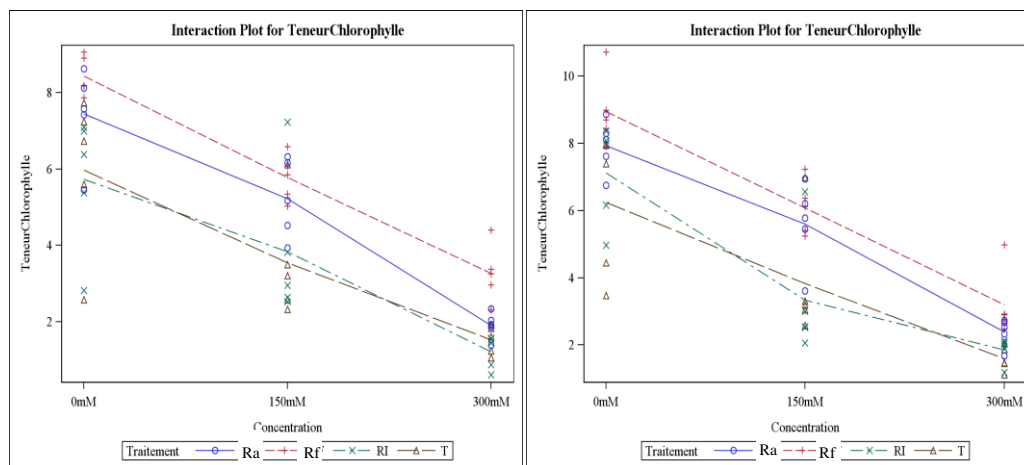
Les données des colonnes suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes d'après le test de Newman-Keul ($p < 0,05$).

1 3) L'impact de l'inoculation avec des souches de *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* sur la teneur en chlorophylle de *C. equisetifolia* et *C. glauca* en condition de stress salin

La figure 14 montre l'interaction entre les quantités de NaCl, les souches de CMA (*R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices*) utilisées et les teneurs en chlorophylle. D'une façon globale, les teneurs en chlorophylle sont plus faibles chez les plantes de *C. equisetifolia* comparées aux plantes de *C. glauca*. La figure 14 montre que la synthèse de la chlorophylle chez la plante est négativement affectée par le NaCl. Toutefois, l'inoculation avec les souches de CMA de *R. aggregatus* et *R. fasciculatum* améliore les teneurs en chlorophylle de ces plantes en présence et en absence de sel. Les teneurs en chlorophylle les plus élevées ont été notées chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum*. Cette souche améliore les teneurs en

chlorophylle de 29% à 0 mM, 38,75% à 150 mM et 53,37% à 300 mM de NaCl chez les plantes de *C. equisetifolia* comparées aux teneurs chez les témoins. Elle augmente de 30,31% à 0 mM, 37,06% à 150 mM et 50,15% à 300 mM les teneurs en chlorophylle chez les plantes de *C. glauca* comparées aux témoins. Les analyses statistiques ont montré que ces teneurs sont significativement plus importantes comparées aux plantes témoins et aux plantes inoculées avec *R. aggregatus* et *R. intraradices*.

La diminution des teneurs en chlorophylle augmente en fonction de la concentration de sel. Cependant, l'inoculation avec les CMA atténue la réduction des teneurs en chlorophylle. A 300 mM NaCl, les taux de réduction les plus faibles ont été notés chez les plantes de *C. equisetifolia* (61,37%) et les plantes de *C. glauca* (64,24%) inoculées avec *R. fasciculatum*.



A : Teneur en chlorophylle chez *Casuarina equisetifolia*

B : Teneur en chlorophylle chez *Casuarina glauca*

Figure 14 : Teneur en chlorophylle de *C. equisetifolia* et *C. glauca* inoculés avec *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* en condition de stress salin.

1 4) L'impact de l'inoculation avec des souches de *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* sur la teneur en proline de *C. equisetifolia* et *C. glauca* en condition de stress salin

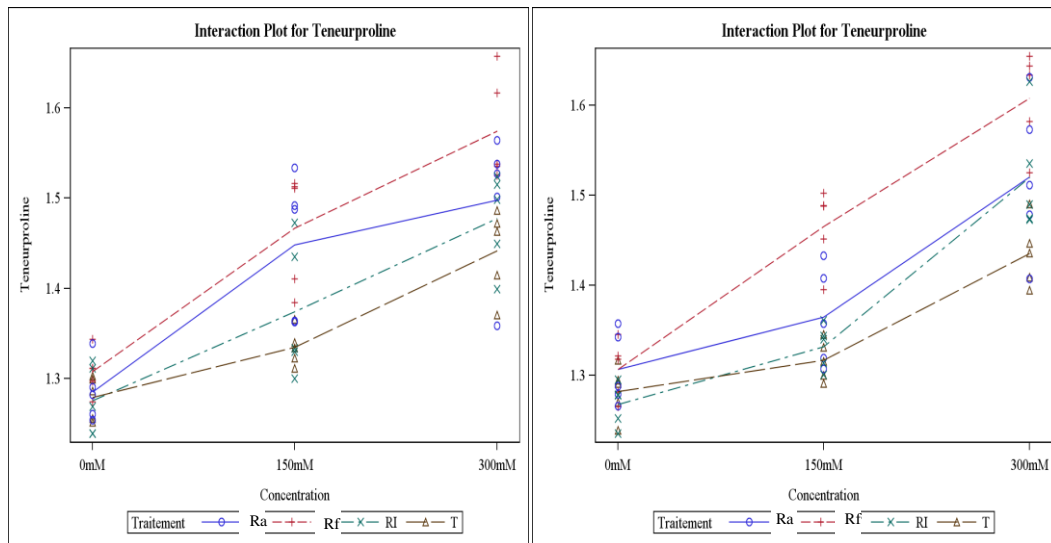
Comme pour les teneurs en chlorophylle, la figure 15 montre l'interaction qu'il y a entre les teneurs en proline chez *C. equisetifolia* et *C. glauca*, les quantités de NaCl et les souches de CMA (*R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices*) utilisées.

Contrairement aux teneurs en chlorophylle, les teneurs en proline augmentent avec les concentrations de NaCl mais aussi varient en fonction de la souche fongique utilisée.

A 0 mM, il n'y a pas de différence entre les teneurs en proline des plantes de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* témoins et celles des plantes inoculées avec les CMA.

A 150mM, les teneurs en proline augmentent chez *C. equisetifolia* et *C. glauca*. Cette augmentation est significativement plus importante chez les plantes de *C. equisetifolia* inoculées avec *R. fasciculatum* (10%) et chez les plantes de *C. glauca* inoculées avec *R. fasciculatum* (9,59%).

A 300 mM de NaCl, une augmentation significative des teneurs en proline a été notée chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum* avec un taux d'augmentation de (11%) pour les plantes de *C. equisetifolia* et 8,28% pour les plantes de *C. glauca*.



A : Teneur en proline chez *Casuarina equisetifolia*

B : Teneur en proline chez *Casuarina glauca*

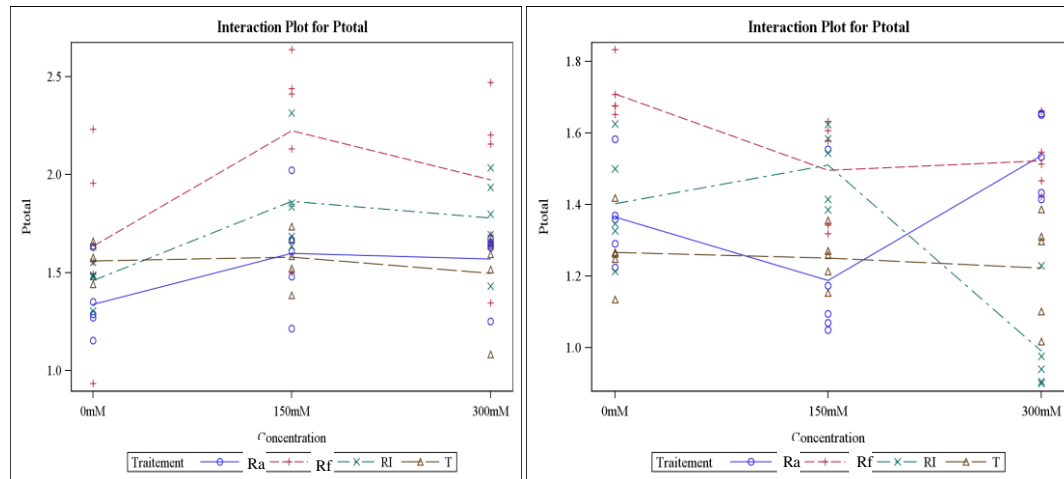
Figure 15 : Teneur en proline de *C. equisetifolia* et *C. glauca* inoculés avec *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* en condition de stress salin.

1 5) L'impact de l'inoculation avec des souches de *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* sur les teneurs en Pi totale, N total, Carbone, Na^+ et K^+ dans les parties aériennes de *C. equisetifolia* et *C. glauca* en condition de stress salin

Chez *C. equisetifolia* (Figure 16 A), une augmentation des teneurs en Pi a été notée chez les plantes inoculées mais la différence n'est pas significative comparée aux témoins à 0mM. A 150 mM et 300 mM, une augmentation significative respectivement de (28,37%) et (24,36%) a été notée chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum* comparée aux plantes témoins.

Chez *C. glauca* (Figure 16 B) une augmentation des teneurs en Pi a été notée chez les plantes inoculées. Cette augmentation de 26,31 % est significative chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum* comparée aux témoins à 0 mM. A 150 mM, une augmentation significative de (20%) a été notée chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum* et celles inoculées avec *R. intraradices* comparées aux plantes témoins. A 300 mM, les teneurs en Pi les plus élevées ont

été notées chez les plantes inoculées avec *R. aggregatus* et *R. fasciculatum*. Pour ces dernières, une augmentation significative respective de 35,07 % et de 34,21% a été observée.



A : Teneur en Pi chez *Casuarina equisetifolia*

B : Teneur en Pi chez *Casuarina glauca*

Figure 16 : Teneur en Pi dans les parties aériennes de *C. equisetifolia* (A) et *C. glauca* (B) inoculés avec *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* en condition de stress salin

Chez *C. equisetifolia* (Figure 17 A), à 0 mM de NaCl, les teneurs en azote sont significativement plus importantes chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum* avec une augmentation de 20,79 %. A 150 mM et 300 mM, il n'y a pas de différence significative entre les traitements mais les teneurs les plus élevées à 300 mM ont été obtenues chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum*.

Chez *C. glauca* (Figure 17 B), à 0 mM de NaCl, les teneurs en azote sont significativement plus importantes chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et les témoins. A 150 mM et 300 mM, il n'y a pas de différence significative entre les traitements mais les teneurs les plus élevées à 300 mM ont été obtenues chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum*.

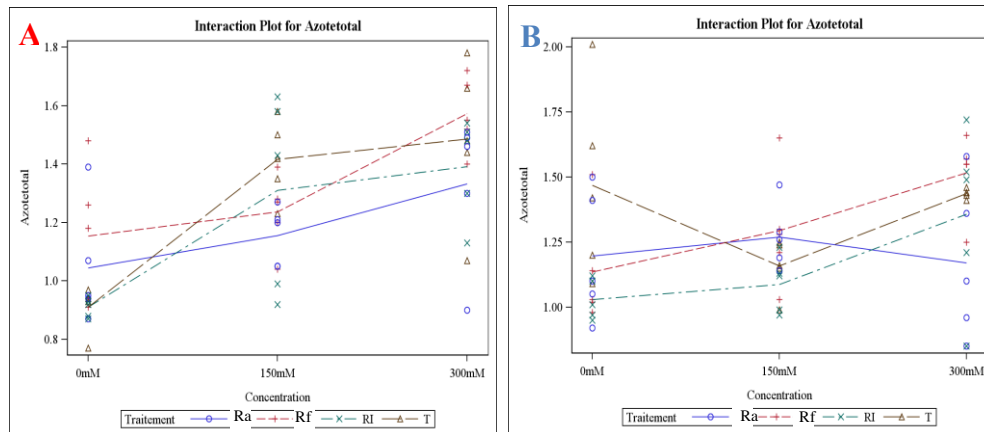


Figure 17 : Teneur en azote (A et B) dans les parties aériennes de *C. equisetifolia* (A) et *C. glauca* (B) inoculés avec *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* en condition de stress salin

Pour ce qui est des teneurs en Na^+ dans les parties aériennes des feuilles de *C. equisetifolia* (Figure 18 A), elles augmentent avec les concentrations de NaCl pour tous les traitements. A 150 et 300 mM de sel, les teneurs en Na^+ sont plus faibles chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum* et *R. intraradices*. Elles sont plus élevées chez les plantes témoins et les plantes inoculées avec *R. aggregatus*.

Chez *C. glauca* (Figure 18 B), à 0 mM, il n'y a pas de différence entre les teneurs en Na^+ des différents traitements. A 150 mM, ces teneurs sont plus importantes chez les plantes témoins et augmentent de 97,77% comparées aux témoins à 0mM. A 300 mM, les teneurs en Na^+ augmentent pour tous les traitements et sont plus importantes chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum* où une augmentation de 66,8% a été notée.

Concernant les teneurs en K^+ , à 0 mM il y'a pas de différence significative entre les traitements. A 150 mM, elles sont plus élevées chez les plantes de *C. equisetifolia* (Figure 18 C) inoculées avec *R. fasciculatum* et *R. intraradices*. A 300 mM, le taux de K^+ dans les parties aériennes des plantes de *C. equisetifolia* sont plus importantes chez les plantes témoins et les plantes inoculées avec *R. intraradices*.

Chez *C. glauca* (Figure 18 D), à 0 mM, les teneurs en K^+ sont plus importantes chez les plantes témoins et celles inoculées avec *R. aggregatus*. En présence de sel (150 mM et 300 mM), les teneurs en K^+ les plus importantes ont été notées chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum*.

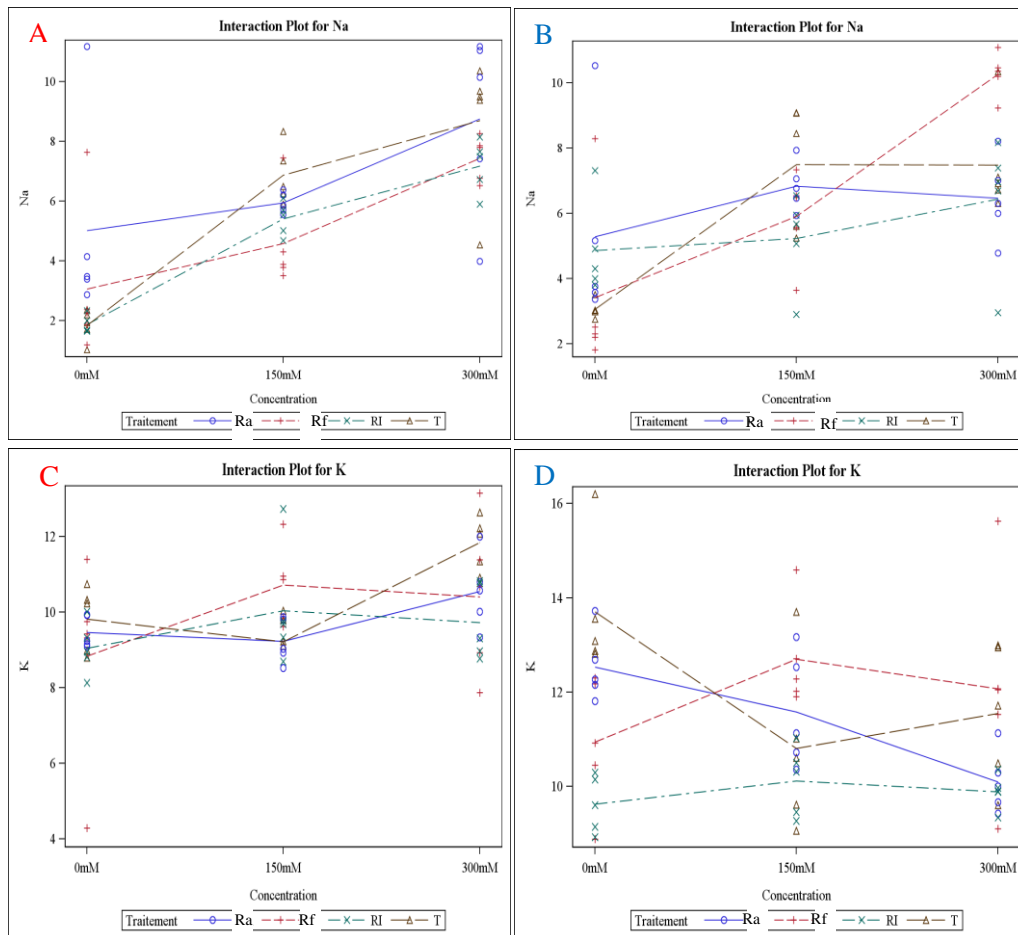
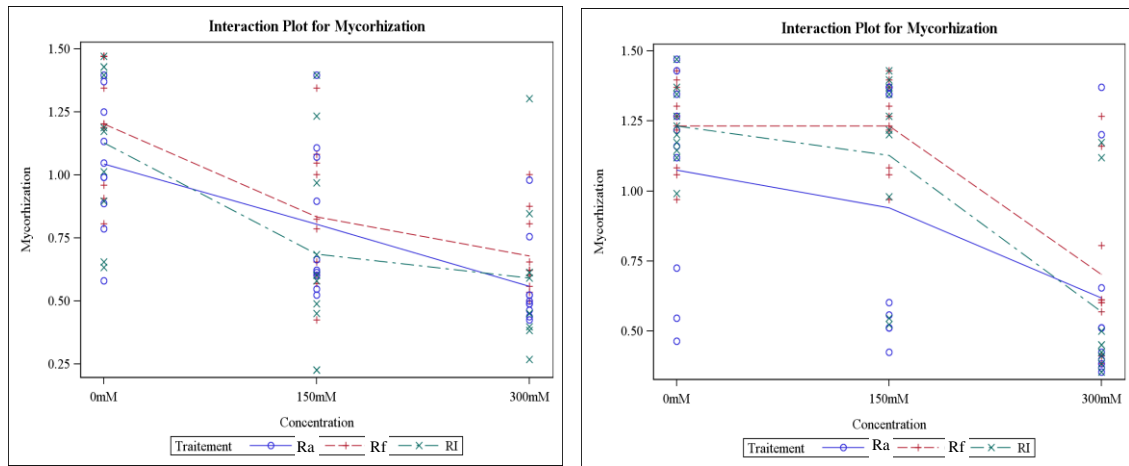


Figure 18 : Teneur en Na^+ et K^+ dans les parties aériennes de *C. equisetifolia* et *C. glauca* inoculés avec *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices* en condition de stress salin. Lettre en rouge : figure de *C. equisetifolia* et bleu : figure de *C. glauca*

1 6) Taux de colonisation des racines de *C. equisetifolia* et *C. glauca*

La figure 19 A montre une diminution de l'intensité de mycorhization des plantes de *C. equisetifolia* inoculées avec *R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. irregularus* en fonction de la concentration de sel. Pour toutes les concentrations de sel, l'intensité de mycorhization est plus élevée chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum*. Pour ces plantes, le taux de réduction est plus faible. Ce taux est de 30,8 % à 150 mM et 44,16% à 300 mM.

Chez *C. glauca* (Figure 19 B), l'intensité de mycorhization est plus élevée chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum* et *R. intraradices* à 0 mM et 150 mM. A 300 mM de sel, on note une baisse de l'intensité de mycorhization. Elle reste plus élevée chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum* où l'on observe le taux de réduction le plus faible (43,1%).



A : Intensité de mycorhization *Casuarina*

B : Intensité de mycorhization *Casuarina glauca*

Figure 19 : Intensité de mycorhization des racines de *C. equisetifolia* et *C. glauca*

2) Fonctionnement de la symbiose mycorhizienne

Aussi bien chez *C. equisetifolia* que chez *C. glauca*, les structures fongiques actives sont plus importantes chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum*. Cependant, le taux de structures fongiques actives diminue légèrement en présence de 100 mM de NaCl (Figure 20).

Pour ce qui est des structures fongiques en sénescence, elles sont plus importantes chez les plantes de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* inoculées avec la souche de *R. intraradices* (Figure 20).

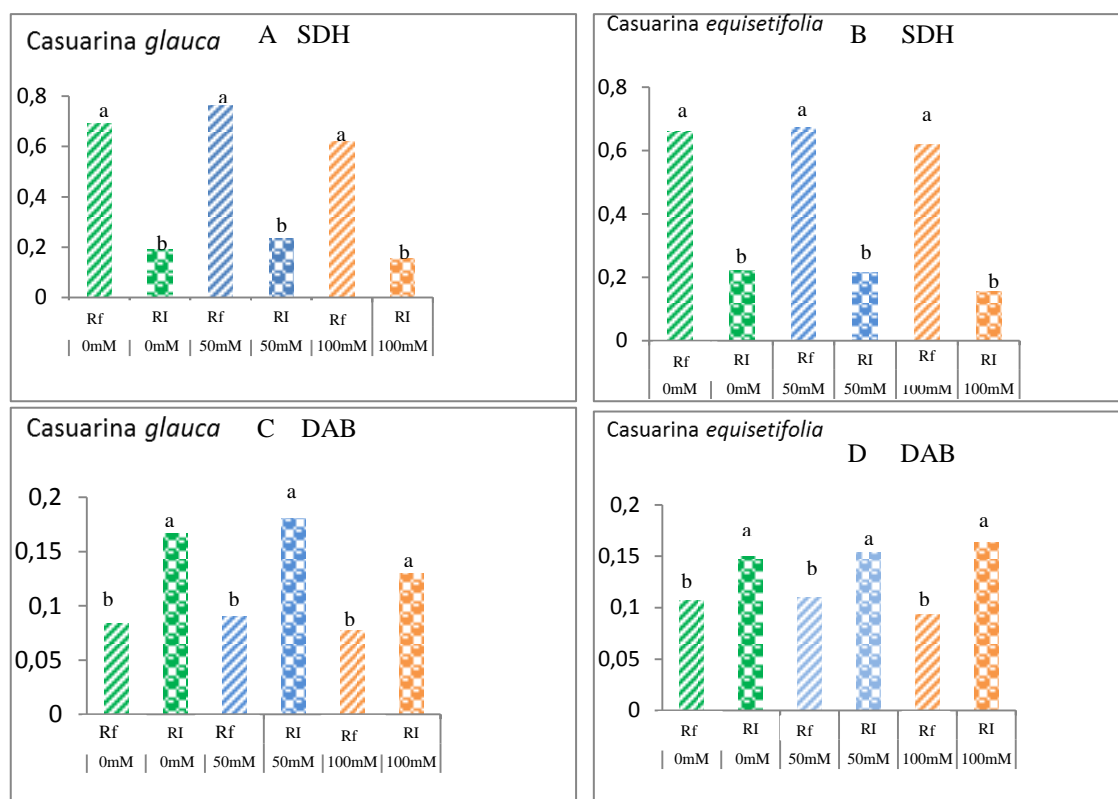


Figure 20 : **A** : Métabolisme actif des structures fongiques chez *C. glauca* ; **B** : Métabolisme actif des structures fongiques chez *C. equisetifolia* ; **D** : Structures fongiques en sénescence chez *C. glauca* ; **C** : Structures fongiques en sénescence chez *C. equisetifolia*. Les données des colonnes suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes d'après le test de Newman-Keul ($p < 0,05$).

III) Discussion

La croissance des plantes de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* en présence de sel montre que ces espèces sont tolérantes au sel. Les travaux de El-Lakany et Luard, (1982) ont montré que les plantes de *C. equisetifolia* sont très tolérantes au sel. Toutefois, la meilleure croissance des témoins de *C. glauca* en présence ou en absence de stress salin montre que l'espèce *C. glauca* serait plus tolérante au sel comparée à *C. equisetifolia*. La différence de tolérance au sel des espèces du genre *Casuarina* pourrait être liée à la différence d'absorption des ions.

L'inoculation a amélioré la croissance de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* en présence ou non de NaCl. Cette meilleure croissance des plantes en présence des champignons serait due à une meilleure absorption des éléments minéraux grâce à l'extension des hyphes du champignon (Smith et Read, 2008, Lu *et al.*, 2015). Ce résultat est confirmé dans ces travaux par des teneurs en Pi plus importantes chez les plantes de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* inoculées avec les CMA. L'importance des CMA dans la tolérance au sel des plantes a été démontrée par Sinclair *et al.*, (2014). Toutefois, le sel a un effet négatif sur la croissance de la plante et sur les CMA. Les résultats obtenus ont montré que le taux de mycorhization diminue avec l'augmentation des teneurs en sel. Des résultats similaires ont été trouvés par Yang *et al.*, (2009) ; Fan *et al.*, (2011) et (Gaurav Bhushan *et al.*, 2014). Ce résultat pourrait s'expliquer par une inhibition de la germination et du développement des propagules comme les spores et les hyphes (Mc-Millen *et al.*, 1998, Juniper et Abbott, 2006).

Les champignons *R. fasciculatum* et *R. aggregatus* ont amélioré la croissance en hauteur de *C. equisetifolia* tandis la croissance de *C. glauca* est meilleure chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum*. Ce résultat montre que la réponse différente de la plante à l'inoculation avec les CMA pourrait être liée à une spécificité d'hôte. En effet des résultats similaires ont été trouvés par Klironomos, (2003). D'après ces auteurs, la réponse différente des plantes à l'inoculation avec les CMA pourrait être liée à un problème de compatibilité entre la plante et le champignon. Sinclair *et al.*, (2014) ont montré que des cultivars de fraisier répondaient

différemment à l'inoculation au CMA et au stress salin. Cette réponse pourrait aussi s'expliquer par un seuil de toxicité du sel qui varie d'un champignon à un autre. A une certaine concentration de sel, la croissance et le développement du champignon sont affectés négativement ce qui pourrait réduire leurs effets bénéfiques sur la relation symbiotique. Les travaux de Audet et Charest, (2009) ont montré que lors du stress salin, il y aurait un seuil de toxicité au-delà duquel la relation symbiotique n'est bénéfique à aucun des partenaires.

Pour des fortes concentrations de NaCl, la meilleure croissance a été notée chez les plantes de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* inoculées avec *R. fasciculatum*. Ce résultat montre que *R. fasciculatum* améliore mieux la tolérance au sel des plantes en présence de sel. Ceci pourrait s'expliquer par une symbiose mycorhizienne plus efficace chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum*. Des résultats similaires ont été trouvés par Beltrona *et al.*, (2013). Dans cette étude, la souche *R. fasciculatum* est avérée être la plus tolérante et la plus efficace en condition de stress salin. Ces résultats se confirment par un métabolisme fongique actif plus important chez les plantes de *Casuarina* inoculées avec *R. fasciculatum* et un nombre de structures fongiques en sénescence très faibles chez ces mêmes plantes. L'activité des structures fongiques élevées chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum* pourrait expliquer les quantités de Pi et N plus élevées notée chez ces plantes. L'augmentation des teneurs en N pourrait être liée à sa meilleure assimilation en présence du champignon particulièrement au niveau des hyphes extracellulaires, à travers l'activité nitrate reductase au niveau des arbuscules.

L'amélioration de la nutrition phosphatée des plantes inoculées avec *R. fasciculatum* pourrait avoir un impact dans le maintien de l'intégrité de la membrane des vacuoles et faciliter la compartimentation du Na⁺ dans les vacuoles pour mieux s'adapter au stress salin en évitant son l'effet toxique.

La diminution du taux de structures fongiques actives en présence de sel confirme l'effet souvent négatif de la salinité sur la symbiose mycorhizienne. Les teneurs en carbone les plus

importantes ont été notées chez les plantes de *C. equisetifolia* inoculées avec *R. intraradices* où il y a beaucoup plus de structures fongiques en sénescences et chez les plantes témoins de *C. glauca*. Ces teneurs sont faibles chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum*. L'ensemble de ces résultats pourrait s'expliquer par le fait qu'une forte activité des structures fongiques nécessiterait plus d'énergie et beaucoup plus de produits provenant du métabolisme de la plante comme le C que le champignon ne peut pas produire lui-même et qui est nécessaire à son bon fonctionnement.

L'efficacité de la symbiose mycorhizienne notée chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum* pourrait expliquer aussi les teneurs en chlorophylle plus importantes chez ces plantes. En présence de sel, les champignons améliorent les teneurs en chlorophylle de la plante. Des résultats similaires ont été trouvés par (Abd_Allah *et al.*, 2015). Les teneurs en chlorophylle plus importantes trouvées chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum* pourraient s'expliquer par une meilleure absorption des ions Mg^{2+} qui constituent une partie de la molécule de chlorophylle et améliore sa concentration et l'efficacité de la photosynthèse (Evelin *et al.*, 2012). Cette meilleure croissance des plantes en présence du champignon pourrait s'expliquer par une meilleure absorption nutritive, une réduction du stress hydrique et une augmentation de la synthèse de la chlorophylle (Sheng *et al.*, 2008, Kronzucker *et al.*, 2013).

Les teneurs en chlorophylle diminuent avec le stress salin. Cette baisse des teneurs en chlorophylle pourrait s'expliquer par une réduction du potentiel hydrique, par un effet antagoniste du NaCl sur l'absorption de N, un élément de la structure de la chlorophylle. Elle peut aussi s'expliquer par la suppression de certaines enzymes impliquées dans la synthèse des pigments photosynthétiques et la diminution du prélèvement de nutriments comme le Mg^{2+} nécessaire à la biosynthèse de la chlorophylle (Kaya *et al.*, 2009, Murkute *et al.*, 2006, Abdel Latef et Chaoxing, 2011).

Contrairement aux teneurs en chlorophylle, les teneurs en proline augmentent avec les concentrations de NaCl mais aussi varient en fonction de la souche fongique utilisée. Pour les plus fortes concentrations de sel, les teneurs en proline les plus importantes ont été notées chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum* et les plus faibles ont été notées chez les plantes témoins aussi bien chez *C. equisetifolia* que chez *C. glauca*. Des résultats similaires ont été trouvés par Sharifi *et al.*, (2007). L'augmentation des teneurs en proline notées en présence de sel est souvent décrite comme une réponse adaptative des plantes au stress salin (Hassanein *et al.*, 2009, Ashoori *et al.*, 2015). Les résultats de Hameed *et al.*, (2014) ont montré une accumulation de la proline en condition de stress salin. Les teneurs les plus importantes notées chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum* pourraient confirmer la meilleure tolérance au sel chez ces plantes. Des résultats similaires ont été trouvés par Fereshteh *et al.*, (2014). Cette proline produite est un osmoprotecteur qui protège les cellules contre la déshydratation. Elle joue un rôle important dans la stabilisation des membranes et des protéines cellulaires, la protection des enzymes, la réduction du stress oxydatif, l'amélioration de la sélection d'ions K^+ et l'ajustement de la balance osmotique (Shabala et Mackay, 2011). Cette modification de la balance osmotique est souvent à l'origine de l'accumulation des ions Na^+ dans les cellules. Chez *C. equisetifolia* des teneurs en Na^+ plus importantes ont été notées chez les plantes témoins et chez les plantes inoculées avec *R. aggregatus* comparées aux plantes inoculées avec *R. fasciculatum* et *R. intraradices*. Ces teneurs obtenues en condition de stress salin pourrait s'expliquer par la modification de la balance ionique (Zhang *et al.*, 2013) et une compartimentation des ions Na^+ dans les vacuoles chez les plantes inoculées avec *R. aggregatus*. Ces mécanismes pourraient aussi expliquer la meilleure croissance obtenue à 150 mM chez ces plantes. Cependant, pour les témoins on pourrait penser à l'absence de mécanismes d'adaptation ce qui expliquerait les taux importants de Na^+ dans les parties aériennes. Pour ces résultats, on pourrait penser que les champignons *R. fasciculatum* et *R. intraradices* en association avec *C. equisetifolia* mettraient en place des mécanismes qui leur permettraient d'éviter l'accumulation du Na^+ dans les cellules. Pour *C. glauca*, les teneurs en Na^+ plus importantes chez les plantes inoculées avec

R. fasciculatum en présence de forte concentration de sel pourraient aussi s'expliquer par une activation du mécanisme d'adaptation qu'est la compartimentation pour éviter la toxicité des ions Na^+ .

Ces modifications de concentrations des ions Na^+ seraient liées à l'action des CMA qui diminuent l'effet négatif du stress ionique et osmotique par l'absorption sélective d'ions et atténuent l'effet du stress salin sur les activités enzymatiques ce qui pourrait améliorer le métabolisme comme la synthèse de la chlorophylle chez ces plantes (Zhang *et al.*, 2013). Les teneurs en K^+ plus élevées chez le couple *C. glauca* /*R. fasciculatum* comparées à celles du couple *C. equisetifolia*/ *R. fasciculatum* en présence de 300mM montrent une tolérance au sel plus élevée chez le premier couple ce qui explique la croissance en hauteur plus importante chez ce même couple.

Chez *C. glauca*, la légère augmentation des ions Na^+ couplée à une baisse des ions K^+ chez les plantes témoins pourrait s'expliquer par une compétition entre les ions Na^+ et K^+ en condition de stress salin. Etant donné que les ions Na^+ et K^+ ont des propriétés similaires, en présence de beaucoup de sel, les ions Na^+ ont tendance à se fixer sur les sites similaires et à inhiber le métabolisme du K^+ .

D'une façon globale, les teneurs en Na^+ , K^+ , N, P et C obtenues varient d'une plante à une autre et ceci en fonction du champignon utilisé. Des résultats similaires ont été trouvés par Hajiboland, (2013) qui a montré que l'effet du sel sur l'homéostasie ionique dépendrait de la tolérance au sel de la plante, de son génotype, de la souche fongique et de la combinaison champignon-plante.

IV) Conclusion

L'inoculation améliore la croissance des plantes en conditions de stress salin. En présence de fortes concentrations de NaCl, une meilleure croissance a été notée chez les plantes inoculées avec la souche *R. fasciculatum*. Des teneurs en P et en N plus élevées corrélées à un métabolisme actif plus important ont été notées chez les plantes inoculées avec *R. fasciculatum*. Ces plantes ont aussi des teneurs en chlorophylle et en proline plus importantes ce qui reflète un mécanisme d'adaptation au stress salin. Cette étude montre que parmi les souches fongiques testées, *R. fasciculatum* conférait une meilleure tolérance au sel à *C. equisetifolia* et *C. glauca*. Les résultats obtenus dans ce chapitre ont permis de sélectionner des microorganismes symbiotiques pour les tests à réaliser en milieu réel. Le chapitre qui suit décrit les expérimentations qui ont été effectuées pour tester ces microorganismes en milieu réel.

Chapitre 2: ESSAI DE REHABILITATION DE TERRES DEGRADEES PAR SALINISATION DANS LA COMMUNE DE PALMARIN PAR L'UTILISATION DE COUPLES SYMBIOTIQUES CASUARINA/CMA/FRANKIA LE PLUS TOLERANT AU SEL

Avant Propos

Ce chapitre est la suite du premier. Elle porte sur des expérimentations qui ont été effectuées sur des terres salées dans la commune de Palmarin (région de Fatick) pour tester les performances des couples symbiotiques *Casuarina*/souche CMA/ *Frankia* retenus d'après leur capacité de tolérance au sel. Les couples *Casuarina/Cci3/R. intraradices* et *Casuarina/CeD/R. fasciculatum* ont été testés respectivement en 2012 et 2013.

Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une présentation orale à la 18th conférence Internationale sur les *Frankia* et les plantes actinorhiziennes. 25-28. Montpellier, France.

I) Introduction

Au Sénégal, la région de Fatick fait partie des régions les plus affectées par le phénomène de salinisation. Dans cette région, l'une des communes les plus touchées et les plus exposées est celle de Palmarin.

La salinisation des terres est un problème majeur dans la région de Fatick. La commune de Palmarin qui se situe dans cette région fait partie des communes les plus affectées par la salinisation des terres. Elle s'étend sur 72 Km² et se trouve au sein de la Réserve de Biosphère du Delta du Saloum (RBDS) située sur les côtes de l'Afrique de l'Ouest, au centre ouest du Sénégal, à la frontière gambienne. Cette commune est composée de cinq villages (Ngallou, Sessene, Ngueth, Goudoumane et Jaxanor) et d'un hameau (Djiffer). Elle est peuplée en majorité par les sérères qui s'adonnent à des activités agricoles comme l'agriculture, la pêche et l'élevage.

Depuis quelques années et sous l'effet des changements climatiques, une baisse de la productivité des exploitations agricoles a été notée dans cette zone. Cette baisse est due particulièrement à une réduction de la pluviométrie, à l'agression marine et à la dégradation des terres liée essentiellement à la salinisation. A Palmarin, la surface des tannes est estimée à 85%. Ces tannes constituent des sols halomorphes acides et hyper salés impropres à l'agriculture. D'après le CP, (2008), les rendements en arachide sont passés de 800-900 kg/ha en 1987 à 400 kg/ha en 2001. La riziculture qui était très florissante vers les années 1960 a connu une baisse drastique sous l'effet de cette dégradation des terres. Cette baisse des rendements a des conséquences graves sur les conditions socio-économiques de la population de la zone. En parallèle, on note dans cette commune, une croissance rapide de la population qui passe de 4800 habitants en 1988 à 10 143 en 2011. En 2015, la population de la commune est estimée à 12 350 habitants (Agence Nationale de la Statistique et de la Démographie (ANSD, 2011)). Il s'avère donc très urgent de réhabiliter les terres dégradées par le sel à Palmarin pour augmenter leur productivité et, satisfaire les besoins de la population qui ne

Chapitre II : Réhabilitation de terres dégradées par salinisation dans la commune de Palmarin par l'utilisation de couples symbiotiques Casuarina/souche CMA/ Frankia le plus tolérant au sel

cesse de s'accroître mais également pour réduire l'exode rural des jeunes qui avoisine 70 % (Sarr, 2009). L'objectif de notre étude est de transférer une technologie durable et respectueuse de l'environnement pour la valorisation agrosylvopastorale des terres dégradées par le sel à Palmarin. Cette technologie consiste à utiliser des couples symbiotiques Casuarina-CMA-bactéries fixatrices d'azote sélectionnés sur la base de leur capacité à tolérer le sel et à les planter sur des tannes pour les réhabiliter et améliorer les services écosystémiques dans cette zone.

II) Matériel et Méthodes

1) Présentation du site d'étude

La zone qui a été choisie pour la réhabilitation des terres dégradées par salinisation s'agit de la commune de Palmarin. Cette commune se trouve dans la RBDS dans l'arrondissement de Fimela et est localisée entre 13°35 et 14°15 de Latitude Nord et 16°03 et 16°50 de Longitude Ouest. La RBDS couvre une superficie de 334 000 hectares (DOG, 2003). Cette région a été choisie car, elle fait partie des zones les plus affectées par le sel au Sénégal (Photo 1).



Photo 1 : Le site de Palmarin (A. Champion)

1 1) Le climat de la zone d'étude

Le terroir se trouve entre les isohyètes 800 mm et 900 mm avec une température moyenne de 28° C. Du fait de sa situation géographique lui conférant un caractère de presqu'île, la température dans la commune de Palmarin varie entre 16° C en Janvier et de 38° C en Juin.

1 2) Les sols

Dans cette communauté, deux types de sol sont rencontrés : sols ferrugineux tropicaux lessivés ou "Dior" et les sols halomorphes appelés "Tannes". Les sols "Dior" souvent utilisés pour la culture de l'arachide, du mil, du niébé et du sorgho se trouvent dans la partie Nord-Est et couvrent une superficie de 12 % soit environ 1000 ha. Environ 85 % de cette surface n'est plus propices à l'agriculture car étant des tannes (sols salins, sols sodiques ou sols salins et sodiques).

1 3) La végétation

Malgré la pression marine et anthropique, la végétation reste quand même diversifiée dans la Commune de Palmarin. Dans cette commune, on peut rencontrer des espèces comme *Borassus aethiopum* Mart., *Faidherbia albida* (Del) A. Chev., *Combretum glutinosum* (Perr. Ex DC.), *Adansonia digitata* (L.) et *Detarium senegalense* (J. F. Gmel.), la mangrove avec des espèces comme : *Rhizophora racemosa* G. Mey. et *Avicennia africana* P. Beauv., des palmiers à huile, des palmiers nains, des rôniers et des cocotiers. Ces derniers caractérisent le milieu d'où le nom du village « Palmarin ».

1 4) La population

Largement dominée par des sérères, on peut rencontrer des ethnies comme les diolas, les peulhs, les lébous etc. Avec une population moyenne de 1 293, 2 habitants par village (Sarr, 2008), un taux d'accroissement annuel de 3,5% a été noté vers les années 90. La population

de la commune est dominée par des jeunes avec un taux de 65 %. La population active reste très faible et est estimée à 47 %.

2) Prospection des sites et rencontre avec la population

Une approche participative a été utilisée ; et pour cela, nous avons organisé une mission pour choisir avec la population les sites à reboiser, expliquer la technologie à diffuser et puis sensibiliser les populations sur le phénomène de dégradation des terres à travers un exposé sur la salinisation.

2 1) Caractérisation physicochimique des sites avant plantation

Les travaux ont débuté par un prélèvement d'échantillons de sols au mois d'avril 2012 au niveau des sites retenus dans la commune de Palmarin. Pour le prélèvement d'échantillons, un terrain de 500m² a été ciblé. Ce terrain a été divisé en 4 parties et pour chaque partie un échantillon a été prélevé au milieu. Les quatre échantillons ont été poolés pour former un échantillon composite. Au niveau de ces sites, des paramètres physico-chimiques tels que la salinité, la granulométrie, l'azote total, l'azote assimilable, le phosphore total, le phosphore assimilable, le carbone total et le pH du sol ont été déterminées. L'ensemble de ces analyses a permis une caractérisation des sols avant plantation.

3) Plantation de Casuarina établie en 2012

Pour 2012, la plantation a été effectuée au niveau du site le plus salé Guissanda. Au niveau de ce site, deux espèces ont été introduites, l'espèce *C. equisetifolia* et l'espèce *C. glauca*. Pour chacune des espèces, quatre (4) traitements ont été retenus : les plantes témoins non inoculées, les plantes inoculées avec une souche de champignon *R. intraradices* et/ou la souche de bactérie *Frankia CcI3*. La souche de champignon *R. intraradices* et la souche de bactérie *CcI3* ont été choisies d'après les travaux effectués par Diouf *et al.*, (2005) et Prodjinoto, (2011) sur le stress salin. Ces microorganismes symbiotiques ont été utilisés pour inoculer les

Chapitre II : Réhabilitation de terres dégradées par salinisation dans la commune de Palmarin par l'utilisation de couples symbiotiques Casuarina/souche CMA/ Frankia le plus tolérant au sel

plantes en serre. L'expérimentation a été effectuée dans des gaines remplies avec du sol de Sangalkam tamisé à 2 mm et stérilisé à (120°C, 60 min). Ces plantes ont été arrosées avec de l'eau de robinet. Au bout de 4 mois en serre, les plantes ont été transférées au champ. Au total, il y avait 40 plantes de *C. equisetifolia* non inoculées comme témoin (T), 36 plantes de *C. equisetifolia* inoculées avec *CcI3* (bactérie *Frankia*), 40 plantes de *C. equisetifolia* inoculées avec *R. intraradices* (RI) et 40 plantes de *C. equisetifolia* inoculées avec *R. irregularis* (RI) + *CcI3*. Ces mêmes traitements ont été répétés pour *C. glauca* et pour chaque traitement (témoins, inoculés avec *R. intraradices* ou *R. intraradices* + *CcI3*) ; il y avait 40 plantes.

Dès la première pluie utile (lame d'eau > 25 mm), les plantes âgées de quatre mois (lignifiées) ont été transférées au champ et plantées en lignes dans des poquets (30 cm x 30 cm x 30 cm) à l'écartement de 2 m sur la ligne et 2 m les lignes. A l'aide d'une lame rasoir ou d'un couteau, les gaines contenant les plantes ont été coupées à la base et sur le coté latérale. Elles ont ensuite été introduites soigneusement dans les poquets jusqu'à la hauteur du collet pour être enterrées après retrait de la matière plastique. Le sol autour de la motte a été bien tassé pour éviter la circulation de l'air atmosphérique aux environs de la partie racinaire de la plante. Une petite cuvette est confectionnée autour de chaque plante pour recueillir les eaux de pluie. La plantation a été effectuée selon le dispositif suivant dans une parcelle de 50x50 m.

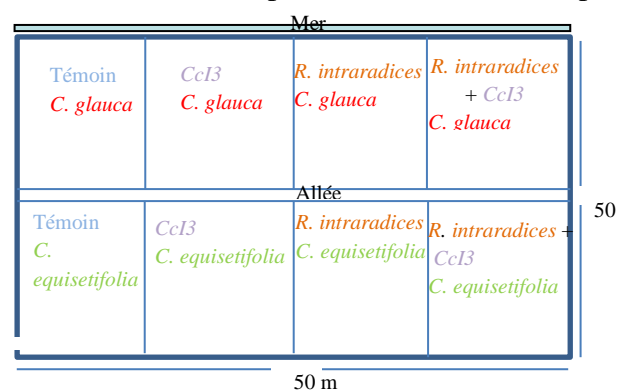


Schéma 1 : Dispositif de la plantation de 2012

4) Plantation de Casuarina établie en 2013

Pour la plantation de 2013, les mêmes espèces ; *C. equisetifolia* et *C. glauca* ont été utilisées.

Des travaux effectués au laboratoire ont permis de retenir la souche *CeD* comme étant la plus tolérante au sel parmi les sept (07) souches qui ont été testées (*BR*, *CcI3*, *Cg70.4*, *Cg 70.9*, *CjI 82*, et *Allo 2*) Ngom, (2012).

Les travaux préliminaires effectués au LCM ont montré que parmi les trois (03) souches de champignons tolérantes au sel testés (*R. fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. intraradices*), la souche *R. fasciculatum* conférait une meilleure tolérance au sel à *C. equisetifolia* et *C. glauca*.

Une pépinière similaire à celle effectuée en 2012 a été préparée en serre et les plantes ont été inoculées avec la souche *CeD* et/ou *R. fasciculatum* ; microorganismes symbiotiques conférant une meilleure tolérance au sel à *C. equisetifolia* et *C. glauca*.

La plantation a été effectuée de la même manière que celle de 2012 sur un terrain de 50x50 m selon un dispositif randomisé.

5) Analyses statistiques

Les données obtenues ont été traitées par une analyse de variance à un facteur contrôlé et les moyennes ont été comparées 2 à 2 en utilisant le test de Newman-Keul ($p < 0,05$). Avant leur traitement statistique, les taux de mycorhization ont été transformés par la fonction Arc sin (\sqrt{x}). Ces analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel XL stat-pro.

III) Résultats

1) Prospection des sites et caractérisation physicochimique des sols

1 1) Site de Guissanda 2012

Effectué le mercredi 18 Avril 2012, six sites ont été prospectés : Guissanda, Bouba, Njakouliame, Yokam, Coumbasaw et Djidjack. Les données deux derniers sites ne seront pas présentées dans cette étude. Les échantillons de sol prélevés dans l'horizon 0-30 cm et 30-60 cm ont permis de déterminer le pH du sol, la conductivité à 25°C et la salinité. Le site le plus salé est le site de Guissanda avec 133,28 mM à l'horizon 0-30 cm et 109 mM à l'horizon 30-60 cm (Tableau 1). La conductivité au niveau de ce site est de 13,7 mS/cm à l'horizon 0-30 cm et de 11,62 mS/cm à l'horizon 30-60 cm (Tableau 1).

Tableau 1 : Caractéristiques physicochimiques des sols avant la plantation de 2012

Analyses	pH		Conductivité à 25°C	Salinité	Salinité
	H ₂ O	KCl	mS/cm	%	mM
1) G. TN 1	8,6	8,1	9,9	5,6	99,6
2) G. TN 2	9,0	8,8	12,1	6,9	114,9
3) G. TH1	7,8	7,7	13,7	8	133,3
4) G. TH2	8,2	7,8	11,6	6,6	109,9
5) G.R1	8,3	7,9	3,6	1,9	31,6

Chapitre II : Réhabilitation de terres dégradées par salinisation dans la commune de Palmarin par l'utilisation de couples symbiotiques Casuarina/souche CMA/ Frankia le plus tolérant au sel

Analyses	pH	Conductivité à 25°C		Salinité	Salinité
			mS/cm	%	mM
6) G.R2	8,23	7,7	2,6	1,4	23,3
7) B. TN1	4,9	4,3	9,0	5,1	84,9
8) B. TN2	4,6	4,4	11,8	6,7	111,6
9) B. TH1	6,1	5,9	6,1	3,3	54,9
10) B. TH2	7,3	6,8	6,1	3,4	56,6
11) B. TH + E1	4,4	3,9	2,9	1	16,6
12) B. TH + E2	4,3	3,9	2,4	1,3	21,6
13) J. TN1	7,2	7,2	8,0	4,4	73,3
14) J. TN2	6,5	6,7	5,5	3	49,9
15) J. TH1	5,2	4,4	1,3	0,7	11,6
16) J. TH2	5,3	4,7	2	1	16,6
17) Y. CH1	8,863	8,8	2,9	1,5	24,9
18) Y. CH2	8,6	8,7	2,4	1,3	21,6

G : Guisanda, NJ : NJakouliame, B : Boubou, Y : Yokam

TN : Tanne nue; TH : Tanne herbacée; R : Rizière; CH : champ et E : Echantillon

La caractérisation physicochimique a été effectuée en évaluant les teneurs en N Kjeldahl mg/kg, en azote assimilable (N(NO₃) et N(NH₄)) en mg/kg, le C organique en

Chapitre II : Réhabilitation de terres dégradées par salinisation dans la commune de Palmarin par l'utilisation de couples symbiotiques Casuarina/souche CMA/ Frankia le plus tolérant au sel

g/kg, le P total (mg/kg) et le P assimilable (mg/kg). Le site de Guissanda a des teneurs en P total et P assimilables supérieures aux teneurs trouvées dans les autres sites. A l'horizon 0-30 cm, des quantités d'azote total importantes (144,00 mg/kg) ont été trouvées (Tableau 2). A l'horizon 30-60 cm les quantités d'azote trouvées sont plus faibles 71,00 mg/kg. Les quantités d'azote assimilables N(NO₃) sont similaires à celles des autres sites et tournent aux environs de 5,00 mg/kg. Cependant, l'azote assimilable N(NO₃) à l'horizon 30-60 cm est nul pour ce site. Après le site de Yocam, les teneurs en carbone les plus élevées aussi bien pour l'horizon 0-30 cm (2,13 g/kg) et l'horizon 30 -60 cm (1,24 g/kg) ont été trouvés à Guissanda.

Tableau 2 : Caractéristiques physicochimiques des sols avant la plantation (suite)

Sites	Profondeur (cm)	Azote Kjeldahl mg / kg	Azote assimilable		C organique g / kg	P total P mg/kg	P assim. P mg/kg
			N(NO ₃) mg/kg	N(NH ₄) mg/kg			
Guissanda 1	0-30	144,00	4,05	5,05	2,13	25	4
Guissanda 2	30-60	71,00	0,00	5,75	1,24	38	4
Bouba 1	0-30	105,00	4,35	7,60	1,64	20	4
Bouba 2	30-60	51,00	0,45	5,10	0,90	28	3
Njakouliam-1	0-30	94,00	2,50	5,35	1,52	20	3
Njakouliam-2	30-60	45,00	0,55	4,10	0,71	21	3
Yocam 1	0-30	183,00	1,30	5,00	2,43	20	3
Yocam 1	30-60	119,00	0,15	5,45	1,41	22	3

Concernant la granulométrie au niveau de Guissanda, elle est dominée par des limons fins (37, 2 %) suivis des argiles (28, 9 %), des limons grossiers (17, 1 %) (Tableau 3). Des teneurs en sables fins et grossiers pratiquement similaires (7 %) ont été trouvées dans ce site (Tableau 3).

Tableau 3: Détermination de la granulométrie des sols avant la plantation de 2012

Analyses	argiles %	limons		sables fins %	sables grossiers %	total %
		limons fins %	limons grossiers %			
Nguissanda	28,9	37,2	14,1	7,3	7,1	94,6

1 2) Site de Guissanda 2013

Situé environ à 50 m du premier site, le site planté en 2013 a des teneurs en sel moins élevées que le premier (Tableau 4). Cependant à l'horizon 0-30 cm, les teneurs en N assimilables sont plus faibles (1,5 mg/kg) (Tableau 5) comparé au premier site qui était de (4,05 mg/kg) (Tableau 5). Les teneurs en azote total étant légèrement supérieures à celles du premier site. Contrairement au premier site, le second a des pH acides ; environ 6 pour le pH H₂O et 5 pour le pH KCL (Tableau 5).

La respiration basale a été déterminée au niveau de ce site (Tableau 6). Cette respiration, donne une idée du fonctionnement de la biomasse du sol. Elle est mesurée pendant une semaine et varie entre 0 et 0,36 C-CO₂/g sol (Tableau 7).

Chapitre II : Réhabilitation de terres dégradées par salinisation dans la commune de Palmarin par l'utilisation de couples symbiotiques Casuarina/souche CMA/ Frankia le plus tolérant au sel

Tableau 4 : Caractéristiques physicochimiques des sols avant la plantation de 2013

Analyses Parcelles	pH		Conductivité mS/cm à 25°C	Salinité ‰
	H ₂ O	KCl		
P1	6,0	5,1	0,001	0,50
P2	6,2	5,5	0,00066	0,30
P3	6,2	5,6	0,00109	0,50
P4	6,6	5,0	0,00104	0,50

Tableau 5 : Caractéristiques physicochimiques des sols avant la plantation de 2013 (suite)

Analyses Parcelles	Azote Kjeldahl mg / kg	Azote assimilable		C organique g / kg	P total P mg/kg	P assim. P mg/kg
		N(NO ₃) mg/kg	N(NH ₄) mg/kg			
P1	151	1,50	6,70	1,9	36,0	3,0
P2	177	1,55	6,74	2,4	43,0	3,0
P3	110	3,59	5,91	1,9	39,0	3,0
P4	185	2,00	5,85	2,4	51,0	4,0

Tableau 6 : Respiration basale dans le sol

Respiration Basale (7j) C- CO ₂ g/g sol							
	0J	0,25 J	1J	2J	3J	6J	7J
P 1	0	0,014	0,065	0,093	0,116	0,171	0,192
P 2	0	0,035	0,114	0,173	0,219	0,316	0,346
P 3	0	0,036	0,098	0,146	0,183	0,26	0,281
P 4	0	0,026	0,066	0,099	0,127	0,191	0,209

2) Sensibilisation de la population

Pour une meilleure appropriation du projet de réhabilitation de terres salées par la population, nous avons organisé des ateliers pour les sensibiliser sur les phénomènes de dégradation de terres et particulièrement sur la salinisation des terres (Photo 2). Ces ateliers ont permis d'échanger avec les populations et de mieux comprendre leurs attentes.



Photo 2: Atelier de sensibilisation sur la dégradation des terres

Nous avons organisé un atelier avec les élèves pour appuyer le programme « un élève, un arbre » lancé par le Collège d'Enseignement Moyen de Palmarin. A cet effet, deux exposés ont été présentés aux élèves sur les thèmes suivants :

Thème 1 : L'apport des microorganismes symbiotiques du sol aux plantes par Dr. Fall du Centre National de Ressources Forestières (CNRF).

Thème 2 : Les plantes halophytes : un outil biologique pour reboiser les terres salines (par Dr Diagne).

Chapitre II : Réhabilitation de terres dégradées par salinisation dans la commune de Palmarin par l'utilisation de couples symbiotiques Casuarina/souche CMA/ Frankia le plus tolérant au sel

Après les exposés, la technique de préparation de pépinière a été montrée aux élèves dans jardin de l'école.



Photo 3: Des élèves du club scientifique du collège



Photo 4: Préparation des pépinières avec les élèves (D. Fall)

3) Mise en place des plantations de 2012 et de 2013

Des plants âgés de 4 mois de *C. glauca* et de *C. equisetifolia* inoculées par des champignons mycorhiziens et/ou des bactéries fixatrices d'azote ont été transférés au niveau du site choisi (Guissanda) de la localité de Palmarin en début de période hivernale (Photo 2). Le taux de survie a été déterminé après la plantation.

3 1) Plantation de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* établie en 2012

Trois mois après plantation, un taux de survie très intéressant supérieur à 75 % a été obtenu pour toutes les espèces et pour tous les traitements (plantes inoculées avec la bactérie *CcI3* et/ou la souche fongique *R. intraradices*). Pour les plantes de *C. glauca* inoculées, ce taux est supérieur à 90 % (Tableau 7). Sept mois après plantation, ce taux a beaucoup baissé surtout pour les plantes de *C. glauca*. Toutefois, il reste toujours élevé chez les plantes inoculées ou non de *C. equisetifolia*.

Tableau 7 : Taux de survie de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* à Palmarin en 2012

Taux de survie des plantes (%)	Traitements		
	Trois (03) mois après plantation	Sept (07) mois après plantation	
<i>C. equisetifolia</i>	Temoin	90	80
	<i>CcI3</i>	77,78	52,77
	<i>R. intraradices</i>	82,5	40
	<i>R. intraradices</i> + <i>CcI3</i>	75	37,7
	Temoin	80	45
<i>C. glauca</i>	<i>CcI3</i>	97,5	27,5
	<i>R. intraradices</i>	97,5	27,5
	<i>R. intraradices</i> + <i>CcI3</i>	92,25	40
	Temoin	80	45

3 2) Plantation de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* établie en 2013

3 2 1) Le taux de survie des plantes de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* inoculées avec la souche bactérienne *CeD* et/ la souche fongique *R. fasciculatum*

Pour les plantes de *C. equisetifolia*, un taux de survie très important a été noté. Ce taux de survie est à 100% pour les plantes inoculées avec la souche fongique *R. fasciculatum* plus la bactérie fixatrice d'azote *CeD* (Tableau 8). Pour *C. glauca*, le taux de survie le plus important (93,34%) a été noté chez les plantes inoculées avec *CeD* suivi de celles inoculées avec *R. fasciculatum* (90%) et puis de celles inoculées avec *R. fasciculatum* plus *CeD* (86,67%) (Tableau 8). Les plantes non inoculées ont les taux de survie les plus faibles (73,4%) (Tableau 8).

Tableau 8 : Taux de survie de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* à Palmarin en 2013

Taux de survie des plantes (%)	Traitements	6 mois après plantation
<i>C. equisetifolia</i>	Temoin	85
	<i>CeD</i>	80
	<i>R. fasciculatum</i>	76,67
	<i>R. fasciculatum</i> + <i>CeD</i>	100
<i>C. glauca</i>	Temoin	73,4
	<i>CeD</i>	93,34
	<i>R. fasciculatum</i>	90
	<i>R. fasciculatum</i> + <i>CeD</i>	86,67

3 2 2) Croissance des plantes de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* inoculées avec la souche bactérienne *CeD* et/ la souche fongique *R. fasciculatum*

La croissance en hauteur des plantes de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* a été mesurée à 6 mois après plantation. Ces résultats montrent que l'inoculation avec *CeD* ou avec *R. fasciculatum* améliore la croissance des plantes au niveau des zones salées (Tableau 9).

Chapitre II : Réhabilitation de terres dégradées par salinisation dans la commune de Palmarin par l'utilisation de couples symbiotiques *Casuarina*/souche CMA/ *Frankia* le plus tolérant au sel

Cependant, la croissance la plus importante a été notée chez les plants de *C. equisetifolia* et les plants de *C. glauca* inoculés avec *R. fasciculatum* plus la souche *CeD* (Tableau 9). Toutefois, une croissance plus rapide des plantes de *C. glauca* a été notée.

Tableau 9 : Croissance des plantes de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* inoculées avec la souche bactérienne *CeD* et/ la souche fongique *R. fasciculatum* à 6 mois après plantation)

Height (cm)	Témoin	<i>Ce D</i>	R. fasciculatum	<i>CeD</i> + <i>R. fasciculatum</i>
<i>C. glauca</i>	74,12a	79,1 a b	81,98 a b	88, 00 b
<i>C. equisetifolia</i>	63,84ab	61,31a	69,47ab	73,35 b

Les données d'une même ligne suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes d'après le test test de Newman-Keul ($p < 0,05$).

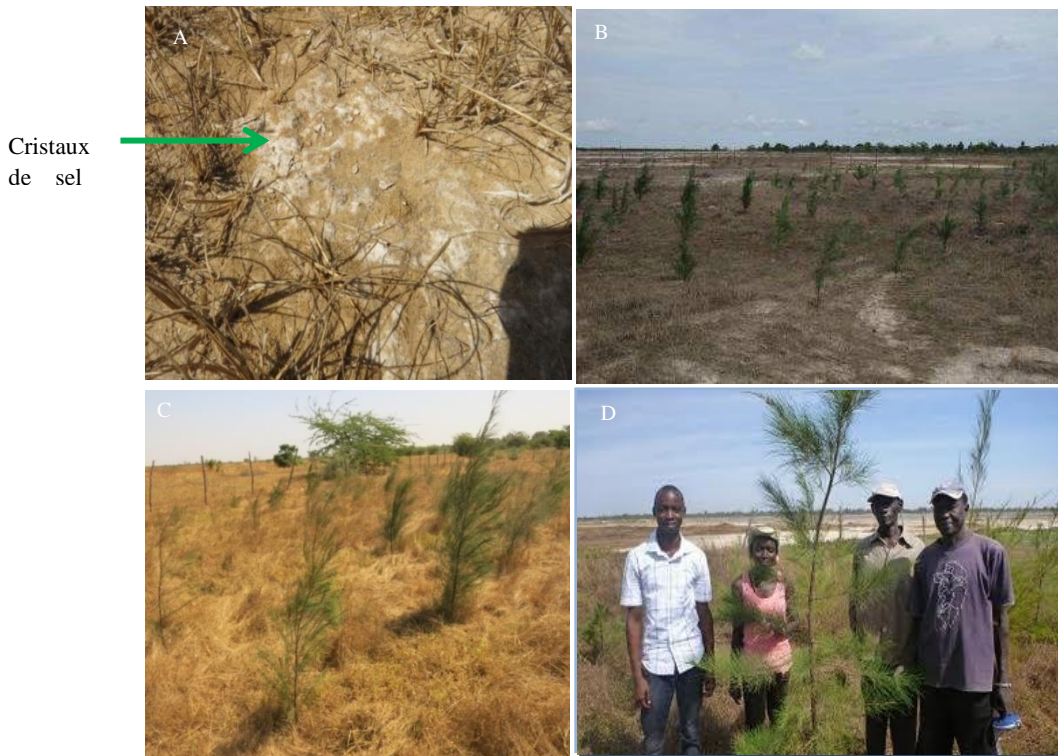


Photo 5 : Plantation de Casuarina à Palmarin

A : sol affecté par le sel, B : plantation de Casuarina âgée de 6 mois, C : plantation de Casuarina âgée de 12 mois et D : plantation de Casuarina âgée de 18 mois

IV : Discussion

Pour la plantation de 2012, le taux de survie très important des plantes de *C. glauca* inoculées avec *Cc13* ou celles inoculées avec *R. intraradices* montrent que ces plantes sont très adaptées au sel car la concentration de sel au niveau de ce site (133, 28 mM) est largement supérieure à celle d'un sol désigné comme sol salé (40 mM). Ces teneurs de sel plus importante (133, 28 mM) à l'horizon 0-30 cm comparée à l'horizon 30-60 cm (109,95 mM) pourraient être due à une précipitation des sels à la surface pendant la saison sèche ; période à laquelle le prélevement a été effectué.

Pour les plantes de *C. glauca*, les taux de survie les plus importants ont été notés chez les plantes inoculées. Ce résultat montre l'importance de l'inoculation avec les CMA dans l'amélioration des performances des *Casuarina* en condition de stress salin. Contrairement aux plantes de *C. glauca*, les plantes de *C. equisetifolia* témoins ont un taux de survie plus important 80% que les plantes inoculées. Ce résultat est fortement influencé par l'hétérogénéité du terrain (des parties plus salées que d'autres) et le dispositif expérimental (plantes témoins de *C. equisetifolia* placées au niveau des zones moins salées : la partie la plus élevée du terrain). A sept mois après plantation, le taux de survie le plus faible a été observé chez les plantes de *C. glauca*. Ce résultat pourrait être lié au fait que cette espèce a été plantée au niveau des zones les plus salées qui étaient par la suite inondées. Cette inondation provoquant un autre stress, un stress hydrique auquel les plantes de *C. glauca* ont eu à faire face pendant la période hivernale ce qui a de plus réduit le taux de survie.

Pour la plantation de 2013, à six mois après plantation, un taux de survie très important a été noté chez tous les traitements. Chez les plantes de *C. glauca*, ce taux de survie est plus faible chez les témoins. Il est de 100% chez les plantes de *C. equisetifolia* inoculées avec *R. fasciculatum* et la souche bactérienne *CeD*. Ces résultats montrent l'importance de la symbiose avec CMA et/ou les bactéries fixatrices d'azote dans l'amélioration de la tolérance au sel des plantes. Cette efficacité de la symbiose s'est traduite par une croissance des plantes

significativement plus importante chez les plantes de *C. glauca* inoculées avec *R. fasciculatum* + *CeD*. Des résultats similaires ont été obtenus par (Singh *et al.*, 2011 ; Kadian *et al.*, 2014) montrant que la double inoculation bactérie fixatrice d'azote et champignon mycorhizien améliore significativement les performances des plantes en condition de stress salin. Cet effet positif des microorganismes symbiotiques pourrait être lié à une amélioration de l'absorption des éléments minéraux, à une absorption sélective d'ions comme le phosphore, l'azote et le magnésium et une réduction de l'absorption des ions Na^+ (Giri et Mukerji, 2004). Ce prélèvement d'ions permet de rétablir la balance ionique et d'ajuster le stress osmotique (Soliman *et al.*, 2012) souvent à l'origine d'un stress hydrique affectant négativement la croissance des plantes dans ces conditions.

Pour certains traitements comme *C. equisetifolia*/ *R. fasciculatum*/*CeD*, un taux de survie trois fois plus important a été noté à 6 mois au niveau de la plantation 2 comparé au traitement *C. equisetifolia*/*R. intraradices*/*CcI3* à 7 mois après plantation. Même s'il y a un décalage d'un mois, la différence entre ces deux taux de survie reste très importante. Pour les témoins de ces deux traitements, la différence passe de 85 à 80. Ce résultat montre que cette différence mentionnée plus haut serait liée à la présence de microorganismes symbiotiques et la double inoculation avec *R. fasciculatum*/*CeD* améliorerait plus la tolérance au sel des plantes. Ce résultat est en concordance avec ceux obtenus au laboratoire qui ont montré que la souche *R. fasciculatum* était plus performante que la souche *R. intraradices* dans l'amélioration de la tolérance au sel des Casuarinas (Diagne *et al.*, 2015). Ce qui montre encore l'importance de sélectionner les microorganismes les plus appropriés

V) Conclusion

En milieu réel et en présence de sel, l'inoculation améliore la croissance et le taux de survie des plantes de *C. equisetifolia* et de *C. glauca*. Une meilleure croissance a été notée chez les plantes de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* inoculées avec *R. fasciculatum* et la souche

Chapitre II : Réhabilitation de terres dégradées par salinisation dans la commune de Palmarin par l'utilisation de couples symbiotiques Casuarina/souche CMA/ Frankia le plus tolérant au sel

bactérienne *CeD*. Le taux de survie élevé au niveau des tannes herbacées montre que les espèces *C. equisetifolia* et *C. glauca* peuvent être utilisées pour la récupération des certains types de tannes comme les tannes herbacées. Le couple Casuarina/ *R. fasciculatum* / *CeD* serait plus tolérant au sel et pourrait être utilisé dans les programmes de réhabilitation des terres dégradées.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

1) Conclusion Générale

Les études de screening de souches de CMA et de *Frankia* tolérantes au sel qui ont été effectuées au laboratoire ont permis de retenir durant la première année (2012) les souches *R. intraradices* et *Cc13*. Ces dernières ont été testées en milieu réel durant la même année. La suite des expérimentations menées durant la deuxième année a permis de sélectionner d'autres souches plus tolérantes au sel ; les souches de CMA *R. fasciculatum* et de *Frankia CeD* qui ont aussi été testées en milieu réel.

D'une manière globale, cette étude qui a porté sur la sélection et l'utilisation de couples *Casuarina*/ champignons mycorhiziens arbusculaires/*Frankia* très tolérants au sel pour la réhabilitation de terres salinisées a permis de dire que :

-L'inoculation augmente la croissance des plantes de *C. equisetifolia* et de *C. glauca*. Cependant, pour la concentration la plus élevée de NaCl (300mM), la meilleure croissance a été notée chez les plantes de *C. glauca* inoculées avec *R. fasciculatum*. Des teneurs plus élevées en chlorophylle, proline, N, P et un métabolisme fongique plus actif ont été notés chez ces plantes en conditions de stress salin. Ce résultat montre que la souche *R. fasciculatum* confère une meilleure tolérance au sel à *C. glauca*.

- Le taux de survie de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* est plus important sur les tannes herbacées et l'inoculation augmente ce taux de survie et la croissance des plantes. Toutefois, la croissance et le taux de survie les plus importants ont été notés respectivement chez les plantes de *C. glauca* et de *C. equisetifolia* inoculées avec *R. fasciculatum* et la souche bactérienne *CeD*. Ce résultat montre l'intérêt de sélectionner les couples symbiotiques plantes/microorganismes symbiotiques à utiliser en fonction des conditions du milieu.

Le résultat de cette étude suggère que les microorganismes symbiotiques *R. fasciculatum* et *CeD* pourraient être utilisés pour améliorer la performance et la tolérance au sel des plantes de *C. glauca* et *C. equisetifolia* à utiliser dans les programmes de restauration de terres dégradées par le sel au Sénégal.

2) Perspectives

Ce travail a montré que *C. glauca* et *C. equisetifolia* pouvaient être utilisés pour la réhabilitation de terres dégradées par le sel et que l'inoculation améliore leurs performances sur des sites salés. Par ailleurs, il serait important de pousser les études pour mieux comprendre l'impact des plantations de *C. glauca* et *C. equisetifolia* sur le sol et sur la diversité floristique et aussi de mieux comprendre les mécanismes mis en place dans la tolérance au sel des plantes de *C. glauca* et *C. equisetifolia*. Pour ce faire, il est prévu de :

- étudier les caractéristiques physico-chimiques du sol trois (03) ans après plantation et de comparer avec les caractéristiques avant plantation ;
- faire des relevés floristiques pour comparer la diversité floristique sous couvert et hors couvert des plantations de *Casuarina* ;
- étudier la diversité floristique avant plantation et trois (03) ans après plantation ;
- étudier la diversité de la communauté microbienne avant plantation et trois (03) ans après plantation ;
- faire des profils supérieurs à un mètre au niveau des tannes herbacées et des tannes salées pour mieux comprendre les variations des concentrations de sel en profondeur pour ces deux types de tannes
- suivre la variation de sel dans les terrains pendant une période de douze (12) mois.

Chapitre II : Réhabilitation de terres dégradées par salinisation dans la commune de Palmarin par l'utilisation de couples symbiotiques Casuarina/souche CMA/ Frankia le plus tolérant au sel

- déterminer les mécanismes moléculaires impliqués dans la tolérance au sel de *C. glauca* et *C. equisetifolia* ;
- isoler et caractériser des souches de champignons et de bactéries fixatrices d'azote tolérantes au sel provenant des sites de Palmarin ;
- Elargir l'étude à d'autres espèces végétales tolérantes au sel.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

Abd Allah E F, Hashem A, Alqarawi A A, Bahkali AH, Mona S. Alwhibi MS (2015). Enhancing growth performance and systemic acquired resistance of medicinal plant *Sesbania sesban* (L.) Merr using arbuscular mycorrhizal fungi under salt stress. Saudi Journal of Biological Sciences. 22: 274–283.

Abdul-Wasea A. Asrar, Gamal M. Abdel-Fattah, Khalid M. Elhindi, Eslam M. Abdel-Salam (2014). The impact of arbuscular mycorrhizal fungi in improving growth, flower yield and tolerance of kalanchoe (*Kalanchoe blossfeldiana* Poelin) plants grown in NaCl-stress conditions. Journal of Food, Agriculture and Environment. 12: 105-112.

Ahmad P, Sharma S (2008). Salt stress and phytochemical responses of plants. Plant Soil and Environment. 54: 89-99.

Ashoori M, Ashraf S, Alipour Z T (2015). Effect of two species of Mycorrhizal fungi and salinity on proline amount, absorption and transmission of elements on *Ocimum basilicum*. International Journal of Agriculture and Crop Sciences. 8: 510-516.

Akiyama K, Matsuzaki K, Hayashi H (2005). Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. Nature. 435: 824-827.

Ali SF, Rawat LS, Meghvansi MK, Mahna SK (2009). Selection of stress-tolerant rhizobial isolates of wild legumes growing in dry regions of rajasthan, india. Journal of Agricultural and Biological Science 4:13-18.

Aşık BB, Turan MA, Çelik H, Katkat AV (2009). Effects of humic substances on plant growth and mineral nutrients uptake of wheat (*Triticum durum* cv. *salihli*) under conditions of salinity. Asian Journal of Crop Sciences. 1: 87-95.

Bâ AM, Diédhiou AG, Prin Y, Galiana A, Duponnois R (2010). Management of ectomycorrhizal symbionts associated to useful exotic tree species to improve reforestation performances in tropical Africa. Annal of Forest Science. 67: pp. 301-301.

Bâ AM, Thoen D (1990). First syntheses of ectomycorrhizas between *Afzelia africana* Sm. (Caesalpinioideae) and native fungi from West Africa. New Phytologist. 103: 441-448.

- Babu MA, Singh D, Gothandam KM (2012).** The effect of salinity on growth, hormones and mineral elements in leaf and fruit of tomato cultivar pkm1. *Journal of Animal and Plant Science.* 22: 159-164.
- Baker DD, Mullin BC (1992).** Actinorhizal symbioses. p. 259-292. In: G. Stacey, R.H. Burris and H.J. Evans (eds.) *Biological Nitrogen Fixation.* Chapman & Hall, New York, NY, USA.
- Baker DD, Schwintzer CR (1990).** Introduction. In: Schwintzer CR, Tjepkema JD (eds) *The biology of Frankia and actinorhizal plants.* Academic, New York, pp 3-13.
- Barbour MG, Burk JH, Pitts WD, Gillian FS, Schwartz MN (1998).** *Terrestrial Plant Ecology.* Benjamin/Cummings. Menlo Park, California. pp. 46-58.
- Beltrano J, Ruscitti M, Arango MC and Ronco M (2013).** Effects of arbuscular mycorrhiza inoculation on plant growth, biological and physiological parameters and mineral nutrition in pepper grown under different salinity and P levels. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition.* 13: 123-141.
- Benson DR, Silvester WB (1993).** Biology of *Frankia* strains, actinomycete symbionts of actinorhizal plants. *Microbiology Reviews.* 57: 293-319.
- Bhardwaj D, Ansari MW, Sahoo RK, N Tuteja (2014).** Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microbial Cell Factories.* 13: 66.
- Bhushan G, Sharma SK, Kumar S, Chhangani S, Singh J, Singh AP (2014).** Effect of moisture levels on the growth, nodulation and nitrogen fixation in *dalbergia sissoo* by *azospirillum brasilense* and *acaulospora laevis*. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences.* 2: 433-438.
- Bonfante P, Anca IA (2009).** Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: a network of interactions. *Annual Review of Microbiology.* 63: 363-383.
- Bonfante P, Genre A (2010).** Mechanisms underlying beneficial plant-fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nature.* 4: 1-11.
- Borruso L, Bacci G, Mengoni A, De Philippis R, Brusetti L (2014).** Rhizosphere effect and salinity competing to shape microbial communities in *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex-Steud [12]. *FEMS Microbiology Letters* doi: 10.1111/1574-6968.12565.

- Breedveldm W, zevenhuizen PT M, zehndera JB (1991).** Osmotically-regulated trehalose accumulation and cyclic α - (1, 2) - glucan excretion by *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* TA-1. Archives of Microbiology. 156: 501-506.
- Cekic FO, Unyayar S, Ortas I (2012).** Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on biochemical parameters in *Capsicum annuum* grown under long term salt stress. Turk Journal of Botany, 36, 63-72.
- Cérémonie H, Debelle F, Fernandez MP (1999).** Structural and functional comparison of *Frankia* root hair deforming factor and rhizobia Nod factor. Canadian Journal of Botany. 77: 1293-1301.
- Cisse M, Gourbière F (1993).** Décomposition de la litière de Filao (*Casuarina equisetifolia* forst) au Sénégal. Activité de la microfaune détritivore. Dakar, ORSTOM 71p.
- Cullimore JV, Ranjeva R, Bono JJ (2001).** Perception of lipo-chitooligosaccharidic Nod factors in legumes. Trends in Plant Science 6: 24-30.
- Dawson JO (1986).** Actinorhizal plants: Their uses in forestry and agriculture. Outlook on Agriculture 15: 202-208.
- Dawson JO (2008).** The ecology of actinorhizal plants in Nitrogen-fixing actinorhizal symbioses". Nitrogen fixation: applications and research progress, Ed., K Pawlowski, WE Newton, Springer-Verlag: Dordrecht, The Netherlands, vol. 6, pp. 199-234.
- de Faria SM, Lewis GP, Sprent JJ, Sutherland JM (1989).** Occurrence of nodulation in the *Leguminosae*. New Phytologist. 111: 607-619.
- Diagne N, Arumugan K, Ngom M, Niambia-Veetil M, Franche C, Narayanan KK, Laplaze L (2013a).** Use of *Frankia* and actinorhizal plants for degraded lands reclamation. BioMed Research International. P 948258.
- Diagne N, Diouf D, Svistoonoff S, Kane A, Noba K, Franche C, Bogusz D, Duponnois R (2013b).** Casuarina in Africa: Distribution, role and importance of arbuscular mycorrhizal, ectomycorrhizal fungi and *Frankia* on plant development. Journal of Environmental Management. 128: 204-209.
- Diagne N, Djighaly P, Ngom M, Prodjimoto H, NGOM D, Hoher V, Fall D, Diouf D, Nambiar-Veetil M, Sy M O, Ndoye I, Franche C, Bogusz D, Laplaze L (2014).**

Rehabilitation of saline lands using selected salt-tolerant *Casuarina*-microorganisms combinations. The 5th International Casuarina Meeting, 03 -07 Février. Chennai (India).

Diem HG, Dommergues YR (1990). Current and potential uses and management of Casuarinaceae in the tropics and subtropics. In: Schwintzer, C.R., Tjepkema, J.D. (Eds.), *The Biology of Frankia and Actinorhizal Plants*. Academic Press, New York, pp. 317-342.

Dommergues YR, Duhoux E, Diem HG (1999). Les arbres fixateurs d'azote. Caractéristiques fondamentales et rôle dans l'aménagement des écosystèmes méditerranéens et tropicaux avec référence particulière aux zones subhumides et arides. CIRAD, Editions Espaces, FAO, IRD, Montpellier et Rome, 499 p.

Echbab H, Arahou M, Ducouso M, Nourrisier - Mountou S, Duponnois R, Lahlou H, Prin Y (2007). Successful nodulation of *Casuarina* by *Frankia* in axenic conditions. *Journal of Applied Microbiology*. 103: 1728-1737.

Embalomatis A, Papacosta DK, Katinakis P (1994). Evaluation of *Rhizobium meliloti* strains isolated from indigenous populations northern Greece. *Journal of Agriculture and Crop Sciences* 172: 73-80.

Estrada B, Aroca R, Barea JM, Juan Manuel Ruiz-Lozano J M (2013). Native arbuscular mycorrhizal fungi isolated from a saline habitat improved maize antioxidant systems and plant tolerance to salinity. *Plant Science*. 201–202: 42–51.

Estrada B, Arroca R, Maathuis FJM (2013). Arbuscular mycorrhizal fungi native from a Mediterranean saline area enhance maize tolerance to salinity through improved ion homeostasis. *Plant Cell Environment*. 36: 1771-1782.

Evelin H, Kapoor R, Giri B (2009). Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. *Annals of Botany*. 104: 1263-1280.

FAO : Land and Nutrition Management Service, 2008 <http://www.fao.org/ag/ag1/ag1I/spush>).

Flowers TJ, Colmer TD (2008). Salinity tolerance in halophytes. *New Phytologist*. 179: 945-963.

Franche C, Laplaze L, Duhoux E, Bogusz D (1998). Actinorhizal symbioses: recent advances in plant molecular and genetic transformation studies. *Critical Reviews in Plants Sciences*. 17: 1-28.

- Frechill S, Lasa B, Ibarretxe L, Lamsfus C, Aparicio Trejo P (2001).** Pea response to salinity stress is affected by the source of nitrogen nutrition (ammonium or nitrate). *Plant Growth regulators*. 35: 171-179.
- Ghassemi F, Jakeman AJ, Nix HA, (1995).** Salinisation of land and water resources: Human causes, extent, management and case studies: Wallingford, UK, CAB International, 544 p.
- Giri B, Kapoor R, Mukerji KG (2007).** Improved tolerance of *Acacia nilotica* to salt stress by arbuscular mycorrhiza, *Glomus fasciculatum* may be partly related to elevated K^+/Na^+ ratios in root and shoot tissues. *Microbial Ecology*. 54:753-760.
- Giri B, Mukerji KG (2004).** Mycorrhizal inoculant alleviates salt stress in *Sesbania aegyptiaca* and *Sesbania grandiflora* under field conditions: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake. *Mycorrhiza* 14: 307-312. doi:10.1007/s00572-003-0274-1.
- Gtari M, Dawson JO (2011).** An overview of actinorhizal plants in Africa. *Functional Plant Biology*. 38: 653-661.
- Hafeez FY, Hameed S, Malik KA (1999).** *Frankia* and *Rhizobium* strains as inoculum for fast growing trees in saline environment. *Pakistan Journal of Botany*. 31: 173-182.
- Hajibolani R (2013).** Role of arbuscular mycorrhiza in amelioration of salinity. In: Ahmad P et al (eds) *Salt stress in plants: signalling, omics and adaptations*. Springer, New York, pp 301–354.
- Hamel O, Bailly CR (1981).** Premières observations sur les potentialités de l'Eucalyptus au Sénégal. Contribution volontaire au Congrès IUFRO de Kyoto – Japon.
- Hanson B, Grattan SR, Fulton A (1999).** *Agricultural Salinity and Drainage*. University of California. Division of Agriculture and Natural Resources. Publication 3375.
- Hasanuzzaman M, Alam Md M, Rahman A, Hasanuzzaman Md, Nahar K, F Masayuki (2014).** Exogenous Proline and Glycine Betaine Mediated Upregulation of Antioxidant Defense and Glyoxalase Systems Provides Better Protection against Salt-Induced Oxidative Stress in Two Rice (*Oryza sativa* L.) Varieties. *BioMed Research International*. Article ID 757219, 17. doi:10.1155/2014/757219.
- Hoche V, Auguy F, Bogusz D, Doumas P, Franche C, Gherbi H, Laplaze L, Obertello M, Svistoonoff S (2009).** Les symbioses actinorhiziennes fixatrices d'azote : un exemple

d'adaptation aux contraintes abiotiques du sol. Cahier Agric. vol. 18, n° 6. doi: 10.1684/agr.2009.0341.

Hu Y, Schmidhalter U (2002). Limitation of salt stress to plant growth. In: Hock B and Elstner C.F., editors. Plant Toxicology. Marcel Dekker Inc.; New York. pp. 91–224.

Iwai CB, Oo AN, Topark-ngarm B (2012). Soil property and microbial activity in natural salt affected soils in an alternating wet–dry tropical climate. Geoderma 189-190: 144–152.

Jain JK, Mohan M (2011). Casuarina in farm forestry for sustainable livelihoods: The Andhra Pradesh paper Mills Experience. In Improving smallholder livelihoods through improved Casuarina productivity. Proceedings of the 4th International Casuarina workshop, pp 232- 238.

Javaid A (2010). Role of arbuscular mycorrhizal fungi in nitrogen fixation in legumes. In: Khan MS, Musarrat J, Zaidi A (eds). Microbes for Legume Improvement. Springer-Verlag, Berlin, pp. 409-426.

Jiang C, Belfield EJ, Mithani A, Visscher A, Ragoussis J, Mott R, Smith JAC, Harberd, N.P. (2012). ROS-mediated vascular homeostatic control of root-to-shoot soil Na⁺ delivery in *Arabidopsis*. EMBO Journal. 31: 4359-4370.

John MK (1970). Colorimetric determination of phosphorus in soil and plant material with ascorbic acid. Soil Science. 68 : 171-177.

Johnson LAS (1980). Notes on Casuarinaceae I. Telopea 2: 83-84.

Johnson LAS (1982). Notes on Casuarinaceae II. Journal of Adelaide Botanical Garden 6: 73-87.

Johnson LAS (1988). Notes on Casuarinaceae III: the new genus Ceuthostoma. Telopea 3: 133-137.

Jouyban Z (2012). The effect of salt stress on plant growth. Technical Journal of Engineering and Applied Science. 2: 7-10.

Käss E, Wink M, (1997). Molecular phylogeny and phylogeography of the genus *Lupinus* (Leguminosae) inferred from nucleotide sequences of the rbcL gene ITS 1+2 region of rDNA. Plant Systematic and Evolution. 208: 138-167.

Khan MA, Duke NC (2001). Halophytes - A resource for the future. *Wetland Ecology and Management*. 6:455-456.

Kosová K, Prášil IT, Vítámvás P, (2013). Protein Contribution to Plant Salinity Response and Tolerance Acquisition. *International Journal of Molecular Sciences*. 14: 6757-6789.

Lallemand-Barrès A (1980). Aménagement des sols salés. Irrigation avec des eaux salées. Bureau de recherches géologiques et minières ; service géologiques national. 42p.

Laplaze L, Duhoux E, Franche C, Frutz T, Svistoonoff S, Bisseling T, Bogusz D, Pawlowski K (2000). *Casuarina glauca* prenodule cells display the same differentiation as the corresponding nodule cells. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 13: 107-112.

López M, Herrera-Cervera JA, Iribarne C, Tejera NA, Lluch, C (2008). Growth and nitrogen fixation in *Lotus japonicas* and *Medicago truncatula* under NaCl stress: nodule carbon metabolism. *Journal of Plant Physiology*. 165: 641-650.

Lu F C, Lee C Y, Liwang C (2015). The influence of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on yam (*Dioscorea* spp.) tuber weights and secondary metabolite content. *PeerJ* 3:e1266; DOI 10.7717/peerj.1266.

Lu N, Zhou X, Cui M, Yu M, Zhou J, Qin Y, Li Y (2015). Colonization with Arbuscular Mycorrhizal Fungi Promotes the Growth of *Morus alba* L. Seedlings under Greenhouse Conditions. *Forests*. 6, 734-747.

Maillet F, Poinso V, Andre O, Puech-Page V, Haouy A, Gueunier M, Cromer L, Giraudet D, Formey D, Niebel A, Martinez EA, Driguez H, Bécard G, Dénarié J (2011). Fungal lipochitooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza. *Nature*. 469: 58-64.

Makeen K, Suresh Babu G, Lavanya GR, Grard A (2007). Studies of Chlorophyll Content by Different Methods in Black Gram (*Vigna mungo* L.). *International Journal of Agricultural Research* 2: 651-654.

Mansour SR, Oshone R, Hurst SG, IV, Morris K, Thomas WK, Tisa LS (2014). Draft genome sequence of *Frankia* sp. strain *CcI6*, a salt-tolerant nitrogen-fixing actinobacterium isolated from the root nodule of *Casuarina cunninghamiana*. *Genome Announcement*. 2(1): e01205-13. doi:10.1128/genomeA.01205-

- Mbadi SH, Alipour Z.T, Asghari H, Kashefi B (2015).** Effect of the salinity stress and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on the growth and nutrition of the Marigold (*Calendula officinalis*). Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES). 6: 215-219.
- Mermoud, A. (2006):** Maîtrise de la salinité des sols. Cours de physique du sol Ecole polytechnique fédérale de Lausanne, 23 p.
- Monneveux P, Nemmar M (1986).** Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.): Etude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. Agronomie. 6: 583-590.
- Morrissey EM, Gillespie JL, Morina JC, Franklin RB (2014).** Salinity affects microbial activity and soil organic matter content in tidal wetlands. Global Change Biology 20: 1351-1361.
- Munns R, Tester M (2008).** Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology. 59: 651-681.
- Neumann G, Martinoia E (2002).** Cluster roots-an underground adaptation for survival in extreme environments. Trends in Plant Science. 7: 162–167.
- Ngom M (2012).** Caractérisation symbiotique d'une collection de souches de *Frankia*. Master II. Université Cheikh Anta DIOP de Dakar. 57 pages.
- Normand P, Lapierre P, Tisa LS, Gogarten JP, Alloisio N, Bagnarol E, Bassi CA, Berry AM, Bickhart DM, Choisne N, Couloux A, Cournoyer B, Cruveiller S, Daubin V, Demange N, Francino MP, Goltsman E, Huang Y, Kopp OR, Labarre L, Lapidus A, Lavire C, Marechal J, Martinez M, Mastrorunzio JE, Mullin BC, Niemann J, Pujic P, Rawnsley T, Rouy Z, Schenowitz C, Sellstedt A, Tavares F, Tomkins JP, Vallenet D, Valverde C, Wall LG, Wang Y, Medigue C, Benson DR (2007).** Genome characteristics of facultatively symbiotic *Frankia sp.* strains reflect host range and host plant biogeography. Genome Research 17: 7-15.
- Oliman AS, Shanan NT, Massoud ON, Swelim D (2012).** Improving salinity tolerance of *Acacia saligna* (Labill.) plant by arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium* inoculation. African Journal of Biotechnology. 11: 1259-1266.
- Oshone R, Mansour SR, Tisa LS (2013).** Effect of salt stress on the physiology of *Frankia sp* strain *Cc16*. Journal of Bioscience. 38: 699-702.

- Parida AK, Das AB (2005).** Salt tolerance and salinity effect on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 60: 324–349.
- Patil BN, Patil SG, Hebbara M, Manjunatha MV, Gupta RK, Minhas PS (2005).** Bioameliorative role of tree species in salt-affected vertisols of India. *Journal of Tropical Forest Science*. 17: 346-354.
- Péret B, Svistoonoff S, Laplaze L (2009).** When plants socialize symbioses and root development. *Annual Plant Reviews*. 37: 209-238.
- Porcel R, Aroca R, Ruiz-Lozano JM (2012).** Salinity stress alleviation using arbuscular mycorrhizal fungi. A review. *Agronomy for Sustainable Development*. 32: 181–200.
- Porras-Soriano A, Soriano-Martín ML, Porras-Piedra A, Azcón R (2009).** Arbuscular mycorrhizal fungi increased growth, nutrient uptake and tolerance to salinity in olive trees under nursery conditions. *Journal of Plant Physiology*. 166: 1350-1359.
- Prin Y, Rougier M (1987).** Preinfection events in the establishment of *Alnus-Frankia* symbiosis: study of the root hair deformation step. *Plant Physiology*. 6: 99-106.
- Prodjinto HGL (2011).** Caractérisation de la réponse au stress salin de plantes de *Casuarina glauca*. Master, Université Cheikh Anta Diop de Dakar. 50p.
- Rasmussen E, Petersen OS, Thompson JR, Flower RJ, Ahmed MH (2009).** Hydrodynamic-ecological model analyses of the water quality of Lake Manzala (Nile Delta, Northern Egypt). *Hydrobiology*. 622: 195-220.
- Ray EL, David AW (1992).** Management of Saline and Sodic Soils. MF-1022. Cooperative Extension Service, Kansas State University. Manhattan, Kansas. 4p.
- Rietz DN, Haynes RJ (2003).** Effects of irrigation induced salinity and sodicity on soil microbial activity. *Soil Biology and Biochemistry*. 35: 845-854.
- Rodriguez-Navarro and Rubio (2006).** K⁺ Nutrition, Uptake, and Its Role in Environmental Stress in Plants. *Journal of Experimental Botany*. 57: 1149-1160.
- Rosendahl CN, Rosendahl S (1991).** Influence of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus* spp.) on the response of cucumber (*Cucumis sativus* L.) to salt stress. *Environmental and Experimental Botany*. 31: 313–318.

- Ruiz-Lozano JM, Porcel R, Azcón C, Aroca R (2012).** Regulation by arbuscular mycorrhiza of the integrated physiological response to salinity in plants: new challenges in physiological and molecular studies. *Journal of Experimental Botany*. 63: 4033-4044.
- Sadio S (1991).** Pédogènese et potentialités forestières des sols sulfatés acides salés des tannes du Sine Saloum, Sénégal. ORSTOM, Bondy, France. 269p.
- Sardinha M, Muller T, Schmeisky H, Joergensen RG (2003).** Microbial performance in soils along a salinity gradient under acidic conditions. *Applied Soil Ecology*. 23: 237-244.
- Sayed WF (2011).** Improving Casuarina growth and symbiosis with *Frankia* under different soil environmental conditions-review. *Folia Microbiologica*. 56: 1-9.
- Schüßler A (2002).** Molecular phylogeny, taxonomy and evolution of arbuscular mycorrhiza fungi and *Geosiphon pyriformis*. *Plant and Soil*. 244:75-83.
- Shamseldin A, Werner D (2005).** High salt and high pH tolerance of new isolated *Rhizobium etli* strains from Egyptian soils. *Current Microbiology*. 50: 11-16.
- Sharma SR, Rao NK, Gokhale TS and Ismail S (2013).** Isolation and characterization of salt-tolerant rhizobia native to the desert soils of United Arab Emirates. *Plant Science. Emirates Journal of Food and Agriculture*. 25: 102-108.
- Shinde SK, Shinde BP, Patale SW (2013).** The alleviation of salt stress by the activity of AM fungi in growth and productivity of onion (*allium cepa l.*) plant. *International Journal of Life Science and Pharma Research*. 3: 11-15.
- Shokri S, Maadi B (2009).** Effects of Arbuscular mycorrhizal fungus on the mineral nutrition and yield of *Trifolium alexandrinum* plants under salinity stress. *Journal of Agronomy*. 8: 79–83.
- Sieverding E, Silva GA, Berndt R, Oehl F (2014).** *Rhizoglosum*, a new genus in the Glomeraceae. *Mycotaxon*. 129: 373–386.
- Sinclair G, Charest C, Dalpé, Khanizadeh S (2014).** Influence of colonization by arbuscular mycorrhizal fungi on three strawberry cultivars under salty conditions. *Agricultural and food science*. 23: 146–158. 146.
- Singh N, Samajpati N, Paul AK (2011).** Dual inoculation of salt tolerant *Bradyrhizobium* and *Glomus mosseae* for improvement of *Vigna radiata* L. cultivation in saline areas of West Bengal, India. *Agricultural Sciences*. 2: 413-423.

Smith SE, Read DJ (2008). Mycorrhizal Symbiosis, Third Edition, Academy Press.

Soliman A Sh, Shanan NT, Massoud ON and Swelim DM (2012). Improving salinity tolerance of *Acacia saligna* (Labill.) plant by arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium* inoculation.11: 1259-1266.

Soumaré MD, Mnkeni PNS, Khouma M (2004). Effects of ramial chipped wood and litter compost of *Casuarina equisetifolia* Tomato growth and soil properties in Niayes, Senegal. In: Bationo, A. (Ed.), Managing Nutrient Cycles to Sustain Soil Fertility in Sub-saharan Africa. Triscope Consulting Publishers, p. 502p.

Srivastava A, Singh SS, Mishra AK (2012). Sodium transport and mechanism(s) of sodium tolerance in *Frankia* strains. Journal of Basic Microbiology. 52: 1-2.

Srinivasa Murthy KM, Narayanappa M (2015). Influence of Vesicular Arbuscular Mycorrhizae (VAM) on Growth of *Ruta graveolens* – A Medicinal Plant. International Journal of Science and Research. 4: 2319-7064.

Tani C, Sasakawa H (2003). Salt Tolerance of *Casuarina equisetifolia* and *Frankia Ceql* Strain Isolated from the Root Nodules of *C. equisetifolia*. Soil Science and Plant Nutrition. 49: 215-222.

Trouvelot A, Kough JL, Gianinazzi-Pearson V (1986). Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherches et méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. Dans : Aspects physiologiques et génétiques des mycorhizes, Dijon, 1985. INRA (éd.), pp. 217-221.

Urao T, Yakubov B, Satoh R, Yamaguchi-Shinozaki K, Seki M, Hirayama T, Shinozaki K. (1999). A transmembrane hybrid-type histidine kinase in Arabidopsis functions as an osmosensor. Plant Cell. 11: 1743-54.

van Ghelue M, Lovaas E, Ringo E, Solheim B (1997). Early interaction between *Alnus glutinosa* and *Frankia* strain *Arl3*. Production and specificity of root hair deformation factors. Physiologia Plantarum. 99: 579-587.

Wall LG (2000). The Actinorhizal Symbiosis. Journal of Plant Growth Regulation. 19: pp. 167-182.

Références Bibliographiques

Wang B, Qiu YL (2006). Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhiza in land plants. *Mycorrhiza* 16: 299-363.

Wang W, Vinocur B, Altman A (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: toward genetic engineering for stress tolerance. *Planta*. 218: 1-14.

Yadav S, Irfan M, Ahmad A, Hayat S (2011). Causes of salinity and plant manifestations to salt stress: A review. *Journal of Environmental Biology*. 32: 667-685.

Zhang X, Benson DR (1992). Utilization of amino acids by *Frankia* sp. strain Cp11. *Archives Microbiology*. 158: 256-261.

Zhang Y, Zhong CL, Chen Y, Chen Z, Jiang QB, Wu C, Pinyopusarerk K (2010). Improving drought tolerance of *Casuarina equisetifolia* seedlings by arbuscular mycorrhizas under glasshouse conditions. *New Forest*. 40: 261-271.

Zhu JK (2003). Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Current Opinion in Plant Biologoly*. 6: 441-445.

Zhu JK, Liu J, Xiong L (1998). Genetic analysis of salt tolerance in *Arabidopsis*: Evidence for a critical role to potassium nutrition. *Plant Cell*. 10: 1181-1191.

2003: Land Degradation Assessment in Senegal (LADA)

2009: Land Degradation Assessment in Senegal (LADA)

ANNEXES

1) Conventions

Projets	Titre	Montant	Bailleurs	Années
Coordinatrice (PI)	Optimisation des couples Casuarinaceae/Champignons Mycorhiziens Arbusculaires pour la valorisation agrosylvopastorale des écosystèmes dégradés par le sel au Sénégal	5 452 500 Fcfa	Fondation International pour la Science (FIS)	2016-2018
	Amélioration de la tolérance au sel des Casuarina par inoculation microbienne pour la réhabilitation des terres dégradées par la salinisation au Sénégal	19 986 700 Fcfa	Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche (FIRST)	2015-2017
	Mécanismes moléculaires impliqués dans la tolérance au sel chez <i>Casuarina equisetifolia</i> et <i>Casuarina glauca</i>	6 000 000 Fcfa	The Academy of Sciences for the Developing World (TWAS)	2013-2014
	Impact de microorganismes symbiotiques du sol sur la résistance au stress salin chez <i>Casuarina glauca</i> et <i>C. equisetifolia</i> en vue de réhabiliter des zones salées dans la communauté rurale de Palmarin	5 983 800 Fcfa	Fondation Internationale pour la Science (FIS)	2012-2014
	Optimisation du choix du complexe <i>Casuarina</i> /Champignons mycorhiziens arbusculaires pour la valorisation agro-sylvo-pastorale des écosystèmes dégradés par le sel	1 974 025 Fcfa	Laboratoire Mixte International Adaptation des Plantes aux Stress Abiotiques	2013-2014
Collaboratrice	Selection of high yielding varieties and use of best cultural practices under rainfed conditions to improving peanut production and quality in Senegal	66 000 000 Fcfa	Kopia Research Program for Agriculture (Kopia)	2015-2018
	Kopia demonstration	66 000 000 Fcfa	Kopia Research Program for Agriculture (Kopia)	2015-2018
	Intensification de la culture du mil par l'utilisation de légumineuses (arachide et niébé) combinée à des techniques de fertilisation innovantes	59 983 000 FCFA	WAAP	2015-2018

2) Encadrements

	Etudiants	Titre	Niveau	Année	Université
Co Encadreur	Alassane Baldé	Amélioration de la productivité de l'Arachis hypogaea et réduction de la contamination par <i>Aspergillus flavus</i> par inoculation avec les Champignons Mycorhiziens a Arbuscules et /ou les rhizobia	Master (en cours)	2015	Université Cheikh Anta Diop de Dakar
	Maty Ndour	Amélioration de la tolérance au sel de <i>Melaleuca acacioides</i> F. Muell et <i>Melaleuca viridiflora</i> Sol. Ex Gaertn par inoculation avec les champignons mycorhiziens arbusculaires	Licence (soutenu)	2014	Université Assane Seck de Ziguinchor ; Département d'Agroforesterie
	Claver Ndébane Ndour	Amélioration de la tolérance au sel de <i>Melaleuca acacioides</i> F. Muell et <i>Melaleuca viridiflora</i> Sol. Ex Gaertn par inoculation avec les champignons mycorhiziens arbusculaires	Licence (soutenu)	2014	Université Assane Seck de Ziguinchor ; Département d'Agroforesterie
	Pape Ibrahima Djighaly	Impact des champignons arbusculaires sur la tolérance au sel des Casuarinaceae	Master (soutenu)	2013	Université Assane Seck de Ziguinchor ; Département d'Agroforesterie
	Pape Ibrahima Djighaly	Impact de plantations de Casuarina sur la communauté microbienne et sur les caractéristiques physicochimiques du sol	Thèse (En cours)	2014 - 2017	Université Assane Seck de Ziguinchor ; Département d'Agroforesterie
	Mariama Ngom	Caractérisation symbiotique d'une collection de souches de <i>Frankia</i> .	Master (soutenu)	2012	Université Cheikh Anta Diop de Dakar (Département de Biologie Végatale)
	Hermann GL Prodjimoto	Caractérisation de la réponse au stress salin chez l'arbre actinorhizien <i>Casuarina glauca</i>	Master (soutenu)	2011	Université Cheikh Anta Diop de Dakar (Département de Biologie Végatale)

3) Distinctions

Award Type	Description	Date	Awarding Institution
Borlaug	Recherche Collaborative	01/03-07/2016	USDA
Semi finalist Passion in Science awards	Celebration of 40th anniversary (The Environmental Stewardship Award™ recognizes scientists who are working to preserve our natural resources or reduce waste either in the lab or outside of it.)	10/10/1014	New England Biolab
Mandella Washington Fellow	Young Africans Leader Initiatives	07 2014	US Government and IREX department
1rst Price Laurence Vergne	For one of the best thesis at Institut de Recherche pour le Développement	2012	Institut de Recherche pour le Développement (IRD)
CV Raman International Fellowship for African Researcher	Post doc for African Researchers	2012	Indian Government

4) Collaborateurs

International	National hors ISRA
Institut de Recherche pour le Développement	Laboratoire Commun de Microbiologie (LCM : IRD/ISRA/UCAD)
Université de New Hampshire (USA)	Université Cheikh Anta DIOP
John Innes Center (USA)	Université Assane Seck
Université de Floride (FIU), Miama (USA)	Institut National de Pédologie (INP)
Université de Cap Town (Afrique du Sud)	Agence National de Conseil Agricole et Rural (ANCAR)
Institute of Forest Genetic and Tree Breeding, Coimbatore (Inde)	Association Sénégalaise pour la Promotion du Développement par la Base au Sénégal (ASPRODEB)
Université Ferhat Abbas Sétif, Algérie	Association pour la Promotion de l'Agroforesterie (APAF)
Suez Canal University, Ismailia, Egypte	Programme d'Appui aux Filières Agricoles (PAFA)
Research Institute of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry (Chine)	

5) Enseignements

Discipline	Structure
Biologie Cellulaire (Travaux Pratiques)	-Université Cheikh Anta DIOP de Dakar (UCAD, 2011-2013)
Biologie Moléculaires (Travaux Pratiques)	-Master Biotechnologie Végétale et Amélioration Microbienne (BIOVEM, UCAD)
Sciences de la Vie et de la Terre (stage d'imprégnation)	-Lycée Maurice de la Fosse (Dakar, 2007) -Lycée Galandou DIOUF (Dakar, 2008) -Lycée Malick Sy (Thiès, 2008)

Titre du mémoire: Optimisation des couples *Casuarina*/Champignons mycorhiziens arbusculaires/bactéries fixatrices d'azote pour la valorisation agro-sylvo-pastorale des écosystèmes dégradés par le sel

Résumé :

Au Sénégal, la salinisation des terres touche environ 1 700 000 ha parmi les 3 800 000 ha de terres arables. Pour faire face à cette salinisation, l'utilisation de plantes fixatrices d'azote et tolérantes s'avère être une solution très prometteuse. Parmi ces plantes, on peut noter *Casuarina glauca* et *C. equisetifolia* ; espèces de la famille des Casuarinaceae. Ces plantes s'associent avec les bactéries fixatrices d'azote et les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA). Ces microorganismes améliorent leurs performances en condition de stress. L'objectif de cette étude est de sélectionner des couples symbiotiques *Casuarina*/CMA/bactéries fixatrices d'azote très tolérants au sel pour réhabiliter des terres salées. Une expérimentation a été conduite en serre où les plantes de *C. glauca* et de *C. equisetifolia* ont été inoculées avec *Rhizogloium fasciculatum*, *R. aggregatus* et *R. irregularis*. Trois concentrations de NaCl ont été appliquées graduellement : 0mM, 100mM et 300mM. Six mois après, les plantes ont été récoltées. La hauteur, les teneurs en chlorophylle, en proline, en Na⁺ et K⁺ dans les parties racinaires et en P et N dans les parties aériennes ont été évaluées. Les résultats obtenus montrent que l'inoculation améliore la croissance des plantes en présence de sel. Une meilleure croissance et des teneurs plus élevées en chlorophylle, proline, N, P en K⁺ et Na⁺ et un métabolisme fongique plus actif ont été notés chez les plantes de *C. glauca* inoculées avec *R. fasciculatum*. En parallèle, des essais ont été effectués sur des terres salées à Palmarin (Fatick) pour tester des couples *Casuarina*/microorganismes symbiotiques tolérants au sel. Des plantes de *C. glauca* et de *C. equisetifolia* ont été inoculées avec *R. intraradices*, *R. fasciculatum*, *Cc13* et/ou *CeD* en pépinière. Les plantes âgées de trois mois ont été transférées sur des terres salées. Leur taux de survie et leur croissance en milieu réel ont été évalués. Le taux de survie de *C. equisetifolia* et de *C. glauca* est plus important sur les tannes herbacées et l'inoculation augmente ce taux de survie et aussi la croissance des plantes. Toutefois, la croissance et le taux de survie les plus importants ont été notés respectivement chez les plantes de *C. glauca* et *C. equisetifolia* co-inoculées avec *R. fasciculatum* et la souche bactérienne *CeD*. Ce résultat montre que la combinaison *Casuarina/ R. fasciculatum/ CeD* pourrait être utilisée dans la réhabilitation des terres dégradées par le sel au Sénégal.

Mots clés : *Casuarina*, Salinisation, mycorhize à arbuscule, bactérie fixatrice d'azote, réhabilitation

Title: Optimization of *Casuarina*/Arbuscular mycorrhizal fungi/nitrogen fixing bacteria combinations for the restoration of lands degraded by salinity

Abstract:

In Senegal, among the 3 800 000 ha of arable lands, 1 700 000 ha are affected by salinity. Planting salt tolerant nitrogen fixing trees like *Casuarina glauca* and *C. equisetifolia* could alleviate this problem. These trees form relationship with nitrogen fixing bacteria (*Frankia*) and mycorrhizal fungi strains. Symbiotic microorganisms enable *Casuarina* to colonize disturbed soil. The aim of this project is to select the best combination of *Casuarina* and symbiotic microorganisms to be used for the rehabilitation of lands degraded by salt. To carry out this work, experimentation was conducted in greenhouse using *C. glauca* and *C. equisetifolia* trees inoculated with the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) strains *Rhizogloium fasciculatum*, *R. aggregatus* and *R. irregularis* in saline condition. Salt stress was applied gradually one month later using 0 mM, 100 mM and 300 mM of NaCl. After six months, plants were harvested and the height, proline content, root Na⁺ and K⁺ content and leaves P and N content were determined. Results obtained showed that inoculation with AMF increase *C. glauca* and *C. equisetifolia* growth. Higher chlorophyll, proline, N, P en K⁺ and Na⁺ and a better growth were obtained with *C. glauca* plants inoculated with *R. fasciculatum*.

In parallel some field trials have been established in Palmarin (Fatick region) to test some *Casuarina*/symbiotic microorganism's couples. *C. glauca* and *C. equisetifolia* seedling were inoculated with *R. intraradices*, *R. fasciculatum*, *Cc13* and/or *CeD* in nursery. A better growth and higher survival rate were obtained in saline land recovered by grasses. However, the highest growth and survival rate were observed respectively in *C. glauca* and *C. equisetifolia* co-inoculated with *R. fasciculatum* and *CeD*. These results suggest that *Casuarina/ R. fasciculatum/ CeD* is a right combination to be used for the rehabilitation of lands affected by salt in Senegal.

Key Words: *Casuarina*, Salinization, arbuscular mycorrhizal, nitrogen fixing bacteria, rehabilitation