



UNIVERSITE D'ANTANANARIVO
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE

RAPPORT SCIENTIFIQUE

« Impact d'une espèce exotique *casuarina equisetifolia* sur le fonctionnement des communautés mycorhiziennes et bactériennes du sol et sur le développement des plantes autochtones malgaches »

Par

Dina RATAHIRIARISOA

Projet financé par : FSP PARRUR-SCAC

Encadrant : RAHERIMANDIMBY Marson

Juin 2014

SOMMAIRE	Page
Impact des extraits de feuilles et des feuilles de <i>Casuarina equisetifolia</i> sur la dynamique des communautés microbiennes et mycorhiziennes du sol impliquées dans le développement de <i>I. bijuga</i>.....	1
I- Introduction	1
II- Matériels et méthodes	2
II-1. Matériels végétales	2
II-2. Méthodologie	2
II-2-1. Analyses <i>in-vitro</i> de l'impact de l'extrait de feuille de <i>Casuarina equisetifolia</i> sur les champignons ectomycorhiziens	2
II-2-2. Test <i>in-vivo</i> de l'impact des feuilles de <i>Casuarina equisetifolia</i> sur la croissance de <i>Intsia bijuga</i> cultivé sur les sols sous <i>Intsia bijuga</i> et sous <i>Casuarina equisetifolia</i>	4
II-2-3. Paramètres évalués	4
III- Résultats	6
IV- Discussion	11
V- Conclusion et perspectives	12
Références citées	13
Impact de l'inoculation mycorhizienne sur le développement de <i>Intsia bijuga</i> cultivé sur sol sous plantation exotique.....	14
Résumé	14
I- Introduction	15
II- Matériels et méthodes	16
II-1. Préparation des inocula ectomycorhizien	16
II-2. Prégermination des graines de <i>I. bijuga</i>	17
II-3. Dispositif expérimental	17
II-4. Paramètres évalués	17
III- Résultats	19
IV- Discussion et conclusion	23
Références citées	26
REMERCIEMENT	30

Impact des extraits des feuilles et des feuilles de *Casuarina equisetifolia* sur la dynamique des communautés microbiennes et mycorhiziennes impliquées dans le développement de *I. bijuga*

I- Introduction

La litière des plantes jouent un rôle important dans l'écosystème terrestre (Lambers et al. 2008). La décomposition de la litière constitue non seulement un processus vital pour le recyclage des nutriments et la productivité des forêts (Didham, 1998) mais aussi un composant important du stock de carbone (Aerts, 1997). Certains auteurs ont trouvé que l'effet des litières sur la croissance de la plante dépend de la durée de l'application, du type de l'écosystème et du type de litière. D'autres facteurs pourraient expliquer la variation de la croissance de la plante dont la qualité et la vitesse de décomposition des litières (Xiong et Nilsson., 1999). La litière agit soit directement, soit indirectement sur l'inhibition ou l'activation des bactéries et l'étude de l'action de ces litières sur les microorganismes du sol a fait l'objet de nombreux travaux. La litière des plantes, par sa composition chimique libère des nutriments (Facelli and Pickett 1991) ou immobilise les nutriments par la libération des composés allélopathiques (Foster and Gross 1998; Bonanomi et al. 2006; Samedani et al. 2013). Certaines litières ont accru le développement de la plante alors que d'autres freinent son développement (Lopez-Iglesias et al 2014). L'inhibition de la croissance de la plante est attribuée à la présence des composés phytotoxiques dans la plante (Inderjit & Duke, 2003). De plus, la teneur en composés phénoliques des litières peut affecter la décomposition et le turn-over de la matière organique (Muller *et al.*, 1987 ; Palm & Sanchez, 1991). Les composés phénoliques peuvent inhiber l'action des micro-organismes (Scheffer & Cowling, 1966), voire induire des effets toxiques, antibiotiques et antifongiques (McKey, 1978). D'autres auteurs ont montré que la libération des composés allélopathique (comme les composés phénoliques) est un facteur qui limite beaucoup plus le développement de la plante que l'immobilisation des nutriments Bonanomi et al. (2011).. La composition chimique des feuilles (Villar et al.2006) et des litières (Cornelissen 1996; Aerts 1997) est reliée à la propriété de la feuille. Les espèces vertes pérennes avec des feuilles épaisses, persistant et pauvres en azote (Wright et al. 2004) se décomposent lentement que les litières provenant des feuilles qui possèdent les aspects contraires (Cornelissen 1996;Terradas 2001). Traditionnellement, la litière a été utilisée comme fertilisants organiques à effet bénéfique pour la croissance de la plante en agriculture. Cette pratique joue un rôle important dans le développement durable (Lopez-Iglesias et al 2014). Ces deux derniers décennies, la potentialité des espèces exotiques à altérer la structure et le fonctionnement de l'écosystème est devenue largement reconnue (Vitousek *et al.*1997). En effet, la culture en continue de l'Eucalyptus pourrait accroître l'accumulation de phytotoxine dans le sol ce

qui conduit à la dégradation du sol et à une perte de la productivité (El-Khawas and Shehata, 2005; Forrester et al., 2006). À Madagascar *Casuarina equisetifolia* est une espèce exotique à croissance rapide qui voisine les espèces autochtones malgaches située dans les régions côtières. Mais à l'état actuel de la connaissance, aucune étude n'a été faite sur l'impact de l'extrait des feuilles et des feuilles entières de *Casuarina equisetifolia* sur les microorganismes des sols et le développement de la plante autochtone malgache. Ainsi l'objectif de cette étude est de déterminer l'influence des extraits des feuilles et du mélange des feuilles de *Casuarina equisetifolia* avec les sols de culture sur le fonctionnement des communautés microbienne et mycorhizienne du sol et sur le développement de *Intsia bijuga*, une essence autochtone malgache.

II- Matériels et méthodes

II-1. Matériels végétales :

- *Casuarina equisetifolia*

Casuarina equisetifolia L.ex J.R& G. Forst, communément connu sous le nom de *Casuarina*, Pin australien, sheoak et Pino australiano, est un arbre à croissance rapide, de taille moyenne à feuillage verte persistant qui peut atteindre jusqu'à 45m de hauteur. Cet arbre se distingue par son écorce gris-brun clair rugueuse avec de sillons et une fine couronne de couleur vert foncé, tombantes, brindilles ou rameaux photosynthétiques (Parrotta J. A 1993).

- *Intsia bijuga*

C'est un arbre dont la hauteur varie de 7 à 25m mais il peut atteindre jusqu'à 40m. Il a un large canopée avec des feuilles vertes. En milieu ouvert (75% à 100% de lumière solaire), la croissance en hauteur est remarquable mais à l'ombre (25 à 50% de lumière solaire) cette croissance est faible. La période de fructification se situe entre le mois d'Octobre et le mois de Février (Randolph R et al., 2006)

II-2. Méthodologie :

II-2-1. Analyses *in-vitro* de l'impact de l'extrait de feuille de *Casuarina equisetifolia* sur les champignons ectomycorhiziens

L'objectif de cette étude est d'analyser *in-vitro* l'effet de l'extrait de feuille de *Casuarina equisetifolia* sur la croissance des deux isolats fongiques codés : Pis02 et Pis E.

a- Préparation des extraits des feuilles de *Casuarina equisetifolia*.

Les feuilles de *Casuarina equisetifolia* ont été séchées à l'étuve 40°C pendant 1 semaine puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique. Pour extraire les composés hydrosolubles, 20g de poudre de feuille ont été mélangées avec 200ml d'eau distillé puis agités pendant 24h sur un agitateur magnétique. L'extrait de feuille ont été par la suite filtré à l'aide d'un papier filtre Whatman n.1 et stérilisé en filtrant à l'aide d'un filtre millipore 0,45 puis séché dans un speed-back afin de conserver l'extrait jusqu'à utilisation.

b- Origine, isolement et entretien des isolats ectomycorhiziens

Les carpophores des champignons ectomycorhiziens ont été collectées pendant la saison humide. Pour cela des carpophores de *Pisolithus* codés Pis02 ont été collecté dans la forêt sclérophylle du haut plateau sis à Arivonimamo et d'autres carpophores codés PisE ont été collectés sous *Pinus* à Ankatso Antananarivo.

Ces carpophores ont été isolés au Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement Tsimbazaza Antananarivo. Après avoir enlevé les différentes particules à l'extérieur des carpophores par stérilisation avec de l'éthanol 70°, ils ont été coupés en deux pour prélever un morceau de la partie interne du périidium. Ce morceau a été cultivé sur le milieu MNM (Marx, 1969). Par la suite les isolats ectomycorhiziens ont été incubés à l'obscurité dans une étuve à 28°C. Les hyphes qui apparaissent ont été repiqués sur le milieu MNM pour avoir suffisamment d'isolats pour faire le test des extraits des feuilles de *Casuarina equisetifolia*.

c- Test de l'effet des extraits de feuille sur les champignons mycorhiziens : technique de diffusion par disque.

Les disques antibiogrammes de 6mm de diamètre préalablement stérilisés ont été imprégné chacune avec 10 microlitres de l'extrait des feuilles de *Casuarina equisetifolia* à une concentration de 10mg/ml à 20mg/ml. Les disques ont été ensuite séchés pendant 15 min dans l'étuve à 37°C puis déposés à l'aide d'une pince stérilisée dans des boites de pétri contenant du milieu MNM. Pour les témoins, les disques antibiogrammes ont été imprégné chacun avec 10 microlitres de l'eau distillée stérilisée. Par la suite, les boites de pétri ont été incubées à l'étuve 30 °C.

II-2-2. Test *in-vivo* de l'impact des feuilles de *Casuarina equisetifolia* sur la croissance de *Intsia bijuga* cultivé sur les sols sous *Intsia bijuga* et sur les sols sous *Casuarina equisetifolia*.

a- Prégermination des graines de *Intsia bijuga*

Les graines de *Intsia bijuga* ont été trempées dans une solution d'acide sulfurique concentré pendant 2h puis rincées 5 à 6 fois à l'eau de robinet. Les graines ont été ensuite trempées dans l'eau pendant 12h puis mises à germer dans le germoir contenant de la sable stérilisée et maintenue à la température de 30°C.

b- Préparation des sols de culture.

Les sols sous *Intsia bijuga* et les sols dégradés ont été tamisés avec un tamis de maille inférieur à 2 mm après avoir enlevé les débris végétaux et la faune visibles.

c- Dispositif expérimental

Les graines pré-germées de *Intsia bijuga* sont repiquées sur les sols sous *Intsia bijuga* et sur les sols dégradés préalablement mélangés avec la poudre et les fragments des feuilles de *Casuarina equisetifolia* à raison de 0g, 3g et 6g (P/P) par pot. Les plantes dont les sols de culture n'ont pas été mélangés avec la poudre et les fragments des feuilles de *Casuarina equisetifolia* constituent les témoins. Les sols de culture ont été ensuite mis dans des pots en plastique noir de 1L avec 25 répétitions par traitement. Les plantes sont arrosées au besoin à l'eau de robinet. Les traitements sont repartis en randomisation complète sous serre avec une température moyenne de 25°C le jour et de 15°C la nuit et à une photopériode de 10heures.

II-2-3. Paramètres évalués

a- Biomasse aérienne et racinaire de *Intsia bijuga*.

La croissance de *Intsia bijuga* est évaluée après 6 mois de culture sous condition contrôlée sous serre. La biomasse aérienne et racinaire ont été séparées et séchées à l'étuve 60 °C pendant une semaine.

b- Taux de mycorhization

La colonisation racinaire qui témoigne l'établissement de la symbiose ectomycorhizienne a été évaluée par l'observation de la racine des 5 plantes par traitement et choisies de façon aléatoire. L'observation a été faite sous loupe binoculaire (grossissement x40).

Le taux de mycorhization est le pourcentage des apex racinaires ectomycorhizés par rapport au nombre total des apex racinaires observés. Un champ d'observation contient au moins 100 apex racinaires.

c- Activités microbiennes globales du sol par hydrolyse de la FDA.

Elles sont mesurées par la technique d'Alef en 1998. La méthode consiste à mesurer l'hydrolyse du substrat qui est la Fluorescéine di-acétate (FDA). Après 1h d'incubation du sol avec le substrat, le produit d'hydrolyse : la fluorescéine est mesurée par méthode colorimétrique à la longueur d'onde 490nm.

d- Phosphatases acides et alcalines.

Elles sont mesurées par la technique de Tabatabai (1982). La technique est basée sur l'utilisation du substrat qui est le p-nitrophénol benzène. Le produit d'hydrolyse qui est le p-nitrophényl est évalué par la méthode colorimétrique à la longueur d'onde 400nm.

e- Dénombrement des microorganismes rhizosphériques :

Les microorganismes solubilisant le phosphate ont été dénombrés sur un milieu contenant du Phosphate tricalcique (TCP) (Gaur, 1990). Les Actinomycètes ont été dénombrés sur milieu Waksman (Waksman, 1961).

f- Analyses chimiques des feuilles de *Intsia bijuga* et des sols rhizosphériques.

Les analyses chimiques des sols et des feuilles de *Intsia bijuga* ont été déterminées selon les techniques classiques. Pour les feuilles de *Intsia bijuga*, les teneurs en N, P ont été analysées.

Pour les sols rhizosphériques, les teneurs en N, P, K, C et le pH ont été évalués.

Analyses statistiques

Les relations entre les différents paramètres mesurés seront mises en évidence par analyses multivariées (co-inertie) (Dray et al., 2003), et les résultats obtenus seront comparés deux à deux par l'analyse de variance ANOVA en utilisant le logiciel de statistique STATISTICA

III- Résultats

- Evaluation de l'effet des extraits des feuilles de *Casuarina equisetifolia* sur les champignons mycorhiziens

Par rapport au témoin les extraits des feuilles de *Casuarina equisetifolia* à 10mg/ml et 20mg/ml n'ont pas affecté la croissance de l'isolat ectomycorhizien Pis02. Pourtant le développement des hyphes de l'isolat ectomycorhizien PisE a été inhibé par l'extrait de feuille de *Casuarina equisetifolia* à la concentration de 20mg/ml.

- Evaluation de la biomasse aérienne et racinaire de *Intsia bijuga*

Le mélange des sols de culture avec la poudre et les fragments des feuilles de *Casuarina equisetifolia* ont affecté le développement de *Intsia bijuga*.

En effet, par rapport au témoin, la croissance de la biomasse aérienne de *Intsia bijuga* est significativement élevée lorsque le sol dégradé a été additionné de 3g du mélange de la poudre et des fragments des feuilles de *Casuarina equisetifolia* (MPFCas). Malgré une légère augmentation avec 6g de MPFCas, aucune différence significative de la biomasse aérienne n'a été enregistrée par rapport au témoin (fig.8). Aucune différence significative n'a été enregistrée entre les biomasses racinaires de *Intsia bijuga* cultivé sur les sols additionnés du MPFCas (3 g et 6 g) et le témoin (Fig. 10).

Sur le sol sous *Intsia bijuga*, l'addition de 3g et de 6g du MPFCas a diminué significativement la biomasse aérienne de *Intsia bijuga* par rapport au témoin (Fig.9). Pourtant, aucune différence significative n'a été observée entre les biomasses racinaires de *Intsia bijuga* cultivé sur sol sous *Intsia bijuga* additionné du MPFCas (3g et 6g) et le témoin (fig.11).

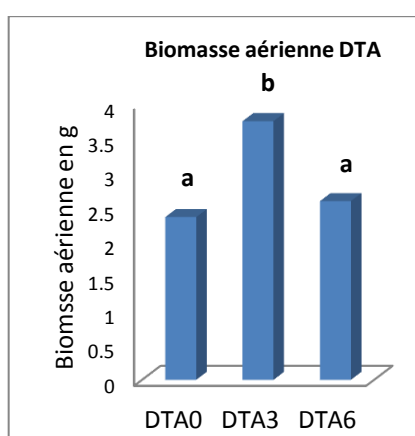


Figure 8 : Biomasse aérienne de *Intsia bijuga* cultivé sur sol dégradé mélangé ou non avec la poudre et les fragments des feuilles de *Casuarina equisetifolia*.

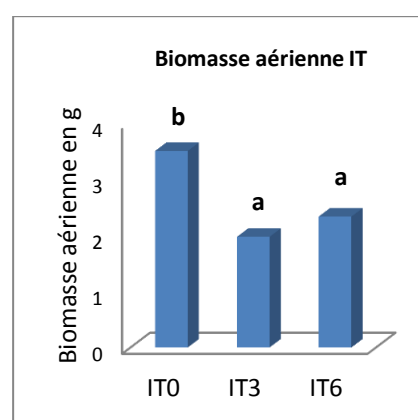


Figure 9 : Biomasse aérienne de *Intsia bijuga* cultivé sur sol sous *Intsia bijuga* mélangé ou non avec la poudre et les fragments des feuilles de *Casuarina equisetifolia*.

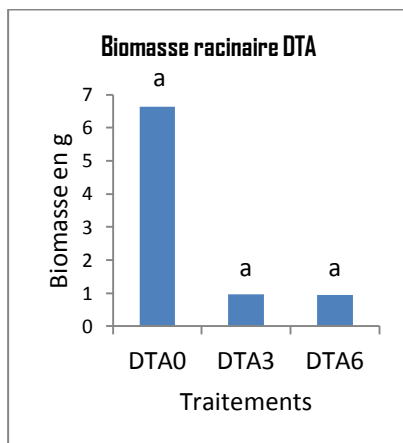


Figure 10: Biomasse racinaire de *Intsia bijuga* cultivé sur sol dégradé mélangé ou non avec la poudre et les fragments des feuilles de *Casuarina equisetifolia*.

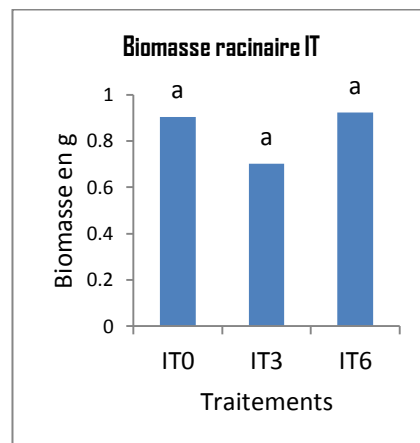


Figure 11 : Biomasse racinaire de *Intsia bijuga* cultivé sur sol sous *Intsia bijuga* mélangé ou non avec la poudre et les fragments des feuilles de *Casuarina equisetifolia*

* : Les histogrammes marqués par la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman Keuls au seuil de probabilité 0,05

DTA : sol dégradé ; **IT** : sol sous *I.bijuga* ; **DTA0** : sol dégradé témoin ; **DTA3** : sol dégradé + 3g de MPFCas (P/P) ; **DTA6** : sol dégradé + 6g de MPFCas (P/P) ; **IT0**: sol sous *Intsia bijuga* témoin ; **IT3** : sol sous *I.bijuga* + 3g de MPFCas (P/P) ; **IT6** : sol sous *I.bijuga* + 6g de MPFCas (P/P) ; **MPFCas** : Mélange de la Poudre et des Fragments de feuille de *Casuarina equisetifolia*.

- Taux de mycorhization de *Intsia bijuga*

L'addition du MPFCas avec les sols de culture (sous *Casuarina equisetifolia* ou sous *Intsia bijuga*) ne modifie pas significativement le taux de mycorhization de *Intsia bijuga* par rapport au témoin.

- Activités microbienne globale des sols rhizosphériques

Les activités microbiennes globales ont augmenté significativement pour les sols dégradés mélangés avec la poudre et les fragments des feuilles de *Casuarina equisetifolia* (3g et 6g) (fig.12).

Pourtant, aucune différence significative n'a été enregistrée entre les activités microbiennes globales des sols sous *Intsia bijuga* mélangés ou non avec du MPFCas (fig.13).

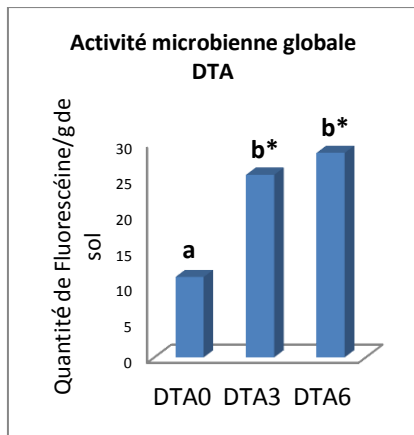


Figure 12 : Activité microbienne globale des sols rhizosphériques après culture de *Intsia bijuga* sur sol dégradé mélangé ou non avec la poudre et les fragments de feuille de *Casuarina equisetifolia*

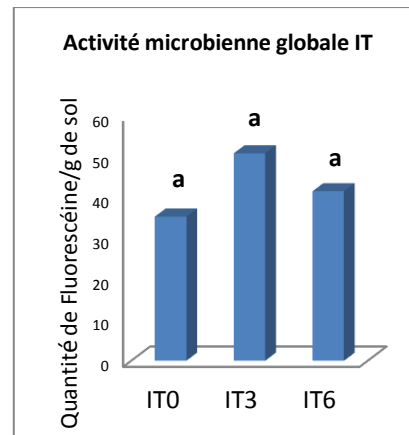


Figure 13: Activité microbienne globale des sols rhizosphériques après culture de *Intsia bijuga* sur sol sous *Intsia bijuga* mélangé ou non avec la poudre et les fragments de feuille de *Casuarina equisetifolia*

* : Les histogrammes marqués par la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman Keuls au seuil de probabilité 0,05

DTA : sol dégradé ; **IT** : sol sous *I.bijuga* ; **DTA0** : sol dégradé témoin ; **DTA3** : sol dégradé + 3g de MPFCas (P/P) ; **DTA6** : sol dégradé + 6g de MPFCas (P/P) ; **IT0**: sol sous *Intsia bijuga* témoin ; **IT3** : sol sous *I.bijuga* + 3g de MPFCas (P/P) ; **IT6** : sol sous *I.bijuga* + 6g de MPFCas (P/P) ; **MPFCas** : Mélange de la Poudre et des Fragments de feuille de *Casuarina equisetifolia*.

- Les activités des phosphatases :

La phosphatase acide a augmenté significativement pour le sol dégradé mélangé avec 3g et 6g de la poudre et des fragments des feuilles de *Casuarina equisetifolia* MPFCas (P/P) (fig.14).

Malgré la légère augmentation, aucune différence significative n'est enregistré pour la phosphatase acide des sols sous *Intsia bijuga* mélangé ou non avec la poudre et les fragments des feuilles de *Casuarina equisetifolia* (fig 15).

Une légère diminution affecte la phosphatase alcaline des sols dégradés additionnés de 3g et 6g du MPFCas (P/P) contrairement à ceux observés sur les sols sous *Intsia bijuga* mélangé ou non avec la poudre les fragments de feuilles de *Casuarina equisetifolia*. Pourtant aucune différence significative n'a été enregistré que ce soit pour le sol dégradé que pour le sol sous *Intsia bijuga* mélangé ou non avec la poudre et les fragments des feuilles de *Casuarina equisetifolia* (fig.16, fig.17).

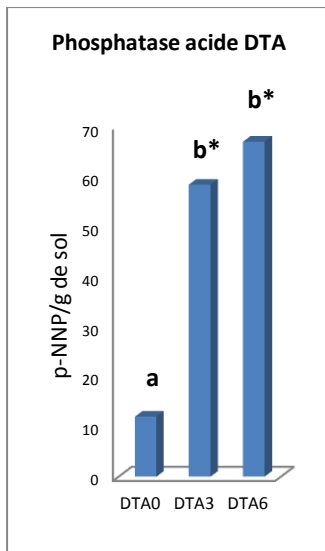


Figure 14: Phosphatase acide du sol dégradé mélangé avec la poudre et le fragment des feuilles de *Casuarina equisetifolia* cultivé de *Intsia bijuga*

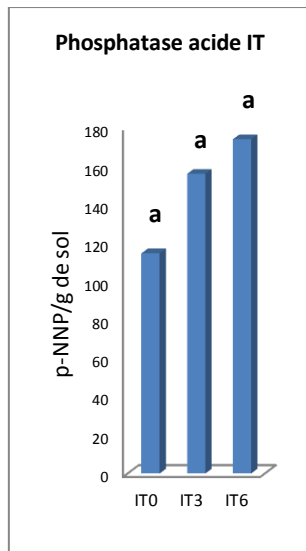


Figure 15: Phosphatase acide du sol sous *Intsia bijuga* mélangé avec la poudre et les fragments de feuille de *Casuarina equisetifolia* cultivé de *Intsia bijuga*

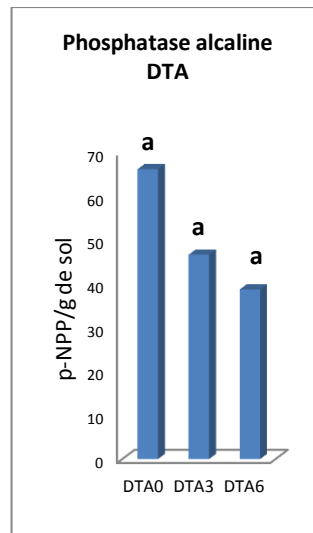


Figure16 : Phosphatase alcaline du sol dégradé mélangé avec la poudre et les fragments de feuille de *Casuarina equisetifolia* cultivé de *Intsia bijuga*

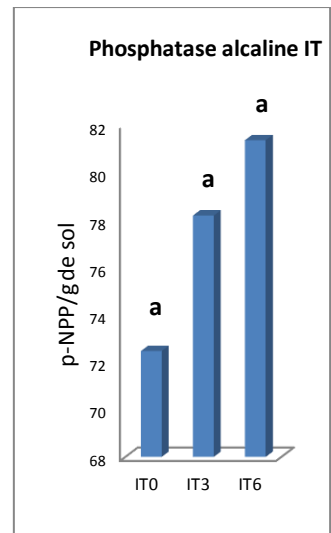


Figure17 : Phosphatase acide du sol sous *Intsia bijuga* mélangé avec la poudre et les fragments de feuille de *Casuarina equisetifolia* cultivé de *Intsia bijuga*

* : Les histogrammes marqués par la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman Keuls au seuil de probabilité 0,05

DTA : sol dégradé ; **IT** : sol sous *I.bijuga* ; **DTA0** : sol dégradé témoin ; **DTA3** : sol dégradé + 3g de MPFCas (P/P) ; **DTA6** : sol dégradé + 6g de MPFCas (P/P) ; **IT0**: sol sous *I.bijuga* témoin ; **IT3** : sol sous *I.bijuga* + 3g de MPFCas (P/P) ; **IT6** : sol sous *I.bijuga* + 6g de MPFCas (P/P) ; **MPFCas** : Mélange de la Poudre et des Fragments de feuille de *Casuarina equisetifolia*.

p-NPP: para-Nitrophénil Phosphate

- Dénombrement des microorganismes solubilisant le phosphate et les Actinomycètes des sols rhizosphériques de *Intsia bijuga*.

Pour les sols dégradés, aucune différence significative n'a été enregistrée entre le nombre des microorganismes solubilisant le phosphate des sols mélangés avec du MPFCas (3g et 6g) et le témoin (Fig 20a). Par contre une diminution significative des microorganismes solubilisant le phosphate a été enregistrée après l'addition du MPCas (3g et 6g) aux sols sous *Intsia bijuga* (Fig 20b).

Le nombre des Actinomycètes dans les sols rhizosphériques a augmenté significativement entre les sols dégradé + 3g ou 6g de MPFCas et le témoin (Fig.19a). Pourtant, cultivé sur le sol sous *I.bijuga*, l'ajout de 3g et 6g du MPFCas a diminué significativement le nombre des Actinomycètes par rapport au témoin (fig.19 b).

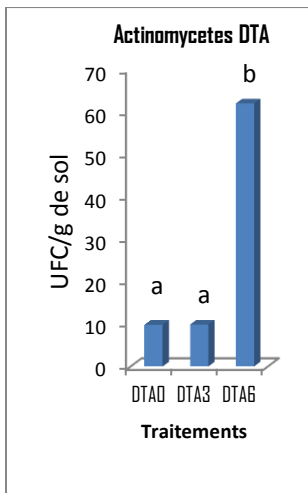


Figure 19a : Actinomycète des sols DTA

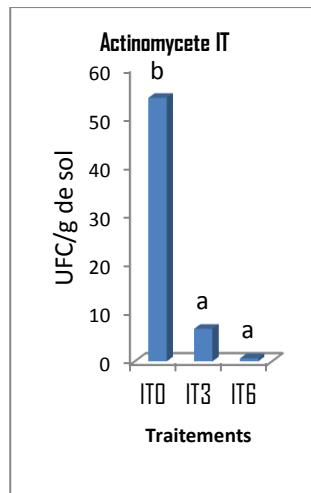


Figure 19b : Actinomycète des sols IT

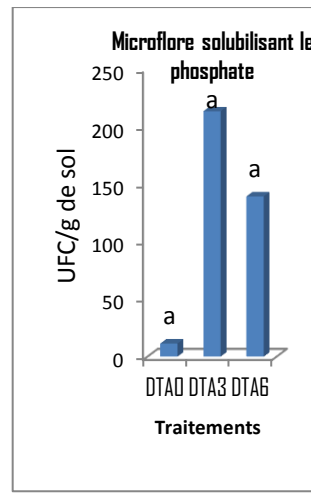


Figure 20a : Microflore solubilisant le phosphate des sols DTA

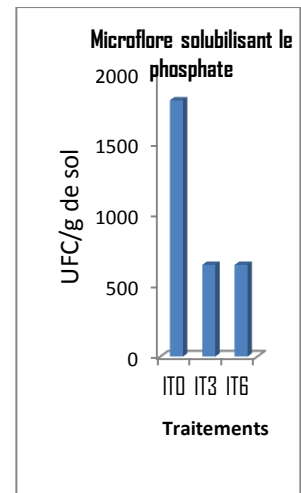


Figure 20b : Microflore solubilisant le phosphate des sols IT

* : Les histogrammes marqués par la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman Keuls au seuil de probabilité 0,05

DTA0 : sol dégradé témoin

DTA3 : sol dégradé additionné de MPFCas 3g (P/P)

DTA6 : sol dégradé additionné de MPFCas 6g (P/P)

DTA : sol dégradé

IT0 : sol sous *Intsia bijuga* témoin

IT3 : sol sous *Intsia bijuga* additionné de MPFCas 3g (P/P)

IT6 : sol sous *Intsia bijuga* additionné de MPFCas 6g (P/P)

IT : sols sous *Intsia bijuga*

- Analyses chimiques des sols rhizosphériques et des feuilles de *I.bijuga* après 6 mois de culture

Les analyses chimiques des feuilles et des sols de culture après 6 mois de culture sous serre ont montré des changements après l'addition de MPFCas. Pour le sol dégradé, le MPFCas a augmenté significativement la teneur en N et P des plantes alors que ces derniers ont été diminués significativement sur les sols forestiers. La même tendance a été observée quand a la teneur en N et P des sols rhizosphériques.

Tableau n : 1 Analyses chimiques des sols rhizosphériques et des feuilles de *I.bijuga*

Sigle	SOLS					FEUILLES	
	pH(*)	N%(*)	P(ppm)	K	C%	N%	P ₂₀₅
DTA0	5,33a	0,008a	5,43b	0,025a	0,132b	1,92a	0,245b
DTA3	5,71a	0,035b	5,33b	0,025a	0,095a	2,09b	0,246b
DTA6	5,03a	0,0008a	4,8a	0,082b	0,416c	1,95a	0,199a
	pH(*)	N%(*)	P(ppm)	K	C%	N%	P ₂₀₅
IT0	5,10a	0,091b	7,23b	0,053b	1,03b	2,57c	0,232a
IT3	5,09a	0,084a	8,9c	0,033a	1,34c	2,29a	0,261c
IT6	5,13a	0,085a	5,43a	0,084c	0,41a	2,57b	0,201a

(*) Les données dans la même colonne suivie par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Newman-Keuls ($p < 0,05$).

DTA0 : sol dégradé témoin

DTA3 : sol dégradé additionné de MPFCas 3g (P/P)

DTA6 : sol dégradé additionné de MPFCas 6g (P/P)

IT0 : sol sous *Intsia bijuga* témoin

IT3 : sol sous *Intsia bijuga* additionné de MPFCas 3g (P/P)

IT6 : sol sous *Intsia bijuga* additionné de MPFCas 6g (P/P)

IV- Discussion

Les matières organiques sont des ressources non négligeables en éléments nutritifs pour les microorganismes du sol et les végétaux. L'azote et le phosphore sont des nutriments essentiels pour le développement de la plante. L'analyse chimique des feuilles de *I. bijuga* cultivé sur le sol ayant reçu 3g du MPFCas a montré que la teneur en azote total est significativement supérieure par rapport au témoin et la croissance de la biomasse aérienne est significativement élevée pour ce traitement. Ce qui suggère que le MPFCas a fourni l'azote nécessaire à la croissance de la plante. Notre résultat corrobore ceux trouvés par Huguet et Girodon (1976) puis Hett (1996). Pour cela, la croissance des plantes ont augmenté avec l'apport de nutriment azoté. Les activités microbiennes globales et les activités enzymatiques du sol. Notre résultat est en accord avec ceux obtenus par certains chercheurs (Goyal et al., 1993; Pascual et al., 1998) qui confirment que les matières organiques ajoutées au sol peuvent stimuler l'activité microbienne et influent les activités enzymatiques des sols.

Dans cette étude, les microorganismes du sol impliqués dans la dégradation de la matière organique entre autre les Actinomycètes ont été augmentés significativement. Ce résultat corrobore avec Ros et al (2003) qui ont trouvé une augmentation de la biomasse microbienne du sol après addition de déchet organique urbain frais. Le rapport C/N du sol est aussi un facteur qui détermine l'éventuelle dégradation de la matière organique. L'analyse chimique des sols dégradés a montré qu'ils ont un rapport C/N le plus faible (9,5) ce qui augmente la probabilité de dégradation de la matière organique qui y est incorporée.

Les activités enzymatiques du sol sont des bonnes indications de la fertilité des sols puisqu'elles sont impliquées dans les cycles de nutriments les plus important (Goyal et al., 1993; Pascual et al., 1998) entre autre le cycle de l'azote et du phosphore. Le cycle de l'azote a une importance capitale pour la minéralisation de l'azote contenu dans la matière organique et fait intervenir une enzyme, l'uréase. Le résultat de ce processus biogéochimique est la libération de l'azote dans le sol. Certains auteurs ont montré que le cycle de l'azote est modifié par le sol traité avec les déchets organiques. La stimulation de l'activité de l'uréase est appréciée même avec la dose élevée de l'amendement organique. Cela est probablement due à cause de l'augmentation de la biomasse microbienne qui en résulte (Tejada et al., 2006).

Taylor et al (2002) ont trouvé une corrélation positive entre l'abondance des bactéries et les activités enzymatiques et entre les activités enzymatiques et la teneur en matière organique du sol.

Pour les sols forestiers sous *I.bijuga*, la biomasse aérienne est significativement élevée pour le témoin (sol sans MPFCas). Ce sol est riche en éléments nutritifs essentiels (N et P) pour le développement de la plante.

L'addition de MPFCas sur le sol forestier diminue significativement la biomasse aérienne des de *I.bijuga*. D'après Sayed et al (2002), la croissance de la plante ainsi que la teneur en azote total diminue au fur et à mesure de l'addition de litière de *C. equisetifolia* au sol de culture.

L'addition de MPFCas n'influe pas significativement les activités phosphatasiques ainsi que les activités microbiennes globales des sols. Pourtant une diminution significative de certains microorganismes rhizosphériques entre autre les microorganismes solubilisant le phosphate et les Actinomycètes ont été enregistrés après le mélange du sol forestier avec le MPFCas. Ces microorganismes rhizosphériques ont chacun leur rôle dans le cycle biogéochimique et affecte la nutrition et la croissance végétale. Sayed et al (2002) ont montré que l'incorporation des litières de *C. equisetifolia* avec le sol de culture contribue à l'inhibition de la formation des nodules de la symbiose actinorhiziennes. En effet, les analyses chimiques qu'ils ont faites avec la litière de *C. equisetifolia* ont mises en évidences la présence de divers composants toxiques comme le zinc, la cyanide, le manganèse, les sulfides et les composées phénoliques. Toutefois, le MPFCas n'influe pas sur le la mycorhization de *I.bijuga*.

L'augmentation de la teneur en phosphore assimilable dans le sol forestier amendé avec MPFCas 3g pourrait donc être associée à la libération des phosphates des sols non disponibles par la diminution du pH du sol.

V- Conclusion et perspectives

En conclusion, cette étude nous a permis de mettre en évidence le comportement des deux isolats ectomycorhiziens vis-a-vis de la présence des extraits des feuilles de *C. equisetifolia*. Pour cela une étude *in-vivo* serait nécessaire pour évaluer les effets de ces isolats fongiques sur la croissance des plantes autochtones malgache sur les sols sous *C. equisetifolia* et sur les fonctionnements des microorganismes impliquées dans leur développement.

Les effets des feuilles de *C. equisetifolia* sur la croissance de *I. bijuga*, les activités enzymatique et les microorganismes du sol après 6 mois de culture sous serre diffèrent selon les types de sol. Il semble que l'ajout de MPFCas au sol dégradé stimule la croissance de *I. bijuga*, les activités enzymatiques et certains microorganismes du sol. Pourtant, mélangé avec le sol forestier riche en élément nutritif (N, P), le MPFCas parait inhiber le développement de *I. bijuga* et les microorganismes du sol comme les Actinomycètes et les microorganismes solubilisant le phosphate.

Références citées :

- ABUZINADAH, R.A., READ, D.J. 1986. The role of proteins in the nitrogen nutrition of ectomycorrhizal plants. I. Utilization of peptides and proteins by ectomycorrhizal fungi. *New Phytologist* 103: 481–493.
- AERTS R. 1997. Climate, leaf litter chemistry and leaf litter decomposition in terrestrial ecosystems: a triangular relationship. *Oikos* 79:439–449.
- AWONAIKE KO, DANSO SKA, ZAPATA F. 1996. Nitrogen fixation in *L. leucocephala* L. as affected by rooting volume and competition with *E. camaldealensis*. *Agrofor Syst* 33: 195–203.
- BONANOMI G, SICUREZZA MG, CAPORASO S, ESPOSITO A, MAZZOLENI S. 2006. Phytotoxicity dynamics of decaying plantmaterials. *New Phytol* 169:571–578
- BONANOMI G, INCERTI G, BARILE E, CAPODILUPO M, ANTIGNANI V, MINGO A, LANZOTTI V, SCALA F, MAZZOLENI S. 2011. Phytotoxicity, not nitrogen immobilization, explains plant litter inhibitory effects: evidence from solid-state ¹³C NMR spectroscopy. *New Phytol* 191:1018–1030
- BURNS, R. G. 1982: Enzyme activity in soil: Location and a possible role in microbial ecology. *Soil Biol. Biochem.* 14, 423–427.
- CALLAWAY R.M, THELEN G.C., RODRIGUEZ A& HOLBEN W.E. 2004. *Letters to nature* 427: 731-733. www.nature.com/nature
- CORNELISSEN JHC. 1996. An experimental comparison of leaf decomposition rates in a wide range of temperate plant species and types. *J Ecol* 84:573–582.
- COTRUFO, M.F., M. MILLAR, AND B. ZELLER. 2000. Litter decomposition. p. 142–148. In E.-D. Schulze (ed.) Carbon and nitrogen cycling in European forest ecosystems. Springer, Berlin.
- DILLY O., MUNCH J.C., PFEIFFER E-M. 2007. Enzyme activities and litter decomposition in agricultural soils in northern, central, and southern Germany. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 170, 197–204.
- DRAY S, CHESSEL D, THIOULOUSE J. 2003. Co-inertia analysis and the linking of ecological tables. *Ecology* 84: 3078-3089
- EHRENFELD JG. 2003. Effects of exotic plant invasions on soil nutrient cycling processes. *Ecosystems* 6:503–523
- FACELLI JM, PICKETT STA. 1991. Plant litter: its dynamics and its role in plant community structure. *Bot Rev* 57:1–32
- FOSTER BL, GROSS KL. 1998. Species richness in a successional grassland: effects of nitrogen enrichment and plant litter. *Ecology* 79:2593–2602
- GAUR A.C. 1990. Phosphate solubilizing Microorganisms as Biofertilizer pp.176 (New Delhi: Omega Scientific Publications)
- GOYAL, S., M.M. MISHRA, S.S. DHANKAR, K.K. KAPOOR, AND R. BATRA. 1993. Microbial biomass turnover and enzyme activities following the application of farmyard manure to field soils with and without previous long-term applications. *Biol. Fertil. Soils* 15:60–64.
- LAMBERS H, CHAPIN IFS, CHAPIN FS, PONS TL. 2008. Plant physiological ecology. Springer, New York
- LOPEZ-IGLESIAS B., OLMO M., GALLARDO A., VILLAR R., 2014. Short-term effects of litter from 21 woody species on plant growth and root development. *Plant Soil*. DOI 10.1007/s11104-014-2109-6
- MUELLER, R. N., KALISZ, P. J., KIMMERER, T. W. 1987. «Intraspecific variation in production of astringent phenolics over a vegetation-ressource availability gradient». *Oecologia*, 72: 211-215.

- Mc KEY, D. 1978. «Phenolic content of vegetation in two African rain forests : ecological implications». *Science*, 202: 61-64.
- NANNIPIERI P., L. GIAGNONI, L. LANDI, AND G. RENELLA. 2011. Role of Phosphatase Enzymes in Soil. E.K. Bunemann et al. (eds.), *Phosphorus in Action*, *Soil Biology* 26, DOI 10.1007/978-3-642-15271-9_9, # Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- PALM, C. A. & SANCHEZ, P. A. 1991. Nitrogen release from the leaves of some tropical légumes as effected by their lignin and polyphenolic contents. *Soil Biology and Biochemistry*, 23: 83-88.
- PARROTTA, J.A. 1993. *Casuarina equisetifolia* L. ex J.R. & G. Forst. SO-ITF-SM-46. International Institute of Tropical Forestry, U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rio Piedras, Puerto Rico.
- PASCUAL, J.A., T. HERNANDEZ, C. GARCIA, AND M. AYUSO. 1998. Enzymatic activities in an arid soil amended with urban organic wastes: Laboratory experiment. *Bioresour. Technol.* 64:131–138.
- PLENCHETTE C., FORTIN J. FURLAN V. (1983). Growth responses of plant to mycorrhizae in soil of moderate Pfertility. Mycorrhizal dependency under field conditions. *Plant and soil* 70: 199-209
- RANDOLPH R. THAIMAN, LEX A. J. THOMSON, ROBIN DEMEO, FRANCIS AREKI, AND CRAIG R. ELEVITCH. 2006. *Intsia bijuga* (vesi). *Species Profiles for Pacific Island Agroforestry* www.traditionaltree.org. ver.3-I
- ROS, M., M.T. HERNANDEZ, AND C. GARCIA. 2003. Soil microbial activity after restoration of a semiarid soil by organic amendments. *Soil Biol. Biochem.* 35:463–469.
- SAMEDANI B, JURAIMI AS, RAFII MY, ANUAR AR, SHEIKH AWADZ SA, ANWAR MP. 2013. Allelopathic effects of litter axonopus compressus against two weedy species and its persistence in soil. *Sci World J* 695404:8
- SCHEFFER, T. & COWLING, E. B. 1966. «Natural resistance of wood to microbial deterioration». *Annu. Rev. Phytopatho.*, 4: 147-170.
- SCHNÜRER J, ROSSWALL T. 1982. Fluorescein diacétate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Applied and Environmental Microbiology* 6 : 1256–1261.
- SINSABAUGH, R. L. AND LIPTAK, M. 1997. Enzymatic conversion of plant biomass. In *The Mycota: Environmental and Microbial Relationships*, ed.B. Soderstrom and D. T. Wicklow. Berlin:Springer-Verlag, pp. 347–57.
- TAYLOR J.P., WILSON B., MILLS M.S., BURNS R.G. 2002. Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in surface soils and subsoils using various techniques. *Soil Biol. Biochem* 34: 387-4001
- TEJADA, M., AND J.L. GONZALEZ. 2006. Effects of a crushed cotton gin compost on soil biological properties, nutrient leaching losses and maize yield. *Agron. J.* (in press).
- TERRADAS J. 2001. *Ecología de la vegetación: de la ecofisiología de las plantas a la dinámica de comunidades y paisajes*. Omega, Barcelona
- TIAN G, KANG BT, BRUSSAARD L.1992. Biological effects of plant residues with contrasting chemical compositions under humid tropical conditions-decomposition and nutrient release. *Soil Biol Biochem* 24 :1051–1060
- VILLAR R, ROBLETO JR, DE JONG Y, POORTER H. 2006. Differences in construction costs and chemical composition between deciduous and evergreen woody species are small as compared to differences among families. *Plant Cell Environ* 29:1629–1643.
- WRIGHT IJ, REICH PB, WESTOBY M, ACKERLY DD, BARUCH Z, BONGERS F et al. 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* 428:821–827.
- XIONG SJ, NILSSON C. 1999. The effects of plant litter on vegetation: a meta-analysis. *J Ecol* 87:984–994

Impact de l'inoculation mycorhizienne sur le développement de *Intsia bijuga* cultivé sur sol sous plantation exotique.

Résumé

L'installation des espèces exotiques influe souvent sur le fonctionnement de la microflore tellurique ainsi que sur le développement des plantes autochtones. Les espèces exotiques créent un micro-environnement qui leur est favorable. Pour s'installer à ce nouvel environnement, les espèces autochtones ont besoin d'aide. La symbiose mycorhizienne, est connue pour sa capacité de permettre à une plante de surmonter les nombreuses difficultés influençant son développement, telles que les stress édaphiques et environnementaux. L'objectif de cette étude est de déterminer l'influence de l'inoculation ectomycorhizienne sur les microorganismes telluriques et le développement de la plante autochtone *Intsia bijuga* cultivée sur les sols collectés sous une plantation exotique de *Casuarina equisetifolia*. Deux isolats de *Pisolithus*, Pis02 et PisE, ont été utilisés pour inoculer les plantules de *Intsia bijuga*. Après 6 mois de culture en serre, différents paramètres de développement de la plante ont été évalués : biomasse aérienne, taux de mycorhization et propriétés chimiques des feuilles. Aussi, pour le sol rhizosphérique des analyses chimiques et microbiologiques ont été effectuées et les activités enzymatiques ont été évaluées.

Les résultats ont montré que l'inoculation avec les deux isolats ectomycorhiziens entraîne l'augmentation significative de la teneur en Phosphore des feuilles des plantes et de la teneur en Phosphore assimilable des sols de culture. De plus, la biomasse aérienne de *Intsia bijuga*, la teneur en azote des feuilles, l'activité microbienne globale et la teneur en carbone des sols de cultures sont significativement élevées avec l'inoculation par Pis02. Pourtant l'intensité de la phosphatase acide et les nombres des microorganismes solubilisant le phosphate tricalcique et des actinomycètes sont significativement diminués. La dépendance mycorhizienne de *Intsia bijuga* avec Pis02 est élevée (47,98%) par rapport à celle avec PisE (1.12%). Cette étude a permis de mettre en évidence l'importance de la mycorhization dans l'établissement de la plante autochtone sur les sols sous plantation exotique.

Mots clés : symbiose ectomycorhizienne, plantes autochtones, plantes exotiques, microflore tellurique, activité enzymatique.

I- Introduction

La plupart des pays tropicaux utilisent des espèces exotiques à croissance rapide pour revégétaliser les zones nues ou dégradées et cela a pour objectif de leur fournir des bois ou du fourrage, de lutter

contre les érosions hydrique et éolienne et de limiter l'avancement de la désertification (Parrotta, 1993).

Ces espèces exotiques entraînent un changement de la communauté microbienne du sol qui pourrait provoquer des effets néfastes sur les écosystèmes (Braham et al 2013). Certaines espèces exotiques sont capables de modifier la communauté microbienne du sol à son avantage comme le cas de *Centaurea maculosa* (Callaway et al 2004). Le reboisement des sols assujettis à ces espèces exotiques par des plantes autochtones s'avère parfois difficile. A Madagascar, *Casuarina equisetifolia*, une espèce exotique à croissance rapide est utilisée comme brise-vent et comme une protège contre l'érosion côtière. Des études antérieures ont montré que cette espèce exotique influe négativement le fonctionnement de certains microorganismes du sol forestier malgache (Ratahiriarisoa et al 2013) et la croissance de l'espèce autochtone *Intsia bijuga* sur le sol sous espèce exotique est significativement faible par rapport à celle cultivé sur le sol forestier native. De plus les sols sous *Casuarina equisetifolia* est un sol pauvre en phosphore et en azote. Certaines plantes cultivées sur les sols pauvres bénéficient de la symbiose mycorhizienne pour croitre (Davis P.Janos 1980). Les champignons mycorhiziens sont responsables du prélèvement et du transport vers la plante des éléments nutritifs très peu mobiles mais présents dans le sol, principalement le phosphore (Selosse *et al.*, 2006). De ce fait, ces microorganismes apparaissent comme un outil biologique d'un grand intérêt pour améliorer la croissance des plantes, qu'elles soient spontanées ou cultivées, et aussi pour restaurer les sols (Bethlenfalvay & Schüepp, 1994 ; Johansson *et al.* 2004 ; Gentili & Jumpponen, 2006). Les associations mycorhiziennes tiennent une grande place dans les successions végétales (Hart *et al.*, 2003) et l'efficacité de la symbiose mycorhizienne dépend surtout de l'aptitude de l'espèce de champignon à s'adapter aux conditions locales (Trappe 1977).

Ainsi, l'objectif de cette étude est d'exploiter la potentialité des champignons ectomycorhiziens pour améliorer l'installation des espèces autochtones malgache sur les sols préalablement cultivés de l'espèce exotique *Casuarina equisetifolia*.

II- Matériels et méthodes

II-1. Préparation des inocula ectomycorhizien :

Les isolats ectomycorhiziens ont été multipliés dans le milieu MNM liquide. Pour cela, dans chaque Erlen de 250ml ont été mis 100ml de MNM liquide avec 5 morceaux de 1cm de chaque isolat ectomycorhizien préalablement cultivée sur milieu MNM solide. Après incubation à 30°C pendant un mois, les hyphes fongiques colonisent la totalité de la surface du milieu liquide. Ces mycéliums

fongiques ont été ensuite récupérés et lavés à l'eau distillée stérilisée (stérilisation à l'autoclave pendant 20min à 120°C) puis broyer dans 100ml d'eau distillée stérilisée en utilisant le blinder.

II-2. Prégermination des graines de *I.bijuga*

Les graines de *I.bijuga* ont été trempé dans une solution d'acide sulfurique concentré pendant 2h puis rincées 5 fois à l'eau de robinet. Après, elles ont été trempées dans l'eau distillée stérilisée (stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 45min) pendant 12h puis enfouis dans le sable stérilisé contenu dans un germoir maintenu à la température de 30°C.

II-3. Dispositif expérimental

Les graines prégermées de *I.bijuga* ont été repiquées sur les sols sous *C. equisetifolia* préalablement tamisé et repoté dans des gaines en plastique noir de 1L trouées au fond pour l'aération. Chaque plante a été inoculée avec 10ml d'inoculum fongique Pis02 ou PisE au niveau de leur système racinaire. Les plants témoins ont reçu chacun 10ml d'eau distillée stérilisée. Ensuite, elles ont été disposées en un bloc dans un système totalement randomisé avec 25 répétitions par traitement. Les cultures ont été maintenues sous serre pendant 6 mois. La serre était éclairée par la lumière du jour avec une photopériode approximative de 12 h et une température moyenne de $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Les plantes sont arrosées à l'eau de robinet deux fois par semaine.

II-4. Paramètres évalués :

a- Biomasse aérienne et racinaire de *Intsia bijuga*

Les plantes sont collectées après 6 mois de culture sous condition contrôlées sous serre. Les parties aériennes et racinaires ont été séparées au niveau du collet puis séchées à 60°C pendant une semaine dans une étuve puis pesées à l'aide d'une balance de précision.

b- Taux de mycorhization de *Intsia bijuga*

La colonisation racinaire qui témoigne l'établissement de la symbiose ectomycorhizienne a été évaluée par l'observation de la racine de 5 plantes par traitement et choisies de façon aléatoire. L'observation a été faite sous loupe binoculaire (grossissement x40).

Le taux de mycorhization est le pourcentage des apex racinaires ectomycorhizés par rapport aux nombre total des apex racinaires observés. Un champ d'observation contient au moins 100 apex racinaires.

c- Dépendance mycorhizienne relative (DMR)

La dépendance mycorhizienne relative (DMR) est calculée par la formule [(biomasse des plants inoculés – biomasse des plants non inoculés) x 100 / biomasse des plants inoculés] (Plenchette et al., 1983).

d- Activités enzymatiques des sols rhizosphériques.

- Activité microbienne globale

La méthode décrite par Schnürer et Rosswall (1982) a été utilisée lors de cette étude. Le substrat d'hydrolyse est la Fluorescéine di-acétate ou FDA (sigma F7378), mise en solution dans de l'acétone pure (Concentration finale 1 mg.ml⁻¹).

L'opération consiste à mesurer la quantité de fluorescéine produite pendant 1 heure d'incubation à 30°C par le mélange composé par l'échantillon de sol (1 g) et le substrat (FDA) et en présence d'une solution tampon (potassium phosphate, pH=7,6).

Les réactions ont été arrêtées par ajout d'acétone pure pour une concentration finale du mélange égale à 50 % (v/v), après une heure d'incubation à 30°C sous agitation. Après centrifugation (5mn à 10000 tours/mn), les surnageant ont été respectivement récupérés par filtration sur papier Wattman N°1. La densité optique est lue à 490 nm, et une gamme étalon de fluorescéine de concentration connue a été réalisée dans les mêmes conditions expérimentales. L'activité microbienne globale par type de sol est exprimée en µg de fluorescéine libérée par heure et par gramme de sol (µg de fluorescéine.h⁻¹.g⁻¹de sol).

- Activités des phosphatases des sols :

Il est possible de mesurer l'activité des organismes dans le sol. Pour le cas des microorganismes du sol, les activités enzymatiques (phosphatases, déhydrogénases, uréases) sont liées aux cycles biogéochimiques.

L'activité des phosphomonoestérases à pH 6 (phosphatases "acides") et l'activité des phosphatases alcalines à pH 11 ont été mesurées selon la méthode de Tabatabai (1982). A 1 g de sol (0-2 mm) séché à l'air, on ajoute 1 ml de para-nitrophénylphosphate (15 µg pNP) et 4 ml de solution tampon ("modified universal buffer"). Après agitation, les échantillons sont incubés à 37°C pendant 1 h, puis 1 ml de CaCl₂ 0,5 M et 4 ml de NaOH 0,5 M sont rajoutés à la suspension qui est ensuite filtrée. Du para-nitrophénol pN est libéré. Sa concentration est alors mesurée par colorimétrie à 410 nm. Des échantillons témoins sont conduits de la même façon mais le pNP est introduit juste avant la filtration finale. Les résultats sont exprimés en µg de pN produits par gramme d'échantillon et par heure d'incubation (µg pN g⁻¹ h⁻¹). Toutes les analyses sont le résultat de 3 répétitions.

e- Dénombrement des microorganismes rhizosphériques

Le dénombrement des microorganismes rhizosphériques a été fait par la technique de la suspension-dilution suivi de l'ensemencement sur des milieux appropriés. Cinq grammes de sol séché sont mis dans des flacons de 100 ml stérilisés et 45 ml de la solution de MgSO₄, 7H₂O 0,1M stérilisée y est ajouté. Le mélange est ensuite agité pendant 10min sur un agitateur magnétique puis laissée décanter une à deux minutes : c'est la solution mère. Des dilutions en cascades sont réalisées jusqu'à 10⁻⁷ en ajoutant 9 ml d'eau distillée à 1 ml de suspension de sol. Ensuite 0,1 ml de ce mélange sont étalées dans des boîtes de Pétri contenant un milieu de culture gélosé approprié aux différents microorganismes à dénombrer. Chaque opération est répétée trois fois.

Les microorganismes solubilisant le phosphate ont été dénombrés sur le milieu contenant essentiellement de TCP (Phosphate Tricalcique) alors que les Actinomycètes ont été dénombrés sur le milieu Waksman (Waksman, 1961).

f- Analyses chimiques des sols rhizosphériques et des feuilles de *I.bijuga* après 6 mois de culture.

Les analyses chimiques des sols et des feuilles ont été déterminé selon les techniques classiques.

Pour les feuilles de *Intsia bijuga*, les teneurs en N, P ont été analysées.

Pour les sols rhizosphériques, les teneurs en N, P, K, C et le pH ont été évalués.

Analyses statistiques

Les relations entre les différents paramètres mesurés seront mises en évidence par analyses multivariées (co-inertie) (Dray et *al.*, 2003), et les résultats obtenus seront comparés deux à deux par l'analyse de variance ANOVA en utilisant le logiciel de statistique STATISTICA.

III- Résultats

Croissance de la plante et la teneur en azote et phosphore des feuilles.

Intsia bijuga croit différemment avec les deux types d'inoculum ectomycorhizien. En effet, l'inoculation avec Pis02 a augmenté significativement la biomasse aérienne de *I.bijuga*. Pourtant aucune différence significative n'a été enregistrée entre les biomasses aériennes des plantes témoins et des plantes inoculées avec PisE. De plus la teneur en azote total des feuilles de *I.bijuga* (Figure n°1) a augmenté significativement avec Pis02. La teneur en Phosphore totale dans les feuilles de *I.bijuga* (Figure n°2) est significativement élevée pour l'inoculation avec Pis02 et PisE. L'infection ectomycorhizienne racinaire (Taux de mycorhization) des plantes inoculées que ce soit avec PisE ou

avec Pis 02 sont significativement élevés par rapport au témoin. Aussi, la dépendance mycorhizienne de *I.bijuga* pour Pis02 est supérieure à celle du PisE (Tableau n°1).

Le comptage des bouts de racines mycorhizées a montré que le taux de mycorhization des plantes inoculées avec Pis02 est significativement supérieur à celui des plantes non inoculées. L'inoculation avec PisE n'a montré aucune différence significative par rapport aux plantes inoculées par Pis02 et par rapport aux plantes témoins (Tableau n°1).

Les plantes inoculées avec Pis02 ont une dépendance ectomycorhizienne relative (DMR= 47.97%) supérieure à celle du PisE (Tableau n°1).

Tableau n°1 : Biomasse aérienne et racinaire, taux de mycorhization et dépendance mycorhizienne de *I.bijuga* après 6 mois de culture.

Traitements	BA (en g)	BR (en g)	TM(%)	DMR
TEMOIN	1.81a	0.69a	65.59a	
PisE	1.84a	0.60a	80.16ab	1.12
Pis02	3.49b	0.92a	92.40b	47.97

* : Les Valeurs d'une même colonne suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes d'après le test de Newman Keuls au seuil de probabilité 0,05

BA : biomasse aérienne ; **BR** : biomasse racinaire ; **TM** : taux de mycorhization ; **DMR** : dépendance mycorhizienne relative. **TEMOIN** : *I.bijuga* non inoculée ; **Pis E** : *I.bijuga* inoculée avec PisE ; **Pis02** : *I.bijuga* inoculée avec Pis02.

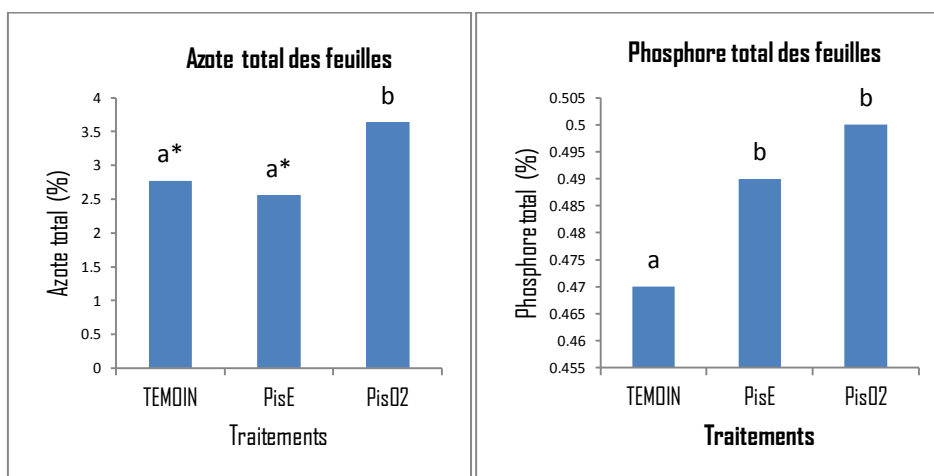


Figure n°1 : Teneur en azote total des feuilles de *I.bijuga* après 6 mois de culture sous serre

Figure n°2 : Teneur en phosphore total des feuilles de *I.bijuga* après 6 mois de culture sous serre

* : Les histogrammes marqués par la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman Keuls au seuil de probabilité 0,05

TEMOIN : *I.bijuga* non inoculée ; **Pis E** : *I.bijuga* inoculée avec PisE ; **Pis02** : *I.bijuga* inoculée avec Pis02.

Les activités enzymatiques

Une augmentation significative de l'activité microbienne globale du sol a été enregistrée après l'inoculation de *I.bijuga* par Pis02. Pourtant aucune différence significative n'a été notée par rapport au sol sous *Casuarina equisetifolia* après collecte CTA0 (t0) (Tableau n°2).

La phosphatase acide des sols a significativement diminuée avec Pis02. Aucune différence significative n'a été trouvée entre la phosphatase acide des sols PisE, témoin et CTA0. Pour la phosphatase alcaline, aucune différence significative n'a été enregistrée entre les différents traitements et le sol CTA0 (t0) (Tableau n°2).

Tableau n°2 : Activité microbienne globale, phosphatase acide et alcaline des sols rhizosphériques après 6 mois de culture de *I.bijuga* sous serre.

Traitements	FDA (μg de fluorescéine.h-1.g-1 de sol).	PAC (μg de p-nitrophénol.g-1.h-1)	PAL (μg de p-nitrophénol.g-1.h-1)
CTA0 (t0)	46.15b	343.33b*	22.69a
TEMOIN	27.64a	231.34b*	72.69a
PisE	25.05a	233.80b	85.95a
Pis02	50.78b	57.46a	19.52a

* : Les Valeurs d'une même colonne suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes d'après le test de Newman Keuls au seuil de probabilité 0,05

FDA : activité microbienne globale ; PAC : phosphatase acide, PAL : phosphatase alcaline.

CTA0 (t0) : sol sous *Casuarina equisetifolia*. TEMOIN : sol sous *I.bijuga* non inoculée ; Pis E : sol sous *I.bijuga* inoculée avec PisE ; Pis02 : sol sous *I.bijuga* inoculée avec Pis02.

Dénombrement des microorganismes rhizosphériques.

Une diminution significative du nombre des microorganismes solubilisant le phosphate tricalcique a été enregistré pour les sols rhizosphériques témoins, PisE et Pis02 par rapport à CTA0 (t0) (Figure n°3). Par contre la culture de *Intsia bijuga* inoculée ou non sur le sol sous *C.equisetifolia* a augmenté significativement les Actinomycètes comparée au sol sous *C.equisetifolia* après collecte CTA0 (t0) (Figure n°4).

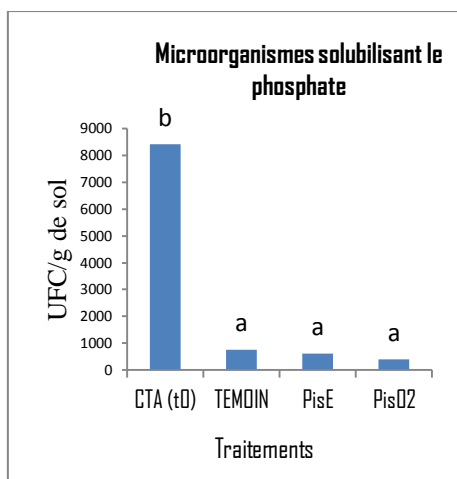


Figure n°3 : Dénombrement des microorganismes solubilisant le phosphate des sols rhizosphériques après 6 mois de culture de *I. bijuga*.

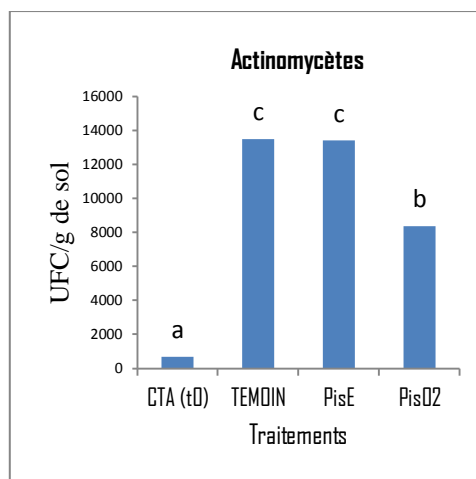


Figure n°4 : Dénombrement des Actinomycètes des sols rhizosphériques après 6 mois de culture de *I. bijuga*.

* : Les histogrammes marqués par la même lettre ne présentent pas de différence significative selon le test de Newman Keuls au seuil de probabilité 0,05

CTA0 (t0) : sol sous *Casuarina equisetifolia*. TEMOIN : sol sous *I.bijuga* non inoculée ; Pis E : sol sous *I.bijuga* inoculée avec PisE ; Pis02 : sol sous *I.bijuga* inoculée avec Pis02.

Analyses chimiques des sols rhizosphériques

L'analyse chimique des sols après culture de *Intsia bijuga* a montré une diminution significative du pH des sols rhizosphériques suivants : témoins, PisE et Pis02 par rapport au sol sous *Casuarina equisetifolia* CTA0 (t0) (Tableau n°3).

Les phosphores assimilables et l'azote total des sols rhizosphériques ont augmentés significativement pour les plantes inoculées avec chaque isolat fongique comparés au P et au N des sols CTA (t0). La teneur en azote total des sols rhizosphériques est inférieure (PisE) ou égale (Pis02) à celle du témoin. Quant au phosphore assimilable, une augmentation significative est enregistrée pour les sols des plantes inoculées par rapport au témoin.

La teneur en carbone total a été significativement élevée pour les sols ou les plantes sont inoculées par Pis02 (Tableau n°3).

Tableau n°3 : Analyses chimiques du sol CTA (t0) et des sols rhizosphériques après 6 mois de culture de *I.bijuga*.

	Ph (eau)	N%	P (ppm)	C%	C/N
CTA0 (t0)	6.34d	0.07a	4.90b	1.49ab*	21.60c
Témoin	5.68c	0.12c	2.75a	1.55b*	13.02a
PisE	5.42b	0.09b	7.33d	1.39a	15.27b
Pis02	5.32a	0.12c	5.33c	1.77c	14.59ab

* : Les Valeurs d'une même colonne suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes d'après le test de Newman Keuls au seuil de probabilité 0,05

CTA0 (t0) : sol sous *Casuarina equisetifolia*. **TEMOIN** : sol sous *I.bijuga* non inoculée ; **Pis E** : sol sous *I.bijuga* inoculée avec PisE ; **Pis02** : sol sous *I.bijuga* inoculée avec Pis02.

IV- Discussion et conclusion

La carence en nutriment essentiel comme l'azote et le phosphore dans le sol de culture a des impacts négatifs sur le développement de la plante. En effet, l'azote et le phosphore sont des éléments très importants pour la physiologie et la croissance de la plante. Nos sols de culture sont constitués par des sols collectés sous l'espèce exotique *C.equisetifolia*. Ce sol est pauvre en azote et en phosphore assimilable. Pour bien se développer dans telle condition et pour acquérir les nutriments essentiels pour sa croissance, chaque type de plante a besoin de développer des mécanismes pour y survivre comme la formation des organes spécialisés pour fixer l'azote atmosphérique ou la formation des racines protéides « cluster root (Malajczuck et Bowen 1974), par la sécrétion des exsudats racinaires (Shane et al. 2008) ou encore par l'association symbiotique avec les microorganismes du sol à savoir les champignons mycorhiziens (Lambers et al. 2008, 2009 ; Richardson et al. 2009).

Le résultat obtenu sur l'inoculation ectomycorhizien de *I.bijuga* avec Pis02 est en accord avec Mousain *et al.*, 1979. Pour cela l'augmentation concomitante des teneurs en phosphore et en azote a été notée dans les parties aériennes des plantes ectomycorhizées. Ces résultats suggèrent que la symbiose ectomycorhizienne a permis à la plante de prélever des quantités plus grandes de ces éléments à partir de la solution du sol. Ce qui en résulte une augmentation significative de la biomasse aérienne de la plante. Bref, l'association mycorhizienne influence le développement des plantes (Borchers et Perry, 1990). L'azote et le phosphore sont véhiculés par les champignons à cause de l'élongation de leurs hyphes qui sont capables d'explorer tous les recoins du sol (Martin et Lorillou, 1997). La capacité des champignons ectomycorhiziens à utiliser l'azote organique confère à la plante une adaptation dans le milieu où elle se trouve. L'augmentation de la biomasse aérienne sèche des plantes ectomycorhizées est attribuée à l'accroissement en azote totale des plantes (Conjeaud, 1996). Certains chercheurs ont trouvé une amélioration de la croissance de conifère *Tsuga heterophylla* par l'inoculation avec 4 souches ectomycorhiziennes. La biomasse aérienne la plus élevée est obtenue avec *Pisolithus tinctorius*. Ils ont aussi trouvé que l'efficacité de l'inoculation d'une souche ectomycorhizienne varie d'une plante à l'autre (Trappe J. et al citée par Trappe J M 1977). La compatibilité physiologique entre le champignon et la plante hôte est très importante pour l'efficacité de la symbiose (Trappe J M 1977).

Nombres d'auteurs ont montré les effets bénéfiques des champignons mycorhiziens sur la nutrition phosphatée de la plante (Hatch, 1937 ; Mousain, 1989 ; Bolan, 1991). Borges de Souza et al. (2008)

ont trouvé qu'après 3 mois d'inoculation par 3 isolats ectomycorhiziens (*Scleroderme sp.*, *Chondrogaster angustiporus* et *Pisolithus microcarpus*) la croissance et la teneur en phosphore de la partie aérienne sont supérieures ou égales aux plants témoins qui ont reçu une fertilisation phosphatée.

Pourtant l'inoculation avec PisE n'augmente pas significativement la biomasse aérienne de *I. bijuga* par rapport au témoin. De plus, la teneur en azote totale dans les feuilles des plantes est significativement diminuée par rapport à celle des plantes témoins. Ce résultat corrobore avec celui trouvé par Colpaert et al (1992). En générale les mycéliums des champignons améliorent le prélèvement de l'azote minéral. Le fait que l'inoculation avec PisE affecte négativement la teneur en azote des feuilles est probablement dû à une compétition pour cet élément entre le développement du mycélium et la plante hôte (Colpaert et al., 1992). Les effets de l'inoculation dépendent de l'espèce fongique. Deux espèces fongiques différentes agissent différemment face à une même plante hôte et la croissance en biomasse des plants inoculés est positivement corrélée à l'accroissement en azote total des plantes (Conjeaud, 1996). L'exploitation de la symbiose ectomycorhizienne afin d'améliorer la nutrition des plantes et de sa croissance nécessite des isolats ectomycorhiziens compatibles et efficaces (Borges de Souza et al., 2008)

Le taux de mycorhization semble aussi avoir un impact positif sur la croissance de *I. bijuga*. En effet, après inoculation avec Pis02, le taux de mycorhization est significativement élevé par rapport aux témoins et parallèlement la biomasse aérienne est significativement élevée par rapport aux restes des traitements. Plusieurs auteurs joignent l'idée que le taux de mycorhization influe directement sur la croissance de la plante (Garbaye, 1990; Thomson et al., 1994; Turjaman et al., 2005). Pourtant, Boukcim et al 2002 n'ont trouvé aucune corrélation entre la stimulation de la croissance des plants et le degré d'infection ectomycorhizienne.

La teneur en azote du sol est améliorée lors du développement de *Intsia bijuga* et entraînant alors la diminution du rapport C/N du sol. Les arbres ont la capacité d'excréter des enzymes protéases par l'exsudation racinaire. Ces enzymes interviennent dans la l'hydrolyse des liaisons peptidiques des protéines contenues dans les débris végétaux et animaux en les transformant en azote organique soluble. Or il se trouve que l'excrétion des protéases par la plante seule est en quantité très faibles. L'association de la plante avec le champignon ectomycorhizien favorise la croissance de la plante (Abuzinadah et Read, 1986). Le partenaire fongique est donc capable de produire et d'excréter une quantité des protéases permettant la mobilisation de l'azote des protéines (Cohen, 1980 ; Nasholm et al., 1998). Ces enzymes protéases agissent sur l'azote protéique libéré par la décomposition des matières organique par les champignons saprophytiques (Plassard et al 1997). Parmi les

champignons ectomycorhiziens qui sont capables de produire beaucoup de protéase figurent l'Amanite rougissante (*Amanita rubescens*) et le Lactaire douceâtre (*Lactarius subdulcis*) (Read, 1991). L'adaptation de certaines essences forestières comme le Bouleau, l'Épicéa et le Pin aux sols organiques (Rowe, 1972) résulte de leurs associations avec des ectomycorhizes à très fortes activités protéasiques (Read, 1991).

De plus, la culture de *I. bijuga* stimule le développement des microorganismes rhizosphériques tels que les Actinomycètes. Ces derniers sont connus pour leur rôle dans la décomposition de la matière organique (Sykes et Skinner, 1973). L'acide organique libéré par la racine de la plante et l'augmentation significative des nombres des Actinomycètes après culture de *I. bijuga* ont favorisé la dégradation de la matière organique, libérant ainsi l'azote.

Le processus de dégradation des matières organiques se déroule lorsque la teneur en azote du sol est adéquate (Briggs, 2004). Ce processus entraîne l'augmentation de l'activité microbienne globale du sol et les actinomycètes interviennent dans la dégradation des matières complexes (Tuomela et al., 1999; Nannipieri et al., 2003). Certains champignons ectomycorhiziens sont capables de dégradés des nutriments et des molécules riches en carbone présentes dans le sol et dans les litières (Talbot et al., 2008). Les champignons ectomycorhiziens et les champignons saprophytes peuvent être responsables de la dégradation de différents fractions et nutriments carbonées dans les matières organiques du sol. Les ectomycorhizes peuvent agir sur les nutriments récalcitrants dans le sol (Read and Perez-Moreno, 2003; Talbot and Treseder, 2010). Une vaste étendue de la phylogénie des ectomycorhizes possèdent la capacité génétique et/ou physiologique à produire des enzymes qui dégrade des polymères riches en azote ou en phénol (Bödeker et al., 2009; Plett and Martin, 2011; Talbot and Treseder, 2010). Pourtant, seul un petit nombre de champignons ectomycorhiziens peuvent produire des enzymes qui dégradent les biopolymères riches en C tels que la cellulose, la pectine et les lipides (Talbot and Treseder, 2010). L'investissement de carbone est élevé pour les associations fongiques bénéfiques que pour les associations fongiques non bénéfiques (Kummel and Salant 2006; Cowden and Peterson 2009; Bever et al. 2009; Kiers et al. 2011; Fellbaum et al. 2012).

Les mycorhizes sont connus pour leur rôle dans l'amélioration de la disponibilité en phosphore assimilable du sol par la libération des enzymes phosphatases (Moussain, 1989). La diminution du pH du sol entraîne la libération des phosphates inorganiques augmentant alors la quantité des phosphores disponibles pour la plante (Riley et Barber, 1971).

La dépendance mycorhizienne de *I. bijuga* est significativement élevée pour l'inoculation avec Pis02. Cela suggère que la croissance de *I. bijuga* dépend plus de cet isolat ectomycorhizien que l'autre (PisE).

En conclusion, l'inoculation ectomycorhizienne est une technique prometteuse et écologiquement saine pour permettre le reboisement des espèces autochtones malgache sur les sols sous espèces exotiques. Cette étude nous a permis de sélectionner un isolat ectomycorhizien capable d'améliorer la croissance de *I.bijuga* sur le sol sous *C.equisetifolia*. L'exploitation de la potentialité des microorganismes du sol tel que les champignons ectomycorhiziens tient en effet une place importante dans la succession végétale.

Références citées :

ABUZINADAH (R.A.), READ (D.J.). —1986. The role of proteins in the nitrogen nutrition of ectomycorrhizal plants. III. Protein utilization by *Betula*, *Picea* and *Pinus* in mycorrhizal association with *Hebeloma crustuliniforme*. *New Phytol.*, vol. 10. pp. 507-514.

BETHLENFALVAY GJ, SCHÜEPP H. (1994). Arbuscular mycorrhizas and agrosystem stability. In Gianinazzi S. Schüepp H (eds): Impact of arbuscular mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems. Birkhauser Verlag; Basel, Switzerland. Pp: 117-137.

BEVER JD, RICHARDSON SC, LAWRENCE BM, HOLMES J, WATSON M (2009) Preferential allocation to beneficial symbiont with spatial structure maintains mycorrhizal mutualism. *Ecol Lett* 12: 13–21

BÖDEKER, I.T.M., NYGREN, C.M.R., TAYLOR, A.F.S., OLSON, Å., LINDAHL, B.D. 2009. ClassII peroxidase-encoding genes are present in a phylogenetically wide range of ectomycorrhizal fungi. *The ISME Journal* 3, 1387-1395.

BOLAN (N.S.). 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil*, vol. 134. pp. 189-207.

BOUKCIM H., CONVENTI S. ET DANIEL MOUSAIN. 2002. Ectomycorhization de *Cedrus atlantica* en conditions contrôlées: efficacité de deux formes d'inoculum mycélien. *Ann For Sci.* 59 : 839-846

BORGES DE SOUZA L.A., BONNASSIS P.A.P., FILHO G.N.S AND LOPES DE OLIVEIRA V. 2008. New isolates of ectomycorrhizal fungi and the growth of eucalypt. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.43, n.2, p.235-241.

BRIGGS R.D. 2004. The Forest Floor. Soil development and properties: 1223-1227 p.

COHEN B.L. Transport and utilization of proteins by fungi. *In* : Microorganisms and nitrogen sources / J.W. Payne Ed. . Chichester (England): John Wiley and Sons Ltd., 1980, pp. 411-430.

COLPAERT (J.), VAN ASSHE (J.A.), LUITJENS (A.K.). 1992. The growth of the extramatrical mycelium of ectomycorrhizal fungi and the growth response of *Pinus sylvestris* L. *New Phytol.*, vol. 120. pp. 127-135.

CONJEAUD (C.). Étude de l'influence de l'ectomycorhization sur l'utilisation du carbone par le Pin maritime (*Pinus pinaster*). Interactions avec les nutriments phosphatés et azotés. Montpellier : Université de Montpellier II, 1996. 351 p. (Thèse de Doctorat).

COWDEN CC, PETERSON CJ . 2009. A multi-mutualist simulation: applying biological market models to diverse mycorrhizal communities. *Ecol Model* 220:1522–1533

DAVIS P.JANOS 1980.Mycorrhizae Influence Tropical Succession. *Biotropica*, Vol. 12, No2, supplement : Tropical Succession (Jun., 1980), 56-64.

- DICK, W. A. & TABATABAI, M. A. 1992. Significance and potential uses of soil enzymes. In: Blain, F. J., (Ed.), *Soil Microbial Ecology Application in Agricultural and Environmental Management*, Marcel Dekker, New York, pp. 95-127.
- DRAY S, CHESSEL D, THIOULOUSE J. 2003. Co-inertia analysis and the linking of ecological tables. *Ecology* 84: 3078-3089
- EIVAZI, F., TABATABAI, M.A., 1977. Phosphatases in soils. *Soil Biol. Biochem.* 9, 167–172.
- FELLBAUM CR, GACHOMO EW, BEESETTY Y, CHOUDHARI S, STRAHAN GD, PFEFFER PE, KIERS ET, BÜCKING H. 2012. Carbon availability triggers fungal nitrogen uptake and transport in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:2666–2671
- GARBAYE, J. Utilisation des mycorhizes en sylviculture. In:STRULLU, D.G. (Ed.). *Les mycorhizes des arbres et plantes cultivées*. Paris: Lavoisier, 1990. p.197-250.
- GENTILI F., JUMPPONEN A. 2006. Potential and possible uses of bacterial and fungal biofertilizers. In: Rai MK (ed) *Handbook of Microbial Biofertilizers*. Food Products Press. Pp 1-28.
- HATCH A.B. 1937. The physical basis of mycotrophy in the genus *Pinus*. — *Black Rock For. Bull.*, vol. 6: 1-168.
- HOFMANN, E. & SEEGERER, A. 1951. Soil enzymes as factors of fertility. *Naturwissenschaften*, 38: 141-142.
- JOHANSSON JF., PAUL L.R., FINLAY RD. 2004. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiol Ecol* 48: 1-43.
- MALAJCZUK, N., BOWEN, G. 1974. Proteoid roots are microbial induced. *Nature (London)*. 251: 316-317.
- MARTIN, F., LORILLOU. 1997. Nitrogen acquisition and assimilation in ectomycorrhizal systems. In: *Trees-contributions to modern tree physiology* (ed. H. RENNENBERG, ESCHRICH, W. & ZIEGLER, H.) *SPB Academic Publ.*, La Haye, Pays-Bas, p. 423-439.
- KIERS E.T, DUHAMEL M, BEESETTY Y, MENSAH JA, FRANKEN O, VERBRUGGEN E, FELLBAUM CR, KOWALCHUK GA, HART MM, BAGO A, PALMER TM, WESTA, VANDENKOORNHUYSE P, JANSJA J, BÜCKINGH. 2011. Reciprocal rewards stabilize cooperation in the mycorrhizal symbiosis. *Science* 333:880–882
- KUMMEL M, Salant SW. 2006. The economics of mutualisms: optimal utilization of mycorrhizal mutualistic partners by plants. *Ecology* 87:892–902
- LAMBERS H, RAVEN JA, SHAVER GR, SMITH SE. 2008. Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. *Trends in Ecology and Evolution* 23:95-103
- LAMBERS H, MOUGEL C, JAILLARD B, HINSINGER P (2009) Plant–microbe–soil interactions in the rhizosphere: an evolutionary perspective. *Plant and Soil* 321:33 p
- MOUSAIN D., POITOU (N.), DELMAS (J.). — La Symbiose mycorrhizienne : résultats obtenus avec l'*Hebeloma cylindrosporum* et le *Pisolithus tinctorius*, et perspectives d'application agronomique. In : *Mushroom Science X (Part I)*, Proceedings of the 10th International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi (France, juin 1978) / J. Delmas Ed. — Bourges : Tardy Quercy SA., 1979. — pp. 949-956.
- MOUSAIN D. 1989. Étude de la nutrition phosphatée de symbiotes ectomycorhiziens. Montpellier : Université des Sciences et Techniques du Languedoc (Thèse de Doctorat d'État en Sciences).
- NANNIPIERI P., ASCHER J., CECCERINI M.T., LANDI L., PIETRAMELLARA, RENELLA G. 2003. Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science*: 54, 655–670.
- NASHOLM, T., EKBLAD, A., NORDIN, A., GIEHLER, R., HOGBERG, M., HOGBERG, P. 1998. Boreal forest plants take up organic nitrogen. *Nature* 392: 914-916.

- PARROTTA JA. 1993. Secondary forest regeneration on degraded tropical lands. The role of plantations as “foster ecosystems”. Restoration of Tropical Forest Ecosystems (Leith H & Lohmann M, eds), pp. 63–73. Kluwer Academic Publishers.
- PLASSARD C., CHALOT M., BOTTON B., MARTIN F. 1997. Le rôle des ectomycorhizes dans la nutrition azote des arbres forestiers. Rev. For. Fr. XLIX - n° sp.
- PLENCHETTE C., FORTIN J. FURLAN V. 1983. Growth responses of plant to mycorrhizae in soil of moderate fertility. Mycorrhizal dependency under field conditions. *Plant and soil* 70: 199-209.
- PLETT, J.M., MARTIN, F., 2011. Blurred boundaries: lifestyle lessons from ectomycorrhizal fungal genomes. Trends in Genetics 27, 14-22.
- RATAHIRIARISOA D, RAKOTOARIMANGA N.C., KHASA D.P., RAHERIMANDIMBY M. 2013. Le développement de *Casuarina equisetifolia* sur un sol forestier modifié négativement le biofonctionnement du sol. Colloque régional sur « les espèces exotiques envahissantes des îles de l’océan Indien »
- READ D.J. 1991. Mycorrhizas in ecosystems. *Experientia*, vol. 47: 376-390.
- READ, D.J., Perez-Moreno, J. 2003. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems a journey toward relevance? *New Phytologist* 157, 475-492.
- RICHARDSON AE, BAREA J-M, MCNEILL AM, PRIGENT-COMBARET C. 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and Soil* 321:305–339
- RILEY D and BARBER S.A. 1971. Effect of ammonium and nitrate fertilization on phosphorus uptake as related to root-induced pH changes at the root-soil interface. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 35, 301–306.
- ROWE (J.S.). 1972. Forest regions of Canada. — Ottawa : Canadian Forestry Service Publication, n° 1300
- SHANE MW, CRAMER MD, LAMBERS H. 2008. Root of edaphically controlled Proteaceae turnover on the Agulhas Plain, South Africa: phosphate uptake regulation and growth. *Plant, Cell and Environment* 31:1825-1833
- SCHINNER F, ÖHLINGER R, KANDELER E, MARGESIN R. 1995. *Methods in Soil Biology*, Springer Lab Manual. Springer, Berlin. 426 pp.
- SCHNÜRER J, ROSSWALL T. 1982. Fluorescein diacétate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Applied and Environmental Microbiology* 6 : 1256–1261.
- SYKES, G. AND SKINNER, F.A. 1973. *Actinomycetales: Characteristics and Practical Importance*. Academic Press. London and New York. 339 pp.
- TABATABAI, M.A. 1982. Soil enzymes. in *Methods of Soil Analysis*. Part 2. (A. L. Page, R. H. Miller and D. R. Keeney, eds.). *Agronomy* 9: 903-947.
- TALBOT, J.M., ALLISON, S.D., TRESEDER, K.K., 2008. Decomposers in disguise: mycorrhizal fungi as regulators of soil C dynamics in ecosystems under global change. *Functional Ecology* 22, 955-963.
- TALBOT, J., TRESEDER, K., 2010. Controls over mycorrhizal uptake of organic nitrogen. *Pedobiologia* 53, 169-179.
- THOMSON, B.D.; GROVE, T.S.; MALAJCZUK, N.; HARDY, G.E. St.J. 1994. The effectiveness of ectomycorrhizal fungi in increasing the growth of *Eucalyptus globulus* Labill. in relation to root colonisation and hyphal development in soil. *New Phytologist*, v.126, p.517-524,
- TRAPPE J.M. 1977. Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. *Ann. Rev. Phytopathol* 15:203-222.
- TUOMELA M., VIKMAN M., HATAKKA A., ITAVAARA M. 2000. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Bioresource Technology* 72: 169-183

TURJAMAN, M.; TAMAI, Y.; SEGAH, H.; LIMIN, S.H.; CHA,J.Y.; OSAKI, M.; TAWARAYA, K. Inoculation with the ectomycorrhizal fungi *Pisolithus arhizus* and *Scleroderma* sp. improves early growth of *Shorea pinanga* nursery seedlings. *New Forests*, v.30, p.67-73, 2005.

WALDROP, M. P., T. C. BALSER, AND M. K. FIRESTONE. 2000. Linking microbial community composition to function in a tropical soil. *Soil Biology and Biochemistry* 32:1837- 1846.

REMERCIEMENT :

Nous tenons à remercier vivement le Projet FSP-PARRUR-SCAC d'avoir soutenu et financé une partie de ce travail de Doctorat dont la réalisation s'avère difficile sans votre aide.

Notre remerciement s'adresse aussi à Madame le Directeur du Centre National de Recherche sur l'Environnement (CNRE) Antananarivo de nous avoir accueilli dans son Laboratoire.

Un grand remerciement à Professeur Marson RAHERIMANDIMBY, Professeur KHASA D.P., Docteur RAMANAKIERANA H. et Docteur RAKOTOARIMANGA N.C. pour ces aides et conseils durant la réalisation de ce projet.

Nous vous sommes très reconnaissantes.

REMARQUE : Une partie de ce projet a été acceptée pour une communication orale dont nous joignons ici la lettre d'acceptance.