

Efficacité de l'inoculum mycorhizien arbusculaire issu de différentes méthodes de conditionnement

Effectiveness of arbuscular mycorrhizal inocula from different methods of conditioning

Seck M. F.¹, Ndiaye F.^{1*}, Ndiaye M.A.F.¹, Ndiaye M.¹, Leye E. M.¹, Diop T.A.^{1,2}

Résumé

Les champignons mycorhiziens arbusculaires vivent en symbiose avec toutes les plantes d'importance économique considérable. Ils conditionnent le développement de ces plantes même dans des situations écologiques difficiles. Cependant, leur statut de biotrophes obligatoires limite les entreprises de production d'inoculum à grande échelle.

L'objectif de cette étude est d'une part de mettre au point des méthodes de préservation de différentes propagules de champignons mycorhiziens arbusculaires et d'autre part d'évaluer leur efficacité en conditions naturelles sur la croissance, la nutrition et la mycorhization d'*Acacia nilotica*.

La viabilité des propagules n'est pas altérée par les températures testées (-20°C, 4°C, 25°C, 35°C, 45°C) et le mode de conditionnement (enrobage, ou non) après deux mois en chambre de culture. En moyenne plus de 80% des propagules sont viables après le test au colorant vital pendant 48 heures. Les paramètres de rendement (poids sec et croissance en hauteur), de nutrition (N, P, K) et de mycorhization (Fréquence) d'*Acacia nilotica* sont tous positivement stimulés après trois mois de culture en serre. La réactivité des propagules varie en grande partie selon l'isolat fongique, le type de conditionnement et la température de conservation. Cependant, l'enrobage des fragments mycorhiziens s'est révélé être plus efficace pour le développement des plantes d'*Acacia nilotica* dans nos conditions expérimentales.

Les résultats sont discutés dans une perspective d'utilisation raisonnée de la technologie de l'inoculum dans les itinéraires techniques agricoles.

Mots clés :

inoculum, conditionnement, *Acacia nilotica*, enrobage, température

Abstract

Arbuscular mycorrhizal (AM) fungi form symbiotic associations with all plants of considerable economic importance. They regulate the development of these plants even in difficult ecological situations. However, their obligate biotrophic status limits large scale of inoculum production. The objective of this study is first to determine methods of conservation of different AM fungal propagules and to estimate their efficiency on the growth, the nutrition and the mycorrhization of *Acacia nilotica* plants under natural conditions.

The viability of AM propagules is not altered by the tested temperatures (20°C, 4°C, 25°C, 35°C, 45°C) and the mode of conditioning after two months in growing chamber. On average more than 80 % of propagules are viable after the test with a vital stain during 48 hours.

The parameters of yield (dry weight and growth), of mineral nutrition (N, P, K) and of mycorrhization (frequency) of *Acacia nilotica* are positively stimulated after three months of culture in greenhouse. The reactivity of AM propagules depends largely to fungal isolate, to the type of conditioning and the temperature of conservation. However, encapsulation of mycorrhizal fragments was more effective for the development of *Acacia nilotica* plants in our experimental conditions. The results are discussed in a perspective of reasonable integration AM inoculum in agriculture.

Key words:

inoculum, conditioning, *Acacia nilotica*, encapsulation, temperature

¹ Laboratoire de Biotechnologie des Champignons, Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop, BP 5005, Dakar, Sénégal., Correspondant :: fatimatandiyaye@yahoo.fr.

² Laboratoire Commun de Microbiologie des Sols IRD/UCAD/ISRA ; Centre de recherche de Bel-Air, BP 1386, CP 18524, Dakar, Sénégal.

1. Introduction

Les mycorhizes arbusculaires sont des associations entre les racines des plantes supérieures et certains champignons zygomycètes. Cette symbiose permet à la plante d'améliorer considérablement sa nutrition hydrominérale et au partenaire fongique de profiter des assimilats photosynthétiques pour accomplir son cycle de développement (Strullu *et al.*, [1]). Le caractère de symbiote obligatoire des champignons arbusculaires leur confère un large spectre d'hôtes et ceci dans des sites écologiques aussi contrastés que les zones humides et désertiques.

Les spores de certains de ces champignons ont une période de dormance qui peut s'étendre de quelques semaines à plusieurs mois selon l'espèce ou le mode de conservation (Tommerup, [3]). Il a été montré une bonne viabilité et un bon potentiel germinatif de propagules mycorhiziennes arbusculaires après près de 30 ans de conservation dans des sols secs maintenus à une certaine température (Young, [4]). La température influence la mycorhization par effet direct sur la sporulation. Selon l'espèce, la température optimale de sporulation peut coïncider ou différer avec la température optimale d'infection racinaire (Schenk et Smith, [5]). Douds et Schenck, [6], ont montré que les meilleures méthodes de conservation de l'inoculum sont avérées être le séchage du sol dans des pots de culture. En 1991, ces mêmes auteurs ont montré que les spores de quelques champignons dont *Gigaspora margarita*, *Glomus mosseae*, *Glomus intraradices* et *Acaulospora longula* ont différentes réponses à la durée de conservation ; ce qui reflète la complexité des problèmes de conservation des champignons mycorhiziens dans le sol. Draft *et al.*, [7] ont obtenu un plus grand potentiel infectieux de propagules de *Glomus clarum* après leur conservation en milieu humide qu'au niveau d'un sol sec. La viabilité du champignon dépend essentiellement des conditions de

conservation qui peuvent varier en fonction de la souche fongique.

Pour une meilleure exploitation des potentialités agrophysiologiques des champignons mycorhiziens arbusculaires, les conditions de conservation des inocula doivent être sérieusement étudiées. A notre connaissance, il n'existe pas de technique standardisée pour la conservation des champignons mycorhiziens. Des conditions de conservation appropriées sont essentielles pour de grandes collections de culture afin de pérenniser le germoplasme. Diverses méthodes ont été développées pour la préservation à long terme des champignons mycorhiziens arbusculaires comme le stockage à sec, la lyophilisation, la cryopréservation. Mais les investigations ont impliqué différentes espèces et conditions de sorte qu'il soit difficile de normaliser un procédé.

L'efficacité du champignon mycorhizien arbusculaire varie suivant les conditions climatiques et les caractères pédologiques des sites écologiques. D'autres facteurs abiotiques comme la température, l'humidité, le pH du substrat sont déterminants sur l'efficacité de l'inoculum (Diop [2]). Les propagules fongiques des champignons mycorhiziens arbusculaires existent en tant que mycélium ou spores libres dans le sol, ou en tant que colonies mycéliennes dans des racines, et chacune de ces formes offre des possibilités intéressantes de lancer une infection (Strullu *et al.*, [1]).

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité de champignons mycorhiziens arbusculaires issus de différentes méthodes de conditionnement. Les résultats sont discutés en tenant en compte de l'importance d'utilisation raisonnée de la technologie de l'inoculum en agriculture durable.

2. Matériels et Méthodes

2.1. Matériel végétal

Les graines d'*Acacia nilotica* var *adansoni* ont été fournies par le Projet National de Semences forestières (PRONASEF). Elles ont été préalablement scarifiées à l'acide sulfurique concentré pendant 1h 30 mn et prégermées dans de l'eau gélosée (0.8 %). Au bout de 48 h, les plants ayant prégermé ont été transplantés dans des gaines contenant 1 kg de sable stérilisé du Jardin Botanique du Département de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar. La teneur en phosphore biodisponible de ce substrat est de 2.1 ppm.

2.2. Matériel fongique

Le matériel fongique est constitué de trois souches de champignons mycorhiziens arbusculaires (*Glomus aggregatum* (Schenke & Smith emend. Koske) (DAOM 227 128),

Glomus mosseae (T.H. Nicholson & Gerd. Gerd & Trappe) (DAOM 227 131), *Glomus intraradices* (Schenk & Smith) (DAOM 197 198). Ces isolats appartiennent à la collection du Laboratoire de Biotechnologies des Champignons du Département de Biologie Végétale de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

L'inoculum des différentes souches fongiques utilisées a été obtenu par multiplication en serre dans des pots en plastiques de capacité 1.5 kg. La plante ayant servi de plante piège est le maïs (*Zea mays* L.). Le substrat de culture est constitué de sable grossier de plage pauvre en phosphore assimilable (Diop *et al.*, [8]), préalablement lavé à l'eau courante et stérilisé à 120°C pendant 2 h.

Les plants sont régulièrement maintenus à la capacité au champ et reçoivent tous les 15 jours 100 ml de solution nutritive de Long Ashton. Après trois mois de culture, l'état de mycorhization des racines du maïs est aussitôt vérifié sous la loupe binoculaire par observations non destructives au

grossissement 40 x. Le substrat de culture et la partie racinaire du maïs infectée par la souche appropriée sont minutieusement récoltés et conservés à 4°C jusqu'à leur utilisation.

2.3. Conditionnement

Différentes méthodes de conditionnement des propagules mycorhiziennes arbusculaires isolées ou enrobées (spores ou fragments racinaires mycorhizés) ont été testées dans cette étude.

Le substrat est constitué de son de riz enrobé ou non avec de la gomme arabique. Pour l'enrobage, 60 g de gomme arabique en poudre ont été dissous dans 100 ml d'eau distillée chauffée à 90°C.

Pour chaque souche de *Glomus* sp testée, le conditionnement est réalisé sous les températures suivantes : 0°C, 4°C, 25°C, 35°C et 45°C.

Sous la loupe, les propagules mycorhiziennes sont récupérées et déposées à l'aide d'une micropipette dans le substrat contenu dans des boîtes de Pétri en raison de 20 pour les spores et 3 pour les fragments racinaires mycorhizés. L'unité expérimentale est constituée d'une boîte de Petri (diamètre 90 mm) contenant 5 inocula.

Les boîtes de Petri sont ensuite conservées à la température requise pour une durée de deux mois.

2.4. Test de viabilité

La viabilité des propagules est évaluée après 2 mois de conditionnement et de conservation en utilisant le colorant vital MTT (An et Hendrix [9]; Azcon-Aguilar et Barea [10]).

Le colorant est imbibé à l'aide d'une pipette sur toutes les propagules. Celles-ci sont ensuite conservées à l'obscurité pendant 48h avant l'estimation de la viabilité. La couleur jaunâtre du MTT vire au bleu en cas de réactions positives.

2.5. Dispositif expérimental

L'inoculation a été effectuée au moment de la transplantation en serre. Le dispositif expérimental utilisé est de type factoriel faisant intervenir 2 facteurs que sont : la température et les propagules. Les plantes sont disposées dans un système totalement randomisé avec 4 répétitions par traitement. Elles sont maintenues en culture pendant 3 mois. L'abri est éclairé par la lumière du jour avec une photopériode approximative de 12h et une température de $30 \pm 2^\circ\text{C}$. Les plants sont régulièrement arrosés à l'eau de robinet et maintenues à la capacité au champ.

2.6. Paramètres mesurés

La croissance régulière des plants a été suivie tous les 15 jours pendant 3 mois. A la récolte, la biomasse aérienne a été séchée pendant 72 h à l'étuve à 75°C afin de déterminer le poids sec aérien.

Pour estimer l'infection mycorhizienne arbusculaire, des prélèvements de racines sont effectués. Les racines séparées de leur partie aérienne sont soigneusement rincées à l'eau de robinet pour éliminer les particules adhérentes de sable. Elles sont ensuite éclaircies au KOH 10% et colorées au bleu Trypan (0,05%) selon la méthode de Philips et Haymans [11]).

Le taux de mycorhization est par la suite évalué par la méthode de Gridline intersect method (Giovannetti and Mosse [12]).

Pour la nutrition minérale, l'azote total a été dosé selon la méthode de Kjeldahl, le phosphore selon la méthode au métavanadate et molybdate d'ammonium (Jakson) et le potassium par photométrie au niveau du laboratoire d'analyses des sols de la Compagnie Sucrière Sénégalaise (C.S.S.), Richard Toll, Sénégal.

2.7. Analyses Statistiques

Le test de Newmann-Keuls a permis de comparer les moyennes des variables mesurées au seuil de probabilité de 5 %.

Les données en pourcentage ont été transformées en logarithmes avant l'analyse de variance.

3. Résultats

3.1. Impact des différentes souches de champignons mycorhiziens arbusculaires sur le poids de matière sèche de la partie aérienne des plants d'*Acacia nilotica*

Les figures 1, 2 et 3 montrent l'influence des modes de conditionnement et de conservation des différentes souches sur le poids de matière sèche de la partie aérienne des plantes d'*Acacia nilotica* après 3 mois de culture.

Impact de *Glomus aggregatum*

A -20°C la meilleure production de biomasse est observée chez les plantes inoculées avec les fragments racinaires mycorhizés non enrobés alors que les plantes les moins développées ont été observées lorsque l'inoculum est constitué de spores non enrobées. A 4°C , les poids secs les plus importants ont été retrouvés avec l'inoculation par les spores enrobées et les fragments non enrobés. A 25, 35 et 45°C , l'inoculation par les fragments enrobés et les spores seules induit les poids secs les plus importants.

Impact de *Glomus intraradices*

Avec cette souche, à toutes les températures l'enrobage des propagules entraîne les meilleures productions de matière sèche. Des poids secs pouvant atteindre 1g sont observés après 3 mois de culture.

Impact de *Glomus mosseae*

A -20 et 4°C , les poids secs les plus importants sont obtenus avec les plantes inoculées par les fragments mycorhiziens enrobés ou non.

A la température ambiante, il n'y a pas de différence significative liée aux modes de conditionnement entre les poids secs des plantes.

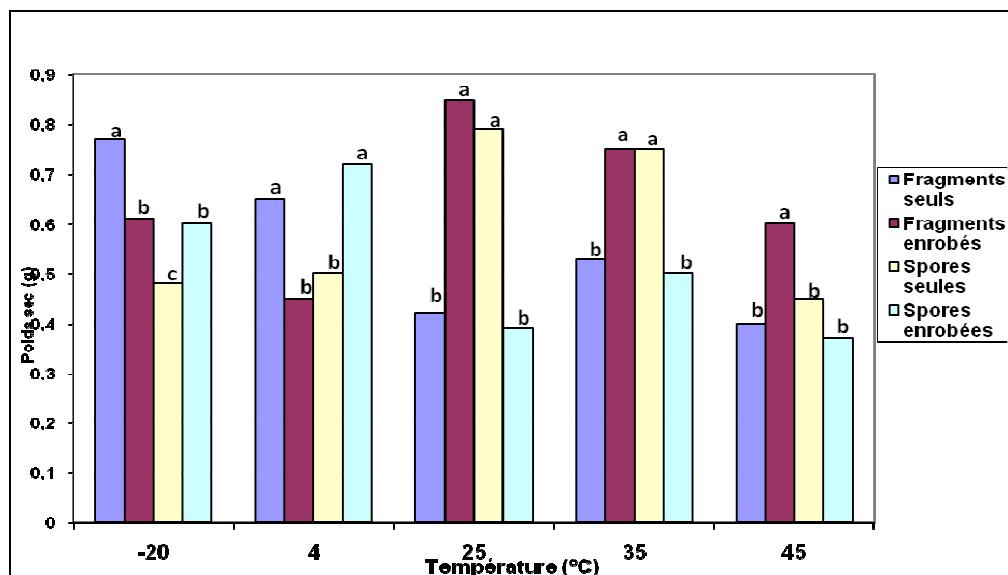


Figure 1 : Impact des modes de conditionnement et de conservation de *Glomus aggregatum* sur le poids sec aérien d'Acacia nilotica

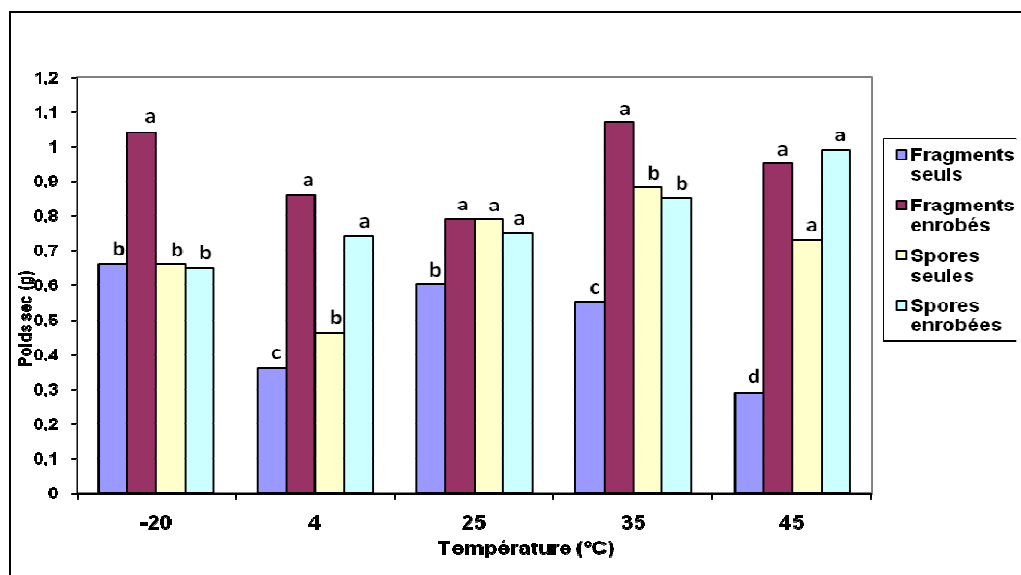


Figure 2: Impact des modes de conditionnement et de conservation de *Glomus intraradices* sur le poids sec aérien d'Acacia nilotica

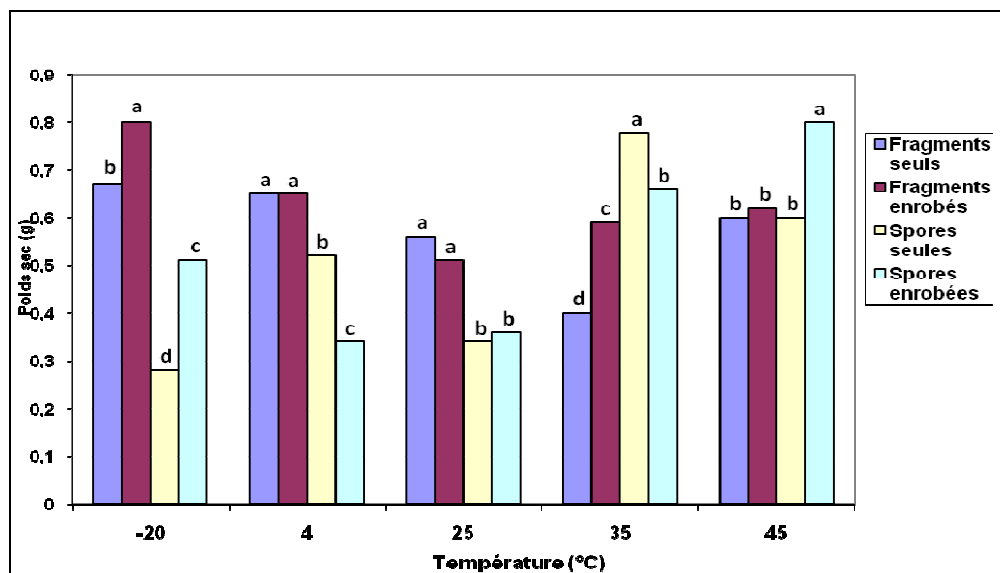


Figure 3 : Impact des modes de conditionnement et de conservation de *Glomus mosseae* sur le poids sec aérien d'*Acacia nilotica*

A 35°C, les spores seules induisent les poids secs les plus importants.

A 45°C, les effets de l'inoculation induits par les fragments enrobés ou non et les spores seules sur la production de matières sèches sont identiques.

3.2. Effet des différentes souches de champignons mycorhiziens arbusculaires sur la croissance en hauteur des plants d'*Acacia nilotica*

Les figures 4, 5 et 6 représentent les effets des différentes souches sur la croissance en hauteur des plants d'*Acacia nilotica* après 3 mois de culture.

Effet de *Glomus aggregatum*

Avec cette souche, à -20 et 4°C les plantes croissent de manière similaire quel que soit le mode de conditionnement avec une taille moyenne 26 cm.

A 25°C, les spores seules induisent une croissance beaucoup plus importante avec des tailles de plantes atteignant 35 cm. A 35°C, la croissance la plus faible est induite par l'inoculation avec les fragments mycorhizés non enrobés. A 45°C, il n'y a pas de différence significative dans la

croissance des plantes quelle que soit la propagule.

Effet de *Glomus intraradices*

La croissance en hauteur la plus importante à -20°C est obtenue avec les plantes inoculées par les fragments enrobés et les spores seules.

A 4, 25 et 45°C il n'y a aucune différence significative de l'effet de l'inoculation induite par les fragments enrobés et les spores (enrobées ou seules) sur la croissance en hauteur des plantes d'*Acacia nilotica*. Aux températures (4, 25, 35 et 45°C), les plus faibles tailles sont obtenues avec les plantes inoculées par les fragments mycorhizés non enrobés avec une taille moyenne inférieure à 25 cm.

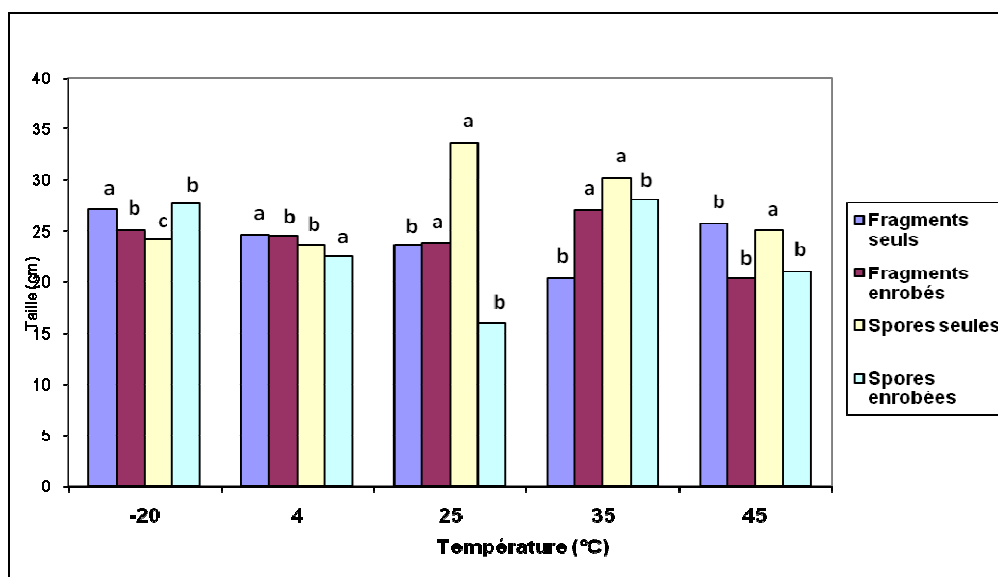


Figure 4 : Impact des modes de conditionnement et de conservation de *Glomus aggregatum* sur croissance en hauteur d'*Acacia nilotica*

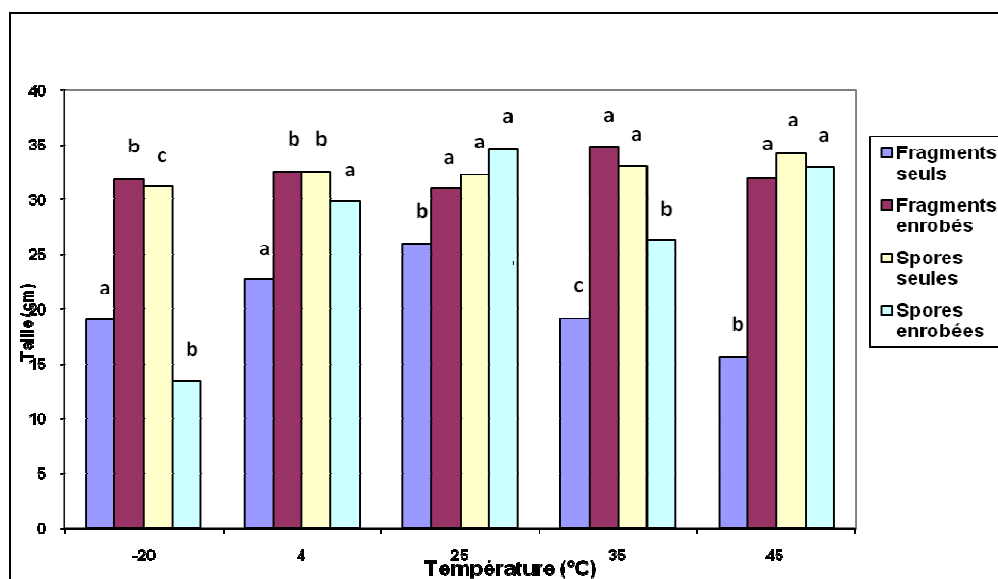


Figure 5 : Impact des modes de conditionnement et de conservation de *Glomus intraradices* sur la croissance en hauteur d'*Acacia nilotica*

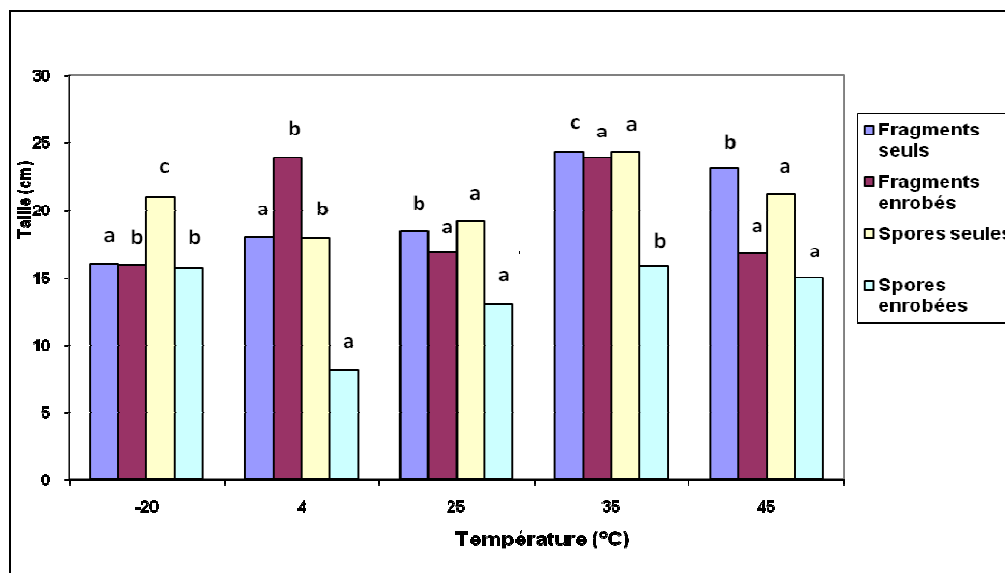


Figure 6 : Impact des modes de conditionnement et de conservation de *Glomus mosseae* sur la croissance en hauteur d'*Acacia nilotica*

Effet de *Glomus mosseae*

Aux basses températures de conservation (-20°C), la plus grande taille est obtenue avec les plantes inoculées par les spores seules, les autres propagules induisent une croissance similaire avec une taille moyenne de 16 cm. A 4, 25, 35 et 45°C, les tailles les plus faibles sont observées avec les plantes inoculées par les spores enrobées contrairement aux plantes inoculées par les autres propagules qui induisent une croissance relativement importante avec des tailles pouvant atteindre 25 cm.

3.3. Effets du mode de conditionnement et de conservation sur la viabilité des propagules mycorhiziennes

L'utilisation du colorant vital MTT a révélé une grande viabilité des propagules. En moyenne plus de 80% des propagules sont viables après 2 mois de conditionnement et de conservation. Cette viabilité est attestée par l'observation facile de la grande densité des gouttelettes lipidiques et de la coloration bleue des propagules après 48h d'incubation.

Le tableau 1 montre l'influence des modes de conditionnement et de conservation des

souches utilisées sur la mycorhization des racines d'*Acacia nilotica*.

3.4. Effets des différentes souches sur la mycorhization d'*Acacia nilotica*

Mycorhization des racines d'*Acacia nilotica* par *Glomus aggregatum* en fonction des modes de conditionnement et de conservation

Quelle que soit la température de conservation, l'enrobage des fragments mycorhiziens induit la meilleure infection d'*Acacia nilotica* (Tableau 1).

Aux températures de conservation (-20°C, 4°C, 25°C et 45°C), toutes les autres propagules ont des influences similaires sur la mycorhization ; ce qui n'est pas le cas à 35°C.

Mycorhization des racines d'*Acacia nilotica* par *Glomus intraradices* en fonction des modes de conditionnement et de conservation

Entre -20°C et 35°C, le mode de conditionnement entraîne une colonisation racinaire similaire avec une nette prédominance des fragments enrobés suivie des autres propagules.

a. Influence des souches sur la teneur en**Tableau 1 :** Influences des modes de conditionnement et de conservation sur la colonisation des racines d'*Acacia nilotica* infectées par les différentes souches testées après 3 mois de culture

Température de conservation	-20°C	4°C	25°C	35°C	45°C
<i>Glomus aggregatum</i>					
Fragments seuls	22 b	23 b	24 b	24 c	25 ab
Fragments enrobés	49 a	31 a	32 a	35 a	28 a
Spores seules	27 b	27 ab	25b	31 b	25 ab
Spores enrobées	24 b	21 b	21 b	22 c	20 b
<i>Glomus intraradices</i>					
Fragments seuls	26 b	30 b	29 b	35 b	35 b
Fragments enrobés	39 a	36 a	43 a	41 a	36 b
Spores seules	26 b	29 b	29 b	33 b	35 b
Spores enrobées	28 b	32 b	34 b	33 b	40 a
<i>Glomus mosseae</i>					
Fragments seuls	33 a	21 a	23 a	21 a	21 a
Fragments enrobés	32 a	22 a	21 a	22 a	21 a
Spores seules	32 a	20 a	19 a	20 a	18 a
Spores enrobées	19 b	19 a	18 a	16 b	19 a

Pour chaque souche fongique et pour chaque colonne, les valeurs suivies par les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de probabilité P<0.05 (Test de Newman-Keuls).

Par ailleurs, à 45°C, ce sont les spores enrobées qui induisent une stimulation plus significative de la mycorhization.

Mycorhization des racines d'*Acacia nilotica* par *Glomus mosseae* en fonction des modes de conditionnement et de conservation

A 4°C, 25°C, et 45°C, on ne note aucune différence significative sur la colonisation racinaire d'*Acacia nilotica* quel que soit le mode de conditionnement. Cependant, aux températures de -20°C et 35°C, l'enrobage des spores est moins favorable à l'établissement de la symbiose.

3.5. Influence des différentes souches sur la nutrition minérale des plants d'*Acacia nilotica*

azote des plantes d'*Acacia nilotica*

Le tableau 2 indique les effets des différentes souches sur la nutrition azotée des plants d'*Acacia nilotica* en fonction des modes de conditionnement et de conservation.

Influence de *Glomus aggregatum*

A -20°C, ce sont les fragments seuls qui améliorent le plus la nutrition azotée avec des teneurs de plus de 26 mg. A 4°C, à l'exception des fragments enrobés, toutes les autres propagules de *Glomus aggregatum* stimulent sensiblement la nutrition azotée avec des teneurs de plus de 20 mg. Aux températures de conservation (25, 35, et 45°C), les fragments enrobés et les spores seules stimulent de manière similaire la nutrition azotée.

Tableau 2 : Teneur en Azote (mg) des plantes d'Acacia nilotica en fonction de la température de conservation et du mode de conditionnement

Température de conservation	-20°C	4°C	25°C	35°C	45°C
<i>Glomus aggregatum</i>					
Fragments seuls	26.95 a	22.75 ab	14.70b	21.35b	21.00a
Fragments enrobés	21.35b	8.75c	29.75a	26.25a	15.40b
Spores seules	16.80 c	20.30b	27.65a	26.25a	15.75b
Spores enrobées	21.00b	25.20a	13.65b	17.50c	12.95c
<i>Glomus intraradices</i>					
Fragments seuls	23.10b	12.60d	21.00b	19.25c	10.15 c
Fragments enrobés	36.40a	30.10a	27.65a	37.45a	31.50 a
Spores seules	23.10b	16.10c	27.65a	37.45a	25.55 b
Spores enrobées	17.15c	25.90b	26.25a	29.75b	34.65a
<i>Glomus mosseae</i>					
Fragments seuls	23.45b	22.75a	19.60a	14.00c	21.00b
Fragments enrobés	28 a	22.75a	17.85a	20.65b	30.80a
Spores seules	9.8d	21.35a	15.75a	27.30a	21.00
Spores enrobées	17.85c	11.90b	12.60b	23.10b	28.00a
Pour chaque souche fongique et pour chaque colonne, les valeurs suivies par les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de probabilité P<0.05 (Test de Newman-Keuls).					

Influence de *Glomus intraradices*

A toutes les températures, les fragments enrobés induisent des teneurs plus importantes en azote. Les spores seules et les spores enrobées respectivement à -20 et 4°C entraînent les teneurs les plus faibles avec des valeurs inférieures à 20 mg.

Influence de *Glomus mosseae*

Comme pour *Glomus intraradices*, l'enrobage des fragments mycorhiziens stimule le plus la nutrition azotée à toutes les températures de conservation à l'exception de 35°C.

Influence des souches sur la teneur en phosphore des plants d'*Acacia nilotica*

Le tableau 3 représente les effets des différentes souches issues de différents modes de conditionnement et de conservation sur la nutrition phosphatée des plants d'*Acacia nilotica*.

Influence de *Glomus aggregatum*

C'est aux températures de conservation de 25 et 35°C qu'on enregistre les teneurs en phosphore les plus élevées avec l'enrobage des fragments mycorhiziens. Par contre, à 4°C, l'enrobage de ces derniers est la moins favorable à la nutrition phosphatée.

Influence de *Glomus intraradices*

A toutes les températures de conservation, ce sont les fragments enrobés qui stimulent le plus la nutrition phosphatée avec des teneurs variant entre 3,95 et 5,35 mg. Cependant, à 25°C, on ne note pas de différence significative entre l'effet des fragments enrobés et ceux des spores sur la nutrition phosphatée.

Influence de *Glomus mosseae*

Les effets des fragments mycorhiziens non enrobés sur la nutrition phosphatée sont similaires à ceux enregistrés sur la nutrition azotée. Les teneurs en phosphore les plus faibles sont obtenues à 4 et 25°C avec les spores isolées.

Tableau 3: Teneur en **phosphore (mg)** des plants d'*Acacia nilotica* en fonction de la température de conservation et du mode de conditionnement

Température de conservation	-20°C	4°C	25°C	35°C	45°C
<i>Glomus aggregatum</i>					
Fragments seuls	3.85a	3.25b	2.10c	3.05b	3.00a
Fragments enrobés	3.05 b	1.25d	4.25a	3.75a	2.20b
Spores seules	2.40c	2.90 c	3.95b	3.75a	2.25b
Spores enrobées	3.00b	3.60 a	1.95c	2.50c	1.85c
<i>Glomus intraradices</i>					
Fragments seuls	3.30b	1.80d	3.00b	2.75c	1.45c
Fragments enrobés	5.20a	4.30 a	3.95a	5.35a	4.50a
Spores seules	3.30b	2.30c	3.95a	5.35a	3.65b
Spores enrobées	2.45c	3.70b	3.75a	4.25b	4.95a
<i>Glomus mosseae</i>					
Fragments seuls	3.35b	3.25a	2.80a	2.00d	3.00c
Fragments enrobés	4.00a	3.25a	2.55ab	2.95c	4.40a
Spores seules	1.40d	3.05a	2.25b	3.90a	3.00c
Spores enrobées	2.55c	1.70b	1.80c	3.30b	4.00b
Pour chaque souche fongique et pour chaque colonne, les valeurs suivies par les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de probabilité P<0.05 (Test de Newman-Keuls).					

Influence des souches sur la teneur en potassium des plants d'*Acacia nilotica*

Le tableau 4 montre les teneurs en potassium dans les plantes d'*Acacia nilotica* induites par l'inoculation avec les propagules mycorhiziennes issues des différentes méthodes de conditionnement et de conservation.

Influence de *Glomus aggregatum*

Les fragments mycorhiziens enrobés ou non stimulent le plus la nutrition potassique quelle que soit la température de conservation. Cependant, à 25 et 35°C, il n'y a pas de différences significatives entre leurs effets et ceux induits par les spores seules.

Influence de *Glomus intraradices*

Les fragments mycorhiziens de *Glomus intraradices*, améliorent le plus la nutrition potassique indépendamment de la température de conservation avec des valeurs variant entre 11,06 et 12,04 mg de

potassium. Cependant, à 25 et 35°C, il n'y a pas de différence significative entre leurs effets et ceux induits par les spores isolées.

Influence de *Glomus mosseae*

A l'exception de 35°C, les fragments mycorhiziens enrobés stimulent le plus la nutrition potassique. Les teneurs en potassium les plus faibles sont enregistrées à 4°C avec les spores.

4. Discussions

4.1. Viabilité des propagules et mycorhization d'*Acacia nilotica*

La viabilité des propagules mycorhizienne est souvent difficile à détecter. En effet, elles peuvent paraître viables et non endommagées, mais une vue de dormance prolongée, peut être un handicap pour leur utilisation. Le colorant vital MTT est un moyen rapide et fiable pour prédire la viabilité des propagules. Ces résultats sont en conformité avec ceux de An et Hendrix [9]). Les champignons MA sont des

Tableau 4: Teneur en Potassium (mg) des plants d'Acacia nilotica en fonction de la température de conservation et du mode de conditionnement

Température de conservation	-20°C	4°C	25°C	35°C	45°C
Glomus aggregatum					
Fragments seuls	10.78a	9.10ab	5.88b	8.54b	8.40a
Fragments enrobés	8.54b	3.50c	11.90a	10.50a	6.16b
Spores seules	6.72c	8.12b	11.06a	10.50a	6.30b
Spores enrobées	8.40b	10.08a	5.46b	7.00b	5.18c
Glomus intraradices					
Fragments seuls	9.24b	5.04c	8.40b	7.70c	4.06c
Fragments enrobés	14.56a	12.04a	11.06a	14.98a	12.60 a
Spores seules	9.24b	6.44c	11.06a	14.98a	10.22b
Spores enrobées	6.86c	10.36b	10.50a	11.90b	13.86a
Glomus mosseae					
Fragments seuls	9.38b	9.10a	7.84a	5.60d	8.40c
Fragments enrobés	11.20a	9.10a	7.14a	8.26c	12.32a
Spores seules	3.92d	8.54a	6.30b	10.92a	8.40c
Spores enrobées	7.14c	4.76b	5.04c	9.24b	11.20 b
Pour chaque souche fongique et pour chaque colonne, les valeurs suivies par les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de probabilité P<0.05 (Test de Newman-Keuls).					

biotrophes obligatoires et plusieurs facteurs d'ordre nutritionnel, génétique et physico-chimique sont indispensables à leur survie. Il semble cependant que ce sont les facteurs abiotiques qui sont plus déterminants pour l'accomplissement de leur cycle (Strullu *et al.*, [1], Diop *et al.*, [8]).

Plusieurs auteurs ont montré la capacité des propagules mycorhiziennes à germer après de longues périodes de conservation sous différentes températures et photopériodes (Schenk *et al.*, [13]; Tommerup [3]). Nos travaux confirment ces résultats et renforcent le caractère ubiquiste (capables de supporter des températures allant de -20 à 45°C) des propagules mycorhiziennes. L'utilisation de la gomme arabique, produit facilement accessible, pour enrober les propagules en augmentant le pouvoir germinatif des propagules, s'est avéré être un palliatif intéressant contre l'utilisation des billes d'alginat, très coûteux pour une utilisation commerciale. L'établissement de la mycorhization d'Acacia nilotica est

effectif avec toutes les propagules issues de différents modes de conditionnement et de conservation après 3 mois de culture. L'enrobage des propagules a révélé les meilleurs taux d'infection racinaire quelle que soit la température de conservation.

Cette étude est à notre connaissance, une première sur l'évaluation de la capacité de mycorhization des propagules issues de longues périodes de stockage. En effet, la plupart des travaux mentionnés dans la littérature se sont focalisés sur la germination des propagules. La variabilité de la réponse d'Acacia nilotica aux différentes souches rehausse l'intérêt des études sur la dépendance mycorhizienne avant l'inoculation à grande échelle (Lèye [14];

4.2. Impact sur le développement d'Acacia nilotica

Les effets des 3 champignons testés sont positifs dans la stimulation de la croissance et de la biomasse quels que soient les

modes de conditionnement et de conservation.

La mycorhization a permis un bon développement végétatif des plantes d'*Acacia nilotica* indemnes de maladies. L'effet prophylactique de la mycorhization a été amplement relaté par les travaux antérieurs (Davies *et al.*, [15]; Perrin [16]).

L'amélioration de la croissance des plantes d'*Acacia nilotica* pourra aussi être attribuée à leur morphologie racinaire particulière. En effet, il a été démontré que le système racinaire pivotant des arbres, les rend très dépendants de la mycorhization (Ndiaye [17]).

L'activité microbiologique intense au niveau de la rhizosphère entraîne une augmentation de l'exsudation racinaire qui a une incidence directe sur le développement des plantes de (Duponnois *et al.*, [18]).

Dans notre étude, la nutrition minérale (N, P, K) d'*Acacia nilotica* est aussi améliorée par toutes les propagules mycorhiziennes. Nos résultats sont en accord avec la plupart des travaux qui attribuent les effets positifs de la mycorhization sur le développement de la plante hôte par la nutrition minérale (Cooper et Tinker [19]; Declerck *et al.*[20]). En effet la finesse des hyphes mycorhiziennes (diamètre < 3 µm) leur permet de pénétrer dans tous les interstices de particules de sol pour faciliter le transport des éléments minéraux peu mobiles au profit de la plante. L'utilisation d'un substrat pauvre en phosphore assimilable (0,36 ppm) a aussi permis à toutes les propagules MA d'épuiser leurs potentialités agronomiques après 3 mois de culture.

5. Conclusion

Cette étude a permis de mettre au point des méthodes de préservation et de conditionnement de différentes propagules mycorhiziennes. Les paramètres mesurés nous ont édifiés sur les potentialités de mise

en place d'unité de production d'inoculum au Sénégal.

Ainsi la gamme de températures testées supporte la conservation de l'inoculum et surtout maintient un fort taux de viabilité des propagules mycorhiziennes.

Aussi, cette étude a montré que les contraintes thermiques ne sont pas très importantes pour la culture des champignons symbiotiques. C'est ce qui explique sans doute leur ubiquité remarquable : dans la nature, l'état de mycorhization est la règle.

Les méthodes de conditionnement (enrobage par la gomme arabique ou non) permettent aussi aux propagules mycorhiziennes arbusculaires de conserver leur efficacité et leur agressivité même si on a noté une réponse génétique dans leur réactivité.

Des réponses positives ont été enregistrées sur les paramètres de mycorhization, de rendement et de nutrition d'*Acacia nilotica* en conditions naturelles après trois mois de culture.

Il serait cependant intéressant de voir la réponse de ces propagules issues des méthodes de conditionnement proposées en conditions de stress abiotique (hydrique et salin) et biotiques (attaques parasitaires) et sur d'autres spéculations.

L'utilisation de la gomme arabique pour le conditionnement est moins coûteuse que l'enrobage par les billes d'alginate. Ceci offre aussi des possibilités réelles de valorisation de la filière gommier (*Acacia senegal* et *Sterculia setigera*).

Cette étude est la première au Sénégal concernant les conditions d'assurer la permanence génétique du germplasm des champignons mycorhiziens et leur efficacité. Ces résultats offrent des bases réelles de mise en place d'unités de production d'inoculum fiables en Afrique.

Remerciements

Cette étude a été supportée par Afornet dans le cadre projet N° 17/2004.

6. Références bibliographiques

- [1] STRULLU D.G., DIOP T.A., PLENCHETTE C. (1997). Réalisation de collections *in vitro* de *Glomus intraradices* (Schenck et Smith) et *Glomus versiforme* (Karsten et Berch) et proposition d'un cycle de développement. Comptes Rendus de l'Académie des sciences 320 : 41-47.
- [2] DIOP T. (1996). Les mycorhizes à vésicules et arbuscules. Journal de la Faculté de Sciences de Dakar, Université Cheikh Anta Diop, 2, 49-64
- [3] TOMMERUP I.C. (1983). Spore dormancy in vesicular- arbuscular mycorrhizal fungi. Transaction of the British Mycological Society 81: 37-45.
- [4] YOUNG J.L. (1982). Survival of endomycorrhizal spores/ propagules during long term air-dry storage. Agronomy Abstract 199.
- [5] SCHENK N.C., SMITH G.S. (1982). Responses of six species of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi and their effects on soybean at four soil temperature. *New Phytol.*, 92-93.
- [6] DOUDS. D.D.JR., SCHENCK N.C. (1990). Cryopreservation of spores of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 115: 667-674.
- [7] DRAFT M.J., SPENCER, D., THOMAS G.E. (1987.) infectivity of vesicular arbuscular mycorrhizal inocula after storage under various environmental conditions. Transactions of the British Mycological Society 88: 21-27.
- [8] DIOP T. A., PLENCHETTE C. STRULLU D. G. (1994). *In vitro* culture of sheared mycorrhizal roots. *Symbiosis*, 17: 217-227.
- [9] AN Z.Q., J.W. HENDRIX (1988). Determining the viability of endogonaceous spores with a vital stain. *Mycologia* 80: 259-261.
- [10] AZCON-AGUILAR, C., J.M. BAREA (1985). Effect of soil microorganism on formation of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Trans. Br. Soc.* 84: 563-537.
- [11] PHILIPS AND HAYMAN (1970): Improved procedures for cleaning roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions British Mycological Society*, 55: 93-130.
- [12] GIOVANNETTI M. AND MOSSE B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.* 84:489-500.
- [16] PERRIN R. (1991). Mycorhizes et protections phytosanitaires. In : les mycorhizes des Arbres et des plantes cultivées. Strullu D.G., Perrin R., Plenchette C., Garbaye J. eds. Technique et documentation, Lavoisier, Paris, France. Pp. 93-130.
- [17] NDIAYE M. (2006). Mémoire de DEA en Biologie Végétale (Université Cheikh Anta Diop de Dakar) sur le thème : Biotisation en serre et au champ de deux espèces sylvoles productrices de gomme : *Acacia senegal* (L.) et *Sterculia setigera* Del, 68p.
- [18] DUPONNOIS R., PLENCHETTE C., BA A. (2001). Growth stimulation of seventeen fallow leguminous plants

inoculated with *Glomus aggregatum* in Senegal., Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS.

- [19] COOPER K.M. ET TINKER P.B.: (1978). Translocation and transfer of

nutrients in vesicular arbuscular mycorrhizas. II. Uptake and translocation of phosphorus zinc and sulphur. *New Phytologist* 81:43-52.