



HAL
open science

Effets de la fertilisation phosphatée sur la mycorhisation, la croissance et la nutrition en phosphore et en azote de semis de Cèdre (*Cedrus atlantica* Manetti) inoculés en pépinière par *Tricholoma tridentinum* Sing. var. *cedretorum* Bon.

H. Boukcim, Daniel Mousain

► **To cite this version:**

H. Boukcim, Daniel Mousain. Effets de la fertilisation phosphatée sur la mycorhisation, la croissance et la nutrition en phosphore et en azote de semis de Cèdre (*Cedrus atlantica* Manetti) inoculés en pépinière par *Tricholoma tridentinum* Sing. var. *cedretorum* Bon.. *Annals of Forest Science*, 2001, 58 (3), pp.289-300. hal-02679870

HAL Id: hal-02679870

<https://hal.inrae.fr/hal-02679870>

Submitted on 31 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Effets de la fertilisation phosphatée sur la mycorhization, la croissance et la nutrition en phosphore et en azote de semis de Cèdre (*Cedrus atlantica* Manetti) inoculés en pépinière par *Tricholoma tridentinum* Sing. var. *cedretorum* Bon

Hassan Boukcim* et Daniel Mousain

Laboratoire de Recherches sur les Symbiotes des Racines, Unité Mixte de Recherche Sol et Environnement, Institut National de la Recherche Agronomique, 2 Place Viala, 34060 Montpellier Cedex 1, France

(Reçu le 30 novembre 1999 ; accepté le 6 juillet 2000)

Résumé – Afin d'étudier les effets en pépinière de la fertilisation phosphatée sur la croissance et la mycorhization de *Cedrus atlantica* Manetti par *Tricholoma tridentinum*, des semis cultivés pendant deux mois et demi en conteneurs ont été inoculés puis fertilisés pendant 10 semaines avec une solution nutritive contenant 0, 43,4 ou 86,8 mg l⁻¹ de phosphore (P). Six mois après l'inoculation, les pourcentages d'apex mycorhizés ont été déterminés et les teneurs en mycélium total et viable des racines ont été estimées respectivement par les dosages de la glucosamine fongique et de l'ergostérol. Les degrés de mycorhization par *T. tridentinum* les plus élevés ont été obtenus avec 43,4 mg l⁻¹ de P. Une fertilisation en P de 86,8 mg l⁻¹ a réduit significativement le pourcentage d'apex racinaires mycorhizés et les teneurs des racines en mycélium total et viable obtenus avec un apport de modéré de P (43,4 mg l⁻¹). La mycorhization des cèdres par *T. tridentinum* n'affecte significativement ni leur croissance, ni leurs contenus en phosphore et en azote. La qualité des plants est conforme aux normes requises pour les cèdres produits en conteneurs dans la région méditerranéenne française.

Cedrus atlantica / mycorhization / phosphore / ergostérol / glucosamine fongique

Abstract – Effects of P-fertilization on the mycorrhization, growth and nutrition (P, N) of *Cedrus atlantica* Manetti seedlings inoculated in nursery with mycelia of *Tricholoma tridentinum* Sing. var. *cedretorum* Bon. In order to study the effects in nursery of phosphorus fertilization on the growth and the mycorrhizal infection of *Cedrus atlantica* Manetti by *Tricholoma tridentinum*, seedlings grown in containers have been inoculated and fertilized with three nutrient solutions containing 0, 43.4 or 86.8 mg l⁻¹ of P. Six months after inoculation, the percentages of mycorrhizal root tips were determined and the total and viable mycelium contents in the roots were estimated by fungal glucosamine and ergosterol assay, respectively. The highest degree of mycorrhizal infection was obtained in seedlings fertilized with 43.4 mg l⁻¹ P. Fertilisation with 86.8 mg l⁻¹ P reduced significantly the percentage of mycorrhizal root tips, the total and viable mycelium contents in roots obtained with 43.4 mg l⁻¹ P. Mycorrhization of seedlings did not significantly affect neither their growth nor their phosphorus and nitrogen contents. Quality of seedlings correspond to the norms required for the production of containerized Cedar seedlings.

Cedrus atlantica / mycorrhization / phosphorus / ergosterol / fungal glucosamine

* Correspondance et tirés-à-part
Tél. (33) 04 99 61 28 22 ; Fax. (33) 04 67 54 57 08 ; e-mail : boukcim@ensam.inra.fr

1. INTRODUCTION

Le Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) est une essence économiquement et écologiquement importante dans la région méditerranéenne [17, 38]. La plantation de cette essence permet de compenser sa régénération naturelle insuffisante. La mycorhization contrôlée, dont l'intérêt a été démontré [16, 24, 28, 39] pour diverses espèces ligneuses (pins, épicéas, douglas, chênes, etc.), serait susceptible de favoriser cette régénération artificielle en atténuant les effets de la crise de transplantation des plants et en permettant leur adaptation aux conditions pédoclimatiques des sites de reboisement. Cependant, les rares études effectuées sur la mycorhization contrôlée du genre *Cedrus* ont souligné les difficultés d'obtenir une mycorhization généralisée des plants de Cèdre cultivés en pépinière [1, 27, 30, 35]. Des mycorhizes ont été aussi obtenues avec *Tricholoma tridentinum* var. *cedretorum* chez de jeunes Cèdres cultivés sur du sol de cédraie préalablement désinfecté, mais ce résultat n'a pu être reproduit sur substrat artificiel [31].

Le niveau de fertilité minérale ou organique dans le sol ou le substrat de culture et/ou le statut nutritionnel de la plante hôte, qui dépendent notamment de la fertilisation appliquée aux plants pendant leur croissance, ont une influence majeure dans l'établissement de la mycorhization des plants. Il est connu que les associations mycorhiziennes naturelles sont plus fréquentes dans les sols où la disponibilité en éléments minéraux est faible. Leur rôle dans la nutrition minérale de la plante hôte est primordial, surtout lorsque les éléments en jeu sont peu mobiles dans les sols, comme le phosphore. Ainsi, divers travaux réalisés en conditions contrôlées ont mis en évidence l'effet de la concentration en nutriments (principalement N, P, K) dans la solution fertilisante sur l'établissement d'associations ectomycorhiziennes chez diverses espèces ligneuses. Cet effet se traduit généralement par une diminution du degré de colonisation des racines par le champignon ectomycorhizien à des niveaux de fertilité élevée, notamment en azote (N) et en phosphore (P) [4, 7, 10, 14, 18, 42].

L'objectif de cette étude est d'étudier les effets d'apports croissants de phosphore soluble sur l'établissement et le degré de mycorhization par *Tricholoma tridentinum* var. *cedretorum* de semis de Cèdre de l'Atlas cultivés en pépinière. Ce travail constitue une étape dans l'essai d'optimisation de la mycorhization contrôlée du Cèdre et de la culture des plants inoculés en pépinière forestière. Il renseignera aussi sur les effets simultanés de la fertilisation phosphatée et de l'association ectomycorhizienne sur la croissance et la nutrition en P et N de semis de Cèdre produits sur substrat minéral en pépinière.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Préparation du matériel végétal et fongique

Les graines de Cèdre (*Cedrus atlantica* Manetti) provenant du Mont Ventoux (France) ont été fournies par le Service des Graines et Plants de l'Office National des Forêts (France). Le champignon ectomycorhizien utilisé est l'isolat de *Tricholoma tridentinum* Sing. var. *cedretorum* Bon répertorié sous le code V 20.18.7 au Laboratoire des Symbiotes (INRA Montpellier) qui a été obtenu à partir d'un basidiome récolté sur des limons argileux (pH 6,7) de la cédraie de Seheb (Moyen Atlas, Maroc).

Le mélange tourbe-vermiculite (1:4, v/v), support de l'inoculum de *T. tridentinum*, a été préparé de la façon suivante : la tourbe et la vermiculite ont été tamisées à l'aide de tamis de mailles 4 mm et 1,8 mm pour éliminer respectivement les éléments grossiers et les particules fines. Le mélange des deux substrats a ensuite été réparti dans des sacs autoclavables à raison de 21 par sac (Sigma B7026, capacité : 31 par sac) munies d'une fenêtre à filtre (diamètre des pores : 0,02 µm), puis saturé par un milieu nutritif liquide MNM [21] avant d'être doublement autoclavé 20 min à 120 °C, à 48 heures d'intervalle. Le substrat mixte a été ensemencé en conditions aseptiques avec des implants mycéliens gélosés prélevés à partir d'une culture de *T. tridentinum* var. *cedretorum* en croissance active, puis a été incubé pendant 5 semaines à l'obscurité à 16 ± 1 °C.

Les graines, mises à imbiber pendant 48 heures dans de l'eau distillée à 4 °C, ont ensuite été désinfectées par trempage dans une solution de Cryptonol (140 g l⁻¹ de sulfate double d'oxyquinoléine et de K, La Quinoléine 6900224) à 30 ml l⁻¹ pendant 30 min, rincées à l'eau distillée stérile puis mises à stratifier à 4 °C dans de la tourbe préalablement humidifiée et désinfectée par autoclavage. Les graines pré-germées ont été semées dans des conteneurs anti-chignons de 600 ml (Thermoflan, Le Vigan, France) remplis par un mélange attapulgite (« Oil Dri » de Géorgie, US-Special GB 3-30)-perlite-vermiculite expansées (2:2:1, v/v/v), sous un abri plastique (Pépinière administrative des Milles, Direction départementale de l'agriculture et de la forêt des Bouches-du-Rhône, France). Les semis ont ensuite été fertilisés pendant deux mois (avril et mai) par une solution commerciale Dynaflor d'équilibre N-P₂O₅-K₂O 12-2-12 additionnée de 0,5 % de MgO et d'oligo-éléments, diluée à 0,5 % et utilisée à raison de 52 ml par plant et par semaine, ce qui correspond à un apport hebdomadaire et total (au bout de 60 jours) en N-P-K de 31,2-2,27-25,96 et 249,6-18,16-207,67 mg par plant, respectivement. Le reste du temps, les plants ont été irrigués à l'eau courante.

Après avoir été fertilisés durant deux mois par la solution Dynaflor précédente, les plants de Cèdre ont été arrosés à l'eau pendant deux semaines avant d'être inoculés par l'apport de 100 ml d'inoculum de *T. tridentinum* développé sur tourbe-vermiculite, et déposé sur toute la longueur du système racinaire d'un seul plant après ouverture d'une des faces amovibles du conteneur. Les plants témoins ont été aussi inoculés par la même quantité d'inoculum préalablement autoclavé deux fois 20 min à 120 °C et à 48 h d'intervalle.

Les plants ont été arrosés avec de l'eau durant les 15 jours suivant l'inoculation. Ils ont ensuite été répartis en trois lots fertilisés chacun avec une des solutions Dynaflor diluées à 0,5 % et présentant les équilibres N-P₂O₅-K₂O suivants : (i) 12-0-12 (concentration en P : 0 mg l⁻¹) ; (ii) 12-2-12 (P₂O₅ : 0,01 % ; P : 43,4 mg l⁻¹) ; (iii) 12-4-12 (P₂O₅ : 0,02 % ; P : 86,8 mg l⁻¹). Les solutions ont été utilisées à raison de 52 ml par plant et par semaine pendant 10 semaines (entre juillet et fin septembre), ce qui correspond à un apport hebdomadaire en P d'environ 2,27 mg et 4,54 mg par plant. et à un apport total en P (au bout des 10 semaines) de 22,7 mg et 45,4 mg par plant pour les solutions 12-2-12 et 12-4-12, respectivement. Pour chacun des 6 traitements, 64 plants ont été préparés.

2.2. Prélèvement et évaluation de la biomasse et du degré de mycorhization des plants

Six mois après l'inoculation, 5 plants de Cèdre ont été échantillonnés au hasard dans chacun des six traitements. Leurs systèmes racinaires ont été nettoyés délicatement sous jet d'eau modéré puis coupés en segments de 5 cm de longueur. On a ensuite procédé à des prélèvements au hasard de segments racinaires sur lesquels ont été effectués des comptages d'apex mycorhizés sur un total de 500 apex observés au stéréo-microscope.

Les biomasses fraîches et sèches des deux compartiments des plants ont été déterminées après séchage des parties aériennes à 80 °C pendant 24 h et lyophilisation des racines.

Le degré d'infection ectomycorhizienne des racines a aussi été évalué par les teneurs en mycélium total et viable des racines obtenues respectivement à partir des dosages de la glucosamine fongique issue de l'hydrolyse acide de la chitine [40] et de l'ergostérol effectués sur des broyats de racines homogénéisés. Le dosage de l'ergostérol a été effectué selon le protocole de Martin et al. [20] légèrement modifié : 50 mg de racines lyophilisées sont broyées dans 1,5 ml de méthanol pur en présence de Polyclar-AT (Serva 33 162) à 10 % (p/v). Ce produit permet de précipiter les composés phénoliques pouvant

interférer avec la détermination spectrophotométrique de l'ergostérol. Le mélange est ensuite centrifugé à 12000 × g pendant 10 à 15 min, à 4 °C. On récupère le premier surnageant et on remet en suspension le culot dans 1,5 ml de méthanol absolu puis on centrifuge dans les mêmes conditions qu'auparavant. Le deuxième surnageant est récupéré puis mélangé au premier et on détermine ensuite le volume final de l'extrait. Ce dernier est filtré sur membrane Sartorius (diamètre des pores : 0,45 µm) pour éliminer les impuretés éventuelles et on procède ensuite à l'injection de 100 µl de l'extrait dans la colonne HPLC. L'élution se fait avec du méthanol à 100 %. La densité optique est mesurée à 270 nm par rapport à une courbe étalon.

Les teneurs en glucosamine fongique et en ergostérol des racines des Cèdres témoins ont été déduites de celles des plants inoculés. Les valeurs obtenues ont ensuite été converties en teneurs en mycélium total ou viable des racines des plants mycorhizés en utilisant les facteurs de conversion représentés par les teneurs en glucosamine fongique (29,2 µg mg⁻¹ de matière sèche MS) et en ergostérol (1,8 µg mg⁻¹ de matière sèche) du mycélium extramatriciel de *Tricholoma tridentinum* var. *cedretorum* prélevé autour de mycorhizes.

2.3. Dosages de phosphore et d'azote dans les plants

Des dosages de phosphore et d'azote ont été effectués séparément sur des broyats homogénéisés de racines lyophilisées, et des aiguilles et tiges préalablement séchées puis minéralisées.

Dosage du phosphore total

La minéralisation de 10 mg de broyat de matériel végétal lyophilisé a été effectuée en présence de 1 ml d'acide perchlorique à 220 °C pendant 20 min [25]. Une gamme étalon, préparée à l'aide d'une solution mère de KH₂PO₄ 25 mM, a été minéralisée simultanément. Le minéralisat a ensuite été dilué par addition de 4 ml d'H₂O distillée. L'orthophosphate issu de la minéralisation a été dosé colorimétriquement [36] : 1 ml du minéralisat a été additionné d'un même volume du réactif de dosage (molybdate d'ammonium-sulfate ferreux) et a développé, 5 minutes après agitation, une coloration bleue stable pendant 2 h. L'absorbance a été lue à 740 nm.

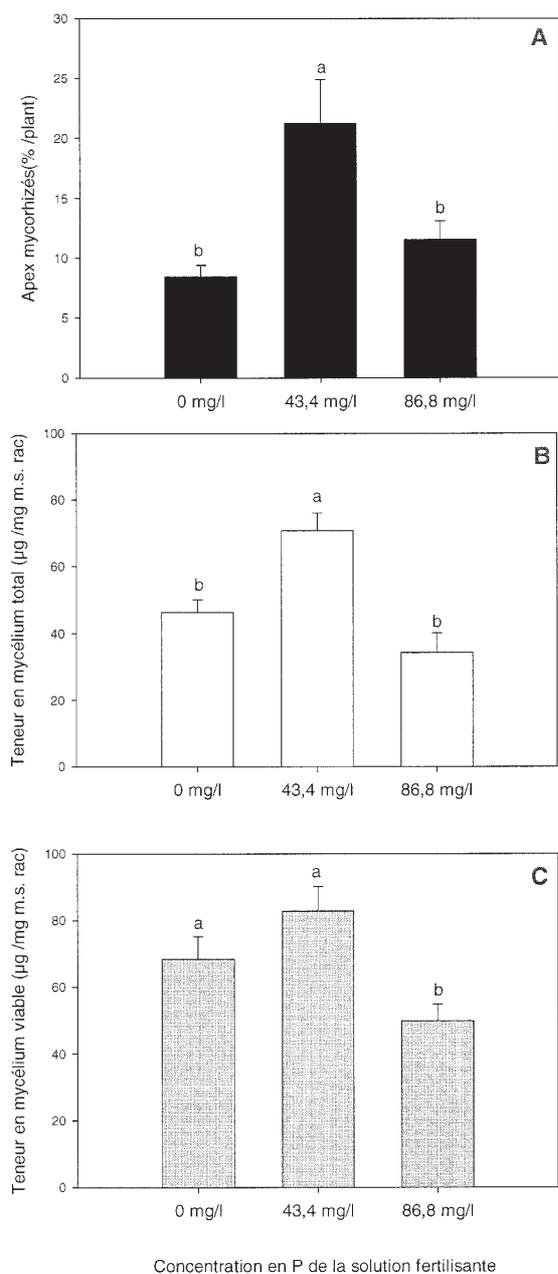


Figure 1. Effet de la fertilisation phosphatée sur le degré de mycorhization par *Tricholoma tridentinum* des racines de semis de Cèdre cultivés en pépinière. Le degré de mycorhization a été évalué par comptage des apex mycorrhizés (A) ou par dosage de la glucosamine fongique (B) ou de l'ergostérol (C) (moyennes de 5 échantillons par traitement \pm erreur standard). Les teneurs théoriques en mycélium des racines des plants témoins ont été déduites des teneurs brutes mesurées sur les plants inoculés, des traitements correspondants. Les valeurs munies de la même lettre pour chaque graphe ne sont pas significativement différentes (test de Duncan, $p = 0,05$).

Dosage de l'azote total

Dix mg d'échantillons végétaux ont été minéralisés en présence de 200 μ l de H_2SO_4 36 M pendant 15 min à 300 °C [23]. Après décoloration du minéralisat par oxydations successives avec H_2O_2 à 30 %, le dosage colorimétrique de l'ammonium présent dans le minéralisat a été effectué au phénol-hypochlorite [19]. Une dilution préalable du minéralisat a permis d'abaisser son acidité à 0,1 N pour obtenir un rendement optimal de la réaction colorée.

2.4. Analyses statistiques

Les analyses statistiques des données ont été effectuées grâce au test de Duncan au seuil de probabilité 0,05 en utilisant le logiciel Statistica (Kernel version 5.1 M, Stat Soft, Inc).

3. RÉSULTATS

3.1. État de mycorhization des racines

Pourcentages d'apex mycorrhizés

Tous les plants inoculés et échantillonnés au hasard ont révélé la présence d'au moins un apex mycorrhizé par *Tricholoma tridentinum*, ce qui correspond à un taux de mycorhization de 100 %. Aucune mycorhize contaminante n'a été observée sur les racines des plants témoins.

Les comptages des apex mycorrhizés ont mis en évidence une amélioration du degré de mycorhization des racines consécutivement à un apport modéré de phosphore (P 43,4 $mg\ l^{-1}$) par rapport aux plants non fertilisés en P (figure 1A). Une forte concentration en P dans la solution fertilisante (86,8 $mg\ l^{-1}$) n'a pas modifié significativement le pourcentage d'apex mycorrhizés par rapport au milieu non enrichi en P (figure 1A).

Teneurs des racines en mycélium

Les teneurs en mycélium total dans les racines des Cèdres fertilisés avec la solution Dynaflor à 43,4 $mg\ l^{-1}$ de P sont supérieures à celles mesurées dans les racines des plants non fertilisés en phosphore ou fertilisés par une solution à 86,8 $mg\ l^{-1}$ de P (figure 1B). L'augmentation de la production de biomasse fongique totale consécutivement à l'apport d'une solution à 43,4 $mg\ l^{-1}$ de P est de 20 % par rapport aux plants n'ayant pas reçu de phosphore. Lorsque l'apport de P est de 86,8 $mg\ l^{-1}$, la teneur moyenne des racines en mycélium total est réduite d'environ 50 % par rapport aux Cèdres fertilisés par

43,4 mg l⁻¹ de P. D'autre part, cette fertilisation avec P 86,8 mg l⁻¹ réduit significativement les teneurs en mycélium viable dans les racines des Cèdres inoculés (figure 1C). Cette réduction est d'environ 40 % par rapport aux Cèdres fertilisés avec 43,4 mg l⁻¹ de P et de 28 % par rapport aux Cèdres non fertilisés en P.

Les teneurs moyennes des racines en mycélium viable sont légèrement supérieures ou égales aux teneurs en mycélium total mesurées dans ces organes. Le coefficient de corrélation entre ces deux teneurs est de 0,42, tous traitements confondus ($n = 30$). Les différences entre les quantités moyennes des systèmes racinaires en mycélium total et viable ne sont pas statistiquement significatives (résultats non présentés).

3.2. Biomasse des parties aériennes et racinaires des plants

L'effet de la mycorhization sur la croissance des plants n'est pas significatif quel que soit le niveau de fertilisation phosphatée (tableau I). La comparaison des valeurs obtenues chez les Cèdres témoins met en évidence une stimulation de la production de biomasse dans les parties racinaires par l'apport de P dans la solution fertilisante (tableau I). Toutefois, le doublement de l'apport total en P (de 22,7 à 45,4 mg l⁻¹) n'a pas induit une augmentation significative de la biomasse des jeunes Cèdres. Aucune différence statistiquement significative n'a été relevée entre les biomasses aériennes et racinaires des Cèdres inoculés par *Tricholoma tridentinum* en fonction de la concentration en P de la solution fertilisante (tableau I). Enfin, ni la fertilisation phosphatée, ni l'inoculation des plants n'ont affecté de manière significative le rapport des biomasses sèches des parties aériennes à celles des racines (tableau I).

3.3. Contenu en phosphore (P) et en azote (N) des plants

Contenu en P

L'inoculation des racines des jeunes Cèdres avec du mycélium de *Tricholoma tridentinum* n'a modifié ni les teneurs ni les quantités moyennes en phosphore total des différents organes des Cèdres, quel que soit l'apport en phosphore externe (tableaux II et III). Le contenu en phosphore des aiguilles des plants inoculés a augmenté en fonction de la concentration en P de la solution fertilisante (tableau III). Le même phénomène s'est produit dans les aiguilles et les racines des plants non inoculés où les quantités de P accumulées diffèrent significativement selon que la solution fertilisante comprend ou non du P (tableau III). Au total, les quantités de P dans les plants entiers n'ont différé significativement entre elles que pour les plants témoins, fertilisés par du phosphore ou non (tableau VI).

Contenu en N

En l'absence d'apport de phosphore soluble depuis l'inoculation, la mycorhization des Cèdres par *T. tridentinum* n'a pas affecté pas de manière significative les teneurs en azote total des parties aériennes ou racinaires des plants (tableau IV, 1^{re} ligne). Chez les Cèdres fertilisés avec 43,4 mg l⁻¹ de P, on a observé une augmentation significative des teneurs en azote total des tiges et des racines suite à l'inoculation (tableau IV, 2^e ligne). Un effet similaire a été relevé au niveau des racines des plants ayant reçu une forte dose de phosphore (86,8 mg l⁻¹) (tableau IV, 3^e ligne). La mycorhization des plants a induit une accumulation d'azote total significativement plus forte dans les racines des plants inoculés que dans les témoins mais uniquement lorsque l'apport de P est élevé (86,8 mg l⁻¹) (tableau V).

Tableau I. Effet de la mycorhization par *Tricholoma tridentinum* et de la fertilisation phosphatée sur la production de matière sèche dans les parties aériennes (PA) et racinaires (PR) de jeunes cèdres cultivés en conteneurs (moyennes de 5 échantillons par traitement \pm erreur standard).

| [P] (mg l ⁻¹) | PA (mg plant ⁻¹) | | PR (mg plant ⁻¹) | | PA/PR | |
|---------------------------|------------------------------|------------------------|------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | Inoculés | Témoins | Inoculés | Témoins | Inoculés | Témoins |
| 0 | 2,31 \pm 0,47 a (a) | 2,13 \pm 0,37 a (ab) | 1,41 \pm 0,32 a (a) | 1,20 \pm 0,17 a (b) | 1,68 \pm 0,10 a (a) | 1,76 \pm 0,13 a (a) |
| 43,4 | 2,59 \pm 0,28 a (a) | 2,84 \pm 0,26 a (ab) | 1,40 \pm 0,21 a (a) | 1,65 \pm 0,13 a (a) | 1,96 \pm 0,27 a (a) | 1,78 \pm 0,26 a (a) |
| 86,8 | 2,73 \pm 0,29 a (a) | 3,19 \pm 0,26 a (a) | 1,46 \pm 0,19 a (a) | 1,63 \pm 0,15 a (a) | 1,92 \pm 0,20 a (a) | 2,03 \pm 0,29 a (a) |

Les biomasses de PA et PR ou les rapports PA/PR suivis de la même lettre dans une même ligne ou colonne (lettres entre parenthèses) ne sont pas significativement différentes (test de Duncan, $p = 0,05$).

Tableau II. Effet de la mycorhization par *Tricholoma tridentinum* et de la fertilisation phosphatée sur les teneurs en phosphore total ($\mu\text{g mg}^{-1}$ m.s.) dans les parties aériennes et racinaires de jeunes cèdres cultivés en conteneurs (moyennes de 5 échantillons par traitement \pm erreur standard).

| [P] (mg l^{-1}) | Teneurs en phosphore total ($\mu\text{g mg}^{-1}$ m.s.) | | | | | |
|----------------------------|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| | Aiguilles | | Tiges | | Racines | |
| | Inoculés | Témoins | Inoculés | Témoins | Inoculés | Témoins |
| 0 | 3,20 \pm 0,19 a (b) | 3,38 \pm 0,29 a (a) | 2,41 \pm 0,20 a (a) | 2,67 \pm 0,40 a (a) | 5,74 \pm 0,72 a (b) | 5,54 \pm 1,32 a (a) |
| 43,4 | 4,02 \pm 0,31 a (a) | 3,85 \pm 0,30 a (a) | 2,49 \pm 0,13 a (a) | 2,36 \pm 0,41 a (a) | 7,54 \pm 0,61 a (ab) | 7,30 \pm 0,55 a (a) |
| 86,8 | 4,03 \pm 0,19 a (a) | 3,87 \pm 0,17 a (a) | 2,66 \pm 0,17 a (a) | 2,71 \pm 0,14 a (a) | 8,13 \pm 0,37 a (a) | 7,25 \pm 0,41 a (a) |

Les teneurs de chaque organe suivies de la même lettre dans une même ligne ou colonne (lettres entre parenthèses) ne sont pas significativement différentes (test de Duncan, $p = 0,05$).

Tableau III. Effet de la mycorhization par *Tricholoma tridentinum* et de la fertilisation phosphatée sur le contenu en phosphore total ($\mu\text{g plant}^{-1}$) des parties aériennes et racinaires de jeunes cèdres cultivés en conteneurs (moyennes de 5 échantillons par traitement \pm erreur standard).

| [P] (mg l^{-1}) | Contenu en phosphore total ($\mu\text{g plant}^{-1}$) | | | | | |
|----------------------------|---|------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|
| | Aiguilles | | Tiges | | Racines | |
| | Inoculés | Témoins | Inoculés | Témoins | Inoculés | Témoins |
| 0 | 6,48 \pm 1,32 a (b) | 6,19 \pm 0,66 a (b) | 0,58 \pm 0,09 a (a) | 0,53 \pm 0,03 a (a) | 8,88 \pm 2,52 a (a) | 6,05 \pm 1,03 a (b) |
| 43,4 | 9,37 \pm 0,99 a (ab) | 9,63 \pm 1,03 a (a) | 0,61 \pm 0,05 a (a) | 0,72 \pm 0,05 a (a) | 10,59 \pm 1,76 a (a) | 11,94 \pm 0,92 a (a) |
| 86,8 | 9,71 \pm 0,86 a (a) | 11,14 \pm 0,99 a (a) | 0,76 \pm 0,06 a (a) | 0,84 \pm 0,09 a (a) | 11,81 \pm 1,45 a (a) | 11,91 \pm 1,68 a (a) |

Les quantités de chaque organe suivies de la même lettre dans une même ligne ou colonne (lettres entre parenthèses) ne sont pas significativement différentes (test de Duncan, $p = 0,05$).

Tableau IV. Effet de la mycorhization par *Tricholoma tridentinum* et de la fertilisation phosphatée sur les teneurs en azote total ($\mu\text{g mg}^{-1}$ m.s.) dans les parties aériennes et racinaires de jeunes cèdres cultivés en conteneurs (moyennes de 5 échantillons par traitement \pm erreur standard).

| [P] (mg l^{-1}) | Teneurs en azote total ($\mu\text{g mg}^{-1}$ m.s.) | | | | | |
|----------------------------|--|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| | Aiguilles | | Tiges | | Racines | |
| | Inoculés | Témoins | Inoculés | Témoins | Inoculés | Témoins |
| 0 | 15,35 \pm 0,61 a (a) | 15,23 \pm 1,17 a (a) | 9,49 \pm 1,16 a (b) | 11,48 \pm 1,22 a (a) | 10,42 \pm 0,61 a (b) | 12,28 \pm 0,54 a (a) |
| 43,4 | 17,61 \pm 1,66 a (a) | 14,92 \pm 0,95 a (a) | 13,42 \pm 0,82 a (a) | 8,02 \pm 0,72 b (b) | 14,56 \pm 1,19 a (a) | 11,63 \pm 0,25 b (a) |
| 86,8 | 16,88 \pm 0,85 a (a) | 16,10 \pm 1,06 a (a) | 11,35 \pm 0,88 a (ab) | 10,14 \pm 0,70 a (ab) | 13,56 \pm 1,65 a (ab) | 9,27 \pm 0,60 b (b) |

Les teneurs de chaque organe suivies de la même lettre dans une même ligne ou colonne (lettres entre parenthèses) ne sont pas significativement différentes (test de Duncan, $p = 0,05$).

Les Cèdres non inoculés n'ayant pas reçu de phosphore ont généralement accumulé moins d'azote dans les différents organes (*tableau V*) et dans le plant entier (*tableau VI*) que ceux fertilisés avec une solution plus ou moins concentrée en P. Par contre, en présence du partenaire fongique, l'addition de P soluble dans la solution fertilisante n'a conduit qu'à une augmentation des quan-

tités d'azote accumulées dans les tiges, le contenu en azote des aiguilles et des racines des plants inoculés n'étant pas affecté par l'apport de P soluble (*tableau V*). D'autre part, les parties aériennes des plants (aiguilles + tiges) contiennent plus d'azote que les racines, quel que soit le niveau de P dans la solution fertilisante (*tableau V*).

Tableau V. Effet de la mycorhization par *Tricholoma tridentinum* et de la fertilisation phosphatée sur le contenu en azote total ($\mu\text{g plant}^{-1}$) des parties aériennes et racinaires de jeunes cèdres cultivés en conteneurs (moyennes de 5 échantillons par traitement \pm erreur standard).

| [P] (mg l^{-1}) | Contenu en azote total ($\mu\text{g plant}^{-1}$) | | | | | |
|----------------------------|---|-------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | Aiguilles | | Tiges | | Racines | |
| | Inoculés | Témoins | Inoculés | Témoins | Inoculés | Témoins |
| 0 | 31,51 \pm 6,83 a (a) | 28,60 \pm 4,57 a (b) | 2,25 \pm 0,26 a (b) | 2,14 \pm 0,20 a (b) | 14,50 \pm 3,16 a (a) | 14,70 \pm 2,01 a (b) |
| 43,4 | 40,81 \pm 4,25 a (a) | 37,37 \pm 3,64 a (ab) | 3,33 \pm 0,47 a (a) | 2,53 \pm 0,21 a (ab) | 20,01 \pm 2,93 a (a) | 19,23 \pm 1,46 a (a) |
| 86,8 | 40,95 \pm 4,45 a (a) | 46,28 \pm 4,54 a (a) | 3,21 \pm 0,12 a (a) | 3,11 \pm 0,31 a (a) | 18,98 \pm 1,20 a (a) | 14,88 \pm 0,85 b (b) |

Les quantités dans chaque organe suivies de la même lettre dans une même ligne ou colonne (lettres entre parenthèses) ne sont pas significativement différentes (test de Duncan, $p = 0,05$).

Tableau VI. Effet de la mycorhization par *Tricholoma tridentinum* et de la fertilisation phosphatée sur les contenus en phosphore et en azote ($\mu\text{g plant}^{-1}$) des cèdres cultivés en conteneurs (moyennes de 5 échantillons par traitement \pm erreur standard).

| [P] (mg l^{-1}) | Contenu en ($\mu\text{g plant}^{-1}$) | | | |
|----------------------------|---|------------------------|-------------------------|------------------------|
| | Phosphore | | Azote | |
| | Inoculés | Témoins | Inoculés | Témoins |
| 0 | 15,94 \pm 3,92 a (a) | 12,77 \pm 0,86 a (b) | 48,26 \pm 10,00 a (a) | 41,08 \pm 5,81 a (b) |
| 43,4 | 20,56 \pm 2,56 a (a) | 22,29 \pm 1,65 a (a) | 64,15 \pm 7,24 a (a) | 59,12 \pm 3,64 a (a) |
| 86,8 | 22,28 \pm 2,20 a (a) | 23,89 \pm 1,61 a (a) | 63,13 \pm 5,60 a (a) | 64,26 \pm 5,12 a (a) |

Les quantités dans chaque organe suivies de la même lettre dans une même ligne ou colonne (lettres entre parenthèses) ne sont pas significativement différentes (test de Duncan, $p = 0,05$).

4. DISCUSSION

4.1. Effet de la concentration en phosphore de la solution de fertilisation sur le degré de mycorhization des racines

Une concentration en phosphore soluble double de celle classiquement utilisée pour fertiliser les plants de Cèdre en pépinière expérimentale réduit le pourcentage d'apex racinaires mycorhizés par *Tricholoma tridentinum* (figure 1A). La diminution des teneurs en biomasse mycélienne dans les racines des Cèdres mycorhizés (figures 1B et C) traduit aussi l'effet négatif d'une concentration élevée en P sur l'établissement des mycorhizes de Cèdre.

Plusieurs travaux ont montré l'effet négatif du phosphore sur le degré de mycorhization de diverses espèces végétales, ligneuses ou non. Ainsi, l'augmentation de l'apport de superphosphate dans le sol réduit fortement le pourcentage des racines de *Trifolium repens* infectées par deux champignons endomycorhiziens *Gigaspora margarita* et *Glomus tenuis* en conditions contrôlées. Des réductions allant jusqu'à 90 % du pourcentage de racines mycorhizées ont été obtenues lorsque l'apport en phosphate s'est élevé de 0 à 280 mg par pot [34]. Une

diminution du degré d'infection endomycorhizienne de plants de *Trifolium subterraneum* inoculés par *Gigaspora calospora* ou *Glomus fasciculatum* a été observée suite à une augmentation de l'apport en KH_2PO_4 . Cette diminution s'accompagne d'une réduction de la biomasse mycélienne intra-racinaire lorsque les niveaux de fertilisation phosphatée sont très élevés [37]. D'autre part, l'augmentation du P dans le sol réduit les biomasses fongiques de *Thelephora terrestris* ou de *Laccaria proxima* contenues dans les racines mycorhizées [14].

Plus récemment, les travaux d'Ekblad et al. [10] montrent que l'apport de phosphore affecte négativement les teneurs en mycélium, évaluées par dosage de l'ergostérol, des racines d'*Alnus incana* mycorhizées par *Paxillus involutus* alors que celles des racines de *Pinus sylvestris* mycorhizées par le même champignon sont plus stables et ne sont pas significativement affectées par la disponibilité en cet élément dans le substrat de culture. De plus, la dépression de croissance fongique consécutive à un apport élevé de phosphore a été plus importante dans le compartiment extramatriciel du mycélium qu'à l'intérieur des racines mycorhizées.

L'effet d'une forte fertilisation en phosphore sur le degré de mycorhization d'une plante hôte donnée semble

dépendre aussi de l'espèce fongique inoculée. En effet, des études effectuées chez le Pin maritime ont montré que l'apport de 0,5 mM de phosphore réduit significativement les teneurs en mycélium total, évaluées par dosage de la glucosamine fongique, dans les racines des plants inoculés par *Rhizopogon rubescens* ou *Suillus collinitus* alors que cet effet n'est significatif ni avec *Laccaria bicolor* ni avec *Hebeloma cylindrosporum* [7, 8].

Les effets négatifs de la fertilisation phosphatée sur le degré de colonisation des racines par le mycélium des champignons ectomycorhiziens seraient le résultat d'un ou de plusieurs des mécanismes suivants :

(i) *Effet direct du phosphore sur la croissance du mycélium*

Le phosphore, apporté essentiellement sous forme minérale soluble (H_2PO_4) dans le milieu de culture du mycélium *in vitro* ou dans la solution fertilisante des plants mycorhizés, est indispensable à la croissance du mycélium végétatif des champignons. La biomasse mycélienne est stimulée par des apports croissants en P dans le milieu de culture jusqu'à une concentration en P qui détermine une croissance mycélienne optimale et qui varie en fonction de l'espèce fongique [3, 9, 26]. Des inhibitions de la croissance *in vitro* du mycélium de certains champignons ectomycorhiziens ont été observées suite à des apports de P supérieurs à ces concentrations optimales [12].

Dans notre étude, une stimulation de la biomasse mycélienne totale présente dans les racines a été observée chez les Cèdres fertilisés avec $43,4 \text{ mg l}^{-1}$ de P par comparaison avec les plants non fertilisés en phosphore. Cependant, l'apport de P $86,8 \text{ mg l}^{-1}$ réduit les teneurs en mycélium de *T. tridentinum* dans les racines des Cèdres mycorhizés, par comparaison avec les plants fertilisés par P $43,4 \text{ mg l}^{-1}$ ou ceux n'ayant pas reçu de P (figure 1). Cette réduction des teneurs en mycélium associé aux racines ne peut pas être expliquée par un effet du P sur la production de biomasse racinaire puisque cet effet n'est pas statistiquement significatif chez les Cèdres mycorhizés (tableau I).

L'effet de fertilisations élevées en P sur la croissance mycélienne dans le substrat de culture (mélange attapulgite-perlite-vermiculite) n'a pas été évalué dans cette étude. Pour leur part, Ekblad et al. [10] ont mesuré une production maximale de biomasse extramatricielle de *Paxillus involutus* dans les substrats de culture de *Pinus sylvestris* et d'*Alnus incana* pour des apports faibles en phosphore et élevés en autres nutriments (N, K). Un faible apport de P pendant 8 semaines a stimulé la production de mycélium extramatriciel d'*Hebeloma crustuliniforme*, *Laccaria bicolor* ou *Suillus bovinus* associé aux

racines de *Pinus sylvestris* [42]. Des résultats similaires ont été observés dans d'autres associations ectomycorhiziennes [14]. Il est toutefois difficile de dissocier l'effet direct du P sur la croissance mycélienne d'un effet éventuel indirect sur les composantes physiques, physico-chimiques et biologiques de la rhizosphère dans ces dispositifs expérimentaux. Thompson et al. [37] ont indiqué que les effets négatifs du P sur la croissance de *Glomus fasciculatum* et de *Gigaspora calospora* dans les racines mycorhizées de *Trifolium subterraneum* sont corrélés avec la diminution de la concentration en glucides d'extraits et exsudats racinaires des plantes hôtes. Consécutivement à un apport en P de 0,5 mM, une diminution des quantités de sucres solubles et d'amidon présents dans les racines de plants de Pin maritime mycorhizés par *Rhizopogon rubescens*, *Suillus collinitus* ou *Laccaria bicolor* a aussi été observée, cette diminution étant significative dans la première association [7].

(ii) *Effet du phosphore sur la croissance et la ramification du système racinaire*

Le niveau de fertilité minérale dans les sols ou substrats de culture peut affecter la croissance et le développement des systèmes racinaires [5, 6]. En effet, de faibles niveaux de nutriments dans les substrats de culture conduisent généralement à une augmentation de l'allocation du carbone vers les systèmes racinaires aux dépens des parties aériennes de la plante [2, 33]. Bien que peu de travaux aient porté sur l'effet spécifique du phosphore sur l'architecture racinaire, Fitter et al. [11] ont observé que les systèmes racinaires de *Trifolium pratense* tendent à adopter une ramification intense en « arêtes de poisson » lorsque les apports en N et en P sont très faibles.

Cependant, l'effet d'apports croissants en P sur la croissance des systèmes racinaires de Cèdres inoculés par *T. tridentinum* n'est pas significatif (tableau II). L'observation des systèmes racinaires des Cèdres non fertilisés par du phosphore soluble montre qu'ils présentent peu de racines latérales courtes par comparaison avec ceux fertilisés par $43,4 \text{ mg l}^{-1}$ ou $86,8 \text{ mg l}^{-1}$ de P. Nous n'avons pas quantifié les effets de la fertilisation phosphatée sur l'architecture racinaire des semis de Cèdre ni sur l'anatomie des racines latérales. De telles données apporteraient toutefois des éléments de compréhension des effets du P sur l'établissement des mycorhizes sachant qu'une réduction du pourcentage d'apex mycorhizés peut résulter, au moins en partie, d'une diminution du nombre de racines latérales courtes réceptives à l'infection. De tels effets ont été, par exemple, observés en faisant varier la forme et la concentration de l'azote apporté aux plants de Cèdre [5, 6].

(iii) *Effet du P sur l'interaction entre les racines réceptives et le partenaire fongique*

De faibles niveaux de phosphore dans le sol favorisent la mycorhization des plantes et, par conséquent, la satisfaction de leurs besoins en cet élément [13]. On ignore la nature exacte des signaux qui seraient impliqués dans ce phénomène et le rôle que jouerait le phosphore dans ces mécanismes. Thompson et al. [37] ont estimé que les effets de l'apport de P sur le degré d'infection des racines sont davantage reliables aux changements du statut phosphaté de la plante qu'à ceux du sol ou du substrat de culture. Les résultats du dosage de phosphore total dans les racines, qui ne montrent pas de différences significatives entre plants inoculés et fertilisés ou non par P (*tableaux II et III*), ne peuvent expliquer les différences observées dans le degré de mycorhization des plants (*figure 1*). Enfin, un apport élevé en P comme en N et K solubles induirait une diminution des teneurs en sucres solubles dans les racines, ce qui représenterait un facteur de moindre réceptivité à l'infection [22].

Tous traitements confondus ($n = 30$), les pourcentages d'apex racinaires mycorhizés par *Tricholoma tridentinum* n'ont été significativement corrélés ni avec les teneurs en mycélium total ($r^2 = 0,4$) et viable ($r^2 = 0,2$), ni avec les quantités moyennes de mycélium dans les racines. Toutefois, une bonne corrélation ($r^2 = 0,7$, $n = 30$) a été obtenue entre les quantités moyennes de mycélium total et de mycélium viable par système racinaire (résultats non présentés). Ekblad et al. [10] ont observé une bonne corrélation entre les teneurs en ergostérol des racines de *Pinus sylvestris* et d'*Alnus incana* et les scores mycorhiziens attribués subjectivement aux systèmes racinaires après examen visuel au stéréo-microscope des apex mycorhizés. Soulignons que les dosages de la chitine et de l'ergostérol des racines permettent d'appréhender de façon complémentaire le degré de mycorhization des racines.

Les pourcentages moyens d'apex racinaires de semis de Cèdre, mycorhizés par *T. tridentinum* obtenus 6 mois après inoculation en pépinière sont nettement plus faibles que ceux obtenus avec ce même partenaire fongique en chambre climatisée un an après l'inoculation (environ 55 %) [5].

4.2. Effet de la fertilisation phosphatée et de l'inoculation par *T. tridentinum* sur la croissance et la nutrition phosphatée et azotée des Cèdres

Croissance

L'apport de phosphore soluble dans la solution fertilisante a stimulé de manière significative la production de

biomasse sèche dans les parties aériennes et racinaires des Cèdres non inoculés mais n'a pas modifié la répartition de la biomasse entre ces deux compartiments (*tableau I*). Les différences entre les trois traitements de fertilisation en P, observées chez les plants témoins, ont disparu chez les plants inoculés. Ceci suggère que la mycorhization compenserait le déficit de croissance initiale induit par l'absence de phosphore dans la solution fertilisante. Toutefois, les différences de biomasse entre les plants inoculés et les témoins n'ont pas été statistiquement significatives quel qu'ait été le niveau de fertilisation en P (*tableau I*).

Ces résultats concordent avec ceux d'Ekblad et al. [10] qui ont montré qu'un faible apport de P associé à un niveau élevé en N stimule la production de biomasse par les plants de *Pinus sylvestris* non inoculés sans modifier le rapport de la biomasse des parties aériennes à celle des racines. L'absence d'effet de la fertilisation phosphatée sur la biomasse des plants inoculés a été aussi observée par d'autres auteurs dans diverses associations ectomycorhiziennes et conditions expérimentales [8, 41].

Le fait que le déficit en P n'a pas conduit à une forte production de biomasse racinaire pour améliorer le prélèvement de P, suggère une dépendance étroite de l'espèce hôte de la mycorhization pour ce prélèvement. La plante réagirait au déficit en P par une augmentation des biomasses mycéliennes viables extramatricielle et intra-racinaire. Les résultats que nous avons obtenus avec *Cedrus atlantica* (*figure 1C*) soutiennent cette hypothèse et concordent avec ceux d'Ekblad et al. [10] enregistrés avec *Pinus sylvestris*.

La mycorhization par *T. tridentinum* n'a pas stimulé la production de biomasse dans les parties aériennes et souterraines des Cèdres, quel qu'ait été l'apport de P (0, 43,4 ou 86,8 mg l⁻¹). D'autres études sur les effets combinés de la mycorhization et de la fertilisation phosphatée sur la croissance des plantes hôtes dans d'autres associations symbiotiques ont indiqué des résultats contraires à ceux obtenus chez le Cèdre de l'Atlas. Ainsi, Powell [34] a relevé une production de biomasse sèche dans des plants de *Trifolium repens* endomycorhizés, supérieure à celle mesurée dans les plants témoins, notamment à de faibles niveaux en P externe. Une stimulation de la croissance de plants de Luzerne suite à la mycorhization a été obtenue en absence d'apport de P [15]. La réponse des plants de *Trifolium subterraneum* à l'inoculation par des champignons endomycorhiziens dépend du niveau de fertilisation en P. Quand ils sont significatifs, les effets de la mycorhization sur la croissance des plantes hôtes peuvent être interprétés en terme d'amélioration du prélèvement du phosphore [37].

Contenus en phosphore et en azote

Les teneurs en P des aiguilles des plants de Cèdre de l'Atlas ont été comprises entre 0,31 et 0,40 % de la matière sèche (pourcentages calculés à partir des données du *tableau II*). Ces teneurs sont supérieures aux teneurs optimales déterminées par Argillier (communication personnelle) pour des plants de moins d'un an cultivés en godets de pépinière (0,20–0,24 %). Les Cèdres inoculés ou non n'ont donc pas présenté de carence en P à l'issue d'une saison de végétation dans les conditions expérimentales que nous avons adoptées en pépinière.

L'inoculation des Cèdres par *T. tridentinum* n'a permis d'améliorer significativement ni les teneurs ni les quantités de phosphore total dans leurs parties aériennes ou racinaires quelle qu'ait été la concentration en P dans la solution fertilisante (*tableaux II et III*). Or, il a été démontré que la symbiose ectomycorhizienne améliore généralement la nutrition phosphatée des plantes ligneuses, surtout dans des conditions limitantes en P disponible [13, 29].

L'absence d'effet de la mycorhization sur le contenu en phosphore des Cèdres inoculés peut être le résultat d'une faible efficacité d'acquisition du phosphore par le champignon ectomycorhizien associé. En effet, des différences dans l'efficacité des isolats à acquérir le phosphore ont été observées chez de nombreuses espèces ectomycorhiziennes [7] ou endomycorhiziennes [32]. Elle est aussi le reflet d'une situation de « satiété » en P traduite par les valeurs relativement élevées des teneurs en P des parties aériennes.

Il est probable que la forme de phosphore utilisée, qui est directement assimilable par la plante, soit à l'origine d'une faible contribution relative du partenaire fongique dans la nutrition phosphatée de la plante hôte. Les différences non significatives observées entre les teneurs en P total des différents organes des Cèdres fertilisés avec 43,4 mg l⁻¹ ou 86,8 mg l⁻¹ de P soluble (*tableaux II et III*) malgré les teneurs différentes de leurs racines en mycélium ectomycorhizien (*figures 1B et 1C*), seraient en faveur de cette hypothèse. Toutefois, la présence du partenaire fongique au niveau des racines des Cèdres permet d'effacer les différences observées entre les quantités de P total dans les racines des plants non inoculés qu'ils soient ou non fertilisés par P (*tableau III*).

Les teneurs relativement élevées en P total des plants non inoculés et n'ayant pas reçu de phosphore depuis la période d'inoculation, résultent de la fertirrigation en P durant le premier mois après le semis (N-P₂O₅-K₂O 12-2-12 à 0,5 %) et aussi du P présent dans les graines de Cèdre et dans l'inoculum ectomycorhizien déposé au niveau des racines. Ce phosphore n'a cependant pas été quantifié dans ce travail.

Les teneurs en azote des aiguilles des plants de Cèdre ont été comprises entre 1,50 et 1,76 % de la matière sèche (pourcentages calculés à partir des données du *tableau IV*). Ces valeurs sont supérieures à la gamme des teneurs optimales en N (1,0–1,4 %, d'après Argillier, communication personnelle) pour des plants cultivés en pépinière. Les Cèdres inoculés ou non ne présentent donc pas de carence en N à l'issue d'une saison de végétation dans les conditions expérimentales que nous avons adoptées en pépinière.

Bien que la fertilisation en azote a été la même pour tous les plants, l'inoculation des semis de Cèdre par *Tricholoma tridentinum* améliore de façon significative les teneurs en azote total dans leurs racines en présence d'un apport externe de phosphore soluble (*tableau IV*). L'effet de la mycorhization sur la nutrition azotée des plants inoculés, en présence ou non de P externe, a été mis en évidence chez le Pin maritime mais le sens (positif ou négatif) et l'intensité de cet effet varient en fonction de l'espèce fongique inoculée et de l'apport ou non de P [7, 8] : la mycorhization du Pin par *Suillus collinitus* ou *Laccaria bicolor* augmente les teneurs en N total dans ses racines, quel que soit le niveau phosphore externe, ce qui n'est pas le cas avec *Rhizopogon rubescens* ou *Hebeloma cylindrosporium*.

Tricholoma tridentinum favorise l'accumulation de l'azote dans les racines des plants lorsque la fertilisation en P est élevée (*tableau V*). Cette accumulation de l'azote dans les racines peut résulter soit d'une translocation vers les parties souterraines, soit d'une absence de translocation vers les parties aériennes, soit d'une remobilisation du N des parties aériennes vers les racines [2, 7]. Cette dernière hypothèse ne semble pas vérifiée dans l'association ectomycorhizienne *C. atlantica* / *T. tridentinum*. En effet, l'accumulation de l'azote dans les racines n'a affecté significativement ni les teneurs ni les quantités d'azote total dans les parties aériennes des Cèdres inoculés ou non (*tableaux IV et V*). Ceci suggère que le supplément d'azote absorbé par la plante en présence du partenaire fongique s'accumulerait dans les hyphes de celui-ci et expliquerait le fait que l'amélioration du statut azoté des semis de Cèdre suite à l'inoculation n'affecte ni la production de biomasse des parties aériennes, ni celle des racines.

5. CONCLUSION

La concentration en phosphore soluble de la solution fertilisante a affecté de façon significative le degré de colonisation des racines de semis de Cèdre inoculés en pépinière par du mycélium de *Tricholoma tridentinum*. Une fertilisation par P 86,8 mg l⁻¹, concentration en P

double de celle des solutions classiquement utilisées en pépinière expérimentale, a réduit significativement le pourcentage moyen d'apex racinaires mycorhizés et les teneurs des racines en mycélium. Les degrés de mycorhization les plus élevés ont été obtenus chez les Cèdres fertilisés dès la troisième semaine qui a suivi l'inoculation et durant deux mois et demi, par une solution contenant P 43,4 mg l⁻¹, N 600 mg l⁻¹ et K 499 mg l⁻¹. La mycorhization des Cèdres par *T. tridentinum* n'a affecté, de manière significative, ni leur croissance ni les contenus en phosphore de leurs tissus six mois après l'inoculation.

À l'issue d'une saison de végétation en pépinière, les plants de Cèdre présentaient des caractéristiques dimensionnelles (hauteur moyenne de la tige principale supérieure ou égale à 11 cm) et nutritionnelles (teneurs en P et en N supérieures aux valeurs optimales) conformes aux normes de qualité requises pour la production de plants en godets dans la région méditerranéenne, tout en présentant des degrés convenables de mycorhization par une espèce caractéristique de la cédraie, *T. tridentinum* var. *cedretorum*.

Le choix du type de fertilisation phosphatée à appliquer après l'inoculation doit être combiné avec une prédisposition efficace des racines à l'infection qui est réalisé par le choix d'un substrat favorisant une bonne régénération racinaire et par l'application d'une fertilisation où la source d'azote est exclusivement nitrrique [Ca(NO₃)₂], préalablement à l'apport de l'inoculum fongique [5, 6]. Ceci devrait permettre d'améliorer les faibles pourcentages d'apex racinaires mycorhizés obtenus en pépinière sur les semis de Cèdre. Il serait particulièrement intéressant d'étudier l'effet de la forme de phosphate apportée (par exemple, les phosphates naturels) sur la mycorhization des semis de Cèdre en pépinière. L'étude des concentration et forme optimales de N soluble et de la période d'application de cette fertilisation azotée s'avère aussi utile de manière à optimiser l'itinéraire technique de production de plants de Cèdre mycorhizés.

Remerciements : Ce travail a été réalisé dans le Programme de Recherche Agronomique pour le Développement (PRAD) Maroc-France 97-10 (1997-1998) et le Contrat ERBIC 18-CT 97-0197 (MYRISME) (INCO-DC, CE DG XII) (1998-2001). L'un des auteurs (H. Boukcim) a bénéficié d'une allocation de thèse délivrée par le Ministère français des Affaires Étrangères. Les auteurs remercient Patrice Brahic, responsable de la Pépinière administrative des Milles (DDAF des Bouches-du-Rhône, France) où s'est déroulée l'expérimentation, pour son efficace collaboration. Les auteurs remercient aussi Serge Conventi, Catherine Bonnin et Guy Ruiz pour leur aide technique lors de la mise en place ou du dépouillement de l'essai.

RÉFÉRENCES

- [1] Abourouh M., Essai de mycorhization en pépinière par les spores de *Pisolithus tinctorius*, Ann. Rech. For. Maroc 26 (1993) 126-137.
- [2] Améziane R., Limami M.A., Noctor G., Morot-Gaudry J.F., Effect of nitrate concentration during growth on carbon partitioning and sink strength in chicory, J. Exp. Bot. 46 (Suppl.) (1995) 1423-1428.
- [3] Athanassiou Z., Contribution à l'étude des mycorhizes du Pin d'Alep, Thèse Docteur Ingénieur, Université Paris-Sud, Orsay, 1979.
- [4] Bougher N.L., Grove T.S., Malajczuk N., Growth and phosphorus acquisition of karri (*Eucalyptus diversicolor* F. Muell.) seedlings inoculated with ectomycorrhizal fungi in relation to phosphorus supply, New Phytol. 114 (1990) 77-85.
- [5] Boukcim H., Essai de mycorhization contrôlée du Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti), Thèse de Doctorat, École Nationale du Génie Rural des Eaux et Forêts, Paris, 1999.
- [6] Boukcim H., Pagès L., Plassard C., Mousain D. Effects of N-fertilization on root system architecture and receptivity to mycorrhizal infection of cedar seedlings, Tree Physiol. (in press).
- [7] Conjeaud C., Étude de l'influence de l'ectomycorrhization sur l'utilisation du carbone par le Pin maritime (*Pinus pinaster*). Interactions avec les nutriments phosphatée et azotée, Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II, Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, 1996.
- [8] Conjeaud C., Scheromm P., Mousain D., Effects of phosphorus and ectomycorrhiza on maritime pine seedlings (*Pinus pinaster*), New Phytol. 133 (1996) 345-351.
- [9] Duclos J.L., Contribution à l'étude expérimentale des endomycorhizes des Ericacées. Etude sur *Erica carnea* L., et quelques variétés horticoles : aspects nutritionnels et ultrastructuraux, Thèse de Doctorat, Université Claude-Bernard, Lyon I, 1981.
- [10] Ekblad A., Wallander H., Carlsson R., Huss-Danell K., Fungal biomass in roots and extramatrical mycelium in relation to macronutrients and plant biomass of ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* and *Alnus incana*, New Phytol. 131 (1995) 443-451.
- [11] Fitter A.H., Nichols R., Harvey M.L., Root system architecture in relation to life history and nutrient supply, Functional Ecol. 2 (1988) 345-351.
- [12] Giltrap L.J., Lewis D.H., Inhibition of growth of ectomycorrhizal fungi in culture by phosphate, New Phytol. 87 (1981) 669-675.
- [13] Harley J.L., Smith S.E., Mycorrhizal symbiosis, Academic Press, New York, 1983.
- [14] Jones M.D., Durall D.M., Tinker P.B., Phosphorus relationships and production of extramatrical hyphae by types of willow ectomycorrhizas at different soil phosphorus levels, New Phytol. 115 (1990) 259-267.
- [15] Lambert D.H., Cole H., Baker D.E., Variation in the response of Alfalfa clones and cultivars to mycorrhizae and phosphorus, Crop Sci. 20 (1980) 615-618.

- [16] Le Tacon F., Alvarez I.F., Bouchard B., Henrion B., Jackson R.M., Luff S., Parlade J.I., Pera J., Stenström E., Villeneuve N., Walker C., Variations in Field Response of Forest Trees to Nursery Ectomycorrhizal Inoculation in Europe, in: Lewis D.H., Fitter A.H., Alexander I.J. (Eds.), *Mycorrhizas in Ecosystems*, University of Sheffield, 1992, pp. 119–134.
- [17] M'Hirit O., Le Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti). Présentation générale et état des connaissances à travers le réseau *Silva Mediterranea* « Le Cèdre », Ann. Rech. For. Maroc 27 (Suppl.) (1994) 5–21.
- [18] Mac Fall J., Slack S.A., Effects of *Hebeloma arenosa* and phosphorus fertility on growth of red Pine (*Pinus resinosa*), Can. J. Bot. 69 (1991) 372–379.
- [19] Martin F., Winspear J., Macfarlane D., Oaks A., Effect of methionine and sulfomixine on the accumulation of ammonia in C₃ and C₄ leaves. The relationship between NH₃ accumulation and photorespiratory, Plant Physiol. 71 (1983) 177–181.
- [20] Martin F., Delaruelle C., Hilbert J.L., An improved ergosterol assay to estimate fungal biomass in ectomycorrhizas, Mycol. Res. 94 (8) (1990) 1059–1064.
- [21] Marx D.H., The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria, Phytopathology 59 (1969) 153–163.
- [22] Marx D.H., Hatch A.B., Mendicino J.F., High soil fertility decreases sucrose content and susceptibility of loblolly pine roots to ectomycorrhizal infection by *Pisolithus tinctorius*, Can. J. Bot. 55 (1977) 1569–1574.
- [23] Mc Donald M.S., A simple and improved method for the determination of microgram quantities of nitrogen in plant material, Ann. Bot. 42 (1978) 363–366.
- [24] Mikola P., Boisements des zones nues. Techniques et valeurs de l'inoculation mycorrhizienne, Unasylva 23 (1969) 35–47.
- [25] Mousain D., Étude de la nutrition phosphatée de symbiotes ectomycorhiziens, Thèse de Doctorat d'État, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, 1989.
- [26] Mousain D., Salsac L., Effet du phosphate et du calcium sur la croissance et l'accumulation ionique chez les champignons ectomycorhiziens en culture *in vitro*, Can. J. Bot. 62 (1984) 2600–2609.
- [27] Mousain D., Falconnet G., Gruez J., Chevalier G., Tillard P., Bousquet N., Plassard C., Cleyet-Marel J.C., Controlled ectomycorrhizal development of mediterranean forest seedlings in the nursery. Firsts results and prospects, in: North America Conference On Mycorrhiza, Gainesville, Florida, May 1988.
- [28] Mousain D., Plassard C., Argillier C., Sardin T., Leprince F., El Karkouri K., Arvieu J.C., Cleyet-Marel J.C., Stratégie d'amélioration de la qualité des plants forestiers et des reboisements méditerranéens par utilisation de la mycorrhization contrôlée en pépinière, Acta bot. Gallica 141 (1994) 571–580.
- [29] Mousain D., Matumoto-Pintro P., Quiquampoix H., Le rôle des mycorhizes dans la nutrition phosphatée des arbres forestiers, Rev. For. Fr. XLIX (Suppl.) (1997) 67–81.
- [30] Nezzar-Hocine H., Associations mycorrhiziennes naturelles de *Cedrus atlantica* dans le massif de Djurdjura (Algérie) et mycorrhization contrôlée, Thèse de Doctorat, Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand, 1998.
- [31] Nezzar-Hocine H., Perrin R., Halli-Hargas R., Chevalier G., Ectomycorrhizal associations with *Cedrus atlantica* (Endl)Manetti ex Carrière. I. Mycorrhizal synthesis with *Tricholoma tridentinum* Singer var. *cedretorum* Bon, Mycorrhiza 8 (Short note) (1998) 47–51.
- [32] Pearson J.N., Jakobson I., Symbiotic exchange of carbon and phosphorus between cucumber and three arbuscular mycorrhizal fungi, New Phytol. 124 (1993) 481–488.
- [33] Poorter H., Van de Vijver C.A.D.M., Boot R.G.A., Lambers H., Growth and carbon economy of a fast-growing and a slow-growing grass species as dependent on nitrate supply, Plant and Soil 171 (1995) 217–227.
- [34] Powell C.L., Phosphate response curves of mycorrhizal and non-mycorrhizal plants. I. Responses to superphosphate, N. Z. J. Agric. Res. 23 (1980) 225–231.
- [35] Ruehle J.L., Marx D.H., Abourouh M., Development of *Pisolithus tinctorius* and *Thelephora terrestris* ectomycorrhizae on seedlings of coniferous trees important to Morocco, Ann. Rech. For. Maroc 21 (1981) 283–296.
- [36] Taussky H.H., Shorr E., A microcolorimetric method for the determination of inorganic phosphorus, J. Biol. Chem. 202 (1953) 675–685.
- [37] Thompson B.D., Robson A.D., Abott L.K., Effects of phosphorus on the formation of mycorrhizas by *Gigaspora calospora* and *Glomus fasciculatum* in relation to root carbohydrates, New Phytol. 103 (1986) 751–765.
- [38] Toth J.C., Le Cèdre de l'Atlas en France : croissance et production dans les dispositifs anciens, Ann. Rech. For. Maroc 27 (1994) 323–335.
- [39] Trappe J.M., Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries, Ann. Rev. Phytopathol. 15 (1977) 203–222.
- [40] Vignon C., Plassard C., Mousain D., Salsac L., Assay of fungal chitin and estimation of mycorrhizal infection, Physiol. Vég. 24 (1986) 201–207.
- [41] Tyminska A., Le Tacon F., Effect of three ectomycorrhizal fungi on growth and phosphorus uptake of *Pinus sylvestris* seedlings at increasing phosphorus levels, Can. J. Bot. 64 (1986) 2753–2757.
- [42] Wallander H., Nylund J.E., Effects of excess nitrogen and phosphorus starvation on the extramatrical mycelium of ectomycorrhizas of *Pinus sylvestris* L., New Phytol. 120 (1992) 495–503.