

<i>Avant propos</i>	1
<i>Synthèse des travaux scientifiques</i>	3
INTRODUCTION GENERALE	4
Chapitre I. La symbiose mycorhizienne au sein de la flore de Madagascar.....	7
I.1. La symbiose mycorhizienne chez les espèces d'arbres et d'arbustes dominantes dans les écosystèmes forestiers de Madagascar	8
<i>I.1.1. Statut mycorhizien des arbres et arbustes dominantes des forêts littorales de la partie orientale de Madagascar</i>	8
<i>I.1.2. Statut mycorhizien des arbres et arbustes dominantes des forêts de basse altitude de l'Est et de la forêt sclérophylle du haut plateau de Madagascar</i>	12
<i>I.1.3. Dominance des structures mycorhiziennes chez les arbres et arbustes endémiques de Madagascar</i>	16
Chapitre II. Les plantes exotiques et leur symbiotes fongiques : menaces ou bénéfiques pour la régénération des essences forestières natives de Madagascar	19
II.1. Les impacts négatifs de la plantation d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> et de <i>Pinus patula</i> sur la régénération d' <i>Uapaca bojeri</i>	20
<i>II.1.1. Approche d'étude</i>	20
<i>II.1.2. Impacts de l'invasion sur les caractères physico-chimiques du sol</i>	22
<i>II.1.3. Impacts de l'invasion sur le développement et sur le taux de colonisation ectomycorhizienne des plantules d'<i>U. bojeri</i></i>	23
II.2. La plantation d' <i>Acacia mangium</i> Willd. et ses impacts sur la régénération d' <i>Intsia bijuga</i> Kuntze.	25
<i>II.2.1. Adaptation d'<i>A. mangium</i> aux conditions biotiques des écosystèmes forestiers de Madagascar</i>	26
<i>II.2.2. Impact de la colonisation du sol par <i>A. mangium</i> sur le développement d'<i>Intsia bijuga</i> dans la partie orientale de Madagascar</i>	29
Chapitre III. Le phénomène de plante nurse et la régénération des essences forestières natives de Madagascar: implication de la symbiose mycorhizienne	36
III.1. Facilitation de la régénération d' <i>Uapaca bojeri</i> par les espèces arbustives ectotrophes pionnières des zones dégradées : cas de <i>Sarcolaena oblongifolia</i>	36
<i>III.1.1. Approches d'études</i>	37
<i>III.1.2. Développement des plantules d'<i>U. bojeri</i> sous l'influence des trois structures différentes de communauté ectomycorhizienne</i>	42
Chapitre IV. La technologie de mycorhization : impacts sur la communauté microbienne du sol et sur le développement des plantes	47
IV.1. Structure et fonctionnement des microorganismes du sol suivant l'établissement de la symbiose ectomycorhizienne chez <i>Uapaca bojeri</i>	48
<i>IV.1.1. Compartimentation microbiologique des sols par l'établissement de la symbiose ectomycorhizienne</i>	48

IV.2. Mycorhization contrôlée d' <i>Uapaca bojeri</i> : impacts sur le développement de la plante	51
IV.2.1. Dispositif expérimental	52
IV.2.2. Développement et taux de mycorhization des plantules d' <i>U. bojeri</i>	53
Chapitre V. Perspectives de recherche	55
V.1. Contexte et objectif des travaux de recherche	55
V.2. Les programmes de recherche poursuivis et/ou à entreprendre.....	56
V.2.1. Fonctionnement symbiotiques des écosystèmes forestiers à Madagascar (Programme en cours sur financement de l'AIRD à travers le programme « Jeunes Equipes Associées à l'IRD »).	56
V.2.2. Aspects microbiologiques de la conservation des espèces de plantes cibles du projet d'exploitation minière Ambatovy (Projet en cours sur financement du Projet Ambatovy).	56
V.2.3. La symbiose mycorhizienne au service de la méthode Miyawaki pour une conservation et valorisation durable des ressources forestières à Madagascar (Programme en collaboration avec le LSTM de l'IRD).....	57
V.2.4. Gestion de la fertilité du sol dans le système de culture de riz pluvial de moyenne altitude du centre et du centre Ouest de Madagascar : importance de la diversité de champignons mycorhiziens et des espèces de plantes associées	57
V.2.5. Recherche – Développement sur la conservation, valorisation et gestion durable de la forêt naturelle de Vohilahy – Ranomafana Est	57
V.2.6. Production de champignons comestibles à Madagascar (Programme soutenu simultanément par le Département Expertises et Valorisation de l'IRD et par le Programme Bond'innov)	58
Références bibliographiques	59

Liste des abréviations

ACP. Analyse en Composante Principale

ADN. Acide Desoxyribo Nucléique

AFRINOM. African Network on Mycorrhiza

AIRD. Agence de l'Institut de Recherches pour le Développement

BES. British Ecological Society

BGA. Between Group Analysis

CI. Conservation International

CNRE. Centre National de recherches sur l'Environnement

CTAB. Cetylammmoniumbromide

DEA. Diplôme d'Etudes Approfondies

DESS. Diplôme d'Etudes Supérieur Spécialisées

DMR. Dépendance Mycorhizienne Relative

EC. Ectomycorhize

EDTA. Ethylene, Diamine Tetracetic Acid

FDA. Fluorescein diacetate

FOFIFA. Centre National de Recherches Appliquées au développement Rural

GRENE. Gestion des Ressources Naturelles et de l'Environnement

HACCP. Hazard Analysis Critical Control Point

IFS. International Foundation for Science

IRD. Institut de Recherche pour le Développement

ISRIC. Centre International de Référence et d'Information sur le Sol

ITS. Internal Transcribed Spacer

JEAI. Jeunes Equipes Associées à l'IRD

LME. Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement

LMI. Laboratoire Mixte International

LSTM. Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes

MA. Mycorhize à arbuscules ou Mycorhize arbusculaire

MADASYM. Madagascar Symbiose

MEFT. Ministère de l'Environnement des Forêts et du Tourisme

MNM. Melin and Norkrans modified by Mark

NCBI. National Center for Biotechnology Information

PARRUR. Partenariat et Recherches dans le Secteur Rural

PEERS : Programme d'Excellence pour l'Enseignement et la Recherche au Sud

pH. Potentiel d'Hydrogène

PLARM. Plantes Aromatiques de Madagascar

RFLP. Restriction Fragment Length Polymorphism

SNGF. Silo National des Graines Forestières

U.E. Unité d'Enseignement

USAID. United States Agency for International Development

Liste des tableaux

Tableau 1. Statut mycorhizien des plantes de cinq forêts littorales (Mandena, Petriky, Sainte Luce, Mahatsara, Tampolo) de la côte Est de Madagascar

Tableau 2. Statut mycorhizien des arbres et arbustes des forêts de basse altitude (Anlalava et Ianjomara) de la côte Est et de la forêt sclérophylle du haut plateau de Madagascar

Tableau 3. Caractéristiques chimiques et biochimiques des sols colonisés par chacune des trois espèces de plantes (*Uapaca bojeri*, *Eucalyptus camaldulensis* et *Pinus patula*) et du sol témoin

Tableau 4. Développement et taux d'ectomycorhization des plantules d'*U. bojeri* après cinq mois de culture sur les sols de provenance différente (sous *U. bojeri*, sous *E. camaldulensis*, sous *P. patula* et sol témoin)

Tableau 5. Identification par séquençage de la région ITS des types RFLP récoltés sur les plantules d'*U. bojeri* après cinq mois de culture sur des sols de provenance différente (*U. bojeri*, *E. camaldulensis*, *P. patula* et sol témoin)

Tableau 6. Origine et plante hôte d'isolement des quatre souches ectomycorhiziennes utilisées

Tableau 7. Effet de l'inoculation sur le développement d'*A. mangium* après cinq mois de culture et dépendance mycorhizienne de la plante vis-à-vis de quatre souches ectomycorhiziennes d'origine différente sous condition contrôlée

Tableau 8. Effet de l'inoculation par les quatre souches ectomycorhiziennes d'origine différente sur le développement d'*A. mangium* sur le sol sans traitement préalable

Tableau 9. Caractéristiques physico-chimiques du sol de culture

Tableau 10. Caractéristiques physico-chimiques du sol après le passage d'*A. mangium*

Tableau 11. Développement et taux d'ectomycorhization d'*I. bijuga* sur les deux lots de sol après quatre mois de culture

Tableau 12. Caractéristiques morphologiques des morphotypes d'ectomycorhize récoltés sur les deux plantes (*A. mangium* et *I. bijuga*)

Tableau 13. Modèle d'échantillonnage, structure et diversité de la communauté de champignons ectomycorhiziens associée aux deux plantes hôtes

Tableau 14. Identification par la séquence de la région ITS des types RFLP récoltés sur *U. bojeri* et/ou *S. oblongifolia*

Tableau 15. Développement des plantules d'*U. bojeri* après 5 mois de culture sur des sols prélevés à différentes distances d'un pied adulte de cet arbre

Tableau 16. Fréquence relative des types RFLP récoltés sur les systèmes racinaires des plantules d'*U. bojeri* après 5 mois de culture sur chaque type de sol

Tableau 17. Concentrations des substrats carbonés utilisés pour évaluer le potentiel catabolique in situ de la communauté microbienne de chaque compartiment du sol

Tableau 18. Richesse et diversité catabolique, nombre de *Pseudomonas* fluorescent, de bactéries solubilisatrices de phosphate et de bactéries productrices de lipase extracellulaire dans chaque compartiment du sol.

Tableau 19. Développement des plantules et dépendance mycorhizienne relative d'*U. bojeri* après 5 mois d'inoculation par *Glomus intraradices* et/ou *Scleroderma SCI* dans des pots de culture

Liste des figures

Figure 1. Localisation de la forêt de Sainte Luce, de Mandena et de petriki

Figure 2. Structure de la communauté ectomycorhizienne associée aux plantules d'*U. bojeri* après cinq mois de culture dans des sols de provenance différente (*U. bojeri*, *E. camaldulensis*, *P. patula* et sol témoin).

Figure 3. Croissance en hauteur d'*A. mangium* sous l'influence de souches ectomycorhiziennes d'origine différente en condition contrôlée

Figure 4. Activité microbienne globale et activité phosphatasique du sol avant et après passage d'*A. mangium*

Figure 5. Impact de la colonisation du sol par *A. mangium* sur la population de *Pseudomonas* fluorescents, les bactéries solubilisatrices de phosphate et sur les Actinomycètes (T0 : Sol non colonisé ; T1, sol colonisé par *A. mangium* pendant 4 mois)

Figure 6. Développement en hauteur d'*I. bijuga* sur les deux lots de sol durant les quatre premiers mois de culture

Figure 7. Distribution des symbiotes ectomycorhiziens entre *Uapaca bojeri* et *Sarcolaena*

oblongifolia exprimée par le pourcentage de types RFLP et par le pourcentage du nombre total des bouts racinaires ectomycorhizés

Figure 8. Fréquence relative de chaque type RFLP identifié au niveau du système racinaire de *S. oblongifolia* et d'*U. bojeri*.

Figure 9. Taux de mortalité des plantules d'*U. bojeri* cultivées sur des sols prélevés à différentes distances d'un pied adulte de cet arbre

Figure 10. Expression du développement et du taux d'ectomycorhization des plantules d'*U. bojeri* selon la distance des points de prélèvement des sols par rapport à un pied adulte d'*U. bojeri* selon l'Analyse en Composante Principale (ACP)

Figure 11. Réponse des microorganismes de chaque compartiment du sol aux différents substrats inducteurs de respiration.

Avant propos

En 2005, après mes trois années d'activités scientifiques entreprises entre le Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement (LME), nouvellement créé au sein du CNRE à l'époque, le Laboratoire de Biotechnologie-Microbiologie de la Faculté des Sciences – Université d'Antananarivo et le Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (LSTM) de l'IRD, j'ai soutenu ma thèse de Doctorat en Biochimie à la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo et j'ai intégré l'équipe du LME en tant que « chercheur associé ». Ma participation dans différents programmes de recherche entrepris au sein dudit laboratoire m'a permis de continuer à travailler sur l'écologie de la symbiose mycorhizienne et ses microorganismes associés en milieu tropical. Ainsi, étudier la structure et le fonctionnement de la symbiose mycorhizienne était notre objectif mais constituait également notre point d'entrée dans une étude plus globale sur la gestion des écosystèmes forestiers et cultivés à Madagascar. Mes activités auprès du Dr Luciano RAMAROSON et du Dr Robin DUPONNOIS m'ont amené à de nombreuses disciplines allant de l'écologie microbienne du sol, de l'agronomie, de la chimie du sol, de la biochimie voire aux sciences humaines suites aux activités de valorisation et d'application des résultats de recherche menées en collaboration avec des associations paysannes. En 2006, Dr Bernard DREYFUS a renforcé davantage mes capacités dans l'étude écologique de la symbiose mycorhizienne en milieu tropicale en insérant une autre approche d'étude, « l'approche moléculaire ». C'est ainsi qu'ont débuté les investigations sur les espèces arbustives ectotrophes et leur importance sur le fonctionnement des écosystèmes forestiers. L'année 2006 a été marquée également par le renforcement et/ou l'épanouissement de mes collaborations avec différents partenaires aussi bien scientifiques que financiers. Deux de mes projets de recherche individuels démarrés durant la dite année ont obtenu l'appui financier respectivement de l'*International Foundation for Science (IFS)* et du *British Ecological Society (BES)*. Depuis, ma « famille scientifique » n'a cessé de s'élargir en matière de collaboration avec des universités ou centre de recherche aussi bien du sud (Université Cheick Anta Diop et Laboratoire Commun de Microbiologie de Dakar– Sénégal, Faculté des Sciences de Semlalia Cadio Ayyad de l'Université de Marrakech – Maroc) que du nord (Université de Laval – Canada, Université de Lille et l'Institut de Recherche pour le Développement - France). Avec l'enthousiasme du Dr DUPONNOIS Robin, toujours à la recherche de l'excellence, ces collaborations ont abouti à la création de plusieurs structures scientifiques auxquelles j'ai participé activement aussi bien à la création qu'à l'animation (Action Thématiques Structurantes

associant plusieurs équipes africaines travaillant dans le domaine des mycorhizes, réseau africain des mycorhizologues ou AFRINOM...). A la suite de ces initiatives est née également une équipe de chercheurs associant des jeunes scientifiques du LME/CNRE et du Laboratoire de Biotechnologie – Microbiologie de l'Université d'Antananarivo qui a renforcé davantage la collaboration avec le LSTM/IRD. Le premier projet monté consistait à étudier d'une manière globale le fonctionnement symbiotique des écosystèmes forestiers à Madagascar. Ce projet a été appuyé financièrement par le programme Jeunes Equipes Associées de l'AIRD et a permis d'encadrer trois étudiants doctorant et de former 10 étudiants au niveau DEA dont 4 ont effectué leur travaux sous mon encadrement. Toujours autour de la symbiose mycorhizienne, mes travaux de recherche dans le cadre de ce projet s'intéressent plus particulièrement aux impacts des espèces végétales pionnières des zones forestières dégradées et/ou des espèces exotiques invasives sur le développement et la régénération des essences forestières de valeur et/ou endémiques de Madagascar *via* la modification de la structure et du fonctionnement de la communauté mycorhizienne au niveau du sol. A ces activités de recherches, je tiens à associer Dr RAMAMONJISOA Daniel, Dr RANDRIAMBANONA Herizo, Dr RASOLOMAMPIANINA Rado, Dr RAKOTOARIMANGA Nirina et Dr BAOHANTA Rondro Harinisainana que je remercie pour leurs conseils prodigués pour ce mémoire.

En matière d'enseignement, le Pr RAHERIMANDIMBY Marson est à l'origine de mes premiers pas à l'université en me confiant, en 2006, l'enseignement de l'une de ses matières pour la deuxième année de second cycle de l'Option Biotechnologie-Microbiologie du Département de Biochimie Fondamentale et Appliquée – Université d'Antananarivo. Depuis, mon intervention s'est élargi dans plusieurs institutions d'enseignement supérieur à Madagascar [Formation GRENE (Gestion des Ressources Naturelles et de l'Environnement) de l'Université de Toamasina, Ecole Supérieure Polytechnique Agricole de Bevalala – Antananarivo] et à l'étranger (Ecole doctorale Biotechnologie Végétale et Microbienne – Université Cheick Anta Diop Dakar, Sénégal). Dans mes remerciements, je n'oublie pas mes collègues du Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement qui arrivent toujours à faire régner une ambiance propice à la recherche malgré la complexité du contexte souvent rencontré.

Je profite également l'occasion pour remercier mes parents, incontestablement mes premiers professeurs en microbiologie et tout particulièrement ma mère qui nous a quitté subitement au moment même de la préparation de ce travail. Je termine mes remerciements par une pensée spéciale à mon épouse Aly, à mes deux fils Safidy et Sedra auxquels j'impose souvent des absences et de nombreux voyages.

Synthèse des travaux scientifiques

INTRODUCTION GENERALE

Les écosystèmes forestiers Malagasy sont caractérisés par une diversité biologique importante et un haut degré d'endémisme, estimé à plus de 80 % si on ne considère que les plantes vasculaires (Lowry et *al.*, 1997). Ces forêts naturelles de Madagascar constituent également l'une des grandes concentrations de familles endémiques dans le monde avec un total de 8 familles entièrement endémiques représentées par 17 genres et 90 espèces (Schatz et *al.*, 1999). La séparation précoce de la Grande île du grand continent Gondwana, il y a environ 165 millions d'années, a été considérée comme à l'origine de cette originalité et énorme diversité biologique. En effet, cet isolement très tôt de Madagascar lui a conféré une biodiversité originale ayant cependant quelques affinités africaines et indiennes. De plus, cette insularité précoce l'a mis à l'abri des invasions d'espèces nouvelles et a permis à sa faune et flore soit de conserver leurs caractères archaïques soit de se diversifier dans les différents milieux du pays.

Suite aux différents phénomènes sociopolitiques, économiques et environnementaux qui se succédaient dans la Grande Île, les forêts naturelles Malagasy ainsi que les richesses y afférentes sont devenues, ces dernières années, le théâtre de conflit intense de gestion entre les différents usagers (paysans, exploitants forestiers ou miniers...), les services de l'Etat et de nombreux acteurs aux intérêts parfois divergents (agro-industriels cherchant des terres pour les plantations, promoteurs d'écotourisme...). Des exploitations minières et des plantations à grande échelle de cultures vivrières ont été entreprises pour remédier à la pauvreté accrue de la population sans que des mesures adéquates aient été prises vis-à-vis de la conservation ou de la restauration des forêts naturelles. Couplés à d'autres pratiques (culture vivrière sur défriche-brûlis ou *tavy*, exploitation illicite des forêts,...) dévastatrices des surfaces forestières, ces programmes ne laissent que des lambeaux forestiers éparpillés dans des endroits loin des habitations humaines ou des surfaces ayant le statut de conservation particulier.

Les forêts humides de l'Est de Madagascar constituent un bon exemple de cette richesse inestimable et en danger permanente des forêts Malagasy. En effet, ces forêts sont réputées à la fois pour leur richesse en espèces, un taux d'endémisme exceptionnel, la valeur de leurs essences de bois précieux et également pour leurs dynamiques rapides de déforestation (Humbert, 1927 ; Green & Sussman, 1990). La réduction du couvert forestier a toujours été attribuée aux populations rurales à travers lesquelles des phénomènes susceptibles d'être à l'origine de la déforestation ont été identifiés : la croissance démographique et le *tavy*. Cependant, il est également à signaler que le manque de considération des technologies adaptées basées sur des connaissances approfondies de nos essences forestières ainsi que de leurs écosystèmes respectifs

constitue un facteur important limitant l'utilisation de ces essences dans les programmes de reboisement ou de restauration écologique et favorisant celle des essences exotiques (*Eucalyptus*, *Acacia*, *Pinus*, *Paulownia*...). Certes, cette situation a considérablement augmenté les surfaces plantées sans avoir eu des effets positifs sur la conservation des forêts naturelles. Ainsi, bien que la politique de gestion des espaces forestiers ait fortement évolué ces dernières années en devenant beaucoup plus intégré et participatif (Weber, 1995 ; Bertrand & Randrianaivo, 2003 ; Rakoto & Blanc Pamard, 2003 ; Kull, 2004), les forêts naturelles Malagasy ne cessent de réduire aussi bien en surface qu'en densité. Des données récentes estiment le taux global de déforestation à Madagascar à 0,53% par an entre 2000 et 2005, soit une perte de 236 560 ha durant cette période (MEFT, USAID, CI, 2009).

Dans les programmes de plantations industrielles et de restauration des surfaces dégradées ou perturbées par différentes activités anthropiques (mine, construction de route...), il a été clairement établi que les microorganismes symbiotiques des plantes (champignon, bactérie...) jouent un rôle important tant par leur capacité à protéger les plantes contre certains agents pathogènes et à améliorer leur nutrition minérale et hydrique que par leur aptitude à établir des relations interconnectées entre les microorganismes du sol et les plantes d'une part et entre les plantes elles même d'autre part (Ramanankierana et al 2006 et 2007 ; Baohanta, 2011). Ces relations constituent souvent la base de l'établissement d'un couvert végétal dans le cadre d'une succession secondaire. Parmi ces microorganismes symbiotiques, les champignons mycorhiziens constituent un groupe relativement vaste mais étroitement spécifique pour certains écosystèmes ou espèces de plantes.

Le présent document résume les résultats de nos investigations relatives à l'implication de la symbiose mycorhizienne dans le fonctionnement des écosystèmes forestiers Malagasy. De la présence de différentes structures mycorhiziennes au sein des essences forestières natives de Madagascar, en passant par l'influence de ces structures symbiotiques sur la communauté microbienne du sol jusqu'aux impacts des souches mycorhiziennes sur le développement des essences forestières, ce document décrit l'importance de la symbiose mycorhizienne sur la conservation et la gestion durable des ressources forestières de Madagascar ainsi que de leurs écosystèmes. Parmi les travaux réalisés, une mention particulière a été portée sur les essences exotiques habituellement utilisées dans les programmes de reboisement à Madagascar et leurs impacts sur la régénération des essences forestières natives. Cette partie a concerné deux modèles d'étude à savoir (i) le couple *Acacia mangium* et *Intsia bijuga* et (ii) le couple *Eucalyptus camaldulensis* et *Pinus patula* comme plantes exotiques et *Uapaca bojeri* comme

essence native. Les résultats sont groupés en quatre chapitres traitant respectivement (i) les différents types d'association mycorhizienne au sein des essences ligneuses ou arbustives de Madagascar, (ii) les impacts des plantes exotiques sur la conservation et la gestion durable des ressources forestières Malagasy, (iii) la technologie de mycorhization contrôlée au service de la régénération des essences forestières natives (cas d'*Uapaca bojeri*) et (iv) le phénomène de plante nurse (cas de *Sarcolaena oblongifolia*) et ses implications sur le développement d'*Uapaca bojeri*. Un chapitre regroupant les perspectives de recherche (recherche en cours et/ou à entreprendre) termine cette première partie du document.

Chapitre I. La symbiose mycorhizienne au sein de la flore de Madagascar

Les mycorhizes sont des symbioses écologiquement importantes au niveau desquelles les champignons utilisent des composés carbonés issus de la photosynthèse et les plantes bénéficient des éléments nutritifs fournis par les champignons par l'intermédiaire de ses hyphes capables de coloniser une surface importante de sol. Selon les structures morphologiques et anatomiques de l'association entre les racines et les champignons, on distingue deux types majeurs d'association mycorhizienne à savoir les endomycorhizes et les ectomycorhizes (ECM). Parmi les endomycorhizes, les mycorhizes à arbuscules (MA) sont les plus abondants et tiennent des rôles importants dans les processus de colonisation du sol par les plantes (Pirozynski & Malloch, 1975 ; Selosse & Le Tacon, 1995 ; Taylor et al., 1995 ; Heckman et al., 2001). Les études relatives à l'évolution de ce type de mycorhizes basées sur des échantillons fossilisés (Simon et al., 1993 ; Redecker et al., 2000) et des données moléculaires (Berbee & Taylor, 2001 ; Young, 2012) ont montré l'ancienneté de ses caractères (Fitter & Moyersoen, 1996 ; Cairney, 2000 ; Wilkinson, 1999). Les ectomycorhizes forment également un autre groupe important de mycorhizes au niveau desquels, les champignons, principalement appartenant au groupe des Homobasidiomycètes, sont associés avec environ 20 familles de plantes ligneuses (Brundrett, 2002).

La présence de champignons ectomycorhiziens au niveau de la flore de Madagascar a déjà été rapportée depuis plus de 70 ans (Heim, 1938). Par contre, la structure de champignons mycorhiziens associés à cette flore mondialement connue par sa richesse a été très peu étudiée jusqu'à récemment. L'inventaire mycologique entrepris jusqu'ici souligne la diversité exceptionnellement énorme de champignons ectomycorhiziens dans les quelques écosystèmes étudiés à Madagascar (Buyck et al., 2007 ; Ramanankierana et al., 2007). En décrivant le statut ectomycorhizien de deux genres de Sarcolaenaceae, une famille de plante entièrement endémique de Madagascar, Ducousso et al. (2004) ont montré la liaison phyllogénétique existante entre cette famille et les représentants asiatiques de la famille des Dipterocarpaceae. La famille des Sarcolaenaceae contient en effet 8 genres et 15 espèces toutes associées avec des champignons ectomycorhiziens. Pourtant, il a déjà été démontré que cette structure ectomycorhizienne ne concerne qu'une petite partie des espèces végétales vasculaires dominantes dans les formations forestières homogènes surtout en milieu tropical (Wang & Qiu, 2006 ; Smith & Read, 2008).

Le principal objectif de ce chapitre a été de décrire l'association mycorhizienne au niveau des essences forestières de Madagascar en prenant l'exemple des forêts littorales de la côte Est de Madagascar de Mahatsara jusqu'à Petriky, des forêts de basse altitude (Analalava et Ianjorama) et des forêts du haut plateau (Forêt sclerophylle d'Arivonimamo).

1.1. La symbiose mycorhizienne chez les espèces d'arbres et d'arbustes dominantes dans les écosystèmes forestiers de Madagascar

1.1.1. Statut mycorhizien des arbres et arbustes dominants des forêts littorales de la partie orientale de Madagascar

Les sites concernés ont été constitués par la forêt de Mandena, de Sainte Luce, de Petriky, de Tampolo et de Mahatsara, localisés dans la partie orientale de la Grande île. La forêt de Tampolo (17° 14' S, 49° 23'E, Altitude 10 m) située à environ 111 Km au nord de Toamasina se développe sur un sol sableux légèrement acide. Dans plusieurs endroits de cette forêt, la canopée est dominée par des essences endémiques et/ou des espèces socio-économiquement importantes appartenant aux familles des Euphorbiaceae, Sarcolaenaceae, Fabaceae et Ebenaceae. La forêt de Mahatsara (22° 05' S, 47° 55' E, Altitude 10 m) est située également sur l'axe Toamasina – Tampolo. A part les régénérations d'espèces natives ou exotiques plus dominantes à la périphérie qu'à l'intérieur, les représentants de la famille des Ebenaceae, Burseraceae et de Sarcolaenaceae dominant la strate arborée de la forêt de Mahatsara. La forêt de Sainte Luce, de Mandena et de Petriki sont toutes situées aux environs de Ford Dauphin (Sud-Est de Madagascar) avec des coordonnées géographiques respectivement de 24° 46' S, 48° 08'E ; 24° 56'S, 47° 02'E et de 25° 03'S, 46°-54'E (Figure 1). Ces trois forêts se singularisent par une importante diversité taxonomique surtout au niveau des essences forestières endémiques et par les caractéristiques de leurs sols constitués essentiellement par du sable pauvre en éléments nutritifs. La précipitation annuelle, plus élevée au niveau de Sainte Luce (1500mm par an), diminue vers Mandena (800 à 1200mm par an) et atteint sa plus faible intensité dans la forêt de Petriki (300mm) où la saison sèche peut durer jusqu'à 6 à 8 mois par an. Parmi les 157 échantillons de racines examinés, 12 proviennent de Tampolo, 5 de Mahatsara, 22 de Sainte Luce, 82 de Mandena et 36 de Petriki donnant ainsi le nombre de 12, 5, 9, 53 et 25 espèces de plantes respectivement par site.

Les échantillons de racines ont été colorés selon la méthode décrite par Phillips & Hayman (1970). Cette méthode permet de vérifier la présence de structure endomycorhizienne (vésicule et/ou arbuscule) intracellulaire et d'évaluer le degré de colonisation des racines par ces structures. Dans notre cas, 30 morceaux de racines ont été observés par espèce de plante et le degré de colonisation des racines a été classé en quatre catégories : (i) **non mycorhizée** quant on

n'observe aucune structure endomycorhizienne intracellulaire ; (ii) **faiblement à Mycorhize arbusculaire ou « (MA) »** avec seulement un à trois morceaux de racines observés qui présentent les structures endomycorhiziennes (des arbuscules et/ou vésicules et/ou des hyphes enroulés intracellulaires) ; (iii) **à Mycorhize arbusculaire ou « MA »** si plus de quatre morceaux de racine présentent des structures endomycorhiziennes intracellulaires et (iv) **fortement à Mycorhize arbusculaire ou MA+** au cas où tous les morceaux de racines observés présentent des structures endomycorhiziennes. La présence des structures ectomycorhiziennes telles que le manteau fongique des morphotypes d'ectomycorhizes et des hyphes extramatriciels, observables à l'œil nu ou sous loupe binoculaire a été considérée comme indicateur du statut ectomycorhizien ou ECM des plantes.

Le statut mycorhizien des plantes provenant des cinq premières forêts est présenté par le tableau ci après (Tableau 1). Plus de 97% des espèces de plantes observées sont associées avec des champignons mycorhiziens. Seulement, *Stephanostegia sp* (Apocynaceae) et *Campylospermum obtusifolium* (Ochnaceae) ont été trouvés non mycorhizés respectivement à Tampolo et à Mandena. Au niveau de la structure de ces associations symbiotiques, nos investigations illustrent la dominance des structures endomycorhiziennes au niveau de système racinaire des plantes étudiées et l'abondance des structures ectomycorhiziennes seulement au niveau des groupes taxonomiques bien distingués. En effet, 2 des 83 espèces étudiées n'ont pas présenté des structures endomycorhiziennes tandis qu'outre chez *Intsia bijuga* Kuntze (Fabaceae), les structures ectomycorhiziennes ont été observées seulement au niveau des systèmes racinaires des représentants des deux familles endémiques de Madagascar (Asteropeiaceae et Sarcolaenaceae). Chez ces deux familles botaniques, toutes espèces observées ont été associées à la fois avec des champignons endomycorhiziens et ectomycorhiziens. Chez *I. bijuga*, seules des structures ectomycorhiziennes ont été observées au niveau du système racinaire. Concernant le degré de colonisation des racines par les champignons mycorhiziens, 5 espèces ont été faiblement endomycorhizées, 54 présentent des structures endomycorhiziennes intracellulaires bien développées, 6 sont hautement endomycorhizées et 15 sont associées à la fois avec des champignons endomycorhiziens et ectomycorhiziens.

Ces résultats identifient une nouvelle famille botanique entièrement à ectomycorhize : Asteropeiaceae. Cette famille endémique de Madagascar comprend un seul genre : *Asteropeia* and sept espèces dont deux ont l'objet d'observation dans cette étude. La famille des Sarcolaenaceae, une autre famille endémique de Madagascar, se trouve à la base d'une très grande famille botanique, la Dipterocarpaceae (Ducousso et al, 2004), alors que la position

phylogénétique d'Asteropeiaceae reste un sujet de nombreuses discussions. Cependant, des études moléculaires ont indiqués que le genre *Asteropeia* est très proche de *Physena* (Caryophyllales). La physenaceae, une autre famille botanique endémique de la Grande île comprend également un seul genre. Par contre, son statut mycorhizien n'a pas été établi jusqu'à maintenant.

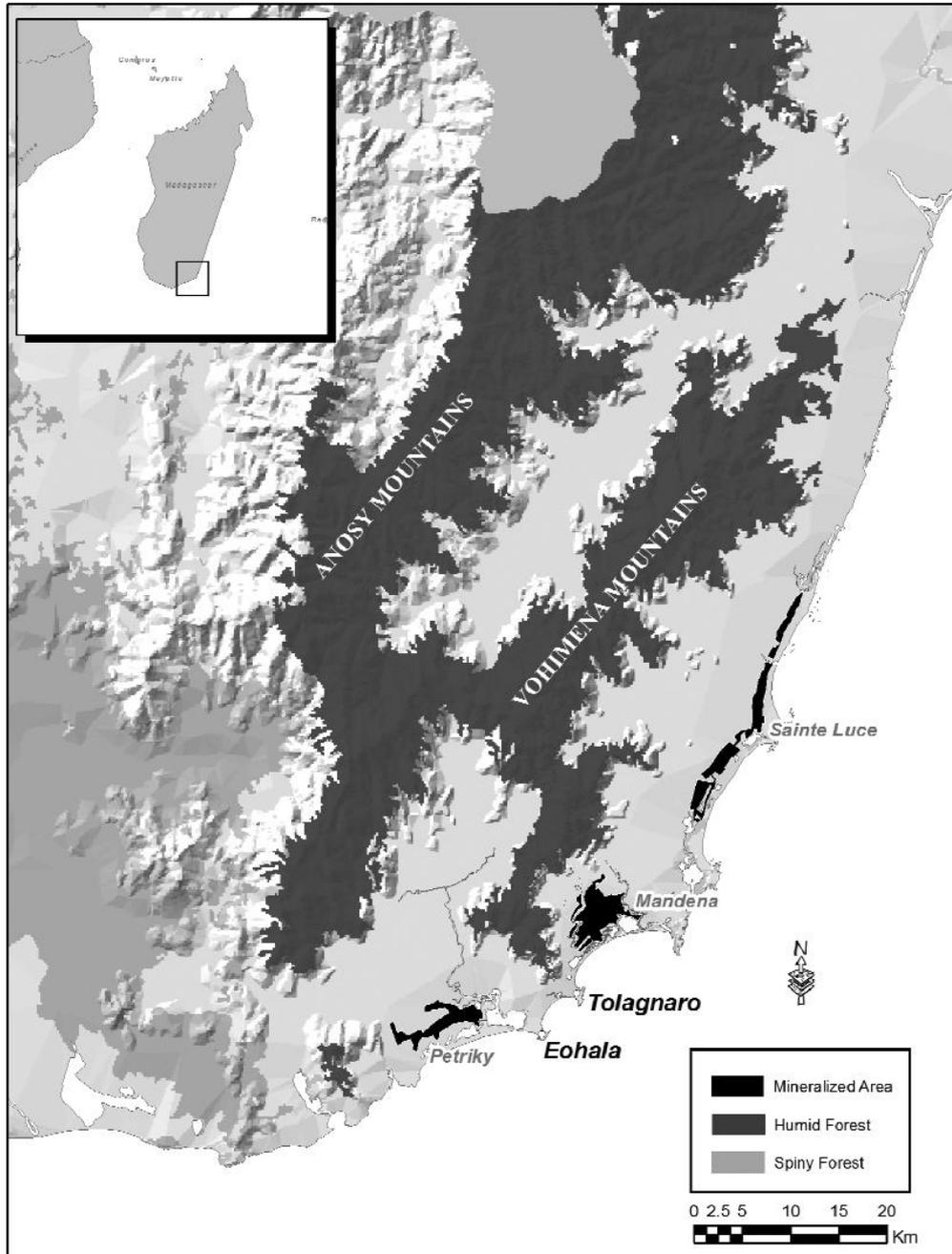


Figure 1. Localisation de la forêt de Sainte Luce, de Mandena et de petriky (Source : Rabenatoandro et al., 2007)

Tableau 1. Statut mycorhizien des plantes de cinq forêts littorales (Mandena, Petriky, Sainte Luce, Mahatsara, Tampolo) de la côte Est de Madagascar

Genre/espèce	Famille	Site de collection	Stat myc
<i>Anthocleista longifolia</i> (Lamarck) Boiteau	Logoniaceae	Man	MA
<i>Aphloia theaformis</i> (Clos) F. Friedmann	Flacourtiaceae	Man	MA
<i>Aspidostemon eliotii</i> Rhower	Lauraceae	Petr	MA
<i>Asteropeia micraster</i> Hallier	Asteropeiaceae	Man, Petr	MA & EC
<i>Asteropeia multiflora</i> Thou.	Asteropeiaceae	StLu, Man	MA & EC
<i>Astrotrichilia elliotii</i> (Harms) Cheek	Meliaceae	Man	MA +
<i>Bauhinia madagascariensis</i> Desv.	Caesalpiniaceae	Man	MA
<i>Bidens pilosa</i> L.	Asteraceae	Man	MA
<i>Blotia oblongifolia</i> (Baill.) Leandri	Euphorbiaceae	Man	MA
<i>Brexia</i> sp.	Grossulariaceae	StLu	(MA)
<i>Brochoneura acuminata</i> Warb.	Myristicaceae	Man	MA
<i>Cabucala torulosa</i> Pichon	Apocynaceae	Man	(MA)
<i>Cadia cammersoniana</i> Baill.	Caesalpiniaceae	Petr	MA
<i>Calliandra</i> sp.	Fabaceae	Petr	MA
<i>Calophyllum inophyllum</i> Sieber ex Presl	Clusiaceae	Tamp	MA
<i>Campylopermum obtusifolium</i> Tiegh.	Ochnaceae	Man	NM
<i>Canarium madagascariense</i> Engl.	Burseraceae	Mah	MA
<i>Carissa edulis</i> Vahl	Apocynaceae	Petr	MA
<i>Catharanthus</i> sp.	Apocynaceae	Man	MA
<i>Cerbera venenifera</i> Steud.	Apocynaceae	Man	MA
<i>Cinnamosmum madagascariensis</i> Danguy	Canellaceae	Petr	MA
<i>Cinnamosmum</i> sp.	Canellaceae	Man, Petr	MA
<i>Croton louvelii</i> Leandri	Euphorbiaceae	Man, Petr	MA
<i>Cuphocarpus aculeatus</i> Decne. & Planch.	Araliaceae	Man	MA
<i>Cynometra</i> sp.	Fabaceae	Man	(MA)
<i>Cynorkis elata</i> Rolfe	Orchidaceae	Man	MA +
<i>Dalbergia maritima</i> R. Vig.	Fabaceae	Man	MA
<i>Dicoryphe stopulacea</i> Baill.	Hamamelidaceae	Tamp	MA
<i>Dillenia triquetra</i> Gilg	Dilleniaceae	Man	MA
<i>Diospiros</i> sp.	Ebenaceae	Mah, Man, Petr	MA
<i>Dombeya manenesis</i> Arènes	Sterculiaceae	Man	MA
<i>Donella delphinensis</i> Aubrév.	Sapotaceae	Petr	MA
<i>Dracaena bakeri</i> Scott Elliot	Agavaceae	Man, Petr	MA
<i>Drypetes madagascariensis</i> (Lam.) Humbert & Leandri	Euphorbiaceae	Petr	MA
<i>Eliea articulata</i> Cambes.	Clusiaceae	Man	MA +
<i>Eligmocarpus cynometroides</i> Capuron	Fabaceae	Petr	MA
<i>Eugenia</i> sp.	Myrtaceae	Tamp	MA
<i>Flagellaria indica</i> L.	Flagellariaceae	Petr	MA
<i>Gaertnera</i> sp.	Rubiaceae	Man	(MA)
<i>Grewia</i> sp.	Tiliaceae	Petr	MA
<i>Homalium albiflorum</i> (Boivin ex Tul.) O. Hoffm.	Flacourtiaceae	Man	MA
<i>Intsia bijuga</i> Kuntze	Caesalpiniaceae	Mah, Man, Petr, StLu	EC
<i>Leptolaena multiflora</i> Thou.	Sarcolaenaceae	Man, Tamp	MA & EC
<i>Leptolaena pauciflora</i> Baker	Sarcolaenaceae	Man, StLu	MA & EC
<i>Leptolaena</i> sp1.	Sarcolaenaceae	Man, Tamp	MA & EC
<i>Leptolaena</i> sp2.	Sarcolaenaceae	Man	MA & EC
<i>Ludia glaucocarpa</i> Capuron & Sleumer	Flacourtiaceae	Man	MA
<i>Malleastrum manenense</i> Leroy	Meliaceae	Man	(MA)

<i>Meineckia websteri</i> J.F. Brunel & J. Roux	Euphorbiaceae	Man, Petr	MA
<i>Memecylon delphinense</i> H. Perrier	Melastomataceae	Man	MA
<i>Mollugo decandra</i> Scott Elliot	Molluginaceae	Petr	MA
<i>Myrica spathulata</i> Baill.	Myricaceae	Man	MA +
<i>Nepenthes madagascariensis</i> Poir.	Nepenthaceae	StLu	MA
<i>Ocotea laevis</i> Kosterm.	Lauraceae	Tamp	MA
<i>Okenia</i> sp.	Nyctaginaceae	Tamp	MA
<i>Olea lanceolata</i> Hook. F.	Oleaceae	Man	MA
<i>Ophiocolea delphinensis</i> H. Perrier	Bignoniaceae	Man	MA +
<i>Phyllanthus</i> sp1.	Euphorbiaceae	Man, Petr	MA
<i>Phyllanthus</i> sp2.	Euphorbiaceae	Petr	MA
<i>Phyllarthron ilicifolium</i> (Pers) H. Perrier	Bignoniaceae	Man	MA
<i>Phylloxylon xylophylloides</i> Labat & Schrire	Fabaceae	Petr	MA
<i>Pluchea</i> sp.	Asteraceae	Man	MA
<i>Podocarpus madagascariensis</i> Baker	Podocarpaceae	StLu	MA
<i>Psorospermum revolutum</i> Hochr.	Ochnaceae	Man	MA
<i>Ravenala madagascariensis</i> Sonn.	Strelitzaceae	Man	MA
<i>Rhopalocarpus coriaceus</i> (Scott-Elliot) Capuron	Spaerosepalaceae	StLu	MA
<i>Sarcolaena eriophora</i> Thou.	Sarcolaenaceae	Man	MA & EC
<i>Sarcolaena grandiflora</i> Thou.	Sarcolaenaceae	Mah	MA & EC
<i>Sarcolaena multiflora</i> Thou.	Sarcolaenaceae	Man, StLu, Tamp	MA & EC
<i>Schizolaena elongata</i> Thou.	Sarcolaenaceae	Man	MA & EC
<i>Schizolaena exinvolucrata</i> Baker	Sarcolaenaceae	Man	MA & EC
<i>Schizolaena</i> sp.	Sarcolaenaceae	Tamp	MA & EC
<i>Stephanodaphne cremostachya</i> Baill.	Thymeleaceae	Man	MA
<i>Stephanostegia</i> sp.	Apocynaceae	Tamp	NM
<i>Strychnos spinoza</i> Lam.	Loganiaceae	Petr	MA
<i>Tacca leontopetaloides</i> (L.) Kuntze	Taccaceae	Petr	MA
<i>Tambourissa</i> sp.	Monimiaceae	man	MA
<i>Trema orientalis</i> (L.) Blume	Ulmaceae	Petr	MA
<i>Uapaca ferruginea</i> Baill.	Euphorbiaceae	Mah, Man	MA & EC
<i>Uapaca littoralis</i> Denis	Euphorbiaceae	Man ; StLu, Tamp	MA & EC
<i>Uapaca thouarsii</i> Baill. & Denis	Euphorbiaceae	Tamp	MA & EC
<i>Vepris eliotii</i> Verdoorn	Rutaceae	Man, Petr	MA
<i>Vernoniopsis caudate</i> (Drake) Humbert	Asteraceae	Man	MA +

Abbreviations : Stat myc : statut mycorhizien ; MA : mycorhizes arbusculaires ; (MA) : légèrement infecté ; MA+ : fortement infecté ; EC : ectomycorhizas ; MA&EC : Co-existence de mycorhizeds arbusculaires et ectomycorhizes ; NM : non mycorhizé. Mah, Man, Petr, StLu, tamp : respectivement Mahatsara, Mandena, petriki, Sainte Luce et forêt de Tampolo

I.1.2. Statut mycorhizien des arbres et arbustes dominantes des forêts de basse altitude de l'Est et de la forêt sclérophylle du haut plateau de Madagascar

Les activités ont été par la suite élargies sur d'autres écosystèmes forestiers de la partie orientale [forêt d'Analalava (17° 42' S, 49° 27' E, 71 m) et lambeau forestier d'Ianjomara (19° 07' S, 48° 54' E, 86 m)] et du haut plateau [forêt sclérophylle à *Uapaca bojeri* d'Arivonimamo (19° 00' S, 47° 07'E, 1279 m)]. Ces trois sites représentent respectivement les forêts de basse altitude (Analalava et Ianjomara) et de forêt caractéristique des pentes occidentales de Madagascar entre

800 et 1300 m d'altitude (Arivonimamo). Pour ces trois derniers sites, les prélèvements d'échantillons ont été réalisés durant la saison pluvieuse en décembre 2007, février 2008 et mars 2009. Afin de s'assurer de l'identité des échantillons, le prélèvement a été effectué en adoptant toujours la méthode de suivi racinaire. La méthode de préparation, de coloration et d'observation des échantillons décrite dans le paragraphe précédent (I.1.1.) a été toujours appliquée. Le niveau d'infection des racines par les champignons mycorhiziens a été évalué selon les quatre degrés sus-cités [**non mycorhizé** ou **NM**, **faiblement mycorhizé** ou **(MA)**, **à mycorhize à arbuscule** ou **MA** et **fortement mycorhizé** ou **MA+**].

Le statut mycorhizien des espèces d'arbres et d'arbustes dans les deux formations forestières de la partie orientale et la forêt sclérophylle du haut plateau de Madagascar est donné dans le tableau 2. Parmi les 111 espèces observées (52 espèces à Analalava, 50 espèces à Ianjomara et 9 espèces à Arivonimamo), seulement quatre espèces (*Mascarenhasia arborescens* et *Tabernaemontana coffeoïdes* pour la forêt d'Analalava, *Landolphia* sp et *Voacanga thouarsii* pour la forêt d'Ianjomara) n'ont présenté aucune structure mycorhizienne au niveau de leur système racinaire. Ces quatre espèces de plantes appartiennent toutes à la famille des Apocynaceae. Pour les autres espèces, 12 sont faiblement mycorhizées [(MA)], 62 espèces présentent des structures bien visibles de symbiose mycorhizienne à arbuscules, 27 espèces sont fortement mycorhizées et 6 sont associées à la fois avec des champignons mycorhiziens à arbuscules et des champignons ectomycorhiziens.

Pour le genre Africano-Malagasy *Uapaca*, les deux types de symbiose mycorhizienne ont été également observés en même temps au niveau des systèmes racinaires des trois espèces étudiées (*U. bojeri*, *U. louvelii*, *U. ferruginea*). Dans la famille des Sarcolaenaceae, une famille botanique entièrement endémique de Madagascar, les données obtenues sur les trois espèces (*Leptolaena pauciflora*, *L. bojeriana*, *L. multiflora*) étudiées confirment les résultats de Ducouso et al. (2008) qui, ont établi pour la première fois le statut symbiotique de cette famille. En effet, ces trois espèces sont à la fois associées avec des champignons mycorhiziens à arbuscules et des champignons ectomycorhiziens.

Tableau 2. Statut mycorhizien des arbres et arbustes des forêts de basse altitude (Analalava et Ianjomara) de la côte Est et de la forêt sclérophylle du haut plateau de Madagascar

Espèces de plante	Famille	Sites	Statut symbiotique
<i>Amyrea</i> sp. (?)	Euphorbiaceae	Ana.	MA
<i>Anthostema madagascariense</i> Baill. (E)	Euphorbiaceae	Ana.	MA
<i>Breonia havilandiana</i> Homolle (?)	Rubiaceae	Ana.	MA
<i>Canarium madagascariense</i> Engl. (E)	Burseraceae	Ana.	MA
<i>Casearia nigrescens</i> Tul. (E)	Salicaceae	Ana.	MA
<i>Cynometra capuronii</i> Du Puy et R. Rabev. (E)	Fabaceae	Ana.	MA
<i>Clitoria lasciva</i> Bojer ex Benth. (E)	Fabaceae	Ana.	MA
<i>Colubrina</i> sp. (?)	Rhamnaceae	Ana.	MA
<i>Conchopetalum madagascariense</i> Radlk. (E)	Sapindaceae	Ana.	MA
<i>Croton lepidotus</i> Aug. DC. (E)	Euphorbiaceae	Ana.	MA+
<i>Cryptocarya acuminata</i> Schinz (?)	Lauraceae	Ana.	MA
<i>Dicoryphe</i> sp. (?)	Hamamelidaceae	Ana.	MA
<i>Dillenia triquetra</i> (Rottb.) Gilg (?)	Dilleniaceae	Ana.	MA
<i>Diospyros bernieri</i> Hiern (?)	Ebenaceae	Ana.	MA+
<i>Diospyros</i> sp. (?)	Ebenaceae	Ana.	MA+
<i>Dracaena reflexa</i> Lam. (n)	Asparagaceae	Ana.	MA+
<i>Dyopsis</i> sp. (?)	Arecaceae	Ana.	MA
<i>Ellipanthus madagascariensis</i> (G. Schellenb.) Capuron ex Keraudren (E)	Connaraceae	Ana.	MA
<i>Erythroxyllum</i> sp. (?)	Erythroxyllaceae	Ana.	MA+
<i>Eugenia louvelii</i> H. Perrier (?)	Myrtaceae	Ana.	MA+
<i>Fernelia</i> sp. (?)	Rubiaceae	Ana.	MA
<i>Ficus cocculifolia</i> Baker (n)	Moraceae	Ana.	MA+
<i>Ficus lutea</i> Vahl. (n)	Moraceae	Ana.	MA+
<i>Gaertnera macrostipula</i> Baker (?)	Rubiaceae	Ana.	MA
<i>Harungana madagascariensis</i> Lam. ex Poir. (?)	Hypericaceae	Ana.	MA+
<i>Homalium involucratum</i> (DC.) O. Hoffm. (E)	Salicaceae	Ana.	MA
<i>Landolphia nitens</i> Lassia (E)	Apocynaceae	Ana.	(MA)
<i>Leptolaena multiflora</i> Thouars (E)	Sarcolaenaceae	Ana.	MA&EC
<i>Macaranga cuspidata</i> Boivin ex Baill (?)	Euphorbiaceae	Ana.	MA+
<i>Macphersonia madagascariensis</i> Blume (E)	Sapindaceae	Ana.	MA
<i>Malleastrum minutifoliolatum</i> J.-F. Leroy (E)	Meliaceae	Ana.	MA
<i>Mascarenhasia arborescens</i> A. DC. (n)	Apocynaceae	Ana.	NM
<i>Memecylon xiphophyllum</i> R. D. Stone (?)	Memecylaceae	Ana.	MA
<i>Nesogordonia macrophylla</i> Arènes (E)	Malvaceae	Ana.	MA
<i>Paropsia madagascariensis</i> (Mast.) H. Perrier (E)	Passifloraceae	Ana.	MA
<i>Psiadia</i> sp. (?)	Asteraceae	Ana.	MA+
<i>Psidium cattleianum</i> Sabine (n)	Myrtaceae	Ana.	(MA)

<i>Psorospermum lanceolatum</i> (Choisy) Hochr. (E)	Hypericaceae	Ana.	MA
<i>Ravenala madagascariensis</i> Sonn. (E)	Strelitzaceae	Ana.	(MA)
<i>Ravenea julietiae</i> Beentje (E)	Arecaceae	Ana.	MA
<i>Rhodocolea racemosa</i> (Lam.) H. Perrier (E)	Bignoniaceae	Ana.	MA
<i>Rhopalocarpus thouarsianus</i> Baill. (E)	Sphaerosepalaceae	Ana.	MA
<i>Saldinia proboscidea</i> Hochr. (E)	Rubiaceae	Ana.	MA
<i>Suregada boiviniana</i> Baill. (?)	Euphorbiaceae	Ana.	MA
<i>Symphonia tanalensis</i> Jum. & H. Perrier (E)	Clusiaceae	Ana.	MA
<i>Syzygium emirnense</i> (Baker) Labat & G.E. Schatz (?)	Myrtaceae	Ana.	MA
<i>Tabernaemontana coffeoides</i> Bojer ex A. DC. (n)	Apocynaceae	Ana.	NM
<i>Tambourissa purpurea</i> (Tul.) A. DC. (E)	Monimiaceae	Ana.	MA
<i>Tina fulvinervis</i> Radlk. (E)	Sapindaceae	Ana.	MA
<i>Uapaca louvelii</i> Denis (E)	Euphorbiaceae	Ana.	MA&EC
<i>Vepris</i> sp. (?)	Rutaceae	Ana.	MA
<i>Zanthoxylum tsihanimposa</i> H. Perrier (E)	Rutaceae	Ana.	MA
<i>Aphloia theiformis</i> (Vahl) Benn. (n)	Aphloiaceae	Ian.	MA+
<i>Aristida similis</i> Steud. (?)	Poaceae	Ian.	MA+
<i>Burasaia madagascariensis</i> DC. (E)	Menispermaceae	Ian.	MA
<i>Cinnamum camphoratum</i> Blume (n)	Lauraceae	Ian.	MA+
<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume (n)	Lauraceae	Ian.	MA+
<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don (n)	Melastomataceae	Ian.	(MA)
<i>Colubrina decipiens</i> (Baill.) Capuron (n)	Rhamnaceae	Ian.	MA
<i>Commelina</i> sp. (?)	Commelicaceae	Ian.	MA+
<i>Dactyloctenium</i> sp. (?)	Poaceae	Ian.	MA
<i>Dalbergia madagascariensis</i> Vatke (E)	Fabaceae	Ian.	MA+
<i>Dombeya dolichophylla</i> Arènes (?)	Malvaceae	Ian.	MA
<i>Dracaena reflexa</i> Lam. (n)	Asparagaceae	Ian.	(MA)
<i>Dichapetalum leucosia</i> (Spreng.) Engl. (E)	Dichapetalaceae	Ian.	MA
<i>Dypsis</i> sp. (?)	Arecaceae	Ian.	(MA)
<i>Dypsis nodifera</i> Mart. (E)	Arecaceae	Ian.	(MA)
<i>Agelaea pentagyna</i> (Lam.) Baill. (?)	Connaraceae	Ian.	MA
<i>Gaertnera macrostipula</i> Baker (?)	Rubiaceae	Ian.	MA
<i>Gaertnera obovata</i> Baker (?)	Rubiaceae	Ian.	MA
<i>Grevillea banksii</i> R. Br. (n)	Proteaceae	Ian.	(MA)
<i>Harungana madagascariensis</i> Lam. Ex Poir.	Hypericaceae	Ian.	MA+
<i>Hugonia</i> sp. (?)	Linaceae	Ian.	MA
<i>Landolphia myrtifolia</i> (Poir.) Markgr. (E)	Apocynaceae	Ian.	MA
<i>Landolphia</i> sp. (?)	Apocynaceae	Ian.	NM
<i>Landolphia gummifera</i> (Poir.) K. Schum. (E)	Apocynaceae	Ian.	(MA)
<i>Macaranga cuspidata</i> Boivin ex Baill. (?)	Euphorbiaceae	Ian.	MA+
<i>Macarisia lanceolata</i> Baill. (?)	Rhizophoraceae	Ian.	MA
<i>Machaerina flexuosa</i> (Boeckeler) J. Kern (?)	Cyperaceae	Ian.	MA
<i>Macphersonia madagascariensis</i> Blume (E)	Sapindaceae	Ian.	MA
<i>Merremia tridentata</i> (L.) Hallier f. (n)	Convolvulaceae	Ian.	MA
<i>Noronhia emarginata</i> (Lam.) Thouars (E)	Oleaceae	Ian.	MA+

<i>Osmunda regalis</i> L. (?)	Osmondaceae.	Ian.	MA
<i>Ouratea</i> sp. (?)	Ochnaceae	Ian.	MA
<i>Panicum luridum</i> Hack. (?)	Poaceae	Ian.	MA
<i>Phyllanthus amarus</i> Schumach. & Thonn. (n)	Phyllanthaceae	Ian.	(MA)
<i>Poupartia chapelieri</i> (Guillaumin) H. Perrier (E)	Anacardiaceae	Ian.	MA+
<i>Psidium cattleianum</i> Sabine (n)	Myrtaceae	Ian.	(MA)
<i>Psorospermum fanerana</i> Baker (E)	Clusiaceae	Ian.	MA
<i>Ravenala madagascariensis</i> Sonn. (E)	Strelitzaceae	Ian.	(MA)
<i>Rubus</i> sp. (?)	Rosaceae	Ian.	MA+
<i>Sauvagesia erecta</i> L. (n)	Ochnaceae	Ian.	MA
<i>Scolopia maoulidae</i> S. Hul, Labat & O. Pascal (?)	Salicaceae	Ian.	MA
<i>Streblus dimepate</i> (Bureau) C.C. Berg (?)	Moraceae	Ian.	MA
<i>Symphonia fasciculata</i> (Noronha ex Thouars) Vesque (E)	Clusiaceae	Ian.	MA
<i>Tacca leontopetaloides</i> (L.) Kuntze (?)	Discoreaceae	Ian.	MA
<i>Trema orientalis</i> (L.) Blume (?)	Cannabaceae	Ian.	MA+
<i>Tristemma virusanum</i> Juss. (n)	Melastomataceae	Ian.	MA
<i>Trophis montana</i> (Leandri) C.C. Berg (?)	Moraceae	Ian.	MA
<i>Uapaca ferruginea</i> Baill. (E)	Euphorbiaceae	Ian.	MA & EC
<i>Urena lobata</i> L. (n)	Malvaceae	Ian.	MA
<i>Voacanga thouarsii</i> Roem. & Schult. (n)	Apocynaceae	Ian.	NM
<i>Uapaca bojeri</i> L. (E)	Euphorbiaceae	Ariv	MA&EC
<i>Leptolaena bojeriana</i> (E)	Sarcolaenaceae	Ariv	MA&EC
<i>Leptolaena pauciflora</i> (E)	Sarcolaenaceae	Ariv	MA&EC
<i>Trema</i> sp (n)	Ulmaceae	Ariv	MA
<i>Aphloia theaeformis</i> (Vahl.) Benn. (n)	Flacourtiaceae	Ariv	MA+
<i>Rhus taratana</i> (Baker.) H. Perrier (n)	Anacardiaceae	Ariv	MA+
<i>Helychrysum rusillonii</i> Hochr. (?)	Asteraceae	Ariv	MA+
<i>Psiadia altissima</i> (D.C.) Drake. (?)	Asteraceae	Ariv	MA+
<i>Rubus apetalus</i> Poir. (n)	Rosaceae	Ariv	MA

Abbreviations : (E) : endémique, (n) : non endémique, (?) : pas d'information, Sites : **Ana** : Analalava, **Ian.** : Ianjomara, **Ariv** : Arivonimamo, **AM** : mycorhize à arbuscules, **(MA)** : faiblement mycorhizé, **MA+** : fortement mycorhizé, **MA&EC** : coexistence de mycorhize à arbuscule et d'ectomycorhize, **NM** : non mycorhizé

I.1.3. Dominance des structures mycorhiziennes chez les arbres et arbustes endémiques de Madagascar

Les résultats issus des investigations dans les 8 écosystèmes forestiers ci-dessus illustrent l'abondance de la structure mycorhizienne au sein de la flore Malagasy et plus particulièrement au niveau de la flore endémique. En effet, toutes les 42 espèces étudiées et identifiées endémiques dans la forêt d'Ianjomara, d'Analalava et d'Arivonimamo sont associées aux champignons mycorhiziens. Dans les cinq forêts littorales visitées, seulement deux des 43 espèces identifiées endémiques ne sont pas associées aux champignons mycorhiziens. Ainsi, la

symbiose mycorhizienne a concerné 97,64 % des espèces identifiées endémiques dans les 8 écosystèmes forestiers étudiés soit 96,90 % du nombre total des espèces étudiées.

Particulièrement pour les deux familles botaniques entièrement endémiques de Madagascar (Sarcolaenaceae et Asteropeiaceae), le statut ectomycorhizien de la famille des Sarcolaenaceae a déjà été établi par Ducouso et al. (2004). Ces données corroborent celles de la présente investigation qui ont examiné deux espèces de *Scizolaena* (*S. elongata*, *S. exivolucrata*), trois espèces de *Leptolaena* (*L. pauciflora*, *L. multiflora* et *L. bojeriana*) et deux espèces de *Sarcolaena* (*S. eriophora* et *S. grandiflora*). Par contre, le statut mycorhizien de la famille des Asteropeiaceae qui contient seulement un seul genre (*Asteropeia*) et sept espèces est établi pour la première fois par nos résultats. En effet, toutes les espèces de cette famille botanique sont associées aux champignons ectomycorhiziens. Il s'agit d'une nouvelle famille botanique entièrement à ectomycorhizes.

Au niveau de la position phylogénétique, il a déjà été démontré que Sarcolaenaceae se situe à la base d'une grande famille à ectomycorhize, la famille des Dipterocarpaceae (Ducouso et al., 2004). Par contre, la position phylogénétique des Asteropeiaceae reste un sujet de discussion jusqu'à nos jours. Luna & Ochoterena (2004) ont inclus *Asteropeia sphaeocarpa* dans l'étude phylogénétique des Theaceae basée sur des critères morphologiques. Ces analyses ont conclu que *Asteropeia* est plutôt intimement lié aux Malpighiales – Ericales – Cornales qu'au Caryophyllales. Pourtant, des études moléculaires (Cuénoud et al., 2002) ont indiqué que *Asteropeia* est parallèlement aligné à *Physena* (Caryophyllales). Entièrement endémique de Madagascar, la famille des Physenaceae contient un seul genre et deux espèces dont le statut mycorhizien reste encore mal connu.

Nos travaux n'ont pas visé de fournir des informations précises sur la phylogénie des plantes hôtes de champignons ectomycorhiziens. La meilleure voie pour décrire la distribution phylogénétique et l'évolution de la symbiose mycorhizienne est d'affiner la taxonomie des plantes ainsi que d'insérer de nouveaux taxons de plante. De plus, l'analyse, à la fois, de la symbiose ectomycorhizienne et endomycorhizienne est toujours nécessaire pour des écosystèmes complexes tels que les écosystèmes forestiers tropicaux. Nos résultats illustrent, pourtant, que plusieurs espèces d'arbres et d'arbustes dominantes dans les forêts littorales et de basse altitude de la côte Est et de la forêt sclérophylle du haut plateau de Madagascar sont associées avec des champignons ectomycorhiziens. Ce qui constitue un élément fondamental pour la gestion et la conservation de la biodiversité unique de la Grande île.

Une partie des résultats de ce chapitre a fait l'objet de publication dans le journal *New Phytologist* (2008, 178 : 233 – 238) et de la rédaction d'un chapitre d'ouvrage (Edition IRD). Ces publications sont les fruits de la collaboration entre des chercheurs du Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (LSTM)/IRD (France), du Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement (LME)/CNRE (Madagascar), du Centre National de Recherches Appliquées au développement Rural (FOFIFA/Madagascar) et de la Société QIT Madagascar Minerals (Madagascar).

Encadré 1.

Mycorrhizal status of native trees and shrubs from eastern Madagascar littoral forests with special emphasis on one new ectomycorrhizal endemic family, the Asteropaiaceae

New
Phytologist

**Marc Ducouso^{1*}, Heriniaina Ramanankierana²,
Robin Duponnois³, Raymond Rabévohitra⁴,
Laurent Randrihasipara⁵, Manon Vincelette⁵,
Bernard Dreyfus³ and Yves Prin¹**

¹Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes, CIRAD, UMR LSTM, Montpellier F-34398, France; ²Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement/Centre National de Recherche sur l'Environnement, Antananarivo 101, Madagascar; ³IRD, UMR LSTM, Montpellier F-34398, France; ⁴FOFIFA (National Centre of Applied Research in Rural Development), BP 745, Antananarivo 101, Madagascar; ⁵QIT Madagascar Minerals S.A., B.P. 4003, Antananarivo 101, Madagascar
(*Author for correspondence: tel +33(0)4 67 59 37 63; fax +33(0)4 67 59 38 02; email marc.ducouso@cirad.fr)

New Phytologist (2008) 178: 233–238

Chapitre II. Les plantes exotiques et leurs symbiotes fongiques : menaces ou bénéfiques pour la régénération des essences forestières natives de Madagascar

D'après le Centre International de Référence et d'Information sur le sol (ISRIC), 12,8 millions de Km² de terres émergées dans le monde (soit environ 8,56% de terres émergées mondiales) seraient appauvris par le surpâturage et la déforestation conjugués en l'espace d'un demi-siècle. Pour remédier à cette situation qui touche particulièrement les zones tropicales et méditerranéennes, de nombreux programmes de reboisement ont été entrepris en adoptant l'utilisation des essences forestières à croissance rapide (eucalyptus, pins exotiques, acacias australiens...) dès le milieu des années soixante-dix. La plupart des espèces exotiques naturalisées semble trouver des conditions écologiques plus ou moins adaptées à leur développement dans plusieurs écosystèmes tropicaux et y se développe d'une manière harmonieuse (Huston, 1994 ; Williamson & Fitter, 1996 ; Davis et *al.*, 2000 ; Brown & Peet, 2003). Cependant, une petite portion de ces espèces exotiques introduites devient localement dominante (Levine et *al.*, 2003) et change complètement la communauté végétale en une sorte de monoculture. Ces espèces sont appelées généralement « envahissantes » (Colautti & MacIsaac, 2004). D'une manière globale, l'introduction, l'installation et la propagation de ces espèces menacent les écosystèmes, les habitats ou les espèces autochtones avec des conséquences environnementales et/ou économiques et/ou sanitaires négatives. Introduites volontairement ou accidentellement, elles concernent l'ensemble de domaines terrestres, et marin avec une gravité particulière pour les écosystèmes terrestres insulaires.

L'introduction d'espèces exotiques à Madagascar a connu un essor considérable depuis la mise en œuvre de la politique intensive de plantation forestière vers le milieu des années 1950. Ces introductions ont concerné surtout les espèces de *Pinus* (*P. khasya*, *P. patula*, *P. elliotii*...) et d'*Eucalyptus* (*E. robusta*, *E. camaldulensis*, *E. grandis*...) qui font partie jusqu'à nos jours des principales essences utilisées dans les opérations de reboisement et recouvrent plus de la moitié des plantations forestières réalisées. Sous l'effet de la croissance démographique et surtout de la croissance économique, les besoins en bois de la population Malagasy ne cessent d'augmenter. Ce qui explique la mise en œuvre chaque année des programmes de reboisement visant à augmenter la surface des plantations forestières et à diversifier les essences exotiques cultivées. Certes, ces opérations ont abouti à satisfaire en partie les besoins de la population (bois d'énergie domestique, bois d'ameublement et de mobilier), elles devraient être menées au profit de la conservation et de la valorisation des essences ligneuses autochtones et/ou endémiques de la

Grande île. Bien que certaines de ces plantations arrivent à pénétrer à l'intérieur des formations forestières autochtones, les études sur la coexistence entre les deux populations (population exotique et autochtone) ainsi que les mécanismes impliqués dans cette coexistence ont été rarement entreprises. Il est maintenant clairement établi que l'introduction de plantes exotiques pourrait modifier la composition spécifique du couvert végétal autochtone (Levine et al., 2003 ; Wilson et al., 2011). Certaines d'entre elles limitent le développement d'un couvert végétal autochtone et d'autres dont entre autres les légumineuses ligneuses, créent des conditions pédoclimatiques et microbiologiques favorables à la croissance des essences autochtones au moins pendant les premiers stades de leur développement. Les études des causes et des effets de l'invasion menées jusqu'ici évoquent plusieurs hypothèses. Parmi ces hypothèses, l'implication des organismes hypogés du sol (macro et micro) dans les processus de changement de la composition spécifique du couvert végétal a trouvé une situation particulière. En effet, ces organismes ont été rapportés parmi les premiers perturbés par l'invasion biologique et constituent les points de départ des changements au niveau de la composition spécifique du couvert végétal (Hawkes et al., 2005 ; Batten et al., 2006 ; Kisa et al., 2007 ; Kilvin & Hawkes, 2011 ; O'Hanlon & Harrington, 2011).

Pour cette partie, une synthèse des résultats des investigations relatives aux effets de la colonisation des sols forestiers par les essences exotiques sur le développement d'essences autochtones ou endémiques de Madagascar sera développée. L'hypothèse sur laquelle repose les activités de recherche menées étant que « *la propagation des plantes exotiques induirait des modifications au niveau de la structure et du fonctionnement de la communauté de champignons mycorhiziens et ses microorganismes associés qui influenceraient à leur tour la régénération des plantes autochtones* ». Le modèle d'étude utilise le couple *Acacia mangium* Wild comme plante exotique et *Intsia bijuga* Kuntze comme plante autochtone d'une part, et le couple *Eucalyptus camaldulensis* et *Pinus patula* comme plantes exotiques et *Uapaca bojeri* comme plante endémique d'autre part.

II.1. Les impacts négatifs de la plantation d'Eucalyptus camaldulensis et de Pinus patula sur la régénération d'Uapaca bojeri

II.1.1. Approche d'étude

II.1.1.1. Site d'étude et échantillonnage de sols

Les expérimentations ont été menées in situ (dans la partie nord des forêts sclérophylles à *U. bojeri* du haut plateau de Madagascar) et sous la serre du Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement (CNRE) utilisant des sols prélevés sous les plantes cibles (*E. camaldulensis*, *P.*

patula, *U. bojeri*). Pour chaque espèce de plante d'étude, sept pieds adultes identifiés dans environ 5 ha de la surface de la forêt sclérophylle à *U. bojeri* d'Arivonimamo (19° 00' S; 047° 07' E) ont été choisis au hasard. Le sol utilisé est constitué par un mélange de sept échantillons prélevés tout près (à environ 50 cm du tronc) de chaque pied adulte de même espèce. Au total, quatre types de sol correspondant à chacune des trois plantes cibles et à un sol témoin prélevé loin des plantes ectotrophes ont été utilisés. Ces sols ont été conditionnés dans des sachets de 15 cm X 16 cm sous la température de 4°C durant le transport et jusqu'à l'utilisation. Le pH H₂O de la suspension de sol a été mesuré. La quantité de carbone organique total a été déterminée selon la méthode d'Anne (Aubert, 1978) et l'azote total selon la méthode de Kjeldhal. La quantité de phosphate total ou disponible a été mesurée par colorimétrie (Olsen et al., 1954). L'activité des phosphatases en milieu acide ou alcalin a été évaluée en mesurant la quantité de *p*-nitrophenol au spectrophotomètre à 650 nm comme produit d'hydrolyse de *p*-nitrophenol benzène (Schinner et al., 1996). L'hydrolyse de l'acétate de fluorescéine (FDA) a fourni des données sur l'activité microbienne globale du sol (Remigi et al., 2008).

II.1.1.2. Dispositif expérimental

Chaque type de sol a été partagé dans des pots plastiques de 1 litre. Vingt et cinq pots ont été préparés pour chaque type de sol sur lesquels des graines prégermées d'*U. bojeri* ont été repiquées à raison d'une graine par pot. Les pots ont été déposés en randomisation totale sous les conditions de la serre du LME/CNRE (photopériode de 12h, température du jour 25°C) et arrosés régulièrement à l'aide de l'eau de robinet sans fertilisation.

II.1.1.3. Evaluation du développement des plantes et des caractéristiques de leurs communautés ectomycorhiziennes

Après cinq mois de culture, les plantules d'*U. bojeri* ont été dépotées et les parties aériennes et racinaires ont été séparées. Le taux d'ectomycorhization de chaque plantule (nombre de bouts racinaires ectomycorhizés/nombre total de bouts de racines) a été évalué sous loupe binoculaire en considérant au moins 300 bouts de racines par plantules. La colonisation ectomycorhizienne est confirmée par la présence de manteau, du mycélium et des poils fongiques. Les morphotypes d'ectomycorhizes ont été groupés selon les critères morphologiques établis par Agerer (1995) (couleur de la surface, texture, hyphes extramatriciels et rhizomorphe) puis conservés à -20°C dans 700 µl de CTAB (2% cetylammmoniumbromide ; 100 mM Tris-HCl, 20 mM EDTA, 1,4 M NaCl) pour des analyses moléculaires. Pour chaque groupe de morphotype, trois représentants prélevés au hasard ont fait l'objet d'analyse RFLP et chaque type RFLP issu de ces analyses a été séquencé.

L'extraction de l'ADN fongique a été effectuée à partir des morphotypes d'ectomycorhize en utilisant le Kit *Quiagen DNeasy Plant Mini Kits* (Quiagen SA, Courtaboeuf, France) selon les recommandations du fournisseur. Les extraits d'ADN mitochondrial ont été amplifiés avec le couple d'amorces ML5/ML6 (White et al., 1990) et ont été digérés par deux enzymes de restrictions : le *HaeIII* et *HinfI*. Pour chaque type RFLP, un échantillon d'ADN a été séquencé avec le kit de séquençage « *ABI Prism BigDye (Applied Biosystems, Foster City, California)* » et analysé dans un modèle de séquenceur « *Applied Biosystems. Model 310 DNA (Perkin-Elmer)* ». Les séquences ainsi obtenues ont été alignées en utilisant le logiciel *Clustal X 1.80* (Thompson et al., 1997) puis identifiées par analyse de BLAST dans la base de données NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>).

Pour chaque plantule d'*U. bojeri*, le poids sec (65°C pendant une semaine) de la biomasse aérienne et racinaire a été mesuré puis la quantité de phosphore et d'azote dans la biomasse aérienne a été évaluée respectivement par la méthode colorimétrique et Kjeldhal.

II.1.2. Impacts de l'invasion sur les caractères physico-chimiques du sol

Généralement, l'installation des deux plantes exotiques a augmenté l'acidité du sol. Le niveau d'acidité le plus élevé a été enregistré dans le sol d'*E. camaldulensis* suivi par celui de *P. patula*, d'*U. bojeri* et du sol témoin (Tableau 3). Pour la quantité d'azote et de phosphore, les valeurs les plus élevées ont toujours été observées sur le sol d'*E. camaldulensis*. La quantité de matière organique totale a été significativement élevée sous *U. bojeri* par rapport à celle enregistrée dans les autres types de sol. La plus faible quantité de cette matière organique a été observée dans le sol témoin tandis que les deux sols des plantes exotiques (*E. camaldulensis* et *P. patula*) ont présenté des valeurs intermédiaires (Tableau 3).

Tableau 3. Caractéristiques chimiques et biochimiques des sols colonisés par chacune des trois espèces de plantes (*Uapaca bojeri*, *Eucalyptus camaldulensis* et *Pinus patula*) et du sol témoin

	Origine des sols			
	Témoin	<i>U. bojeri</i>	<i>P. patula</i>	<i>E. camaldulensis</i>
pH(H ₂ O)	5,26 (0,03) ⁽¹⁾ d ⁽²⁾	4,94 (0,01) c	4,78 (0,01) b	4,52 (0,01) a
Azote total (%)	0,09 (0,006) a	0,19 (0,003) c	0,15 (0,006) b	0,22 (0,006) d
Phosphate soluble (mg. Kg ⁻¹) (Olsen, 1954)	1,45 (0,02) a	2,85 (0,02) c	2,14 (0,07) b	3,09 (0,02) d
Matière organique totale (%)	1,76 (0,009) a	4,26 (0,038) d	3,23 (0,041) b	3,53 (0,026) c
Activité microbienne globale (µg de FDA hydrolysé h ⁻¹ g ⁻¹ de sol sec)	5,61 (0,05) a	6,69 (0,25) b	11,54 (0,65) c	15,33 (2,05) c
Activité des phosphatases acides (µg de p-nitrophénol g ⁻¹ h ⁻¹ de sol sec)	130,56 (31,8) a	314,01 (11,7) b	867,06 (50,7) c	586,51 (104,9) c
Activité des phosphatases alcalines (µg de p-nitrophénol g ⁻¹ h ⁻¹ de sol sec)	166,51 (6,91) a	302,54 (7,44) c	170,95 (8,47) b	82,54 (5,59) a

⁽¹⁾Moyenne des écart-types, ⁽²⁾Les données dans une même ligne suivies par la même lettre n'ont pas de différence significative selon le test de Neuman-Keuls ($p < 0,05$)

L'installation des trois espèces de plantes (*U. bojeri*, *E. camaldulensis* et *P. patula*) a également beaucoup influencé l'activité microbienne du sol. En effet, l'activité des enzymes phosphatasiques et l'activité microbienne globale du sol ont été significativement élevées dans ces sols que dans le sol témoin avec des intensités plus accrues sous les plantes exotiques. Paradoxalement, l'activité de la phosphatase alcaline diminue dans la direction : sol sous *U. bojeri*, sol sous *P. patula*, sol témoin et sol sous *E. camaldulensis*. Cette situation pourrait être due à l'acidification du sol suite à l'installation des plantes exotiques. En effet, les deux plantes exotiques stimulent l'activité microbienne globale et l'activité des phosphatases acides du sol du sol au profit de leur propagation et au détriment du développement des microorganismes bénéfiques pour *U. bojeri*.

II.1.3. Impacts de l'invasion sur le développement et sur le taux de colonisation ectomycorhizienne des plantules d'*U. bojeri*

Après 5 mois de culture, le meilleur développement des plantules d'*U. bojeri* a été observé sur le sol prélevé sous le pied adulte de cette plante. Ce développement des plantules a été le plus faible sur le sol d'*E. camaldulensis* (Tableau 4). Selon le type de sol, le rapport entre la biomasse racinaire et biomasse aérienne des plantules diminue dans le sens *U. bojeri* > *P. patula* > Sol témoin > *E. camaldulensis* (Tableau 4).

Tableau 4. Développement et taux d'ectomycorhization des plantules d'*U. bojeri* après cinq mois de culture sur les sols de provenance différente (sous *U. bojeri*, sous *E. camaldulensis*, sous *P. patula* et sol témoin)

	Origine des sols			
	Témoin	<i>U. bojeri</i>	<i>P. patula</i>	<i>E. camaldulensis</i>
Biomasse aérienne (mg de poids sec)	131 (11) ⁽¹⁾ b (2)	125 (15) b	85 (12) a	83 (9) a
Biomasse racinaire (mg de poids sec)	113 (12) b	295 (35) c	119 (10) b	27 (4) a
Biomasse totale (mg de poids sec)	244 (12) b	419 (48) c	205 (22) b	110 (8) a
Rapport biomasse racinaire/aérienne	0,88 (0,15) b	2,37 (0,16) d	1,42 (0,12) c	0,34 (0,08) a
Quantité d'Azote dans les feuilles (mg/plante)	0,89 (0,06) a	0,85 (0,1) a	0,65 (0,09) a	0,65 (0,07) a
Quantité de P dans les feuilles (mg/plante)	71,1 (7,3) ab	94,1 (9,9) b	58,9 (8,7) a	62,3 (7,3) ab
Taux d'ectomycorhization (%)	36,1 (2,08) b	73,7 (3,18) c	29,3 (5,55) ab	16,3 (2,40) a

⁽¹⁾Moyenne des écart-types, ⁽²⁾Les données dans une même ligne suivies par la même lettre n'ont pas de différence significative selon le test de Newman-Keuls ($p < 0,05$)

La quantité d'azote dans la partie aérienne des plantules n'a pas présenté des différences significatives entre les sols. Pourtant, les plantules sur le sol d'*U. bojeri* ont contenu des quantités nettement plus élevées en phosphate que celles sur le sol de *P. patula* (Tableau 4).

Comparé à celui observé sur le sol témoin, le taux d'ectomycorhization des plantules significativement le plus élevé et la plus faible a été enregistré respectivement sur le sol d'*U. bojeri* (73,7%) et sur le sol d'*E. camaldulensis* (16,3%). L'installation des deux plantes exotiques a donc fortement modifié les propriétés du sol au détriment du développement des plantules d'*U. bojeri*.

Tableau 5. Identification par séquençage de la région ITS des types RFLP récoltés sur les plantules d'*U. bojeri* après cinq mois de culture sur des sols de provenance différente (*U. bojeri*, *E. camaldulensis*, *P. patula* et sol témoin)

Types RFLP	Numéro d'accession (Genbank)	Espèce la plus proche (Genbank)	Valeur attendue du BLAST
UA1	AF518722	<i>Russula earlei</i>	2e-144
UD1	DQ534583	<i>Bondarcevomyces taxi</i>	3e-138
UA2	AM117659	<i>Amanita</i> sp.	0.0
UA3	AJ509798	Telephoroid mycorrhizal sp.	1e-154
UC3	AY293269	<i>Russula exalbicans</i>	2e-170
UA4	AY157720	Uncultured ECM homobasidiomycete Clone E2	0.0
UB6	DQ534582	<i>Boletellus projectellus</i>	0.0
UC2	FJ480421	<i>Boletus rubropunctus</i>	2e-171
UB5	none	<i>Coltricia perennis</i>	2e-141
UB4	AD001659	<i>Xerocomus chrysenteron</i>	4e-173

Au niveau de la communauté ectomycorhizienne associée aux plantules d'*U. bojeri*, la structure a été totalement différente pour chaque type de sol (Tableau 5, Figure 2). Les types RFLP UA1 (*Russula earlei*), UA2 (*Amanita* sp.), UA3 (Thelephoroïd) et UA4 (Champignon ECM non cultivable) ont été observés uniquement sur les plantules cultivées sur le sol d'*U. bojeri*. Cependant, d'autres types RFLP tels qu'UD1 (*Bondarcevomyces*), UC3 (*Russula exalbicans*) et UB6 (*Boletellus projectellus*) ont été également récoltés sur les plantules élevées sur les sols des plantes exotiques. Dans le sol témoin, à part UC3 deux autres types RFLP ont été observés sur les plantules d'*U. bojeri* à savoir UC2 (*Boletus rubropunctus*) et UB5 (*Coltricia perennis*) avec des taux assez faibles (Figure 2). Le type RFLP UB4 (*Xerocomus chrysenteron*) a été uniquement collecté sur des plantules cultivées sur le sol d'*E. camaldulensis*.

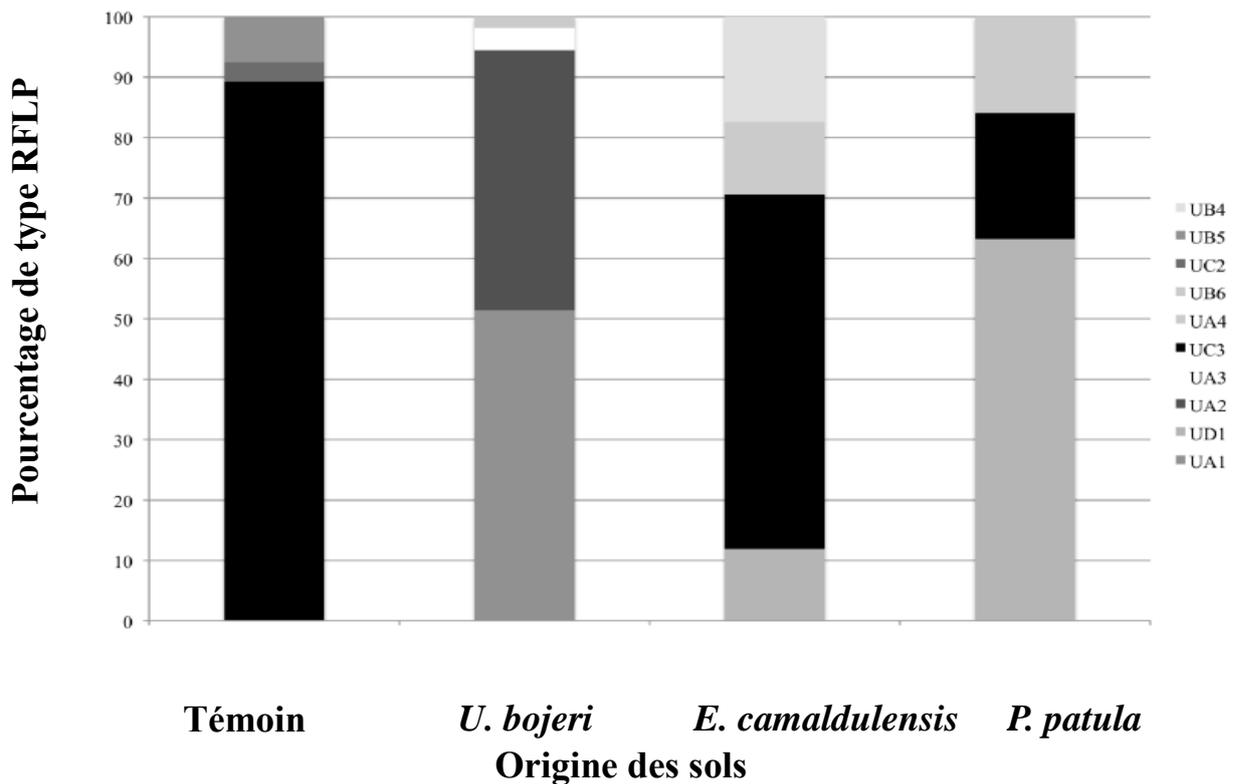


Figure 2. Structure de la communauté ectomycorhizienne associée aux plantules d'*U. bojeri* après cinq mois de culture dans des sols de provenance différente (*U. bojeri*, *E. camaldulensis*, *P. patula* et sol témoin).

II.2. La plantation d'*Acacia mangium* Willd. et ses impacts sur la régénération d'*Intsia bijuga* Kuntze.

En Afrique en générale, il a été établi que les champignons ectomycorhiziens des forêts naturelles ne permettent pas de former des ectomycorhizes réellement fonctionnelles avec les espèces ligneuses australiennes (Malajczuk et al., 1990 ; Martin et al., 1998). A Madagascar, l'inoculation volontaire des espèces d'arbres originaires d'Australie comme les *Eucalyptus*, les *Acacia* et les *Casuarina* par des champignons ectomycorhiziens n'a été jamais connue dans les programmes de reboisement. Ainsi, leurs associations ectomycorhiziennes éventuelles sont considérées spontanées et totalement incontrôlées. De plus, très peu de connaissances sont actuellement disponibles sur les partenaires symbiotiques des essences ligneuses exotiques utilisées en reboisement ainsi que sur leurs impacts sur la conservation et la régénération de la flore autochtone ou endémique de la Grande île.

Acacia mangium constitue une des espèces exotiques utilisées à Madagascar dans la lutte contre l'érosion du sol et comme brise vent dans les systèmes d'agroforesterie. Du fait de sa croissance rapide et de la qualité de ses bois en tant que bois d'énergie ou bois de construction, cette espèce

a été également choisie parmi les essences de reboisement ces dernières années et constitue une candidate potentielle pour les programmes de reboisement à vocation industrielle (production ligneuse, production de pâte à papier). Ainsi, des plantations d'*A. mangium* se trouvent dans plusieurs endroits de la partie orientale de Madagascar et sa population arrive même à s'installer à la périphérie ou à l'intérieur des formations forestières naturelles. Cette partie décrit les interactions entre la symbiose ectomycorhizienne et le développement d'*A. mangium* dans différents écosystèmes forestiers Malagasy et en déduit les impacts de ces interactions sur le développement d'*Intsia bijuga*, une essence autochtone dans la partie orientale de Madagascar.

II.2.1. Adaptation d'A. mangium aux conditions biotiques des écosystèmes forestiers de Madagascar

II.2.1.1. Compatibilité des souches ectomycorhiziennes d'origine différente avec A. mangium

La compatibilité de quatre souches ectomycorhiziennes (02 souches de *Scleroderma* codées SC02-ME et SC03-ME et 02 souches de *Pisolithus* codées Pis 01-ME et Pis 02-ME) d'origine différente a été testée sur un sol préalablement stérilisé (140°C, 20mn). La figure 3 présente les effets de ces souches (Tableau 6) sur le développement d'*A. mangium* pendant cinq mois de culture sous serre utilisant le même sol. Le développement de la plante est exprimé par la croissance en hauteur mesurée mensuellement du collet jusqu'au bourgeon terminal. Toutes les quatre souches ectomycorhiziennes utilisées ont stimulé de manière significative le développement de la plante si on se réfère aux plants témoins. Cette stimulation du développement de la plante a été observée à partir du troisième mois de culture. Aucune différence significative n'a pourtant été observée entre les effets de chaque souche fongique durant la période de l'expérience (Tableau 7). Ces résultats expliquent à la fois (i) la capacité d'*A. mangium* à former des associations symbiotiques aussi bien avec les souches ectomycorhiziennes isolées des plantes exotiques (Pis 01-ME, Pis 02-ME) qu'avec les souches isolées de plantes autochtones (Sc 01-ME et Sc 02-ME) (Tableau 7) et (ii) le niveau élevé de la dépendance ectomycorhizienne de cette arbre. Cette dépendance mycorhizienne qui exprime l'importance de la souche sur le développement de la plante, a été toujours supérieur à 80% pour les quatre souches testées. Ce qui explique qu'*A. mangium* a trouvé des conditions favorables à son développement dans différents écosystèmes à Madagascar où les quatre souches de champignons ectomycorhiziennes citées ci-dessus sont souvent disponibles. Il est également à noter que ces quatre souches font partie de deux genres appartenant au groupe de champignons ectomycorhiziens déjà identifiés précoces (*Scleroderma* et *Pisolithus*) dans des écosystèmes tropicaux (Ducouso et al., 1991 ; Sanon et al, 1997).

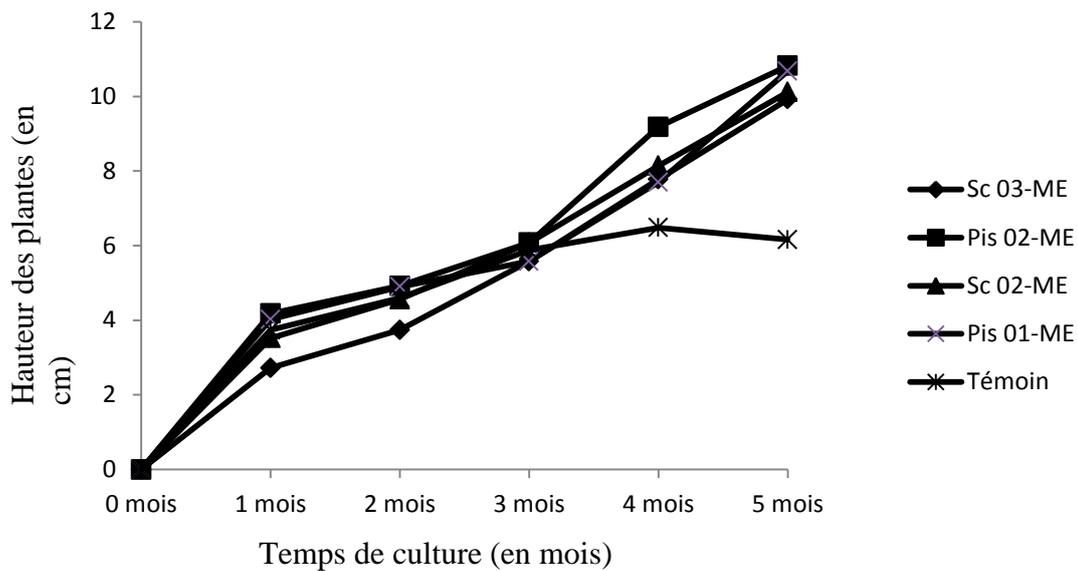


Figure 3. Croissance en hauteur d'*A. mangium* sous l'influence de souches ectomycorhiziennes d'origine différente en condition contrôlée

Tableau 6. Origine et plante hôte d'isolement des quatre souches ectomycorhiziennes utilisées

Code	Nom scientifique	Matériel biologique d'isolement	Plante hôte	Type de forêt
SC 03-ME	<i>Scleroderma sp</i>	Carpophore frais	<i>Intsia bijuga./</i> Caesalpiniaceae	Forêt naturelle dense et humide
Pis 02-ME	<i>Pisolithus sp</i>	Carpophore frais	<i>Eucalyptus globulus/</i> Myrtaceae et <i>Pinus khesya /</i> Pinaceae	Plantation mixte
Sc 02-ME	<i>Scleroderma sp</i>	Carpophore frais	<i>Uapaca bojeri/</i> Uapacaceae	Forêt sclérophylle à <i>Uapaca bojeri</i>
Pis 01-ME	<i>Pisolithus sp</i>	Carpophore frais	<i>Eucalyptus globulus/</i> Myrtaceae	Plantation d' <i>Eucalyptus</i>

La technique de mycorhization contrôlée (utilisant des sols préalablement stérilisés), dans sa première phase sous serre et/ou en pépinière, est souvent utilisée pour vérifier la compatibilité des souches fongiques avec la plante d'étude et pour évaluer la performance de la souche au niveau d'un ou des paramètres donnés (Exemple. Capacité à stimuler le développement de la plante). Pour des applications de cette technique dans le domaine de reboisement et/ou de

restauration écologique, il est nécessaire de mesurer la capacité adaptative des souches fongiques vis-à-vis des microorganismes natifs du sol.

Tableau 7. Effet de l'inoculation sur le développement d'*A. mangium* après cinq mois de culture et dépendance mycorhizienne de la plante vis-à-vis de quatre souches ectomycorhiziennes d'origine différente sous condition contrôlée

	Traitements				
	Témoin	Pis02-ME	Pis01-ME	Sc02-ME	Sc03-ME
Biomasse aérienne (mg poids sec)	61,88 a *	459,540 c	379,5 bc	293,78 b	387,2 bc
Biomasse racinaire (mg poids sec)	13,96 a	90,66 b	102,78 b	135,02 b	160,5 b
Taux d'ectomycorhization (%)	-	50 a	55 a	45,59 a	50,79 a
Dépendance ectomycorhizienne (%)	-	86,71 a	84,66 a	81,19 a	86,33 a

* Pour chaque paramètre mesuré, les données dans la même ligne suivies par la même lettre n'ont pas de différence significative selon le test de Newman Keuls ($P < 0.05$).

II.2.1.2. Compétitivité des couples *A. mangium*/souches ectomycorhiziennes vis-à-vis des microorganismes natifs du sol

Certes, l'expérimentation de mycorhization d'*A. mangium* citée ci-dessus a été effectuée sous condition contrôlée [sol préalablement stérilisé (140°C pendant 40min), arrosage régulier, température et luminosité sous serre], les résultats obtenus ont permis de démontrer l'importance des champignons ectomycorhiziens présents dans différents écosystèmes forestiers à Madagascar sur le développement de cette essence exotique. Sous une autre condition d'expérimentation, c'est-à-dire en utilisant un sol prélevé dans une zone nue dégradée dépourvue d'espèces forestières (autochtones et/ou endémiques) et sans traitement préalable (non stérilisé), nous avons observé la même tendance de résultats. Toutes les quatre souches ectomycorhiziennes utilisées ont amélioré d'une manière significative le développement d'*A. mangium* par rapport aux plants non inoculés (Tableau 8). A la fois, les quatre souches se sont montrées compétitives vis-à-vis des microorganismes natifs du sol utilisé et elles s'avèrent performantes sur l'amélioration du développement d'*A. mangium*. Dans certains cas, le développement des plantes inoculées a été stimulé à plus de 6 fois (avec la souche Pis-02-ME ou SC03-ME).

Les résultats de ces deux expérimentations ont permis d'identifier des techniques de production de plantules performantes (inoculées) d'*Acacia* pour les programmes de reboisement ou de restauration écologique à Madagascar. Ducouso et al. (1991) ont déjà mentionné qu'une plantation à grande échelle d'*Eucalyptus* et d'*Acacia* australiens pourra être effectuée en

considérant des symbiotes fongiques préalablement sélectionnés. Par contre une telle pratique a été rarement suivie en milieu tropical. Les plantations d'*Eucalyptus* et d'*Acacia* existantes à Madagascar ont utilisé des plantules produites de façon classique en pépinière et en ignorant l'importance des symbiotes fongiques. Pourtant, la présence de carpophores de champignons appartenant aux groupes ectomycorhiziens précoces sous certaines plantations d'*Eucalyptus* et/ou d'*Acacia* a été déjà mentionnée (Ramanankierana, 2005). Par contre, l'importance des symbiotes fongiques sur le développement de ces plantations et l'impact de ces plantations sur la régénération des essences forestières autochtones et/ou endémiques de Madagascar ont rarement fait l'objet d'investigation sur la Grande île. L'exploitation de la potentialité de ces quatre souches, telle mentionnée dans le tableau 8, ouvre donc des perspectives intéressantes pour la réussite des programmes de revégétalisation des zones dégradées utilisant les Acacias à Madagascar.

Tableau 8. Effet de l'inoculation par les quatre souches ectomycorhiziennes d'origine différente sur le développement d'*A. mangium* sur le sol sans traitement préalable

	Traitements				
	Témoin	Pis02-ME	Pis01-ME	Sc02-ME	Sc03-ME
Biomasse aérienne (mg poids sec)	62,92 a *	461,36 c	380,23 bc	298,68 b	429,34 c
Biomasse racinaire (mg poids sec)	11,06 a	84,33 b	99,18 b	128,27 b	182,25 c
Hauteur (cm)	8,2 a	12,84 b	12,01 b	17,36 b	10,5 b
Taux d'ectomycorhization (%)	-	52,70 a	58,43 a	49,13 a	57,28 a

* Pour chaque paramètre mesuré, les données dans la même ligne suivies par la même lettre n'ont pas de différence significative selon le test de Newman Keuls ($P < 0.05$).

II.2.2. Impact de la colonisation du sol par *A. mangium* sur le développement d'*Intsia bijuga* dans la partie orientale de Madagascar

II.2.2.1. Développement d'*A. mangium* et impacts sur le fonctionnement de la composante microbienne et sur les propriétés chimiques du sol

Les expérimentations ont été menées à l'échelle de laboratoire, de pépinière et de serre en utilisant des sols provenant des habitats naturels d'*I. bijuga* dans la partie orientale de Madagascar. Ainsi, le sol d'étude a été prélevé à la périphérie d'une formation forestière à *Intsia bijuga* située dans la station forestière de Tampolo – Fénérive Est (S 17° 17' ; E 049° 24'). Dans cette partie de la station forestière, les arbres autochtones ou endémiques sont remplacés en grande partie soit par des arbustes soit par des essences exotiques telles que des espèces

d'*Eucalyptus*, de *Pinus* et d'*Acacia*. Les caractéristiques physico-chimiques de ce sol sont données par le **tableau 9**.

Tableau 9. Caractéristiques physico-chimiques du sol de culture

	pH (H ₂ O)	Azote totale (%)	Carbone total (%)	Phosphate totale (ppm)	Potassium (méq/100g)	C/N
Sol de culture	6,15	0,084	1,47	19,3	0,43	17,5

L'expérimentation vise à étudier l'impact de la colonisation du sol par *A. mangium* sur la structure et le fonctionnement de la population ectomycorhizienne et ses microorganismes associés au niveau du sol d'une part et sur le développement d'*I. bijuga* d'autre part. Ainsi, 50 pots de 1 litre remplis par le sol d'étude ont été colonisés par *A. mangium* pendant 4 mois et 50 autres pots ont été utilisés comme témoin sans plante.

Après 4 mois de culture, *A. mangium* n'a pas provoqué de différences significatives au niveau des caractéristiques physico-chimiques du sol en considérant les 4 principaux éléments (C, N, P, K) impliqués dans le développement des plantes (**Tableau 10**). Par contre, le passage d'*A. mangium* a fortement stimulé l'activité microbienne globale du sol mesurée par sa capacité à hydrolyser la Fluorescéine diacétate (FDA) (**Figure 4A**). La quantité de fluorescéine produite a augmenté de 1,16 fois par rapport à celle enregistrée au niveau du sol sans plante. Par contre, cette stimulation de la capacité hydrolytique des microorganismes du sol n'a pas été observée pour les enzymes phosphatasiques (**Figure 4B**). Ainsi, aucune différence significative n'a été observée entre l'activité phosphatasique des sols enregistrée dans les deux traitements aussi bien en milieu alcalin qu'en milieu acide. Par contre, l'activité des enzymes phosphatasiques a été nettement plus forte en milieu acide qu'en milieu alcalin que ce soit en absence ou en présence d'*A. mangium*. Il a été déjà démontré que l'activité des enzymes phosphatasiques augmente avec l'acidification du milieu (Mousain et al., 1997). Impliquées dans la biodisponibilité de phosphates solubles dans la solution du sol ou orthophosphate, ces enzymes tiennent des rôles importants dans le développement des plantes. Il est à rappeler que le phosphore constitue un des éléments les moins mobiles dans le sol alors qu'il est indispensable au développement des plantes.

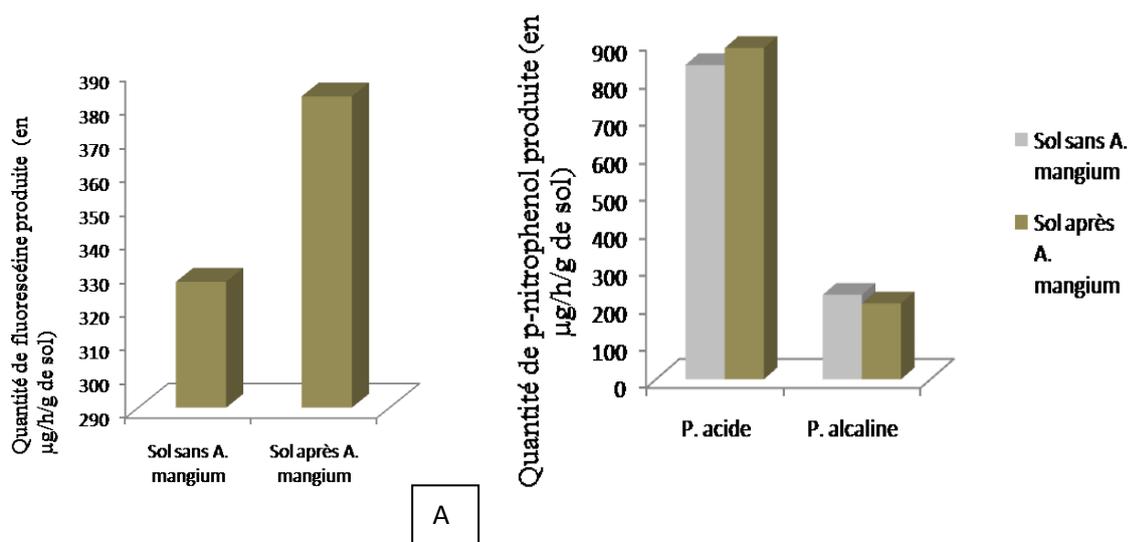


Figure 4. Activité microbienne globale et activité phosphatasique du sol avant et après passage d'*A. mangium*

Tableau 10. Caractéristiques physico-chimiques du sol après le passage d'*A. mangium*

	pH (H ₂ O)	Azote totale (%)	Carbone total (%)	Phosphate totale (ppm)	Potassium (mégq/100g)	C/N
Sol après <i>A. mangium</i>						
<i>mangium</i>	6,05 a*	0,101 a	1,72 a	18,02 a	0,038 a	17,02
Sol sans <i>A. mangium</i>						
<i>mangium</i>	6,12 a	0,089 a	1,5 a	19,01 a	0,04 a	16,85

* Pour chaque paramètre mesuré, les données dans la même colonne suivies par la même lettre n'ont pas de différence significative selon le test de Newman Keuls ($P < 0.05$).

II.2.2.2. Colonisation du sol par *A. mangium* et impacts sur la structure de certains groupes fonctionnels de la communauté microbienne du sol

Au niveau de la structure de la communauté microbienne du sol, l'impact de la colonisation du sol par *A. mangium* a été étudié sur trois groupes microbiens à savoir (i) la flore capable de solubiliser le phosphate, (ii) les *Pseudomonas* du groupe des fluorescent et (iii) les Actinomycètes. Respectivement, les microorganismes de ces trois groupes ont été dénombrés sur milieu TCP contenant le phosphate tricalcique comme seule source de phosphate, le milieu King B permettant d'observer sous lumière ultra violet la fluorescence de certains représentants du genre *Pseudomonas* et le milieu Waksman sur lequel les Actinomycètes se développent en formant des colonies de forme spécifique.

Ces investigations ont permis de démontrer que l'implantation de cet arbre a fortement modifié la structure de la population de ces microorganismes. Ainsi, le développement en nombre a été plus de trois fois pour les Actinomycètes et plus de deux fois pour la flore capable de solubiliser le phosphate dans les sols colonisés par *A. mangium* par rapport à celui enregistré dans le sol témoin sans plante (**Figure 5**). Par contre, les nombres de bactéries du groupe de Fluorescent observés dans les deux types de sol (colonisé ou non par *A. mangium*) sont comparables.

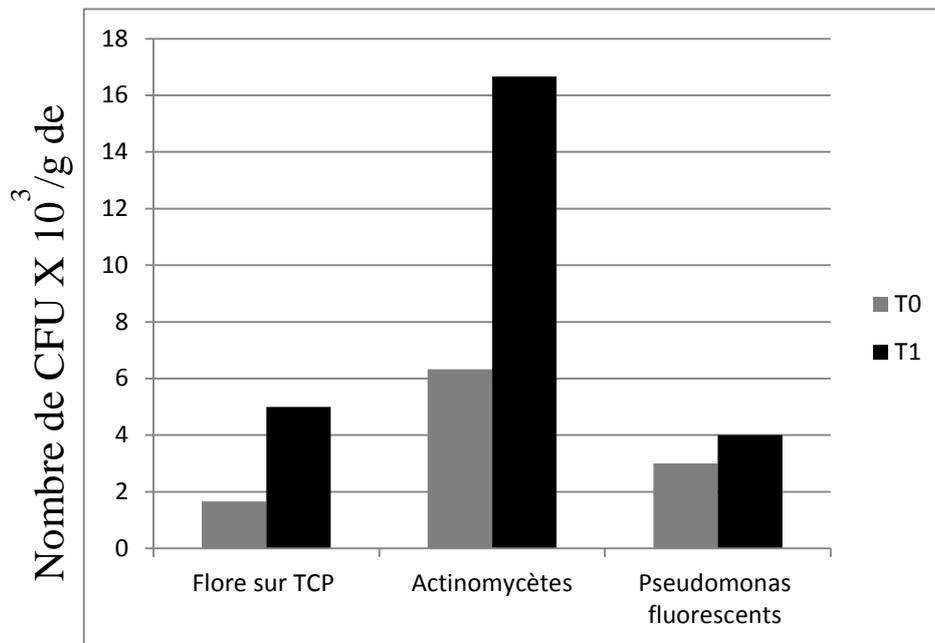


Figure 5. Impact de la colonisation du sol par *A. mangium* sur la population de Pseudomonas fluorescents, les bactéries solubilisatrices de phosphate et sur les Actinomycètes (T0 : Sol non colonisé ; T1, sol colonisé par *A. mangium* pendant 4 mois)

Considérant à la fois la flore solubilisatrice de phosphate et les actinomycètes, ces modifications indiquent que l'installation de la plante exotique a augmenté la fertilité biologique du sol en stimulant le développement des microorganismes impliqués dans les cycles biogéochimiques des éléments nutritifs particulièrement le phosphore. Cette situation sera favorable au développement des plantules des autres plantes. Par contre, elle aura des effets négatifs sur l'établissement des structures mycorhiziennes étant donné que la population des microorganismes associés à ces structures n'a pas été significativement stimulée. De plus, l'augmentation possible de phosphate libre dans le sol constitue un facteur inhibant à la fois l'établissement et le fonctionnement de ces structures symbiotiques.

II.2.2.3. Colonisation du sol par *A. mangium* et développement d'*I. bijuga*

Le développement d'*I. bijuga* sur ces deux lots de sol (pré-colonisé ou non par *A. mangium*) après 4 mois de culture est donné par le **tableau 11**. Aussi bien au niveau de la hauteur des

plantes qu'au niveau de la biomasse aérienne et racinaire, la pré-colonisation du sol par *A. mangium* a stimulé le développement d'*I. bijuga*. Une différence nette entre la croissance des plantes dans les deux lots de sol a été observée dès le deuxième mois de culture (**Figure 6**). Après 4 mois de culture, le développement des plantes sur le sol pré-colonisé par *A. mangium* mesuré par la biomasse aérienne et racinaire est plus de deux fois par rapport à celui des plants témoins. Associé à cette nette amélioration du développement d'*I. bijuga* se trouve également un taux d'ectomycorhization significativement élevé (Tableau 11).

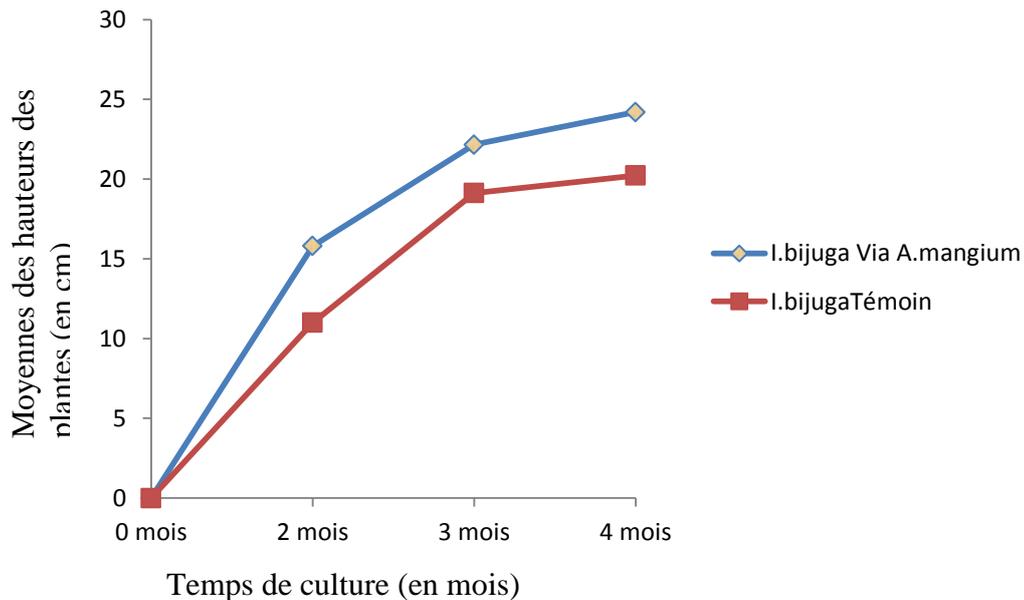


Figure 6. Développement en hauteur d'*I. bijuga* sur les deux lots de sol durant les quatre premiers mois de culture

Tableau 11. Développement et taux d'ectomycorhization d'*I. bijuga* sur les deux lots de sol après quatre mois de culture

	Hauteur (cm)	Biomasse aérienne (g)	Biomasse racinaire (g)	Taux d'ectomycorhization (%)
<i>I. bijuga témoin</i>	20,23 a*	1,01 a	0,22 a	42,33 a
<i>I. bijuga via A. mangium</i>	24,20 a	2,07 b	0,69 b	75,66 b

* Pour chaque paramètre mesuré, les données dans la même ligne suivies par les mêmes lettres n'ont pas de différence significative selon le test de Newman Keuls ($P < 0.05$).

Cette situation nous a amené à orienter les études vers les facteurs biotiques susceptibles de stimuler le développement d'*I. bijuga*. Ainsi, l'hypothèse sur la présence de champignons ectomycorhiziens compatibles avec cet arbre après le passage d'*A. mangium* a été testée. Les caractères anatomiques et morphologiques des morphotypes d'ectomycorhize récoltés respectivement sur les *A. mangium* pré-colonisateurs et les *I. bijuga* successeurs ont été décrits. Il

a été démontré que les trois morphotypes d'ectomycorhizes récoltés sur *I. bijuga* ont été tous identifiés sur *A. mangium* (Tableau 12). Ce qui permet de suggérer qu'*A. mangium* a hébergé des champignons ectomycorhiziens compatibles avec *I. bijuga*. Ce partage de symbiotes fongiques entre deux espèces de plantes a déjà suscité beaucoup de discussions surtout dans les phénomènes de « facilitation » ou « compétition » entre espèces végétales.

Tableau 12. Caractéristiques morphologiques des morphotypes d'ectomycorhize récoltés sur les deux plantes (*A. mangium* et *I. bijuga*)

Morphotype	MT (1)*	MT (2)*	MT (3)*	MT (4)**
Couleur du manteau	Marron	Brun foncé	Marron foncé	Blanc
Texture du manteau	Lisse	Lisse	Poilue	Lisse
Profondeur du réseau de Hartig	Première couche des cellules corticales	Première couche des cellules corticales	Première couche des cellules corticales	Première couche des cellules corticales
Ramification	Absence	Absence	Absence	Absence
Cordon mycélien	Présence	Absence	Présence	Présence
Hyphe extramatriceielle	Abondante, en forme de coton et de couleur marron	Réduite, en forme de coton et de couleur beige	Réduite, en forme de coton et de couleur marron	Abondante, sous forme de feutrage et de couleur blanche

*Morphotypes communs aux deux plantes ; **Morphotype identifié chez *A. mangium*

Encadré 2

MEMOIRE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME D'ETUDES APPROFONDIES DE BIOCHIMIE

Option : BIOTECHNOLOGIE – MICROBIOLOGIE

**EFFETS MYCORHIZOSPHERIQUES d'*Acacia mangium* :
IMPACTS SUR LA STRUCTURE ET L'ACTIVITE DE LA
POPULATION MICROBIENNE DU SOL ET SUR LE
DEVELOPPEMENT D'UNE ESSENCE LIGNEUSE
AUTOCHTONE, *Intsia bijuga***

Présenté le 20 Novembre 2009

par

ANDRIANANDRASANA Martial Doret

Maître ès Sciences

Devant le jury composé de :

Président : Professeur RALISON Charlotte
 Rapporteurs : Docteur RAMANANKIERANA Heriniaina
 Docteur RAMAMONJISOA Daniel
 Examineurs : Professeur RAHERIMANDIMBY Marson
 Docteur RAZAFINDRATOVO Valerie

Des résultats de cette partie ont fait l'objet de soutenance de mémoire de DEA à l'Université d'Antananarivo/Madagascar en 2009 (Encadré 2) et de communication orale et affichée lors de l'atelier de restitution à mi-parcours du projet **JEAI MADASYM** au mois de décembre 2010.

Chapitre III. Le phénomène de plante nurse et la régénération des essences forestières natives de Madagascar: implication de la symbiose mycorhizienne

Comprendre les mécanismes régissant le remplacement des espèces et/ou des communautés dans un milieu donné et dans le temps fait partie des objectifs de l'écologie aussi bien en écologie microbienne, animale ou végétale. La composante microbienne du sol est souvent impliquée dans ces phénomènes telle que l'augmentation de certains agents pathogènes qui limite la compétitivité des plantes et facilite leur remplacement par d'autres espèces. L'importance de ces phénomènes comme élément régissant fortement la distribution et la dynamique des communautés de plantes n'a attiré l'attention des scientifiques que très récemment (Bruno et al, 2003 ; Maestre and Cortina, 2004). Le rôle que pourrait jouer les espèces arbustives pionnières des zones dégradées dans la facilitation de l'établissement des plantes natives a été particulièrement étudié dans différents écosystèmes (Richard et al, 2009, Baohanta, 2011). Ainsi, il a été démontré que par différents mécanismes (physiques, chimiques ou biologiques), ces arbustes sont capables de faciliter l'établissement des plantules des autres espèces de plantes. Ces phénomènes sont appelés communément « phénomènes de plante nurse ou phénomène de facilitation ». Dans le présent chapitre, la potentialité d'une espèce arbustive (*S. oblongifolia*), pionnière des zones dégradées de la forêt sclérophylle à *U. bojeri*, à faciliter l'établissement des plantules de ce dernier est présenté. Le phénomène a été étudié à travers les communautés ectomycorhiziennes associées à chaque plante étant donné que les deux plantes sont toutes à ectomycorhizes.

III.1. Facilitation de la régénération d'*Uapaca bojeri* par les espèces arbustives ectotrophes pionnières des zones dégradées : cas de *Sarcolaena oblongifolia*

La communauté de champignons ectomycorhiziens fait partie intégrante de l'ensemble de la biodiversité et des éléments impliqués dans l'évolution des écosystèmes. Cette partie décrit la structure de la communauté hypogée de champignons ectomycorhiziens associés à *Uapaca bojeri* et/ou à *Sarcolaena oblongifolia* dans la forêt sclérophylle du haut plateau de Madagascar et évalue par la suite les impacts des symbiotes fongiques partagés par les deux plantes sur la régénération d'*U. bojeri*.

III.1.1. Approches d'études

III.1.1.1. Analyse structurale de la communauté ectomycorhizienne

A partir des échantillons de sol contenant des systèmes racinaires des deux plantes, une description de la structure de la communauté de champignons ectomycorhiziens associée à chaque plante hôte a été entreprise. Sur une ligne de transect de 50m de long, les échantillons de sols ont été prélevés dans trois situations différentes selon la composition des plantes hôtes dont (i) sous une population homogène d'*U. bojeri*, (ii) sous une touffe de *S. oblongifolia* dépourvue d'*U. bojeri* et (iii) sous une population mixte des deux plantes avec des plantules d'*U. bojeri*. Avec cinq répétitions pour chaque composition de plantes hôtes, 15 échantillons de 250 g de sols ont été prélevés et classés en trois groupes selon la ou les plantes hôtes. La description de la structure de la communauté ectomycorhizienne a été réalisée en trois étapes visant respectivement trois objectifs bien distincts mais complémentaires.

Les racines courtes ectomycorhizées observées au niveau du système racinaire de chaque plante ont été récoltées et triées selon leurs caractéristiques morphologiques (couleur, aspect du manteau, structure des hyphes extramatriciels, type de ramification) et anatomiques (profondeur du réseau de Hartig, épaisseur du manteau). Cette étape vise à classer les morphotypes d'ectomycorhizes dans différents groupes et à évaluer l'implication de chaque groupe au niveau quantitatif au sein de toute la communauté ectomycorhizienne.

Lors de la deuxième étape, la région ITS de chaque groupe de morphotypes d'ectomycorhizes identifiés a fait l'objet d'analyse de restriction (Restriction Fragment Length Polymorphism ou RFLP) en utilisant deux enzymes de restriction *Hae III* (Promega) et *Hinf I* (Promega). En se basant sur des bases de données relatives à la description taxonomique des champignons supérieurs, les résultats de cet analyse ont permis à la fois de vérifier l'identité de chaque morphotype ectomycorizien qui devient par la suite un « type RFLP » et de décrire les relations entre les deux communautés de champignons ectomycorhiziens. Ainsi, seuls les types RFLP préalablement établis ont fait l'objet d'identification moléculaire, durant la troisième étape, en séquençant la région ITS de l'ADN mitochondrial utilisant la couple d'amorce ML5/ML6.

III.1.1.2. Structure morphotypique et moléculaire de la communauté de champignons ectomycorhiziens dans chaque composition de plantes hôtes

A partir de 2025 bouts de racines courtes ectomycorrhizées récoltées sur le terrain et en considérant séparément les 15 échantillons de sol, 165 morphotypes d'ectomycorhizes ont été identifiés. L'analyse RFLP de chaque morphotype a révélé 137 types RFLP dont 60%, 58,33 % et 76,92 % sont partagés par les deux espèces de plantes hôtes respectivement sous *U. bojeri*,

sous *S. oblongifolia* et sous végétation mixte. Sous les trois compositions de plantes hôtes, les indices de diversité (Indice de diversité de Simpson et de Shanon – Wiener) de la communauté ectomycorhizienne a été comparable avec les valeurs les plus élevées sous la végétation mixte et les plus basses sous *U. bojeri* (**Tableau 13**).

Tableau 13. Modèle d'échantillonnage, structure et diversité de la communauté de champignons ectomycorhiziens associée aux deux plantes hôtes

	Structure des plantes hôtes		
	<i>U. bojeri</i>	<i>S. oblongifolia</i>	Mixture vegetation
Nombre d'échantillon de sol	5	5	5
Nombre de bouts de racines ectomycorhizées	665	580	780
Nombre de types RFLP (sans comparaison des sols de différente provenance)	38	46	53
Pourcentage de taxons* partagés par les deux plantes hôtes (%)	60	58,33	76,92
Indice de diversité de Simpson	6,75	10,58	11,22
Indice de diversité de Shannon-Wiener	0,87	1,05	1,07

*Taxon a été identifié comme type RFLP basé sur la similarité de la taille des bandes apparues après analyse RFLP utilisant les enzymes de restriction *Hae III* (Promega) et *Hinf I* (Promega)

La comparaison de types RFLP de provenance différente (selon la composition de plantes hôtes) a permis d'identifier en totalité 35 types RFLP dont 10 sont associés à *U. bojeri*, 12 à *S. oblongifolia* et 13 ont été récoltés dans les échantillons sous la végétation mixte. Parmi ces 35 types RFLP, 21 individus de champignons ectomycorhiziens ont été taxonomiquement identifiés en se basant sur la similarité de la séquence de la région ITS de chaque type RFLP avec les séquences disponibles au niveau de la base de données NCBI (Tableau 14). A l'exception d'un seul type RFLP dont l'analyse moléculaire n'a permis que le classer parmi le groupe des mycorhizes « Thelephotoid », tous les types RFLP ont été identifiés jusqu'au niveau genre (03 types RFLP) ou espèce (17 types RFLP). Au niveau genre, *Russula* a été le plus abondant avec 8 représentants suivi par *Bondarcevomyces* (5 représentants), *Scleroderma* (2 représentants) et *Amanita*, *Tapinella* et *Tomentella* avec chacun un seul représentant (Tableau 14).

Issus de trois méthodes d'identification à savoir le morphotypage, l'analyse RFLP de la région ITS suivie par le séquençage de cette région, il a été toujours démontré que plus de la moitié de symbiotes ectomycorhiziens a été partagée par les deux plantes hôtes. En effet, 80,83% de

morphotypes récoltés qui correspondent à 52,38% de types RFLP ont été récoltés à la fois sur *U. bojeri* et sur *S. oblongifolia* (Figure 7).

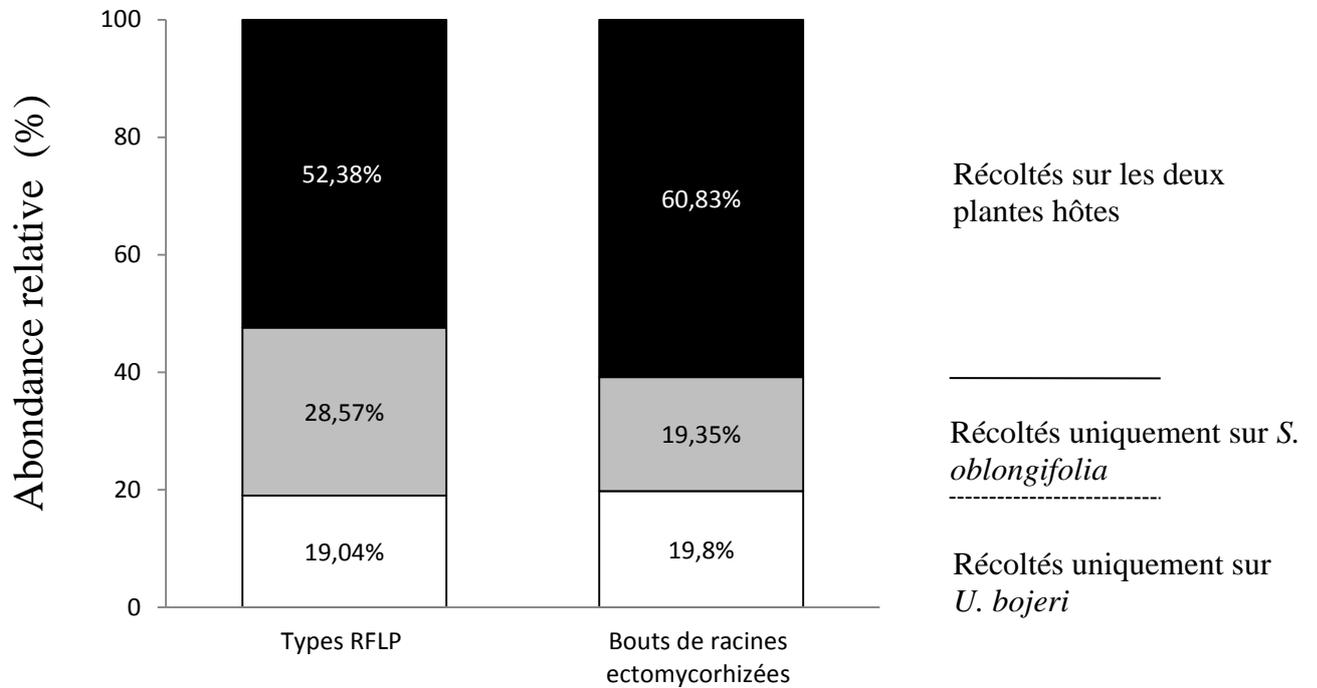


Figure 7. Distribution des symbiotes ectomycorhiziens entre *Uapaca bojeri* et *Sarcolaena oblongifolia* exprimés par le pourcentage de types RFLP et par le pourcentage du nombre total des bouts racinaires ectomycorhizés

Tableau 14. Identification par la séquence de la région ITS des types RFLP récoltés sur *U. bojeri* et/ou *S. oblongifolia*

Types RFLP	Espèce la plus proche dans la GenBank	Numéro d'accension à la GenBank	Valeur attendue du BLAST	Plante hôte identifiée
Ja c	<i>Russula earlei</i>	AF518722	2e-142	<i>S. Oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>
Bl c	<i>Amanita sp C322</i>	AM116759	0.0	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>
Ja a	<i>Boletellus projectellus</i>	DQ534582	0.0	<i>U. bojeri</i>
Br a	<i>Bondarcevomyces taxi</i>	DQ534583	2e-169	<i>S. Oblongifolia</i>
Mr d	<i>Bondarcevomyces taxi</i>	DQ534583	0.0	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>
Mr e	<i>Bondarcevomyces taxi</i>	DQ534583	0.0	<i>S. Oblongifolia</i>
Nr b	<i>Bondarcevomyces taxi</i>	DQ534583	0.0	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>
Nr a	<i>Bondarcevomyces taxi</i>	DQ534583	0.0	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>
Br b	<i>Boletellus projectellus</i>	DQ534582	0.0	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>
Bl b	<i>Scleroderma dictyosporum</i>	AJ509787	2e-175	<i>S. Oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>
Bl a	<i>Scleroderma citrinum</i>	AF393149	2e-175	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>
Nr c	<i>Tapinella panuoides</i>	DQ534594	2e-98	<i>S. Oblongifolia</i>
Ja f	<i>Russula exalbicans</i>	AY293269	9e-167	<i>U. bojeri</i>
Mr c	<i>Russula fulvo-ochrascens</i>	AM117671	2e-169	<i>S. Oblongifolia</i>
Ja b	<i>Russula earlei</i>	AF518722	9e-154	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>
Ja d	<i>Russula earlei</i>	AF518722	7e-143	<i>U. bojeri</i>
Mr a	<i>Russula earlei</i>	AF518722	2e-144	<i>U. bojeri</i>
Bl d	<i>Russula sp. C353gn</i>	AM117670	2e-110	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>
Bl e	<i>Russula earlei</i>	AF518722	4e-158	<i>S. oblongifolia</i>
Mr b	<i>Tomentella sp.</i>	U86859	1e-152	<i>S. Oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>
Ja g	<i>Thelephoroid mycorrhizal sp.</i>	AJ509798	3e-154	<i>S. Oblongifolia</i>

Au total, 11 taxons ont été partagés par les deux plantes hôtes et ces taxons ont été récoltés en grande partie sous la population mixte des deux plantes qui partagent plus de la moitié des taxons récoltés sous cette végétation (Tableau 14). Quatre taxons (3 *Russula* et 1 *Boletellus*) ont été récoltés seulement sur le système racinaire d'*U. bojeri* dont l'espèce la plus dominante (*Boletellus projectellus*) chez cette plante. Les taxons identifiés seulement chez *S. oblongifolia* incluent 2 *Bondarcevomyces*, 2 *Russula*, 1 *Tapinella* et le champignon non identifié Thelephoroïd.

Au niveau de la fréquence relative de chaque champignon ectomycorhizien sur le système racinaire des deux plantes hôtes, une grande partie des éléments des communautés de champignons ectomycorhiziens des deux plantes hôtes a été fréquente chez les deux plantes (Figure 8). L'exemple le plus remarqué concerne le genre *Bondarcevomyces* qui a été le plus abondant chez *S. oblongifolia* et a été également observé chez *U. bojeri*. En effet, seuls 6 et 4 taxons ont été récoltés uniquement et respectivement sur *S. oblongifolia* et *U. bojeri*.

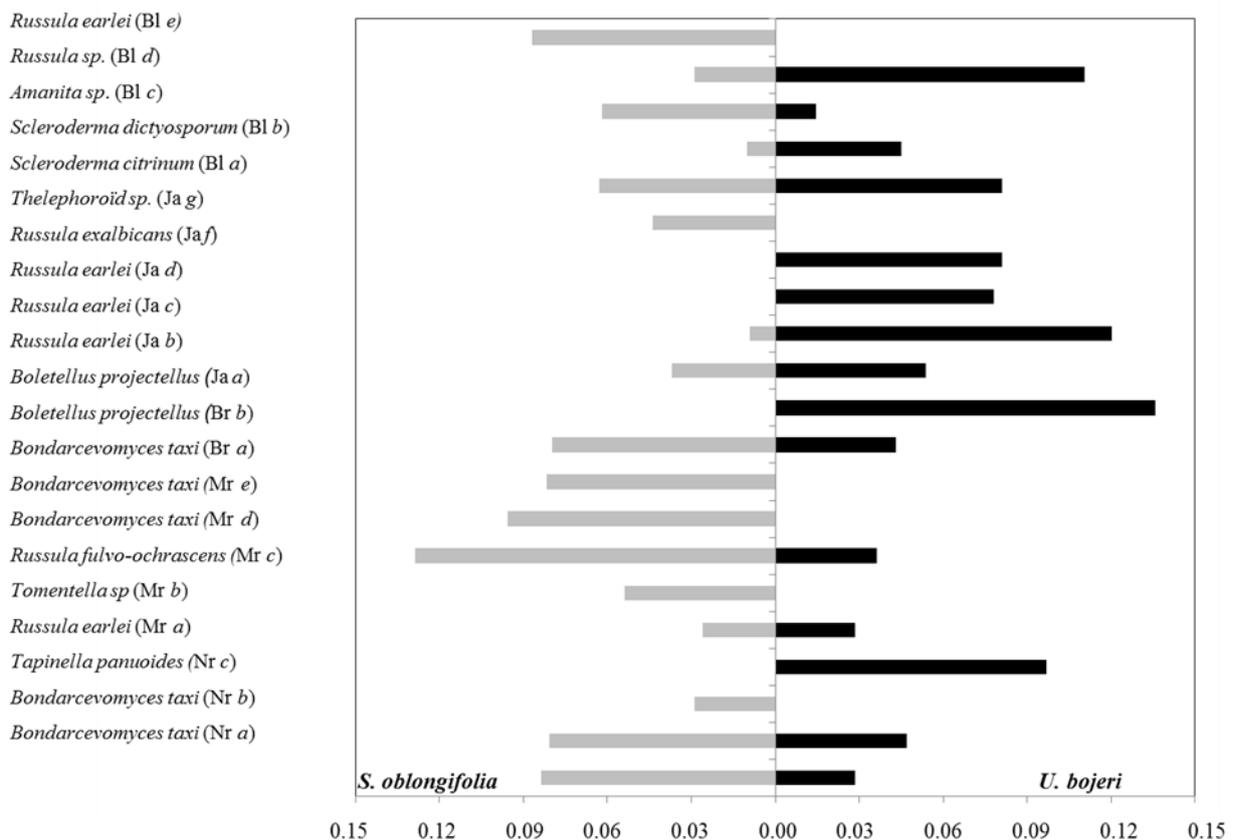


Figure 8. Fréquence relative de chaque type RFLP identifié au niveau du système racinaire de *S. oblongifolia* et d'*U. bojeri*.

*III.1.2. Développement des plantules d'*U. bojeri* sous l'influence des trois structures différentes de communauté ectomycorhizienne*

III.1.2.1. Dispositif expérimental

Le développement des plantules d'*U. bojeri* sur différents types de sol influencé par la communauté de champignons ectomycorhiziens respectivement associée à *U. bojeri* (sol à 0 et à 1m), à *S. oblongifolia* (sol à 5 et 10 m) a été suivi pendant le premier stade de leur développement (durant les cinq premiers mois de développement). Un troisième et un quatrième type de sol qui ont servi de témoin ont été prélevés dans des surfaces dégradées sous prairie (sol à 20 m) ou dépourvues de couverture végétale (sol témoin proprement dit). Utilisé fraîchement juste après le prélèvement sur le terrain, le sol a été reparti dans des pots plastiques de 1 litre à raison de 50 pots par type de sol. Elevées dans les mêmes conditions (Température 25°C le jour et 15°C la nuit, photopériode de 12 h) et disposées en randomisation totale sous la serre du Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement du CNRE, les plantules ont été arrosées avec de l'eau du robinet deux fois par semaine sans les fertiliser. Le taux de mortalité et le développement des plantules ont été évalués après cinq mois de culture. La structure de la communauté de champignons ectomycorhiziens au niveau de leur système racinaire a été analysée par morphotypage et par RFLP selon la méthode décrite ci-dessus (Chapitre III Paragraphe 1.1.2).

*III.1.2.2. Développement et taux de mortalité des plantules d'*U. bojeri**

Après trois mois de culture, le taux de mortalité des plantules d'*U. bojeri* a été plus élevé dans le sol témoin et le sol prélevé à 20 m que dans les autres types de sol. Vers la fin de l'expérimentation, plus de 66% et de 46% des plantules ont été mortes respectivement sur le sol témoin et le sol prélevé à 20 m (Figure 9). Dans les autres types de sol, le taux de mortalité des plantules se stabilise après le troisième mois de culture. Le plus faible taux de mortalité a été observé sur le sol prélevé à 5 m du pied adulte d'*U. bojeri*. Ce taux de mortalité augmente dans le sens : 5 m < 10 m < 1 m < 0 m < 20 m < témoin (Figure 9).

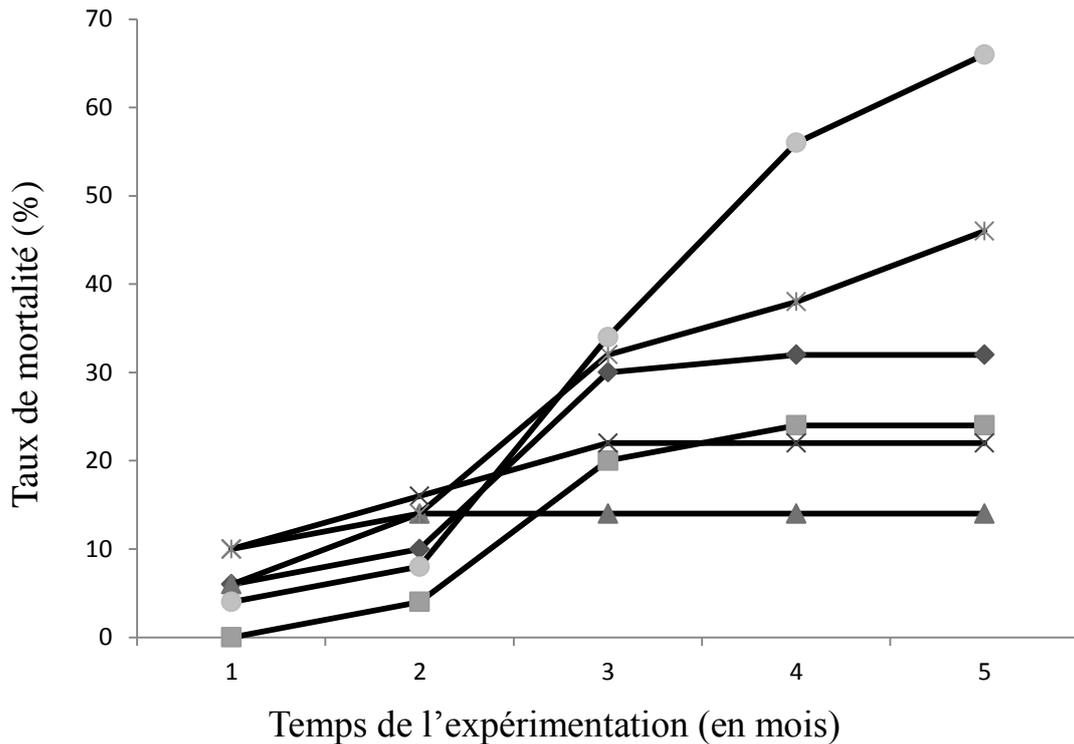


Figure 9. Taux de mortalité des plantules d'*U. bojeri* cultivées sur des sols prélevés à différentes distance d'un pied adulte de cet arbre (● : Témoin, Δ : Sol collecté à 20 m, × : Sol collecté à 10 m, ▲ : Sol collecté à 5 m, ■ : Sol collecté à 1 m, ◆ : Sol collecté à 0 m)

Pour le développement des plantules, la biomasse aérienne des plantes observée dans le sol prélevé sous un pied adulte d'*U. bojeri* (sol à 0 m et à 1m) a été significativement élevée par rapport à celles enregistrées chez les plantules du sol témoin et du sol prélevé à 20 m. Pourtant, la biomasse aérienne la plus élevée a été obtenue sur le sol lié à l'arbuste *S. oblongifolia* où le développement des plantules a été stimulé 3,09 fois plus par rapport à celui enregistré dans le sol prélevé à 20 m et 1,7 fois plus par rapport à ceux observés dans les sols étroitement liés à l'arbre *U. bojeri* (0 m et 1 m) (Tableau 15). Cette différence significative entre les traitements a été également observée au niveau du développement racinaire des plantes ainsi qu'au niveau du taux d'ectomycorhization des racines (Tableau 15). La stimulation importante du développement des plantules dans le sol prélevé à 5 m et à 10 m est liée avec des taux d'ectomycorhization élevés (Tableau 15). Entre les taux d'ectomycorhization des plantules des deux sols étroitement liés au pied adulte d'*U. bojeri* (sol à 0 m et à 1 m), aucune différence significative n'a été observée. Par contre, ces taux d'ectomycorhization sont significativement élevés par rapport à ceux enregistrés dans le sol témoin et le sol prélevé à 20 m (Tableau 15).

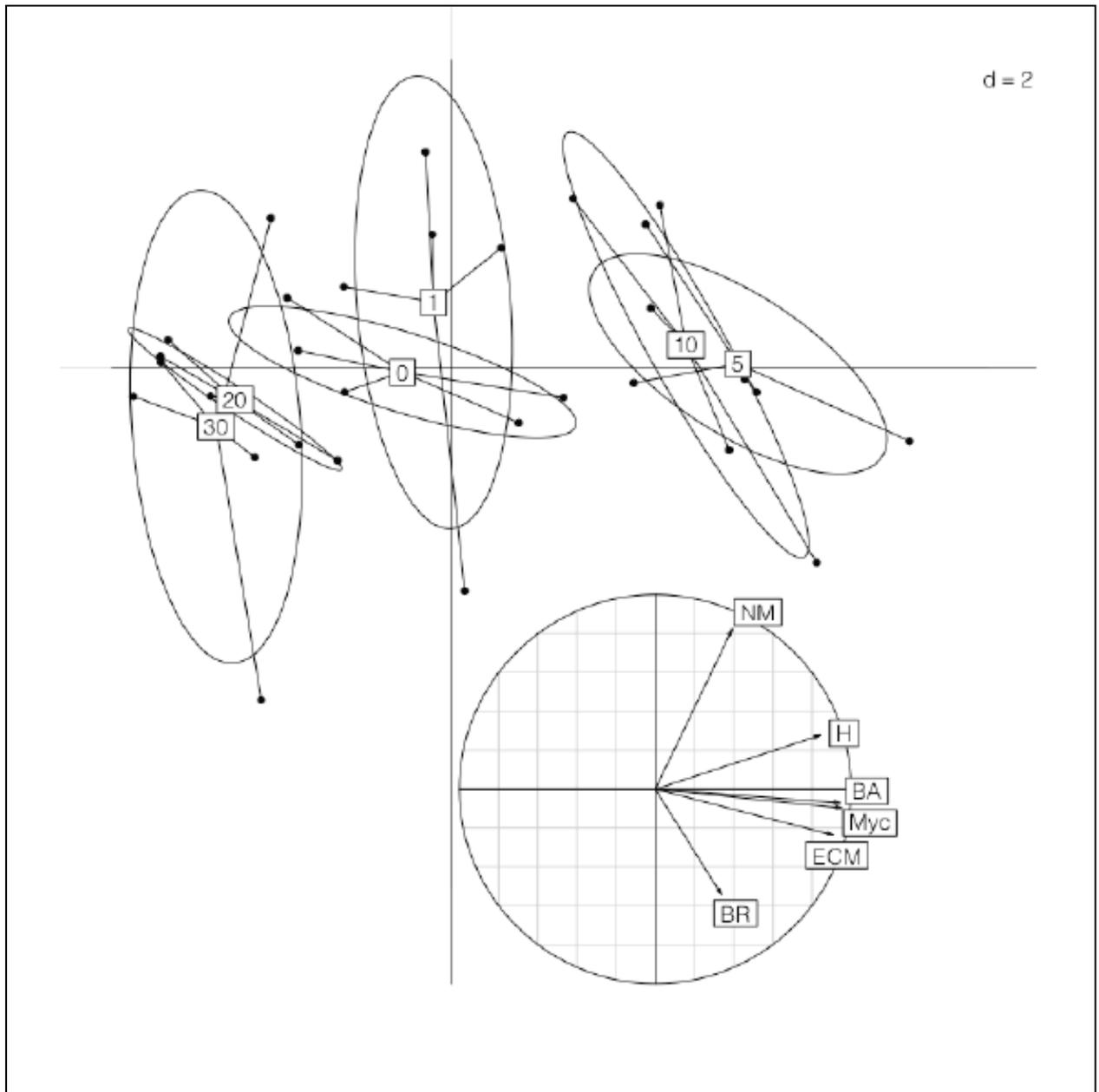
Tableau 15. Développement des plantules d'*U. bojeri* après 5 mois de culture sur des sols prélevés à différentes distances d'un pied adulte de cet arbre

	Témoin	Distances à partir d'un pied adulte d' <i>U. bojeri</i>				
		20 m	10 m	5 m	1 m	0 m
Développement des plantules						
Biomasse aérienne (mg/plante)	92 a*	120 a	313 c	335 c	199 b	183 b
Biomasse racinaire (mg/plante)	61 a	75 a	168 bc	211 c	128 b	137 b
Biomasse totale (mg/plante)	154 a	195 a	481 c	546 c	328 b	320 b
Rapport biomasse aérienne / biomasse racinaire	1,53 ab	1,65 ab	1,86 b	1,59 ab	1,64 ab	1,42 a
Nombre de bouts de racine (par mg de biomasse racinaire)	0,83 b	0,73 b	0,51 ab	0,39 a	0,63 ab	0,49 a
Taux d'ectomycorhization (%)	3,19 a	5,88 ab	21,06 c	22,05 c	11,70 bc	10,49 bc
Diversité ectomycorhizienne						
Richesse taxonomique (exprimée en type RFLP)	0.5 a	0.8 a	3 c	3.5 c	1.6 ab	2 b

* Pour chaque paramètre mesuré, les données dans la même ligne suivies par la même lettre n'ont pas de différence significative selon le test de Newman Keuls ($P < 0.05$).

En projetant les données relatives à la structure de la communauté ectomycorhizienne et au développement des plantules d'*U. bojeri* sur deux axes factoriels d'une analyse en composante principale, il est clairement établi que le développement plus stimulé des plantules couplé avec une structure plus riche et plus active de la communauté ectomycorhizienne a été observé au niveau des sols prélevés à 5 et à 10m (**Figure 10**). Ces propriétés des plantules et de la communauté ectomycorhizienne diminue ainsi dans le sens sol à 5 m, à 10 m, à 1 m, à 0 m, à 20 m et sol témoin (sol à 30 m).

Au niveau du système racinaire des plantules, 309 bouts de racines courtes ectomycorhizées ont été récoltés sur cinq plantules prélevées dans chaque type de sol. L'analyse RFLP des ces morphotypes d'ectomycorhizes ont permis d'identifier 6 types RFLP. Généralement, la richesse taxonomique reste faible (0,5 à 3,5 taxon par plantule) pour tous les traitements (Tableau 16). La diversité de champignons ectomycorhiziens estimée par l'indice de Simpson a été significativement élevée chez les plantules élevées dans le sol prélevé à 5 m et à 10 m comparée à celles observées chez les plantules des autres types de sol (Figure 9).



NM : non mycorhizé ; Myc : Bouts racinaire ectomycorhizés ; ECM : taux d'ectomycorhization ; BA : Biomasse aérienne ; BR : Biomasse racinaire ; H : Indice de diversité de Simpson

Figure 10. Expression du développement et du taux d'ectomycorhization des plantules d'*U. bojeri* selon la distance des points de prélèvement des sols par rapport à un pied adulte d'*U. bojeri* selon l'Analyse en Composante Principale (ACP)

L'identification moléculaire des 6 morphotypes d'ectomycorhize récoltés a montré que la plupart (4 morphotypes sur 6) a été déjà récolté chez *U. bojeri* et chez *S. oblongifolia* (Tableau 16). Les deux morphotypes d'ectomycorhizes restant ont été déjà récoltés soit chez *U. bojeri* soit chez *S. oblongifolia*. Du point de vue fréquence relative, le morphotype Bl a qui correspond à

Scleroderma citrinum a été le plus fréquemment observé tandis que Bl d ou *Russula sp. C353gn* a été le moins fréquent. Ces deux morphotypes ont été déjà récoltés chez les deux plantes hôtes d'étude (*U. bojeri* et *S. oblongifolia*).

Tableau 16. Fréquence relative des types RFLP récoltés sur les systèmes racinaires des plantules d'*U. bojeri* après 5 mois de culture sur chaque type de sol

Types RFLP	Fréquence relative	Plantes hôtes compatibles avec le champignon ectomycorhizien	Espèce la plus proche dans le GenBank
Bl a	0,25	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>	<i>Scleroderma citrinum</i>
Bl d	0,08	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>	<i>Russula sp. C353gn</i>
Ja b	0,2	<i>U. bojeri</i>	<i>Russula earlei</i>
Ja c	0,15	<i>S. Oblongifolia</i>	<i>Russula earlei</i>
Bl b	0,18	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>	<i>Scleroderma dictyosporum</i>
Nr b	0,12	<i>S. oblongifolia</i> & <i>U. bojeri</i>	<i>Bondarcevomyces taxi</i>

Chapitre IV. La technologie de mycorhization : impacts sur la communauté microbienne du sol et sur le développement des plantes

Les forêts tropicales se trouvent dans des zones chaudes et/ou subhumides du globe qui abritent plus de la moitié de la population mondiale. Ces formations forestières humides et/ou subhumides du tropique sont extrêmement diversifiées au niveau du nombre d'espèces de plantes et d'animaux et représentent une immense source d'aliments, de fibres, de bois, de médicaments et de combustibles. Elles accomplissent également d'importantes fonctions environnementales, culturelles et spirituelles pour les chasseurs, les cueilleurs, les agriculteurs locaux et pour la population de la région tropicale en générale (Jacobs, 1988).

Plusieurs tentatives ont été entreprises pour estimer la superficie totale des forêts tropicales et/ou pour quantifier le taux de déforestation. Cependant, ces estimations varient considérablement à cause de la complexité des approches adoptées telles que les inventaires forestiers, l'échelle de l'étude et les imageries et également des différences dans la définition de « forêts tropicales » et de « déforestation ». Par contre il a été clairement établi qu'au niveau des zones humides et/ou subhumides de l'Afrique sub-Saharienne, le taux de changement de la couverture forestière varie de 0,7 à 1,2 Mha par an (Achard et *al.*, 2002).

Pour le cas de Madagascar, la grande diversité des écosystèmes et les différents types de climats qui y règnent ont conféré à la Grande Île une multitude de types forestiers. En effet, dominantes dans la partie Est et Nord Est, les forêts denses humides sont remplacées progressivement par des forêts plus claires avec l'élévation de l'altitude. Sur les hauts plateaux en général, les forêts qui subsistent sont constituées par quelques lambeaux de forêt naturelle et/ou des forêts sclérophylles clairsemées. Dans le sud de Madagascar, la formation forestière est surtout constituée par des espèces épineuses et succulentes particulièrement résistantes à la sécheresse et au type de sol particulièrement pauvre en éléments nutritifs disponibles. Suite à des pressions anthropiques de plus en plus intenses ces dernières années et comme la plupart des régions du globe, toutes les formations forestières Malagasy connaissent une réduction considérable. L'évaluation la plus récente de la couverture forestière naturelles de Madagascar indique que la Grande île perd chaque année 0,53% de ses surfaces forestières entre 2000 et 2005 (MEFT, USAID et CI, 2009). Lentement mais inexorablement, la superficie des habitats naturels continue de diminuer à Madagascar, accentuant ainsi la menace d'extinction de certaines espèces animales et végétales endémiques. Bien que l'on assiste à une atténuation de la dégradation de la

couverture forestière de l'île depuis 2003, les données nationales montrent tout de même une réduction moyenne annuelle de l'ordre de 200 000 ha de forêt (MEFT, USAID, CI, 2009).

Dans les initiatives visant à régénérer les essences autochtones et/ou à entretenir une couverture végétale native, l'importance des associations mycorhiziennes a été largement adoptée surtout dans les pays tempérés (Dhillon, 1994 ; Kliromoros et *al.*, 2000 ; Van der heidjen et *al.*, 2003). Bien que les connaissances relatives à ces associations symbiotiques commencent à s'enrichir ces dernières années, beaucoup restent à faire dans les pays tropicaux, particulièrement à Madagascar, jusqu'à ce que la performance de cette composante microbienne du sol soit considérée dans les grands programmes de restauration écologique et/ou de conservation de couverture végétale autochtone. Ce chapitre est divisé en deux parties : la première traitera la description de l'implication de l'association ectomycorhizienne dans la structuration et l'activation des microorganismes du sol chez *U. bojeri* et la deuxième présentera les résultats sur l'expérimentation de mycorhization contrôlée de cet arbre endémique de Madagascar et caractéristique des forêts sclérophylles de haute altitude de la Grande île.

IV.1. Structure et fonctionnement des microorganismes du sol suivant l'établissement de la symbiose ectomycorhizienne chez *Uapaca bojeri*

L'établissement de la symbiose mycorhizienne au niveau des systèmes racinaires des plantes est à l'origine de différentes modifications au sein de la communauté microbienne du sol. Ces modifications (structurales et/ou fonctionnelles) tendent, dans la plupart des cas, vers le renforcement des rôles des mycorhizes comme « mobilisateurs » des éléments nutritifs au profit de la plante hôte, particulièrement les éléments les moins mobiles tel que le Phosphore (Bolan, 1991 ; Plenchette & Fardeau, 1988) et certains microéléments (Cooper, 1984 ; Bürkert & Robson, 1994) et l'azote (Barea et al., 1991). Pour le cas d'*Uapaca bojeri*, nous avons décrit les modifications induites au niveau de la communauté microbienne du sol après 8 mois d'établissement de la symbiose ectomycorhizienne. Une attention particulière a été portée sur les *Pseudomonas* du groupe des fluorescents dont certaines espèces sont étroitement liées aux structures mycorhiziennes (Frey et al., 1997 ; Frey-Klett et al., 1997 ; Duponnois & Plenchette, 2003 ; Dominguez et al., 2011).

IV.1.1. Compartimentation microbiologique des sols par l'établissement de la symbiose ectomycorhizienne

Après huit mois de culture sur son sol d'origine, quatre compartiments du sol influencés ou non par des structures ectomycorhiziennes ont été identifiés au niveau et/ou autour du système racinaire d'*U. bojeri* : (i) le sol rhizosphérique influencé par les racines non mycorhizées, (ii) le

sol mycorrhizosphérique influencé par les racines mycorhizées, (iii) le sol hyphosphérique envahi par les hyphes fongiques extramatriciels et (iv) le sol témoin qui n'est influencé ni par les racines mycorhizées ou les racines non mycorhizées ni par les hyphes extramatriciels.

IV.1.1.2. Diversité fonctionnelle de la communauté microbienne du sol de chaque compartiment

La diversité fonctionnelle de la communauté microbienne dans chaque compartiment du sol a été évaluée par la mesure in situ de son potentiel catabolique utilisant différents substrats carbonés induisant la respiration (Degens & Harris, 1997 et 2001). Cette approche mesure la quantité de CO₂ dégagé par la communauté microbienne après un certain temps d'incubation avec différents types de substrats carbonés. Dans notre cas, 30 types de substrats carbonés comprenant des acides aminés, des carbohydrates, des acides organiques et des amides ont été utilisés. La concentration de chaque substrat carboné est donnée par le tableau ci après (Tableau 17). La diversité fonctionnelle de la communauté microbienne du sol est évaluée par la richesse et la diversité catabolique. La richesse catabolique prend en considération seulement le nombre de substrats carbonés qui ont induit la respiration de la communauté microbienne du sol tandis que la diversité catabolique considère à la fois ce nombre de substrats carbonés et la quantité de CO₂ dégagé. Cette diversité catabolique est calculée en utilisant l'indice de diversité de Simpson Yule selon la formule suivante

$$E = 1/\sum p_i^2$$

avec P_i = quantité de CO₂ dégagé pour chaque substrat/ quantité totale de CO₂ dégagé pour tous les substrats (Magurran, 1988).

L'analyse de permutation des groupes proches ou BGA (Between Group Analysis) des données sur l'activité respiratoire des communautés microbiennes dans chaque compartiment du sol montre des différences nettement significatives entre les quatre compartiments ($p < 1/1000$) (Figure 11). En effet, l'utilisation de glucose, d'acide kétoglutarique, d'acide tartrique et d'acide quinique caractérise les microorganismes du sol de la mycorrhizosphère alors que ce n'est pas le cas pour la Cystéine, le glucosamine et le succinamide pour ce compartiment (**Figure 11A**). Dans la **figure 11 B**, les quatre compartiments de sol sont accompagnés par des étoiles qui représentent le nombre de substrats dont l'utilisation leur est caractéristique. Sur cette même figure, la diversité microbienne fonctionnelle exprimée par la richesse et la diversité catabolique des compartiments du sol augmente du sol témoin vers le sol rhizosphérique, le sol hyphosphérique et le sol mycorrhizosphérique. Ce dernier compartiment a hébergé la diversité

fonctionnelle la plus importante. Ces résultats permettent de suggérer que l'effet cumulé de la racine, des hyphes fongiques et des organes mixtes (mycorhizes) est à l'origine d'une diversité microbienne fonctionnelle importante au niveau du sol.

Tableau 17. Concentrations des substrats carbonés utilisés pour évaluer le potentiel catabolique in situ de la communauté microbienne de chaque compartiment du sol

Substrats carbonés	Concentration (mM)	Substrats carbonés	Concentration (mM)
Acides aminés		Acides carboxyliques	
L-Phénylalanine	15	Acide ascorbique	100
L-Glutamine	15	Acide fumarique	100
L-Sérine	15	Acide gluconique	100
L-Arginine	15	Acide quinique	100
L-Asparagine	15	Acide malonique	100
L-Histidine	15	Acide formique	100
L-Lysine	15	Acide- α -kétoglutarique	100
L-Glutamie	15	Acide succinique	100
L-Tyrosine	15	Acide tartrique	100
L-Cystéine	15	Acide urique	100
Carbohydrates		Acide oxalique	100
D-Glucose	75	Acide gallique	100
D-Mannose	75	Acide malique	100
Sucrose	75	Tri-citrate	100
Amides		Acide DL- α -hydroxybutyrique	100
D-Glucosamine	15		
Succinamide	15		

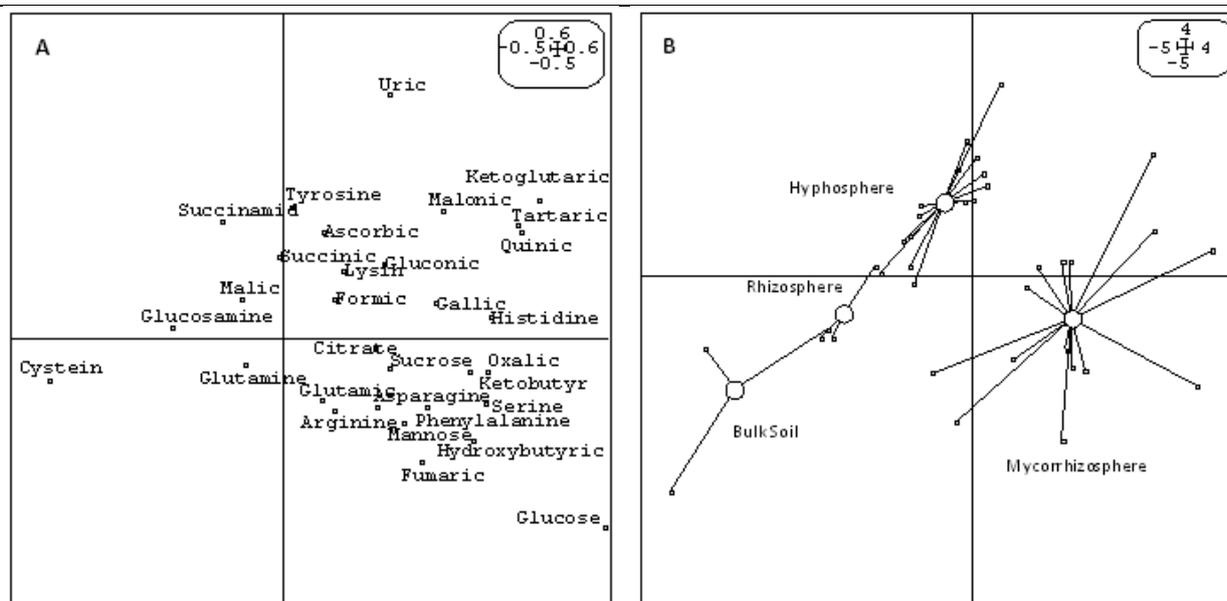


Figure 11. Réponse des microorganismes de chaque compartiment du sol aux différents substrats inducteur de respiration

Parallèlement à la description de la richesse et la diversité catabolique des différents compartiments du sol, le dénombrement des colonies de *Pseudomonas* du groupe des fluorescents, des bactéries capables de solubiliser le phosphate (orthophosphate tricalcique) et les bactéries productrices de lipase extracellulaire a été également effectué. Le nombre de colonies de *Pseudomonas* fluorescent a été significativement élevé dans le sol hyphosphérique par rapport celui enregistré dans le sol rhizosphérique et mycorrhizosphérique ($p < 0,05$) (Tableau 18). Le nombre le plus faible de ce groupe de bactérie tellurique a été observé dans le sol témoin.

Tableau 18. Richesse et diversité catabolique, nombre de *Pseudomonas* fluorescent, de bactéries solubilisatrices de phosphate et de bactéries productrices de lipase extracellulaire dans chaque compartiment du sol.

	ST	SR	SM	SH
Richesse catabolique	17,7a*	20,3ab	21,9b	20,4b
Diversité catabolique	5,2ab	4,3a	5,5b	5,4ab
Nombre de <i>Pseudomonas</i> fluorescent ($\times 10^4$ UFC g^{-1} de sol sec)	0,3a	1,5b	1,8b	3,3c
Nombre de bactéries solubilisatrices de phosphate ($\times 10^4$ UFC g^{-1} de sol sec)	5,7a	8,8b	8,9b	14,2c
Nombre de bactéries productrices de lipase extracellulaire ($\times 10^4$ UFC g^{-1} de sol sec)	0,6a	0,9a	2,8b	5,7c

* Pour chaque paramètre mesuré, les données dans la même ligne suivies par les mêmes lettres n'ont pas de différence significative selon le test de Newman Keuls ($P < 0.05$). **ST** : sol témoin, **SR** : sol rhizosphérique, **SM** : sol mycorrhizosphérique, **SH** : sol hyphosphérique.

Le pourcentage de bactéries solubilisatrices de phosphate et des *Pseudomonas* fluorescent a été significativement élevé dans le sol hyphosphérique que dans les autres compartiments du sol ($p < 0,05$) (Tableau 18). Le nombre des colonies de ces deux groupes fonctionnels de microorganismes du sol augmente dans le sens : sol témoin < sol rhizosphérique < sol mycorrhizosphérique < sol hyphosphérique (Tableau 18).

IV.2. Mycorhization contrôlée d'*Uapaca bojeri* : impacts sur le développement de la plante

Les effets bénéfiques de la symbiose mycorhizienne sur la plante hôte sont considérés comme le résultat des relations intimes entre les champignons symbiotiques et les plantes. Cependant, il a été clairement établi qu'en condition naturelle, la symbiose mycorhizienne présente beaucoup d'impacts sur les microorganismes du sol notamment les bactéries et les champignons (Frey et al., 1997 ; Founoune et al., 2002a, b ; Mansfeld-Giese et al., 2002 ; Frey-Klett et al., 2005). Généralement, les champignons ectomycorhiziens ne sont pas uniformément répartis au sein d'un écosystème en termes de présence, d'abondance et de diversité. Ce constat a des répercussions majeures dans l'évolution spatio-temporelle des formations forestières sachant que certaines essences ligneuses ectotrophes ne peuvent se développer sans ces champignons (Dickie

& Reich, 2005). Cette situation justifie largement l'adoption des technologies d'inoculation pour assurer la pérennité de certaines essences forestières ou arbres de valeur socio-économique ou environnementale. Cette partie présente l'efficacité de la technologie d'inoculation sur l'amélioration du développement des plantules d'*U. bojeri*, une essence endémique de Madagascar dont la régénération à partir des graines est rarement observée sur son site naturel.

IV.2.1. Dispositif expérimental

L'inoculation d'*U. bojeri* a été entreprise en utilisant séparément ou combinées deux souches de champignons mycorhiziens à savoir une souche de champignon endomycorhizien (*Glomus intraradices*) et une souche de champignon ectomycorhizien codée **SCI** du genre *Scleroderma*. *Glomus intraradices* (Schenk and Smith, DAOM 181602) a été fournie par l'Herbarium d'agriculture de Ottawa, Canada. Cette souche endomycorhizienne a été multipliée sur des racines de poireau (*Allium porrum* L.) cultivées sur l'argile calcinée ou terragreen sous la condition de la serre du LME (Photopériode 12h, Température 25°C le jour et 16°C la nuit). Après 12 semaines de culture, les plantes ont été déracinées et lavées abondamment et les racines ont été coupées en morceau d'environ 0,5 cm contenant généralement 250 vésicules par centimètre. Des racines de poireau non mycorhizées ont été utilisées comme témoin sans la souche de *Glomus intraradices*.

La souche de Scleroderme **SCI** fait partie de la collection du Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement du CNRE. Elle a été isolée à partir de carpophore récolté sous *U. bojeri* dans un endroit bien conservé de la forêt sclérophylle d'Arivonimamo (S. 19° 00' 32,7'' ; E.047° 08' 37,5'' ; altitude 1380 m). La compatibilité de cette souche vis-à-vis d'*U. bojeri* a été préalablement testée en condition axénique utilisant la technique de Papier sandwich (Chilvers et al., 1986). Cette souche a été maintenue en culture pure sur boîte de pétri utilisant le milieu de culture solide modifié de Melin and Norkrans (MNM) sous la température de 25°C (Marx, 1991). L'inoculum de cette souche a été préparé selon la méthode de Duponnois & Garbaye (1991). Le dispositif expérimental utilise le sol préalablement stérilisé (140°C, 40 min) avec les traitements suivants : un traitement inoculé avec la souche endomycorhizienne, un traitement avec la souche ectomycorhizienne, un traitement avec les deux souches combinées et un traitement témoin avec des racines non mycorhizées de poireaux et du support de culture de champignon ectomycorhizien préalablement stérilisé. Le sol utilisé a été prélevé dans la partie nord de la forêt sclérophylle à *U. bojeri* (S 19° 00' 33.9'' ; E 047° 08' 37.5'' ; Altitude 1380 m). Après trois mois d'expérimentation, le développement de la plante a été évalué par la mesure du poids de la partie aérienne de chaque plante. Le taux de mycorhization a été décrit par

dénombrement de bouts racinaires ectomycorhizés ou par le comptage de structures endomycorhizines dans le système racinaire des plantules. La dépendance mycorhizienne relative (DMR) de la plante pour chaque souche a été calculée selon la formule :

$$\text{DMR} = \frac{(\text{Biomasse des plantes mycorhizées} - \text{biomasses des plantes non mycorhizées})}{\text{biomasse des plantes mycorhizées}} \times 100$$

IV.2.2. Développement et taux de mycorhization des plantules d'*U. bojeri*

Évalué à partir de la biomasse aérienne, le développement des plantules d'*U. bojeri* inoculées avec *Glomus intraradices* ou *Scleroderma SCI* a été significativement plus élevé par rapport celui des plantes témoins (**Tableau 19**). Comparée avec ces dernières, la biomasse aérienne se développe 1,9 fois plus pour les plantules ectomycorhizées et 1,7 fois plus pour les plantules endomycorhizées. Utilisées en mélange, les deux souches ont significativement stimulé le développement des plantules. Cette stimulation a été de 2,1 fois plus que celle enregistrée chez les plantes inoculées seulement avec *Glomus intraradices* ou *Scleroderma SCI*. Par contre, la double inoculation n'a pas modifié significativement l'établissement de la symbiose ectomycorhizienne et endomycorhizienne au niveau du système racinaire des plantules (**Tableau 19**).

Tableau 19. Développement des plantules et dépendance mycorhizienne relative d'*U. bojeri* après 5 mois d'inoculation par *Glomus intraradices* et/ou *Scleroderma SCI* dans des pots de culture

Traitements	Biomasse aérienne (mg/plante)	Taux de colonisation ectomycorhizienne (%)	Taux de colonisation endomycorhizienne (%)	DMR (%) ^a
Témoin	91,1a ^b	0a	0a	-
<i>Scleroderma SCI</i>	181,2b	8,7b	0a	47,6a
<i>G. intraradices</i>	160,1b	0a	77,5b	42,7a
<i>Scleroderma SCI</i> + <i>G. intraradices</i>	360,3c	11,5b	82,5b	70,7b

^aDMR : Dépendance mycorhizienne relative

^bLes données dans la même colonne suivies par la même lettre ne présente pas de différence significative selon l'analyse de variance ($p < 0,05$)

Pour chaque traitement mycorhizé, la Dépendance Mycorhizienne Relative des plantes a été toujours supérieure à 40 %. Cette DMR qui évalue l'implication des souches mycorhiziennes dans le développement des plantes, a été la plus élevée chez les plantes inoculées par les deux souches mycorhiziennes (Tableau 19). Ces résultats suggèrent que cette DMR élevée est

expliquée par un effet cumulé des deux souches mycorhiziennes. Utilisées séparément, les deux souches ont stimulé le développement de la plante à des niveaux comparables.

Des résultats de ce chapitre ont fait l'objet de deux publications, l'une dans *International Journal of Soil Science* et l'autre dans *Mycorrhiza*.

Encadré 3

International Journal of Soil Sciences 1 (1): 8-19, 2006

ISSN 1816-4978

© 2006 Academic Journals Inc., USA

The Ectomycorrhizosphere Effect Influences Functional Diversity of Soil Microflora

¹Ramanankierana Naina, ¹Rakotoarimanga Nirina, ²Thioulouse Jean, ³Kisa Marija,

¹Randrianjohany Emile, ¹Ramaroson Luciano and ³Duponnois Robin

¹Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement,

Centre National de Recherches sur l'Environnement BP 1739 Antananarivo, Madagascar

²CNRS, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, UMR 5558,

Université Lyon 1, 69622 Villeurbanne Cedex, France

³IRD. UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/AGRO-M/UM2.

Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (LSTM), Montpellier, France

Encadré 4

Mycorrhiza (2007) 17:195–208

DOI 10.1007/s00572-006-0095-0

ORIGINAL PAPER

Arbuscular mycorrhizas and ectomycorrhizas of *Uapaca bojeri* L. (Euphorbiaceae): sporophore diversity, patterns of root colonization, and effects on seedling growth and soil microbial catabolic diversity

Naina Ramanankierana • Marc Ducousso •

Nirina Rakotoarimanga • Yves Prin • Jean Thioulouse •

Emile Randrianjohany • Luciano Ramaroson •

Marija Kisa • Antoine Galiana • Robin Duponnois

Chapitre V. Perspectives de recherche

V.1. Contexte et objectif des travaux de recherche poursuivis

Identifié parmi les hotspots mondiaux de la biodiversité à la fois terrestre et marine, Madagascar est idéalement positionné pour appréhender les processus évolutifs expliquant cette extraordinaire biodiversité mais aussi pour mesurer les effets de l'action de l'Homme sur la biosphère, notamment en zone tropicale. En effet, la situation insulaire amplifie les pressions et les enjeux tant en termes de protection de la biodiversité qu'en termes de gestion des ressources et des territoires, face à une pression démographique humaine croissante. Ainsi aux problématiques liées à la préservation et valorisation des ressources naturelles et de la diversité biologique s'ajoute le contexte de gestion durable de la productivité des écosystèmes cultivés. Cette situation nous amène à relever, dans les prochaines années, trois défis majeurs : (i) Comment concilier protection de la biodiversité et développement économique national et régional ? (ii) Comment nourrir de plus en plus d'habitants tout en préservant les espaces naturels ? (iii) Comment lutter contre la pauvreté « endémique » de la ceinture intertropicale tout en stoppant la perte actuelle de biodiversité de cette même ceinture tropicale ? Au centre de ces trois défis se trouve le sol, son fonctionnement et ses composantes biologiques. Le sol supporte la plupart des systèmes de production agricoles, sylvicoles et pastoraux et participe à la régulation du climat (en contrôlant les émissions de gaz à effet de serre et la séquestration du carbone), au contrôle de l'érosion et à la détoxification, donc à l'origine de services et biens fournis aux humains à travers les écosystèmes. L'importance du sol dans la réalisation de ces services écosystémiques réside dans son fonctionnement biologique qui regroupe l'ensemble des fonctions assurées par les organismes vivants du sol en interaction avec les composantes physiques et chimiques du sol. Dans le sol, la symbiose mycorhizienne et ses microorganismes associés font partie des composantes biologiques particulièrement importantes vu leur implication dans divers processus régissant le fonctionnement des écosystèmes. Ainsi, les programmes de recherche que nous poursuivons jusqu'ici concernent la gestion de ces composantes microbiologiques du sol afin qu'elles puissent continuer à assurer normalement ses fonctions écosystémiques au profit d'un développement économique durable. Ces programmes trouvent leur originalité sur le fait que ces microorganismes, souvent oubliés dans les grands programmes de développement, sont des vrais « ingénieurs de sol » capables de nourrir, de structurer et de faire fonctionner non seulement le sol mais également les autres composantes (cycles biogéochimiques, milieux physiques, couvert végétal...) associés au sol.

V.2. Les programmes de recherche poursuivis et/ou à entreprendre

V.2.1. Fonctionnement symbiotiques des écosystèmes forestiers à Madagascar (Programme en cours sur financement de l'AIRD à travers le programme « Jeunes Equipes Associées à l'IRD »).

Visant principalement à comprendre la structure et le fonctionnement des microorganismes symbiotiques (champignons mycorhiziens, bactérie fixatrice d'azote atmosphérique...) selon l'état de dégradation des écosystèmes forestiers à Madagascar, ce programme entreprend des expérimentations à différentes échelles (au laboratoire, sous serre et sur terrain d'expérimentation). Les aspects « recherche et enseignement » de ce programme sont orientés sur la formation des étudiants des cycles supérieurs à l'écologie des microorganismes du sol et leur utilisation pour la gestion durable des ressources naturelles tandis que les aspects « développement » concernent l'établissement des parcelles d'expérimentation au niveau desquelles, des démonstrations des résultats de la recherche sont effectuées en collaboration avec des associations villageoises (Ankalalahana – Arivonimamo et Vohilava – Ranomafana Est).

V.2.2. Aspects microbiologiques de la conservation des espèces de plantes cibles du projet d'exploitation minière Ambatovy (Projet en cours sur financement du Projet Ambatovy).

Ce programme vise à collecter des données scientifiques (écologie, statut symbiotique, communauté de microorganismes rhizosphérique...) relatives à chaque espèce de plante cible du Projet Ambatovy afin qu'on puisse les utiliser ultérieurement pour la réhabilitation des sols après extraction de Nickel et de Cobalt. En collaboration avec l'Université d'Antananarivo (Laboratoire de culture in vitro) et le Silo National des Graines Forestières (SNGF), notre participation concerne surtout la caractérisation microbiologique des sols liés à chaque espèce de plante étudiée ainsi qu'à l'établissement d'une banque de souches de microorganismes symbiotiques susceptibles d'être utilisées pour les programmes de restauration. D'autres activités plus spécifiques seront entreprises selon l'évolution du programme en général et de la structure de l'équipe du projet. Une de ces activités est l'encadrement d'une stagiaire de l'Université de Montpellier 2 sur le sujet intitulé « Description du statut mycorhizien des espèces végétales pionnières naturellement présentes dans les sites non dégradés proches des zones à réhabiliter du projet d'exploitation minière d'Ambatovy à Madagascar et évaluation de leurs impacts sur le potentiel mycorhizien des sols ».

V.2.3. La symbiose mycorhizienne au service de la méthode Miyawaki pour une conservation et valorisation durable des ressources forestières à Madagascar (Programme en collaboration avec le LSTM de l'IRD).

Ce programme propose d'adopter pour reboiser des zones très dégradées, les principes de la "méthode Miyawaki" (Méthode de génie écologique permettant de restaurer des forêts autochtones sur des sols dégradés en utilisant des espèces natives) et en les améliorant *via* l'introduction dans cette pratique culturelle du facteur "symbiose mycorhizienne" connu pour être une composante majeure dans les processus régissant l'évolution spatio-temporelle des écosystèmes forestiers. Cette méthode de génie écologique est basée sur la gestion des symbiotes mycorhiziens associés à la végétation potentielle pour une réforestation durable à Madagascar.

V.2.4. Gestion de la fertilité du sol dans le système de culture de riz pluvial des moyennes altitudes du centre et du centre Ouest de Madagascar : importance de la diversité de champignons mycorhiziens et des espèces de plantes associées

Un des problèmes majeurs dans la promotion de l'agriculture durable à Madagascar est l'insuffisance du couplage des connaissances scientifiques avec les expériences pratiques des paysans. Cette situation conduit dans la plupart des cas, à des déséquilibres graves au niveau des écosystèmes perturbés. Le présent projet propose de gérer le Potentiel d'Infectieux Mycorhizogène du sol par l'insertion des plantes hautement mycotrophiques dans le système de culture de riz pluvial du centre et centre-ouest de Madagascar. Le programme vise principalement à définir des pratiques de culture de riz pluvial à faible coût d'intrants basées sur la potentialité de champignons mycorhiziens à arbuscules et respectant les critères d'une agriculture durable afin d'améliorer les productions. Il prendra comme modèle d'étude, le riz pluvial et la communauté de champignons mycorhiziens du sol et comme site d'intervention le centre et le centre-ouest de Madagascar.

V.2.5. Recherche – Développement sur la conservation, valorisation et gestion durable de la forêt naturelle de Vohilahy – Ranomafana Est

La forêt dense humide sur la côte orientale de Madagascar recèle encore de multitude de flore et de faune dont les espèces sont méconnues. Les rôles écologiques de ces formations forestières, particulièrement dans la régulation de flux de gaz à effet de serre tel que le dioxyde de carbone (CO₂) et les rôles économiques en tant que source d'énergie et de matériaux renouvelables sont indiscutables (Brown, 1996).

Afin de gérer durablement ces écosystèmes forestiers, il est indispensable de connaître la composition et la structure de ces forêts ainsi que d'étudier leur fonctionnement et dynamisme.

Les microorganismes telluriques sont fortement impliqués dans ce fonctionnement étant donné leur rôle important en tant qu'intermédiaire entre la population hypogée et celle épigée ainsi que leur place centrale dans le cycle biogéochimique de certains éléments dans le sol et sur la régénération et le développement de certaines espèces autochtones. L'étude de ce processus est d'une importance capitale pour la restauration et la gestion durable des écosystèmes forestiers à Madagascar. Ce projet associe la recherche fondamentale et l'application des résultats sur le terrain pour que les activités de recherche aient des impacts réels sur la protection de l'environnement et sur le développement de la région.

V.2.6. Production de champignons comestibles à Madagascar (Programme soutenu simultanément par le Département Expertises et Valorisation de l'IRD et par le Programme Bond'innov)

Les champignons comestibles saprophytes manifestent différentes activités enzymatiques (cellulolytique, pectinolytique, chitinolytique, etc) qui leur permettent de se développer sur des substrats organiques en catabolisant des molécules complexes (cellulose, pectine, etc) et/ou en mobilisant des macroéléments inorganiques (micas, feldspath, etc).

Du fait du savoir faire technologique de l'équipe impliquée dans ce projet, des ressources en champignons comestibles endémiques de la Grande Ile, du caractère innovant de la méthodologie proposée (valorisation des souches de champignons pour leur fructification et en tant que bio-fertilisants), les objectifs de ce projet ont été les suivants : (i) adoption d'une technique culturale standard identifiée en fonction des résultats acquis, (ii) une diversification de la production (élargissement de la gamme de produits), (iii) une protection de la technique de production et de valorisation des produits et sous-produits de l'itinéraire culturel (proposition de dépôt de brevet) et enfin une description plus précise des potentialités économiques de ce type de production sur le marché national et international.

La technologie retenue dans ce projet vise (i) à multiplier le champignon sur des résidus de culture (paille de riz) et des particules minérales (Podzollane) puis stimuler sa fructification par un choc thermique et (ii) en fin de phase de fructification, à valoriser le substrat colonisé par la souche fongique en tant que bio-fertilisant et bio-pesticides pour améliorer durablement la productivité des cultures maraîchères à Madagascar.

Références bibliographiques

Achard F., Eva H.D., Stibig H.J., Mayaux P., Gallego J., Richard T. & Malingreau J.P. (2002). Determination of the deforestation rates on the world's humid tropical forests. *Science*, 297: 999 – 1002.

Aubert G., (1978). Méthodes d'analyse des sols. Edition CRDP, Marseille, p.360.

Baohanta R.H. (2001). Facilitation de la régénération d'*Uapaca bojeri* par la gestion des communautés de champignons mycorrhiziens associées aux espèces pionnières de la zone dégradée de la forêt d'Arivonimamo. Thèse de doctorat en science de la vie. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo. Madagascar. pp : 185

Barea J.M., El-Atrach F & Azcon R. (1991). The role of VA mycorrhizas in improving plant N acquisition from soil as assessed with ^{15}N . In: Flitton C (eds), the use of stable isotopes in plant nutrition. Soil Fertility and Environmental Studies, joint Iaea, FAO Division, Vienna, pp: 677 – 808.

Batten K, Scow K, Davies K & Harrison S. (2006). Two invasive plants alter soil microbial community composition in serpentine grasslands. *Biol invasions*, 8: 217 – 230.

Berbee M.L. & Taylor J.W. (2001). Fungal molecular evolution: gene trees and geological time. In: McLaughlin D.J., Lemke P.A., eds. The Mycota, Vol VII, Part B. Systematics and evolution. Berlin and Heidelberg, Germany; Springer-Verlag, 229 – 245.

Bertrand A. & Randrianarivo D. (2003). Quelques questions actuelles sur la longue histoire des tavy et de la déforestation à Madagascar. In déforestation et systèmes agraires à Madagascar. Les dynamiques du tavy sur la côte orientale, S. Aubert, S. Razafiarison & A. Bertrand (eds.). Collection Repères, Cirad, Cite, Fofifa, Montpellier, Antananarivo.

Bolan N.S. (1991). A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plant. *Plant and Soil*, 134: 189 – 207.

Brown R.L. & Peet R.K. (2003). Diversity and invisibility of southern Appalachian plant communities. *Ecology*, 84 : 32 – 39

Brundrett M.C. (2002). Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytol*, 154 : 275 – 304.

Bürkert B & Robson A.D. (1994). ^{65}Zn uptake in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) by three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a root-free sandy soil. *Soil Biol Biochem*, 26: 1117 – 1124.

Buyck B, Verbeken A and Eberhardt U. 2007. The genus *Lactarius* in Madagascar. Mycological Research 111: 787-798.

Cairney J.W.G. (2000). Evolution of mycorrhiza systems. *Naturwissenschaften*. 87: 467 – 475.

Chilvers, G.A., Douglas, P.A. & Lapeyrie, F.F. (1986). A paper-sandwich technique for rapid synthesis of ectomycorrhizas. *New Phytol.* 91, 453 – 466.

Colautti R.I. & MacIsaac H.J. (2004). A neutral terminology to define invasive species. *Diversity and Distributions* 10: 135 – 141

Cooper K.M. (1984). Physiology of VA mycorrhizal associations. In: Powell C.L. and Bagyaraj D.G. (eds), VA mycorrhiza, CRC Press, Boca Raton, FL, pp: 155 – 188.

Cuenoud P., Savolainen V., Chatrou L.M., Powell M., Grayer R.J. & Chase M.W. (2002). Molecular phylogenetics of Caryophyllales based on nuclear 18S rDNA and plastid rbcL, atpB and matK DNA sequences. *American Journal of Botany*, 89: 132 – 144.

Davis M.A., Grime J.P. & Thompson K. (2000). Fluctuating resources in plant communities: A general theory of invisibility. *Journal of Ecology*, 88: 528 – 534.

Degens B.P. & Harris J.A. (1997). Development of a physiological approach to measuring the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biol Biochem.*, 29 : 1309 – 1320

Degens, B.P. & Harris, J.A. (1997). Development of a physiological approach to measuring the metabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biol Biochem.*, 29: 1309 – 1320.

Degens, B.P., Schipper, L.A., Sparling, G.P. & Duncan, L.C. (2001). Is the microbial community in a soil with reduced catabolic diversity less resistant to stress or disturbance? *Soil Biol Biochem.*, 33: 1143 – 1153.

Dhillon, SS. (1994). Ectomycorrhizae, arbuscular mycorrhizae, and Rhizoctonia sp. Of Alpine and Boreal Salix spp. In Norway. *Arct Alp Res.*, 26: 304 – 307

Dickie I.A. & Riech P.B. (2005). Ectomycorrhizal fungal communities at forest edges. *Journal of Ecology.*, 93 : 244 – 255

Dominguez J.A., Martin A., Anriquez A. & Albanesi A. (2011). The combined effects of *Pseudomonas fluorescens* and *Tuber melanosporum* on the quality of *Pinus halepensis* seedlings. Mycorrhiza. DOI 10.1007/s00572-011-0420-0

Ducousso M, Bourgeois C, Buyck B, Eyssartier G, Vincelette M, Rabevohitra R, Béna G, Randrihasipara J, Dreyfus B and Prin Y. 2004. The last common ancestor of Sarcolaenaceae and Asian dipterocarp trees was ectomycorrhizal before the India-Madagascar separation, about 88 million years ago. *Molecular Ecology.*, 13: 231-236.

Ducouso M., Colonna J.P., Badji S. & Thoen D. (1991). Influence de l'azote et du phosphore sur l'établissement de la symbiose quadripartite : *Acacia holosericea/ Bradyrhizobium sp/ Glomus mosseae/ Pisolithus sp.* Physiologie des arbres et Arbustes en zones arides et semi-arides. Groupes d'Etude de l'Arbre-Paris, France. 1- 14.

Ducouso M., Ramanankierana H., Duponnois R., Rabevohitra R., Randrihasipara L., Vincelette M., Dreyfus B. & Prin Y. (2008). Mycorrhizal status of native trees and shrubs from eastern Madagascar littoral forests with special emphasis on one new ectomycorrhizal endemic family, the Asteropeiaceae. *New Phytologist.*, 178 : 233 – 238.

Duponnois R & Plenchette C. (2003). A mycorrhiza helper bacterium enhances ectomycorrhizas and endomycorrhizal symbiosis of Australian *Acacia* species. *Mycorrhiza.*, 13: 85 – 91.

Duponnois, R. & Garbaye, J. (1991). Techniques for controlled synthesis of the Douglas fir-*Laccaria laccata* ectomycorrhizal symbiosis. *Ann For Sci.*, 48: 239 – 251.

Fitter A.H. & Moyersoen B. (1996). Evolutionary trends in root-microbe symbioses. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B – *Biological Sciences*, 351: 1367 – 1375.

Founoune H., Duponnois R. & Bâ A.M. (2001a). Ectomycorrhizal of *Acacia mangium* Willd. And *Acacia holosericea*, A. Cunn. Ex G. Don in Senegal. Impact on plant growth, populations of indigenous symbiotic microorganism and plant parasitic nematodes. *Journal of Arid Environments*, 50 : 325 – 332.

Founoune H., Duponnois R., Bâ A.M. & EL Bouami F. (2001b). Influence of the dual arbuscular endomycorrhizal/ectomycorrhizal symbiosis on the growth of *Acacia holosericea* (A. Cunn. Ex G. Don) in Glasshouse conditions. *Ann. For. Sci.*, 59: 93 – 98.

Frey P., Frey-Klett P., Garbaye J., Berge O. & Heulin T. (1997). Metabolic and genotypic fingerprinting of fluorescent pseudomonads associated with the Douglas fir-*Laccaria bicolor* mycorrhizosphere. *Appl Environ Microbiol.*, 63: 1852-1860.

Frey-Klett P., Chavatte M., Clause M.L., Courrier S., Le Roux C. & Raaijmakers J. (2005). Ectomycorrhizal symbiosis affects functional diversity of rhizosphere fluorescent pseudomonads. *New Phytol.*, 165 : 317 – 328.

Frey-Klett P., Pierrat J.C. & Garbaye J. (1997). Location and survival of mycorrhiza helper *Pseudomonas fluorescens* during establishment of ectomycorrhizal symbiosis between *Laccaria bicolor* and Douglas Fir. *Appl Environ. Microbiol.*, 63: 139-144.

Green G.M. & Sussman W.S. (1990). Deforestation history of the eastern rain-forests of Madagascar from satellite images. *Science*, 248 : 212 – 215.

Hawkes C.V, Wren I.F., Herlan D.J. & Firestone M.K. (2005). Plant invasion alters nitrogen cycling by modifying the soil nitrifying community. *Ecol Lett.*, 8: 976 – 985.

Heckman D.S., Dierer D.M., Eidell B.R. Stauffer R.L., Kardos N.L. & Hedges S.B. (2001). Molecular evidence for the early colonization of land by fungi and plants. *Science*, 293: 1129 – 1133.

Heim R. 1938. Prodrôme à une flore mycologique de Madagascar et dépendances. 1. Les Lactario-russulés du domaine oriental de Madagascar : essai sur la classification et la phylogénie des Astérosporaes. Paris, France: MNHN.

Humbert H. (1927). La destruction d'une flore insulaire par le feu. Principaux aspects de la végétation à Madagascar. *Mémoire de l'Académie Malgache*, fasc. IV : pp. 47

Huston M.A.(1994). Biological diversity: The coexistence of species on changing landscape. Cambridge University Press, Cambridge. 708 pp.

Jacobs, M., (1988). The tropical Rainforest. A first Encounter. Springer, New York (p. 295).

Kilvin S.N. & Hawkes C.V (2011). Differentiating between effects of invasion and diversity: impacts of aboveground plant communities on belowground fungal communities. *New Phytol.*, 189: 526 – 535.

Kisa M, Sanon A, Thioulouse J, Assigbetse K, Sylla S, Spichiger R, Dieng L, Berthelin J, Prin Y, Galiana A, Lepage M & Duponnois R. (2007). Arbuscular symbiosis can counterbalance the negative influence of the exotic tree species *Eucalyptus camaldulensis* on the structure and functioning of soil microbial communities in a sahelian soil. *FEMS Microbiol Ecol.*, 62: 32 – 44.

Klironomos, JN., McCune, J., Hart, M. & Neville, J. (2000). The influence of arbuscular mycorrhizae on the relationship between plant diversity and productivity? *Ecol Lett.*, 3: 137 – 141.

Kull C.A. (2004). Isle of fire. *The political ecology of landscape burning in Madagascar*. The Univ. of Chicago Press, Chicago and London, 324p.

Levine J.M., Vilà M., D'Antonio C.M., Bukes J.S., Grigulis K. & Lavorel S. (2003). Mechanismes underlying the impacts of exotic plant invasion. Proceedings of the Royal Society of London, serie B 270: 775 – 781.

Lowry II PP, Schatz GE and Phillipson PB. 1997. The classification of natural and anthropogenic végétation in Madagascar. In: Goodman SM, Patterson BD, eds. Natural change and human impact in Madagascar. Washington, WA, USA: Smithsonian Institute Press, 93-122.

Luna I. & Ochoterena H. (2004). Phylogenetic relationships of the genera of Theaceae based on morphology. *Cladistics*. 20: 223 – 270.

Magurran A.E. (1988). Ecological Diversity and its measurement. Croom helm, London.

Malajczuk, N., Lapeyrie, F. & Garbaye, J. (1990). Infectivity of pine and eucalypt isolates of *Pisolithus tinctorius* on roots of *Eucalyptus urophylla* *in vitro*. *New Phytol.*, 114 : 627 – 631.

Mansfeld-Giese K., Larsen J. & Bodker L. (2002). Bacterial populations associated with mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*, *FEMMS Microbiology Ecology.*, 41 : 133 - 140.

Martin, F., Delaruelle, C. & Ivory, M; (1998). Genetic variability in intragenic spacers of ribosomal DNA in *Pisolithus* isolates associates with pine, *Eucalyptus* and *Azelia* in lowland Kenyan forests. *New Phytol.*, 139 : 341 – 352.

Marx, D.H. (1991). The practical significance of ectomycorrhizae in forest establishment. Ecophysiology of forest trees. Parcus Wallenberg Found Symp Proc 7: 54 – 90.

MEFT, USAID & CI. (2009). Evolution de la couverture de forêts naturelles à Madagascar, 1990 – 2000 – 2005.

Mousin D., Matumoto-Pintro P and Quiquampoix H. (1997). Le role des mycorhizes dans la nutrition phosphatée des arbres forestiers. Rev. For. Fr. XLIX-n° sp.

Olsen S.R., Cole C.V., Watanabe F.S. & Dean L.A. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. Circular, Vol 939. U.S. department of Agriculture, Washington, DC, p. 19.

O'Hanlon R. & Harrington T.J. (2011). Similar taxonomic richness but different communities of ectomycorrhizas in native forests and non-native plantation forests. Mycorrhiza. DOI 10.1007/s00572-011-0412-0

Pirozynski K.A. & Malloch D.W. (1975). The origin of land plants: a matter of mycotropism. *Biosystems.*, 6: 153 – 164.

Plenchette C. & Fardeau J.C. (1988). Prélèvement du phosphore par les racines et les mycorhizes. Comptes rendus de l'Académie des Sciences Série III, 4 : 117 – 123.

Rabenantonadro J., Randriatafika F., Lowry II P.P. (2007) Floristic and Structural Characteristics of Remnant Littoral Forest Sites in the Tolagnaro Area. in Biodiversity, Ecology and Conservation of Littoral Ecosystems in Southeastern Madagascar, Tolagnaro. Smithsonian Institution SI/MAB Series Editor, Washington USA. pp. 65-93

Rakoto H. & Blanc-Pamard C. (2003). Madagascar : les enjeux environnementaux, in l'Afrique, vulnérabilités et défis, éd. Du temps, Nantes, pp. 354 - 376

Ramanankierana H. (2005). La symbiose mycorhizienne dans la domestication d'*Uapaca bojeri*, une plante ligneuse endémique de Madagascar. Thèse de doctorat en science de la vie. Faculté des Sciences. Université d'Antananarivo. pp: 185

Ramanankierana H., Rakotoarimanga N., Thioulouse J., Kisa M., Randrianjohany E., Ramaroson L. & Duponnois R. (2006). The ectomycorrhizosphere effect influences functional diversity of soil microflora. *International Journal of Soil Sciences*, 1 (1) : 8 – 19.

Ramanankierana N, Ducouso M, Rakotoarimanga N, Prin Y, Thioulouse J, Randrianjohany E, Ramaroson L, Kisa M, Galiana A and Duponnois R. 2007. Arbuscular mycorrhizas and ectomycorrhizas of *Uapaca bojeri* L. (Euphorbiaceae): sporophore diversity, patterns of root colonization, and effect on seedling growth and soil microbial catabolic diversity. *Mycorrhiza*, 17: 195-208.

Redecker D., Kodner R. & Graham L.E. (2000). Glomalean fungi from the Ordovician. *Science*, 289: 1920 – 1921.

Remigi P., Faye A., Kane A., Deruaz M., Thioulouse J., Cissoko M., Prin Y., Galiana A., Dreyfus B. & Duponnois R. (2008). The exotic legume tree species *Acacia holosericea* alters microbial soil functionalities and the structure of the Arbuscular mycorrhizal community. *Appl Environ Microb.*, 74: 1485-1493.

Sanon K., Bâ A.M. & Dexheimer J. (1997). Mycorrhizal status of some fungi fruiting beneath indigenous trees in Burkina Faso. *For Ecol Manag.*, 98 : 61 – 69.

Schatz GE, Lowry II PP and Wolf AE. 1999. Endemic families of Madagascar – II. A synoptic revision of Sphaerosepalaceae. *Adansonia*, 21: 107-123.

Schinner F., Ohlinger R., Kandeler E. & Margesin R. (1996). Methods in soil biology. Springer-Verlag, Berlin, 426 pp. Alef K. (1998) estimation of the hydrolysis of fluorescein diacetate. In : Alef K and Nannipieri P. (eds), Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic Press, London, pp. 232-233.

Selosse M.A. & Le Tacon E. (1995). Les associations mutualistes entre champignons et phototrophes: leur diversité et leur rôle dans la colonisation du milieu terrestre. *Cryptogamie, Mycologie.*, 16 : 141 – 183

Simon L., Bousquet J., Levesque C. & Lalonde M. (1993). Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature*, 363: 67 – 69.

Smith S.E. and Read D.J. (2008). Mycorrhizal symbiosis, 3rd edn. Elsevier Academic, New York. USA

Taylor T.N., Remy W., Hass H. & Kerp H. (1995). Fossil arbuscular mycorrhizae from the early Devonian. *Mycologia*, 87: 560 – 573.

Thompson J.D., Gibson T.J., Plewniak F., Jeanmougin F. & Higgins D.G. (1997). The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.*, 24 : 4876 – 4882

Van der Heidjen MGA, Wiemken A., Sanders IR. (2003). Different arbuscular mycorrhizal fungi alter coexistence and resource distribution between co-occurring plant. *New Phytol.*, 157: 569 – 578

Wang B. and Qiu Y.L. (2006). Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza*, 16: 299 – 363.

Weber J. (1995). L'occupation humaine des aires protégées à Madagascar : diagnostic et éléments pour une gestion viable. *Natures, Sciences, Société*, 3 (2) : 157 – 164

White, T.J., Burns, T., Lee, S. and Taylor, J. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR protocols: a Guide to Methods and Applications (eds Innis MA, Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J.), pp. 315 - 322. Academic Press Inc. San Diego, C.A

Wilkinson D.M. (1999). The disturbing history of intermediate disturbance. *Oikos*, 84: 145 – 147.

Williamson M. & Fitter A. (1996). The Characters of successful invaders. *Biological Conservation*, 78: 163 – 170.

Wilson G.W.T., Hickman K.R. & Williamson M.M. (2011). Invasive warm-season grasses reduce mycorrhizal root colonization and biomass production of native prairie grasses. *Mycorrhiza*. DOI 10.1007/s00572-011-0407-x

Young J.P.W. (2012). A molecular guide to the taxonomy of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*. 193:823 – 826.

Résumé

Durant ces dernières années, une dégradation spectaculaire du paysage originel a été constatée au niveau de l'écosystème terrestre Malagasy qui fait partie pourtant des écosystèmes les plus riches et divers de la planète avec de nombreuses espèces animales et végétales endémiques de la Grande Île. Particulièrement recherchée (production de bois précieux, d'huiles essentielles...), cette diversité végétale a connu une dégradation et surexploitation avancées conduisant à la disparition des ressources et/ou des espèces avant même leur identification. Ces changements ont un impact sur les propriétés des sols, plus particulièrement sur le fonctionnement et la structure de la communauté microbienne bénéfique (bactéries fixatrices d'azote, champignons mycorhiziens...).

Le présent document développe différents aspects de l'implication de la symbiose mycorhizienne et ses composantes fongiques dans la préservation et la valorisation des essences endémiques de Madagascar. Cette association symbiotique est présente sur presque la totalité des espèces endémiques étudiées dans les huit formations forestières. En se basant sur la capacité des symbiotes fongiques (endomycorhiziens et/ou ectomycorhiziens) à stimuler le développement des plantes et à assurer le bon fonctionnement des cycles biogéochimiques des nutriments, les différentes techniques proposées (mycorhization contrôlée, utilisation des plantes nurses...), permettront dans le futur de formuler des stratégies visant à gérer durablement les ressources naturelles à Madagascar.

Du côté de l'enseignement supérieur et de la formation des étudiants stagiaires, à cette thématique de symbiose mycorhizienne s'ajoute d'autres sujets relatifs toujours aux écosystèmes terrestres. Ainsi, la totalité de ces sujets a permis de former 7 étudiants mémoriant (04 DEA, 02 Maîtrise spécialisée et 01 Licence professionnelle), de participer au jury de soutenance de 15 mémoires (02 licence professionnelles, 04 maîtrise spécialisée, 05 DEA, 04 DESS) et de formuler cinq cours théoriques pour les étudiants des universités publiques ou privées.

Mots clés : Symbiose mycorhizienne, Fonctionnement, Ecosystèmes forestiers, Conservation, Madagascar

Abstract

During the last decades, a spectacular degradation of landscape has been observed within Malagasy terrestrial ecosystems which are part of the most various and rich ecosystems all over the world. This biodiversity hotspot contains numerous endemic animal and plant species and more of which are threatened by the overexploitation and /or by the degradation of their habitats. These changes in overground population affect soil properties, particularly the structure and functioning of indigenous and plant-beneficial microbial communities (Nitrogen fixing bacteria, mycorrhizal fungi,...).

This document develops different forms of the implication of mycorrhizal association on the preservation and valorization of Malagasy endemic forest species. Most of the studied endemic forest species within the eight forest formations were associated with mycorrhizal fungi. Capacity of mycorrhizal symbionts to stimulate the development of target plant and the soil biochemical cycle of nutrients was assessed. Afterwards, different techniques (controlled mycorrhization, exploitation of nurse plant phenomenon) were proposed to establish strategies which aim to ensure continuance of natural resources sustainable management in the future.

At the university, others thematic related to the Malagasy terrestrial ecosystems were integrated to this thematic of mycorrhizal symbioses for the formation of graduate students and for the theoretical and practical stage of students in Master or in doctorate level. In this way, developed subjects allow us to supervise research activities of 07 graduate students (04 in Academic Master, 02 in Professional Master's degree and 01 in Professional Licence), to take part, as a member of the jury, in the academic defense of 15 student works (02 in Professional Licence, 04 in Professional Master and 09 in Academic Master's degree) and to develop 05 theoretical courses for undergraduate and graduate students at the university.

Key words: Mycorrhizal symbiosis, Functioning, Forest ecosystems, Conservation, Madagascar