

COMPARAISON DE L'EFFICACITE DE DIFFERENTES TECHNIQUES DE MYCORHIZATION SUR LA CROISSANCE DES PLANTS D'AGRUMES

FARIH A.*, NADORI E.B.** , et JRIFI A.***

ملخص

قمنا بتجربة من أجل مقارنة فعالية بعض تقنيات التلقيح بفطر الميكوريز وذلك على اثنين من حامل الطعم (الزفير وستراتج بروير) تحت البيت البلاستيكي بمحطة المنزه. أغراس الحوامض الملقحة بفطر الميكوريز أظهرت نموا وتطورا أحسن من الأغراس بدون فطر بالنسبة للنوعين الاثنين من حامل الطعم. وجد على أن فعالية التلقيح بالميكوريز تتأثر بتقنية التلقيح المستعملة، فيما يخص الزفير وجد على أن طريقة وضع الفطر سنتمتر واحد تحت فراش البذور كانت أفضل من الطرق الأخرى التي جربت، اما عند ستراتج تروير فطرية مرج الفطر مع البذور كانت أفضل.

* C.R.R.A. Settat. B.P. 589.

** Domaine Royal Dar Essalam, Rabat.

*** Département Phytatrie, INRA., El Menzeh. Km 9 Nord Kenitra.

RESUME

Une étude a été menée pour pouvoir comparer l'efficacité de différentes techniques de mycorrhization (dépôt d'inoculum à 1 cm au dessous du lit de semis, mélange d'inoculum avec semences et mycorrhization au moment du repiquage) sur deux variétés de porte-greffe (bigaradier et citrange Troyer), sous tunnel en plastique. Les plants mycorrhizés ont montré une croissance et un développement meilleurs que les plants non mycorrhizés. Pour les deux types de porte-greffe, l'efficacité de mycorrhization a été influencée par la méthode d'apport de l'inoculum. Dans le cas du bigaradier, la technique qui consiste à placer l'inoculum 1 cm au dessous du lit de semis était supérieure aux deux autres méthodes d'apport; alors qu'avec le citrange Troyer, le mélange de l'inoculum avec les semences s'est révélé la meilleure technique.

MOTS CLES : Mycorrhization, Porte-greffe, Bigaradier, Citrange Troyer.

SUMMARY

A study has been undertaken to compare the efficacy of diverse techniques of mycorrhizal infection (placement of inoculum 1 cm below the seedbed, mixture of inoculum with seeds and mycorrhizal infection of seedlings during transplantation) on two rootstock varieties (sour orange & Troyer citrange) under greenhouse conditions. Mycorrhizal plants showed better growth & development than non mycorrhizal plants. For the two rootstock varieties, the efficacy of mycorrhizal infection has been influenced by the technique of inoculum supply. In the case of sour orange, placement of inoculum 1 cm below the seedbed was better than the two other techniques of supply; while with Troyer citrange, mixture of inoculum with seeds has revealed to be the best technique.

INTRODUCTION

L'activité microbienne au niveau du sol est importante non seulement dans le processus de recyclage des éléments nutritifs minéraux, mais peut affecter la croissance de la plante, soit de façon négative (parasitisme) soit de façon positive (mycorhize) (Veldeman, 1979).

Les mycorhizes sont des associations symbiotiques entre le mycélium d'un champignon et la racine d'une plante. La mycorhization se différencie des processus pathologiques par le fait que les deux partenaires tirent profit de l'association (Nicolson, 1967; Rhodes, 1980; Schenck, 1982; Slankis, 1974).

La mycorhization est un phénomène commun qui affecte environ 95% des espèces de la flore mondiale. Il existe deux groupes de mycorhizes : les mycorhizes ectotrophes et les mycorhizes endotrophes (Englander, 1982; Miller, 1982; Trappe & Schenck, 1982).

Les ectomycorhizes se développent à l'extérieur des racines et donnent naissance au "réseau Hartig". Elles se rencontrent surtout chez de nombreuses sortes d'arbres, mais aussi chez plusieurs arbustes ornementaux et plantes de culture (Boisson, 1978; Veldeman, 1979). Elles sont dues pour la plupart à des champignons basidiomycètes (Miller, 1982).

Les endomycorhizes comprennent deux types dont le plus répandu est celui des mycorhizes vésiculaires arbusculaires (MVA) (Trappe & Schenck, 1982). Ces MVA se rencontrent à l'intérieur des cellules des racines des plantes, où elles forment des vésicules et des arbuscules. La plupart des champignons responsables appartiennent à la famille Endogonaceae, classe des Zygomycètes (Trappe & Schenck, 1982). Les MVA se rencontrent chez presque toutes les espèces de plantes cultivées (maraîchères, ornementales, fruitières) (Covey et al., 1981; Gerdemann, 1968; Menge, 1983; Mosse, 1973; Rhodes, 1980; Schenck, 1982; Veldeman, 1979).

Les MVA améliorent l'absorption des substances nutritives par les plantes. Les hyphes du champignon captent les nutriments et les font migrer vers les racines de la plante hôte associée de la mycorhize. Ceci est particulièrement important en ce qui concerne les nutriments immobiles dans le sol, tels que le phosphore, le zinc et le cuivre. L'approvisionnement en phosphore est d'une importance particulière car les végétaux ont besoin de cet élément fertilisant en quantité relativement élevée. Une racine épuise rapidement le phosphore au voisinage de la surface racinaire. Se propageant au-delà de cette zone appauvrie du sol, les hyphes des mycorhizes sont en mesure de fournir le phosphore dont la plante ne pourrait autrement disposer. Ainsi, les hyphes fonctionnent comme des prolongements du système racinaire (Agrios, 1988; Rhodes & Gerdemann, 1975).

L'utilisation commerciale des mycorhizes pourrait augmenter les rendements des cultures tout en diminuant les besoins de fertilisants et d'énergie (Johnson & Mengo, 1982; Menge, 1983; Menge et al., 1977 et 1978). Cependant, puisque les champignons mycorhiziens sont déjà présents naturellement dans la plupart des sols, leur utilisation commerciale est actuellement restreinte aux situations où les

populations naturelles de ces cryptogames ont été détruites ou endommagées, comme les sites stérilisés par des composés chimiques (Boatman et al., 1978; Jalali & Domsch, 1975; Kleinschmidt & Gerdemann, 1972; Menge, 1982; Nemeč, 1980), les serres, les sols perturbés comme les terrils de charbon, les mines à ciel ouvert, les terrains vagues et les abords routiers (Daft et al., 1975; Khan, 1981; Reeves et al., 1979).

Les plantes à mycorhizes manifestent souvent une croissance beaucoup plus vigoureuse que celles ne bénéficiant pas d'une association mycorhizienne. Cet effet bénéfique des mycorhizes a été retrouvé sur de nombreuses cultures : blé (Khan, 1975), orge et oignons (Owusu-Bennoah & Mosse, 1979), pêcher (La Rue et al., 1975), pomme de terre (Black & Tinker, 1977), pommier (Covey et al., 1981), soja (Ross & Harper, 1970).

Les espèces d'agrumes sont infectées par plusieurs espèces de MVA, et sont considérées comme hautement dépendantes des mycorhizés (Ferguson & Menge, 1982; Hattingsh & Gerdemann, 1975; Johnson & Menge, 1982; Kleinschmidt & Gerdemann, 1972; Menge, 1983; Menge & Timmer, 1982; Menge et al., 1977 et 1978). En sol stérilisé, les MVA stimulent la croissance des agrumes; le taux de croissance augmente de 20-2600% par rapport à des plants non mycorhizés (Johnson & Menge, 1982; Kleinschmidt & Gerdemann, 1972; Menge, 1983; Menge & Timmer, 1982; Menge et al., 1977 et 1978). La fumigation du sol en pépinière entraîne l'élimination des mycorhizes, ce qui se traduit par une réduction de la croissance et un rabougrissement des plantes qui montrent des symptômes de chlorose (Hattingsh & Gerdemann, 1975; Kleinschmidt & Gerdemann, 1972; Menge, 1982 et 1983; Menge et al., 1977 et 1978).

Au Maroc, l'effet bénéfique des MVA sur agrumes en pépinière et en serre, a été démontré depuis 1981. Les résultats obtenus ont montré que la mycorhization permet une augmentation de la croissance, du poids sec des racines et des parties aériennes, et de la teneur en phosphore des feuilles des plants (Farih et al., 1988b). D'autre part, la réponse à la mycorhization diffère selon les variétés de porte-greffe et le type du substrat utilisés (Farih et al., 1988a).

Les perspectives positives offertes par la mycorhization ont incité de nombreux chercheurs à mettre au point des techniques d'inoculation et de production d'inoculum pour pourvoir en mycorhizes des plantules et des boutures (Crush & Pattison, 1975; Ferguson & Menge, 1982; Hall, 1979; Menge, 1983; Menge et al., 1977; Mosse, 1962). Les inoculums de MVA sont produits en cultivant les champignons à MVA qui sont des biotrophes obligatoires sur les racines de plantes hôtes adéquates en serre, sous des conditions aseptiques. L'inoculum consiste en une préparation broyée et séchée comprenant le substrat de culture, les racines de rye grass associées aux hyphes de MVA et les spores. La plupart des inoculations à grande échelle comportent l'établissement des mycorhizes sur des plantules d'agrumes qui seront ensuite transplantées sur le terrain (Menge, 1983; Menge & Timmer, 1982). Des méthodes d'inoculation directe n'ont pas encore été élaborées mais, dans des essais limités, la stratification (emplacement de l'inoculum en couche au dessous du lit de semis) et l'enrobage des graines avec un inoculum de MVA se sont avérés efficaces (Crush & Pattison, 1975; Ferguson & Menge, 1982; Gaunt, 1978; Hall, 1979;

Hattingh & Gerdemann, 1975; Jackson et al., 1972; Menge et al., 1978).

La présente étude a été menée pour pouvoir comparer l'efficacité de différentes techniques de mycorhization sur deux variétés de porte greffes d'agrumes.

MATERIELS ET METHODES

Le matériel végétal utilisé est composé de deux porte greffes : bigaradier (*Citrus aurantium* L.) et citrange Troyer (*C. sinensis* Osb. x *Poncirus trifoliata* Raf.), originaires de la station d'El Menzeh. Le semis a eu lieu en juin 1984 et le repiquage en mai 1985.

L'inoculation a été réalisée avec une souche de mycorhizes : *Glomus fasciculatum* (Thaxter) Gerd. and Trappe, isolat 0-1, obtenue de chez Dr. Menge (Université de Californie à Riverside, USA.) et multipliée dans des pots avec du Rye Grass. Quatre traitements sont utilisés :

* T1 : Témoin non mycorhizé;

*T2 : Dépôt de l'inoculum à 1 cm au dessous du lit de semis;

*T3 : Inoculum mélangé aux semences;

*T4 : Mycorhization au repiquage avec dépôt de l'inoculum au niveau des racines des plantules d'agrumes.

Le dispositif expérimental est un bloc aléatoire complet avec quatre répétitions.

L'essai a été conduit sous tunnel en plastique. Les observations et les mesures ont eu lieu mensuellement pendant une année.

RESULTATS ET DISCUSSION

L'inoculation des deux variétés de porte greffes (bigaradier et citrange Troyer) par les MVA s'est montrée efficace. Ainsi, les plants mycorhizés ont montré une croissance et un développement meilleurs que les plants non mycorhizés (Tableaux 1 et 2). Pour les deux types de porte greffe, cette efficacité a été influencée par la méthode d'apport de l'inoculum. Dans le cas du bigaradier (Tableau I), la technique qui consiste à placer l'inoculum 1 cm au dessous du lit de semis (T2) était supérieure aux deux autres méthodes d'apport, alors qu'avec le citrange Troyer (Tableau II), le mélange de l'inoculum avec les semences (T3), s'est révélé la meilleure technique. Cette étude montre que la réponse des deux variétés de porte-greffe d'agrumes à la mycorhization par les champignons MVA est influencée par la méthode d'apport de l'inoculum.

La présente étude confirme les résultats d'essais antérieurs où nous avons montré que les plants d'agrumes mycorhizés ont manifesté une croissance et un développement meilleurs que les plants non mycorhizés, en pépinière, et plus particulièrement en sol stérilisé (Farih et al., 1988b). La réponse positive à la mycorhization fût influencée par le type de porte greffe et la nature du substrat utilisés (Farih et al., 1988a).

Tableau I : Influence de la technique de mycorhization sur la croissance et le développement des plants de bigaradier.

Technique de mycorhization	Croissance (cm)	Poids sec (g)	
		Aérien	Racinaire
T1 ^x	64,47 c ^y	13,54 b	13,64 b
T2	90,62 a	25,20 a	19,02 a
T3	74,50 b	16,37 b	18,95 a
T4	79,90 b	17,47 ab	15,18 ab

^x T1 = témoin non mycorhizé; T2 = dépôt de l'inoculum 1 cm au dessous du lit de semis; T3 = mélange semences + inoculum; T4 = mycorhization au moment de la transplantation.

^y Les valeurs suivies d'une même lettre, à l'intérieure d'une même colonne, ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Test de Dunnett).

Tableau II : Influence de la technique de mycorhization sur la croissance et le développement des plants de citrange Troyer.

Technique de mycorhization	Croissance (cm)	Poids sec (g)	
		Aérien	Racinaire
T1 ^x	100,85 bc ^y	17,04 bc	14,86 c
T2	110,07 b	22,55 b	23,02 a
T3	142,99 a	30,12 a	18,65 b
T4	94,10 c	14,01 c	16,05 bc

^x T1 = témoin non mycorhizé; T2 = dépôt de l'inoculum 1 cm au dessous du lit de semis; T3 = mélange semences + inoculum; T4 = mycorhization au moment de la transplantation.

^y Les valeurs suivies d'une même lettre, à l'intérieure d'une même colonne, ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Test de Dunnett).

D'autres chercheurs ont étudié différentes méthodes d'inoculation par les MVA (Crush & Pattison, 1975; Ferguson & Menge, 1982; Jackson et al., 1972; Menge et al., 1977; Mosse, 1962). Il ressort des résultats obtenus que l'emplacement de l'inoculum au dessous du lit de semis s'est en général révélé la meilleure méthode (Crush & Pattison, 1975; Ferguson & Menge, 1982; Jackson et al., 1972; Menge et al., 1977).

Une bonne réponse à la mycorhization dépend d'une infection rapide et d'une colonisation des racines de la plante hôte par le champignon mucorhizien MVA; L'infection dépend en grande partie de la méthode d'emplacement de l'inoculum. L'emplacement en couche au dessous du lit de semis semble être particulièrement efficace parceque cette méthode oblige les racines en croissance à traverser cette zone riche en inoculum.

Durant ces dernières années de développement rapide en matière de recherches sur MVA; La plupart des études intéressées par les techniques d'inoculation, sont menées à petite echelle. Beaucoup reste à être developpé à propos des méthodes d'inoculation commerciale à grande échelle.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AGRIOS, G. N. 1988. *Mycorrhizae & plant growth*. Pages 507-509. In *plant Pathology* 3rd ed. Academic Press, New York, 803 pp.
- BLACK, R. L. B., and TINKER, P. B. 1977. Interaction between effects of vesicular-arbuscular mycorrhiza & fertilizer phosphorus on yields of potatoes in the field. *Nature* 267 : 510-511.
- BOATMAN, N., PAGET, D., HAYMAN, D. S., and MOSSE, B. 1978. Effects of systemic fungicides on vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and plant phosphate uptake. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 70 : 443-450.
- BOISSON, C. 1978. *Les mycorhizes* : rôle et importance en plantations forestières. *Homme, Terre, Eau*. vol. 6 (26) : 49-57.
- COVEY, R. P., KOCH, B. L., and LARSEN, H. J. 1981. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on the growth of apple and corn in low-phosphorus soil. *Phytopathology* 71 : 712-715.
- CRUSH, J. R., and PATTISON, A. C. 1975. Preliminary results on the production of vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculum by freeze drying. Pages 485-493. Academic Press, London, X + 626 pages.
- DAFT, M. J., HACSKAYLO, E., and nocolson, T. H. 1975. Arbuscular-mycorrhizas in plants colonising coal spoils in Scotland and Pennsylvania. Pages 561-580 + plates in Sandres, F. E., Mosse, B., and Tinker, P. B., eds., *Endomycorrhizas*. Academic Press, London. X + 626 pp.
- ENGLANDER, L. 1982. Taxonomy of the fungi forming endomycorrhizae. B. *Endomycorrhizae by septate fungi*. Pages : 11-13. In *Schenck, N.C.*, ed. *Methods & Principles of Mycorrhizal Research*. Am. Phytopathol. Soc. 244 pp+ x.
- FARIH, A., NADORI, E. B., NHAMI, A., BOUKHRISS, H., et WALALI, L. D. M. 1988a. Réponse à la mycorhization de 4 porte greffes d'agrumes, élevés dans trois substrats différents. *Al Awamia* 64 : 55-62.
- FARIH, A., RAMMAH, A., BOUHIDA, M. EZZOUBIR, D., HILLAL, M., NADORI, E. B., et BENCHEQROUN, N. 1988b. Essai d'utilisation de mycorhizes en pépinière d'agrumes au Maroc. *Al Awamia* 64 : 63-69.
- FERGUSON, J. J., and MENGE, J. A. 1982. How and why to add mycorrhizal fungi to plants in the field. *American Nurseryman* 156 (6) : 67-71.
- GAUNT, R. E. 1978. Inoculation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on onion and tomato seeds. *New Zealand J. of Botany* 16: 69-71
- GERDEMANN, J. W. 1968. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Ann. Rev. Phytopathol.* 6 : 397-418.
- Hall, I. R. 1979. Soil pellets to introduce V-A mucorrhizal fungi into soil. *Soil Biol. Biochem.* 11 : 85-86.

- HATTING, M. J., and GERDEMANN, J. W. 1975. Inoculation of Brazilian sour orange seed with an endomycorrhizal fungus. *Phytopathology* 65 : 1013-1016.
- JACKSON, N.E., FRANKLIN, R. E. , and MILLER, R.H. 1972. Effets of vesicular-arbuscular mycorrhizae on growth and phosphorus content of three agronomic crops. *Soil Sci. Am. Proc.* 36 : 64-67.
- JALALI, B. L., and DOMSCH, K. H. 1975. Effect of systemic fungitoxicants on the development of endotrophic mycorrhiza. Pages 619-626. In F.E. Sanders, B. Mosse, and P. B. Tinker. eds. *Endomycorrhizas*. Academic Press. London. x + 626 pp.
- JOHNSON, C. R., and MENGE, J. A. 1982. Mycorrhizae may save fertilizer dollars. *American nurseryman* 15 : 79-86.
- KHAN, A. G. 1975. Growth effects of VA mycorrhiza on crops in the field. Pages 419-435. In F. E. Sanders, B. Mosse, and P. B. Tinker. eds. *Endomycorrhizas*. Academic Press. London. X + 626 pp.
- KHAN, A. G. 1981. Growth responses of endomycorrhizal onions in unsterilized coal waste. *New Phytol.* 87 : 363-370.
- KLEINSCHMIDT, G. D., and GERDEMANN, J. W. 1972. Stunting of citrus seedlings in fumigated nursery soils related to the absence of Endomycorrhizae.
- LARUE, J. H., Mc CLELLAM, W. D., and PEACOCK, W. L. 1975. Mycorrhizal fungi and peach nursery nutrition. *Calif. Agric.* 29 (5) : 6-7.
- MENGE, J. A. 1982 . Effect of soil fumigants and fungicides on vesicular-arbuscular fungi. *Phytopathology* 72 : 1125-1132.
- MENGE, J. A. 1983 . Utilization of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture. *Can. J. Bot.* 61 (3) : 1015-1024.
- MENGE, J. A., and TIMMER, L. W. 1982 . Procedures for inoculation of plants with VA mycorrhizae in the laboratory, greenhouse, and field. Pages 59-68. In N.C. Schenck. ed. *Methods & Principles of Mycorrhizal Research*. Am. Phytopathol. Soc. MN., USA. 244 pp + X .
- MENGE, J. A., LEMBRIGHT, H., and JOHNSON, E. L. V. 1977. Utilization of mycorrhizal fungi in citrus nurseries. *Proc. Int. Soc. Citriculture* 1 : 129-132.
- MENGE; J. A., LABANAUSKAS, C. K., JOHNSON, E. L. V., and PLATT, R. G. 1978. Partial substitution of mycorrhizal fungi for phosphorus fertilization in the greenhouse culture of citrus. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 42 : 926-930.
- MILLER, O.K. J. 1982. Taxonomy of ecto-and ectendomycorrhizal fungi. Pages 91-101. In N. C. Schenck. ed. *Methods & Principales of Mycorrhizal Research*. Am. Phytopathol. Soc. MN. USA. 244 pp + X .
- MOSSE, B. 1962 . The establishment of vesicular-arbuscular mycorrhiza under aseptic conditions. *J. Gen. Microbiol.* 27 : 509-520.
- MOSSE, B. 1973 . Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza.

Ann. Rev. Phytopathol. 11 : 171-196.

NEMEC, S. 1980 . Effect of 11 fungicides on endomycorrhizal development in sour orange. *Can. J. Bot.* 58 : 522-526.

NICOLSON, T. H. 1967 . Vesicular-arbuscular mycorrhiza : A universal plant symbiosis. *Sci. Prog. Oxf.* 55 : 561-581.

OWUSU-BENNOAH, E., and MOSSE, B. 1979. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. XI. Field inoculation responses in barley, lucerne, and onion. *New Phytol.* 83 : 671-680.

REEVES, F. B., MOORMAN, W. T., and KIEL, J. 1979 . The role of endomycorrhizae in revegetation practices in the semi-arid west I. A comparison of incidence of mycorrhizae in severely disturbed vs. natural environments. *Am. J. Bot.* 66 : 6-13 .

RHODES, L. H. 1980. The use of mycorrhizae in crop production systems. *Outlook on agriculture* . Vol. 10 (6) : 275-281 .

RHODES, L. H., and GERDEMANN, J. W. 1975. Phosphate uptake zones of mycorrhizal and non mycorrhizal onions. *New Phytol.* 75 : 555-561 .

ROSS, J. P., and HARPER, J. P. 1970 . Effect of Endogone mycorrhiza on soybean yields. *Phytopathology* 60 : 1552-1556.

SCHENCK, N. C. 1982 . Methods & Principales of Mycorrhizal research. *Am. Phytopathol. Soc. MN. USA.* 244 pp.

SLANKIS, V. 1974 . Soil factors influencing formation of mycorrhizae. *Ann. Rev. Phytopathol.* 12 : 437-457 .

TRAPPE, J. M., and SCHENCK, N . C. 1982 . Taxonomy of the fungi forming endomycorrhizae. A. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (Endogonales). Pages 1-9. In N. C. SCHENCK. ed. *Methods & Principales of Mycorrhizal Research.* *Am. Phytopathol. Soc. MN. USA.* 244 pp.

VELDEMAN, R. 1979 . La lutte biologique en Phytopathologie. 6. Mycorrhizes et protection des végétaux. *Revue de l'Agriculture* 2 Vol. 32 : 379-382.