



**HAL**  
open science

# Effet de la mycorhization et de sa diversité sur la nutrition du pois chiche sous deux niveaux de phosphore

Chourouk Andolsi

## ► To cite this version:

Chourouk Andolsi. Effet de la mycorhization et de sa diversité sur la nutrition du pois chiche sous deux niveaux de phosphore. Amélioration des plantes. 2021. dumas-03642047

**HAL Id: dumas-03642047**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03642047v1>**

Submitted on 14 Apr 2022

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

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



**l'institut Agro**  
agriculture • alimentation • environnement



## Mémoire de fin d'étude

**Option** : Production végétale durable

Présenté pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur en Agronomie

### Effet de la mycorhization et de sa diversité sur la nutrition du pois chiche sous deux niveaux de phosphore



**Présenté par** : Chourouk Andolsi

Organisme d'accueil : UMR Eco&Sols

Année de soutenance 2021





**l'institut Agro**  
agriculture • alimentation • environnement



## Mémoire de fin d'étude

**Option** : Production végétale durable

Présenté pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur en Agronomie

### Effet de la mycorhization et de sa diversité sur la nutrition du pois chiche sous deux niveaux de phosphore



Présenté par : Chourouk Andolsi

Encadrement :

TUTRICE DE STAGE  
BRIGITTE BRUNEL

MAÎTRE DE STAGE  
SIMON BOUDSOCQ  
ELISA TASCHEN

Organisme d'accueil : UMR Eco&Sols

Année de soutenance 2021

## Résumé

Dans un contexte de transition agro écologique, la gestion de la fertilité du sol et la sécurité alimentaire sont des questions centrales. La valorisation de la culture des légumineuses est actuellement une alternative pour restaurer la fertilité des sols. Les légumineuses ont la capacité d'être co-inoculées par les champignons mycorhiziens arbusculaires et les rhizobia, ce qui induit des bénéfices importants pour la plante.

Le pois chiche *Cicer arietinum* L. est parmi les légumineuses qui bénéficient de la symbiose rhizobienne qui lui permet de fixer l'azote atmosphérique. Cette fixation est un mécanisme très demandant en phosphore. Pour cela, la plante développe des stratégies pour améliorer l'acquisition du phosphore comme la symbiose mycorhizienne. Ainsi une attention particulière a été portée sur l'évaluation de l'effet de la diversité des champignons endomycorhiziens sur la croissance du pois chiche et sur l'amélioration de l'absorption du phosphore. Pour cela une expérimentation en serre a été réalisée pour évaluer l'effet de la diversité de CMA sur la croissance du pois chiche avec en particulier l'acquisition du phosphore et de l'azote. Cette évaluation se fait en comparant les effets obtenus sur le pois chiche inoculé par une communauté avec ceux obtenus avec le pois chiche inoculé par chacune des souches composant la communauté. De plus, nous cherchons à comprendre le mécanisme qui contrôle la relation pois chiche-CMA pour deux situations contrastées de disponibilité de phosphore.

Les résultats obtenus ont montré que la mycorhization a un effet bénéfique sur la croissance de pois chiche et sur l'acquisition du phosphore et de l'azote en absence de fixation symbiotique d'azote. Les performances des plantes inoculées avec la communauté de *Rhizophagus* sont moindres par rapport aux autres traitements avec inoculation, cela nous amène à penser qu'une compétition a eu lieu entre les souches de la communauté. Aussi nous avons remarqué une relation préférentielle entre le cultivar FLIP 84 92C, *Rhizophagus aggregatus* et le sol de Cazevieille.

**Les mots clés :** *Cicer arietinum* L., champignons mycorhiziens, phosphore, diversité, relation préférentielle, *Rhizophagus*

# Abstract

## **The effect of mycorrhization and its diversity on chickpea nutrition under two phosphorus levels**

In a context of agro-ecological transition, soil fertility management and food security are central issues. The valorization of leguminous crops is currently an alternative to restore soil fertility. Legumes have the capacity to be co-inoculated by arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia, which induces important benefits for the plant.

Chickpea (*Cicer arietinum L.*) is among the legumes that benefit from rhizobial symbiosis, which allows it to fix atmospheric nitrogen. This fixation is a very demanding mechanism in terms of phosphorus. For this, the plant develops strategies to improve phosphorus acquisition such as mycorrhizal symbiosis. Thus, particular attention was paid to the evaluation of the effect of the diversity of endomycorrhizal fungi on the growth of chickpea and on the improvement of phosphorus uptake. For this purpose, a greenhouse experiment was carried out to evaluate the effect of CMA diversity on the growth of chickpea, particularly on phosphorus and nitrogen acquisition. This evaluation is done by comparing the effects obtained on chickpea inoculated by a community with those obtained with chickpea inoculated by each of the strains composing the community. In addition, we seek to understand the mechanism that controls the chickpea-CMA relationship for two contrasting situations of phosphorus availability.

The results obtained showed that mycorrhization has a beneficial effect on chickpea growth and on phosphorus and nitrogen acquisition in the absence of symbiotic nitrogen fixation. The performance of the plants inoculated with the *Rhizophagus* community is lower than in the other treatments with inoculation, which leads us to believe that a competition has taken place between the strains of the community. Also we noticed a preferential relationship between the cultivar FLIP 84 92C, *Rhizophagus aggregatus* and the soil of Cazevielle.

**Keywords :** *Cicer arietinum L.*, mycorrhizal fungi, phosphorus, diversity, preferential relationship, *Rhizophagus*

# Remerciements

Tout d'abord je me rends grâce à Allah le tout puissant, le miséricordieux, de m'avoir donnée le courage et la patience et qui m'a permis d'être ce que je suis aujourd'hui.

Au termes de ce modeste étude, je tiens à exprimer ma reconnaissance et mon respect à mes encadrants Simon Boudsocq et Elisa Taschen d'avoir accepté de diriger ce travail et pour tous les conseils qu'il m'ont régulièrement prodigué, qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude pour la grande disponibilité et l'intérêt constant qu'ils ont toujours manifesté.

Je remercie aussi ma tutrice pédagogique Brigitte Brunel, pour sa contribution au bon déroulement du stage.

A tous le personnel d'EcoSols auprès duquel j'ai trouvé l'accueil chaleureux, l'aide et l'assistance dont j'ai besoin.

Aucun remerciement ne saurait rendre justice à ma famille et mes amis pour leurs encouragements affectueux et leurs sacrifices pendant toutes ces années.

# Table des matières

Table des figures	vi	
Liste des tableaux	ix	
Nomenclature	x	
<b>1</b>	<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>État de l'art</b>	<b>2</b>
I	Importance des légumineuses alimentaires et du pois chiche . . . . .	2
1	La culture de pois chiche . . . . .	2
2	La nutrition minérale du pois chiche . . . . .	3
II	Les symbioses mycorhiziennes . . . . .	4
1	Présentation générale des mycorhizes : les champignons mycorhi- ziens à arbuscules . . . . .	4
2	Etablissement des mycorhizes . . . . .	5
3	La diversité des endomycorhizes et les facteurs biotiques et abio- tiques pouvant influencer la diversité au champ . . . . .	5
4	Place des CMA dans l'écosystème . . . . .	6
5	Influence des pratique culturales sur les CMA . . . . .	6
6	Lien entre la diversité des communautés de CMA et leur fonction- nement . . . . .	7
7	Complémentarité fonctionnelle dans les communautés endomyco- rhiziennes . . . . .	8
8	La relation entre les CMA : complémentarité fonctionnelle ou compé- tition . . . . .	8
9	Les facteurs influençant la complémentarité . . . . .	9
III	Les symbioses tripartites . . . . .	10
<b>3</b>	<b>Problématique et Objectif</b>	<b>11</b>
I	Objectifs . . . . .	11

II	Les hypothèses . . . . .	11
III	Démarche . . . . .	12
<b>4</b>	<b>Matériels et Méthodes</b>	<b>13</b>
I	Dispositif expérimentale . . . . .	13
II	Matériel . . . . .	14
1	Matériel végétal et micro-organismes utilisés . . . . .	14
2	Conduite expérimentale . . . . .	14
3	Mesure des biomasses sèches aériennes et racinaires . . . . .	16
4	P végétal total aérien . . . . .	16
5	N végétal total aérien . . . . .	17
6	Taux de la colonisation des racines par les endomycorhizes . . . . .	17
7	Ratio biomasse aérienne sur biomasse racinaire (R_A/R) . . . . .	19
8	La réponse mycorhizienne MGR . . . . .	19
9	Nombre de gousses par pot . . . . .	20
10	Analyses statistiques . . . . .	20
<b>5</b>	<b>Résultats</b>	<b>21</b>
1	Biomasse aérienne . . . . .	21
2	Biomasse racinaire . . . . .	24
3	Ratio de la biomasse aérienne sur biomasse racinaire R_A/R . . . . .	26
4	P végétal total aérien et efficacité d'absorption de phosphore . . . . .	27
5	N végétal total aérien . . . . .	29
6	Taux de mycorhization . . . . .	30
<b>6</b>	<b>Discussion</b>	<b>34</b>
1	Absence de symbiose rhizobienne et effet de la mycorhization sur les teneurs en N des plantes . . . . .	34
2	Effet de la mycorhization sur le développement du pois chiche . . . . .	35
3	Effet de la communauté des CMA sur le développement du pois chiche . . . . .	37
4	Une relation préférentielle entre <i>Rhizophagus aggregatus</i> et le culti- var FLIP 84 92C . . . . .	39
5	Discussion de la méthode . . . . .	39
6	Perspectives . . . . .	40
<b>7</b>	<b>Conclusion</b>	<b>41</b>
<b>8</b>	<b>Annexe</b>	<b>47</b>

# Table des figures

2.1	Nombre de nodules par plante pour différents traitements de P et N : (N-P-faible N, faible P, N-P+ faible N fort P, NP moyen M moyen P, N+P-fort N faible P, N+P+ fort N fort P) [Bulgarelli et al., 2017] . . . . .	4
2.2	Effet de la richesse des familles de CMA sur la biomasse de <i>Plantago lanceolata</i> [Maherali and Klironomos, 2007] Traitement 0 : plante non mycorhizée (en serre) Traitement 1 plante mycorhizée avec la famille de Glomeraceae. Traitement 2 : plante mycorhizée avec la famille de Gigasporaceae, Traitement 3 : plante mycorhizée par la famille de Glomeraceae et Gigasporaceae. Traitement Field : plantes cultivées au champ . . . . .	8
2.3	Représentation des flux C, N et P dans la plante dans le système d'interaction tripartite [Puschel et al., 2017]. . . . .	10
4.1	Schéma simplifié du dispositif expérimental en serre (12 traitements répétées en 6 blocs) . . . . .	13
4.2	Photos de plantations du pois chiche en pot : dispositif en serre (A), inoculum mycorhizien (B), graines de pois chiche attendant d'être recouvertes d'une dernière « couche » de substrat (C) . . . . .	16
4.3	Schéma représentant les différentes étapes de coloration des racines . . . . .	17
4.4	Racines après coloration et montées entre lames et lamelles . . . . .	18
4.5	Classification des différents niveaux de colonisation mycorhizienne du cortex racinaire [Trouvelot et al., 1986] . . . . .	18
5.1	Moyennes (et écart-types, n= 6) des BMA (g de matière sèche/pot) en réponse au traitement mycorhize (données P0 et P30 regroupées). Les lettres différentes représentent des différences significatives (ANOVA , $p < 0.05$ , test post-hoc de Tukey). . . . .	21
5.2	Moyennes (et écart-types n=6) des MGR.A( %) en fonction du traitement en phosphore : P0 absence du phosphore et P30 avec du phosphore. Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA, $p < 0.05$ , suivie du test post-hoc de Tukey). . . . .	23

5.3	Moyennes (et écart-types n=6) des BMR (g de matière sèche/pot) en fonctions des traitements en phosphore P0 absence du phosphore et P30 avec du phosphore. Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA , $p < 0.05$ , suivie du test post-hoc de Tukey). . . . .	24
5.4	Moyennes (et écart-types n=6) des BMR (g de matière sèche/pot) en réponse au traitement mycorhize (données P0 et P30 regroupées). Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA ( $p < 0.05$ ), suivie du test post-hoc de Tukey). . . . .	25
5.5	Moyennes (et écart-types n=6) des MGR.R (%) en fonction des traitements en phosphore : P0 absence du phosphore et P30 avec du phosphore. Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA ( $p < 0,05$ ), suivie du test post-hoc de Tukey). . . . .	26
5.6	Moyennes (et écart-types n=6) des R_A/R (sans unité) en fonction du traitement en phosphore : P0 absence du phosphore et P30 avec du phosphore. Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA , $p < 0,05$ , suivie du test post-hoc de Tukey) . . . . .	26
5.7	Moyennes (et écart-types, n= 6) du P végétal total aérien (mg/ pot) en réponse au traitement mycorhize et au traitement phosphore .Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA , $p < 0,05$ , suivie du test post-hoc de Tukey) . . . . .	27
5.8	Moyennes (et écart-types, n= 6) des rapports P végétal total aérien/ BMR (mg/g de matière sèche) en fonctions des traitements en phosphore : P0 absence du phosphore et P30 avec du phosphore. Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA , $p < 0,05$ , suivie du test post-hoc de Tukey) . . . . .	28
5.9	Moyennes (et écart-types, n= 6) des rapports P végétal total aérien/ BMR (mg/g de matière sèche) en réponse au traitement mycorhize (données P0 et P30 regroupées). Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA , $p < 0,05$ , suivie du test post-hoc de Tukey) . . . . .	29
5.10	Moyennes (et écart-types, n= 6) du N végétal total aérien (g/pot) en réponse au traitement mycorhize et au traitement en phosphore . . . . .	30
5.11	Moyennes (et écart-types, n= 6) de l'intensité globale de mycorhization dans le système racinaire (%) en réponse au traitement mycorhize (données P0 et P30 regroupées). Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA , $p < 0,05$ , suivie du test post-hoc de Tukey) . . . . .	31

5.12	Moyennes (et écart-types, n= 6) de l'intensité arbusculaire dans le système racinaire (%) en réponse au traitement mycorhize(données P0 et P30 regroupées). Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA ,p < 0,05, suivie du test post-hoc de Tukey) . . . . .	32
8.1	Production mondiale de différentes familles de légumineuses en 2013 [FAO, 2016] . . . . .	48
8.2	Évolution des surfaces de légumes secs en France. Déclaration PAC pour le pois chiche. [Schneider and Huyghe, 2015] . . . . .	48
8.3	Les principaux types de mycorhizes [Selosse and Le Tacon, 1998] . . . . .	48
8.4	Quelques espèces de champignons endomycorhiziens isolées de rhizosphères de pois chiche [El Hazzat et al., 2018] . . . . .	49
8.5	(C) Biomasse des nodules et (D) La nodulation pour des plants de soja mycorhizés (+AM) et non mycorhizés (-AM) dans des conditions de faible teneur en P et dans des plants non mycorhizés avec un apport suffisant en P (-AM + P) aux stades de la floraison et de remplissage des grains [Bulgarelli et al., 2017] . . . . .	49
8.6	Présentation de la réponse mycorhizienne (MGR) calculée sur la biomasse aérienne mesure des 4 cultivars de pois chiche (Résultats 2020, données non publiées) en présence de 0 ou 30 mg de P par kg de sol [Paul COLLART , 2020] . . . . .	50
8.7	Arbuscules et vésicules de CMA (microscope optique*100) . . . . .	50
8.8	Fiche de calcul des indices de caractérisation des endomycorhizes . . . . .	51
8.9	Moyennes (et écart-types, n=6) de l'intensité des vésicules dans le système racinaire (%) en réponse au traitement mycorhize et du traitement P . . . . .	51
8.10	Moyennes (et écart-types, n= 6) de BMRA (%) en fonction du traitement phosphore. Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA, p < 0,05 , suivie du test post-hoc de Tukey) . . . . .	52
8.11	Moyennes (et écart-types, n= 6) BMRA (%) en réponse au traitement mycorhize(données P0 et P30 regroupées). Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA ,p < 0,05, suivie du test post-hoc de Tukey) . . . . .	52
8.12	Moyennes (et écart-types, n= 6) des BMA (g de matière sèche/pot) en fonction du traitement en phosphore : P0 (absence de P) et P30 (30 mg P/kg). Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA, p < 0.05, suivie du test post-hoc de Tukey) . . . . .	53

# Liste des tableaux

5.1	Les résultats des différents tests statistiques pour la biomasse aérienne sèche (BMA) (ANOVA, test post hoc de Tukey). -,NS : non significatif . . . . .	22
5.2	Synthèse des p-values obtenues par analyse statistique (ANOVA sur le modèle utilisé) des effets des différents facteurs sur les variables mesurées biomasse racinaire sèche, P végétal total aérien, Pvégétal total aérien/BMR, Ratio biomasse aérienne sur biomasse racinaire R_A/R . . . . .	23
5.3	Synthèse des p-values obtenues par analyse statistique ( ANOVA sur le modèle utilisé) pour des effets des différents facteurs sur les variables mesurées l'intensité globale de mycorhization dans le système racinaire (M), sur l'intensité arbusculaire globale dans le système racinaire (A) et sur l'intensité des vésicules dans le système racinaire (V), le ratio intensité arbusculaire sur la biomasse racinaire sèche (BMRA) . . . . .	30
5.4	Les résultats des différents tests statistiques pour l'intensité des vésicules dans le système racinaire (ANOVA, test post hoc de Tukey). -, NS : non significatif . . . . .	33
8.1	Les résultats des différents tests statistiques pour le N végétal total aérien (ANOVA, test post Hoc de Tukey).-,NS : non significatif . . . . .	47
8.2	Récapitulatif des variables mesurées et des méthodes d'analyse utilisées . .	50

# Liste des sigles et acronymes

<b>ANOVA</b>	<i>Analyse de Variance (test statistique sur la variance)</i>
<b>FAO</b>	<i>Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture</i>
<b>P</b>	<i>Phosphore</i>
<b>N</b>	<i>Azote</i>
<b>CMA</b>	<i>Champignons Mycorhiziens Arbusculaires</i>
<b>BMA</b>	<i>Biomasse aérienne sèche</i>
<b>BMR</b>	<i>Biomasse racinaire sèche</i>
<b>MGR.A</b>	<i>Réponses mycorhiziennes calculées sur les biomasses aériennes</i>
<b>MGR.R</b>	<i>Réponses mycorhiziennes calculées sur les biomasses racinaires</i>
<b>R<sub>A</sub>/R</b>	<i>Ratio biomasse aérienne sur biomasse racinaire</i>
<b>M</b>	<i>Intensité globale de mycorhization dans le système racinaire</i>
<b>A</b>	<i>Intensité arbusculaire dans le système racinaire</i>
<b>V</b>	<i>Intensité des vésicules dans le système racinaire</i>
<b>BMRA</b>	<i>Ratio intensité arbusculaire sur la biomasse racinaire sèche</i>

# Chapitre 1

## Introduction

Ces années le monde a connu une croissance démographique spectaculaire qui se traduit par une augmentation dans les besoins alimentaires. De ce fait, et afin de répondre à ces besoins, un accroissement des rendements agricoles semble utile. Néanmoins, les rendements sont souvent faibles à cause d'une dégradation de la qualité des sols. L'insertion des légumineuses dans les systèmes de culture semble un moyen pour gérer la fertilité des sols. Les légumineuses sont capables d'établir des symbioses avec les rhizobiums et les champignons mycorhiziens. Ces deux formes de symbioses jouent un rôle important dans l'amélioration de la fertilité du sol. La fixation symbiotique de l'azote dépend de la disponibilité en phosphore puisqu'elle a besoin d'une forte quantité en énergie sous forme ATP. L'effet de la mycorhization sur l'absorption de l'azote semble indirecte : l'augmentation de l'assimilation du P que les mycorhizes favorisent la fixation du N<sub>2</sub>.

La valorisation des symbioses et des légumineuses telles que le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) dans les systèmes de cultures procure plusieurs avantages. Une étude faite par [Richardson et al., 2009] a montré qu'une co-inoculation de rhizobia et de CMA permettrait une meilleure nutrition (en P et N) et une production de biomasse plus élevée chez la luzerne et le pois qu'une inoculation séparée avec chacun de ces deux symbiotes.

Dans ce contexte, nous étudions l'effet de la mycorhization et de sa diversité sur la croissance et la nutrition du pois chiche (*Cicer arietinum* L.), dans deux conditions contrastées d'accessibilité en phosphore.

Ce mémoire présentera d'abord les connaissances sur les symbioses mycorhiziennes, les symbioses rhizobiennes, la diversité des champignons endomycorhiziens puis les objectifs et hypothèses de travail. Le dispositif expérimental ainsi que les analyses réalisées seront présentés, suivi des résultats obtenus. Enfin, les méthodes et les résultats seront discutés pour finir sur une conclusion.

# Chapitre 2

## État de l'art

### I. Importance des légumineuses alimentaires et du pois chiche

Les légumineuses sont des plantes dicotylédones qui appartiennent à la famille des fabacées. Elles occupent une place très importante dans le monde pour de nombreuses raisons. D'abord, elles constituent une source idéale de protéines et d'acides aminés. En outre, la culture de légumineuses contribue à la sécurité alimentaire des agriculteurs puisqu'elles peuvent être à la fois consommées et vendues par les familles d'agriculteurs [FAO, 2016].

En agriculture, sur une même parcelle, l'implantation de légumineuses avec une ou plusieurs cultures ou alternativement est un moyen pour réduire l'utilisation d'intrants dans les systèmes des cultures. Grâce à leur propriété de fixer biologiquement l'azote, les légumineuses améliorent la fertilité du sol et renforcent la productivité des terres agricoles [FAO, 2016].

Cependant, en Europe, les légumineuses représentent moins de 2 % des surfaces des grandes cultures. La figure 8.1 (Annexe) présente la production mondiale des principales familles de légumineuses.

#### 1. La culture de pois chiche

Le pois chiche (*Cicer arietinum*) est une plante traditionnelle cultivée dans les régions semi-arides du monde depuis des centaines d'années, principalement en Inde, au Pakistan, dans les pays du Moyen-Orient et dans certaines régions d'Afrique. Aujourd'hui, sa valeur dans le monde entier est importante. Il est cultivé dans un certain nombre de pays européens tels que la France, l'Australie et les Etats-Unis [Lavrenko et al., 2019].

Selon [Schneider and Huyghe, 2015], Le pois chiche est parmi les légumineuses qui exercent un effet favorable sur la fertilité des sols grâce à leur propriété de fixer l'azote atmosphérique. En France, et suite à la croissance de la consommation des légumes secs et la volonté des agriculteurs de diversifier leur production, la surface cultivée en pois chiches a augmenté dans le sud du pays. En effet, la superficie est passée de 3000 ha en 2010 à près de 7000 ha en 2012, comme le montre la figure 8.2 (Annexe).

## 2. La nutrition minérale du pois chiche

### a. Importance de l'azote

L'azote (N) est l'un des éléments nutritifs majeurs nécessaires à la croissance de la plante. Par contre, il est l'un des éléments les plus limités pour la croissance biologique puisqu'il se trouve majoritairement sous une forme inaccessible [LAZALI, 2014]. Dans l'atmosphère, il y a 80% de diazote ( $N_2$ ), mais les plantes ne peuvent pas l'absorber sous cette forme. Les plantes absorbent seulement les formes ioniques solubles les nitrates ( $NO_3^-$ ) ou l'ammonium ( $NH_4^+$ ). Le prélèvement de l'azote du sol par les plantes dépend en partie des besoins de la plante mais aussi de la disponibilité de l'azote. En effet ce dernier se trouve sous forme organique complexe et nécessite d'être minéralisé par les bactéries du sol [Ernest, 2019].

Seules les bactéries diazotrophes qui possèdent la propriété de fixer l'azote atmosphérique sont capables de l'exploiter sous cette forme. Les rhizobia sont des bactéries diazotrophes capables de s'associer avec une plante légumineuse hôte et de fixer l'azote atmosphérique. La mise en place de la symbiose rhizobienne conduit à la formation de nodosités sièges de la fixation d'azote, et est contrôlée par un dialogue entre les deux partenaires. Ce dialogue moléculaire débute par la production des flavonoïdes par la plante et vont déclencher la production de molécules bactériennes appelée facteur Nord. Ces derniers vont déclencher deux processus parallèles : l'infection de la plante par les bactéries et l'organogenèse de la nodosité [Ernest, 2019].

Dans le cas du pois chiche, les rhizobia associées appartiennent au genre *Mesorhizobium*. Les principales espèces de rhizobia sont *Mesorhizobium ciceri*, *Mesorhizobium mediterraneum* et *Mesorhizobium muleiense*, *Mesorhizobium wenxiniae* [Nour et al., 1994].

### b. Importance du phosphore

Le phosphore (P) est un élément de faible mobilité dans le sol, et est l'un des éléments les moins disponibles pour les plantes. L'atome de P est toujours associé à l'oxygène pour former le groupement phosphate  $(PO_4)^{3-}$ , qui est la forme absorbée par la plante

[Bulgarelli et al., 2017].

La nutrition phosphatée est très importante pour les légumineuses fixatrices de l'azote. La disponibilité du P et sa mobilisation par la plante ont un effet direct sur leur aptitude à fixer l'azote atmosphérique. En effet, la conversion de l'azote atmosphérique N<sub>2</sub> en ion ammonium nécessite une grande quantité d'énergie sous forme d'ATP, ainsi la disponibilité du phosphore est un élément non négligeable pour la fixation de l'azote. La figure 2.1 montre qu'en absence de phosphore dans la solution nutritive, le nombre de nodosités développées par *Trifolium pratense* est très faible [Bulgarelli et al., 2017].

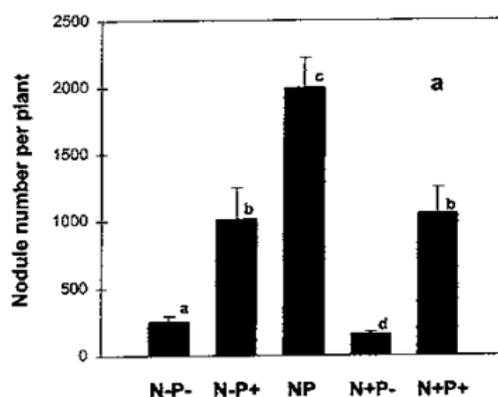


FIGURE 2.1 – Nombre de nodules par plante pour différents traitements de P et N : (N-P-faible N, faible P, N-P+ faible N fort P, NP moyen M moyen P, N+P-fort N faible P, N+P+ fort N fort P) [Bulgarelli et al., 2017]

## II. Les symbioses mycorhiziennes

### 1. Présentation générale des mycorhizes : les champignons mycorhiziens à arbuscules

La symbiose mycorhizienne est une association symbiotique entre un champignon mycorhizien et une racine de plante hôte. Il existe trois types principaux de mycorhizes : les ectomycorhizes, les ectendomycorhizes et les endomycorhizes. La différence entre les trois est liée au groupe taxonomique des partenaires symbiotiques impliqués (végétaux ou fongiques) et aussi aux structures typiques formées [Selosse and Le Tacon, 1998]. La figure 8.3 (Annexe) montre les trois types de symbioses mycorhiziennes.

Les champignons mycorhiziens à arbuscules sont le type de symbiose le plus répandu dans le monde. Il concerne 80% des plantes végétales terrestres et présente 95% des symbioses mycorhiziennes (encadré en vert dans la figure 8.3(Annexe)). Les champignons partenaires

de ce type de symbiose sont des champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) et ils appartiennent au phylum des Gloméromycètes. Ces derniers ne compteraient au mieux que 200 à 250 espèces [Garbaye, 2013].

## **2. Etablissement des mycorhizes**

L'établissement de la symbiose mycorhizienne s'effectue en plusieurs étapes, commençant par la reconnaissance et la distinction entre le champignon et la racine de la plante hôte. Cette dernière émet un signal sous la forme de molécules de la famille des strigolactones, qui font réagir le champignon. Ces molécules activent des gènes chez le champignon, entraînant ainsi la sécrétion des molécules responsables de tous les événements qui auront lieu par la suite tels que la germination des spores, la croissance de mycélium en direction de la racine, et la colonisation de la surface des racines. Une fois établies, les mycorhizes participent au fonctionnement du système racinaire et la symbiose peut s'exprimer au travers du développement et de la croissance de la plante hôte [Garbaye, 2013].

## **3. La diversité des endomycorhizes et les facteurs biotiques et abiotiques pouvant influencer la diversité au champ**

Les endomycorhizes arbusculaires sont reconnus par un large spectre d'hôtes. En effet, ce type de mycorhize – constitué d'un relativement petit nombre d'espèces, peut s'associer à un très grand nombre d'espèces de plantes appartenant à presque tous les groupes végétaux terrestres. De plus, on peut trouver sur un seul système racinaire des mycorhizes formées par des espèces de champignons différentes. Grâce à son réseau de mycélium étendu et à sa faible préférence d'hôte, le CMA peut coloniser des espèces de plantes différentes et ainsi les interconnecter ensemble [Garbaye, 2013].

La diversité des CMA était initialement étudiée sur la base des morphotypes de spores, mais de nos jours, les chercheurs utilisent des outils de code-barre moléculaires qui permettent de caractériser l'ADN [Stockinger et al., 2010]. Une étude faite au Maroc sur cinq sites différents a montré que la rhizosphère du pois chiche est colonisée par une diversité d'endomycorhizes et que toutes les racines sont porteuses de formes de mycorhizes (hyphes, arbuscules et vésicules). Cela suggère que la croissance et le développement de la culture sont dépendants de la présence des mycorhizes. La figure 8.4 (Annexe) montre quelques espèces de CMA de pois chiche isolées à partir de la rhizosphère [El Hazzat et al., 2018]. Le génotype de la plante est un facteur important qui structure la communauté de champignons endomycorhizienne qui colonisent les racines. Une étude faite en Amérique du Nord sur quatre génotypes différents du pois chiche (CDC Xena, CDC amit, CDC Frontier, CDC Anna) a montré que les racines du CDC Anna a accueilli plus de diversité

des champignons que les autres génotypes. Cela suggère que la génotype du pois chiche influence la diversité des champignons dans le sol [Ellouze et al., 2013].

#### **4. Place des CMA dans l'écosystème**

Les CMA présentent un rôle très important dans l'écosystème, notamment du point de vue de la nutrition et la protection des végétaux .

##### **a. Rôle nutritif**

Généralement, les sols sont caractérisés par une limitation de la disponibilité des nutriments pour les végétaux, en particulier en N et P. En effet, le stock de phosphore est non immédiatement disponible pour la plante à la condition qu'il soit minéralisé, de ce fait il doit être recyclé par voie biologique. Les CMA avec notamment leur capacité à explorer un plus grand volume de sol, améliorent la nutrition minérale de la plante en particulier au niveau du phosphate mais aussi en oligoéléments et en azote minéral. De plus, les CMA peuvent rendre le phosphore disponible pour la plante grâce à la sécrétion de phosphatases, il s'agit d'une enzyme capable de dégrader le P organique en orthophosphates [Garbaye, 2013]. En contrepartie, ils bénéficient des produits carbonés issus de la photosynthèse de la plante hôte pour croître et produire le mycélium et les spores. Les CMA jouent ainsi un rôle important pour l'agriculture durable en agissant comme un bio fertilisant pour la plante puisqu'ils sont capables de leur fournir des nutriments comme l'azote et le phosphore [Peyret-Guzzon, 2014].

##### **b. Rôle protecteur**

En plus de leur rôle nutritif, les CMA ont aussi un rôle de protection vis-à-vis des pathogènes. Les symbioses mycorhiziennes protègent la plante des dégâts causés par les nématodes et aussi contre des champignons pathogènes [Vos et al., 2013]. Cette protection contre les pathogènes est liée à une compétition pour la colonisation des racines et pour l'absorption des nutriments. La présence du réseau mycélien dans les racines fait office de barrière physique contre certains pathogènes [Maherali and Klironomos, 2007] , et induit une cascade de réactions hormonales dans la plante augmentant ses défenses contre les bio-agresseurs [Pozo et al., 2010].

#### **5. Influence des pratique culturales sur les CMA**

Les CMA peuvent offrir une gamme d'avantages à leur environnement naturel. Cependant, de nombreuses pratiques peuvent causer des perturbations pour les CMA tels que l'utilisation des engrais et des produits phytosanitaires.

### **a. Impact de l'utilisation de fertilisant sur les CMA**

L'établissement de la symbiose mycorhizienne est très impacté par l'utilisation des fertilisants. En effet, une surfertilisation en P induit une diminution de la colonisation racinaire par les CMA [Garbaye, 2013]. De plus, une étude a montré que le nombre de spores des CMA était plus élevé dans les sols qui ne reçoivent pas de P [Jensen and Jakobsen, 1980].

### **b. Impact du travail du sol sur les CMA**

Le labour a un effet sur les spores des champignons, il les enfouit profondément dans le sol. Il engendre la fragmentation des hyphes ce qui résulte une colonisation retardée des plantes par les CMA puisque le cycle des CMA doit reprendre son stade initial [Peyret-Guzzon, 2014].

## **6. Lien entre la diversité des communautés de CMA et leur fonctionnement**

L'alpha diversité est la diversité qui existe au sein d'une communauté en un lieu donné. Elle est souvent utilisée comme un indicateur de la diversité fonctionnelle. En effet, la richesse d'une communauté augmente la probabilité d'avoir une complémentarité entre les espèces de cette communauté [Powell and Rillig, 2018].

La diversité des communautés mycorhiziennes peut contribuer à des fonctions importantes dans l'écosystème comme l'amélioration de la production et la protection des plantes. Ces communautés peuvent affecter les propriétés physiques, chimiques et biologiques du sol [Powell and Rillig, 2018].

Une relation positive a été montrée entre la richesse d'un mélange en espèces avec les services écosystémiques. Dans le cas d'un mélange de génotypes de champignons, une complémentarité a été observée au sein de cette communauté ainsi que des capacités d'absorption des nutriments différentes et même dans les formes des nutriments absorbées plus variées. Cela suggère que des différences plus importantes entre les espèces au niveau des traits fonctionnels reflètent une plus grande différenciation des niches, ce qui permet aux espèces d'éviter la concurrence et de partager les ressources locales [Maherali and Klironomos, 2007].

La figure 2.2 montre que la biomasse végétale ne diffère pas entre les plantes non mycorhizées et les plantes mycorhizées par des souches uniques. Par contre, un effet positif significatif est observé dans le cas de coexistence des deux familles de champignons Glomeraceae et Gigasporaceae [Maherali and Klironomos, 2007].

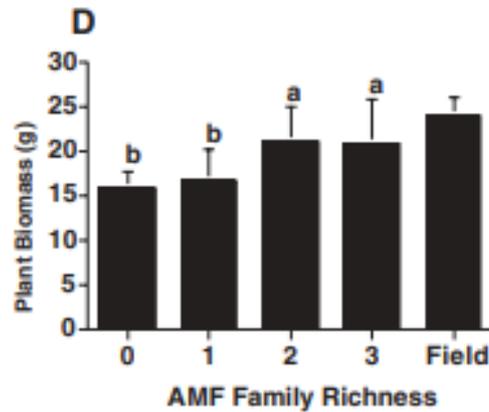


FIGURE 2.2 – Effet de la richesse des familles de CMA sur la biomasse de *Plantago lanceolata* [Maherali and Klironomos, 2007] Traitement 0 : plante non mycorhizée (en serre) Traitement 1 plante mycorhizée avec la famille de Glomeraceae. Traitement 2 : plante mycorhizée avec la famille de Gigasporaceae, Traitement 3 : plante mycorhizée par la famille de Glomeraceae et Gigasporaceae. Traitement Field : plantes cultivées au champ

## 7. Complémentarité fonctionnelle dans les communautés endomycorhiziennes

En écologie, la complémentarité de niches est un concept qui propose que dans un même milieu, la présence de plusieurs espèces en compétition induit une ségrégation spatiale ou temporelle de niches (une exploitation de ressources différentes). Cela permet la coexistence des espèces sans compétition entre elles et une plus grande performance des espèces en mélange par rapport à leurs performances en monoculture. En opposition, en écologie, l'effet de sélection correspond à la présence d'une espèce particulièrement productive qui détermine la productivité d'une communauté indépendamment de la performance des autres espèces présentes [Wagg et al., 2017].

## 8. La relation entre les CMA : complémentarité fonctionnelle ou compétition

La nature de l'interaction entre les souches mycorhiziennes varie entre compétition, complémentarité fonctionnelle et sélection. Cette interaction est influencée par le degré de ressemblance des traits fonctionnels. En effet, la dissimilarité de ces derniers conduit à une disparité compétitive. Cela suggère qu'une diversité des traits fonctionnels entre les espèces peut entraîner une préemption spatiale et temporelle des ressources, ce qui va diminuer l'effet négatif de la compétition entre les espèces [Powell and Rillig, 2018].

Pour les endomycorhizes, la complémentarité d'acquisition des nutriments est d'autant

plus importante qu'il existe des stratégies différentes pour l'acquisition des nutriments entre les espèces. En effet, l'assemblage de communautés composées d'espèces, qui ont des traits d'acquisition de ressources différentes, peut entraîner une grande surproduction grâce à la complémentarité entre les espèces [Wagg et al., 2017].

Par exemple, une différence dans la longueur des hyphes permet une absorption des nutriments provenant de « pools » différents du sol et par la suite une amélioration de la nutrition de la plante. Donc, les plantes inoculées par un mélange de souches peuvent apporter plus de bénéfices que lorsque les souches sont inoculées séparément [Powell and Rillig, 2018].

Parmi les facteurs qui influencent le type de relations entre les champignons endomycorhiziens, nous avons le lien phylogénétique. En effet, un mélange formé par des champignons endomycorhiziens diversifiés sur le plan phylogénétique est susceptible d'être plus différent sur le plan fonctionnel. Donc la plante peut bénéficier de cette complémentarité entre les champignons pour maximiser ses avantages symbiotiques [Thonar et al., 2014].

## **9. Les facteurs influençant la complémentarité**

### **a. Lien phylogénie et fonctionnement**

la diversité phylogénétique est un bon indicateur de la diversité fonctionnelle pour deux fonctions clés de l'écosystème : l'absorption du P et la réduction de la colonisation des racines par les pathogènes. Cette étude faite par Maherali et Klironomos pour tester l'effet de la variation phylogénétique sur la croissance de la plante a montré qu'en inoculant des plantes individuelles avec des combinaisons d'isolats de champignons proches ou éloignés phylogénétiquement, et en gardant le même nombre d'isolats, ils ont constaté que la productivité de la plante diminue en diminuant la diversité phylogénétique des CMA [Maherali and Klironomos, 2007].

### **b. Exemple de complémentarité**

La forte colonisation intra-racinaire par les Glomeraceae est corrélée à une réduction de l'infection des racines par les pathogènes du sol. Concernant les CMA de Gigasporaceae, ces dernières présentent un niveau élevé de croissance des hyphes extra-racinaires, qui est corrélé à une concentration accrue du P dans les parties aériennes de la plante. Cela suggère qu'une grande protection contre les pathogènes et une meilleure absorption de P peuvent stimuler de façon complémentaire la croissance de la plante lorsque Glomeraceae et Gigasporaceae sont dans la même communauté [Maherali and Klironomos, 2007].

### III. Les symbioses tripartites

Dans le système de l'interaction tripartite légumineuses/ rhizobium/ CMA, les flux de C, N et P dans la plante deviennent assez complexes comme le montre la figure 2.3 . Le coût de la symbiose mycorhizienne est compensé par les bénéfices importants en conditions de faible disponibilité de P [Püschel et al., 2017].

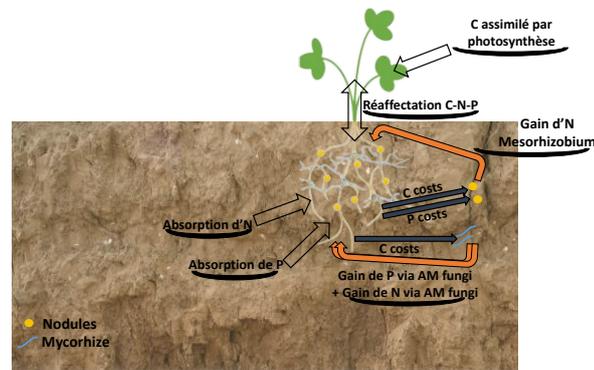


FIGURE 2.3 – Représentation des flux C, N et P dans la plante dans le système d'interaction tripartite [Puschel et al., 2017].

Une étude faite sur du soja inoculé avec une souche de *Bradyrhizobium* et de *Glomus macrocarpum* dans une situation de carence en phosphore a montré que la nodulation a été améliorée par la présence de la souche de *Glomus macrocarpum*. Ces effets ont été observés aux stades de floraison et au stade de remplissage des graines (Figure 8.5) (Annexe). Les plantes mycorhizées ont eu un nombre de nodules qui est similaire aux plantes non mycorhizées et qui ont reçu un apport élevé de phosphore. En effet, la formation d'association symbiotique avec les champignons mycorhiziens est une stratégie de la plante pour faire face à la carence du phosphore et pour améliorer sa fixation symbiotique de l'azote [Bulgarelli et al., 2017].

# Chapitre 3

## Problématique et Objectif

### I. Objectifs

L'objectif principal de ce stage est d'évaluer l'effet de la mycorhization sur la croissance du pois-chiche, et plus particulièrement sur l'acquisition des deux principaux nutriments limitants de la croissance végétale : le phosphore et l'azote - dont la fixation symbiotique chez les légumineuses est dépendante de la nutrition phosphatée. De plus, nous souhaitons évaluer l'effet de la diversité des champignons mycorhiziens, en comparant les effets obtenus chez le pois-chiche inoculé par une communauté de mycorhizes, avec ceux obtenus chez le pois-chiche inoculé par chacune des souches composant la communauté. Nous chercherons à déterminer si les effets potentiellement bénéfiques de la diversité mycorhizienne sont dus à des mécanismes de complémentarité fonctionnelle entre les différentes souches, ou plutôt à un effet dit "de sélection" résultant de la formation du meilleur couple possible entre la variété de pois-chiche choisie et les différentes souches qui lui seront proposées.

### II. Les hypothèses

Nous faisons l'hypothèse que la mycorhization améliorera la nutrition phosphatée du pois-chiche lorsqu'il sera cultivé en condition de faible disponibilité du phosphore. Ainsi nous nous attendons à observer une amélioration de la fixation symbiotique d'azote puisque cette dernière devrait bénéficier de l'amélioration de la nutrition phosphatée. Cette amélioration conjointe de l'acquisition de phosphore et d'azote devrait résulter en une amélioration de la biomasse totale des plantes. D'autre part, nous faisons l'hypothèse que la diversité mycorhizienne aura des effets bénéfiques plus importants sur le pois-chiche que lorsque ce dernier est cultivé en présence d'une souche unique. D'après la littérature,

des effets de complémentarité fonctionnelle et de “sélection” ont déjà été observés. Nous chercherons donc à distinguer ces deux effets dans notre démarche.

### III. Démarche

Ce stage se déroule dans le cadre du projet Crosymed qui a débuté en 2019, aussi le choix de la variété de pois chiche utilisée et des traitements appliqués sont inspirés des résultats de l’année dernière (été 2020). L’essai de l’année dernière a montré que le pois chiche répond positivement à la mycorhization plus particulièrement le cultivar FLIP 84-92C que nous avons utilisé pour cette année (figure 8.6 (Annexe), données non publiées). Ce cultivar est issu de la collection de l’ICARDA (Centre International de la Recherche Agronomique dans les Zones Arides). Les résultats ont alors mis en évidence un effet significatif de la diversité des mycorhizes lorsque le niveau de phosphore est faible dans le sol. Ainsi, nous avons essayé d’évaluer l’effet de la communauté de plusieurs souches mycorhiziennes vis à vis de l’effet de chacune des souches séparées.

Au cours de ce stage, l’essai comporte deux traitements en phosphore appliqués sur une culture de pois chiche. L’un sans fertilisation phosphatée et le second à un niveau de 30 mg de P/ kg de sol. Pour chaque traitement de phosphore, six traitements mycorhiziens ont été choisis : aucun (sans mycorhize), une souche unique (*Rhizophagus irregularis* (solo 1), *Rhizophagus clarus* (solo 2), *Rhizophagus intraradices* (solo 3), *Rhizophagus aggregatus* (solo 4)), et la communauté formée par le mélange des quatre souches précédentes. Le sol utilisé provient de Cazevieille, il était stérilisé aux rayons gamma pour éliminer les organismes vivant du sol et surtout pour éliminer toutes les traces de mycorhizes. Ensuite, afin de rendre ce sol vivant, nous l’avons réensemencé en micro-organismes par l’ajout d’un filtrat microbien. Nous avons suivi, la biomasse aérienne, la biomasse racinaire, la teneur en P et en N dans les parties aériennes des plantes, ainsi que les taux de colonisation des mycorhizes.

# Chapitre 4

## Matériels et Méthodes

### I. Dispositif expérimentale

L'expérimentation s'est déroulée dans une serre en conditions contrôlées au sein de l'UMR Eco&Sol (Montpellier, France). Le dispositif expérimental (figure 4.1) comporte deux traitements en phosphore, l'un sans fertilisation phosphatée P0 et le deuxième correspond à une situation non limitante en phosphore noté P30 (il s'agit du même sol que P0 fertilisé avec 30 mg/kg en P). Pour chaque traitement en P, 6 traitements mycorhiziens sont appliquées : sans mycorhizes (traitement 0), souche unique (*Rhizophagus irregularis* (solo 1), *Rhizophagus clarus* (solo 2) , *Rhizophagus intraradices* (solo 3), *Rhizophagus aggregatus* (solo 4) et la communauté formée par le mélange des 4 souches uniques (traitement commu). Pour chaque traitement, six répétitions sont adoptées (Bloc A, Bloc B, Bloc C, Bloc D, Bloc E et Bloc F).

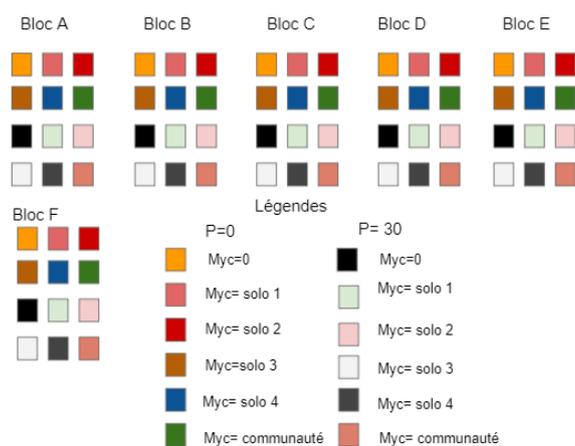


FIGURE 4.1 – Schéma simplifié du dispositif expérimental en serre (12 traitements répétées en 6 blocs)

## II. Matériel

### 1. Matériel végétal et micro-organismes utilisés

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué d'un seul cultivar de *Cicer arietinum* nommé FLIP 84-92C (ICARDA). La souche *Mesorhizobium ciceri* STM183 (origine UPM-Ca, Espagne), issue de la collection du laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes de Montpellier (LSTM), a été choisie pour inoculer les graines de pois chiche. Quatre souches d'endomycorhizes ont été choisies : *R. irregularis* MUCL41833, *R. clarus* MUCL46238, *R. intraradices* MUCL49410 et *R. aggregatus* MUCL49408, et ont été fournies par la mycothèque de l'UCL Louvain en Belgique. Le sol utilisé provient de Cazevielle (France). C'est un sol de région méditerranéenne [Casarin et al., 2003]. Ce sol a été irradié aux rayons gamma pour éliminer les organismes vivants du sol. La teneur d'azote total est de 14,7 mg/kg après irradiation, et il contient 3,14 mg/kg de phosphore inorganique (mesuré par la méthode d'Olsen).

### 2. Conduite expérimentale

#### a. Préparation des pots

Nous avons préparé 72 pots carrés de 23 cm de hauteur et 13 cm de largeur : chaque pot a été rempli de 1,5 l de sol stérilisé aux rayons gamma en 2021 et de 0,5 l de perlite permettant d'aérer le sol. La stérilisation du sol permet d'éliminer les spores de champignons, les graines d'adventices ainsi que l'ensemble des organismes vivants.

#### b. Préparation du l'inoculum mycorhizien

Les inoculum mycorhiziens (en mélange et pour chacune des quatre souches) (figure 4.2B) ont été produits par l'UCL Louvain en Belgique. Il est constitué de racines fraîches de maïs inoculées avec 4 souches de champignons endomycorhiziens (*R. irregularis*, *R. clarus*, *R. intraradices* et *R. aggregatus*) soit séparément soit en mélange. Ces racines de maïs sont fragmentées en morceaux de 1 à 5 mm et chaque pot a été inoculé par 0,5 g d'inoculum placé à environ 4 cm de profondeur afin que les racines des pois chiche entrent en contact avec lui dans les premiers jours suivant la germination des graines.

#### c. Préparation des solutions nutritives et du filtrat microbien

##### Filtrat microbien

Comme le sol utilisé est stérilisé, la préparation d'un filtrat microbien a été réalisée pour

rendre le sol plus vivant en lui apportant des micro-organismes. Un filtrat microbien est préparé en diluant 1 kg de sol frais de Cazevieille non stérilisé dans 5 l d'eau déminéralisée. Après agitation le mélange a été ensuite tamisé successivement avec 3 tamis de maille décroissante : une fois au travers d'un tamis de 1,42 mm, une fois sur 100 µm et enfin 3 fois sur un tamis 20 µm. Le sol récolté sur ce dernier tamis est utilisé pour réensemencer le sol stérilisé aux rayons gamma en micro-organismes tout en filtrant les mycorhizes qui sont retenus par cette largeur de maille. 100 ml de filtrat microbien ont été apportés à chaque pot après le semis et après l'apport du mycorhizes.

#### KCl, urée et P

L'apport de phosphore se fait sous forme de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Pour les traitements en P0 qui ne reçoivent pas de phosphore, l'apport de K contenu dans le traitement P30 est compensé par l'ajout d'une solution de KCL (soit 34 mg/kg de substrat sol-perlite).

#### **d. préparation des graines**

La préparation des graines est réalisée en 3 étapes : la première consiste à stériliser les graines avec une solution d'hypochlorite de sodium (3%) pendant 10 min, puis de plusieurs rinçages à l'eau, l'étape suivante est un trempage des graines dans l'eau pendant 1h, et la troisième étape consiste à tremper les graines dans une suspension de cellules de *Mesorhizobium* (300 ml de solution du rhizobia (10e9 CFU/ml) pour 216 graines) pendant 45 min.

#### **e. Semis des plantes**

Le 31 mars 2021, les graines (à raison de 3 par pot) ont été enfouies à une profondeur de 2 cm dans les pots préalablement préparés (figure 4.2C) puis placés en serre. Une semaine après l'émergence de la tige, un plant par pot est éliminé afin de réduire le nombre de plants à deux par pot (figure 4.2A).

#### **f. Arrosage et culture en serre**

L'arrosage a été effectué avec l'eau déminéralisée de façon à ce que le poids de chaque pot soit gardé constant à 2,4 kg pour maintenir un taux d'humidité de 75% de la capacité au champ du sol.

Les plants de pois chiche sont ensuite cultivés sous des lampes LED qui assurent un maintien de l'intensité lumineuse dans un spectre de lumière et à une durée journalière favorisant la croissance (16h du jour/ 8h nuit ). Le taux d'humidité de la serre et sa température sont de 60% d'humidité et 22°C pour le jour et 19°C pour la nuit.

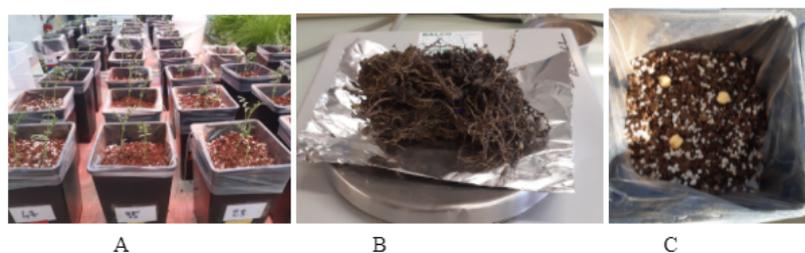


FIGURE 4.2 – Photos de plantations du pois chiche en pot : dispositif en serre (A), inoculum mycorhizien (B), graines de pois chiche attendant d’être recouvertes d’une dernière « couche » de substrat (C)

### 3. Mesure des biomasses sèches aériennes et racinaires

Après sept semaines de culture et à l’apparition de la première gousse chez la moitié des plantes, ces dernières ont été récoltées. Les racines ont été rincées à l’eau, puis pour chaque pot, les racines prélevées ont été pesées avant d’être divisées en trois sous-échantillons. Le premier est placé à  $-80^{\circ}\text{C}$  en vue d’éventuelles extractions d’ADN, le deuxième est placé dans l’alcool pour la détermination du taux de colonisation des racines par les endomycorhizes, et le troisième est mis à l’étuve à  $55^{\circ}\text{C}$  pendant 48h afin d’estimer la biomasse sèche totale par pot. Les parties aériennes sont également séchées à l’étuve à  $55^{\circ}\text{C}$  pour mesurer les biomasses aériennes sèches par pot à l’aide d’une balance de précision.

### 4. P végétal total aérien

Les parties aériennes ont été broyées à l’aide d’un broyeur à bille pendant une semaine. La concentration en P végétal des parties aériennes a été déterminée à l’aide de la méthode micro-onde en mini inserts SK. Cette méthode quantifie le phosphore en solution acide après minéralisation d’échantillons végétaux. Le dosage se fait par colorimétrie à 450 nm après avoir ajouté à l’échantillon un réactif vanadomolybdique entraînant la formation d’un complexe chromophore jaune [Mkaouar and Kechaou, 2013]. Ensuite, la teneur en P est calculée à partir de l’absorbance obtenue grâce à une gamme étalon. Les valeurs sont converties en mg de P/g de matière sèche et pour obtenir le P végétal total aérien, nous les avons multipliées par la biomasse aérienne sèche. Le document de référence pour ce protocole est le mode opératoire MA174-001 ETHOS EASY et MA176-002 SK15 de Milestone. De plus, nous avons proposé de calculer le rapport entre le P végétal total aérien et la biomasse racinaire (P végétal total aérien/ BMR), ce ratio traduit l’efficacité d’absorption du phosphore par la plante [Föhse et al., 1988].

## 5. N végétal total aérien

Les échantillons ont été analysés à l'aide d'un analyseur élémentaire (Analyse élémentaire Vario-PYROcube, Elementar, UK). Les échantillons séchés et broyés ont été placés dans une cupule en étain puis injectés dans l'analyseur élémentaire. Après combustion à 920°C en présence d'oxygène et de CuO, les molécules de gaz issus de l'échantillon (principalement H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> et NO<sub>x</sub>) sont transportées par un flux de gaz vecteur (Helium ultra pur, Linde Gas) vers un four de réduction où les oxydes d'azote sont réduits en N<sub>2</sub> en présence de cuivre à 600°C (réaction de Dumas). Le H<sub>2</sub>O produit est piégé par des colonnes de SICAPENT (Merck). Le N<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub> sont alors séparés. Le CO<sub>2</sub> est piégé à température ambiante dans une colonne TPD (Temperature Programmable Désorption) puis relargué à 100°C. Un détecteur de conductivité thermique (TCD) permet la quantification du N végétal total. En suite, les valeurs obtenues sont multipliées par la biomasse aérienne sèche pour avoir N végétal total aérien.

## 6. Taux de la colonisation des racines par les endomycorhizes

### a. Coloration mycorhizienne

La coloration des racines a été faite selon le protocole de coloration des mycorhizes à l'encre de Chine [Vierheilig et al., 1998] (figure 4.3). Dans un premier temps, les racines ont été nettoyées soigneusement avec l'eau de robinet puis trempées dans une solution de KOH à 10% pendant une nuit à température ambiante afin de décolorer en vidant les cellules de leur contenu et ne laisser que les parois cellulose. Dans un second temps, les racines sont incubées dans l'encre Schaeffer noire à 8% pendant 30 minutes dans un bain marie à 70°C. Enfin, les racines sont laissées pendant 30 min dans une solution de décoloration d'acéto-glycérol. Des bains de lavage avec de l'eau déminéralisée ont été faits après chacun des trois traitements.



FIGURE 4.3 – Schéma représentant les différentes étapes de coloration des racines

### b. Observation de la colonisation mycorhizienne

Après avoir été colorées, les racines ont été montées entre lame et lamelle afin d'être observées sous microscope (figure 4.4). Pour chaque échantillon, 30 fragments de racines

sont coupés et disposés sur une lame remplie de glycérol à 98%. Pour avoir une représentation homogène entre les échantillons, nous avons pris des fragments venant de racines différentes.

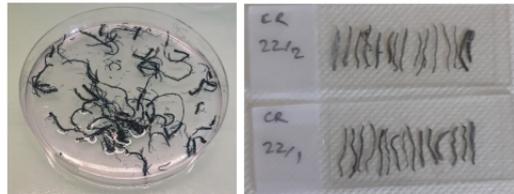


FIGURE 4.4 – Racines après coloration et montées entre lames et lamelles

L'observation a été faite grâce à un microscope Olympus (BX41) et une caméra reliée à l'ordinateur via le logiciel Mosaic 2.2.1. La colonisation des racines par les CMA a été mesurée à l'aide d'une méthode proposée par [Trouvelot et al., 1986] permettant d'estimer la proportion de cortex racinaire qui est mycorhizé et de prendre en compte les structures mycorhiziennes.

Pour chaque fragment de racine, nous avons noté :

l'infection mycorhizienne selon un échelle à 5 classes (figure 4.5)

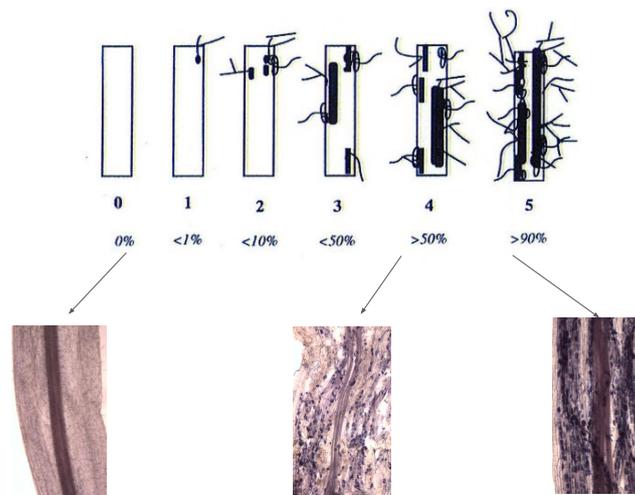


FIGURE 4.5 – Classification des différents niveaux de colonisation mycorhizienne du cortex racinaire [Trouvelot et al., 1986]

Afin d'étudier le fonctionnement des CMA, nous avons noté aussi les abondances des arbuscules (figure 8.7 Annexe) selon une échelle de 3 classes et des vésicules (figure 8.7 Annexe) selon une échelle de 3 classes

Avec les données récoltées lors de l'observation microscopique, nous avons calculé plusieurs indices via le logiciel R, à partir des formules d'une fiche élaborée par l'UMR Agroécologie de Dijon (Annexe 8.8). Ces indices sont :

Fréquence de mycorhization

Intensité globale de mycorhization dans le système racinaire

Intensité arbusculaire de la partie mycorhizée

Intensité arbusculaire dans le système racinaire

Intensité des vésicules de la partie mycorhizée

Intensité des vésicules dans le système racinaire

De plus, nous avons proposé de calculer l'indice BMRA qui est le ratio entre l'intensité arbusculaire dans le système racinaire et la biomasse racinaire. Cette proposition est basée sur le fait que la plante peut absorber les nutriments soit par les racines ou par travers les arbuscules. De ce fait, nous avons voulu comprendre la stratégie de prélever des nutriments par la plante.

## 7. Ratio biomasse aérienne sur biomasse racinaire ( $R\_A/R$ )

Pour chaque échantillon, le ratio entre biomasse aérienne et biomasse racinaire a été calculé. Ce ratio nous donne une idée sur l'efficacité du système racinaire et de la mycorhization. Plus le  $R\_A/R$  est élevé, plus la plante a développé un système aérien important par rapport à son système racinaire.

## 8. La réponse mycorhizienne MGR

La réponse mycorhizienne (MGR) est un indice calculé sur les différentes variables mesurées, selon la formule suivante :

$$MGR = \left( \frac{x_{myc} - \bar{\mu}_{NM}}{\bar{\mu}_{NM}} \right) \times 100$$

Avec : xmyc : variable mesurée pour une plante mycorhizée et  $\mu$ NM : variable mesurée pour une plante non mycorhizée

Il traduit pour la variable xmyc utilisée chez une plante mycorhizée le gain en pourcentage de cette dernière comparativement au traitement non mycorhizé. Le MGR est très variable, allant de positif à négatif. Une valeur positive de MGR indique que la variable mesurée a augmenté en réponse à la mycorhization, tandis qu' une valeur négative indique que la variable mesurée a diminué en réponse à la mycorhization.

## 9. Nombre de gousses par pot

Avant le broyage des parties aériennes, nous avons dénombré les gousses présentes sur les parties aériennes.

## 10. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R (version 4.0.5). Afin de tester l'effet significatif des traitements, des analyses de variances (ANOVA) ont d'abord été réalisées sur des modèles linéaires en fonction des traitements et des blocs. Deux modèles linéaires sont utilisées : Modèle 1 :  $Y \leftarrow \text{lm} (P^* \text{Mycorhize} + \text{Bloc})$  avec Y variable mesurée, l'effet P représente le traitement phosphore, l'effet Mycorhize représente le niveau d'inoculation (sans mycorhizes ( traitement 0), souche unique ( *R. irregularis* (solo1), *R. clarus* (solo2), *R. intraradices* (solo3), *R. aggregatus* (solo4) et la communauté) et Bloc représente l'effet bloc. Dans le cas où nous avons trouvé un effet significatif du bloc nous avons réalisé des modèles linéaires mixtes sous la forme  $Y \leftarrow \text{lme} (P^* \text{Mycorhize}) + (1 | \text{Bloc})$ . Pour certaines variables, des ANOVA ont été réalisées avec cette fois des modèles mixtes prenant en effet fixe les traitements et en effet variable le bloc. Par la suite, pour déterminer les différences significatives entre les paires de données, nous avons appliqué le test post hoc de Tukey. La normalité des données a été vérifiée à l'aide du test Shapiro-wilk normality test. l'homogénéité des variances a été testé avec le test leveneTest. Pour les données du taux de mycorhization, nous avons appliqué la fonction arcsin() afin de respecter la normalité des données et par la suite nous avons réalisé l'ANOVA. Par contre, pour la réalisation des graphiques nous avons utilisé les données brutes en pourcentage (%) pour une meilleure visualisation.

Le tableau 8.2 (Annexe) récapitule les méthodes statistiques utilisées pour analyser les données.

# Chapitre 5

## Résultats

### 1. Biomasse aérienne

En termes de biomasse aérienne sèche (BMA), les plantes de pois chiche ont largement réagi aux traitements en P (p-value =  $< 2.2e-16$ ), au traitement mycorhize (p-value = 0,000164) mais sans interaction entre eux (Tableau 5.1).

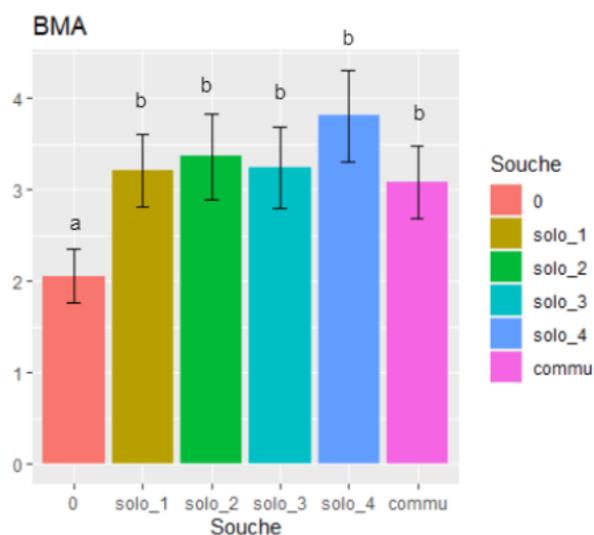


FIGURE 5.1 – Moyennes (et écart-types,  $n= 6$ ) des BMA (g de matière sèche/pot) en réponse au traitement mycorhize (données P0 et P30 regroupées). Les lettres différentes représentent des différences significatives (ANOVA ,  $p < 0.05$  , test post-hoc de Tukey).

La figure 5.1 présente l'effet des différents traitements mycorhize sur la BMA pour les données P0 et P30 regroupées. D'après la comparaison du test post-hoc de Tukey, nous pouvons observer une différence significative entre le traitement 0 (sans endomycorhize) et les autres traitements avec l'inoculation mycorhizienne : les plantes non mycorhizées

présentent la BMA la plus faible. Les traitements commu, solo 1, solo 2, solo 3 et solo 4 présentent des BMA similaires (Tableau 5.1).

En ce qui concerne l'effet du traitement phosphore sur la BMA, nous observons que la BMA augmente significativement avec un apport de phosphore de 30 mg/kg. En passant de P0 à P30, nous observons que les valeurs de BMA ont doublé (Tableau 5.1).

TABLE 5.1 – Les résultats des différents tests statistiques pour la biomasse aérienne sèche (BMA) (ANOVA, test post hoc de Tukey). -,NS : non significatif

Test	Variables	P value				
ANOVA	P	<2.2e-16			***	
	mycorhize	0.0001641			**	
	P :mycorhize	NS				
Tukey HSD	<b>Variables</b>	<b>Modalités</b>		<b>Moyenne (en g/pot)</b>		
	P	P0		1.97	A	
		P30		4.28	B	
	mycorhize	0		02.06	a	
		solo 1		3.20	b	
		solo 2		3.36	b	
		solo 3		3.24	b	
		solo 4		3.81	b	
		commu		03.09	b	
	P :mycorhize	P0	0		0.90	-
			solo 1		02.05	-
			solo 2		2.20	-
			solo 3		02.08	-
			solo 4		2.65	-
		commu		1.93	-	
		P30	0		3.22	-
			solo 1		4.36	-
solo 2				4.52	-	
solo 3				4.40	-	
solo 4			4.97	-		
commu		4.24	-			

TABLE 5.2 – Synthèse des p-values obtenues par analyse statistique (ANOVA sur le modèle utilisé) des effets des différents facteurs sur les variables mesurées biomasse racinaire sèche, P végétal total aérien, P végétal total aérien/BMR, Ratio biomasse aérienne sur biomasse racinaire R\_A/R

Facteur	Variables			
	BMR	P total aérienne	R_A/R	P végétal total aérien/BMR
P	1.55e-12	2.44e-16	0,0011	3.435e-05
mycorhize	0.00503	9.18e-07	NS	0.001843
P*mycorhize	NS	0.0155	NS	NS
Bloc	0.00253	NS	NS	NS

Les réponses mycorhiziennes calculées sur les biomasses aériennes (MGR.A) réagissent au traitement de P (p-value = 0.01855) et non au traitement mycorhize. Elles montrent un gain très important de la mycorhization (87%) en conditions limitantes de phosphore (P0) (figure 5.2).

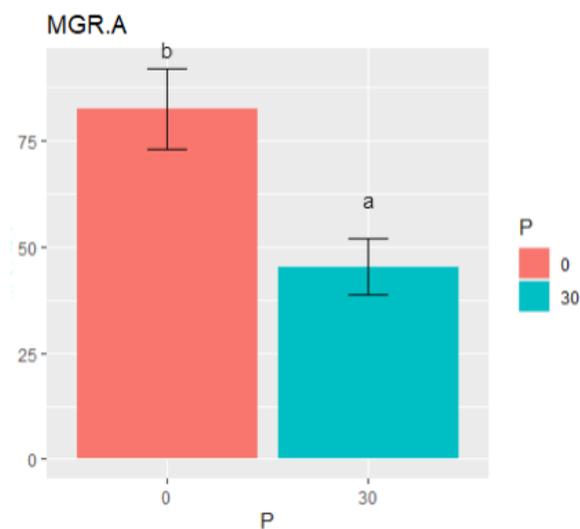


FIGURE 5.2 – Moyennes (et écart-types n=6) des MGR.A( %) en fonction du traitement en phosphore : P0 absence du phosphore et P30 avec du phosphore. Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA,  $p < 0.05$ , suivie du test post-hoc de Tukey).

## 2. Biomasse racinaire

D'après le modèle linéaire mixte, le traitement en phosphore ( $p$ -value =  $1,55e-12$ ) et le traitement mycorhize ( $p$ -value =  $0,00503$ ) ont un effet significatif sur la BMR (Tableau 5.2 ). L'observation du graphique 5.3 montre que la BMR augmente significativement avec l'apport du phosphore. D'après l'observation du graphique 5.4, nous constatons une différence significative entre le traitement 0 et solo 4.

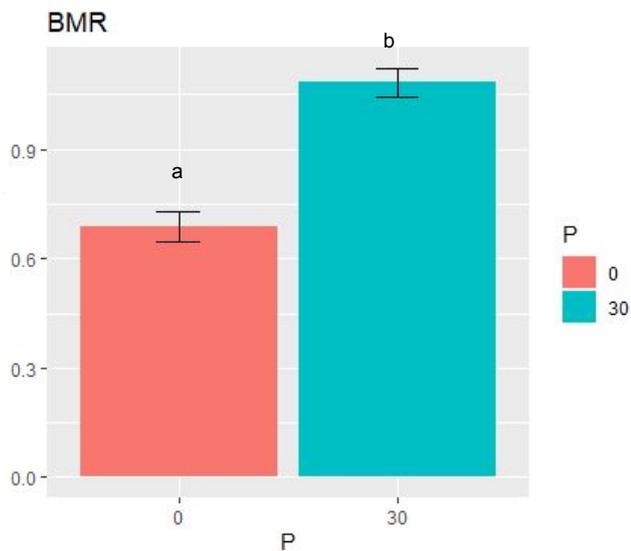


FIGURE 5.3 – Moyennes (et écart-types  $n=6$ ) des BMR (g de matière sèche/pot) en fonctions des traitements en phosphore P0 absence du phosphore et P30 avec du phosphore. Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA , $p < 0.05$  , suivie du test post-hoc de Tukey).

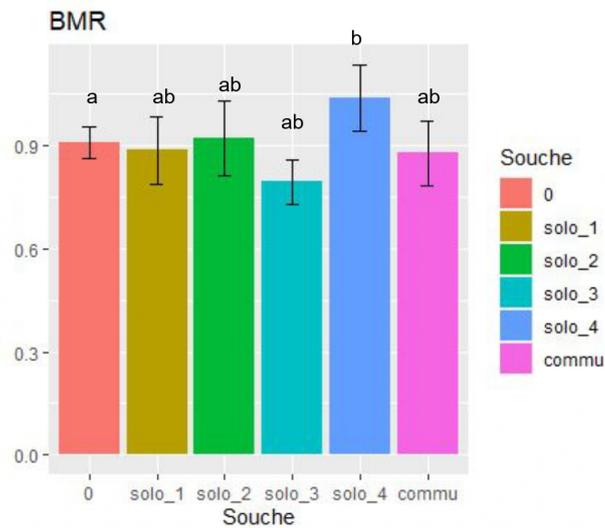


FIGURE 5.4 – Moyennes (et écart-types  $n=6$ ) des BMR (g de matière sèche/pot) en réponse au traitement mycorhize (données P0 et P30 regroupées). Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA ( $p < 0.05$ ), suivie du test post-hoc de Tukey).

Les réponses mycorhiziennes calculées sur les biomasses racinaires (MGR.R) ne répondent pas au traitement mycorhize mais elles répondent au traitement en phosphore ( $p$ -value = 0.04582). Les valeurs de MGR racinaires sont plus importantes en P0 avec un gain de 45% en P0 (figure 5.5).

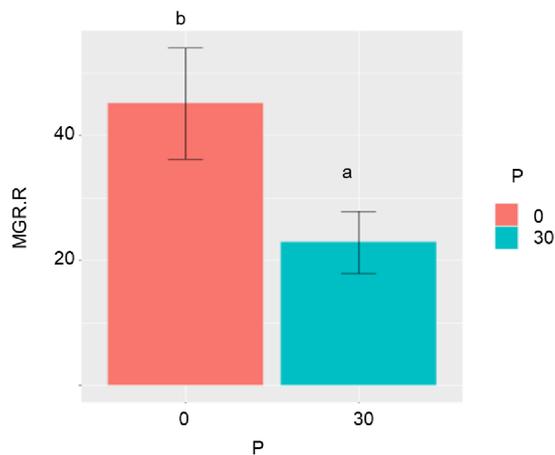


FIGURE 5.5 – Moyennes (et écart-types n=6) des MGR.R (%) en fonction des traitements en phosphore : P0 absence du phosphore et P30 avec du phosphore. Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA ( $p < 0,05$ ), suivie du test post-hoc de Tukey).

### 3. Ratio de la biomasse aérienne sur biomasse racinaire $R_{A/R}$

Le ratio  $R_{A/R}$  réagit seulement au niveau du P (p-value =0,0011) (Tableau 5.2). D'après la figure 5.6, nous remarquons que le  $R_{A/R}$  a augmenté en condition non limitante en P (P30).

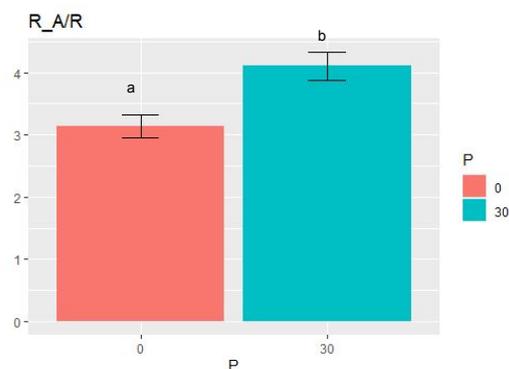


FIGURE 5.6 – Moyennes (et écart-types n=6) des  $R_{A/R}$  (sans unité) en fonction du traitement en phosphore : P0 absence du phosphore et P30 avec du phosphore. Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA,  $p < 0,05$ , suivie du test post-hoc de Tukey)

#### 4. P végétal total aérien et efficacité d'absorption de phosphore

D'après les résultats de l'ANOVA, nous pouvons déduire que le P végétal total aérien réagit au traitement phosphore et au traitement mycorhize avec une interaction entre les deux ( $p$ -value = 0,0155) (Tableau 5.2). L'observation de la figure 5.7 montre que dans le cas non limitant en phosphore P30, les plantes présentent un P végétal total aérien plus élevé qu'avec celles du traitement P0. En P30, le traitement solo 4 présente le P végétal total aérien le plus élevé qui est significativement différent du traitement commu et du traitement 0. Pour le traitement P0, le test post-hoc de Tukey montre qu'il n'y a pas de différence significative entre les différents traitements mycorhize.

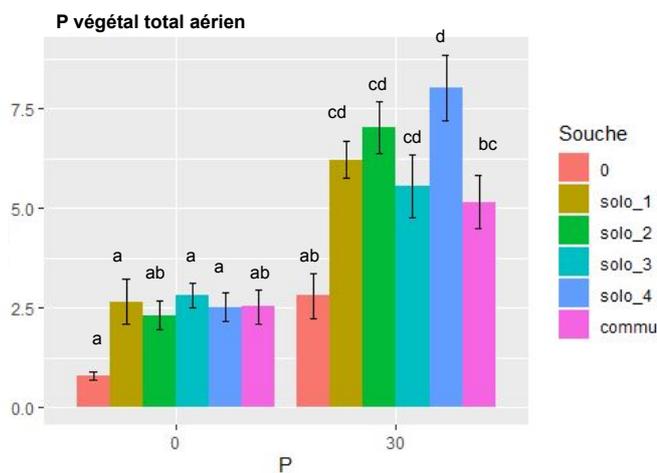


FIGURE 5.7 – Moyennes (et écart-types,  $n=6$ ) du P végétal total aérien (mg/ pot) en réponse au traitement mycorhize et au traitement phosphore. Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA,  $p < 0,05$ , suivie du test post-hoc de Tukey)

D'après les résultats de l'ANOVA, le P végétal total aérien/ BMR réagit au traitement en phosphore ( $p$ -value =  $3,435e-05$ ) et au traitement mycorhize ( $p$ -value =  $0,001843$ ), sans interaction entre elles (Tableau 5.2 ). D'après la figure 5.8, nous observons que le ratio P végétal total aérien/ BMR augmente en présence de phosphore non limitant (P30). L'observation de la figure 5.9, nous permet d'observer que les plantes non mycorhizées (traitement 0) présentent le plus faible ratio qui n'est pas toutefois pas différent significativement du traitement commu . Seuls les traitements solo 1, solo 2, solo 3 et solo 4 se différencient du traitement 0 et présentent des ratios plus importants.

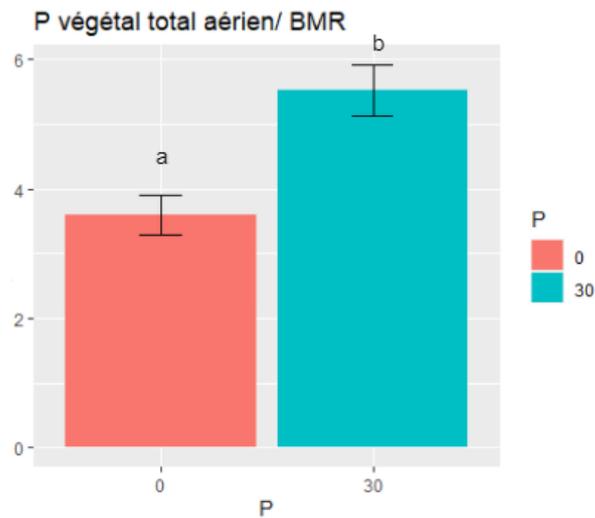


FIGURE 5.8 – Moyennes (et écart-types,  $n=6$ ) des rapports P végétal total aérien/ BMR (mg/g de matière sèche) en fonctions des traitements en phosphore : P0 absence du phosphore et P30 avec du phosphore. Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA , $p < 0,05$ , suivie du test post-hoc de Tukey)

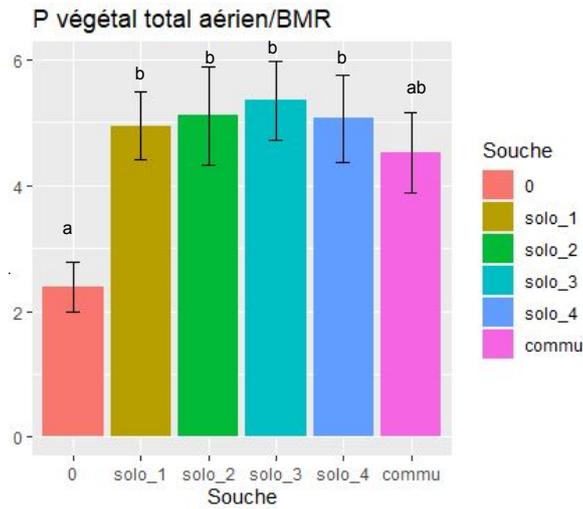


FIGURE 5.9 – Moyennes (et écart-types,  $n=6$ ) des rapports P végétal total aérien/ BMR (mg/g de matière sèche) en réponse au traitement mycorhize (données P0 et P30 regroupées). Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA,  $p < 0,05$ , suivie du test post-hoc de Tukey)

## 5. N végétal total aérien

Malheureusement lors de la récolte nous n'avons pas observé de nodules dans les systèmes racinaires des plantes, de ce fait nous n'avons pas pu quantifier l'azote symbiotique. Concernant les teneurs en N dans les parties aériennes, les plantes de pois chiche ont largement réagi aux traitements en P ( $p\text{-value} = 1,237e13$ ) et au traitement mycorhize ( $p\text{-value} = 0,007522$ ) sans interaction entre les deux (Tableau 8.1). D'après la figure 5.10, nous observons que les valeurs du N végétal total aérien sont plus élevées dans le cas non limitant en phosphore P30. De plus, nous remarquons que le traitement solo 4 présente le N végétal total aérien le plus élevé qui est significativement différent du traitement 0 et non pas des autres traitements (Tableau 8.1) (Annexe).

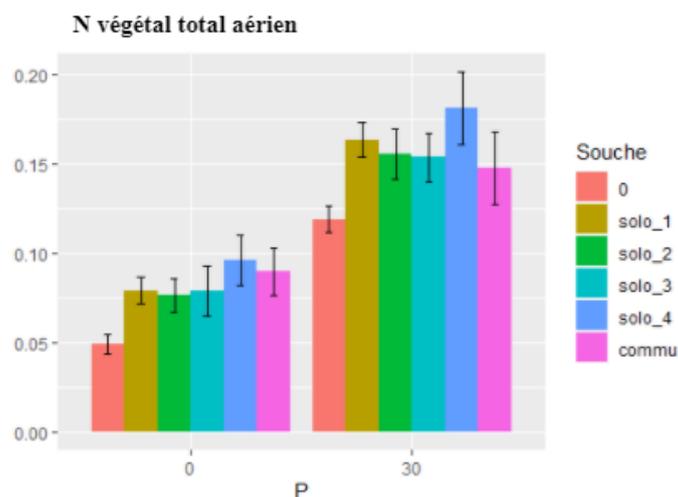


FIGURE 5.10 – Moyennes (et écart-types,  $n=6$ ) du N végétal total aérien (g/pot) en réponse au traitement mycorhize et au traitement en phosphore

## 6. Taux de mycorhization

Lors de l'observation microscopique des racines après coloration, nous avons vérifié que les racines du traitement 0 ne présentaient pas de traces de mycorhization (absence d'arbuscules, de vésicules et d'hyphes). Afin de comprendre l'effet des différents traitements sur le taux de mycorhization, plusieurs analyses ANOVA ont été réalisées. L'ANOVA a montré que le traitement mycorhize a un effet sur l'intensité globale de mycorhization dans le système racinaire (M), sur l'intensité arbusculaire globale dans le système racinaire (A) et sur l'intensité des vésicules dans le système racinaire (V) (Tableau 5.3). Par contre, le traitement phosphore ne présente un effet que sur l'intensité des vésicules dans le système racinaire (Tableau 5.3).

TABLE 5.3 – Synthèse des p-values obtenues par analyse statistique (ANOVA sur le modèle utilisé) pour des effets des différents facteurs sur les variables mesurées l'intensité globale de mycorhization dans le système racinaire (M), sur l'intensité arbusculaire globale dans le système racinaire (A) et sur l'intensité des vésicules dans le système racinaire (V), le ratio intensité arbusculaire sur la biomasse racinaire sèche (BMRA)

Facteur	variable			
	modèle 1			
	M	A	V	BMRA
P	NS	NS	0.0279231	0.0464
mycorhize	0,000007207	0,0001057	0.0003195	3.07e-05
P*mycorhize	NS	NS	NS	NS
Bloc	NS	NS	NS	NS

### a. Intensité globale de mycorhization dans le système racinaire

La figure 5.11 représente l'intensité globale de mycorhization dans le système racinaire M en fonction du traitement mycorhize sans le traitement 0 . Aucune différence significative entre solo 1, solo 2, solo 3, solo 4 et commu n'est détectée. Le traitement solo 4 présente l'intensité globale de mycorhization dans le système racinaire M (68%) la plus importante mais qui n'est pas toutefois pas différent significativement des autres traitements.

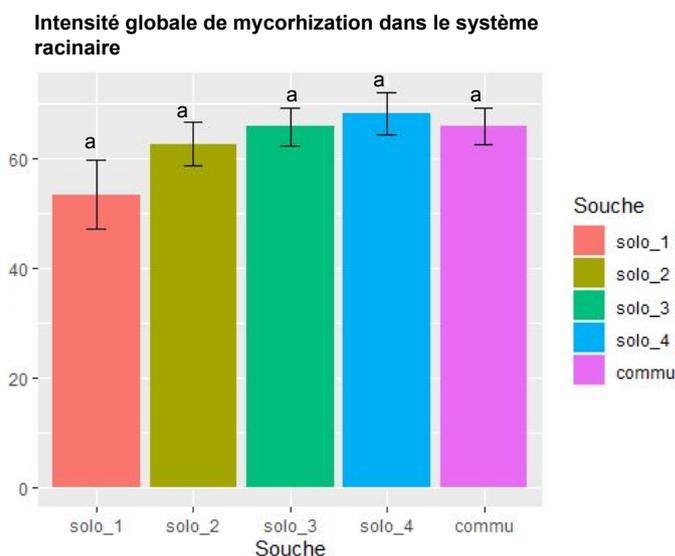


FIGURE 5.11 – Moyennes (et écart-types,  $n=6$ ) de l'intensité globale de mycorhization dans le système racinaire (%) en réponse au traitement mycorhize (données P0 et P30 regroupées). Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA,  $p < 0,05$ , suivie du test post-hoc de Tukey)

### b. Intensité arbusculaire dans le système racinaire

La figure 5.12 présente l'intensité arbusculaire dans le système racinaire en fonction des différents traitements mycorhize sans le traitement 0. Le test post hoc de Tukey montre qu'il n'y a pas de différences significatives entre les différents traitements. Le traitement solo 3 présente l'intensité arbusculaire dans le système racinaire A la plus élevée (59%) mais qui n'est pas toutefois pas différent significativement des autres traitements (solo 1, solo 2, solo 4, commu).

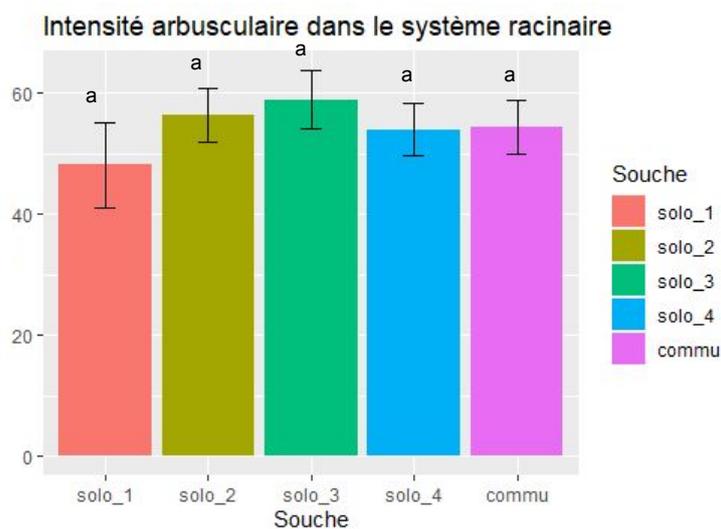


FIGURE 5.12 – Moyennes (et écart-types,  $n=6$ ) de l'intensité arbusculaire dans le système racinaire (%) en réponse au traitement mycorhize (données P0 et P30 regroupées). Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA,  $p < 0,05$ , suivie du test post-hoc de Tukey)

### c. Intensité des vésicules dans le système racinaire

La figure 8.9 (Annexe) présente l'intensité des vésicules dans le système racinaire en fonction du traitement mycorhize. Le test post hoc de Tukey montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les différents traitements (solo 1, solo 2, solo 3, solo 4 et commu). Nous observons une augmentation de l'intensité des vésicules dans le système racinaire en passant du P0 à P30. (Tableau 5.4).

TABLE 5.4 – Les résultats des différents tests statistiques pour l'intensité des vésicules dans le système racinaire (ANOVA, test post hoc de Tukey). -, NS : non significatif

Test	Variables	P value			
ANOVA	P	0.0279231			***
	mycorhize	0.0003195			**
	P :mycorhize	NS			
Tukey HSD	Variables	Modalités		Moyenne	
	P	P0		0.232	A
		P30		0.336	B
	mycorhize	0		0	a
		solo 1		0.296	b
		solo 2		0.326	b
		solo 3		0.344	b
		solo 4		0.426	b
		commu		0.314	b
		P :mycorhize	P0	0	0
	solo 1			0.234	-
	solo 2			0.293	-
	solo 3			0.247	-
	solo 4			0.358	-
	commu			0.261	-
	P30		0	0	-
			solo 1	0.358	-
solo 2			0.358	-	
solo 3			0.441	-	
solo 4		0.494	-		
commu	0.367	-			

#### d. Ratio intensité arbusculaire sur la biomasse racinaire sèche (BMRA)

D'après le test d'ANOVA, le ratio intensité arbusculaire dans le système racinaire sur la biomasse racinaire sèche (BMRA) réagit aux traitements en phosphore ( $p = 0,0464$ ) et au traitement mycorhize ( $p = 3,067e-05$ ) sans interaction entre eux (Tableau 5.3). L'observation du graphique 8.10 (Annexe) montre que le BMRA a diminué en P30. L'ANOVA montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les différents traitements mycorhize pour la BMRA. Nous remarquons que le traitement solo 3 présente la BMRA le plus élevé (51%) qui n'est pas toutefois pas différent significativement des autres traitements figure 8.11 (Annexe).

# Chapitre 6

## Discussion

Comme attendu, la mycorhization a eu un effet positif sur la performance des plantes. Les résultats ont également mis en évidence une efficacité moindre de la communauté sur la croissance du pois chiche par rapport à la souche unique. Nous avons observé un taux de mycorhization similaire entre les différents traitements (souche unique et commu).

### **1. Absence de symbiose rhizobienne et effet de la mycorhization sur les teneurs en N des plantes**

Lors de la récolte, après 7 semaines de semis, nous avons observé l'absence de nodosités sur les racines du pois chiche alors que nous avons inoculé les plantes avec une souche de *Mesorhizobium* compatible. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ce résultat parmi lesquelles nous pouvons citer l'humidité du sol, le pH du sol et la salinité d'eau d'irrigation. Une étude faite par [Worrall and Roughley, 1976] a montré que le stress hydrique et la méthode d'inoculation ont affecté la nodulation du trèfle souterrain. D'après cette étude, l'inoculation au semis est moins efficace que l'inoculation des jeunes plantules. De ce fait, nous pouvons penser que l'absence de nodosités dans notre expérimentation est dû à notre méthode d'inoculation puisque nous avons inoculé au semis.

D'après nos résultats, nous remarquons que l'absence de fixation rhizobienne d'azote a un effet négatif sur la nutrition azotée de la plante. Les teneurs d'azote des plantes sont faibles par rapport à ce qui est trouvé dans l'expérimentation de l'année dernière, cela nous amène à penser que les plantes de pois chiche ont subi une carence en azote et nous pouvons confirmer cette hypothèse par le jaunissement que nous avons observé lors de l'expérimentation. D'après nos tests statistiques, le traitement mycorhize a un effet important sur la teneur du N végétal total aérien des plantes. Nous remarquons que les plantes non mycorhizées (traitement 0) présentent des faibles teneurs de N végétal

total aérien , cela nous amène à émettre l’hypothèse que les mycorhizes ont la capacité de compenser une carence d’azote et à fournir de l’azote à la plante. D’après nos tests statistiques, il n’existe pas une différence significative entre les teneurs de N végétal total aérien entre les traitements souche unique ( solo 1, solo 2, solo 3, solo 4), par contre le N végétal total aérien du solo 4 tend à être supérieur aux trois autres traitements, de ce fait nous pouvons penser que les mycorhizes ont des stratégies différentes d’assimilation d’azote.

## **2. Effet de la mycorhization sur le développement du pois chiche**

Nous avons montré que la présence de mycorhization a un effet important sur les performances de la plante, en améliorant sa biomasse aérienne, sa biomasse racinaire (la différence est significative entre le BMR du traitement solo 4 et le BMR du le traitement 0), sa nutrition phosphatée (en P30, le P végétal total aérien du traitement solo 1, solo 2, solo 3 et solo 4 est significativement élevée par rapport au P végétal total aérien du traitement 0 sans mycorhize), et sa nutrition azotée (le traitement solo 4 présente un N végétal total aérien plus important par rapport au traitement 0). Ces résultats sont en accord avec d’autres études [Maherali and Klironomos, 2007] qui ont montré que la biomasse aérienne d’une plante inoculée par des CMA est plus importante que la biomasse aérienne d’une plante non inoculée. Aussi, une étude faite par [Bulgarelli et al., 2017] a montré qu’au stade du remplissage des grains (même stade que notre stade de récolte), la biomasse aérienne ainsi que la biomasse racinaire de la plante inoculée par une souche de CMA sont plus élevées que celles des plantes non inocuées (l’augmentation est de l’ordre de 2 g/ plante pour la biomasse aérienne et de 1 g/plant pour la biomasse racinaire). Aussi, nous pouvons expliquer cette amélioration de performance par le fait que les CMA améliorent l’accessibilité de la plante aux nutriments du sol par l’augmentation du volume de sol exploité par les racines. Nous pouvons aussi penser à l’amélioration d’acquisition du phosphore par la solubilisation du phosphore indispensable, c’est grâce à la sécrétion du phosphatases par les CMA qui sont une enzyme capable de dégrader le P organique en orthophosphates [Garbaye, 2013].

Comme attendu, l’effet de la mycorhization a été moindre dans le cas non limitant en phosphore (P30) par rapport au traitement P0 comme le montre les différentes réponses mycorhiziennes MGR. En effet, les plantes ayant grandi dans des conditions déficientes en P ont des réponses mycorhiziennes plus importantes, les MGR.A et MGR.R sont plus élevées en P0 qu’en P30 mais elles restent positives en P30. Cela suggère que la dépendance mycorhizienne du pois chiche est plus importante en P0 qu’en P30. Nous pouvons expliquer ces résultats par le fait que la plante en P30 trouve directement dans le

sol une certaine quantité de phosphore (30 mg/kg du sol) qui est suffisante pour acquérir une biomasse aérienne et une biomasse racinaire. Aussi, d'après [Sawers et al., 2008], la plante investit davantage dans les CMA afin d'améliorer l'accès aux ressources en cas de limitation en phosphore. Dans le cas contraire où les concentrations en phosphore sont élevées, le rôle facilitateur des mycorhizes dans la nutrition des plantes diminue car la plante investit moins dans l'établissement de la symbiose et le transfert de sucre vers les champignons.

Contrairement à ce que nous attendions, d'après nos résultats les plantes présentent une biomasse racinaire plus importante en présence du phosphore (P30). Selon [Hetrick, 1991] dans le cas limitant en phosphore, la plante s'investit dans le développement du système racinaire pour aller chercher les nutriments et il y aura une augmentation de la biomasse racinaire. De plus, le MGR.R est positif mais moindre en P30, nous pouvons expliquer ces résultats par le fait que l'absence de fixation d'azote due à une absence de nodulation par les rhizobia n'a pas permis de réduire la biomasse racinaire en P30 contrairement à ce qui avait été observée dans l'expérimentation de l'année dernière où les plants de pois chiche étaient correctement nodulés (données non publiées).

Le ratio  $R\_A/R$  est plus élevé en P30 et en présence de mycorhize. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait qu'en P30 et en présence de mycorhize, la plante a développé plus de biomasse aérienne et de biomasse racinaire et nous remarquons que la plante a développé plus de biomasse aérienne que de biomasse racinaire.

Nous voulions savoir si dans le cas limitant en phosphore la mycorhization permettait à la plante d'avoir un niveau de nutrition en P équivalent au traitement avec phosphore P30. D'après nos résultats, nous observons que le P végétal total aérien des plantes mycorhizées en P0 est proche du celui des plantes non mycorhizées en P30. Nous voulions aussi évaluer l'efficacité d'absorption de phosphore par la plante en proposant de calculer le ratio P végétal total aérien/ BMR. En effet, ce ratio traduit la stratégie de la plante à absorber le phosphore, plus ce ratio est faible plus la plante mise sur ses propres racines pour absorber et non sur les mycorhizes. D'après nos résultats, le ratio P végétal total aérien/ BMR est plus important en P30 qu'en P0, cela peut être dû au fait qu'en P30 le phosphore est plus abondant dans le sol et que la teneur en P des plantes dépend moins de l'activité des mycorhizes. De plus, les plantes non mycorhizées présentent une faible efficacité d'absorption du phosphore. Nous pouvons expliquer ces résultats par le fait que l'absence de mycorhize a engendré une diminution de la quantité du phosphore absorbé par la plante.

### 3. Effet de la communauté des CMA sur le développement du pois chiche

Nous faisons l'hypothèse que la diversité mycorhizienne aura des effets plus importants sur le pois chiche que lorsque ce dernier est cultivé en présence d'une souche unique. Il est difficile de confirmer cette hypothèse puisque pour la majorité des variables mesurées, nos résultats ne sont pas significativement différents entre les traitements avec apport d'une souche unique (solo 1, solo 2, solo 3, solo 4) et le traitement commu. Nous pouvons expliquer ces résultats par le manque de robustesse de nos tests statistiques et une augmentation du nombre de répétitions semble utile. Néanmoins, d'après nos résultats nous observons que le traitement commu possède une BMA moindre que les autres traitements (solo 1, solo 2, solo 3, solo 4), cela nous amène à penser à une compétition entre les souches qui forment la communauté. De plus, nous remarquons que le traitement commu présente une faible efficacité d'absorption de phosphore (la valeur du rapport P végétal total aérien/ BMR n'est pas significativement différente du P végétal total aérien/ BMR des traitements souche unique mais reste faible). Une hypothèse qui peut expliquer ces résultats est une compétition interspécifique entre les souches qui forment la communauté (cas du traitement commu). [Maherali and Klironomos, 2012] ont montré qu'un mélange de souches de CMA phylogénétiquement proches dans sa composition était à même d'entrer en compétition pour la ressource en C. En effet, les quatre souches qui forment notre mélange appartiennent au même genre (*Rhizophagus*) donc la probabilité que ces espèces soient entrées en compétition est non négligeable. D'après ces observations, nous pouvons confirmer que le mécanisme qui contrôle notre communauté est la compétition entre les souches.

Aussi, l'objectif était de comprendre le mécanisme derrière l'effet bénéfique de la diversité mycorhizienne. Nous avons pensé à une complémentarité fonctionnelle entre les souches ou un effet de sélection. D'après nos résultats aucun de ces deux mécanismes ne permettent d'expliquer l'effet de la communauté, puisque nous n'avons pas vu un effet plus important de la communauté sur la performance de la plante. Comme nous l'avons énoncé précédemment, une compétition peut avoir lieu entre les souches. Par contre, dans la littérature ils ont montré que la compétition peut être bénéfique. Une étude faite par [Thonar et al., 2014] ont trouvé qu'une plante inoculée par plusieurs CMA présente une biomasse plus importante que lorsqu'elle est inoculée avec les souches uniques (la biomasse total sèche est de l'ordre de 0.4g pour les plantes inoculées avec une communauté par contre elle est de l'ordre de 0.3g pour les plantes non inoculées). Ce bénéfice peut être expliqué par une diversité fonctionnelle au sein de la communauté qui pourrait améliorer la performance de la symbiose. De plus, en 2005 [Jansa et al., 2005] ont montré que la

proximité phylogénétique au sein d'une communauté ne présente pas un obstacle à une diversité fonctionnelle dans la prise et le transfert du P. Dans leur expérimentation, ils ont observé une variabilité de stratégies d'acquisition du phosphore entre les espèces, par exemple *Glomus intraradicesa* absorbe le phosphore à 10 cm des racines alors que *Glomus claroideum* a absorbé le phosphore à 6 cm. Cette variabilité de stratégies est traduite par un gain supérieur pour l'acquisition du phosphore par la plante.

Aussi, nous voulions savoir si l'apport du 30 mg du P/kg du sol engendre une diminution du taux de colonisation. D'après les tests statistiques que nous avons faits, le traitement phosphore n'a pas un effet significatif sur la plupart des indices du taux de colonisation (intensité globale de mycorhization dans le système racinaire et intensité arbusculaire dans le système racinaire). Néanmoins, en 2000, [Mäder et al., 2000] ont fait une étude qui a montré que l'utilisation de fertilisants phosphatés induit une diminution de la colonisation des racines par les CMA. Une autre étude a été faite par [Dai et al., 2014] a montré aussi une relation négative entre la disponibilité du phosphore dans le sol et le taux de mycorhization. Une étude faite par [Weber et al., 1992] a montré que l'effet de l'infection mycorhizienne sur la croissance du pois chiche est bloqué en présence de 25 mg du P/kg. Admettant que la colonisation des racines par les CMA dépend de l'allocation du C par la plante et en absence du rhizobium, la majorité du C sera alloué aux mycorhizes et de ce fait nous pouvons expliquer l'absence d'effet significatif de l'apport du phosphore.

D'après nos tests statistiques, nous n'avons pas observé une différence significative entre le taux de colonisation de différents traitements. Pourtant, les résultats de l'expérience de l'année dernière ont montré un taux de colonisation plus faible dans le cas de la communauté. De plus, en 2014 [Thonar et al., 2014] ont trouvé un taux de colonisation faible pour la communauté et ont proposé l'idée d'une allocation préférentielle des ressources à l'espèce la plus adaptée pour la plante. Il est possible que le cultivar de pois chiche régule l'allocation du C de manière différente entre les souches afin d'arriver à un ratio coût bénéfice le plus optimal possible pour expliquer ce taux faible. Selon [Maherali and Klironomos, 2012] une compétition interspécifique peut aussi expliquer le faible taux de la colonisation. Dans notre cas, nous nous attendions en répétant l'expérience et en augmentant le nombre de répétitions à avoir un taux de colonisation faible dans le cas de la communauté.

En se basant sur le fait que les arbuscules sont le lieu d'échange entre les plantes et les mycorhizes, nous avons proposé de calculer le ratio BMRA qui est le ratio entre l'intensité arbusculaire dans le système racinaire et le BMR qui traduit la stratégie de prélèvement entre le système racinaire de la plante du pois chiche et les mycorhizes. Plus ce ratio est élevé, plus la plante dépend des mycorhizes pour le prélèvement des nutriments. D'après nos résultats, le BMRA est plus élevé en P0 qu'en P30, cela suggère qu'en situation de

phosphore limitant la plante compte beaucoup sur les mycorhizes pour le prélèvement des nutriments en produisant plus d'arbuscules. Aussi, nos tests statistiques montrent qu'il n'existe pas de différences significatives entre les BMRA des traitements solo 1, solo 2, solo 3, solo 4 et traitement commu.

#### **4. Une relation préférentielle entre *Rhizophagus aggregatus* et le cultivar FLIP 84 92C**

Dans notre étude, bien que statistiquement nous n'ayons pas détecté de différences significatives entre les traitements solo (solo 1, solo 2, solo 3, solo 4) , nous pouvons observer que l'inoculation des plantes de pois chiche avec *Rhizophagus aggregatus* (traitement solo 4) est plus avantageuse pour la BMA, BMR, le P végétal total aérien (en P30) , le taux de mycorhization (intensité globale de mycorhization, l'intensité des vésicules (en P30)). Cela suggère qu'une relation préférentielle existe entre le cultivar de pois chiche FLIP 84 92C et la souche de *R. aggregatus* utilisée. D'après [Pivato et al., 2007], une association préférentielle peut exister entre l'espèce végétale et les CMA. En effet, il a été montré par séquençage d'ADN qu'il existait une différence d'abondance relative de CMA présents dans les racines et le sol, ce qui peut être expliqué par le fait que la plante exerce une pression de sélection induisant un changement de la composition de communauté dans ses racines. Une hypothèse qui peut expliquer l'efficacité de *R. aggregatus* est que cette dernière a une forte capacité de production de spores et possède en conséquence un fort potentiel de colonisation des racines par rapport aux autres souches utilisées dans notre expérience [Nacoan et al., 2021]. De même, une étude faite par [Hart and Reader, 2002] a montré que *R. aggregatus* colonise les racines très rapidement une semaine après leur inoculation.

#### **5. Discussion de la méthode**

Notre expérience s'est déroulée en serre dans des conditions différentes de la réalité, les CMA qui ont mycorhizé les racines sont sûrement différents de ceux qui se trouvent au champ, notamment du fait de la stérilisation préalable du sol. Néanmoins, nous avons choisi de travailler sous condition contrôlées vue la difficulté de tester une seule souche sur le terrain et avoir un témoin strict sans mycorhize.

La culture en pots contraint les racines en termes de volume disponible pour l'exploitation racinaire, et nous ne pouvons donc pas considérer que notre expérience reflète une image fidèle de la réalité.

L'utilisation d'inoculum de mycorhize est capable de refléter le système de culture notam-

ment en termes de fertilité phosphatée des sols, mais leur rôle est intimement lié à l'activité des autres organismes biologiques du sol. D'après notre expérimentation nous avons vu que l'absence de fixation symbiotique d'azote a un fort impact sur le fonctionnement des mycorhizes.

## 6. Perspectives

Une expérience au champ serait utile pour vérifier si les résultats seraient similaires à ceux obtenus dans notre expérimentation. Aussi, pour consolider les résultats, il faudrait répéter l'expérimentation avec plus de répétition notamment avec la souche de *R. aggregatus* afin d'avoir des différences significatives entre les traitements. Il serait pertinent de prolonger la période de croissance du pois chiche afin de pouvoir suivre le nombre de nodosités sur les racines en parallèle avec le taux de mycorhization. Aussi, il apparaît que le taux de mycorhization est simple à mesurer mais long, la récolte et la coloration des racines sont faciles à mettre en œuvre. L'interprétation de cet indicateur a un intérêt important, mais reste limité et une étude de la diversité des CMA basée sur la biologie moléculaire est nécessaire. En effet, le séquençage d'ADN des CMA présents dans les racines semble être utile pour mettre en évidence les communautés fongiques qui se sont développées notamment en condition de mélange. Aussi, une quantification de l'allocation du carbone par la plante aux mycorhizes est importante pour vérifier les hypothèses que nous avons mises (l'allocation préférentielle du carbone par la plante pour les mycorhizes).

# Chapitre 7

## Conclusion

En travaillant selon deux niveaux de disponibilité de phosphore et six niveaux d'inoculation, nous avons pu mettre en évidence un effet significatif de la mycorhization sur la croissance du pois chiche et sa nutrition surtout en condition de faible disponibilité de phosphore. Notre résultat semble indiquer qu'un mécanisme est entré en jeu dans la communauté. Il semble probable que les souches qui forment la communauté soient entrées en compétition. Aussi, nous avons remarqué que les plantes inoculées avec *Rhizophagus aggregatus* présentent de meilleures performances comparées aux plantes inoculées avec les autres souches uniques ou avec la communauté.

Pour finir, je voulais insister sur le fait que les mycorhizes sont un levier très important pour le recyclage des nutriments mais leur rôle est lié à l'activité des autres micro-organismes et aussi des pratiques agricoles appliquées. De ce fait, pour favoriser le développement des champignons mycorhiziens, il semble utile de changer les pratiques culturales (fertilisation, traitements phytosanitaires).

# Bibliographie

- [Bulgarelli et al., 2017] Bulgarelli, R. G., Marcos, F. C. C., Ribeiro, R. V., and de Andrade, S. A. L. (2017). Mycorrhizae enhance nitrogen fixation and photosynthesis in phosphorus-starved soybean (*glycine max l. merrill*). *Environmental and experimental botany*, 140 :26–33.
- [Casarin et al., 2003] Casarin, V., Plassard, C., Souche, G., and Arvieu, J.-C. (2003). Quantification of oxalate ions and protons released by ectomycorrhizal fungi in rhizosphere soil. *Agronomie*, 23(5-6) :461–469.
- [Cuénod, 1954] Cuénod, A. (1954). *Flore analytique et synoptique de la Tunisie*, volume 1. Impr. SEFAN.
- [Dai et al., 2014] Dai, M., Hamel, C., Bainard, L. D., Arnaud, M. S., Grant, C. A., Lupwayi, N. Z., Malhi, S. S., and Lemke, R. (2014). Negative and positive contributions of arbuscular mycorrhizal fungal taxa to wheat production and nutrient uptake efficiency in organic and conventional systems in the canadian prairie. *Soil Biology and Biochemistry*, 74 :156–166.
- [El Hazzat et al., 2018] El Hazzat, N., Artib, M., Touati, J., Chliyeh, M., Selmaoui, K., Ouazzani Touhami, A., Benkirane, R., and Douira, A. (2018). Diversity of endomycorrhizal fungi in the rhizosphere of chickpea in morocco. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 53(2) :181–193.
- [Ellouze et al., 2013] Ellouze, W., Hamel, C., Vujanovic, V., Gan, Y., Bouzid, S., and St-Arnaud, M. (2013). Chickpea genotypes shape the soil microbiome and affect the establishment of the subsequent durum wheat crop in the semiarid north american great plains. *Soil Biology and Biochemistry*, 63 :129–141.
- [Ernest, 2019] Ernest, R. A. T. (2019). *Rôle des symbioses mycorhizienne et bactérienne : biodisponibilité du phosphore et développement des plants de haricot sur des sols ferrallitiques de Madagascar*. PhD thesis, UNIVERSITE D’ANTANANARIVO.
- [FAO, 2016] FAO (2016).

- [Farzaneh et al., 2011] Farzaneh, M., Vierheilig, H., Lössl, A., and Kaul, H. (2011). Arbuscular mycorrhiza enhances nutrient uptake in chickpea. *Plant, Soil and Environment*, 57(10) :465–470.
- [Föhse et al., 1988] Föhse, D., Claassen, N., and Jungk, A. (1988). Phosphorus efficiency of plants. *Plant and soil*, 110(1) :101–109.
- [François et al., 1989] François, J., Rivas, A., and Compère, R. (1989). Le pâturage semi-aquatique à *Echinochloa stagnina* (retz.) Beauv. étude approfondie de la plante" bourgou" et des bourgoutières situées en zone lacustre du Mali. *Bulletin des recherches agronomiques de Gembloux*, 24(2) :145–189.
- [Garbaye, 2013] Garbaye, J. (2013). *La symbiose mycorhizienne : une association entre les plantes et les champignons*. Editions Quae.
- [GAVÉRIAUX, ] GAVÉRIAUX, J.-P. Les glomeromycota.
- [Guisso, 2009] Guisso, T. (2009). Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to growth and nutrient uptake by jujube and tamarind seedlings in a phosphate (p)-deficient soil. *African Journal of Microbiology Research*, 3(5) :297–304.
- [Habish, 1970] Habish, H. (1970). Effect of certain soil conditions on nodulation of acacia spp. *Plant and soil*, 33(1) :1–6.
- [Hart and Reader, 2002] Hart, M. M. and Reader, R. J. (2002). Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 153(2) :335–344.
- [Hetrick, 1991] Hetrick, B. (1991). Mycorrhizas and root architecture. *Experientia*, 47(4) :355–362.
- [Jansa et al., 2005] Jansa, J., Mozafar, A., and Frossard, E. (2005). Phosphorus acquisition strategies within arbuscular mycorrhizal fungal community of a single field site. *Plant and Soil*, 276(1) :163–176.
- [Jensen and Jakobsen, 1980] Jensen, A. and Jakobsen, I. (1980). The occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhiza in barley and wheat grown in some Danish soils with different fertilizer treatments. *Plant and Soil*, 55(3) :403–414.
- [Lavrenko et al., 2019] Lavrenko, S., Lavrenko, N., Kazanok, O., Karashchuk, G., Kozychar, M., Podakov, Y., and Sakun, A. (2019). Chickpea yields and water use efficiency depending on cultivation technology elements and irrigation.
- [LAZALI, 2014] LAZALI, M. (2014). *Etude des mécanismes agrophysiologiques et moléculaires d'adaptation à la déficience en phosphore chez la symbiose rhizobienne du haricot (*Phaseolus vulgaris* L.)*. PhD thesis.

- [Mäder et al., 2000] Mäder, P., Edenhofer, S., Boller, T., Wiemken, A., and Niggli, U. (2000). Arbuscular mycorrhizae in a long-term field trial comparing low-input (organic, biological) and high-input (conventional) farming systems in a crop rotation. *Biology and fertility of Soils*, 31(2) :150–156.
- [Maherali and Klironomos, 2007] Maherali, H. and Klironomos, J. N. (2007). Influence of phylogeny on fungal community assembly and ecosystem functioning. *science*, 316(5832) :1746–1748.
- [Maherali and Klironomos, 2012] Maherali, H. and Klironomos, J. N. (2012). Phylogenetic and trait-based assembly of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *PLoS One*, 7(5) :e36695.
- [Mkaouar and Kechaou, 2013] Mkaouar, S. and Kechaou, N. (2013). Valorisation des écarts de triage de dattes par séchage pour l’obtention d’une poudre pour alimentation animale. *Déchets sciences et techniques*, 63 :26–30.
- [Nacoon et al., 2021] Nacoon, S., Ekprasert, J., Riddech, N., Mongkolthanasaruk, W., Jorgloy, S., Vorasoot, N., Cooper, J., and Boonlue, S. (2021). Growth enhancement of sunchoke by arbuscular mycorrhizal fungi under drought condition. *Rhizosphere*, 17 :100308.
- [Nour et al., 1994] Nour, S. M., Fernandez, M. P., Normand, P., and Cleyet-Marel, J.-C. (1994). *Rhizobium ciceri* sp. nov., consisting of strains that nodulate chickpeas (*cicer arietinum* l.). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 44(3) :511–522.
- [Peyret-Guzzon, 2014] Peyret-Guzzon, M. (2014). *Etudes moléculaires de la diversité des communautés et populations de champignons mycorrhiziens à arbuscules (Glomeromycota)*. PhD thesis, Université de Bourgogne.
- [Pivato et al., 2007] Pivato, B., Mazurier, S., Lemanceau, P., Siblot, S., Berta, G., Mougel, C., and Van Tuinen, D. (2007). Medicago species affect the community composition of arbuscular mycorrhizal fungi associated with roots. *New Phytologist*, 176(1) :197–210.
- [Powell and Rillig, 2018] Powell, J. R. and Rillig, M. C. (2018). Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi and ecosystem function. *New Phytologist*, 220(4) :1059–1075.
- [Pozo et al., 2010] Pozo, M. J., Jung, S. C., López-Ráez, J. A., and Azcón-Aguilar, C. (2010). Impact of arbuscular mycorrhizal symbiosis on plant response to biotic stress : the role of plant defence mechanisms. In *Arbuscular mycorrhizas : physiology and function*, pages 193–207. Springer.
- [Püschel et al., 2017] Püschel, D., Janoušková, M., Voříšková, A., Gryndlerová, H., Vosátka, M., and Jansa, J. (2017). Arbuscular mycorrhiza stimulates biological nitro-

- gen fixation in two medicago spp. through improved phosphorus acquisition. *Frontiers in plant science*, 8 :390.
- [Richardson et al., 2009] Richardson, A. E., Barea, J.-M., McNeill, A. M., and Prigent-Combaret, C. (2009). Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and soil*, 321(1) :305–339.
- [Sawers et al., 2008] Sawers, R. J., Gutjahr, C., and Paszkowski, U. (2008). Cereal mycorrhiza : an ancient symbiosis in modern agriculture. *Trends in plant science*, 13(2) :93–97.
- [Schneider and Huyghe, 2015] Schneider, A. and Huyghe, C. (2015). *Les légumineuses pour des systèmes agricoles et alimentaires durables*. éditions Quae.
- [Scholte, 2007] Scholte, P. (2007). Maximum flood depth characterizes above-ground biomass in african seasonally shallowly flooded grasslands. *Journal of Tropical Ecology*, pages 63–72.
- [Selosse and Le Tacon, 1998] Selosse, M.-A. and Le Tacon, F. (1998). The land flora : a phototroph-fungus partnership? *Trends in Ecology & Evolution*, 13(1) :15–20.
- [Stockinger et al., 2010] Stockinger, H., Krüger, M., and Schüßler, A. (2010). Dna barcoding of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 187(2) :461–474.
- [Thonar et al., 2014] Thonar, C., Frossard, E., Šmilauer, P., and Jansa, J. (2014). Competition and facilitation in synthetic communities of arbuscular mycorrhizal fungi. *Molecular Ecology*, 23(3) :733–746.
- [Trouvelot et al., 1986] Trouvelot, A., Kough, J., and Gianinazzi-Pearson, V. (1986). Mesure du taux de mycorhization va d’un système racinaire. recherche de méthode d’estimation ayant une signification fonctionnelle. In *Physiological and genetical aspects of mycorrhizae : proceedings of the 1st european symposium on mycorrhizae, Dijon, 1-5 July 1985*, pages 217–221.
- [Vierheilig et al., 1998] Vierheilig, H., Coughlan, A. P., Wyss, U., and Piché, Y. (1998). Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied and environmental microbiology*, 64(12) :5004–5007.
- [Vos et al., 2013] Vos, C., Schouteden, N., van Tuinen, D., Chatagnier, O., Elsen, A., De Waele, D., Panis, B., and Gianinazzi-Pearson, V. (2013). Mycorrhiza-induced resistance against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* involves priming of defense gene responses in tomato. *Soil Biology and Biochemistry*, 60 :45–54.
- [Wagg et al., 2017] Wagg, C., Ebeling, A., Roscher, C., Ravenek, J., Bachmann, D., Eisenhauer, N., Mommer, L., Buchmann, N., Hillebrand, H., Schmid, B., et al. (2017). Functional trait dissimilarity drives both species complementarity and competitive disparity. *Functional Ecology*, 31(12) :2320–2329.

- [Weber et al., 1992] Weber, E., George, E., Beck, D. P., Saxena, M. C., and Marschner, H. (1992). Vesicular-arbuscular mycorrhiza and phosphorus uptake of chickpea grown in northern syria. *Experimental Agriculture*, 28(4) :433–442.
- [Worrall and Roughley, 1976] Worrall, V. and Roughley, R. (1976). The effect of moisture stress on infection of trifolium subterraneum l. by rhizobium trifolii dang. *Journal of Experimental Botany*, 27(6) :1233–1241.

# Chapitre 8

## Annexe

TABLE 8.1 – Les résultats des différents tests statistiques pour le N végétal total aérien (ANOVA, test post Hoc de Tukey).-,NS : non significatif

Test	Variables	P value			
ANOVA	P	1.237e-13			***
	mycorhize	0.007522			**
	P :mycorhize	NS			
Tukey HSD	P	Modalités	Moyenne (en g/pot)		
		P0		0.0783	A
		P30		0.1532	B
	mycorhize	0		0.0841	a
		solo 1		0.1211	ab
		solo 2		0.1158	ab
		solo 3		0.1163	ab
		solo 4		0.1386	b
		commu		0.1187	ab
		P :mycorhize	P0	0	0.0492
	solo 1			0.0790	-
	solo 2			0.0765	-
	solo 3			0.0791	-
	solo 4			0.0962	-
	commu			0.0898	-
	P30		0	0.1190	-
			solo 1	0.1633	-
			solo 2	0.1551	-
solo 3			0.1535	-	
solo 4			0.1810	-	
commu	0.1476	-			

PRODUCTION MONDIALE DES PRINCIPALES FAMILLES DE LÉGUMINEUSES						
2013 (Milliers de tonnes)						
	POIS	LENTILLE	POIS CHICHE	HARICOT	FÈVE	TOTAL
Europe	5 323	45	156	503	589	6 616
Afrique	390	103	391	3 470	1 137	5 491
Asie	2 050	2 076	7 889	8 762	1 892	22 669
Les Amériques	4 669	1 079	371	6 870	168	13 157
Océania	340	135	309	46	218	1 048
<b>TOTAL</b>	<b>12 772</b>	<b>3 438</b>	<b>9 116</b>	<b>19 651</b>	<b>4 004</b>	<b>48 981</b>

FIGURE 8.1 – Production mondiale de différentes familles de légumineuses en 2013 [FAO, 2016]

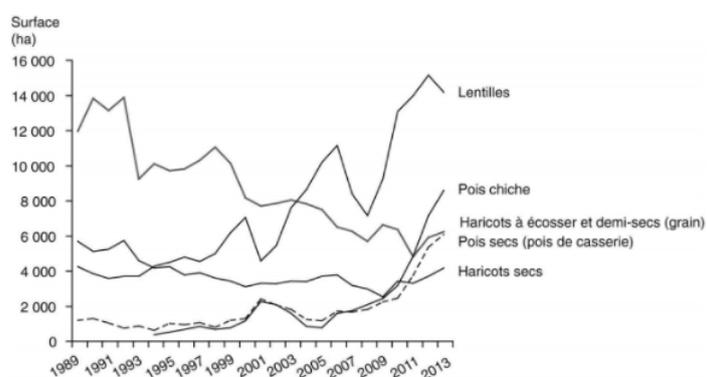


FIGURE 8.2 – Évolution des surfaces de légumes secs en France. Déclaration PAC pour le pois chiche. [Schneider and Huyghe, 2015]

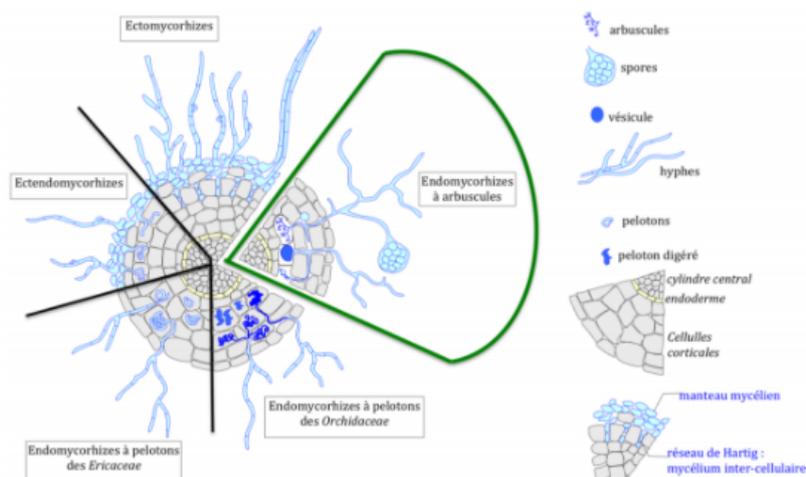


FIGURE 8.3 – Les principaux types de mycorhizes [Selosse and Le Tacon, 1998]

Number	Species	Form	Color	Spore's size	Wall size	Spore's surface	Hyphae length
1	<i>G. versiforme</i>	Brown yellow	Globular	70	2.5	Granular	–
2	<i>G. intraradices</i>	Yellow	Globular	77.5	2.5	Granular	
3	<i>G. aggregatum</i>	Orange	Globular	70	2.5	Smooth	
4	<i>P. scintillans</i>	Dark brown yellow	Globular	65	2.5	Granular	
5	<i>Entrophospora</i> sp.	Brown	Globular	70	2.5	Granular	
6	<i>A. nigra</i>	Globular	Black	100	2.5	Smooth	
7	<i>Gigaspora</i> sp.	Yellow	Globular	70	2.5	Smooth	
8	<i>D. biornata</i>	Dark brown	Globular	75	2.5		
9	<i>G. clarum</i>	Light yellow brown	Globular	75	2.5	Granular	
10	<i>G. badium</i>	Brown	Globular	70	2.5	Smooth	
11	<i>Acaulospora</i> sp.	Yellow	Globular	125	2.5	Smooth	
12	<i>A. laevis</i>	Light yellow	Globular	77.5	2.5	Granular	
13	<i>G. fecundisporum</i>	Orange	Globular	72.5	2.5	Granular	
14	<i>G. margarita</i>	Yellow brown	Globular	70	2.5	Granular	
15	<i>R. fulva</i>	Light brown	Globular	75	2.5	Granular	
16	<i>A. gedanensis</i>	Light yellow	Globular	70	2.5	Granular	
17	<i>E. inferquens</i>	Brown yellow	Globular	75	2.5	Granular	
18	<i>G. macrocarpum</i>	Light brown	Globular	62.5	2.5	Smooth	
19	<i>G. deserticola</i>	Dark brown	Globular	75	2.5	Smooth	
20	<i>G. etunicatum</i>	Yellow brown	Globular	37.5	2.5	Granular	
21	<i>Glomus</i> sp.	Yellow	Globular	75	2.5	Smooth	
22	<i>G. microcarpum</i>	Globular	Yellow brown	75	2.5	Granular	

FIGURE 8.4 – Quelques espèces de champignons endomycorhiziens isolées de rhizosphères de pois chiche [El Hazzat et al., 2018]

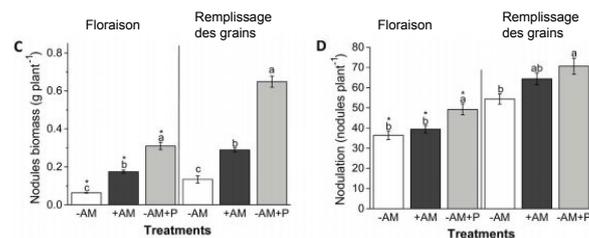


FIGURE 8.5 – (C) Biomasse des nodules et (D) La nodulation pour des plants de soja mycorhizés (+AM) et non mycorhizés (-AM) dans des conditions de faible teneur en P et dans des plants non mycorhizés avec un apport suffisant en P (-AM + P) aux stades de la floraison et de remplissage des grains [Bulgarelli et al., 2017]

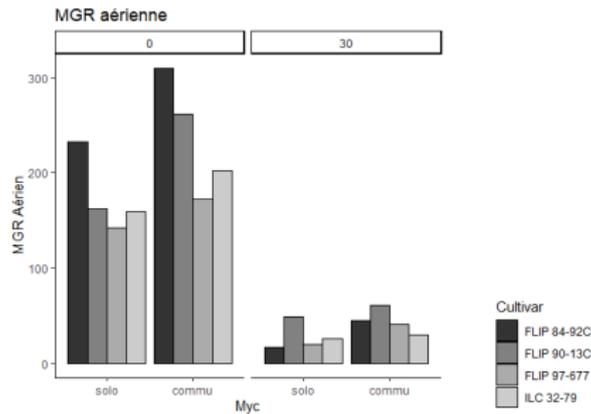


FIGURE 8.6 – Présentation de la réponse mycorhizienne (MGR) calculée sur la biomasse aérienne mesure des 4 cultivars de pois chiche (Résultats 2020, données non publiées) en présence de 0 ou 30 mg de P par kg de sol [Paul COLLART , 2020]

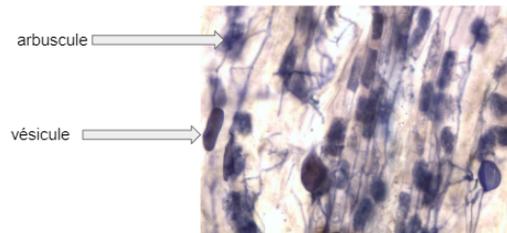


FIGURE 8.7 – Arbuscules et vésicules de CMA (microscope optique\*100)

TABLE 8.2 – Récapitulatif des variables mesurées et des méthodes d’analyse utilisées

Variables mesurées	Méthodes d’analyse
Biomasse aérienne sèche totale (BMA)	Modèle linéaire ANOVA
Biomasse racinaire sèche totale (BMR)	Modèle linéaire mixte ANOVA
R-A/R	Modèle linéaire ANOVA
P total aérien	Modèle linéaire ANOVA
N totale aérien	Modèle linéaire ANOVA
P total aérien/BMR	Modèle linéaire ANOVA
Réponse mycorhizienne MGR	Modèle linéaire ANOVA
Intensité globale de mycorhization dans le système racinaire (M)	Modèle linéaire ANOVA
Intensité arbusculaire globale dans le système racinaire (A)	Modèle linéaire ANOVA
Intensité des vésicules (V)	Modèle linéaire ANOVA
Ratio intensité arbusculaire sur la biomasse racinaire sec totale (BMRA)	Modèle linéaire ANOVA

FIGURE 8.8 – Fiche de calcul des indices de caractérisation des endomycorhizes

1/ FREQUENCE DE LA MYCORHIZATION :  

$$F\% = (\text{nb de fragments myco}/\text{nb total}) * 100$$

2/ INTENSITE GLOBALE DE MYCORHIZATION :  

$$M\% = (95n5 + 70n4 + 30n3 + 5n2 + n1) / (\text{nb total})$$
  
 Où n5 = nb de fragments notés 5  
 n4 = nb de fragments notés 4  
 etc ...

3/ INTENSITE DE MYCORHIZATION DES FRAGMENTS MYCORHIZES :  

$$m\% = M * (\text{nb total}) / (\text{nb myco}) = M * 100 / F$$

4/ INTENSITE ARBUSCULAIRE DE LA PARTIE MYCORHIZEE :  

$$a\% = (100mA3 + 50mA2 + 10mA1) / 100$$
  
 Où mA3, mA2, mA1 sont les % de m respectivement affectés des notes A3, A2, A1, avec  

$$mA3 = ((95n5A3 + 70n4A3 + 30n3A3 + 5n2A3 + n1A3) / \text{nb myco}) * 100 / m$$
  
 de même pour A2 et A1

5/ INTENSITE ARBUSCULAIRE DANS LE SYSTEME RADICULAIRE :  

$$A\% = a * (M / 100)$$

UMR INRA/CNRS/Université de Bourgogne PME, INRA-DIJON

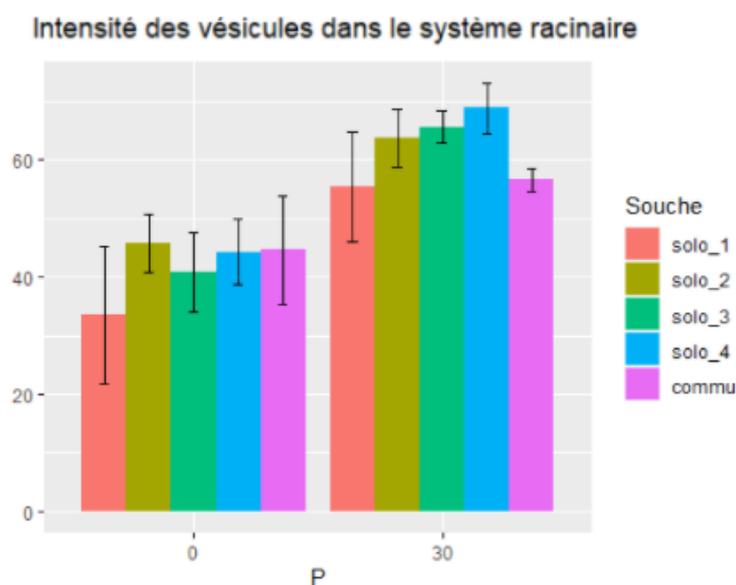


FIGURE 8.9 – Moyennes (et écart-types, n=6) de l'intensité des vésicules dans le système racinaire (%) en réponse au traitement mycorhize et du traitement P

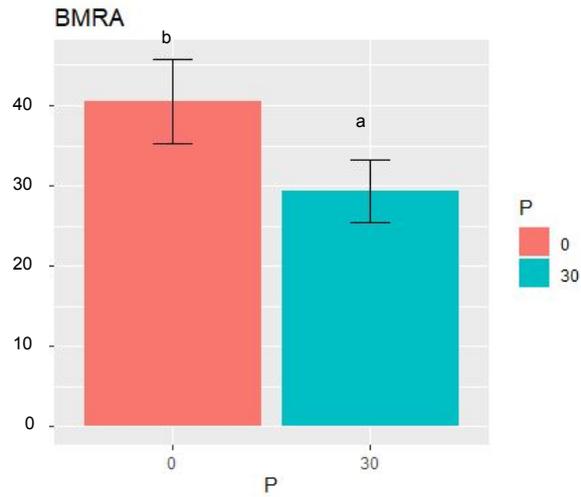


FIGURE 8.10 – Moyennes (et écart-types, n= 6) de BMRA (%) en fonction du traitement phosphore. Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA,  $p < 0,05$ , suivie du test post-hoc de Tukey)

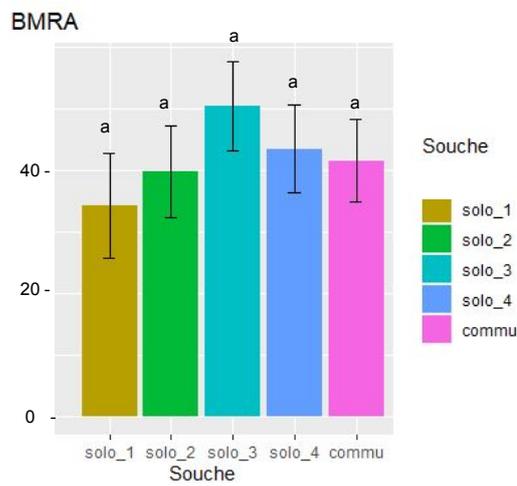


FIGURE 8.11 – Moyennes (et écart-types, n= 6) BMRA (%) en réponse au traitement mycorhize(données P0 et P30 regroupées). Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA , $p < 0,05$ , suivie du test post-hoc de Tukey)



FIGURE 8.12 – Moyennes (et écart-types,  $n= 6$ ) des BMA (g de matière sèche/pot) en fonction du traitement en phosphore : P0 (absence de P) et P30 (30 mg P/kg). Les lettres différentes indiquent une différence significative (ANOVA,  $p < 0.05$ , suivie du test post-hoc de Tukey)

## Résumé

Dans un contexte de transition agro écologique, la gestion de la fertilité du sol et la sécurité alimentaire sont des questions centrales. La valorisation de la culture des légumineuses est actuellement une alternative pour restaurer la fertilité des sols. Les légumineuses ont la capacité d'être co-inoculées par les champignons mycorhiziens arbusculaires et les rhizobia, ce qui induit des bénéfices importants pour la plante.

Le pois chiche *Cicer arietinum* L. est parmi les légumineuses qui bénéficient de la symbiose rhizobienne qui lui permet de fixer l'azote atmosphérique. Cette fixation est un mécanisme très demandant en phosphore. Pour cela, la plante développe des stratégies pour améliorer l'acquisition du phosphore comme la symbiose mycorhizienne. Ainsi une attention particulière a été portée sur l'évaluation de l'effet de la diversité des champignons endomycorhiziens sur la croissance du pois chiche et sur l'amélioration de l'absorption du phosphore. Pour cela une expérimentation en serre a été réalisée pour évaluer l'effet de la diversité de CMA sur la croissance du pois chiche avec en particulier l'acquisition du phosphore et de l'azote. Cette évaluation se fait en comparant les effets obtenus sur le pois chiche inoculé par une communauté avec ceux obtenus avec le pois chiche inoculé par chacune des souches composant la communauté. De plus, nous cherchons à comprendre le mécanisme qui contrôle la relation pois chiche-CMA pour deux situations contrastées de disponibilité de phosphore.

Les résultats obtenus ont montré que la mycorhization a un effet bénéfique sur la croissance de pois chiche et sur l'acquisition du phosphore et de l'azote en absence de fixation symbiotique d'azote. Les performances des plantes inoculées avec la communauté de *Rhizophagus* sont moindres par rapport aux autres traitements avec inoculation, cela nous amène à penser qu'une compétition a eu lieu entre les souches de la communauté. Aussi nous avons remarqué une relation préférentielle entre le cultivar FLIP 84 92C, *Rhizophagus aggregatus* et le sol de Cazevieille.

**Les mots clés :** *Cicer arietinum* L., champignons mycorhiziens, phosphore, diversité, relation préférentielle, *Rhizophagus*