

Structure comparée d'Ectomycorhizes de *Afzelia africana* Sm. et de *Scleroderma* sp.

Bibata Kadidia SANON¹, Jean DEXHEIMER², Amadou Moustapha BÂ³,
Mahamadi DIANDA¹ et Joëlle GÉRARD²

Résumé

Des ectomycorhizes de synthèse de *Afzelia africana* Sm./*Scleroderma dictyosporum* Pat., IR250 et *A. africana*/Scleroderma sp1 IR406 ont été obtenues en conditions semi-axéniques et décrites aux microscopes photonique et électronique. Les deux types de mycorhizes présentent des morphologies similaires et des structures caractéristiques des mycorhizes d'Angiospermes.

Les mycorhizes obtenues avec IR250 ont un manteau prosenchymateux avec une épaisseur de 13,6 μm tandis que celles obtenues avec IR406 présentent un manteau plus épais (30 μm) à deux couches, une couche externe prosenchymateuse et une couche interne pseudo-parenchymateuse.

L'observation au microscope électronique montre que toutes les mycorhizes présentent un important dépôt de tanin dans le manteau, au voisinage du réseau de Hartig. Les cellules des deux partenaires symbiotiques sont vivantes et riches en organites cellulaires pour la plupart. Le réseau de Hartig est constitué d'hyphes labyrinthiques caractéristiques de mycorhizes fonctionnelles. Il est toujours limité à la première couche de cellules corticales. Par endroit, les cellules corticales de l'hôte sont dégénérantes à cause, très probablement, de la zone de coupe.

Ces caractéristiques anatomiques et morphologiques sont suffisantes pour différencier ces deux types de mycorhizes induits par deux espèces de sclérodermes.

Mots-clés : *Afzelia africana*, *Scleroderma* sp., ectomycorhizes, synthèse, structure.

Comparative structure of *Afzelia africana* Sm. and *Scleroderma* Sp. Ectomycorrhizas

Abstract

Ectomycorrhizas of *Afzelia africana* Sm./*Scleroderma dictyosporum* Pat., IR250 and *A. africana* /*Scleroderma* sp1 IR406 have been synthesized in semi-axenic conditions and described under light and electron microscopes. Both kind of mycorrhizas showed similar morphologies and feature structures of Angiosperms mycorrhizas.

¹ Laboratoire de Microbiologie, INERA/DPF. BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso, tél. : (226) 33 56 84, télécopie : (226) 31 49 38, e-mail : kady_sanon@hotmail.com, E-mail : dmahamadi@yahoo.fr

² Laboratoire de Biologie Forestière Associé INRA, Faculté des Sciences, Université Henri Poincaré Nancy I. BP 239, F-54506 Vandoeuvre-les-Nancy, France, tél. : 33 3 83 91 22 25, télécopie : 33 3 83 91 25 64

³ Université des Antilles et de la Guyane, UFR Sciences. BP 592. 97159 Pointe à Pitre. Guadeloupe, France, té. : 590 93 86 86, télécopie : 590 93 86 81, e-mail : amadou.ba@univ-ag.fr

Scleroderma dictyosporum, IR250 mycorrhizas presented a prosenchyma mantle of 13.6 μm thick whereas *Scleroderma* sp1, IR406 mycorrhizas had thicker mantle (30 μm) composed of two layers, a prosenchyma outer mantle and a pseudo-parenchyma inner mantle.

Under electron microscope, all mycorrhizas showed an important tannin layer in the mantle, near the Hartig net. The cells of the two symbiotic partners were alive with many cellular organelles. The Hartig net penetration was always limited to the cortical cells and presented labyrinthic hyphae, characteristics of functional mycorrhizas. Host cortical cells appeared sometime dead, probably due to the section zone.

These morphological and anatomical features are sufficient to differentiate these two *Scleroderma* species mycorrhizas.

Keywords: *Afzelia africana*, *Scleroderma*, ectomycorrhizas, synthesis, structure.

Introduction

La plupart des arbres forestiers puisent l'eau et les éléments minéraux du sol par l'intermédiaire de champignons telluriques associés à leur système racinaire. Cette association de type symbiotique, appelée symbiose mycorhizienne contribue à la nutrition minérale et hydrique et à la protection phytosanitaire des racines de l'hôte (MARX, 1969 ; PERIN, 1991 ; SMITH et READ, 1997). Il existe deux principaux types d'association mycorhizienne en fonction de leurs caractéristiques morphologiques et des groupes de champignons associés : les endomycorhizes et les ectomycorhizes.

En zone tropicale, les forêts abondent d'espèces endomycorhiziennes (REDHEAD, 1968 ; THAPAR et KHAN, 1973 ; HÖGBERG et NYLUND, 1981 ; NEWBERRY *et al.*, 1988 ; KHASA *et al.*, 1990). Cependant, quelques essences locales de grand intérêt économique (bois d'œuvre et de service) sont ectomycorhiziennes comme les Dipterocarpaceae en Asie du Sud-Est et les espèces du genre *Afzelia* en Afrique (JENIK et MENSAH, 1967 ; SMITH, 1983 cité par LEI, 1988 ; ALEXANDER, 1985 ; THOEN et BÂ, 1990).

Les ectomycorhizes sont ainsi utilisées, surtout dans les programmes de reboisement, dans différents pays, pour améliorer la croissance des plants en pépinière et en plantation grâce à la sélection de partenaires fongiques efficaces. Ces programmes dits de « mycorhization contrôlée » font désormais l'objet d'une exploitation commerciale (MARX *et al.*, 1982 ; Le TACON *et al.*, 1997 ; GÉNÉRÉ *et al.*, 1997).

En Afrique de l'Ouest, différents travaux (THOEN et BÂ, 1989 ; THOEN et DUCOUSSO, 1989 ; SANON *et al.*, 1997) ont recensé le cortège fongique associé à *Afzelia africana* Sm.. Cette espèce est une légumineuse tropicale à usages multiples, très exploitée dans la moitié sud du Burkina Faso comme fourrage, aliment et bois d'œuvre. Parmi les champignons recensés, figurent des espèces du genre *Scleroderma*, connues pour être des champignons précoces capables de mycorhizer les jeunes plants (BÂ, 1990 ; BÂ et THOEN, 1990 ; SANON *et al.*, 1997). Ils sont par conséquent des candidats potentiels pour la mycorhization contrôlée.

Au Burkina Faso, au moins quatre espèces de *Scleroderma* (*S. dictyosporum* Pat., *S. verrucosum* Pers., *Scleroderma* sp1 et *Scleroderma* sp2) ont été recensées et isolées à partir de carpophores récoltés sous des pieds adultes de *A. africana* ou sous d'autres essences à ectomycorhizes. Le statut mycorhizien des isolats en culture a été vérifié vis-à-vis de *A. africana* et d'autres espèces *in vitro* (SANON *et al.*, 1997). De plus, des essais de mycorhization contrôlée en pépinière avec

des souches de *Scleroderma dictyosporum* et *Scleroderma* sp1 ont montré une différence d'efficacité dans l'amélioration de la croissance de *A. africana* (BÂ *et al.*, 1999). Cependant, toutes les mycorhizes formées étaient morphologiquement semblables. Dans ces conditions, pour reconnaître les champignons impliqués et/ou évaluer la persistance et la compétitivité des souches introduites en pépinière et au champ, différentes méthodes sont utilisées permettant de les identifier à partir de leurs différentes formes biologiques (mycorhizes, carpophores). Parmi ces méthodes, la caractérisation anatomo-morphologique des mycorhizes formées a longtemps été utilisée (DOMINIK, 1969 ; ZAK, 1969, 1971 ; AGERER, 1987) et plus récemment des outils de biologie moléculaire tel que l'amplification génique *in vitro* suivie de l'analyse du polymorphisme des fragments de restriction (Polymerase Chain Reaction/Restriction Fragments Length Polymorphism, PCR/RFLP) des régions spécifiques de l'ADN du champignon a permis une identification du champignon impliqué au niveau inter et intra-spécifique (GARDES *et al.*, 1991 ; DI BATTISTA *et al.*, 1996 ; GRYTA *et al.*, 1997 ; SELOSSE *et al.*, 1998).

Cette étude a utilisé des critères morphologiques et anatomiques pour caractériser des ectomycorhizes de *A. africana* / *Scleroderma dictyosporum* isolat IR250 et *A. africana* / *Scleroderma* sp1 isolat IR406 (une espèce taxonomiquement voisine de *Scleroderma verrucosum*) (SANON, 1999).

Matériel et méthodes

Obtention des mycorhizes de synthèse

Les mycorhizes de synthèse ont été obtenues avec deux souches appartenant aux espèces *Scleroderma dictyosporum* (IR250) et *Scleroderma* sp1 (IR406).

La synthèse a été réalisée en conditions semi-axéniques dans des mini-rhizotrons (BÂ, 1990) qui sont des parallélépipèdes transparents en polystyrène (20 x 8 x 2,5 cm) ouvrables sur une face (RIEDACKER, 1974). En expérimentation, ils sont inclinés de 30 à 45 degrés par rapport à la verticale, du côté de la face ouvrable, permettant ainsi l'étude des systèmes racinaires.

Les graines de *A. africana* sont scarifiées et désinfectées à l'acide sulfurique 95 % pendant 2h puis rincées à l'eau distillée stérile. Elles sont ensuite mises à germer dans des bacs contenant de la vermiculite stérilisée (1h à 120 °C) arrosée d'eau distillée stérile et maintenues dans une chambre de culture (température 35 °C jour/27 °C nuit, photopériode 16h jour/8h nuit, humidité 60-70 %, intensité lumineuse 60W/m²). Les graines pré-germées sont repiquées dans les mini-rhizotrons remplis d'un mélange de tourbe/vermiculite stérile (1 : 4, v/v) et arrosées avec de l'eau distillée non stérile. Les plants sont élevés en chambre de culture comme précédemment.

Parallèlement, la préparation de l'inoculum et l'inoculation sont faites selon la méthode « paper sandwich » décrite par CHILVERS *et al.* (1986). Des implants de champignons sont repiqués sur du papier cartonné absorbant (papier bisulfite) placé sur milieu Melin Norkrans Modifié (MNM) (MARX, 1969) gélosé en boîte de Petri pendant 15 jours à 30 °C. Au bout de deux semaines, les papiers recouverts de mycélium sont appliqués sur le système racinaire des plants âgés de 10 à 15 jours ayant colonisé la face ouvrable du mini-rhizotron. Les observations sont effectuées sous la loupe binoculaire après 10 jours de contact entre le mycélium et les racines de *A. africana*. La couleur et l'aspect du manteau sont notés pour chaque type de mycorhizes. Puis les mycorhizes sont soigneusement prélevées, nettoyées et rincées à l'eau distillée et conservées à 4 °C dans le glutaraldéhyde 2,5 % tamponné au cacodylate de sodium (0,1M ; pH 7,2).

Description anatomo-morphologique et cytologique des mycorhizes

Les mycorhizes fixées sont traitées suivant le protocole décrit par LE DISQUET (1997) afin de permettre leur observation en microscopies photonique et électronique.

Fixation et postfixation

Les mycorhizes conservées sont placées dans une goutte de fixateur (glutaraldéhyde 2,5 % tamponné à pH 7,2 par du cacodylate de sodium 0,05M) et découpées en petits fragments (1 mm). Les échantillons sont ensuite transférés dans des tubes contenant du fixateur neuf, dégazés sous vide et fixés pendant toute une nuit à 4 °C. Ils sont ensuite rincés pendant 1h dans du tampon cacodylate 0,05M et post-fixés 1h dans le tétra-oxyde d'osmium à 2 % tamponné au cacodylate 0,05M.

Déshydratation et inclusion

A l'issue de la post-fixation, les échantillons sont rincés abondamment à l'eau distillée par passages successifs dans plusieurs bains, puis déshydratés par transferts successifs de 15 à 30 min dans des concentrations croissantes d'acétone (10 %, 20 %, 40 %, 60 % et 80 %), puis à 90 % et 2 x 100 % pendant 24 h chacun. Les échantillons déshydratés sont imprégnés dans une série de mélanges acétone-résine à concentration croissante de résine. L'acétone est progressivement remplacé par la résine Epon 812S (TAAB). Le temps d'imprégnation est de 24 h pour chaque bain. Un passage sous vide est également effectué pour chaque bain d'imprégnation. L'inclusion est réalisée dans la résine pure dans des moules (JBEM Services INC) et polymérisée à 70 °C pendant 48 h.

Réalisation des coupes

Les blocs obtenus après polymérisation de la résine sont taillés en pyramides sous la loupe à l'aide d'une lame de rasoir afin d'isoler l'objet à couper. Les coupes sont réalisées à l'aide d'un couteau de diamant (Diatome) sur un ultramicrotome (RMC modèle MT-7). Pour les observations au microscope photonique, nous avons effectué des coupes semi-minces de 0,45 à 0,55 μm . Ces coupes sont récupérées sur une lame de verre et collées par un léger chauffage (sur une plaque chauffante). Elles sont ensuite colorées au bleu de toluidine à 1 % dans 2,5 % de carbonate de sodium (Na_2CO_3 ; pH 11,6). Pour l'observation ultrastructurale, des coupes fines (80 à 120 nm) sont récupérées sur des grilles de 3,05 mm de diamètre en cuivre rhodié (HR24 Cu/Rh) ou en cuivre simple (G3 00 HEX). Elles sont contrastées pendant 15 min à l'acétate d'uranyle selon Valentines (1961), puis 15 min au citrate de plomb selon Reynolds (1963) suivi d'un rinçage abondant à l'eau distillée après chaque traitement. Ce double marquage est effectué sous atmosphère confinée dans une boîte de Petri contenant de l'hydroxyde de potassium (KOH) déposé dans un verre de montre pour éviter la précipitation du plomb en présence de gaz carbonique (CO_2).

Les observations microscopiques

Les coupes semi-minces sont observées à l'aide d'un photo-microscope II CARL ZEISS en contraste de phase et les photos sont prises sur un film Ektachrome 160T Kodak (200 ASA). L'épaisseur du manteau, la profondeur de pénétration du réseau de Hartig et le diamètre de la

mycorhize ont été mesurés à l'aide d'un micromètre gradué sur au moins 20 coupes par échantillon (3 à 4 blocs).

Les observations ultra-structurales sont faites au microscope électronique à transmission (ZEISS EM 9 S 2). Les photos sont réalisées à l'aide d'un film de marque AGFA (8/10 cm).

Résultats

Morphologie et anatomie des mycorhizes

Au bout de 5 à 7 jours de contact entre les racines de *A. africana* et le mycélium des champignons, il est possible de voir à travers les parois transparentes des mini-rhizotrons, des mycorhizes.

Les mycorhizes obtenues se présentent sous forme de racines courtes (racines latérales d'ordre deux) entourées d'un feutrage blanc de mycélium. Elles ont une forme pyramidale-monopodiale. Elles présentent toutes un manteau plus ou moins lisse de couleur blanche avec un réseau de mycélium fringant assez bien développé et sont ainsi impossibles à différencier les unes des autres.

Des coupes transversales de mycorhizes, observées au microscope photonique, permettent d'avoir une vue d'ensemble de l'organisation de ces mycorhizes présentes après 10 jours de contact. Le manteau présente une épaisseur variable de 3 à plusieurs couches d'hyphes (figures 1a et 1b). Le réseau de Hartig, en continuité avec le manteau, est peu développé et limité à la première couche de cellules rhizodermiques. Ces dernières sont allongées radialement. Les couches internes du rhizoderme et les cellules épidermiques ne sont jamais atteintes. Le réseau de Hartig présente un arrangement uniserié (figures 1a et 1b).

Le manteau des mycorhizes obtenues avec la souche IR406 est constitué d'une couche interne de structure pseudoparenchymateuse (manteau interne) composée de 3 à 4 couches d'hyphes et d'une couche externe prosenchymateuse (figure 1b). La souche IR250 quant à elle, est caractérisée par un manteau prosenchymateux uniforme de 3 à 5 couches d'hyphes (figure 1a).

L'épaisseur du manteau est de 30 μm pour IR406 et de 13,6 μm pour IR250. Quant à la profondeur de pénétration du réseau de Hartig, elle est de 19,2 μm pour IR406 et de 19,6 μm pour IR250.

Structure des mycorhizes

A. africana / *S. dictyosporum* IR250

Le manteau est constitué de 3 couches d'hyphes plus ou moins individualisés. Ces derniers sont vivants et de forme allongée pour la plupart et présentent des dolipores caractéristiques des Basidiomycètes (fig. 2a). Certains hyphes extramatriciels montrent des signes de dégénérescence (les plus externes) à côté d'autres présentant un cytoplasme riche en organites (fig. 2b). Du manteau partent des hyphes qui s'intercalent entre les cellules corticales de l'hôte pour former le réseau de Hartig, lequel présente une structure labyrinthique caractéristique de mycorhize fonctionnelle (fig. 2a et 2c). L'interface est constitué principalement de la juxtaposition des parois des deux partenaires (fig. 3a). Les cellules corticales sont allongées tangentiellement (fig. 2c). Elles sont vivantes et contiennent de grosses vacuoles qui occupent un grand volume du cytoplasme, réduisant celui-ci en un fin film pariétal riche en organites cellulaires (fig. 2a et c, 3a). Par contre, dans certaines zones, les cellules corticales apparaissent mortes avec des dépôts granuleux de tanins (fig. 3b). On note également un dépôt important de tanins dans le manteau au voisinage du réseau de Hartig.

**A. africana /
Scleroderma sp1
IR406**

Dans cette association, les mycorhizes induites sont différentes de celles formées par IR250 du point de vue de l'organisation du manteau. Dans le manteau externe, les hyphes présentent une section allongée et sont pour la plupart vivants (fig. 4 a et b). Ils apparaissent peu soudés entre eux. Le manteau interne par contre est formé d'hyphes à section ovale, plus ou moins isodiamétriques et soudés par un ciment plus dense (fig. 4a et c).

Le réseau de Hartig est vivant avec cependant des cellules corticales mortes présentant des dépôts granuleux de tanins (fig. 4 d). Comme pour IR250, on observe un dépôt de tanins dans le manteau interne.

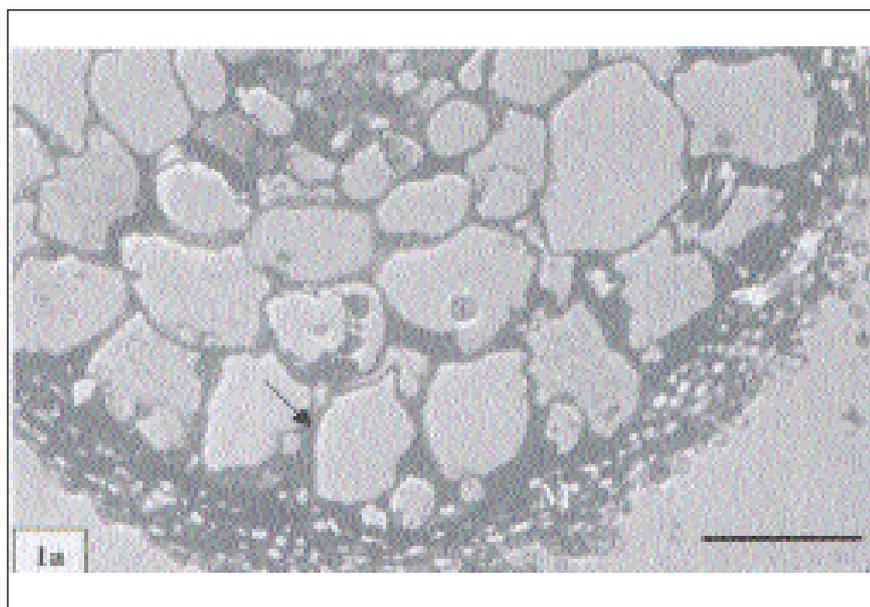


Figure 1a. Coupe transversale d'une mycorhize de *A africana / S. dictyosporum* IR250. Le manteau est peu épais et le réseau de Hartig (flèche) est limité à la première couche de cellules corticales (barre d'échelle 9 μm).

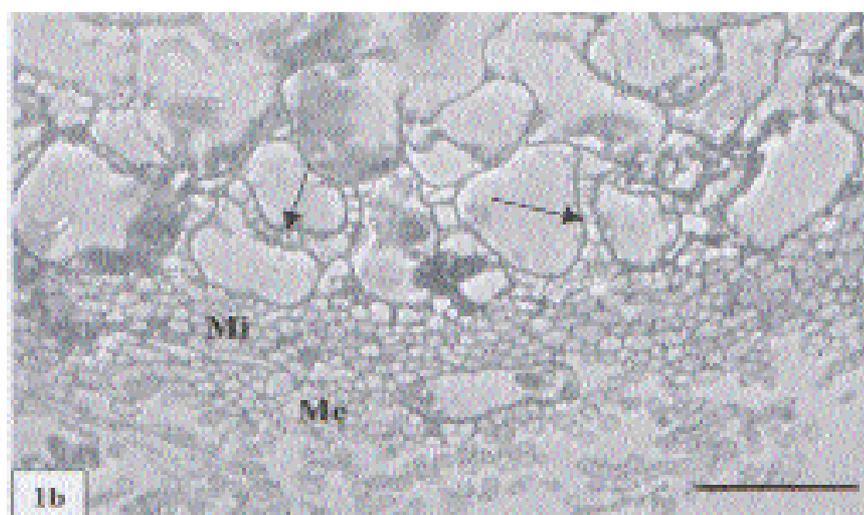


Figure 1b. Coupe transversale d'une mycorhize de *A africana / S. scleroderma* sp1 IR406. Le manteau est constitué de deux couches, une couche interne (Mi) constituée d'hyphes isodiamétriques et une couche externe (Me) d'hyphes peu soudés. Le réseau de Hartig (flèches) est limité à la première couche de cellules corticales dont certaines sont complètement entourées par les hyphes (barre d'échelle 9 μm).

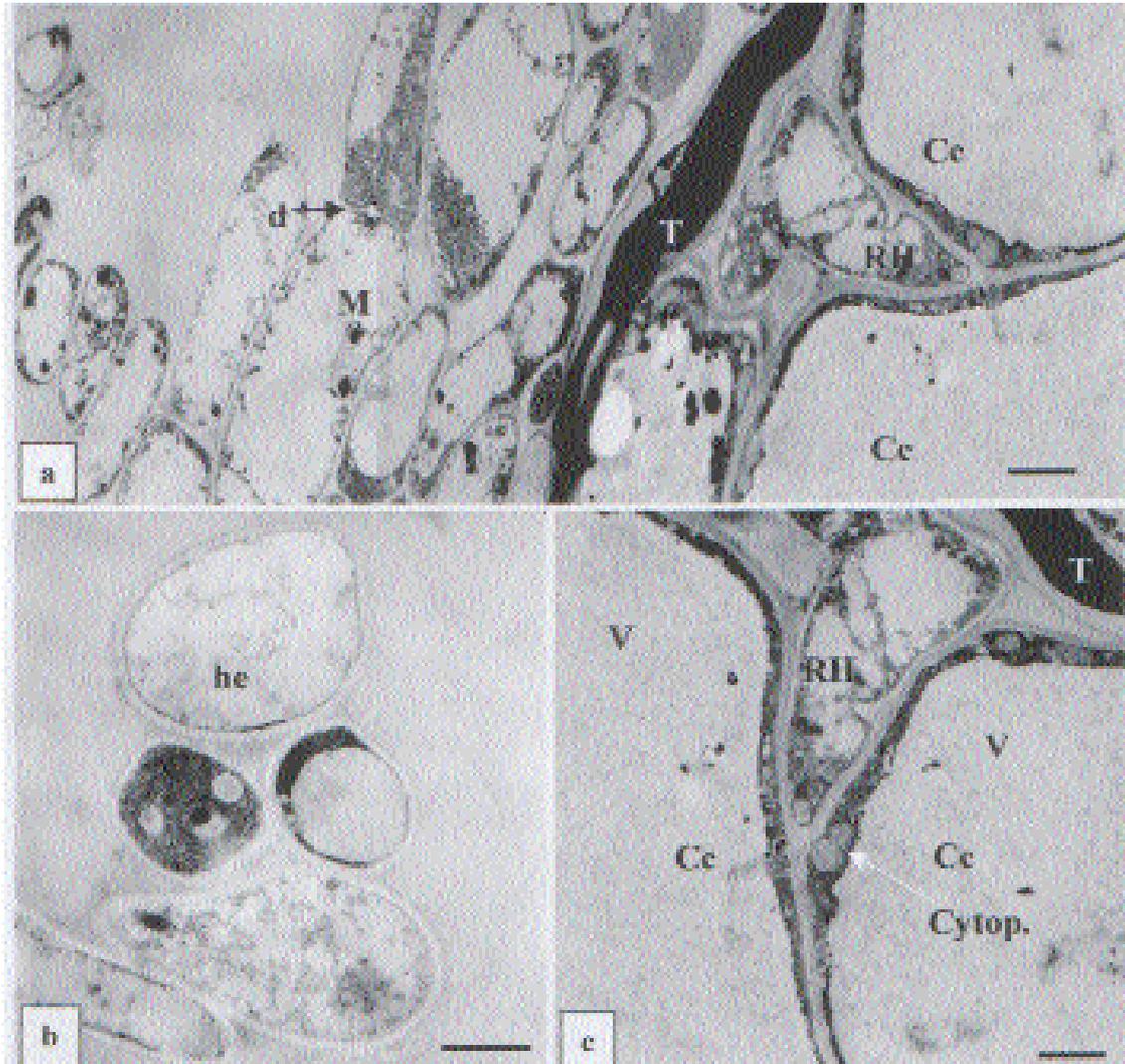


Figure 2. Ultrastructure d'une mycorhize *A africana* / *S. dictyosporum* IR250 (contrastée à l'acétate d'uranyle/citrate de plomb).

- (a) Le manteau (M) est formé d'hyphes vivants soudés par un ciment lâche. Une couche importante de tanin (T) est située à l'interface des hyphes du manteau et celui du réseau de Hartig. Ce réseau (RH) en cours de formation est également constituée d'hyphes vivants. On note la présence de dolipore (d) caractéristique des basidiomycètes (barre d'échelle 1 μm).
- (b) Certains hyphes extramatriciels (he) sont vides de contenu cytoplasmique (barre d'échelle 0,4 μm).
- (c) Les cellules corticales (Ce) allongées contiennent de grosses vacuoles (V) centrales réduisant le cytoplasme (cytop.) en un fin film pariétal (barre d'échelle 1 μm)

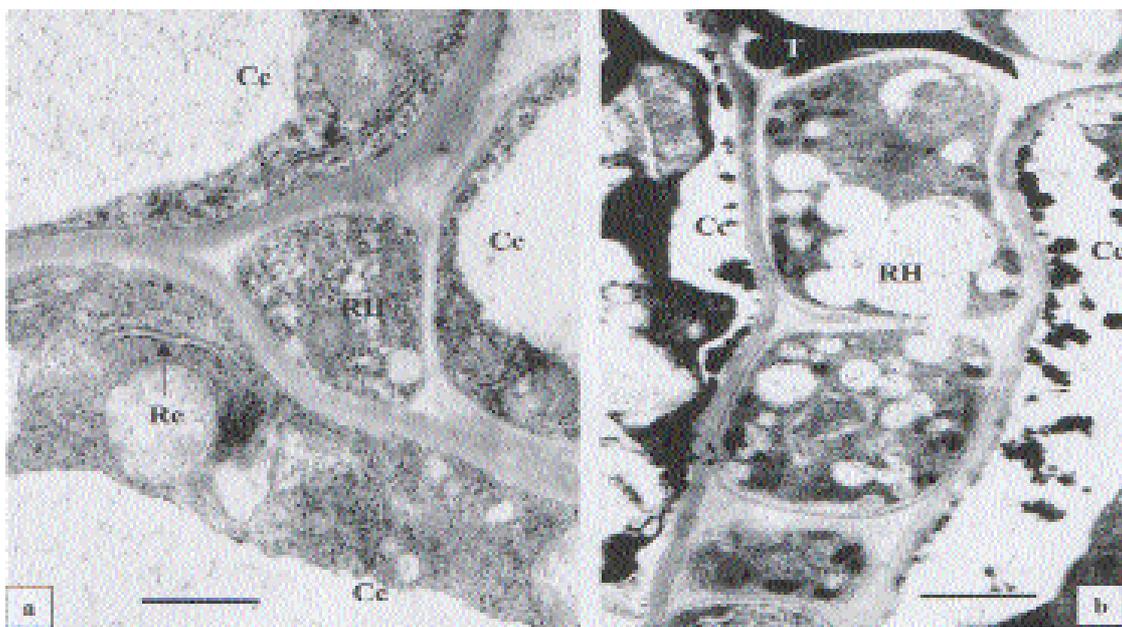


Figure 3. Ultrastructure d'une mycorhize *A. africana* / *S. dictyosporum* IR250 (contrastée à l'acétate d'uranyle/citrate de plomb).

- (a) Détail de l'interface cellules corticales de l'hôte et un hyphe du réseau de Hartig montrant des cellules vivantes des 2 partenaires riches en organites. Noter la présence de réticulum endoplasmique (Re) (barre d'échelle 0,7 μm).
- (b) Réseau de Hartig bien développé et vivant entre des cellules corticales mortes (barre d'échelle 0,7 μm).

Discussion et conclusion

Bien que la croissance de la souche IR406 en milieu de culture diffère fortement de celle de IR250, toutes les mycorhizes formées sont morphologiquement semblables. Les mycorhizes de *S. citrinum* sur *Betula pendula* (AGERER, 1987-1996) et celles de *Scleroderma* sp. sur le chêne (GARBAYE, 1990) présentent également des morphologies semblables à celles que nous avons décrites. Ainsi le morphotype blanc pourrait caractériser les mycorhizes de sclérodermes au stade juvénile.

L'utilisation des seuls critères morphologiques permet dans certains cas d'identifier l'espèce fongique impliquée dans une mycorhize et surtout les genres (ZAK, 1973 ; MEHMANN *et al.*, 1995). Cependant, dans le cas de ces deux mycorhizes formées par des souches d'espèces différentes, il est impossible de les différencier par leur morphologie.

L'analyse cytologique de ces mycorhizes développées sur *A. africana* a permis de confirmer qu'elles constituaient des mycorhizes fonctionnelles avec un manteau bien développé et un réseau de Hartig présentant par endroit des hyphes labyrinthiques.

En considérant les critères anatomiques (organisation du manteau en particulier), il est possible de différencier aisément les mycorhizes formées par *Scleroderma* sp1 IR406, caractérisées par un manteau externe lâche entourant un manteau interne à hyphes plus soudés, de celles de

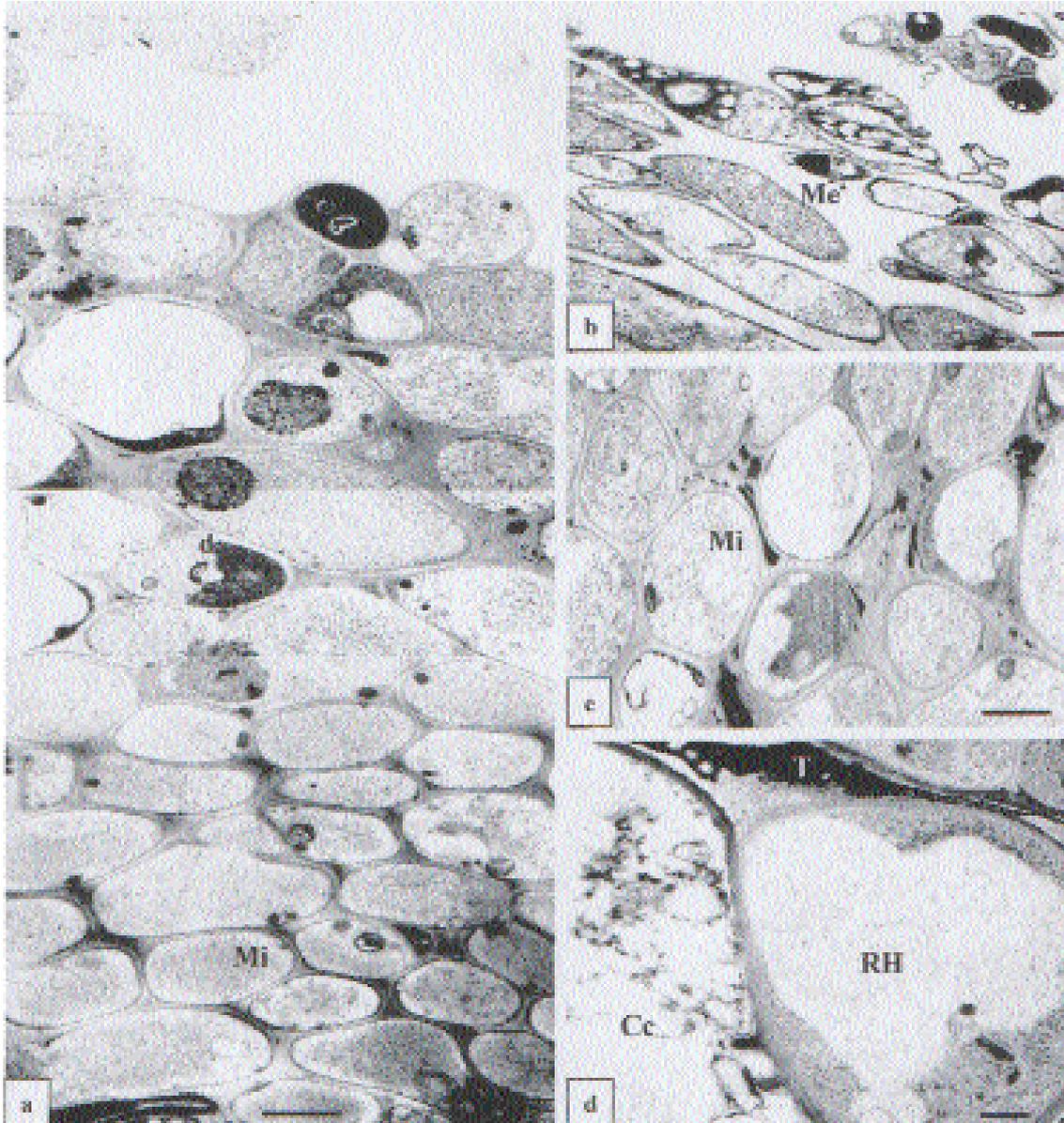


Figure 4. Ultrastructure d'une mycorhize *A. africana* / *S. Scleroderma* sp1 IR406 (contrastée à l'acétate d'uranyle/citrate de plomb).

(a), (b), (c) Le manteau est constitué de deux couches, une couche externe (Me) dont les hyphes sont soudés par un ciment lâche (b, barre d'échelle 0,5 μm) et une couche interne (Mi) à ciment plus dense (a et c, barre d'échelle 0,5 μm).

(d) Le réseau de Hartig est constitué d'hyphes vivants et les cellules corticales sont mortes (barre d'échelle 0,6 μm).

S. dictyosporum (IR250) qui présentent un manteau peu épais à structure prosenchymateuse. Par conséquent, dans ces conditions, les critères anatomiques sont utiles afin d'identifier les deux espèces de sclérodermes mycorhizant *A. africana*.

Toutes les mycorhizes examinées présentent la structure typique des mycorhizes d'Angiospermes comme le Hêtre, le Bouleau, l'Eucalyptus, *Afzelia* et *Brachystegia* avec une seule couche de cellules corticales colonisée par le réseau de Hartig (HÖGBERG et NYLUND, 1981 ; ALEXANDER et HÖGBERG, 1986 ; BÂ, 1990 ; STRULLU, 1991 ; DEXHEIMER *et al.*, 1994). L'organisation du manteau en deux couches (interne et externe) a déjà été décrite chez *A. africana* et *A. quanzensis* (HÖGBERG et NYLUND, 1981 ; BÂ, 1990). La présence d'un manteau pseudoparenchymateux strict a également été observée chez des mycorhizes blanches d'*A. africana* obtenues par piégeage (BÂ, *op. cit.*).

Les études ultra-structurales ont permis de montrer que toutes les mycorhizes sont physiologiquement actives avec, par endroit, des cellules vivantes des deux partenaires plus ou moins riches en organites cellulaires.

Les hyphes extramatriciels sont généralement dégénérés ou morts chez ces mycorhizes obtenues par synthèse. Les hyphes du manteau interne sont généralement vivants et ceux du réseau de Hartig sont riches en organites traduisant une forte activité mitotique. Cependant, certaines cellules corticales sont mortes. Compte tenu de l'âge des mycorhizes, cela pourrait être lié à la zone de coupe. En effet, LEI (1988) a délimité dans l'organisation longitudinale des mycorhizes de synthèse de *Pinus sylvestris*, trois zones : une zone âgée présentant des cellules corticales dégénérées ou mortes, une zone sous-apicale sous-jacente courte montrant des cellules corticales vivantes et une zone active avec la présence d'hyphes et de cellules corticales vivants.

Nous avons observé des couches de cellules à tanins à l'interface des hyphes du manteau et du réseau de Hartig. Cette configuration est fréquente chez les associations ectomycorhiziennes (MASSICOTTE *et al.*, 1987 ; LEI, 1988 ; PARGNEY et LEDUC, 1990). Ces tanins qui interviendraient dans la coloration des mycorhizes et dans le contrôle de la croissance du champignon par les cellules radiculaires (MALAJCZUK *et al.*, 1984) sont importants au niveau des mycorhizes de synthèse si on les compare à des mycorhizes obtenues en pépinière (SANON, 1999). Cette accumulation pourrait être liée aux conditions de culture.

Remerciements

Ces travaux ont été réalisés grâce à l'appui financier de la Fondation Internationale pour la Science à travers la bourse n° D/2164-1. Les auteurs remercient Messieurs Lamourdia Thiombiano et Ousmane Diallo pour leurs commentaires sur le manuscrit.

Références citées

- AGERER R., 1987-1996. Color Atlas of ectomycorrhizae. With glossary. Agerer R ed. Einhorn-Verlag Eduard Dietenberger.
- ALEXANDER I.J., HÖGBERG P. 1986. Ectomycorrhizas of tropical Angiospermous trees. *New Phytologist* 102 : 541-549.
- ALEXANDER I.J., 1985. Mycorrhizas of West African Forest Trees. In "Proceedings of the 6th North American Conference on Mycorrhizae". R. Molina ed., Forest Research Laboratory, Bend, Oregon. p. 447.

- BA A.M., SANON B. K., DUPONNOIS R., DEXHEIMER J., 1999.** Growth response of *Afzelia africana* Sm. Seedlings to ectomycorrhizal inoculation in a nutrient-deficient soil. *Mycorrhiza* 9, 91-95.
- BA A.M., 1990.** Contribution à l'étude de la symbiose ectomycorhizienne chez deux essences forestières d'Afrique intertropicale : *Afzelia africana* Sm. et *Uapaca guineensis* Müll. Arg. Thèse de l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier. 193 p.
- BA A.M., THOEN D., 1990.** First syntheses of ectomycorrhizas between *Afzelia africana* Sm. (Caesalpinioideae) and native fungi from West Africa. *New Phytologist* 103 : 441-448.
- CHILVERS G.A., DOUGLAS P.A., LAPEYRIE F.F., 1986.** A paper-sandwich technique for rapide synthesis of ectomycorrhizas. *New Phytologist* 103 : 397-402.
- DEXHEIMER J., GERARD J., GENET P. 1994.** Study of transformations of the root system of *Eucalyptus globulus* associated with *Pisolithus tinctorius*. I. Aptitude for mycorrhization of different kinds of roots. *Phytomorphology*, 44 : 235-245.
- DI BATTISTA C., SELOSSE M.-A., BOUCHARD D., STENSTRÖM E., LE TACON F. 1996.** Variations in symbiotic efficiency, phenotypic characters and ploidy level among different isolates of the ectomycorrhizal basidiomycete *Laccaria bicolor* strain S 238. *Mycological Research*, 100 : 1315-1324.
- DOMINIK T., 1969.** Key to ectotrophic mycorrhizae. *Folia Forestalia Polonica* 15, série A : 309-320.
- GARBAYE J., 1990.** Pourquoi et comment observer l'état mycorrhizien des plants forestiers. *Revue Forestière Française*. 42 (1) : 35-47.
- GARDES M., MUELLER G.M., FORTIN J.A., KROPP B.R., 1991.** Mitochondrial DNA polymorphisms in *Laccaria bicolor*, *L. laccata*, *L. proxima* and *L. amethystina*. *Mycological Research*, 95 : 206-216.
- GÉNÉRÉ B., BOUCHARD D., AMIRAULT J.-M., 1997.** Itinéraire technique en pépinière pour le Douglas de type 1 + 1 mycorrhizé par *Laccaria bicolor* S238 N. *Revue Forestière Française*, n° spécial : 155-162.
- GRYTA H., DEBAUD J.-C., EFFOSSE A., GAY G., MARMEISSE R., 1997.** Fine-scale structure of populations of the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporium* in coastal sand dune forest ecosystems. *Molecular Ecology* 6 : 353-364.
- HÖGBERG P. ET NYLUND J.-E., 1981.** Ectomycorrhizae in coastal miombo woodland of Tanzania. *Plant and Soil*, 63 : 283-289.
- JENIK J., MENSAH K.O.A., 1967.** Root system of tropical trees. I. Ectotrophic mycorrhizae of *Afzelia africana* Sm. *Preslia*, 39 : 59-65.
- KASHA P., FURLAN V., LUMANDE K., 1990.** Symbioses racinaires chez quelques essences forestières importantes au Zaïre. *Bois et Forêts des Tropiques*, 224 : 27-33.
- LE DISQUET I., 1997.** Etude du rôle du partenaire fongique dans l'absorption, le transport et le stockage des cations chez les ectomycorhizes. Thèse de l'Université Henri Poincaré, Nancy I, 240 p.
- LE TACON F., MOUSAIN D., GARBAYE J., BOUCHARD D., CHURIN J.-L., ARGILLIER C., AMIRAULT J.-M., GÉNÉRÉ B., 1997.** Mycorrhizes, pépinières et plantations forestières en France. *Revue Forestière Française*, n° spécial : 131-154.
- LEI J., 1988.** Etude expérimentale des systèmes symbiotiques mycorrhiziens de quelques essences ligneuses. Application pratique à la mycorrhization de vitro-plants. Thèse de l'Université Henri Poincaré Nancy I, 204 p.
- MALAJCZUK N., MOLINA R., TRAPPE J.M., 1984.** Ectomycorrhiza formation in *Eucalyptus*. The ultrastructure of compatible and incompatible mycorrhizal fungi associated roots. *New Phytologist*, 96 : 43-53.
- MARX D.H., 1969.** The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. *Phytopathology*, 59 : 153-163.
- MARX D.H., RUEHLE J.L., KENNEY D.S., CORDELL C.E., RIFFLE J.W., MOLINA R.J., PAWUK W.H., NAVRATIL S., TINUS R.W., GOODWIN O.C., 1982.** Commercial vegetative inoculum of *Pisolithus tinctorius* and inoculation techniques for development of ectomycorrhizae on container-grown tree seedlings. *Forest Science*, 28 : 373-400.

- MASSICOTTE H.B., PETERSON R.L., ACKERLEY C.A., ASHFORD A.E., 1987.** Ontogeny of *Eucalyptus pilularis-Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizae. II. Transmission electron microscopy. Canadian Journal of Botanic, 65 : 1940-1947.
- MEHMANN B., EGLI S., BRAUS G.H., BRUNNER I. 1995.** Coincidence between molecularly or morphologically classified ectomycorrhizal morphotypes and fruitbodies in a spruce forest. In « Biotechnology of Ectomycorrhizae : Molecular Approaches », Stocchi V, Bonfante P, Nuti M eds. Plenum Press, New York , p. 41-52.
- NEWBERRY D.M., ALEXANDER I.J., THOMAS D.W., GARTLAN J.S., 1988.** Ectomycorrhizal rain-forest legumes and soil phosphorus in Korup National Park, Cameroon. New Phytologist, 109 : 433-455.
- PARGNEY J.-C., LEDUC J.P., 1990.** Etude ultrastructurale de l'association mycorhizienne Noisetier/Truffe (*Corylus avellana/Tuber melanosporum*). Bulletin de la Société Française de Botanique, 137 : 21-34.
- PERRIN R., 1991.** Mycorhizes et protection phytosanitaire. In : « Les mycorhizes des arbres et plantes cultivées » D.G. Strullu. Eds Lavoisier, p. 93-130.
- REDHEAD J.F., 1968.** Mycorrhizal associations in some Nigerian forest trees. Transactions of the British Mycological Society, 51 : 377-387.
- REYNOLDS E.S., 1963.** The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. Journal of the Cell Biology, 17 : 208-212.
- RIEDDACKER A., 1974.** Un nouvel outil pour l'étude des racines de la rhizosphère : le mini-rhizotron. Annales des Sciences Forestières, 31 (2) : 129-134.
- SANON B. K., 1999.** Symbiose mycorhizienne chez quelques Césalpiniacées et Euphorbiacées des forêts du Sud-Ouest du Burkina Faso : Etude morphologique et cytologique, mycorhization contrôlée et étude de la diversité inter-et intra-spécifique des Sclérodermes ectomycorhiziens. Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré Nancy I, 119 p.
- SANON B. K., BÂ A.M., DEXHEIMER J., 1997.** Mycorrhizal status of some fungi fruiting beneath indigenous trees in Burkina Faso. Forest Ecology and Management, 98 : 61-69.
- SELOSSE M.-A., JACQUOT D., BOUCHARD D., MARTIN F., LE TACON F., 1998.** Temporal persistence and spatial distribution of an American inoculant strain of the ectomycorrhizal basidiomycete *Laccaria bicolor* in a French forest plantation. Molecular Ecology, 7 : 561-573.
- SMITH S.E., READ D.J., 1997.** Mycorrhizas in managed environments : forest production, interactions with others microorganisms and pollutants. In « Mycorrhizal symbiosis (Second Edition) ». Academic Press, Harcourt Brace & Company Publishers, Great Britain, p. 470-489.
- STRULLU D.G., 1991.** Les relations entre les plantes et les champignons. In « Les mycorhizes des arbres et plantes cultivées », D.G. Strullu. Eds Lavoisier, p. 9-49.
- THAPAR H.S., KHAN S.N., 1973.** Studies on endomycorrhiza in some forest species. In « Proceedings of Indian National Science of Academy » Forest Research Institute, Dehra Dun.
- THOEN D., BA A.M., 1989.** Ectomycorrhizas and putative ectomycorrhizal fungi of *Afzelia africana* Sm. and *Uapaca guineensis* Müll. Arg. in southern Senegal. New Phytologist, 113 : 549-559.
- THOEN D., DUCOUSSO M., 1989.** Champignons et ectomycorhizes du Fouta Djallon. Bois et Forêts des tropiques, 221 : 45-63.
- VALENTINES R.C., 1961.** Contrast enhancement in the electron microscopy of viruses. Advance of the virus Research, 8 : 287.
- ZAK B., 1969.** Characterisation and classification of ectomycorrhizae of Douglas fir. I. *Pseudotsuga menziesii* + *Poria terrestry* (blue and orange staining strains). Canadian Journal of Botany, 47 : 1833-1840.
- ZAK B., 1973.** Classification of ectomycorrhizae. In « Ectomycorrhiza », G.C. Marks & T.T. Kozłowski eds., Academic Press, New York & London, p. 43-78.