

La mycorhization des plantes forestières en milieu aride et semi-aride : nutrition minérale en terrains calcaires

Plassard C.

La mycorhization des plantes forestières en milieu aride et semi-aride et la lutte contre la désertification dans le bassin méditerranéen

Zaragoza : CIHEAM
Cahiers Options Méditerranéennes; n. 20

1996
pages 27-32

Article available on line / Article disponible en ligne à l'adresse :

<http://om.ciheam.org/article.php?IDPDF=96605775>

To cite this article / Pour citer cet article

Plassard C. **La mycorhization des plantes forestières en milieu aride et semi-aride : nutrition minérale en terrains calcaires.** *La mycorhization des plantes forestières en milieu aride et semi-aride et la lutte contre la désertification dans le bassin méditerranéen* . Zaragoza : CIHEAM, 1996. p. 27-32 (Cahiers Options Méditerranéennes; n. 20)



<http://www.ciheam.org/>
<http://om.ciheam.org/>

La mycorhization des plantes forestières en milieu aride et semi-aride : nutrition minérale en terrains calcaires

C. PLASSARD
LABORATOIRE DE RECHERCHES
SUR LES SYMBIOTES DES RACINES
INRA-ENSAM
1 PLACE P. VIALA
34060 MONTPELLIER CEDEX 01
FRANCE

RESUME - Les sols calcaires sont caractérisés par des teneurs élevées en ions calcium et bicarbonate ainsi que par des pH de la solution du sol élevés. On considère que ces facteurs abiotiques favorisent une nitrification importante et une forte immobilisation du P soluble sous forme de minéraux calcaires. Des travaux ont mis en évidence que l'addition de CaCO₃ diminuait dramatiquement l'utilisation de l'azote minéral, et celle du nitrate en particulier, par le Pin noir d'Autriche non mycorhizé. Par contre, la croissance et le métabolisme azoté de cette essence, qui était considérée comme tolérante aux sols calcaires, sont parfaitement rétablis par la mycorhization du système racinaire. Bien que l'espèce fongique n'ait pas été identifiée, les résultats obtenus montrent que l'adaptation au sol calcaire du Pin noir d'Autriche est due à l'ectomycorhization, *via* l'amélioration de sa nutrition azotée. Les champignons ectomycorhiziens sont aussi capables de solubiliser des minéraux P calcaires insolubles lorsqu'ils sont cultivés *in vitro* sur milieu nitré. Cette capacité de solubilisation est vraisemblablement due à la biosynthèse et à l'excrétion d'acide oxalique par les espèces fongiques considérées. La mobilisation du P contenu dans un minéral P calcaire insoluble, l'hydroxylapatite, a pu être suivie *in vitro*, chez un basidiomycète ectomycorhizien, *Rhizopogon roseolus*, isolé en milieu méditerranéen. Ces données suggèrent que cette espèce fongique devrait aider sa plante-hôte à utiliser le P minéral insoluble, bien que cette hypothèse reste encore à démontrer.

Mots-clés : Tolérance au milieu calcaire, métabolisme azoté, *Pinus nigra* ssp. *nigricans*, solubilisation de minéraux P, oxalate, *Rhizopogon roseolus*.

SUMMARY - "Mycorrhization of forest species in arid and semi-arid zones: mineral nutrition in calcareous soils". Calcareous soils are characterized by high contents of calcium and bicarbonate ions and also by high pH in soil solution. These soil conditions are believed to favour strong nitrification rates and important immobilization of soluble P as calcareous minerals. Experiments have shown that CaCO₃ addition to the soil dramatically decreased mineral N use, specially use of N-NO₃, by non mycorrhizal black pines (*Pinus nigra nigricans* var. *austria*). On the contrary, growth and N-metabolism of this species, which was previously considered as tolerant of calcareous soils, were perfectly restored after ectomycorrhizae have occurred on the root system. Although the fungal species was not identified, the results have shown that adaptation to calcareous soils of black pine occurred through the ectomycorrhizal association, by N nutrition improvement. Ectomycorrhizal fungi are also able to solubilize insoluble calcareous P minerals when they are grown *in vitro* on nitrate medium. This capacity for P solubilization is probably due to biosynthesis and excretion of oxalate by the studied species. It was possible to study *in vitro* the mobilization of P from an insoluble calcareous mineral P, hydroxylapatite, by an ectomycorrhizal basidiomycete, *Rhizopogon roseolus*, which was isolated from a Mediterranean area. These data suggest that this fungal species could help its host plant to use P from insoluble mineral P-source, although this hypothesis still has to be demonstrated.

Key words: Calcareous tolerance, N metabolism, *Pinus nigra* ssp. *nigricans*, mineral P solubilization, oxalate, *Rhizopogon roseolus*.

Introduction

Les sols calcaires présentent des conditions physico-chimiques qui modifient la biodisponibilité des éléments minéraux. De fait, ces sols sont caractérisés par de fortes teneurs en CaCO_3 dont l'hydrolyse produit des ions calcium et bicarbonate qui se maintiennent à des concentrations élevées. Le phosphore réagit avec le calcium pour former un phosphate octocalcique lors d'un stade intermédiaire, qui évolue ensuite vers l'hydroxylapatite insoluble (Arvieu, 1969), forme de P qui n'est plus disponible pour les végétaux. Enfin, le pH de la solution du sol est élevé et on considère qu'il est favorable à une nitrification importante et on admet généralement que la principale source d'azote disponible pour les végétaux est le nitrate. Or il est aussi généralement admis que les arbres forestiers, et les conifères en particulier, présentent une croissance plus faible en présence de nitrate qu'en présence d'ammonium (Scheromm et Plassard 1988). On peut donc considérer que dans les sols calcaires, l'azote et le phosphore pourront être deux facteurs limitants de la croissance des espèces forestières.

Il existe malheureusement peu de travaux ayant porté sur l'étude de la tolérance des espèces forestières aux sols calcaires mais il apparaît clairement que la mycorhization joue un grand rôle dans l'amélioration de croissance de certaines essences forestières. Dans la suite de ce texte, seront évoquées les données expérimentales disponibles concernant l'effet de la mycorhization sur la nutrition azotée puis phosphatée des plantes mycorhizées. Des mécanismes qui permettraient aux champignons mycorhiziens d'aider la plante-hôte à se développer normalement dans ces conditions de milieux défavorables seront aussi proposés.

Nutrition azotée en sols calcaires : exemple du Pin noir d'Autriche

Le premier travail (et un des seuls) qui a mis en évidence le rôle des ectomycorhizes dans la résistance au calcaire d'une essence forestière utilisée en reboisement, le Pin noir d'Autriche (*Pinus nigra* Arn ssp. *nigricans* Host), est celui publié par Clément et ses collaborateurs (Clément *et al.*, 1977). De fait, dans les conditions naturelles, cette essence était considérée comme tolérante aux sols calcaires puisqu'elle ne présentait aucun signe de chlorose ni d'excès d'accumulation cationique (calcium en particulier) dans ses tissus foliaires. L'hypothèse était que cette espèce devait donc être apte à assimiler le nitrate. Cependant, une étude réalisée en conditions contrôlées, sur de jeunes plants cultivés dans un substrat sableux désinfecté additionné ou non de carbonate de calcium et fertilisé avec une solution contenant NH_4^+ ou NO_3^- ou (NH_4^+ et NO_3^-) a démontré (i) qu'en absence de CaCO_3 , cette essence utilisait très faiblement NO_3^- par rapport à NH_4^+ et (ii) que la présence de carbonate de calcium diminuait dramatiquement la croissance des plantes, particulièrement en présence de NO_3^- . D'autre part, les tissus foliaires des plantes cultivées sur NO_3^- et CaCO_3 présentaient des teneurs en K^+ , en Ca^{2+} et en azote organique soluble anormalement élevées par rapport à celles mesurées sur les plantes cultivées en absence de CaCO_3 . Ces résultats remettaient donc fortement en cause l'assomption de départ, à savoir que cette essence était tolérante aux sols calcaires en nutrition nitrique. De fait, le retour à un métabolisme azoté bien régulé et à une croissance normale n'a pu être obtenu qu'en cultivant les plantes dans du sol non désinfecté. La présence d'ectomycorhizes sur le système racinaire a été

démontrée mais l'identité du symbiote fongique associé n'a pas été déterminée avec précision. L'inoculation du sol stérilisé avec des spores de truffe noire (*Tuber melanosporum*) ou des cultures mycéliennes de *Boletus granulatus* permet l'augmentation de la production de matière sèche par les plantes mais cette production de MS reste toutefois inférieure à celle obtenue sur le sol non stérilisé. Ces données suggèrent que l'espèce fongique associée au Pin noir d'Autriche est encore plus performante que les deux espèces inoculées pour améliorer l'utilisation de l'azote et réguler les circulations de cations vers les parties aériennes. La principale conclusion de ce travail est donc que la tolérance au calcaire de cette essence forestière n'est pas un facteur spécifique intrinsèque mais est due à la mycorhization.

Concernant les mécanismes qui permettent d'expliquer cette amélioration de croissance en sols contenant de fortes teneurs en carbonate de calcium, Clement *et al.* (1977) ont suggéré que le champignon ectomycorhizien pourrait jouer en particulier sur le métabolisme azoté de la plante-hôte car les plantes ectomycorhizées ne présentent plus de teneurs anormalement élevées en N soluble dans les tissus foliaires. Cependant, aucune autre étude n'a été réalisée sur cette espèce forestière et on ne peut donc que proposer des hypothèses quant au rôle potentiel du champignon sur le métabolisme de la plante-hôte. Tout d'abord, certaines espèces fongiques ectomycorhiziennes sont capables d'absorber et de réduire le nitrate avec une efficacité proche de celle mesurée chez les végétaux herbacés (Plassard *et al.*, 1991, 1994). Ensuite, les travaux de Finlay et ses collaborateurs (Finlay *et al.*, 1989) ont démontré sans ambiguïté que du ^{15}N réduit provenant du $^{15}\text{NO}_3$ fourni exclusivement au mycélium de *Paxillus involutus* associé à des systèmes racinaires de Hêtre (*Fagus sylvatica*) était dosé dans les mycorhizes, les racines non mycorhizées et les parties aériennes des plantes-hôtes. Ces résultats démontrent donc que le symbiote fongique est capable d'absorber et d'assimiler le $^{15}\text{NO}_3$ du milieu puis de transférer de l'azote réduit vers la plante-hôte. On peut donc penser que dans le cas du Pin noir d'Autriche, le mycélium associé aux racines a pu lui aussi absorber du NO_3^- , le réduire et transférer des acides aminés aux racines de la plante-hôte, aidant ainsi la plante à utiliser de l'azote minéral difficilement utilisable par les plantes non mycorhizées. Cependant, cette hypothèse reste à démontrer.

Nutrition phosphatée en sols calcaires

Le deuxième élément limitant de la croissance en sols calcaires est souvent le phosphore. Par exemple, les expériences menées par Rigou (1994) sur la croissance de plants de Poireau (*Allium porum*) et leur aptitude à utiliser le P contenu dans un sol calcaire, riche en P total mais très pauvre en P soluble, montrent clairement le rôle positif de l'endomycorhization sur ces paramètres. De fait, lorsque les poireaux sont cultivés dans ce sol en minirhizotrons, les jeunes plants se développent très faiblement et meurent très rapidement. Au contraire, lorsque les plantes sont inoculées avec des spores de *Glomus caledonium* ou d'une souche endomycorhizienne VA non identifiée mais isolée d'un sol calcaire de garrigue récolté aux environs de Montpellier, les plantes se développent aussi bien que celles cultivées en milieu artificiel fertilisé en P soluble. Il est donc fort probable que la présence du champignon endomycorhizien ait permis, directement ou indirectement, l'utilisation du P du sol qui n'était absolument pas utilisable par les plantes non mycorhizées. De fait, en sol calcaire, l'acidification rhizosphérique est susceptible d'améliorer très fortement la

biodisponibilité du phosphore. Or Rigou (1994) a aussi démontré que les racines endomycorhizées présentaient des efflux de protons plus importants que ceux mesurés sur des racines non mycorhizées. Cependant, l'origine de ces flux de protons (CO_2 respiratoire, déséquilibre de la balance cations-anions, excrétion d'acides organiques) n'a pas été déterminée.

Nous ne possédons malheureusement pas de données similaires pouvant illustrer l'effet de l'ectomycorhization sur la nutrition P des essences forestières en sols calcaires. Cependant, Lapeyrie et ses collaborateurs (Lapeyrie *et al.* 1991) ont recherché les capacités de dissolution de différents minéraux phosphatés insolubles, parmi lesquels trois minéraux phosphatés calciques, par onze isolats de champignons ectomycorhiziens cultivés sur milieu solide contenant du CaCO_3 , les minéraux P insolubles en présence ou en absence d'orthophosphate (Pi) et de l'ammonium ou du nitrate comme source d'azote minéral. En présence d'ammonium, tous les isolats (sauf un isolat de *Pisolithus tinctorius*) ont été capables de solubiliser les minéraux P calciques. Cette dissolution a été attribuée au phénomène d'acidification du milieu toujours observé en nutrition ammoniacale chez les végétaux supérieurs (Raven et Smith 1976 ; Salsac *et al.* 1987). Par contre, en présence de NO_3^- , on observe généralement une alcalinisation du milieu résultant de l'utilisation du nitrate (Raven et Smith 1976 ; Salsac *et al.* 1987). De fait, une seule souche fongique, *Paxillus involutus* 1, a été capable de solubiliser les minéraux lorsque le milieu contenait du nitrate comme seule source d'azote. De nombreux cristaux d'oxalate de calcium ont été observés dans la zone de solubilisation et le dosage de l'oxalate a montré qu'après 15 jours de culture sur milieu NO_3^- , ce champignon en avait excrété 119,3 $\mu\text{g}/\text{mg}$ MS (Lapeyrie *et al.* 1991). Cette excrétion d'acide oxalique pourrait être le moteur principal de la solubilisation des minéraux P calciques car ce composé présente des propriétés à la fois acides et complexantes. Après synthèse par les cellules fongiques, les protons provenant de la dissociation de l'acide oxalique (2 protons/mole d'oxalate produit) peuvent hydrolyser les minéraux P, libérant ainsi de l'orthophosphate assimilable par les cellules et du calcium. Ce calcium peut être ensuite piégé par l'anion oxalate pour former de l'oxalate de calcium insoluble. Il y a donc libération de phosphore soluble et diminution de la toxicité du milieu pour les ions calcium avec l'excrétion d'acide oxalique. La capacité de biosynthèse et d'excrétion de l'oxalate apparaissent donc comme un facteur très important pour l'utilisation des minéraux P calciques. Leprince (1995) a étudié la croissance de plusieurs isolats ectomycorhiziens provenant de zones méditerranéennes. Le milieu de culture contenait de l'orthophosphate et NO_3^- et était additionné ou non de CaCO_3 . Les variations de pH des milieux de culture et les anions organiques excrétés dans le milieu ont été identifiés. Lorsque les isolats produisent des acides organiques, l'oxalate est toujours majoritairement représenté (90% des acides organiques totaux). Cependant, cette capacité de production d'acide oxalique est très variable parmi les isolats (Leprince, 1995). Un des isolats, *Rhizopogon roseolus*, a été capable d'acidifier le milieu de culture et de produire de l'oxalate en quantités importantes dans un milieu sans CaCO_3 . La présence de CaCO_3 stimule fortement cette production d'oxalate et l'acidification du milieu a aussi été mesurée en milieu solide à l'aide de micro-électrodes spécifiques. Le champignon a été déposé à la surface d'un boudin de gélose contenant du nitrate comme seule source d'N minéral et de l'hydroxylapatite insoluble comme seule source de P. Après 48 heures d'incubation, la gélose a été découpée en tranches de 2 mm d'épaisseur et les valeurs de pH, les concentrations en P total et en oxalate total (vraisemblablement sous forme d'oxalate de calcium) ont

été mesurées dans chaque tranche. Une acidification du milieu a été mesurée sous le thalle et deux gradients de sens contraire, un gradient décroissant en P total et un gradient croissant en oxalate total ont aussi été mis en évidence à partir du thalle (Leprince et Plassard, 1996). Le P soluble ne s'accumulant pas dans le milieu, ce qui suggère qu'il a probablement été utilisé par le champignon. Ces résultats montrent donc que cette espèce fongique est capable de solubiliser une source de P minéral insoluble, probablement grâce à l'excrétion d'acide oxalique dans le milieu. Si cette capacité de mobilisation du P peut se manifester lorsque le champignon est associé à une plante-hôte, il est probable que la présence du symbiote fongique pourra être très positive pour l'alimentation P de la plante. Cependant, cette hypothèse reste à démontrer.

Références

- Arvieu, J.C. (1969). Les minéraux phosphatés du sol. *Bulletin de l'Association Française pour l'Etude du Sol*, 4 : 5-16.
- Clément, A., Garbaye, J. et Le Tacon, F. (1977). Importance des ectomycorhizes dans la résistance au calcaire du Pin noir (*Pinus nigra* Arn ssp. *nigricans* Host). *Oecol. Plant.*, 12 : 111-131.
- Finlay, R.D., Ek, H., et Söderström, B. (1989). Uptake, translocation and assimilation of nitrogen from ¹⁵N-labelled ammonium and nitrate sources by intact ectomycorrhizal systems of *Fagus sylvatica* infected with *Paxillus involutus*. *New Phytol.*, 113 : 47-55.
- Lapeyrie, F., Ranger, J. et Vairelles, D (1991). Phosphate-solubilizing activity of ectomycorrhizal fungi *in vitro*. *Can. J. Bot.*, 69 : 342-346.
- Leprince, F. (1995). *Mécanismes mis en oeuvre par différents champignons ectomycorhiziens dans la mobilisation du phosphore*. Thèse Doctorat, spécialité : Sciences Agronomiques, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier.
- Leprince, F., et Plassard, C. (1996). Acidification and oxalate biosynthesis by an ectomycorrhizal fungus, *Rhizopogon roseolus*, grown *in vitro* on N-NO₃ source, as affected by phosphate starvation, external calcium concentration and CaCO₃ addition. Soumis pour publication, *New Phytol.*
- Plassard, C., Scheromm, P., Mousain, D., et Salsac, L. (1991). Assimilation of mineral nitrogen and ion balance in the two partners of ectomycorrhizal symbiosis : Data and hypothesis. *Experientia*, 47 : 340-349.
- Plassard, C., Barry, D., Eltrop, L., et Mousain, D. (1994). Nitrate uptake in maritime pine (*Pinus pinaster*) and the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum* : Effect of ectomycorrhizal symbiosis. *Can. J. Bot.*, 72 : 189-197.
- Raven, J., et Smith, F.A. (1976). Nitrogen assimilation and transport in vascular land plants in relation to intracellular pH regulation. *New Phytol.*, 76 : 415-431.

Rigou, L. (1994). *Influence de la mycorhization sur les conditions physico-chimiques du sol dans la rhizosphère. Conséquences sur la nutrition phosphatée de la plante-hôte*. Thèse Doctorat, spécialité : Sciences Agronomiques, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier.

Sheromm, P., et Plassard, C. (1988). Nitrogen nutrition of non-mycorrhized maritime pine (*Pinus pinaster*) grown on nitrate or ammonium. *Plant Physiol. Biochem.*, 26 : 261-269.