

Les évaluations quantitatives des mycorhizes en pépinière et sur le terrain

Abourouh M.

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 51-61

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

<http://om.ciheam.org/article.php?IDPDF=96605778>

To cite this article / Pour citer cet article

Abourouh M. *Les évaluations quantitatives des mycorhizes en pépinière et sur le terrain. 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. 51-61 (Cahiers Options Méditerranéennes; n. 20)



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

Les évaluations quantitatives des mycorhizes en pépinière et sur le terrain

M. ABOUROUH
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE FORESTIERE
B.P. 763
AGDAL, RABAT
MAROC

RESUME - Plusieurs méthodes d'évaluation quantitative des mycorhizes sont actuellement utilisées. Elles consistent à observer les échantillons à l'oeil nu, à la loupe ou au microscope ou à procéder à des analyses chimiques. Les principaux paramètres calculés sont le pourcentage de plants mycorhizés, le pourcentage de racines mycorhizées par plant ou par longueur unitaire et les indices de mycorhization.

Mots-clés : Evaluation quantitative, mycorhize, techniques d'évaluation.

SUMMARY - "Quantitative assessment of mycorrhizae in nursery and on the field". Several quantitative evaluation techniques of mycorrhizae are currently used. They consist in observing the samples with the naked eye, binoculars or microscope or in doing chemical analysis. The most important parameters calculated are the percentage of mycorrhizal plants, the percentage of mycorrhizal roots per plant or per length unit and mycorrhization indices.

key words: Quantitative evaluation, mycorrhiza, evaluation techniques.

Introduction

L'importance des études quantitatives des mycorhizes en serre, en pépinière et sur le terrain est signalée par plusieurs auteurs (Giovannetti et Mosse, 1980 ; Kormanik et McGraw, 1982 ; Grand et Harvey, 1982 ; Alexander, 1986 ; Trouvelot *et al.*, 1986 ; Cordell *et al.*, 1987 ; Salmonwicz et Nylund, 1988 ; Marx *et al.*, 1991 ; Green *et al.*, 1994). De telles études ne doivent pas en effet être négligées si l'on veut : (i) reconnaître les espèces ou les souches de champignons mycorhiziennes les plus agressives, les plus infectieuses et les plus compétitives ; (ii) se rendre compte de l'efficacité des inoculations artificielles en pépinière ; et (iii) déterminer le rôle des mycorhizes dans les processus de croissance et de développement des plantes-hôtes, de l'absorption des éléments nutritifs et de la protection contre les champignons pathogènes du sol.

Dans ce texte, purement bibliographique, seront exposés, aussi bien pour les ectomycorhizes que pour les endomycorhizes, les différentes étapes de l'évaluation quantitative, les principales techniques, les systèmes de notation et les plus importants paramètres quantitatifs.

Les étapes de la quantification des mycorhizes

Les plus importantes phases de toute procédure de quantification des mycorhizes sont : l'échantillonnage, et la préparation des échantillons pour les observations macroscopiques et / ou microscopiques ou pour les analyses chimiques.

Echantillonnage

Pour le prélèvement des échantillons, une distinction doit être faite entre la serre et la pépinière d'une part et le terrain d'autre part.

Cas des serres et des pépinières

Dans la plupart des études réalisées dans ces endroits, les plants sont prélevés en totalité. Le taux de l'échantillonnage doit être au moins de 3% (Mousain, communication personnelle).

Cas du terrain

Sur le terrain, on prélève souvent des carottes, ou des échantillons cubiques de sol, rarement des plants entiers. Pour cela, on utilise dans les sols meubles la tarière à emporte-pièce ou la pelle et dans les terrains rocheux ou contenant de grosses racines des outils spécifiques (Jurgensen *et al.*, 1977 ; Alexander, 1986 ; Taylor *et al.*, 1991). Le nombre, le volume et la répartition des échantillons nécessaires pour un traitement statistique valable dépendent d'un certain nombre de facteurs et surtout de la densité du système racinaire dans le sol (Alexander, 1986 ; Hunt et Fogel, 1986). En principe, ils sont définis pour chaque étude (Grand et Harvey, 1982). On peut prélever au hasard ou systématiquement sur la ligne de plantation par exemple à des distances bien définies de l'arbre. Le diamètre des tarières varie de 2,5 à 10 cm avec 5cm comme le plus utilisé (Hunt et Fogel, 1986 ; Taylor *et al.*, 1991). Les prélèvements peuvent se faire jusqu'à une profondeur de 30 cm. Selon Alexander (1986), 44 échantillons sont nécessaires pour quantifier les mycorhizes avec suffisamment de précisions dans une placette de 0,04 ha.

Une considération particulière doit être réservée à l'objectif de l'étude pour fixer aussi bien en serre, en pépinière et sur le terrain la fréquence des prélèvements (Grand et Harvey, 1982). Les changements saisonniers majeurs, par exemple, peuvent être détectés par un échantillonnage mensuel sur une durée de deux ans (Alexander 1986).

Traitement des échantillons

La phase la plus critique de quantification est la préparation des racines pour examen (Grand et Harvey, 1982). Cette préparation dépend du type de mycorhizes et de la nature des échantillons auxquels on a affaire. Ses principales étapes sont le lavage, l'éclaircissement et coloration des mycorhizes, le montage et l'observation.

Lavage

L'expérience montre que plus les échantillons sont propres plus l'évaluation est rapide et précise (Grand et Harvey, 1982). Les racines sont d'abord débarrassées de leur support, le sol. La méthode la plus courante de traitement des échantillons est le tamisage humide. Elle consiste à les tremper pendant 12 à 36 heures dans l'eau ou dans une solution de pyrophosphate de sodium ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_4$) à 0,1M pour faciliter leur désagrégation (Hunt et Fogel, 1986) et à les laver après élimination de la matière organique et des grosses racines, à l'eau sur des tamis superposés. Le choix de la dimension des mailles affecte beaucoup le nombre de mycorhizes récupérées. Fogel et Hunt (1979) utilisent des mailles de 2 et de 0,355 mm pour avoir le maximum d'ectomycorhizes. Dans le cas des systèmes racinaires entiers, les plants sont remués légèrement dans un seau d'eau. Si le sol est argileux ou sec, un trempage préalable de quelques heures facilite l'opération (Garbaye, 1990). Le matériel récupéré est gardé dans l'eau.

Eclaircissement et coloration des mycorhizes

Les endomycorhizes sont systématiquement éclaircies et colorées avant toute observation microscopique. Les ectomycorhizes, par contre, peuvent être observées telles quelles immédiatement après le lavage. La technique d'éclaircissement et de coloration de Phillips et Haymann (1970) est souvent utilisée lorsqu'on a affaire à des endomycorhizes à vésicules et arbuscules. Elle est rapide et fonctionne pour un grand nombre de plantes-hôtes. Les racines sont d'abord coupées en morceaux de 1 à quelques centimètres de long, placées dans un bain de KOH (10%) à 90°C pendant 1 heure, rincées dans l'eau acidifiée à l'aide du HCl dilué, et placées dans une solution de bleu de trypan à 0,05% dans le lactophénol pendant 5 min. Des modifications de cette méthode (Kormanik *et al.*, 1980 ; Krishna et Bagyaraj, 1983) sont parfois employées.

Montage et observation

L'évaluation quantitative est réalisée à l'oeil nu ou à l'aide d'une loupe binoculaire à un grossissement de 4 à 40x quand il s'agit des ectomycorhizes (Grand et Harvey, 1982) et à la loupe ou au microscope (40 à 200x) pour les endomycorhizes (Kormanik et McGraw, 1982). On observe la totalité du système racinaire, quelques racines latérales ou portions racinaires, ou tout simplement des segments de racines de quelques centimètres seulement choisis au hasard. 3 à 10 racines latérales par plant sont suffisantes pour quantifier l'infection ectomycorhizienne (Kabre, 1982 ; Shaw III *et al.*, 1982). Pour la quantification des endomycorhizes, Toth *et al.* (1990) jugent nécessaire l'examen par plant de 40 segments racinaires d'une longueur de 2 à 3 cm. Ces segments sont montés parallèlement par groupes de 10 dans l'eau ou de la glycérine sur une lame porte-objet (Kormanik et McGraw, 1982).

Les racines sont traitées autrement lorsqu'il s'agit de dosages chimiques (par exemple, Plassard *et al.*, 1982).

Les principales techniques d'évaluation

Plusieurs méthodes de quantification des mycorhizes sont citées dans la littérature (e.g., Hepper, 1977 ; Grand et Harvey, 1982 ; Kormanik et McGraw, 1982 ; Garbaye, 1990) ; aucune n'est cependant considérée comme universelle (Marx *et al.*, 1991). Le choix d'une procédure à suivre dépend des objectifs et du coût de l'étude, de la méthode d'échantillonnage et de préparation des échantillons, de la plante-hôte, des conditions du milieu et du facteur temps (Grand et Harvey, 1982). On distingue des évaluations macroscopiques, microscopiques et chimiques.

Estimations directes

Elles consistent à estimer à l'oeil nu ou à l'aide d'une petite loupe à main le taux d'ectomycorhization des systèmes racinaires des plants élevés en serre ou en pépinière. L'observation peut porter sur les racines présentes en surface des carottes (Maronek *et al.*, 1982 ; Gagnon *et al.*, 1991) ou sur l'ensemble du système racinaire après élimination du substrat d'élevage (Berry et Marx 1977 ; Garbaye, 1984 ; Cordell *et al.*, 1987 ; Stentrom *et al.*, 1990). Les résultats obtenus par Maronek *et al.* (1982) montrent qu'en général, la mycorhization évaluée sur la carotte diffère très peu de celle notée sur le système racinaire nettoyé ; respectivement $92,0 \pm 5,8\%$ et $94,0 \pm 6,0\%$. Cette méthode d'évaluation s'est révélée par conséquent comme un moyen non destructif, efficace et relativement précis pour estimer le degré de mycorhization du système racinaire. Son utilisation reste malheureusement liée à certains types de conteneurs comme Spencer et MW.

Les estimations directes sont rapides et permettent le traitement d'un grand nombre d'échantillons. Avec de l'expérience, un plant peut être évalué en quelques secondes (Cordell *et al.*, 1987).

Comptages des mycorhizes

On y fait appel lorsqu'une quantification précise est nécessaire (Garbaye, 1990) ou si l'on veut déterminer le degré d'exactitude des estimations directes (Berry et Marx, 1977). L'observation peut porter sur l'ensemble du système racinaire ou seulement sur quelques racines latérales prélevées au hasard. Les comptages sont effectués dans l'eau sous la loupe binoculaire à un grossissement de 4 à 40x (Marx et Bryan, 1971 ; Ritcher et Bruhn, 1993). On dénombre à l'aide de compteurs à main la totalité des racines courtes mycorhizées et non mycorhizées de l'échantillon. Il est alors possible de calculer de cette façon le taux de mycorhization ou tout autre rapport (Garbaye, 1990). Les résultats obtenus à l'aide de cette technique sont inférieurs de 10% selon Marx et Bryan (1971) et d'environ 27% selon Maronek *et al.* (1982) à ceux obtenus à l'aide des estimations directes.

Cette méthode est lente et ne doit donc être utilisée que lorsque l'on a affaire à un nombre limité d'échantillons.

Méthode des intersections des lignes

Elle est connue sous le nom de méthode de Giovannetti et Mosse (1980) et elle est très fréquemment utilisée pour estimer la colonisation par les champignons endomycorhiziens. Environ 66% des articles publiés après 1980 et traitant de la quantification des endomycorhizes à VA l'ont adoptée (McGonicle *et al.*, 1990). La procédure consiste à noter au niveau d'une centaine de points d'intersection des segments racinaires éparpillés dans l'eau et des lignes d'une grille formée de carreaux de 1 cm de côté la présence ou l'absence de la colonisation. L'observation se fait sous la loupe à un grossissement de 40x.

Méthode des intersections amplifiées

McGonicle *et al.* (1990) ont constaté que la technique des intersections des lignes de Giovannetti et Mosse (1980) ne permet pas de confirmer l'infection au niveau de tous les points d'intersection et ont donc adopté cette méthode pour pouvoir quantifier plus objectivement les endomycorhizes à VA. Les racines sont observées à un grossissement suffisant pour discerner facilement la présence des arbuscules au niveau des points d'intersections. Ces racines sont au préalable coupées en segments de 1 cm de long, éclaircies, colorées et montées dans de la glycérine sur des lames porte-objet, et observées à un grossissement de 200x. Cette technique assure une bonne appréciation quantitative de la colonisation mais a comme principal inconvénient la lenteur de l'évaluation ; plus d'une heure est nécessaire pour le montage des racines sur les lames et le comptage. Son utilisation n'est conseillée que lorsque l'on cherche à déterminer l'importance des arbuscules, des vésicules et des hyphes intraracinaires (McGonicle *et al.*, 1990).

Méthode de comptage de points sur racines écrasées

On compte dans ce cas, sous le microscope à un grossissement de 100x, les points se trouvant sur l'ensemble des tissus de racines de 1 à 3 cm de long écrasées entre lame et lamelle et ceux situés sur les cellules corticales contenant des arbuscules. Pour permettre ce comptage, on accommode la réticule de l'oculaire d'une grille de comptage de points. Cette technique permet l'estimation du volume de la racine occupé par les cellules corticales contenant ou non les arbuscules. Suffisamment de points sont comptés pour que l'erreur standard pour chaque donnée soit inférieure à 5% (Toth et Toth, 1982).

Dosage de la chitine

On peut mesurer par dosage de la chitine fongique, l'intensité de l'infection mycorhizienne (Hepper, 1977 ; Bethenfalvay *et al.*, 1981 ; Plassard *et al.*, 1982 ; Vignon *et al.*, 1986 ; Johanssen, 1994). Cette mesure est effectuée par hydrolyse acide du polymère et dosage colorimétrique des résidus glucosamines (Plassard *et al.*, 1982). Les résultats obtenus montrent une bonne corrélation entre la quantité de glucosamine mesurée et le pourcentage de l'infection mycorhizienne évaluée par observation microscopique (Bodmer *et al.*, 1986 ; Johanssen, 1994). Cette technique

demande moins de temps que les opérations de comptage et constitue un bon outil pour les études écologiques des mycorhizes (Johanssen, 1994).

Dosage de l'ergostérol

Il permet la quantification de la biomasse fongique active au niveau des racines mycorhizées (Salmonwics et Nylund, 1988) et fournit donc des informations sur l'activité du mycélium et pas seulement sur sa masse pariétale. La détermination du facteur de conversion dont dépend l'interprétation de l'intensité de l'infection mycorhizienne des racines demeure cependant une étape décisive de cette méthode.

D'autres techniques comme l'analyse d'image (Smith et Dickson, 1991), les estimations de la biomasse fongique (Fogel et Hunt, 1979) et les dosages colorimétriques des pigments (Becker et Gerdmann, 1977) sont parfois employées.

Les systèmes de notation des mycorhizes

Ils reposent tous sur l'appréciation globale de l'ensemble du système racinaire, de chacune des racines latérales ou portions racinaires ou bien de chacun des fragments radiculaires observés. Pour les ectomycorhizes, les racines sont notées mycorhizées lorsqu'elles sont charnues, entourées d'un manteau fongique, dépourvues de poils absorbants et parfois ramifiées dichotomiquement. Dans les cas douteux, on fait appel à l'observation microscopique des coupes transversales pour déceler le manteau et /ou le réseau de Hartig (Marx et Bryan, 1971 ; Harvey *et al.*, 1976). Les racines sont considérées endomycorhizées lorsqu'on note la présence des arbuscules, vésicules et / ou des hyphes intraracinaires (Miller et Jastrow, 1992).

Plusieurs systèmes de notation sont utilisés pour évaluer l'importance de l'infection mycorhizienne. Le système le plus simple consiste à noter (+) les plants pourvus de mycorhizes et (-) ceux qui en sont dépourvus (Maronek *et al.*, 1982 ; Plenchette *et al.*, 1989) ; cette notation ne tient pas compte de l'intensité de la mycorhization par plant. Des cotes de 0 à 5 (Trouvelot *et al.*, 1986), de 1 à 5 (Gagnon *et al.*, 1991) ou de 0 à 3 (Garbaye, 1984) sont également employées. Chaque cote représente une classe de pourcentage de mycorhization ; 1 : 0-5% ; 2 : 6-25% ; 3 : 26-50% ; 4 : 51-75% et 5 : 76-100% par exemple. Le système proposé par Trouvelot *et al.* (1986) consiste à attribuer la note de classe comprise entre 0 et 5 à chacun des fragments racinaires observés et à noter simultanément la présence des arbuscules et des vésicules en indiquant leur classe de fréquence. La note globale de mycorhization est obtenue en faisant la moyenne sur le nombre de plants observés. Lors des comptages des ectomycorhizes, certains chercheurs (Hatch, 1937 ; Kabre 1982) comptent, pour 1 toute racine courte mycorhizée sans tenir compte de son éventuelle ramification tandis que d'autres en tiennent compte (Marx et Bryan, 1969). Parfois on va même jusqu'à distinguer entre les mycorhizes actives et non actives (Harvey *et al.*, 1976). La mesure de la longueur des racines est effectuée dans certains cas (Mosse et Phillips, 1971 ; Marx *et al.*, 1979 ; Kabre, 1982 ; Krishna et Bagyaraj, 1983 ; Claridge *et al.*, 1992).

Les paramètres d'évaluation

Pour évaluer quantitativement les mycorhizes, on emploie un certain nombre de paramètres. Les plus importants sont :

Le pourcentage de plants mycorhizés

Il correspond au rapport sur la centaine du nombre de plants pourvus de mycorhizes et du nombre total de plants observés (Maroneck *et al.*, 1982).

Le pourcentage de racines mycorhizées

Il est calculé par plant ou par échantillon en divisant le nombre de racines infectées par le nombre total de racines comptées et en multipliant par 100 (Marx *et al.*, 1977). C'est le paramètre le plus utilisé.

Les indices de mycorhization

Ils ont été utilisés par Marx (1981) pour quantifier les ectomycorhizes de *Pisolithus tinctorius* (Pt) et par LeTacon *et al.* (1988) pour d'autres champignons. L'indice de Pt est calculé par la formule suivante $a \times b/c$ où a = pourcentage de plants pourvus d'ectomycorhizes de Pt, b = pourcentage moyen de racines absorbantes avec les ectomycorhizes de Pt (incluant celles à 0%) et c = pourcentage moyen d'ectomycorhizes formées par tous les champignons incluant Pt. Sa valeur peut varier de 0 à 100 et traduit l'agressivité du champignon, l'efficacité de l'inoculum et la performance au champ (Marx *et al.*, 1991).

D'autres paramètres comme le nombre de mycorhizes par plant, le nombre de mycorhizes par longueur unitaire ou de mycorhizes actives par volume ou poids unitaire du sol, le poids des mycorhizes par surface ou volume unitaire du sol (Grand et Harvey, 1982), le pourcentage de racines colonisées par les hyphes, les arbuscules et les vésicules (McGonicle *et al.*, 1990), le pourcentage de propagation après plantation des mycorhizes du champignon introduit artificiellement et le pourcentage de colonisation par les champignons symbiotiques indigènes (McAfee et Fortin, 1986) sont parfois calculés.

Conclusion

Les pépiniéristes sont de plus en plus appelés à produire des plants bien mycorhizés. Ils doivent de ce fait être en mesure non seulement de reconnaître les plus importants types de mycorhizes qu'ils doivent avoir mais aussi de les quantifier. La plupart des techniques d'évaluation quantitative énumérées dans ce rapport sont hors de portée de cette catégorie de personnel. Des efforts doivent être déployés pour les standardiser et les rendre simples, objectives, fiables, reproductibles et reflétant autant que possible le potentiel et l'état d'activité de la symbiose.

Références

- Alexander, I. (1986). Measuring mycorrhizal biomass : Principles and problems. Dans : *Proceedings of 6th North American Conference on Mycorrhizae*, Oregon 1984, Molina, R. (éd.), Forest Res. Lab., pp. 136-138.
- Becker, W.N. et Gerdemann, J.W. (1977). Colorimetric quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in onion. *New Phytol.*, 78 : 289-295.
- Berry, C.R. et Marx, D.H. (1977). Growth of loblolly pine seedlings in strip-mined Kaolin spoil as influenced by sewage sludge. *J. Environ. Qual.*, 6(4) : 379-381.
- Bethenfalvay, G.J., Pacorsky, R.S. et Brown, M.S. (1981). Measurement of mycorrhizal infection in soy beans. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 45 : 871-875.
- Bodmer, M, Cheng, G.S. et Schnepf, H. (1986). Monitoring of vesicular-arbuscular mycorrhiza in field plots treated with selected fungicides. Dans : *Mycorrhizae : Physiology and genetics*, 1st ESM, Dijon, 1985, INRA (éd.), pp. 701-706.
- Claridge, A.W., Tanto, M.T, Seebeck, J.H., Cork, S.J. et Cunningham, R.B. (1992). Establishment of ectomycorrhizae on the roots of two species of eucalyptus from fungal spores contained in the faeces of the long nosed potroo (*Potorus tridactylus*). *Aust. J. Ecology*, 17 : 207-217.
- Cordell, C.E., Owen, J.H. et Marx, D.H. (1987). Mycorrhizae nursery management for improved seedling quality and field performance. Dans : *Meeting the challenge of the ninties : Proceedings intermountain forest nursery association*, Oklahoma, 1987, Gen. Techn. Report. RM-151 : 105-115.
- Fogel, R. et Hunt, G. (1979). Fungal and arboreal biomass in a western Oregon Douglas-fir ecosystem : Distribution patterns and turnover. *Can. J. For. Res.*, 9 : 245-256.
- Gagnon, J., Langlois, C.G. et Garbaye, J. (1991). Growth of ectomycorrhiza formation of container-grown red oak seedling as a function of nitrogen fertilization and inoculum type of *Laccaria bicolor*. *Can. J. For. Res.*, 21 : 966-973.
- Garbaye, J. (1984). Compétitivité des champignons ectomycorhiziens. Premiers résultats et application à la sélection de souches pour la mycorhization contrôlée du hêtre et du chêne rouvre dans le nord-est de la France. *Revue Forestière Française*, 36 (1) : 33-43.
- Garbaye, J. (1990). Pourquoi et comment observer l'état mycorhizien des plants forestiers. *Revue Forestière Française*, 17(1) : 35-47.
- Giovannetti, M. et Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.*, 84 : 489-500.
- Grand, L.F. et Harvey, A.E. (1982). Quantitative measurement of ectomycorrhizae on plant roots. Dans : *Methods and principles of mycorrhizal research*, Schench, N.C.

- (éd.). American Phytopathological Society, Minnesota, pp. 157-164.
- Green, D.C., Vilarino, A., Newsam, R., Jeffries, P. et Dodd, J.C. (1994). Quantification of mycelial development of arbuscular mycorrhizal fungi using image analysis. *Mycorrhiza*, 5 : 105-113.
- Harvey, A.E., Larsen, M.J. et Jurgensen, M.F. (1976). Distribution of ectomycorrhizae in a mature Douglas-fir/Larch forest soil in western Montana. *For. Sci.*, 22 : 393-398.
- Hatch, A.B. (1937). The physical basis of mycotrophy in plants. *Black Rock Forest Bull.*, 6 : 168.
- Hepper, C. (1977). A colorimetric method for estimative vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *Soil Biol. Biochem.*, 9 : 15-18.
- Hunt, G.A., et Fogel, R.D. (1986). Direct measurement of ectomycorrhizal biomass. Dans : *Proceedings of the 6th North American Conference on Mycorrhizae*, Oregon 1984, Molina, R. (éd.), Forest Res. Lab., pp. 132-135.
- Johanssen, M. (1994). Quantification of mycorrhizal infection in roots of *Calluna vulgaris* (L. Hull) from Danisk heathland. *Soil Biol. Biochem.*, 26(6) : 763-766.
- Jurgensen, M.F., Larsen, M.J. et Harvey, A.E. (1977). A soil sampler for steep, rocky sites. U.S. Dept. Agric., *J For. Ser. Res. Pap.* INI-217.
- Kabre, A. (1982). Mycorrhization de *Pinus caribaea* (Morelet) var. *Hondurensis*. Dans : *Différents sols du Sénégal*. Thèse doctorale, Université Nancy I, Nancy.
- Kormanik, P.P., Bryan, W.C. et Schultz, R.C. (1980). Procedures and equipment for staining large numbers of plant roots for endomycorrhizal assay. *Can. J. Microbiol.*, 26 : 536-538.
- Kormanik, P.P. et McGraw, A.C. (1982). Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizal in plants roots. Dans : *Methods and principles of mycorrhizal research*, Schenck, N.C. (éd.), American Phytopathological Society, Minnesota, pp. 37-45.
- Krishna, K.R. et Bagyaraj, D.J. (1983). Growth and nutrient uptake of peanut inoculated with the mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatum* compared with non inoculated ones. *Plant and Soil*, 77 : 405-408.
- LeTacon, F., Garbaye, J., Bouchard, D., Chevalier, G., Olivier, J.M., Guin Berteau, J., Poitou, N. et Frochot, H. (1988). Field results from ectomycorrhizal inoculation in France. Dans : *Atelier canadien sur l'usage des mycorrhizes en Foresterie*. Lalonde, M. et Piche, Y. (éds), CRBF, Quebec, pp. 51-74.
- Maronek, D.M., Hendrix, J.W. et Cornelius, P.L. (1982). Slow-release fertilizers optimize mycorrhizal development in container-grown pine seedlings inoculated with *Pisolithus tinctorius*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 107 (6) : 1104-1110.

- Marx, D.H. (1981). Variability in ectomycorrhizal development and growth among isolates of *Pisolithus tinctorius* as affected by source, age and re-isolation. *Can. J. For. Res.*, 11 : 168-174.
- Marx, D.H. et Bryan, C. (1969). Studies on ectomycorrhizae of pine in an electronically air-filtered, air-conditioned plant growth room. *Can. J. Bot.*, 47 : 1903-1909.
- Marx, D.H. et Bryan, W.C. (1971). Influence of ectomycorrhizae on survival and growth of aseptic seedlings of loblolly pine at high temperature. *For. Sci.*, 17 : 37-41.
- Marx, D.H., Hatch, A.B., et Mendicino, J.F. (1977). High soil fertility decreases sucrose content and susceptibility of loblolly pine roots to ectomycorrhizal infection by *Pisolithus tinctorius*. *Can. J. Bot.*, 55 : 1569-1574.
- Marx, D.H., Mexal, J.G., et Morris, W.C. (1979). Inoculation of nursery seedbeds with *Pisolithus tinctorius* spores mixed with hydromulch increases ectomycorrhizae and growth of loblolly pines. *South. J. Appl. For.*, 3(4) : 175-178.
- Marx, D.H., Ruehle, J.L. et Cordell, C.E. (1991). Methods for studying nursery and field response of trees to specific ectomycorrhiza. Dans : *Methods in microbiology*, Vol 23, Norris, J.R., Read, D.J. et Varma, A.K. (éds), Academic Press, London, pp. 383-411.
- McAfee, B.J. et Fortin, J.A. (1986). Competitive interactions of ectomycorrhizal mycobionts under field conditions. *Can. J. Bot.*, 64 : 848-852.
- McGonigle, T.P., Miller, M.H., Evans, D.G., Fairchild, G.L. et Swan, J.A. (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular fungi. *New Phytologist*, 115 : 1569-1574.
- Miller, R.M. et Jastrow, J.D. (1992). Extraradical hyphal development of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a chronosequence of prairie restorations. Dans : *Mycorrhizas in ecosystems*, Read, D.J., Lewis, D.H., Fitter, A.H. et Alexander, I.J. (éds), CAB International, pp. 171-176.
- Mosse, B. et Phillips, J.M. (1971). The influence of phosphate and other nutrients on the development of vesicular-arbuscular mycorrhiza in culture. *J. Gen. Microbiol.*, 69 : 157-163.
- Phillips, J.M. et Haymann, D.S. (1970). Improved proceeding for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans.Br. Mycol. Soc.*, 55(1) : 158-161.
- Plassard, C.S., Mousain, D.G. et Salsac, L.E. (1982). Estimation of mycelial growth of basidiomycetes by means of chitin determination. *Phytochemistry*, 21 : 345-348.
- Plenchette, C., Perrin, R et Duvert, P. (1989). The concept of soil infectivity and a method for its determination as applied to ectomycorrhizas. *Can. J. Bot.*, 67 : 112-105.

- Richter, D.L. et Bruhn, J.N. (1993). Mycorrhizal fungus colonization of *Pinus resinosa* Ait transplanted on northern hardwood clearcuts. *Soil Biol. Biochem.*, 25(3) : 355-369.
- Salmanowicz, B. et Nylund, J.E. (1988). High performance liquid chromatography determination of ergosterol as a measure of ectomycorrhiza infection in Scots pine. *Em. J. For. Path.*, 18 : 291-298.
- Shaw III, G.G., Molina, R. et Walden, J. (1982). Development of ectomycorrhizae following inoculation of containerized sitka and white spruce seedlings. *Can. J. For. Res.*, 12 : 191-195.
- Smith, S.E. et Dickson, S. (1991). Quantification of active vesicular-arbuscular mycorrhizal infection using image analysis and other techniques. *Aust. J. Plant Physiol.*, 18 : 637-648.
- Stentrom, E., Ek, M. et Unestam, T. (1990). Variation in field response of *Pinus sylvestris* to nursery inoculation with four different ectomycorrhizal fungi. *Can. J. For. Res.*, 20 : 1796-1803.
- Taylor, H.M., Upchurch, D.R., Brown, J.M. et Rogers, H.H. (1991). Some methods of root investigations. Dans : *Plant roots and their environment*, McMichael, B.L. et Person, H. (éds). Elsevier, pp. 553-564.
- Toth, R. et Toth, D. (1982). Quantifying vesicular-arbuscular mycorrhizae using a morphometric technique. *Mycologia*, 74(2) : 182-187.
- Toth, R., Toth, D., Starke, D. et Smith, D.R. (1990). Vesicular arbuscular mycorrhizal colonization in *Zea mays* affected by breeding for resistance to fungal pathogens. *Can. J. Bot.*, 68 : 1039-1044.
- Trouvelot, A., Kough, J.L. et Gianinazzi-Pearson, V. (1986). Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherches et méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. Dans : *Aspects physiologiques et génétiques des mycorrhizes*, Dijon, 1985. INRA (éd.), pp. 217-221.
- Vignon, C., Plassard, J.C., Mousain, D. et Salsac, L. (1986). Assay of fungal chitin and estimation of mycorrhizal infection. *Physiol. Végétale*, 24 : 201-207.