



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

Thèse
présentée en vue de l'obtention du titre de
Docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy I
en **Géosciences**
(thèse en co-tutelle)

par **Arsène Alain SANON**

Le concept de niche écologique associé à la co-existence des espèces végétales : mise en évidence du rôle de la symbiose mycorhizienne et de sa microflore associée dans la structuration de la strate herbacée en milieu tropical

Soutenue publiquement le 12 janvier 2009

Membres du jury :

Mme Corinne LEYVAL	Directeur de Recherche – CNRS-LIMOS, Nancy	Présidente
Mme Monique CARNOL	Professeur – Université de Liège	Rapporteur
M. Jean Charles MUNCH	Professeur – Technical University of Munich	Rapporteur
M. Marc-André SELOSSE	Professeur – Université de Montpellier II	Examineur
M. Ibrahima NDOYE	Professeur – UCAD, Dakar	Examineur
M. Jacques BERTHELIN	Directeur de Recherche – CNRS-LIMOS, Nancy	Directeur de thèse
M. Robin DUPONNOIS	Directeur de Recherche – IRD, Dakar	Directeur de thèse
M. Samba Ndao SYLLA	Maître de Conférences, HDR – UCAD, Dakar	Directeur de thèse
M. Rodolphe SPICHIGER	Professeur – Université de Genève	Invité



Laboratoire des Interactions Microorganismes - Minéraux -
Matière Organique dans les Sols
UMR 7137 C.N.R.S. - Nancy Université
Faculté des Sciences et Techniques BP 70239
54506 Vandoeuvre-lès-Nancy Cedex - France



Laboratoire Commun de Microbiologie IRD/ISRA/UCAD
Centre de Recherche de Bel Air
BP 1386 CP 18524
Dakar - Sénégal

Thèse
présentée en vue de l'obtention du titre de
Docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy I
en **Géosciences**
(thèse en co-tutelle)

par **Arsène Alain SANON**

Le concept de niche écologique associé à la co-existence des espèces végétales : mise en évidence du rôle de la symbiose mycorhizienne et de sa microflore associée dans la structuration de la strate herbacée en milieu tropical

Soutenue publiquement le 12 janvier 2009

Membres du jury :

Mme Corinne LEYVAL	Directeur de Recherche – CNRS-LIMOS, Nancy	Présidente
Mme Monique CARNOL	Professeur – Université de Liège	Rapporteur
M. Jean Charles MUNCH	Professeur – Technical University of Munich	Rapporteur
M. Marc-André SELOSSE	Professeur – Université de Montpellier II	Examineur
M. Ibrahima NDOYE	Professeur – UCAD, Dakar	Examineur
M. Jacques BERTHELIN	Directeur de Recherche – CNRS-LIMOS, Nancy	Directeur de thèse
M. Robin DUPONNOIS	Directeur de Recherche – IRD, Dakar	Directeur de thèse
M. Samba Ndao SYLLA	Maître de Conférences, HDR – UCAD, Dakar	Directeur de thèse
M. Rodolphe SPICHIGER	Professeur – Université de Genève	Invité



Laboratoire des Interactions Microorganismes - Minéraux -
Matière Organique dans les Sols
UMR 7137 C.N.R.S. - Nancy Université
Faculté des Sciences et Techniques BP 70239
54506 Vandoeuvre-lès-Nancy Cedex - France



Laboratoire Commun de Microbiologie IRD/ISRA/UCAD
Centre de Recherche de Bel Air
BP 1386 CP 18524
Dakar - Sénégal

Remerciements

Les mots sont souvent insuffisants pour exprimer ses remerciements aux personnes qui vous ont aidés à grandir et mûrir, et se sentir bien en place dans la vie comme au travail.

Je commencerai par ma famille, ma mère et mon père qui ont toujours cru en moi et toujours donné les moyens d'aboutir à ce que j'avais décidé de réaliser dans la vie. Jamais je ne vous en remercierai assez. Mes sœurs, Eugénie, Béatrice et Patricia et mon frère Hervé que je n'ai pas eu l'occasion de voir souvent depuis que j'ai entamé cette thèse, je sais que vous pensez beaucoup à moi, en témoignent les cadeaux dès que vous en avez l'occasion. Un très grand merci également à François d'Assise YAMÉOGO (mon beau frère !!!) pour l'oreille attentive, les conseils et le soutien inestimable. À mes neveux Arold Edson (mon filleul !!!) et Steve Donald, je ne vous ai pas vu grandir... J'en suis désolé ! À ma sœur Irène, qui fût enlevée très tôt à notre affection. Je te porte toujours dans mes pensées.

Merci également à Robert COMPAORÉ, son épouse Suzanne et leurs deux fils Elvis et Irwin. Vous connaître a été fort plaisant !!

Ce travail est le fruit d'un long chemin entamé depuis juillet 2003 au laboratoire de Biopédologie du centre IRD de Ouagadougou (Burkina Faso) où je réalisais mes premières expériences en microbiologie du sol dans le cadre de mon stage de DESS. Robin DUPONNOIS a ainsi le mérite de m'avoir initié au monde oh combien grandiose des mycorhizes. J'ai donc continué ce bout de chemin qui s'est ensuite traduit par la réalisation de mon stage du DEA National de Sciences du Sol (dont les cours théoriques ont été effectués à Nancy) encore au laboratoire de Biopédologie de Ouagadougou. Je faisais au cours de ce DEA la rencontre de Jacques BERTHELIN qui a aussitôt accepté de co-encadrer mon stage de DEA. Grâce à ces deux encadreurs, l'idée de pouvoir continuer en thèse est devenue une réalité pour moi. À la faveur de l'affectation de R. DUPONNOIS au centre IRD de Dakar (Sénégal) en 2005, je me retrouvais alors à faire la thèse entre le Laboratoire des Interactions Microorganismes-Minéraux-Matière Organique dans les Sols (LIMOS, UMR 7137) de Nancy et le Laboratoire Commun de Microbiologie IRD/ISRA/UCAD (LCM) de Dakar. Samba Ndao SYLLA de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar acceptait lui aussi de faire partie de mon encadrement. J'ai donc eu la chance d'avoir trois directeurs de thèse que je remercie sincèrement et très vivement pour l'intérêt qu'ils ont toujours porté à mes travaux. Je tiens également à leur exprimer toute ma gratitude pour leur rigueur scientifique, leur constante disponibilité et pour la qualité des relations humaines.

Je veux dire toute ma reconnaissance aux membres du jury. Merci à Corinne LEYVAL d'avoir bien voulu le présider, à Monique CARNOL et Jean-Charles MUNCH d'avoir accepté d'être rapporteurs de ce travail, à Marc-André SELOSSE, Ibrahima NDOYE et Rodolphe SPICHIGER d'avoir accepté d'y prendre part en tant qu'examineurs et chercheur invité respectivement.

Je tiens à remercier Corinne LEYVAL, directrice du LIMOS et Samba SYLLA, directeur du LCM à mon arrivée à Dakar, de m'avoir accepté dans leurs laboratoires respectifs et de m'avoir permis de travailler dans de bonnes conditions. Ces lignes traduisent toute mon admiration et ma reconnaissance.

J'ai rencontré des personnes de qualité durant mes séjours dans les deux laboratoires. Au LIMOS, Thierry BEGUIRISTAIN et Aurélie CEBRON m'ont été d'une précieuse aide lors de mes expérimentations de biologie moléculaire. À mes collègues thésards et post-doc du LIMOS: Norbert, Emile, Jeanne, Paul-Olivier, Clarisse, Brice, Cécile, Fabien et Goshia, je leur dis merci pour les bons moments à la nancéenne. Collette (merci grandement d'avoir lu mon manuscrit), Chantal, Dominique, Christian, Patrick, Anne, Sylvie DOUSSET, Hervé, Jojo, Christine, Corinne F., Sylvie DESOBRY, Géraldine, David, vous avez beaucoup facilité mes séjours au LIMOS.

Au centre IRD de Dakar où j'ai passé plus de temps, je tiens à remercier les personnes qui m'ont souvent prêté l'oreille: Seydou SALL, Diégane DIOUF, Aboubacry KANE, Ibrahima NDOYE, Mamadou GUEYE, Anna Marthe KONTE, Aliou FAYE, Maimouna CISSOKHO, Francis Do REGO, Ngoné FAYE, Jean BAKHOUM, Mathieu FAYE, Paul TENDENG, Cheikh NDIAYE, Ousseynou GUEYE, Anicet MANGA, Mansour THIAO. À mes collègues thésards ou ex-thésards : Dioumacor, Fatou G., Mansour G., Fatou N. Niokhor, Godar, Abdoulaye, Sabelle, Hélène, Thierno, Nirina, Hanane, Naina, Lahcen, merci pour la bonne humeur et les discussions enrichissantes, plus ou moins scientifiques, de fois sociales également...

Mes remerciements à l'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) pour avoir financé ma mobilité entre les deux laboratoires.

Hamdiata Sanou, Anita et Maghan: merci de votre disponibilité et hospitalité toujours grandissantes.

Macoumba El HADJ NDOUR, Mamadou NGOM, Kébé NDOYE et vos familles respectives m'ont fait revivre la chaleur familiale à Dakar. Je ne saurai jamais vous remercier assez.

À la famille NDOYE, aux jumelles Fatou et Soukeyna, à Guy THIAM rencontrés à Dakar et qui ont su m'illustrer la "téranga" sénégalaise, les mots me manquent pour vous exprimer ma reconnaissance. Vous avez fait de moi un membre de la famille. Je ne peux que vous souhaiter la grâce divine en retour. Je promets d'entretenir et de toujours faire briller ce joyau qu'est devenue cette relation.

Fa, tu as toujours été là quand il le fallait et tu n'as jamais manqué de me rendre service à chaque fois que je te le demandais. Je te dis plus que "merci". Tu pourras aussi compter sur moi...

Je remercie vivement tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail ; sachez que je ne vous oublierai jamais.

Pour finir, je vous invite quand même à lire les quelques pages qui suivent car, je vous l'assure, rien ne serait fait sans vous tous...

**Le concept de niche écologique associé à la co-existence des espèces végétales :
mise en évidence du rôle de la symbiose mycorhizienne et de sa microflore associée
dans la structuration de la strate herbacée en milieu tropical**

Résumé

Le fonctionnement et la stabilité des écosystèmes terrestres sont principalement dépendants de la richesse et de la composition des peuplements végétaux. De plus, la dynamique des végétaux est fortement liée au développement de la composante biotique tellurique, en particulier les microorganismes. L'objectif principal de cette étude était de définir le rôle de la symbiose mycorhizienne et de sa flore mycorhizosphérique dans l'organisation et dans l'évolution de quelques communautés végétales caractéristiques d'écosystèmes sahéliens.

Les expérimentations ont porté sur trois axes principaux correspondant à trois états d'évolution des systèmes sol – microorganismes – plantes : (i) l'implication des champignons mycorhiziens à arbuscules (champignons MA) dans les mécanismes de co-existence végétale dans un écosystème herbacé faiblement anthropisé ; (ii) l'étude de l'impact des champignons MA dans l'atténuation des effets allélopathiques des essences exotiques à croissance rapide [*Gmelina arborea* Roxb, *Eucalyptus camaldulensis* (largement utilisés lors des programmes de reboisement sous les tropiques)] sur les organismes natifs (communautés microbiennes et herbacées) et enfin, (iii) l'étude de l'effet de l'invasion du sol par une herbacée exotique (*Amaranthus viridis*) sur la structure et le fonctionnement de certaines communautés microbiennes du sol (champignons MA, bactéries totales, rhizobia), la disponibilité dans le sol de C, N, P et la régénération de cinq espèces d'*Acacia* sahélien. Les résultats indiquent que (i) la présence et l'abondance des champignons MA dans le sol, ainsi que la richesse en phosphore, peuvent fortement influencer la co-existence entre plantes et déterminer la répartition des espèces végétales dans les écosystèmes telluriques ; (ii) les champignons MA constituent des agents biologiques qui favorisent la croissance des plantes et permettent de restaurer les sols dégradés et de promouvoir la biodiversité végétale et enfin, (iii) l'invasion de *Amaranthus viridis*, une espèce végétale faiblement mycotrophe, modifie profondément certaines caractéristiques biochimiques du sol et réduit significativement les potentiels infectieux mycorhizien et rhizobien dans le sol, compromettant ainsi la survie des plants d'*Acacia*. Cependant, l'inoculation des plants avec des propagules de champignon MA permet de réduire significativement l'effet dépressif de la plante invasive sur le développement des Acacias.

Mots clefs : champignons mycorhiziens à arbuscules ; rhizobia ; *Gmelina arborea* Roxb ; *Eucalyptus camaldulensis* ; *Amaranthus viridis* ; co-existence des espèces végétales ; allélopathie ; plantes invasives ; biodiversité ; écosystèmes sahéliens.

**The concept of ecological niche associated with the coexistence of plant species:
role of mycorrhizal fungi and their associated microflora
in herbaceous layer structuration in tropical ecosystems**

Abstract

The functioning and stability of terrestrial ecosystems are mainly determined by plant specific richness and composition. Moreover, plant species dynamics are strongly correlated to soil organism development, in particular, soil microorganisms. The purpose of this study was to define the role of mycorrhizal symbiosis and its mycorrhizospheric flora in the organization and evolution of some plant communities characteristic of sahelian ecosystems.

The work undertaken within the frame of this study concerns three main axes corresponding to three levels of soil – microorganisms – plant systems evolution: (i) the implication of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) like Agent-mediated coexistence processes in an herbaceous weakly disturbed ecosystem; (ii) the study of the impact of AMF like Agent-mediated allelopathic effect of exotic fast growing trees [*Gmelina arborea* Roxb, *Eucalyptus camaldulensis* (largely used in reafforestation programmes)] on endogenous organisms (herbaceous and soil microbial communities) and lastly, (iii) the study of soil invasion by an exotic herbaceous plant [*Amaranthus viridis*] on soil microbial community (AMF, total bacteria, rhizobia) structure and function, on C, N, P availability in soil and, on the regeneration of five sahelian *Acacia* species. The results indicate that (i) the presence and abundance of AMF in soils, associated with P availability, could strongly mediate plant species coexistence processes and thus, determine plant species partitioning in terrestrial ecosystems; (ii) AMF's are biological agents which optimize plant growth, restore degraded lands and promote plant biodiversity and finally, (iii) *Amaranthus viridis*, a very weakly mycotrophic plant species, alters soil chemistry and promotes a reduction in soil mycorrhizal and rhizobial communities after its invasion, thus compromising the survival of *Acacia* seedlings. Furthermore an increase in soil mycorrhizal propagules could make it possible to mitigate significantly the depressive effect of the invasive plant on the re-establishment of these *Acacia* species.

Key words: arbuscular mycorrhizal fungi; rhizobia; *Gmelina arborea* Roxb; *Eucalyptus camaldulensis*; *Amaranthus viridis*; plant species coexistence; allelopathy; invasive plants; biodiversity; sahelian ecosystems.

Liste des publications

Article 1 :

Sanon A, Martin P, Thioulouse J, Assigbetse K, Prin Y, Spichiger R, Berthelin J, Galiana A, Dreyfus B, Duponnois R. Diversity and spatial distribution of plant species are linked to the genetic and functional diversity of microbial communities in Natural Sahelian grassland. (en préparation pour soumission).

Article 2:

Sanon A, Kisa M, Martin P, Prin Y, Berthelin J, Galiana A, Ducouso M, Spichiger R, Duponnois R. Feedback between plants and arbuscular mycorrhizal fungi is dependent on the mycorrhizal propagule density in a early successional arid ecosystem. (en préparation pour soumission).

Article 3:

Sanon A, Martin P, Thioulouse J, Plenchette C, Spichiger R, Lepage M, Duponnois R (2006) Displacement of an herbaceous plant species community by mycorrhizal and non-mycorrhizal *Gmelina arborea*, an exotic tree, grown in a microcosm experiment. ***Mycorrhiza* 16 : 125-132.**

Article 4:

Kisa M, **Sanon A**, Thioulouse J, Assigbetse K, Sylla S, Dieng L, Berthelin J, Prin Y, Galiana A, Duponnois R (2007) Arbuscular mycorrhizal symbiosis alters the influence of an exotic tree species on the structure and function of soil microbial communities in a sahelian soil. ***FEMS Microbiology Ecology* 62 : 32-44.**

Article 5 :

Sanon A, Beguiristain T, Cébron A, Berthelin J, Leyval C, Sylla S, Duponnois R. Changes in soil diversity and functions following invasions of the exotic invasive plant, *Amaranthus viridis* L., decrease the growth of native sahelian *Acacia* species. (soumis à FEMS Microbiology Ecology).

Article 6: (Annexes)

Sanon A, Beguiristain T, Sylla S., Berthelin J, Duponnois R (2008) The exotic invasive plant, *Amaranthus viridis*, suppresses the growth of native *Acacia* by altering soil microbial communities structure and functionalities in a Sahelian ecosystem. Proceedings Book of The Third International Meeting on Environmental Biotechnology and Engineering (3IMEBE) ; Palma de Mallorca (Spain), 21-25 september 2008.

Remerciements
Résumé – Abstract
Liste des publications

SOMMAIRE.....	1
1. INTRODUCTION.....	3
1.1. PROBLEMATIQUE SCIENTIFIQUE ET OBJECTIF DU TRAVAIL DE THESE.....	3
1.2. DEMARCHE EXPERIMENTALE.....	6
2. PARTIE I : ETAT DES CONNAISSANCES.....	9
2.1. LE CONTINUUM SOL – PLANTES – MICROORGANISMES.....	9
2.1.1. Le sol : un compartiment des écosystèmes terrestres biologiquement très actif.....	9
2.1.2. La symbiose mycorhizienne.....	11
2.1.2.1. Les mycorhizes : partenaires privilégiées des plantes.....	11
2.1.2.2. Les champignons mycorhiziens dans les agrosystèmes : leur rôle écologique.....	14
2.1.2.3. Interactions biologiques dans la rhizosphère.....	16
2.1.2.4. Gestion durable du Potentiel Infectieux Mycorhizogène (PIM) des sols pour une meilleure valorisation des ressources naturelles telluriques.....	19
2.2. LA CO-EXISTENCE DES ESPECES VEGETALES.....	21
2.2.1. Quelques concepts et définitions.....	21
2.2.2. Stratégies d’occupation du sol par les espèces végétales.....	22
2.2.2.1. Quelques modèles basés sur les théories mathématiques appliqués à l’écologie.....	22
2.2.2.2. La compétition.....	26
2.2.2.3. Les interactions avec les microorganismes telluriques.....	29
2.2.2.4. D’autres facteurs susceptibles d’influencer les mécanismes de co-existence entre espèces végétales.....	31
2.3. LES ESPECES VEGETALES INVASIVES.....	32
2.3.1. Les plantes invasives : définition, origine du phénomène.....	32
2.3.2. Les impacts économiques et environnementaux liés à l’invasion par les espèces exotiques.....	33
2.3.3. Les facteurs pouvant expliquer la vulnérabilité des écosystèmes à l’invasion des organismes exogènes (anglais : “invasibility”).....	34
2.3.3.1. Les niches vacantes, sous- ou inutilisées.....	35
2.3.3.2. La “délivrance” des ennemis naturels.....	35
2.3.3.3. La richesse spécifique des communautés endogènes.....	35
2.3.3.4. Les perturbations écologiques.....	36
2.3.3.5. Les changements globaux.....	36
2.3.4. L’aptitude d’une espèce végétale à devenir invasive (anglais : “invasiveness”).....	37
2.3.4.1. Les caractéristiques de reproduction et de mode de vie.....	37
2.3.4.2. La compétition.....	38
2.3.4.3. Les modifications des communautés microbiennes et des cycles biogéochimiques du sol.....	39
2.3.5. Restauration écologique post-invasion : rôle de la composante microbienne tellurique.....	43
2.4. CONCLUSION.....	45

3. Partie II – MECANISMES DE COLONISATION DU SOL PAR LES HERBACEES : EFFETS DES CHAMPIGNONS MA ET DU PHOSPHORE DANS LES MECANISMES REGISSANT LA CO-EXISTENCE ENTRE ESPECES HERBACEES.....	47
3.1. INTRODUCTION.....	48
3.2. DEMARCHE EXPERIMENTALE.....	49
3.3. RESULTATS.....	51
3.4. DISCUSSION.....	56
3.5. CONCLUSION.....	62
Article 1.....	63
Article 2.....	97
4. Partie III – INTERACTIONS ENTRE LIGNEUX EXOTIQUES ET HERBACEES LOCALES : EFFETS DES CHAMPIGNONS MA SUR LES PHENOMENES D’ALLELOPATHIE.....	113
4.1. INTRODUCTION.....	114
4.2. DEMARCHE EXPERIMENTALE.....	115
4.3. RESULTATS.....	116
4.4. DISCUSSION.....	120
4.5. CONCLUSION.....	122
Article 3.....	123
Article 4.....	131
5. Partie IV – INTERACTIONS PLANTE INVASIVE-ACACIAS SAHELIENS : ETUDE DES EFFETS POST-INVASION SUR LE BIOFONCTIONNEMENT DU SOL ET LA CROISSANCE DES ACACIAS SAHELIENS, ET EFFETS DE L’INOCULATION MYCORHIZIENNE SUR LA REGENERATION DES ACACIAS.....	145
5.1. INTRODUCTION.....	146
5.2. DEMARCHE EXPERIMENTALE.....	147
5.3. RESULTATS.....	149
5.4. DISCUSSION.....	155
5.5. CONCLUSION.....	157
Article 5.....	159
6. Partie V : DISCUSSION GENERALE.....	189
6.1. LES CHAMPIGNONS MA : DES AGENTS ACTIFS DE LA CO-EXISTENCE ET DE LA BIODIVERSITE VEGETALE DANS LES ECOSYSTEMES TERRESTRES VIA LE MODELE “AGENT-MEDIATED PLANTS COEXISTENCE” ?.....	190
6.2. LES PERTURBATIONS DE LA STRUCTURE ET DU FONCTIONNEMENT DES COMMUNAUTES MICROBIENNES DU SOL : CLEF DU SUCCES DES PROCESSUS D’INVASION PAR LES PLANTES EXOTIQUES ?.....	195
7. CONCLUSION GENERALE – PERSPECTIVES.....	203
8. REFERENCES CITEES.....	207
9. ANNEXES.....	229

Introduction

1. INTRODUCTION

1.1. Problématique scientifique et objectif du travail de thèse

La diversité biologique, sous toutes ses formes, est assujettie à des changements à un rythme et à une amplitude sans précédent, résultant principalement des diverses activités humaines (COP-CBD, 2006). L'ampleur des changements constatés est si élevée, qu'elle affecte le fonctionnement des écosystèmes et modifie les usages que l'homme en faisait. La perte de la biodiversité constitue actuellement l'un des aspects les plus préoccupants de la crise écologique mondiale. De plus, le développement économique est vital pour la réalisation des **Objectifs du Millénaire pour le Développement**, mais sa viabilité à long terme sera minée tant que les questions de la diversité biologique ne seront pas prises en compte (COP-CBD, 2006).

La biodiversité, c'est-à-dire '**la diversité de la vie sur terre**' est essentielle au fonctionnement des écosystèmes et à la provision des *services écosystémiques*, qui à terme affectent la vie de l'homme. Cependant, il est de mieux en mieux accepté que les changements climatiques d'une part, et, la simplification et l'artificialisation grandissantes de l'environnement (changements d'usage des terres et des milieux aquatiques) d'autre part, constituent les sources majeures de menace de la biodiversité végétale (Sala *et al.*, 2000). À cela s'ajoute la facilité de transport et de déplacement des marchandises, qui associée aux autres perturbations d'origine anthropique (fertilisation chimique, surexploitation des ressources, etc ...), augmentent l'apparition et la prolifération des plantes exotiques invasives. Tous ces phénomènes, séparément ou en combinaison, sont à même d'affecter la composition, le fonctionnement et la stabilité des communautés vivantes. La Convention sur la Diversité Biologique (Nations Unies, 1992) définit **la perte de biodiversité** comme "*la réduction quantitative et qualitative, à long terme ou de façon permanente, des composantes de la diversité biologique et de leur capacité à fournir des biens et services, mesurée à des échelles globales, régionales ou nationales*".

La restauration et la préservation de la biodiversité doivent donc être retenues par les politiques et par la recherche comme des priorités majeures dans les stratégies de lutte contre la pauvreté et de développement durable, dans les pays du Sud en particulier. En effet, il a été montré que ce sont les populations les plus démunies qui souffrent le plus de cette baisse de la biodiversité, car leur subsistance en majeure partie en dépend (*Millennium Ecosystem Assessment*, 2005 ; Diaz *et al.*, 2006). La biodiversité participe, directement ou indirectement, sous différentes formes au bien être de la biosphère et en particulier de l'homme. Elle joue un rôle fondamental dans

l'alimentation et dans la qualité des sols et des eaux. De plus, elle est pourvoyeuse de ressources médicinales, de matériaux de construction et de diverses ressources renouvelables. Au point de vue environnemental, la diversité biologique participe au recyclage des éléments nutritifs, à la résilience des écosystèmes, à la régulation des variations climatiques, etc ...

Les communautés végétales sont en particulier très affectées par cette perte de diversité et par l'homogénéisation des écosystèmes. Or il a été bien établi que le fonctionnement et la stabilité des écosystèmes telluriques sont principalement dépendants de la composition et de la diversité spécifiques des couverts végétaux (Tilman *et al.*, 1996 ; Hooper & Vitousek, 1997). En effet, la perte de la couverture végétale d'une façon générale est très fortement corrélée à une dégradation (physique, chimique et biologique) des terres qui perdent leur potentiel productif (Piéri, 1989).

La capacité de plusieurs espèces végétales à co-exister et à déterminer ainsi la biodiversité du biotope hôte a été expliquée par divers mécanismes dont :

- la répartition spatiale et temporelle des ressources nutritives (Ricklefs, 1977) ;
- la compétition interspécifique (Aarsen, 1983) ;
- les perturbations édaphiques qui créent des zones ou '*patches*' pour de nouvelles colonisations (Huston, 1979)
- et de plus en plus, les interactions avec les autres organismes constituant les écosystèmes (Bever *et al.*, 1997 ; van der Heijden *et al.*, 1998a).

Parmi ces facteurs biotiques, les communautés microbiennes du sol constituent une composante clef dans les relations plante – plante. Celles-ci jouent un rôle déterminant dans la structuration et dans la dynamique des communautés végétales épigées (Bever *et al.*, 1997 ; van der Heijden *et al.*, 1998a). Les champignons mycorhiziens font ainsi partie de cette microflore tellurique. Ils colonisent le système racinaire de la quasi-totalité des végétaux pour former une symbiose appelée **mycorhize**. La symbiose mycorhizienne facilite principalement la mobilisation et l'assimilation du phosphore (Jakobsen *et al.*, 1992 ; Smith & Read, 1997) et de l'eau (Smith et Read, 1997) par les plantes. Les champignons mycorhiziens constituent un lien essentiel entre le sol et la plante et jouent un rôle important dans la dynamique des écosystèmes (Bever *et al.*, 1997 ; van der Heijden *et al.*, 1998a). Par conséquent cette symbiose qui est susceptible d'améliorer la croissance et la survie des plantes peut influencer la composition, la productivité et la biodiversité des communautés végétales (van der Heijden *et al.*, 1998a). En retour, la diversité de la flore épigée a des influences très marquées sur la diversité et l'activité des microorganismes symbiotiques dans les écosystèmes (Grayston *et al.*, 1996 ; Gransee & Wittenmayer, 2000).

Ainsi, “pouvoir continuer à produire de la biomasse végétale de manière à ne pas compromettre l’intégrité environnementale et la santé publique” constitue un **challenge** pour notre décennie (Tilman *et al.*, 2002) auquel l’utilisation harmonieuse des microorganismes symbiotiques du sol devrait nous aider à aboutir (SBSTTA, 2001).

Les écosystèmes tropicaux et méditerranéens sont considérés comme des systèmes écologiques très fragiles vis-à-vis des pressions anthropiques. Paradoxalement, il n’existe que peu d’études qui ont été consacrées à l’impact des activités anthropiques sur l’évolution des formations végétales terrestres en prenant en compte les mécanismes biologiques régissant la co-existence des plantes dans ce type de milieu et en conséquence, les processus assurant la biodiversité végétale. En particulier, et depuis de nombreuses décennies, l’Homme a introduit de nombreuses espèces exotiques (plantations forestières, espèces de grande culture, etc) sans évaluer leur impact sur les caractéristiques “natives” du milieu hôte.

L’objectif principal de ce travail est de définir le rôle de la symbiose mycorhizienne à arbuscules (symbiose MA) et de sa microflore associée (effet mycorhizosphérique) dans l’organisation et l’évolution des formations végétales *via* leur influence sur les mécanismes de co-existence dans des communautés végétales caractéristiques d’écosystèmes sahéliens. L’hypothèse scientifique à partir de laquelle a été construit ce travail est la suivante : “*La symbiose MA occupe une position centrale dans le fonctionnement biologique du système plante - sol : elle induit des modifications dans les interactions compétitives entre plantes et influence ainsi les mécanismes de co-existence des espèces végétales*”.

Spécifiquement, il s’agira de répondre à trois questions principales : les champignons mycorhiziens à arbuscules peuvent – ils :

(i) structurer l’activité microbienne mycorhizosphérique et la biodisponibilité des nutriments et ainsi moduler les processus de colonisation du sol par des espèces végétales ?

(ii) atténuer l’effet antagoniste des plantes exotiques (*Gmelina arborea* et *Eucalyptus camaldulensis*) sur les organismes endogènes (herbacées et microorganismes telluriques) et ainsi promouvoir la co-existence des plantes ?

(iii) favoriser la restauration de la flore native (Exemple : *Acacia* spp. sahéliens) en améliorant la croissance de ces plantes sur des sols dont les propriétés chimiques et biologiques ont été profondément modifiées et perturbées par l’invasion d’une plante exotique, *Amaranthus viridis* ?

1.2. Démarche expérimentale

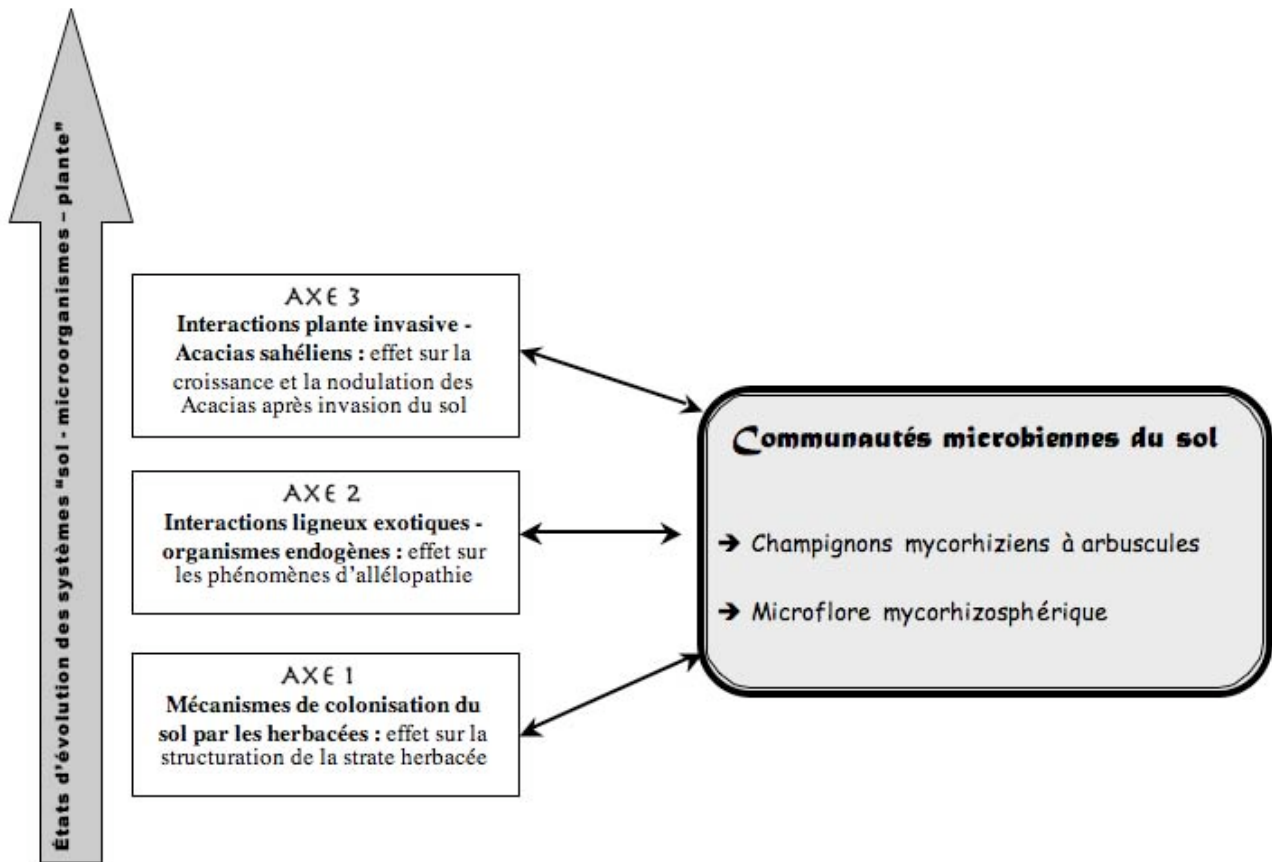


Figure 1 : Représentation schématique des axes de recherche développés.

Pour atteindre notre objectif, les travaux menés ont porté sur trois (3) axes principaux (figure 1) correspondant à trois (3) états d'évolution des systèmes "sol – microorganismes – plante" :

(i) Partie 1: **Mécanismes de colonisation du sol par les herbacées** : cet axe vise une meilleure compréhension des mécanismes de co-existence des plantes de la strate herbacée dans un milieu naturel peu perturbé en définissant l'implication des microorganismes symbiotiques (champignons MA) comme agents de facilitation de cette co-existence ;

(ii) Partie 2: **Interactions entre ligneux exotiques et organismes endogènes** : cette partie abordera l'étude de l'impact des champignons MA comme agents d'atténuation du phénomène d'allélopathie des ligneux exotiques à croissance rapide [*Gmelina arborea* Roxb., *Eucalyptus camaldulensis*] largement utilisés lors des reboisements sur les organismes endogènes (strate herbacée, communautés microbiennes du sol) ;

(iii) Partie 3: **Interactions entre plante invasive et Acacias sahéliens** : cette étude portera sur la mise en évidence des effets *post - invasion* du sol par une herbacée exotique et

invasive [*Amaranthus viridis*] sur la structure et le fonctionnement des communautés microbiennes telluriques (bactéries totales, champignons MA, rhizobia) et l'effet de l'inoculation par des champignons MA sur la régénération de cinq espèces d'*Acacia* sahélien. Ces Acacias appartenant à la famille des légumineuses présentent un grand intérêt car ils jouent des rôles écologiques (haies brise-vent, fixation des dunes, fertilisation des sols, ...) et socio-économiques (production de gomme arabique, de bois, de fourrage...) considérables pour ces régions.

La présentation des travaux réalisés et des résultats obtenus est faite en distinguant trois parties. Ces trois parties sont présentées sous la forme d'articles publiés ou soumis ou en préparation. Elle est précédée d'une introduction générale suivie d'un état synthétique des connaissances actuelles sur les axes de recherche développés dans ce projet. Les principaux résultats obtenus de ces expérimentations seront par la suite discutés et la dernière partie du document soulignera les principales conclusions et les perspectives.

Partie I :

État des connaissances

2. Partie I : ÉTAT DES CONNAISSANCES

2.1. Le continuum Sol – Plantes – Microorganismes

2.1.1. Le sol : un compartiment des écosystèmes terrestres biologiquement très actif

Le sol représente la couche superficielle de l'écorce terrestre, à l'interface entre la lithosphère et l'atmosphère, résultant de la transformation de la roche mère enrichie par des apports organiques et caractérisé par la présence de vie. Il est un support et une ressource de base pour la plupart des activités humaines.

À une échelle plus fine, le sol peut être considéré comme un milieu où de nombreux microorganismes interagissent, directement ou indirectement, les uns avec les autres, avec les plantes, la faune et le sol (Girard *et al.*, 2005 ; Albino & Andrade, 2006). Il constitue de ce fait un **réacteur biologique** très actif car est le siège de réactions biochimiques très diverses.

Une des principales voies par laquelle le carbone atmosphérique intègre son cycle biogéochimique dans le sol est celle de la production primaire des plantes c'est-à-dire la fixation par la photosynthèse du carbone puis son incorporation *via* le *turnover* de la matière organique sénescente et celui des rhizodépôts d'exsudats (Marschner, 1997 ; Carpenter-Boggs *et al.*, 2000 ; Six *et al.*, 2006). Pour de nombreux autres éléments chimiques et même certains xénobiotiques se retrouvant également dans les sols, les microorganismes sont fortement impliqués dans leurs cycles biogéochimiques (Lebreton, 1978 ; Derylo & Skorupska, 1992 ; Rodriguez & Fraga, 1999 ; Gobat *et al.*, 2003 ; Stemmler & Berthelin, 2003 ; Berthelin *et al.*, 2004 ; Corgié *et al.*, 2004 ; Corgié *et al.*, 2006). Ces mécanismes permettent un retour des éléments nutritifs dans le pool de nutriments biodisponibles nécessaires au développement des plantes.

Les microorganismes intimement liés aux racines des plantes sont à leur tour fortement influencés par la quantité et par la qualité des exsudats racinaires. Ces paramètres sont principalement déterminés par les caractéristiques de la strate végétale : composition spécifique, âge de la formation, niveau de développement... (Rovira, 1965 ; Grayston & Campbell, 1996 ; Grayston *et al.*, 1996 ; Coleman *et al.*, 2000 ; Gransee & Wittenmayer, 2000) et les conditions environnementales (Grayston *et al.*, 1996). L'exsudation correspond à la diffusion passive de solutés racinaires vers la solution du sol. Les exsudats sont constitués majoritairement de sucres, d'acides carboxyliques et d'acides aminés en raison de leur concentration importante dans le cytoplasme des cellules racinaires (Jones, 1998). Ces concentrations sont par ailleurs généralement plus fortes au niveau des extrémités des racines (Jones, 1998), ce qui explique probablement que

cette partie présente une plus forte exsudation (McDougall & Rovira, 1970 ; Darwent *et al.*, 2003). Hiltner (1904) a défini la **rhizosphère** comme le volume de sol sous influence des racines vivantes et caractérisé par une intense activité microbienne, notamment bactérienne, résultant de la libération ou l'exsudation de substances organiques par les racines (Curl & Truelove, 1986 ; Grayston *et al.*, 1996). Cet 'effet rhizosphère' est donc un processus dynamique résultant d'interactions entre la plante hôte, le sol, les microorganismes telluriques et certaines conditions abiotiques du milieu (climat, pratiques culturales, ...). De l'ensemble de ces interactions, il résulte des caractéristiques physico-chimiques et (micro)biologiques particulières à la rhizosphère (Marilley *et al.*, 1998 ; Stephan *et al.*, 2000 ; Yang & Crowley, 2000 ; Wieland *et al.*, 2001).

Parmi les groupes fonctionnels de microorganismes telluriques, certains jouent un rôle majeur dans l'amélioration de la croissance et de la survie des plantes en augmentant notamment la disponibilité des ressources nutritives souvent limitantes. Dans cette perspective, de nombreux organismes microbiens telluriques ont été expérimentés et décrits comme des **biofertilisants potentiels** dans le cadre d'une agriculture plus respectueuse de l'environnement (Rodriguez & Fraga, 1999 ; Johansson *et al.*, 2004 ; Matiru & Dakora, 2004 ; Selosse *et al.*, 2004 ; Douds *et al.*, 2005 ; Gentili & Jumpponen, 2006). Il s'agit notamment des champignons mycorhiziens qui améliorent la nutrition hydrique et minérale (Bolan, 1991 ; Smith & Read, 1997 ; Duponnois *et al.*, 2005a, b ; Lambers *et al.*, 2008) et la protection (Duponnois *et al.*, 1993 ; Leyval & Joner, 2001 ; Joner & Leyval, 2003 ; Selosse *et al.*, 2004) des plantes ; des bactéries fixatrices d'azote qui sont capables de fixer l'azote atmosphérique pour le transformer en composés minéraux et organiques accessibles aux plantes (Dommergues & Mangenot, 1970 ; Albrecht *et al.*, 1981 ; Dommergues *et al.*, 1999 ; Samba *et al.*, 2002 ; Matiru & Dakora, 2004). Des activités solubilisatrices des phosphates ont aussi été mises en évidence chez les bactéries fixatrices d'azote (Chabot *et al.*, 1996 ; Alikhani *et al.*, 2006). De nombreuses autres bactéries (notamment les *Pseudomonas*, les *Bacillus*, ...) peuvent également solubiliser les minéraux et en particulier les phosphates (Goldstein, 1986 ; Rodriguez & Fraga, 1999 ; Richardson, 2001 ; Selosse *et al.*, 2004 ; Gentili & Jumpponen, 2006 ; Harris *et al.*, 2006 ; Souchie *et al.*, 2006) et/ou produire des hormones de croissance, des antibiotiques, etc ... (Neitko & Frankenberg, 1989 ; Hamdan *et al.*, 1991 ; Gentili & Jumpponen, 2006). En raison de cette influence positive sur la croissance des plantes, ces bactéries sont appelées "*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*" (PGPR). Par ailleurs, certaines bactéries nommées *Mycorrhization Helper Bacteria* (MHB) ou *Bactéries Auxiliaires de la Mycorrhization* (BAM) ont des interactions bénéfiques avec les champignons mycorhiziens et aboutissent *in fine* à un meilleur développement des plantes (Duponnois & Garbaye, 1990 ; Duponnois, 1992 ; Founoune *et al.*, 2002 ; Duponnois & Plenchette, 2003 ; Frey-Klett *et al.*, 2007).

En revanche, il existe des microorganismes pathogènes (bactéries, champignons, ...) dans le sol et susceptibles aussi bien de réduire fortement la survie, la croissance et la reproduction des végétaux que d'avoir des effets antagonistes sur les microorganismes bénéfiques (Hoitink, 1986 ; Bruehl, 1987 ; Augspurger, 1990 ; Kim *et al.*, 1997 ; Miller *et al.*, 1997 ; Nyvall, 1999). De plus, des auteurs ont observé que la relation plante – mycorhize pouvait changer du mutualisme au parasitisme de la part du partenaire fongique, notamment dans les sols fertiles (Johnson *et al.*, 1997 ; Neuhauser & Fargione, 2004). En effet, le passage du mutualisme au parasitisme survient lorsque les ressources nutritives limitantes deviennent disponibles, réduisant fortement l'effet de l'amélioration de la nutrition des plantes par les champignons mycorhiziens qui au contraire continuent de dépendre de la plante pour les ressources carbonées.

2.1.2. La symbiose mycorhizienne

2.1.2.1. Les mycorhizes : partenaires privilégiées des plantes...

Les mycorhizes sont des “unions durables” résultant de l'association entre les racines des végétaux et certains champignons du sol. Chaque union est basée sur des échanges réciproques. Les mycorhizes constituent des partenaires essentielles dans la relation sol – plantes – microorganismes. En effet, certaines espèces végétales ne peuvent croître normalement sans leur symbiote fongique dont elles sont fortement dépendantes et avec qui elles ont co-évolué (Janos, 1980 ; Hetrick, 1984 ; Brundrett, 1991 ; Smith & Read, 1997 ; Gobat *et al.*, 2003).

Le nouvel organe mixte est formé de tissus de la plante hôte et du champignon mycorhizien et chaque partenaire optimise son développement grâce à cette symbiose. Les racines de plus de 80 % des espèces de plantes vasculaires présentent ou sont susceptibles de présenter des symbioses mycorhiziennes. La symbiose mycorhizienne est donc un phénomène général chez les plantes à l'exception de quelques familles comme les *Brassicaceae*, les *Caryophyllaceae*, les *Cyperaceae*, les *Juncaceae*, les *Chenopodiaceae* et les *Amaranthaceae* qui présentent très peu d'associations mycorhiziennes (Strullu, 1991 ; Norman *et al.*, 1995). La fonction de la mycorhize est primordiale dans tout ou partie du cycle de la plante hôte, surtout mais non exclusivement pour la nutrition. Le champignon profite des ressources carbonées synthétisées par la plante *via* la photosynthèse et qui sont indispensables à son métabolisme, à son cycle de développement et à sa fructification. En retour, les hyphes fongiques améliorent la nutrition hydrique et minérale de la plante hôte grâce à l'augmentation du volume de sol prospecté et à la production de divers enzymes extracellulaires (phosphatase, phytase) susceptibles de mobiliser du phosphore à partir de composés complexes du sol (Manjunath *et al.*, 1989 ; Leyval & Berthelin, 1993 ; Smith & Read, 1997 ; Gobat *et al.*, 2003).

La présence des mycorhizes entraîne l'apparition de nouveaux compartiments biologiques dans la rhizosphère. En modifiant la physiologie de la plante et donc la sécrétion des exsudats racinaires, les mycorhizes induisent des modifications significatives dans la structure des communautés bactériennes au voisinage de ces racines mycorhizées: le terme **mycorhizosphère** a été utilisé pour désigner ce volume de sol sous influence des mycorhizes (Rambelli, 1973; Linderman, 1988). Des études réalisées en milieu naturel sur des plantes colonisées par des champignons mycorhiziens ont montré qu'environ 10 à 20% du carbone fixé au niveau du végétal sont transférés aux symbiotes fongiques. Ceci représente une entrée significative d'énergie dans ce compartiment, et ce carbone jouera un rôle crucial dans la dynamique de nombreux microorganismes associés à cette mycorhizosphère (Johnson *et al.*, 2002). Par ailleurs, les hyphes mycéliens des champignons formant les associations mycorhiziennes peuvent s'étendre jusqu'à plusieurs centimètres au delà de la surface racinaire (Rhodes & Gerdemann, 1975). Outre leur rôle dans le prélèvement des nutriments, ces hyphes favorisent la formation d'agrégats dans le sol notamment par leur exsudation. Ces structures stimulent la prolifération de microorganismes bien distincts: l'**hyphosphère** désigne ainsi le sol conditionné par ce réseau d'hyphes (Rambelli, 1973 ; Linderman, 1988).

La richesse du sol en phosphore est un facteur déterminant dans la mise en place de la symbiose mycorhizienne. Ratnayake *et al.* (1978) ont proposé que le mécanisme par lequel le phosphore contrôlerait la formation de cette symbiose soit lié à la perméabilité membranaire des racines. En effet, en condition de sol riche en P, les métabolites nécessaires à l'initiation et à la formation de l'association plante - champignon mycorhizien ne seraient pas exsudés en quantités suffisantes suite à une baisse de la perméabilité membranaire des racines dues à leur teneur élevée en P. De même, Graham *et al.* (1981) ont indiqué que les champignons mycorhiziens, en améliorant la nutrition phosphatée de la plante, réduisaient également les quantités d'exsudats racinaires libérées dans la rhizosphère du fait d'une diminution de la perméabilité des membranes racinaires. En revanche, Leyval & Berthelin (1993) et Grayston *et al.* (1996) observent plutôt une augmentation de l'exsudation racinaire en présence des mycorhizes. Différentes hypothèses ont été avancées pour expliquer ce mécanisme : une plus grande allocation de photosynthétats au symbiote fongique (Koch & Johnson, 1984), la production par les mycorhizes d'hormones augmentant la perméabilité racinaire (Bowen, 1994), ...

Selon le type de champignons symbiotes et des critères morpho-anatomiques, deux principaux types de mycorhizes ont majoritairement été décrits en zone tropicale (Read, 1991; Gobat *et al.*, 2003) : les mycorhizes à vésicules et arbuscules et les ectomycorhizes.

▪ les **mycorhizes à vésicules et arbuscules** : elles concernent environ 95% des taxons végétaux à mycorhizes et ce type est non visible à l'œil nu (Read, 1991 ; Smith & Read, 1997). Les symbiotes fongiques sont classés dans quatre ordres : Archeosporales (Walker & Schüßler), Diversisporales (Walker & Schüßler), Glomerales (morton & Benny) et Paraglomerales (Walker & Schüßler) appartenant à la classe des Glomeromycètes (Cavalier-Smith) et à l'Embranchement des Glomeromycota (Walker & Schüßler) (Schüßler *et al.*, 2001). Ils sont distingués par leurs caractères morphologiques et structuraux ou par analyse moléculaire. Le genre *Glomus* est généralement le plus représenté en termes d'espèces dans les sols des agrosystèmes en Afrique de l'Ouest, probablement à cause de sa capacité d'adaptation aux sols dégradés (Bâ *et al.*, 1996 ; Dalpé *et al.*, 2000). Ces champignons sont des symbiotes obligatoires non cultivables en l'absence de la plante hôte. Après la germination de la spore et la formation d'un tube germinatif, l'hyphe qui en résulte entre en contact avec la racine de la plante hôte et différencie un appressorium. À son tour, l'appressorium différencie un hyphe d'infection qui s'insinue entre les cellules épidermiques et corticales de la racine où des structures d'échange (arbuscules) et de réserve (vésicules) se développent. Néanmoins, la formation de vésicules n'est pas observée chez tous les groupes développant ce type de symbiose. Des spores sont également différenciées dans le sol et dans les racines, et sont utilisées comme structure de référence pour l'identification morpho-anatomique des espèces. Ce sont des structures unicellulaires, de forme généralement globoïde, à paroi épaisse formée de plusieurs couches de différentes textures, reliées au réseau filamenteux par un hyphe suspenseur. L'infection par les endomycorhizes ne modifie pas la morphologie globale des racines (Smith & Read, 1997).

▪ les **ectomycorhizes** : la symbiose ectomycorhizienne concerne 3 à 5% des plantes vasculaires et se rencontre principalement chez les dicotylédones. Dans ce cas, les partenaires fongiques sont des champignons supérieurs, Basidiomycètes et Ascomycètes, qui peuvent fructifier et une première identification peut être basée sur la morphologie des carpophores. Certains de ces champignons sont cultivables en l'absence de leur plante hôte (Smith & Read, 1997).

La symbiose ectomycorhizienne entraîne d'importantes modifications dans la morphologie racinaire : les poils absorbants disparaissent et un manteau d'hyphes, appelé 'manteau fongique', entoure les racines nourricières. De ce manteau partent des hyphes qui s'insèrent entre les cellules corticales de la racine pour former le 'réseau de Hartig'. Vers l'extérieur, des hyphes prolifèrent à partir du manteau fongique et colonisent le milieu environnant en formant le 'réseau extramatriciel' (Smith & Read, 1997 ; Hampp *et al.*, 1999).

Dans les écosystèmes tropicaux, au sud du Sahara en particulier, les associations endomycorhiziennes sont majoritaires (Ducousso & Thoen, 1991) et le type ectomycorhizien se retrouve principalement chez les *Caesalpinioideae*, les *Dipterocarpaceae*, les *Euphorbiaceae*, les *Fabaceae*, les *Proteaceae*, les *Gnetaceae*, les *Sapotaceae*, les *Sarcolaenaceae* ... (Thoen & Bâ, 1989 ; Thoen & Ducousso, 1989 ; Sanon *et al.*, 1997 ; Diédhiou *et al.*, 2005). Des auteurs ont observé que les Acacias sahéliens (*Acacia albida*, *A. nilotica*, *A. raddiana*, *A. senegal* et *A. seyal*) ne formaient que des associations endomycorhiziennes (Ducousso & Thoen, 1991 ; Diop *et al.*, 1994 ; Manga, 2005).

2.1.2.2. Les champignons mycorhiziens dans les agrosystèmes : leur rôle écologique

Le rôle majeur des mycorhizes est le prélèvement et le transport vers la plante des éléments nutritifs très peu mobiles dans le sol, principalement le phosphore (Rhodes & Gerdemann, 1975 ; Bolan, 1991 ; Gianinazzi & Schüepp, 1994 ; Smith & Read, 1997 ; Duponnois *et al.*, 2005a ; Lambers *et al.*, 2008). En effet, selon le pH du sol, cet élément se retrouve en grande partie associé au fer, à l'aluminium ou au calcium sous des formes de phosphates difficilement disponibles pour les plantes (Hinsinger, 2001). L'exploration d'un plus grand volume du sol et la possibilité de solubilisation des minéraux primaires par les mycorhizes devraient ainsi permettre une meilleure nutrition phosphatée des plantes (Manjunath *et al.*, 1989 ; Smith & Read, 1997 ; Landeweert *et al.*, 2001).

Cette amélioration de l'acquisition des nutriments inorganiques par les mycorhizes concerne également N, K, Mg, Na, S, B, Br, Cl, Cu, Cr, Cs, Co, Fe, Mo, Mn, Ni, Si, Zn (Smith & Read, 1997 ; Caris *et al.*, 1998 ; Duponnois & Bâ, 1999 ; He & Nara, 2007). Par ailleurs, il a été démontré que les associations mycorhiziennes pouvaient jouer un rôle significatif dans la décomposition et la minéralisation des matières organiques végétales et mobiliser les nutriments au bénéfice de la plante hôte (Tarafdar & Rao, 1997 ; Pare *et al.*, 2000 ; Hodge *et al.*, 2001 ; Gobat *et al.*, 2003 ; Lambers *et al.*, 2008). He & Nara (2007) ont même suggéré que les mycorhizes pourraient jouer un rôle fondamental dans la réduction de la malnutrition humaine du fait que de nombreux nutriments se retrouvaient dans la biomasse des plantes mycorhizées (biofortification) et pourraient alimenter l'organisme humain.

L'amélioration de la nutrition hydrique des plantes par l'intermédiaire des mycorhizes a aussi été notée *via* ce plus grand volume de sol exploré par les hyphes mycorhiziens (Strullu, 1991 ; Smith & Read, 1997 ; Garbaye, 2000 ; Auge, 2001).

De nombreux autres résultats indiquent par ailleurs, un effet bioprotecteur des mycorhizes : réduction ou même inhibition de l'effet négatif de certains agents phytoparasitaires (Smith, 1987 ;

Duponnois *et al.*, 1993 ; Duponnois & Cadet, 1994 ; Newsham *et al.*, 1995 ; Azcon-Aguilar & Barea, 1996 ; St-Arnaud *et al.*, 1997) et meilleure survie des plantes mycorhizées sur les sols pollués par les éléments traces métalliques ou par les hydrocarbures aromatiques polycycliques (Leyval *et al.*, 1997 ; Khan *et al.*, 2000 ; Rufyikiri *et al.*, 2000 ; Leyval & Joner, 2001 ; Joner & Leyval, 2003). De même, une nette amélioration de la structure du sol a souvent été notée en présence des mycorhizes. Le vaste réseau d'hyphes extramatriciels et la libération dans le sol par les hyphes mycorhiziens d'une glycoprotéine, la glomaline, entraîneraient une meilleure stabilisation du sol par la formation d'agrégats beaucoup plus stables (Tisdall & Oades, 1979 ; Smith & Read, 1997 ; Wright & Upadhyaya, 1998 ; Rillig & Steinberg, 2002 ; Lovelock *et al.*, 2004 ; Rillig & Mummey, 2006).

Les associations mycorhiziennes jouent également un rôle clef dans le fonctionnement et la stabilité des écosystèmes terrestres en intervenant fortement dans les relations plante - plante. En effet, l'existence d'arbres adultes supportant déjà des structures mycorhiziennes a été décrite comme un moyen très efficace dans l'établissement des jeunes plants en favorisant notamment l'infection de ces jeunes plants par les champignons mycorhiziens, donc leur survie (Newman, 1988 ; Simard & Durall, 2004). En outre, les champignons mycorhiziens favorisent la co-existence entre plusieurs espèces végétales, améliorant ainsi la productivité et la biodiversité végétales dans ces écosystèmes (van der Heijden *et al.*, 1998a,b ; Gobat *et al.*, 2003 ; Hart *et al.*, 2003 ; Silvertown, 2004 ; Sanon *et al.*, 2006 ; Kisa *et al.*, 2007). Des auteurs ont même suggéré une translocation de métabolites *via* un pont mycélien créé par le réseau d'hyphes connectant plusieurs plantes de la même et d'espèces différentes (Smith & Read, 1997 ; Robinson & Fitter, 1999 ; Gobat *et al.*, 2003 ; Yao *et al.*, 2003 ; Simard & Durall, 2004), avec le cas particulier de la mycohétérotrophie où des plantes non chlorophylliennes (Orchidées, Ericacées) sont nourries par leurs congénères photosynthétiques *via* ce réseau mycélien (Leake, 2004 ; Selosse *et al.*, 2006). Par ailleurs, les associations mycorhiziennes sont fortement impliquées dans les successions végétales : ainsi, sur certains sols pauvres aussi bien en éléments nutritifs qu'en propagules mycorhiziennes, les espèces végétales dépendant peu de cette symbiose vont s'installer. Par la suite, avec l'enrichissement du sol en structures mycorhiziennes, les espèces plus mycotrophes prennent la relève avec une forte corrélation positive entre les biodiversités fongique et végétale (Reeves *et al.*, 1979 ; Janos, 1980 ; van der Heijden *et al.*, 1998a, Hart *et al.*, 2003). En revanche, il faut aussi noter que certaines espèces pionnières très mycotrophes s'installent en début de succession végétale sur des sols dégradés et favorisent par la suite le développement d'autres espèces végétales *via* un effet 'plante nurse' (Azcon-Aguilar *et al.*, 2003).

2.1.2.3. Interactions biologiques dans la rhizosphère

2.1.2.3.1. Champignons endomycorhiziens et ectomycorhiziens

Certaines espèces végétales ont la capacité d'héberger conjointement sur leur système racinaire les deux types de symbioses fongiques (champignons endo- et ectomycorhiziens). Il s'agit notamment des genres *Acacia* (principalement d'origine australienne), *Casuarina*, *Eucalyptus*, *Populus* et *Quercus* (Brundrett *et al.*, 1996, Chen *et al.*, 2000 ; Founoune 2001 ; Founoune *et al.*, 2001 ; He *et al.*, 2003). Ramanankierana *et al.* (2007) ont par ailleurs retrouvé les structures de ces deux types de mycorhizes chez une *Euphorbiaceae* endémique de Madagascar, *Uapaca bojeri* L.

Les champignons endomycorhiziens sont généralement les premiers à s'installer et sont par la suite rejoints ou remplacés par les ectomycorhizes (Selosse *et al.*, 2006). La présence sur le même système racinaire des deux types de mycorhizes serait certainement régie par la compétitivité de chacune des souches (Founoune, 2001). Ducouso *et al.* (1991) ont en effet rapporté que la double inoculation chez *Acacia holosericea* réduisait de 39% le taux d'ectomycorhization par *Pisolithus sp.* en présence de *Glomus mosseae*. Par contre, Chen *et al.* (2000) ont pour leur part noté une augmentation du taux d'ectomycorhization chez *Eucalyptus globulus* et *E. urophylla* associés à *Laccaria* en présence des champignons endomycorhiziens *Glomus invermaium*, *Acaulospora laevis* ou *Scutellospora calospora*. Founoune *et al.* (2001) ont quant à eux trouvé que la double inoculation endo- et ectomycorhizienne améliorait le développement de la plante hôte, *A. holosericea*, comparée à la croissance des plants lorsque les champignons étaient inoculés séparément. En effet, Michelsen *et al.* (1998) ont montré que les champignons endo- et ectomycorhiziens pouvaient accéder à des pools bien distincts de nutriments du sol, suggérant ainsi une exploration et un prélèvement plus efficaces lors d'une symbiose tripartite (plante, champignons endo- et ectomycorhizien).

2.1.2.3.2. Champignons mycorhiziens et communautés bactériennes

En affectant (1) la quantité et la qualité des composés carbonés produits par la plante et transportés dans la mycorhizosphère (Andrade *et al.*, 1997), (2) la compétition pour les nutriments entre les différents microorganismes rhizosphériques (Ravnskov *et al.*, 1999), (3) l'exsudation mycorhizienne de composés inhibiteurs ou stimulateurs pour les bactéries (Ames *et al.*, 1984), et (4) la structure du sol (Andrade *et al.*, 1998a,b), les champignons mycorhiziens agissent sur les communautés bactériennes du sol. La symbiose mycorhizienne peut ainsi affecter la croissance et modifier la structure et l'activité des bactéries (Ames *et al.*, 1984 ; Secilia & Bagyaraj, 1987 ; Paulitz & Linderman, 1989 ; Founoune *et al.*, 2002 ; Ramanankierana *et al.*, 2006). En retour, les

bactéries mycorrhizosphériques affectent également la relation plante - champignons mycorrhiziens et des interactions négatives, neutres ou positives ont été mises en évidence (Rambelli, 1973; Garbaye, 1991 ; Garbaye, 1994). Cet effet mycorrhizosphérique a ainsi été traduit par le concept de “*Multitrophic Interactions Complex*” (Duponnois *et al.*, 2008).

De nombreuses études ont particulièrement porté sur les interactions entre champignons mycorrhiziens et les bactéries du type *Mycorrhization Helper Bacteria* (MHB). Ces études ont visé l’impact des MHBs sur l’établissement et le fonctionnement de la symbiose mycorrhizienne, et différentes hypothèses sur les mécanismes d’action des MHBs ont été établies (Duponnois, 1992 ; Garbaye, 1994 ; Duponnois, 2006a ; b) :

(i) *la croissance des champignons mycorrhiziens durant leur phase asymbiotique, donc saprophytique* : les MHBs sécrètent des acides organiques (acides citrique et malique) qui peuvent être utilisés par les champignons mycorrhiziens pour leur métabolisme (Duponnois, 1992 ; Budi *et al.*, 1999 ; Garbaye, 1994 ; Duponnois & Plenchette, 2003). De plus, ces bactéries peuvent dégrader certains polyphénols qui inhiberaient le développement du symbiote fongique (Duponnois & Garbaye, 1990) ou produire des composés volatiles qui pourraient stimuler la croissance des champignons mycorrhiziens (Garbaye & Duponnois, 1992a).

(ii) *la réceptivité de la racine hôte* : avant toute implication du symbiote fongique, les bactéries proliférant dans la rhizosphère sont capables d’affecter positivement la réceptivité de la racine hôte à la formation de la mycorhize (Meyer & Linderman, 1986 ; Garbaye, 1994). En effet, Duponnois (1992) a montré que les MHBs associées à la symbiose Douglas fir - *Laccaria laccata* produisaient une phytohormone, l’Acide Indole-3-Acétique (Indole-3-Acetic Acid, IAA) et que cette phytohormone stimulait l’initiation de courtes racines chez les plants de Douglas. Si une plante développe ainsi plus de courtes racines dans un même volume de sol, la probabilité de rencontre entre les propagules mycorrhiziennes dans le sol et les courtes racines augmente (Garbaye, 1994). Duponnois (1992) a de plus observé que les MHBs pouvaient “ramollir” les parois des cellules de la racine en produisant des enzymes spécifiques, facilitant ainsi la pénétration des structures mycorrhiziennes.

(iii) *la reconnaissance entre le symbiote fongique et la racine de la plante hôte*, étape constituant la phase première du processus interactif aboutissant à la symbiose : les MHBs peuvent interférer dans les ‘dialogues moléculaires’ entre les deux partenaires de la symbiose mycorrhizienne en dégradant ou en transformant les composés sécrétés par ces symbiotes pour leur reconnaissance ou en produisant d’autres composés (auxine, enzyme). Par ailleurs, la fixation des bactéries sur la racine et/ou sur le champignon peut faciliter l’établissement de la symbiose en constituant un lien

physique entre les deux partenaires (Duponnois, 1992 ; Garbaye & Duponnois, 1992b ; Garbaye, 1994).

(iv) *les modifications du sol rhizosphérique* : les activités métaboliques des *MHBs* modifient les propriétés physico-chimiques de la rhizosphère (pH, complexation des ions par les sidérophores produits, etc...) de manière à favoriser l'infection des racines par le symbiote mycorhizien (Garbaye, 1994).

(v) *la germination des propagules fongiques* : selon cette hypothèse, les *MHBs* seraient capables de déclencher ou d'accélérer la germination des spores, sclérotés ou toutes autres propagules mycorhiziennes en dormance *via* des substances non encore identifiées (Mosse, 1959 ; Ross, 1980 ; Garbaye, 1994 ; Budi *et al.*, 1999).

Plus récemment, il a été suggéré que les champignons mycorhiziens favoriseraient aussi la survie des *MHBs* en produisant notamment du tréhalose, disaccharide susceptible de sélectionner des communautés bactériennes spécifiques dans la mycorrhizosphère des plantes (Duponnois & Kisa, 2006 ; Frey-Klett *et al.*, 2007 ; Uroz *et al.*, 2007). Des auteurs ont ainsi conclu que des métabolites fongiques, comme le tréhalose, sécrétés par les hyphes mycorhiziens, pouvaient faciliter la colonisation de ces hyphes et la formation de biofilms de *MHBs* sur ces derniers (Frey-Klett *et al.*, 2007).

2.1.2.3.3. Champignons mycorhiziens et bactéries fixatrices d'azote

Dans la symbiose Légumineuses – bactéries fixatrices d'azote, la plante parvient, grâce aux bactéries, à convertir l'azote diatomique en une forme assimilable et en retour les bactéries reçoivent de la plante les photosynthétats nécessaires à leur développement (Dommergues & Mangenot, 1970 ; Dommergues *et al.*, 1999). En zone tropicale sèche, les carences en phosphore dans les sols constituent le principal facteur limitant l'établissement de la symbiose fixatrice d'azote (Badji *et al.*, 1988). La symbiose mycorhizienne, connue pour sa capacité à améliorer la nutrition phosphatée de la plante, constitue alors indirectement un apport de phosphore et donc de nutriments et de constituants énergétiques à la symbiose fixatrice d'azote (Barea & Azcon-Aguilar, 1983 ; Badji *et al.*, 1988). L'augmentation de l'absorption du phosphore par le champignon mycorhizien améliore également le fonctionnement de la nitrogénase, enzyme active dans la nodulation, permettant ainsi une fixation d'azote plus importante. Vidal-Dominguez *et al.* (1994) ont mis en évidence la présence d'hyphes et de spores de champignons endomycorhiziens dans des nodules de légumineuses. La diversité des champignons MA colonisant les nodules est bien différente de la diversité retrouvée dans les racines de la même plante (Scheublin *et al.*, 2004), suggérant que des

communautés distinctes de champignons MA coloniseraient différents organes fonctionnels du système racinaire d'une plante.

En contre partie, l'amélioration de la fixation d'azote permettrait un meilleur développement du champignon *via* une meilleure croissance racinaire (Smith & Read, 1997). Les bactéries fixatrices d'azote auraient également un rôle positif sur la germination des spores de champignons endomycorhiziens (Mosse, 1959).

Cornet & Diem (1982) ont trouvé que la double inoculation *Glomus mosseae* – *Rhizobium* de *Acacia holosericea* et de *A. raddiana* a amélioré la croissance, la nodulation et les teneurs en phosphore et en azote des parties aériennes des plantes. de la Cruz *et al.* (1988) observent les mêmes effets chez *A. mangium* et *A. auriculiformis* inoculés avec une souche de *Rhizobium* et quatre souches endomycorhiziennes (*Glomus fasciculatus*, *Gigaspora margarita*, *Scutellospora persica* et *Sclerocystis clavispora*). Duponnois *et al.* (2002) ont quant à eux montré que la double inoculation *Pisolithus sp.* et *Bradyrhizobium sp.* chez quatre provenances d'*A. mangium* a amélioré la croissance de la plante en conditions contrôlées ; en revanche, aucune différence significative n'avait été observée après transplantation au champ entre les plants doublement inoculés et ceux inoculés avec l'un ou l'autre des symbiotes (champignon ectomycorhizien ou rhizobium). Un effet inhibiteur de la souche *Pisolithus sp.* sur la multiplication des *Bradyrhizobia* au niveau des racines mycorhizées de *A. holosericea* a par ailleurs été rapporté par Bâ *et al.* (1994).

2.1.2.4. Gestion durable du Potentiel Infectieux Mycorhizogène (PIM) des sols pour une meilleure valorisation des ressources naturelles telluriques

2.1.2.4.1. Les écosystèmes telluriques au Sahel : des milieux fortement dégradés

Les régions tropicales, particulièrement celles au sud du Sahara, sont caractérisées par une dégradation accélérée des ressources naturelles (absence de couverture végétale, érosion du sol, ...). Les sols sont soumis à un rapide déclin de leur fertilité caractérisé par une faible teneur en matière organique et en éléments minéraux (N et P en particulier), des pHs bas, des capacités très élevées de fixation et de rétention du phosphore le rendant indisponibles aux plantes, et une perte de la biodiversité (Piéri, 1989 ; Bationo *et al.*, 1991 ; Sanchez *et al.*, 2003 ; Zapata & Roy, 2004 ; Cardoso & Kuyper, 2006 ; Swift & Shepherd, 2007). À cela s'ajoutent des pluies erratiques et une longue saison sèche et chaude qui favorisent la désertification (Piéri, 1989 ; Warren *et al.*, 1996).

Par ailleurs, les activités anthropiques courantes exacerbent cette fragilisation des écosystèmes : la déforestation qui favorise la dégradation (physique, chimique et biologique) des sols, l'application des intrants agricoles (engrais, pesticides, ...), les pratiques agricoles (défrichage, labour, feux de brousse, ...), les techniques utilisées (monoculture en continu, salinisation résultant d'une irrigation

mal contrôlée, ...) réduisent de façon drastique le développement (diversité et/ou activité) de la microflore tellurique symbiotique, des champignons mycorhiziens en particulier (Mosse, 1986 ; Jasper *et al.*, 1991 ; Hamel, 1996 ; Smith & Read, 1997), compromettant ainsi la survie et la croissance des plantes qui en dépendent (Sylvia, 1990 ; Duponnois *et al.*, 2001a).

2.1.2.4.2. Le Potentiel Infectieux Mycorhizogène (PIM) du sol : un outil biologique pour restaurer et revégétaliser les sols dégradés

Une gestion appropriée de la biodiversité microbienne tellurique pourra concourir aussi bien à l'amélioration de la performance des plantes vis-à-vis des stress environnementaux qu'à la fertilité, en définitive, à la qualité des sols (Barea & Jeffries, 1995 ; Requena *et al.*, 2001).

Dans ce contexte, les champignons mycorhiziens apparaissent comme un **outil biologique** d'un grand intérêt pour améliorer la croissance des plantes, qu'elles soient spontanées ou cultivées, et restaurer les sols ; ceci dans la perspective d'une agriculture à faibles apports d'intrants d'origine industrielle (Bethlenfalvay & Schüepp, 1994 ; Johansson *et al.*, 2004 ; Cardoso & Kuyper, 2006 ; Gentili & Jumpponen, 2006).

Le **Potentiel Infectieux Mycorhizogène (PIM)** d'un sol représente ainsi sa richesse en propagules mycorhiziennes sous forme de spores, de mycélium et de fragments de racines portant des structures mycorhiziennes et susceptibles d'initier chez les plantes, la formation d'associations mycorhiziennes (Plenchette *et al.*, 1989).

La restauration d'un PIM acceptable dans un sol pourra alors passer par deux principales stratégies : **(i) la gestion du potentiel mycorhizien endogène au travers d'espèces végétales très mycotrophes** : il s'agira de favoriser l'établissement d'espèces végétales, natives notamment, capables d'accroître le stock endogène de propagules mycorhiziennes (Duponnois *et al.*, 2001a ; Azcon-Aguilar *et al.*, 2003). En effet, il a été préalablement établi que le réseau d'hyphes en particulier, mis en place entre plantes constitue une source potentielle et efficace d'inoculum mycorhizien dans les systèmes sol - plantes (Requena *et al.*, 1996 ; 2001 ; Azcon-Aguilar *et al.*, 2003). Et dans le cas des sols fortement perturbés et dégradés caractérisés par des PIMs très bas, **(ii) l'inoculation préalable des plants par des symbiotes fongiques sélectionnés avant leur mise en terre** : cette technique permet d'améliorer la survie et la croissance des plantes par une meilleure nutrition hydrique et minérale, et de reconstituer le PIM du sol, etc... (Herrera *et al.*, 1993 ; Estaún *et al.*, 1997 ; Duponnois *et al.*, 2005b).

Cependant, il faudra bien noter que la réponse d'une plante à la mycorhization dépendra d'un certain nombre de facteurs dont, entre autre, la souche fongique en présence (Plenchette *et al.*, 1982 ; Miller *et al.*, 1985 ; van der Heijden *et al.*, 1998a) et le niveau de dépendance mycorhizienne

de la plante hôte fortement lié à la fertilité du sol (Janos, 1980 ; Plenchette *et al.*, 1983 ; Brundrett, 1991 ; Smith & Read, 1997). Même si la relation plante - champignon mycorhizien semble peu spécifique, de fortes variabilités existeraient dans la réponse à cette association en regard de la diversité des symbiotes (Douds & Millner, 1999 ; Daniell *et al.*, 2001 ; Vandenkoornhuyse *et al.*, 2002 ; Hart *et al.*, 2003 ; Sanders, 2003). Certains auteurs pensent à une ‘spécialisation’ des souches fongiques dans les diverses fonctions des mycorhizes (Bever *et al.*, 1996 ; Hart *et al.*, 2003). À cet effet, la réponse à la mycorhization peut être variable entre cultivars ou écotypes de la même espèce végétale (Azcon & Ocampo, 1981 ; Bever *et al.*, 1996).

2.2. La co-existence des espèces végétales

2.2.1. Quelques concepts et définitions

La Convention sur la Diversité Biologique (CDB) définit la **biodiversité** comme étant la *“variabilité des organismes vivants de toute origine, y compris, entre autres, les écosystèmes terrestres, marins et autres écosystèmes aquatiques et les complexes écologiques dont ils font partie ; cela comprend la diversité au sein des espèces, et entre les espèces ainsi que celle des écosystèmes”* (Nations Unies, 1992). La diversité biologique est donc la diversité de toutes les formes du vivant. Elle est habituellement subdivisée en trois niveaux :

- ❖ la **diversité génétique** : correspond à la diversité des gènes au sein d’une espèce (diversité intraspécifique) ;
- ❖ la **diversité spécifique** : elle correspond à la diversité des espèces (diversité interspécifique) ;
- ❖ la **diversité écosystémique** : qui elle, correspond à la diversité des écosystèmes présents sur la Terre, des interactions des populations naturelles et de leurs environnements physiques.

Whittaker (1972) a défini trois principaux paramètres pour la mesure de la biodiversité selon une échelle spatiale :

- ✓ la **diversité alpha** (ou diversité intra - habitat) : se réfère à la diversité au sein d’une zone particulière ou d’un écosystème local, et est généralement exprimée par le nombre d’espèces dans cet écosystème (richesse spécifique) ;
- ✓ la **diversité bêta** (ou diversité inter – habitats) : elle exprime le renouvellement (*turnover*) des espèces d’un habitat à l’autre ; donc reflète la modification de la diversité alpha lorsque l’on passe

d'un écosystème à un autre dans un site. Ainsi la diversité bêta permet de comparer la diversité entre écosystèmes ;

✓ la **diversité gamma** correspond à la richesse en espèces au niveau régional ou géographique. C'est une notion plus globale et un indicateur beaucoup plus tributaire des chocs mondiaux que des chocs locaux (incendies de forêt par exemple) qui influent sur les diversités alpha et bêta.

La notion de **diversité spécifique** à laquelle ce travail fera largement référence, est fréquemment mesurée par la **richesse spécifique** (nombre d'espèces présentes dans un écosystème donné ou dans une aire préétablie dans ce dernier) et par l'**équitabilité** des espèces ("*species evenness*", qui est l'abondance relative avec laquelle chaque espèce est représentée dans l'écosystème). Un écosystème dans lequel toutes les espèces seraient représentées par le même nombre d'individus aurait un indice d'équitabilité élevé (Harrison *et al.*, 2004).

De nombreux autres indices de diversité (Shannon - Wiener, Simpson - Yules,) existent et prennent en compte dans leurs formules mathématiques aussi bien la composition que les abondances relatives des espèces (Harrison *et al.*, 2004).

Le terme '**co-existence**' a été utilisé par les écologistes pour décrire une association équilibrée d'espèces dans une communauté biotique (Hart *et al.*, 2003). Les interactions entre les espèces végétales peuvent être soit positives (facilitation de la régénération et de la croissance d'une plante par une autre (Ouahmane *et al.*, 2006a, b ; Brooker *et al.*, 2008)), soit négatives (compétition pour la lumière et les nutriments, la production de substances allélopathiques (Donald, 1958 ; Stevens, 1986 ; Chesson, 2000 ; Bais *et al.*, 2002)).

La **niche écologique** désigne l'ensemble des conditions environnementales (biotiques et abiotiques) telles qu'une espèce donnée peut former une population viable. La niche écologique correspondrait au 'rôle' et à la 'profession' d'une espèce dans son milieu, tandis que l'habitat plutôt à son 'adresse' (Dajoz, 1971).

2.2.2. Stratégies d'occupation du sol par les espèces végétales

2.2.2.1. Quelques modèles basés sur les théories mathématiques appliquées à l'écologie

La réflexion sur les processus biologiques régissant la co-existence des plantes a été largement abordée *via* les théories classiques d'écologie végétale (exemple : modèle de Lotka-Volterra) basées sur le principe de Gause (1937) à savoir que la co-existence durable interspécifique est assujettie à une stratégie d'occupation du milieu par chaque espèce végétale en fonction de ses besoins nutritifs et de ses caractéristiques intrinsèques au sein de la communauté. Dans ce contexte

intervient le concept de ‘*niche écologique*’ proposé pour la première fois en 1917 par Grinnell pour qui, la niche est l’ensemble des conditions abiotiques du milieu favorables à une espèce donnée. En 1957, Hutchinson formalise et modélise la niche sous la forme d’un hypervolume à n dimensions caractérisé par des axes d’utilisation des ressources nutritives et/ou par les conditions environnementales et dans lequel, les populations d’une espèce donnée sont capables de maintenir durablement un taux net de reproduction ≥ 1 . En mettant en relation cette définition avec le principe de Gause qui tend à montrer que deux espèces ne peuvent indéfiniment partager les mêmes ressources au sein d’un espace défini, il distingue deux types de niche : (i) **la niche fondamentale** (région qu’une espèce est théoriquement capable d’occuper dans sa niche en l’absence de compétition interspécifique) et (ii) **la niche réalisée** (restreinte par rapport à la précédente par les interactions avec les autres espèces présentes). La présence de compétiteurs rend donc inaccessibles certaines parties de la niche écologique.

En prenant en compte ces notions d’interactions biotiques, ce concept de “*niche réalisée*” se rapproche de la notion de ‘**stratégies d’histoire de vie**’. Les stratégies d’histoire de vie sont l’ensemble des solutions évolutives à la disposition des individus d’une espèce pour assurer leur survie à court terme (croissance, entretien) et à long terme (reproduction). Cette vision de stratégie d’histoire de vie est basée sur les traits relatifs à la dynamique démographique des formations végétales formalisée par la stratégie r-K de Mc Arthur & Wilson (1967) ; les termes r et K faisant référence au modèle logistique de croissance des populations.

Le développement de ce concept de niche est principalement lié aux questions de la co-existence des espèces et de la dynamique de la végétation. Hutchinson (1959) propose que la séparation de la niche (principe d’**exclusion compétitive de Gause** : “*deux espèces ayant des exigences écologiques identiques ou simplement voisines ne peuvent co-exister indéfiniment dans le même milieu*”) soit le facteur majeur expliquant la co-existence des espèces. Dans un milieu stable et homogène, le nombre d’espèces pouvant co-exister serait donc déterminé par le nombre de dimensions de la niche (Hutchinson, 1959).

Il a été bien établi que la répartition des nutriments dans le sol est très hétérogène dans les écosystèmes naturels, et ceci à presque toutes les échelles (Antonovics *et al.*, 1987 ; Jackson & Caldwell, 1993 ; Reynolds *et al.*, 1997 ; Farley & Fitter, 1999). Des processus purement physiques peuvent ainsi être à l’origine de l’hétérogénéité spatiale (pédogenèse, topographie, ...) et temporelle (variations climatiques) des écosystèmes terrestres. Il en est de même chez les plantes, qui en occupant un habitat modifient ses propriétés *via* le prélèvement de nutriments (Barot & Gignoux, 2004). Ainsi, plusieurs espèces végétales pourront co-exister du fait de l’occupation de différents ‘*patches*’ ou niches de l’habitat (Mouquet *et al.*, 2002 ; Barot & Gignoux, 2004). En effet, plus le

niveau d'hétérogénéité dans un biotope est élevé (différenciation de plusieurs niches), plus les associations végétales seraient enclines à se mettre en place car elles exploiteront mieux les ressources du milieu que ne le ferait une communauté monospécifique (Tilman *et al.*, 1997 ; Loreau, 1998 ; Mouquet *et al.*, 2002). Mouquet & Loreau (2002) ont même suggéré que cette hétérogénéité du milieu pourrait expliquer la co-existence entre espèces végétales sur de très larges échelles spatiales, les '*méta-communautés*'.

La notion de "stratégie d'histoire de vie" est fortement assujettie aux questions de dynamique et de succession végétales. Le modèle proposé par Mc Arthur & Wilson (1967) oppose des organismes soumis à une sélection de type r à ceux soumis à une sélection de type K. La sélection de type r est rencontrée chez des espèces qui peuvent occuper des milieux perturbés à mortalité forte et indépendante de la densité des populations. La sélection de type K favorise les individus qui persistent dans un milieu donné pour de longues périodes, à mortalité dépendante de la densité des populations. Cependant, ce modèle s'applique difficilement à l'écologie végétale car les changements successionnels sont si prévalents qu'aucune population ne peut persister pendant de longues périodes (Bazzaz, 1996).

Grime (1977) a proposé une classification des végétaux selon leur adaptation à des niveaux de perturbation et de stress : la perturbation produit une destruction de la couverture végétale d'un site et le stress est considéré comme un manque de ressources (lumière, eau, nutriments, température) qui restreint la production végétale. L'environnement est ainsi classé en '*peu perturbé – peu stressant*', '*fortement perturbé – peu stressant*' et '*peu perturbé – fortement stressant*'. La combinaison '*fortement perturbé – fortement stressé*' est considérée comme impropre au développement de la végétation et ne donne donc pas lieu à la définition d'une stratégie (Kazakou, 2006). Face à ces trois niveaux de perturbation et de stress de l'environnement, Grime (1977) propose, pour les végétaux, trois stratégies extrêmes, à savoir **compétitive**, **tolérance au stress** et **rudérale**. Selon Grime (1979), on observe en début de succession, des espèces dont les traits sont associés à la stratégie '*rudérale tolérante au stress*', c'est-à-dire des espèces avec une croissance rapide, une dispersion efficace et un fort investissement dans la reproduction. En revanche, les espèces de fin de succession ont des traits associés à la stratégie '*compétitrice tolérante au stress*', avec une vitesse de croissance lente, une utilisation efficace des ressources et un faible investissement dans la reproduction.

Tilman (1982 ; 1986) explique les successions végétales en termes de disponibilité des ressources, principalement des nutriments et de la lumière ('*resource-ratio hypothesis*'). Il suppose que le long d'une succession existe un gradient inverse de disponibilité en nutriments et de disponibilité en lumière. Une des hypothèses formulées par Tilman est que l'acquisition des

ressources limitantes est un facteur important pour déterminer l'espèce dominante dans un habitat donné. Ainsi le remplacement des espèces résulterait de différences entre la niche des espèces de début de succession caractérisées par une forte capacité d'acquisition pour les ressources du sol, et les espèces de fin de succession caractérisées par une forte capacité de réception de la lumière.

D'une manière générale, le modèle du '*resource-ratio hypothesis*' indique que les espèces végétales dépendent différemment des ressources limitantes et que la composition des communautés végétales devrait subir des modifications dès que la disponibilité de ces ressources changeait dans le temps (Mc Arthur, 1972 ; Tilman, 1980, 1982, 1985).

Tilman (1988 ; 1990) a d'autre part proposé un modèle d'allocation des ressources dans les principaux organes de la plante (racines, feuilles, tiges et graines) afin d'expliquer les mécanismes de co-existence entre plantes. Selon ce modèle, les espèces dominantes de début de succession auront une forte allocation aux feuilles et aux racines et seront remplacées par des espèces à forte allocation aux tiges. En revanche, pour expliquer la succession secondaire sur les sols appauvris par les pratiques culturales, Gleeson & Tilman (1990) ont proposé l'hypothèse de dynamique transitoire ('*transient dynamics of succession*'). Celle-ci postule que la succession est le résultat d'une dynamique au cours de laquelle les espèces de début de succession, ayant un fort pouvoir colonisateur et/ou une croissance rapide, sont remplacées progressivement par des espèces qui ont une forte biomasse racinaire et/ou une concentration en azote des tissus faible, signe d'une plus grande compétitivité vis-à-vis de l'azote, qui serait la ressource la plus limitante dans les sols pauvres en début de succession (Chapin, 1980).

Il est bien établi d'une part, que les plantes utilisent pour leur métabolisme les mêmes éléments nutritifs et prélèvent ceux-ci par les mêmes voies principalement ; d'autre part, il a été également démontré par des expérimentations au champ que la compétition interspécifique pour ces ressources est la règle dans les communautés végétales (Goldberg & Barton, 1992).

De plus, dans les régions sahéliennes où la faible pluviométrie ne permet pas le développement d'une strate forestière dense, réduisant ainsi la compétition interspécifique pour l'accès à la lumière, les phénomènes de co-existence sont donc plus particulièrement régis au niveau du sol (Fowler, 1986 ; Eissenstat & Caldwell, 1988 ; Wilson, 1988 ; Casper & Jackson, 1997). Par ailleurs, certaines espèces végétales appartenant au même niveau trophique vont s'approvisionner dans le même pool de ressources nutritives disponibles. Comment alors ces espèces végétales parviennent-elles à co-exister comme elles le font dans la nature, sans différenciation apparente de niches (Chesson, 1991 ; Silvertown, 2004) que les théories classiques d'écologie suggèrent comme nécessaire ?

2.2.2.2. La compétition

La compétition entre les plantes constitue l'un des principaux moyens susceptibles d'expliquer la variation spatiale et temporelle dans les communautés végétales. Elle peut être définie comme la recherche active, par les individus d'une même espèce ou de plusieurs espèces, d'une même ressource du milieu (Dajoz, 1971). Le niveau de compétition dans les communautés végétales dépendra, entre autre, de la répartition spatiale des plantes, des ressources nutritives en partage, et de la capacité de chaque espèce végétale ou des moyens mis en œuvre par celle-ci pour acquérir ces ressources (Freckleton & Watkinson, 2001).

La plus grande partie de la compétition entre végétaux se déroule au niveau du sol. Contrairement à la compétition au niveau aérien qui implique principalement la lumière, les plantes ont en commun une large gamme de ressources (eau, au moins 20 minéraux essentiels qui diffèrent par leur masse moléculaire, leur valence, leur état d'oxydation et leur mobilité) à se partager au niveau du sol (Casper & Jackson, 1997). La compétition au niveau du sol réduit beaucoup plus considérablement la performance des plantes que la compétition pour la lumière (Donald, 1958 ; Wilson, 1988), et constitue la principale forme de compétition dans les écosystèmes ayant de faibles densités végétales (Fowler, 1986).

Dans une communauté végétale monospécifique, les mécanismes de compétition sont principalement assujettis à l'aptitude compétitive et à la variation dans l'acquisition des ressources à l'échelle de l'individu (Weiner, 1986 ; Hara & Wyszomirski, 1994 ; Nagashima *et al.*, 1995). Par ailleurs, en étudiant ce type de communauté végétale, Weiner (1988) a distingué deux types de compétitions : la **compétition symétrique** (partage des ressources entre individus sans dominance évidente d'une espèce) et la **compétition asymétrique** (partage inégal des ressources comme conséquence d'un avantage comparatif des individus de plus grande taille sur ceux plus petits). La compétition asymétrique est la conséquence de l'apparition échelonnée dans le temps des plantules dans une population, où les plantes émergeant les premières acquièrent un avantage sur les plantes qui émergeront plus tardivement (Ross & Harper, 1972). Les individus en tête de cette '*hiérarchie*' (les plantes émergeant les premières) trouveront plus de ressources à leur disposition, seront par la suite faiblement affectées par la présence compétitive des nouvelles plantes plus petites, et auront ainsi une croissance plus rapide. Cette forme de compétition a également été décrite dans d'autres modèles portant sur des communautés végétales monospécifiques (Firbank & Watkinson, 1985 ; Hara & Wyszomirski, 1994).

De la même façon qu'il existe une acquisition hétérogène des ressources nutritives chez les individus constituant les communautés végétales monospécifiques (Ross & Harper, 1972), l'acquisition des nutriments est fortement inégale dans les communautés végétales plurispécifiques.

En effet, les espèces végétales diffèrent dans leurs besoins pour chacun des éléments nutritifs et dans leur capacité à prélever ceux-ci (Freckleton & Watkinson, 2001).

La compétition pour les ressources nutritives telluriques ne décroît pas forcément avec l'augmentation de la disponibilité de ces ressources (Casper & Jackson, 1997). Wilson (1988), Grime (1993) ont ainsi indiqué que même en situation de sol fertile, il y aurait développement d'une zone de déplétion d'où résulterait une intense compétition entre les plantes.

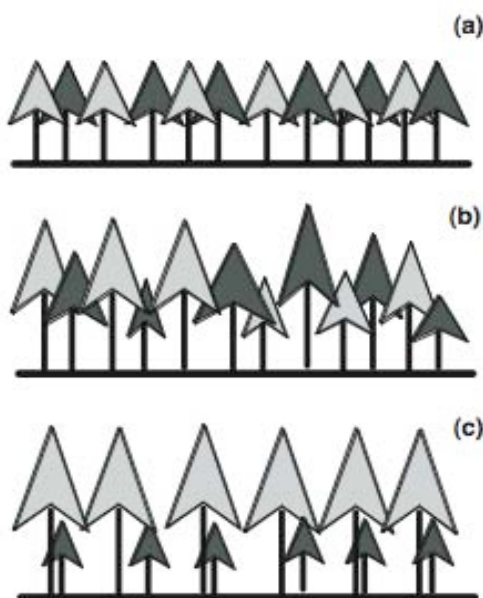


Figure 2 : Diagramme schématique indiquant trois modes de compétition entre deux espèces végétales différentes par leur canopée. L'accès à la lumière constitue le principal type de compétition de telle sorte que les plantes les plus grandes aient un meilleur accès à la lumière et soient beaucoup moins affectées par la présence des plus petites (d'après Freckleton & Watkinson, 2001).

(a) Compétition symétrique : tous les individus sont capables d'acquérir la ressource en même quantité et il n'existe pas de dominance compétitive.

(b) Compétition asymétrique à l'échelle des individus : variation dans l'acquisition de la ressource au sein des individus des deux espèces ; pas de supériorité évidente d'une espèce végétale.

(c) Compétition asymétrique entre espèces : une des espèces végétales est capable de dominer dans l'acquisition de la ressource et tous les individus de cette même espèce sont dotés d'une meilleure capacité de prélèvement, rendant ainsi cette ressource non disponible pour les individus de la seconde espèce.

La distribution des espèces végétales dans les écosystèmes terrestres peut également dépendre des variétés d'une espèce en présence d'autres espèces végétales. Butcher (1983) a étudié les phénomènes de compétition entre des variétés de pois et l'avoine *Avena fatua*. Il a ainsi trouvé que la distribution des biomasses individuelles des plantes dépendait de la variété de pois en compétition avec l'avoine. Dans un cas, il a trouvé des fréquences de distribution des biomasses similaires pour les deux plantes. Alors que dans une autre situation, les biomasses étaient toujours plus importantes chez *A. fatua*, indiquant une 'hiérarchisation' dans l'accès aux nutriments entre les deux variétés lorsqu'elles sont cultivées avec l'avoine. Weiner (1985) a par ailleurs indiqué que la compétition dans les communautés végétales plurispécifiques déterminait aussi bien la distribution

des individus de la même espèce selon leur taille (croissance en hauteur), que la biomasse totale de chaque espèce végétale.

D'autres études ayant porté sur la compétition asymétrique entre espèces différentes (Kropff & Spitters, 1991 ; Kropff & Spitter, 1992 ; Connolly & Wayne, 1996) ont aussi montré que le degré auquel une plante peut surpasser une autre, exploitant ainsi au mieux les ressources lumineuses, dépend en majeure partie du moment d'émergence des plantes, et ceci affecte en retour les quantités de nutriments prélevées par chaque espèce.

Les expérimentations réalisées par Weiner (1986) sur différents types de compétitions [(1) sans compétition ; (2) compétition pour la lumière ; (3) compétition au niveau racinaire uniquement ; et (4) compétition aux niveaux foliaire et racinaire] entre des plants de *Ipomoea tricolor* ont montré que la compétition au niveau des racines, donc pour les éléments nutritifs, avait un effet beaucoup plus significatif dans la détermination de la taille des plants que la compétition pour la lumière ; mais cette compétition au niveau racinaire intervenait pour peu dans la variabilité des tailles des plants. Et de plus, les effets de la compétition pour les nutriments s'observaient de façon précoce, aussitôt après la germination ; alors que la compétition pour la lumière n'intervenait que lorsque les plants avaient des feuilles assez larges.

Des interactions positives sont par ailleurs notées dans les mécanismes de compétition pour la lumière et au niveau du sol (Donald, 1958 ; Jackson & Caldwell, 1992 ; Belcher *et al.*, 1995). Dans une étude basée sur une approche physiologique, Jackson & Caldwell (1992) ont conclu que la compétition pour la lumière réduisait en même temps le prélèvement de nutriments par les plantes. Belcher *et al.* (1995) ont noté un effet de la compétition racinaire sur l'acquisition de la lumière, et ces auteurs ont ainsi parlé d' 'effets additifs' des deux types de compétition. Par contre King (1971) et, Martin & Field (1984) ont rapporté lors de leurs expérimentations une absence d'interaction.

Bien que ne concernant pas le phénomène de compétition au sens strict du terme (Nilsson, 1994 ; Brooker, 2006), la production et la libération dans le biotope de substances allélopathiques par certaines plantes peuvent également influencer sur les mécanismes de co-existence entre espèces végétales. La définition du terme '**allélopathie**' sera restreinte dans ce document à "*tout effet **négatif**, direct ou indirect, d'une plante sur d'autres organismes via la production de composés biochimiques libérés dans le milieu*" (Rice, 1984). Ces composés secondaires (acides phénoliques, flavonoïdes, terpénoïdes et alcaloïdes) se retrouveront ainsi dans l'environnement via quatre principaux mécanismes : l'exsudation racinaire, la lixiviation des pluviollessivats, la volatilisation et la décomposition de la litière.

Les interactions qui s'établissent entre plantes voisines sont principalement attribuées à des effets de compétition pour les ressources (lumière, eau et nutriments). Certaines espèces végétales ont

ainsi la capacité de synthétiser des composés qui inhiberaient la germination, la croissance et la survie d'autres espèces végétales se développant dans leur voisinage (Vaughn & Berhow, 1999; Ridenour & Callaway, 2001). Les communautés microbiennes telluriques sont également très fortement influencées par l'effet dépressif de ces substances allélopathiques (Belnap & Phillips, 2001 ; Kourtev *et al.*, 2002a ; 2003 ; Hawkes *et al.*, 2005 ; Batten *et al.*, 2006 ; Stinson *et al.*, 2006). Cette colonisation du sol par les espèces végétales *via* le mécanisme d'allélopathie se rencontre largement chez les plantes exotiques, en particulier les espèces invasives; et qui à terme, constituent des communautés monospécifiques (Stevens, 1986 ; Belnap & Phillips, 2001 ; Kourtev *et al.*, 2002a ; 2003 ; Hawkes *et al.*, 2005 ; Batten *et al.*, 2006 ; Stinson *et al.*, 2006).

2.2.2.3. Les interactions avec les microorganismes telluriques

Les recherches sur les mécanismes susceptibles d'orienter la structuration des communautés végétales ont longtemps et surtout porté sur la compétition interspécifique pour les facteurs abiotiques, principalement, la lumière et les éléments nutritifs (Donald, 1958 ; Tilman & Pacala, 1993). De plus en plus, le rôle significatif d'autres organismes à savoir les ravageurs des plantes (Olf & Ritchie, 1998 ; Carson & Root, 2000 ; Howe *et al.*, 2002) et particulièrement les communautés microbiennes telluriques (Fitter, 1977 ; Allen & Allen, 1990 ; Hartnett *et al.*, 1993 ; van der Heijden *et al.*, 1998a,b ; Packer & Clay, 2000 ; Sanon *et al.*, 2006 ; Kisa *et al.*, 2007) a été mis en évidence comme facteur clef dans les interactions plante – plante et leurs dynamiques. La notion de '*Agent-mediated coexistence*' est une théorie de non interaction entre espèces végétales proposée comme un mécanisme susceptible de maintenir des associations plurispécifiques au sein des communautés végétales (Pacala & Crawley, 1992).

Bever *et al.*, (1997) et Bever (2003) ont ainsi proposé la notion de '*feedback*' pour conceptualiser les interactions plantes – microorganismes telluriques. Le processus de '*feedback*' implique ainsi deux étapes : tout d'abord, la présence d'une plante va modifier la composition des communautés microbiennes telluriques ; et en retour, ces modifications affecteront la croissance de cette même plante (Bever *et al.*, 1997 ; Bever, 2003).

Les microorganismes du sol, *via* leur '*feedback*' sur la croissance des plantes, vont jouer un rôle prédominant dans les mécanismes de co-existence entre espèces végétales (Bever *et al.*, 1997). Un '*feedback*' négatif entre une espèce végétale et les communautés microbiennes du sol entraînera une réduction de la croissance de cette espèce hôte, favorisant ainsi le développement d'autres espèces végétales, donc leur co-existence. Les '*feedback*' négatifs résultent largement de la présence d'agents pathogènes spécifiques à une espèce végétale. Par contre, un '*feedback*' positif entre une espèce végétale et les microorganismes du sol aboutit à une dominance de cette espèce végétale et à

une baisse de la diversité dans les communautés végétales. C'est le cas de certaines espèces végétales invasives qui entraînent de profondes modifications des communautés microbiennes en leur faveur, compromettant ainsi la survie des autres espèces végétales (Belnap & Phillips, 2001 ; Roberts & Anderson, 2001 ; Kourtev *et al.*, 2002a, 2003 ; Hawkes *et al.*, 2005 ; Stinson *et al.*, 2006). Les "feedback" positifs surviennent en général avec les microorganismes symbiotiques.

Les organismes microbiens telluriques sont également susceptibles de favoriser la co-existence entre plantes par des mécanismes de facilitation ('Agent-mediated coexistence'). van der Heijden *et al.*, (1998a) et Hart *et al.*, (2003) ont montré qu'une plus grande diversité de champignons mycorhiziens à arbuscules favorisait la co-existence entre les plantes en accroissant la possibilité pour chaque espèce végétale de s'associer à un partenaire fongique compatible et efficace. L'existence d'un réseau trophique entre les plantes, *via* les hyphes mycéliens, permettrait un échange des espèces abondantes vers les moins abondantes ; facilitant ainsi leur co-existence (Grime *et al.*, 1987). En outre, les champignons mycorhiziens peuvent promouvoir la diversité dans les communautés végétales par une réduction spécifique des espèces dominantes (Urcelay & Diaz, 2003) ou en favorisant le développement des espèces moins dominantes (van der Heijden *et al.*, 1998a ; Hart *et al.*, 2003 ; Urcelay & Diaz, 2003).

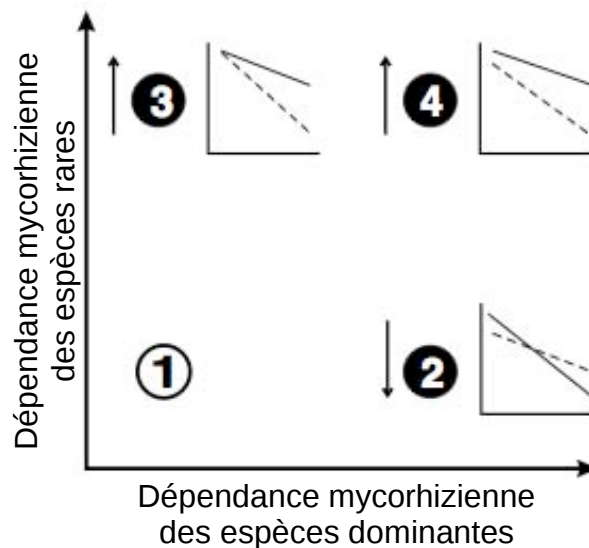


Figure 3 : Modèle conceptuel illustrant les effets de la présence des champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) sur la structure et la diversité des communautés végétales (d'après Urcelay & Diaz, 2003).

Les cercles noirs représentent les situations où les CMA exercent un effet significatif sur la diversité végétale et le cercle blanc, les situations où l'effet des CMA semble peu marqué (au moins sur le court terme) du fait que toutes les espèces végétales, aussi bien dominantes que rares, dépendent peu de la symbiose mycorhizienne. Les flèches indiquent la direction de l'effet des CMA sur la diversité végétale (accroissement/réduction). Les figures à droite de chaque cercle expriment l'effet des CMA sur la courbe du niveau de dominance : traits pleins, CMA présents ; traits en pointillés : CMA absents.

Par ailleurs, dans les écosystèmes arides et semi-arides caractérisés par une baisse drastique des propagules mycorhiziens pourtant indispensables à la survie de la végétation, Ouahmane *et al.*, (2006a,b) ont observé que certaines espèces végétales pouvaient favoriser la survie et la croissance d'autres espèces en créant des 'îlots de fertilité'. En effet, ces espèces végétales dites 'plantes nurses', grâce à leur forte mycotrophie, pouvaient croître et améliorer le potentiel infectieux mycorhizien de ces sols. Ce qui permettait par la suite à d'autres espèces végétales de pouvoir s'installer et co-exister avec ces communautés végétales.

Il a été également établi que les microorganismes du sol, en particulier les champignons mycorhiziens et leur microflore mycorrhizosphérique associée, pouvaient agir sur les composés allélopathiques en les inactivant ou en les métabolisant (Pellissier & Souto, 1999 ; Blum *et al.*, 2000 ; Renne *et al.*, 2004 ; Kisa *et al.*, 2007). Dans leurs expérimentations, Sanon *et al.*, (2006) et Kisa *et al.*, (2007) ont montré que les champignons mycorhiziens à arbuscules, en atténuant les effets allélopathiques de deux ligneux exotiques largement utilisés dans les programmes de reboisement en Afrique Sub-Saharienne (*Gmelina arborea* Roxb et *Eucalyptus camaldulensis*), ont favorisé la co-existence entre ces plantes et la strate herbacée sous-jacente.

2.2.2.4. D'autres facteurs susceptibles d'influencer les mécanismes de co-existence entre espèces végétales

Certains facteurs, aussi bien abiotiques que biotiques peuvent dans certains cas influencer les interactions entre les plantes. Ainsi, lorsque les conditions du milieu sont favorables (richesse organo-minérale du sol par exemple), la compétition intraspécifique l'emporte sur l'interspécifique dans les communautés végétales ; et *vice versa* dans des conditions plus stressantes (Chesson, 2000).

Grubb (1977) a aussi indiqué que les variations observées dans les communautés végétales naturelles des forêts reflétaient à la fois les caractéristiques de régénération de ces espèces et celles du milieu d'installation, caractéristiques qu'il a traduit par le concept "*The regeneration niche*".

Les phénomènes d' '*immigration – émigration*' ont également été identifiés par Loreau & Mouquet (1999) comme pouvant faciliter la co-existence entre plusieurs espèces végétales. En effet, ces déplacements de propagules des plants sont susceptibles de provoquer une diversité spécifique élevée au sein des communautés végétales (Tilman, 1994).

D'autres mécanismes de facilitation de la co-existence entre espèces végétales (n'impliquant pas forcément les microorganismes) ont également été observés (Callaway, 1995 ; Brooker *et al.*, 2008 ; Schenk & Mahall, 2002 ; Hauggaard-Nielsen & Jensen, 2005). En effet, certaines espèces végétales sont capables de favoriser la survie d'autres espèces *via* l'amélioration de la fertilité ou de

l'humidité du sol, les rhizodépôts, l'attraction des insectes pollinisateurs, la création d'abris ou de microclimat, etc.

2.3. Les espèces végétales invasives

2.3.1. Les plantes invasives : définition, origine du phénomène

Les invasions par les espèces exotiques font partie des perturbations environnementales, à l'échelle mondiale, les plus significatives auxquelles les écosystèmes terrestres sont confrontés ; et représentent ainsi, la seconde cause d'érosion de la biodiversité après la destruction des habitats naturels (Simberloff, 2003). De nombreuses études portant sur l'estimation de l'étendue de l' 'homogénéisation' des biocénoses ont montré que ce ne sont plus les milieux fortement perturbés qui sont uniquement affectés ; la plupart des écosystèmes, même ceux dans des états de dégradation minimale sont également envahis par des espèces originaires de contrées souvent lointaines. Il est maintenant reconnu par la communauté scientifique que les invasions par les espèces exotiques constituent une menace très grave pour la biodiversité par la mise en danger, et voire même l'extinction des espèces natives (Pimentel *et al.*, 2000 ; Cabin *et al.*, 2002 ; CBD, 2006 ; Meiners, 2007).

La flore d'une région donnée est en constante évolution : des espèces peuvent se raréfier ou disparaître ; d'autres espèces les remplacent, soit spontanément par une extension de leur aire de répartition, soit lors d'une introduction volontaire ou involontaire. Certaines espèces végétales introduites peuvent cependant menacer gravement la flore indigène. On les appelle des espèces invasives car elles se comportent comme des envahisseurs dans une nouvelle région.

Le concept de plante invasive étant encore un sujet de controverse, le présent document suivra la très récente mise au point de Pysek *et al.* (2004), et qui admet comme étant invasive ou envahissante (anglais : 'invasive') une espèce non indigène (anglais : 'alien'), naturalisée, montrant une dynamique d'extension rapide dans son territoire d'introduction. On notera que cette définition exclut explicitement les espèces indigènes dont l'aire de distribution est en expansion.

D'une manière générale, on notera qu'une plante invasive est donc une plante exogène (ou allochtone, exotique, importée, non indigène ou non native) dont l'introduction, volontaire ou fortuite, mais surtout la prolifération provoque, ou est susceptible de provoquer, des perturbations dans l'habitat ou l'écosystème hôte (Elton, 1958 ; Shine *et al.*, 2000 ; Cook & Proctor, 2007).

L'apparition de plantes exotiques n'est pas un phénomène récent ; elle remonte à l'Antiquité avec les déplacements de l'homme pour la cueillette et la chasse. Mais l'introduction de nouvelles espèces végétales s'est énormément accentuée avec l'amélioration des moyens de transport au cours desquelles du matériel végétal a été échangé (Crawley, 1986 ; Wells *et al.*, 1986 ; Jauzein, 1998). Ces introductions ont été soit involontaires ou fortuites (principalement dues au trafic international de marchandises) soit volontaires (en raison de leur valeur ornementale ou utilitaire) (di Castri, 1989 ; U.S. Congress, 1993).

Cependant, il faut retenir que toutes les plantes exotiques ne sont pas forcément invasives ; seules celles qui parviennent à se naturaliser, à s'établir et à se multiplier comme les plantes indigènes, peuvent devenir invasives.

L'aptitude d'une espèce végétale à devenir invasive dépend alors d'une combinaison de facteurs dont notamment les caractéristiques biologiques de la plante elle-même, les propriétés écologiques du site hôte (structure des espèces végétales existantes), l'état de perturbation ou les pratiques de gestion des écosystèmes terrestres (MacIntyre *et al.*, 1995 ; Smith *et al.*, 1998).

2.3.2. Les impacts économiques et environnementaux liés à l'invasion par les espèces exotiques

Les invasions par les organismes exotiques engendrent tout d'abord un coût énorme pour assurer leur contrôle et leur gestion (lutttes biologique, chimique ou mécanique). L'estimation des dommages économiques et environnementaux liés aux plantes invasives serait de l'ordre de 97 – 137 millions de dollars US par an rien que pour les Etats-Unis (Office of Technology Assessment, 1993 ; Pimentel *et al.*, 2000 ; Pimentel *et al.*, 2002), et d'environ 1, 7 milliards de dollars US par an pour le monde entier (Pimentel *et al.*, 2002).

Des pertes considérables sont aussi observées directement sur les productions culturelles (réductions des surfaces cultivées, diminution du rendement des cultures, ...). Cependant, ces pertes restent encore économiquement peu quantifiables (Mack *et al.*, 2000).

Les espèces exotiques constituent une réelle menace pour la diversité biologique des sites hôtes, perturbant ainsi leur fonctionnement et leur stabilité (Woods, 1993 ; Hutchinson & Vankat, 1997). L'invasion par ces espèces végétales, particulièrement compétitives, est suivie dans la plupart des cas d'une inhibition du développement des espèces natives (D'Antonio & Mahall, 1991 ; Hutchinson & Vankat, 1997) et par la mise en place d'une strate végétale monospécifique constituée par l'espèce invasive (D'Antonio & Mahall, 1991 ; Hamilton *et al.*, 1999). La capacité de

certaines de ces espèces végétales exotiques à produire des composés chimiques ayant un effet allélopathique, sur le développement aussi bien de la flore locale (herbacée et ligneuse) que des microorganismes symbiotiques associés à cette flore locale, pourrait en partie expliquer cette réduction de la richesse spécifique végétale (Viles & Reese, 1996 ; Hierro & Callaway, 2003 ; Sanon *et al.*, 2006 ; Stinson *et al.*, 2006 ; Kisa *et al.*, 2007).

Outre les changements dans les communautés végétales, des modifications dans le fonctionnement des écosystèmes telluriques peuvent également apparaître: modifications des cycles biogéochimiques (Vitousek & Walker, 1989 ; Belnap & Phillips, 2001 ; Evans *et al.*, 2001 ; Ehrenfeld, 2003) , des paramètres biotiques (Roberts & Anderson, 2001 ; Duda *et al.*, 2003 ; Stinson *et al.*, 2006 ; Chen *et al.*, 2007), de l'hydrologie (Naeem *et al.*, 1994 ; Couto & Betters, 1995 ; Zavaleta, 2000).

De plus, certaines espèces invasives ont la capacité d'augmenter l'intensité et la fréquence des feux par la production d'une plus grande quantité de biomasse (Van Wilgen & Richardson, 1985 ; D'Antonio & Vitousek, 1992). C'est l'exemple de *Bromus tectorum* : avant sa propagation dans le Grand Bassin dans l'Idaho et l'Utah (USA), la fréquence des incendies variait entre 60 à 110 années et la végétation native pouvait se maintenir (Vitousek *et al.*, 1996 ; 1997). Depuis l'invasion de cette région par *B. tectorum*, de vastes étendues monospécifiques ont remplacé les espèces natives et la fréquence d'apparition des incendies est revenue en moyenne entre 3 à 5 années ; compromettant ainsi la restauration de la flore endogène et l'alimentation des animaux qui en dépendent. De plus, la fréquence de ces incendies a entraîné le remplacement de la végétation arbustive native par une strate herbacée annuelle (Whisenant, 1990).

L'invasion par des espèces invasives peut aussi être accompagnée par l'apparition de nouveaux agents pathogènes aussi bien pour les hommes, les animaux, que les plantes (Simberloff, 2004).

2.3.3. Les facteurs pouvant expliquer la vulnérabilité des écosystèmes à l'invasion des organismes exogènes (anglais : "invasibility")

Des études ont été réalisées pour prédire la vulnérabilité des biotopes à l'invasion par les espèces exotiques (Mack *et al.*, 2000). Certains facteurs ont donc été identifiés afin d'expliquer cette vulnérabilité.

2.3.3.1. Les niches vacantes, sous- ou inutilisées

Certains écosystèmes tels que ceux des îles océaniques tropicales apparaissent particulièrement vulnérables aux invasions (Elton, 1958). L'hypothèse de niche vacante suggère que les écosystèmes des îles sont relativement pauvres en espèces natives et de ce fait, ils n'arrivent pas à fournir une '*résistance biologique*' aux espèces exogènes (Simberloff, 1986). Cependant, cette hypothèse reste très discutée (Simberloff, 1995).

2.3.3.2. La '*délivrance*' des ennemis naturels

Les plantes exotiques arrivent dans leur nouvel environnement sans les organismes qui leur sont naturellement associés, parmi lesquels leurs prédateurs, compétiteurs et parasites (Elton, 1958 ; Strong *et al.*, 1984 ; Mitchell & Power, 2003). Cette forme de '*délivrance*' de leurs pathogènes constitue un avantage considérable pour les espèces exogènes. La croissance, la longévité et la santé des organismes exotiques semblent donc meilleures dans les biotopes hôtes (Weiss & Milton, 1984 ; Crawley, 1986). Selon cette hypothèse, une espèce invasive va pouvoir persister et proliférer dans un nouveau site hôte, non pas parce qu'elle aura trouvé des conditions favorables à sa survie, mais plutôt parce qu'elle se serait retrouvée dans un nouvel environnement sans ou avec très peu de prédateurs, compétiteurs et parasites.

Cette idée de "*délivrance*" des ennemis a été pendant longtemps l'une des plus simples et des plus claires des hypothèses pour expliquer la prolifération des espèces invasives, et a justifié sans doute le recours aux ennemis de ces espèces invasives dans le cadre de la lutte biologique (De Bach & Rosen, 1991).

2.3.3.3. La richesse spécifique des communautés endogènes

Elton (1958) proposa que la résistance d'une communauté aux invasions exogènes s'accroissait proportionnellement au nombre d'espèces présentes, donc à sa richesse spécifique. Toujours selon ce même auteur, les communautés sont plus stables si elles ont une plus grande richesse spécifique. Cette idée est la suite logique de l'hypothèse de 'niches vacantes', c'est-à-dire qu'une communauté avec plusieurs espèces ne présentera probablement pas ou très peu de niches vacantes pour faciliter une éventuelle invasion par les espèces exogènes (Mack *et al.*, 2000). Dans une étude réalisée en microcosmes, Kennedy *et al.* (2002) ont montré avec succès qu'une plus grande richesse spécifique locale était fortement corrélée à une réduction de l'établissement et du succès des plantes invasives.

Cependant d'autres auteurs pensent que la richesse spécifique d'une communauté végétale expliquerait très faiblement sa résistance à l'invasion par les espèces exotiques (Simberloff, 1995 ;

Moore *et al.*, 2001). Simberloff *et al.* (1995) par exemple, ont indiqué que dans les écosystèmes terrestres, la résistance à l'invasion des plantes exogènes est plus fortement corrélée à l'architecture de la communauté végétale (spécifiquement l'existence de canopées laissant passer peu de lumière pour la strate sous jacente) qu'au nombre d'espèces végétales constituant cette communauté végétale.

2.3.3.4. Les perturbations écologiques

Les hommes ainsi que les plantes et les animaux qu'ils ont domestiqué, peuvent favoriser des invasions en causant des perturbations dans leur environnement (Harper, 1965 ; Mack, 1989). De ce fait, si les espèces natives n'arrivent pas alors à s'adapter à ces changements, des possibilités d'invasion demeurent avec l'introduction d'organismes exogènes dotés de fortes capacités d'adaptation. Ces modifications biologiques de l'environnement peuvent être créées par le feu, les inondations, les pratiques culturelles, le surpâturage, le drainage des zones humides ou les modifications de salinité, et les teneurs en nutriments dans ces écosystèmes (Mack, 1989 ; D'Antonio & Vitousek, 1992).

2.3.3.5. Les changements globaux

Plus récemment, il a été suggéré que les changements au niveau planétaire (l'augmentation du CO₂ atmosphérique, le réchauffement climatique, les dépôts de nutriments comme l'azote,) pouvaient interagir avec les plantes exotiques et favoriser leur expansion (Smith *et al.*, 1987 ; Dukes & Mooney, 1999 ; Wolfe & Klironomos, 2005).

De nombreuses plantes exotiques ont été identifiées comme répondant plus favorablement à l'augmentation de CO₂ atmosphérique que des espèces natives (Smith *et al.*, 1987 ; Sasek & Strain, 1988 ; 1991 ; Vasseur & Potvin, 1998 ; Smith *et al.*, 2000).

Un autre facteur influençant significativement la croissance et l'expansion des plantes exotiques est la disponibilité dans le sol de nutriments, dont l'azote. Ainsi, l'enrichissement du sol en cet élément (par l'agriculture et/ou d'autres activités anthropiques) permet un meilleur développement des espèces végétales à croissance rapide (comme de nombreuses plantes exotiques) comparées aux espèces natives à croissance plus lente et adaptées aux sols pauvres en éléments nutritifs (Dukes & Mooney, 1999). En effet, des études réalisées en milieu naturel ont montré que la fertilisation accroissait la dominance des plantes exotiques comparées aux natives (Milchunas & Lauenroth, 1995 ; Burke & Grime, 1996 ; Maron & Connors, 1996 ; Wedin & Tilman, 1996).

De même, la théorie de "la fluctuation de la disponibilité des ressources" de Davis *et al.* (2000) indique que la disponibilité des ressources demeure un facteur d'une grande importance

déterminant le succès ou l'échec d'une invasion. En effet, une communauté végétale sera beaucoup plus sensible à l'invasion si les quantités de ressources non utilisées augmentent. Donc, tout phénomène qui accroît la disponibilité des ressources, réduit la compétition pour ces ressources, et, augmente ainsi les risques d'invasion des communautés végétales endogènes.

2.3.4. L'aptitude d'une espèce végétale à devenir invasive (anglais : "invasiveness")

De nombreuses caractéristiques relatives aux espèces végétales invasives ont été répertoriées et souvent mises en avant pour expliquer le succès des plantes invasives.

2.3.4.1. Les caractéristiques de reproduction et de mode de vie

Certaines propriétés morphologiques, démographiques et de mode de vie ont été rattachées aux plantes invasives : des grandes tailles, la possibilité de reproduction végétative, et chez les phanérogames : la floraison parfaite et parfois une longue période de floraison, la reproduction précoce et un court intervalle pour la production des graines. Ces paramètres traduisent une reproduction rapide et en masse, conduisant à une croissance rapide de la population (Rejmanek & Richardson, 1996 ; Pysek, 1997 ; Rejmanek, 2000 ; Kolar & Lodge, 2001). Le faible poids des graines a été également identifié comme un facteur favorisant l'expansion des plantes invasives. Ceci, à cause du nombre important des graines produites (Greene & Johnson, 1994) et de leur meilleure dispersion (Rydin & Borgegard, 1991) ; de la facilité de germination (Grime *et al.*, 1988) et de la croissance relative plus élevée des plantules (Walters *et al.*, 1993).

Un autre caractère, de nature écophysiological, participe aussi au succès des espèces exotiques. Il s'agit de la surface foliaire spécifique (surface foliaire par unité de masse foliaire). En assurant une plus grande interception de la lumière par unité de masse foliaire, une surface foliaire spécifique élevée aboutit à une vitesse de croissance plus élevée. Ce caractère est donc avantageux dans les sites très productifs (sols relativement fertiles). Une surface foliaire spécifique relativement élevée est un caractère partagé par de nombreuses plantes envahissantes (Rejmanek & Richardson, 1996 ; Baruch & Goldstein, 1999 ; Grottkopp *et al.*, 2002).

En admettant cependant que certaines plantes possèdent des caractères biologiques qui les prédisposent à devenir invasives, comment expliquer qu'elles ne soient pas envahissantes dans leur aire d'origine ? Ce constat doit nous rappeler que l'abondance d'un organisme et l'étendue de son aire de distribution ne sont pas uniquement ou sont peu déterminées par sa capacité reproductive

intrinsèque. Les interactions biotiques avec les autres composantes des écosystèmes devraient en grande partie déterminer le succès biologique d'une espèce.

2.3.4.2. La compétition

La compétition est l'une des principales voies de succès pour les plantes exotiques. La lumière, l'eau et les ressources nutritives du sol sont les sources de compétition les plus citées (Mack *et al.*, 2000 ; Levine *et al.*, 2003).

En exploitant les mêmes niches, il se crée une forte compétition entre les espèces exotiques et les espèces natives pour la disponibilité des ressources du milieu. D'Antonio & Mahall (1991) ont ainsi montré que la suppression de *Carpobrotus edulis*, plante invasive des communautés végétales côtières en Californie, entraînait une nette amélioration de la disponibilité en eau pour les espèces natives voisines dont *Haplopappus ericoides*.

D'Antonio & Vitousek (1992) et Cabin *et al.* (2002) ont également montré que dans la forêt native à climat sec à Hawaii, le système racinaire dense et le feuillage touffu des espèces herbacées invasives affectaient négativement la germination des espèces ligneuses natives, ainsi que l'acquisition de l'eau et des nutriments des jeunes pousses.

Pour leur part, D'Antonio & Mahall (1991), Collins & Wein (1993), Hamilton *et al.*, (1999) et Levine *et al.*, (2003) ont conclu suite à des expérimentations sur des plants matures, que les espèces invasives sont compétitivement supérieures aux espèces natives ; ce qui leur permettrait de mieux se développer et de mettre en place des peuplements monospécifiques.

Le phénomène d'allélopathie demeure sans doute une des autres voies de succès des plantes invasives et a été traduit par l'hypothèse '*novel weapons*' (Callaway & Ridenour, 2004) comme par exemple les Centaurées (*Asteraceae*) chez qui des effets allélopathiques ont été décrits (Stevens, 1986 ; Bais *et al.*, 2002). En effet, les exsudats racinaires de *Centaurea maculosa* Lam, plante invasive des communautés végétales de l'Ouest du Montana et du Nord des USA contiennent des composés allélopathiques comme la ($\pm$) catéchine. Ce composé est un énantiomère pour lequel (-) catéchine est phytotoxique alors que (+) catéchine est antibactérien (Bais *et al.*, 2002). Ainsi, *C. maculosa* grâce à cet avantage compétitif, modifiera aussi bien la composition des espèces végétales que celle des communautés microbiennes du sol à travers l'exsudation de cet énantiomère.

Hussain *et al.* (2003) ont quant à eux mis en évidence l'existence d'effets allélopathiques très marqués chez *Amaranthus viridis* L. (*Amaranthaceae*), adventice invasive au Pakistan. Ainsi, l'extrait aqueux, les pluviollessivats, la litière et les exsudats racinaires de cette plante ont significativement réduit la germination et la croissance des plants de *Pennisetum americanum*,

Triticum aestivum et de *Zea mays*. L'extrait aqueux de *A. viridis* a également réduit le développement des cellules méristématiques des mêmes plantes étudiées.

2.3.4.3. Les modifications des communautés microbiennes et des cycles biogéochimiques du sol

La structure et la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes du sol sont étroitement liées à la composition spécifique des espèces végétales, traduisant ainsi les interactions dans le fonctionnement des compartiments épigé et hypogé (Westover *et al.*, 1997 ; Grayston *et al.*, 2001). Il est clairement établi que des communautés microbiennes bien distinctes, aussi bien dans leur structure que dans leur fonctionnement, se développent sous des espèces végétales différentes (Grayston & Campbell, 1996 ; Roberts & Anderson, 2001 ; Duda *et al.*, 2003 ; Kourtev *et al.*, 2003 ; Lejon *et al.*, 2005).

Les modifications des communautés microbiennes du sol sont de plus en plus citées comme étant à l'origine de l'expansion des plantes invasives (Belnap & Phillips, 2001 ; Kourtev *et al.*, 2002a ; 2003 ; Hawkes *et al.*, 2005 ; Batten *et al.*, 2006 ; Stinson *et al.*, 2006). Les plantes invasives affectent principalement les microorganismes telluriques à travers les modifications de la quantité et de la qualité de la litière, des périodes d'apport des exsudats racinaires et de la litière, modifiant ainsi l'entrée de nutriments au sol (Wolfe & Klironomos, 2005).

Kourtev *et al.*, (2003) ont clairement démontré que les plantes exotiques invasives pouvaient rapidement influencer les communautés microbiennes du sol. La structure [profils PLFA (phospholipid fatty acids)] et les activités fonctionnelles [profils cataboliques SIR (Substrate-Induced Respiration)] étaient toutes fortement affectées. Ces changements dans la structure et l'activité fonctionnelle des microorganismes étaient accompagnés de modifications des caractéristiques chimiques du sol (pH et teneur en azote) et du processus de minéralisation de l'azote.

Ehrenfeld (2003) a suggéré que les plantes invasives pouvaient modifier la salinité, l'humidité, le pH et les teneurs en carbone et en azote du sol. Ces paramètres sont susceptibles de modifier significativement la composition des communautés microbiennes de ces sols. De plus, l'exsudation de composés allélopathiques toxiques pour les microorganismes telluriques (bactéries, champignons mycorhiziens) par les plantes invasives (Bais *et al.*, 2002 ; Stinson *et al.*, 2006) modifierait aussi les communautés microbiennes du sol en leur faveur.

Kourtev *et al.* (2002a, 2003) ont par ailleurs mis en évidence des phénomènes de 'reconversion' des communautés microbiennes telluriques (profils PLFA) sous certaines plantes invasives rencontrées aux USA : tandis que *Berberis thunbergii* entraînait une nette réduction des communautés mycorhiziennes au profit des bactéries, *Microstegium vimineum* favorisait plutôt une

plus grande abondance des champignons mycorhiziens à arbuscules (champignons MA). En revanche, Belnap & Phillips (2001) ont observé une faible biodiversité microbienne, moins de champignons et d'invertébrés et une plus grande abondance de bactéries actives dans les sites envahis par *Bromus tectorum* dans l'Utah (USA), résultant de l'effet de *B. tectorum* sur la disponibilité de l'azote et du carbone.

Par ailleurs, Mummey & Rillig (2006) ont mis en évidence une réduction significative du nombre de fragments de restriction (profils T-RFLP : Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism) et de la longueur des hyphes mycéliens dans les sols sous la plante invasive *Centaurea maculosa* comparés aux sols sous les espèces natives traduisant ainsi des modifications majeures dans la composition et l'abondance des communautés de champignons MA.

Les relations plantes invasives – champignons MA sont liées au degré de dépendance mycorhizienne de la plante hôte (Urcelay & Diaz, 2003), étant donné la large distribution de ces symbiotes dans les écosystèmes terrestres et de leur faible spécificité pour les plantes hôtes (van der Heijden *et al.*, 1998b ; Hart *et al.*, 2003). Fumanal *et al.* (2006) concluent que les champignons mycorhiziens à arbuscules ont facilité l'expansion de la plante invasive *Ambrosia artemisiifolia* L. (*Asteraceae*) en France car cette espèce végétale forme des relations étroites avec les champignons mycorhiziens. En revanche, *Alliaria petiolata* (*Brassicaceae*) une plante non mycotrophe, doit son expansion au fait qu'elle produit des composés allélopathiques qui inhibent la germination des spores des champignons MA. Ce qui se traduit par une importante diminution des propagules mycorhiziens dans les sites envahis, réduisant ainsi la croissance et la survie des espèces natives dépendant fortement de cette association symbiotique (Roberts & Anderson, 2001 ; Stinson *et al.*, 2006).

Ces deux types de réponses, interactions positive ou négative entre les champignons MA et les plantes invasives ne sont forcément pas contradictoires mais dépendent fortement du statut mycorhizien de la plante invasive et de sa position dans la dominance hiérarchique locale (Urcelay & Diaz, 2003). Dans ce contexte, il a été suggéré que pour une espèce végétale moins compétitive mais beaucoup plus mycotrophe que ne l'est une autre pourtant plus compétitive, les champignons MA vont promouvoir la co-existence entre ces deux espèces en augmentant la capacité de l'espèce la moins compétitive à accéder aux nutriments (Zobel & Moora, 1995 ; Moora & Zobel, 1996). De la même manière, si une espèce végétale fortement compétitive est plus largement colonisée par les champignons mycorhiziens, ces derniers renforceront l'avantage compétitif de cette plante, réduisant alors la co-existence entre plantes (West, 1996).

Les changements dans la composition spécifique des espèces végétales sont également corrélés à des modifications dans les activités enzymatiques des microorganismes, principaux responsables du recyclage des nutriments dans le sol (Kourtev *et al*, 2002b; 2003).

L'agrégation et les processus d'érosion du sol ont un impact sur l'habitat des microorganismes, et donc sur les microorganismes eux-mêmes, et sont également affectés par les phénomènes d'invasion des plantes (Rillig *et al.*, 2002). Ces modifications physiques créées au niveau du sol par les plantes invasives sont traduites par le concept "*ecological engineering*" (Cuddington & Hastings, 2004).

Wolfe & Klironomos (2005) pensent que ce sont toutes ces modifications créées au niveau du sol, notamment sur la composante biotique, qui aboutissent à un feedback en faveur de la plante invasive ("*feedback positif*"), et qui expliqueraient en grande partie le succès des invasions par les plantes exotiques.

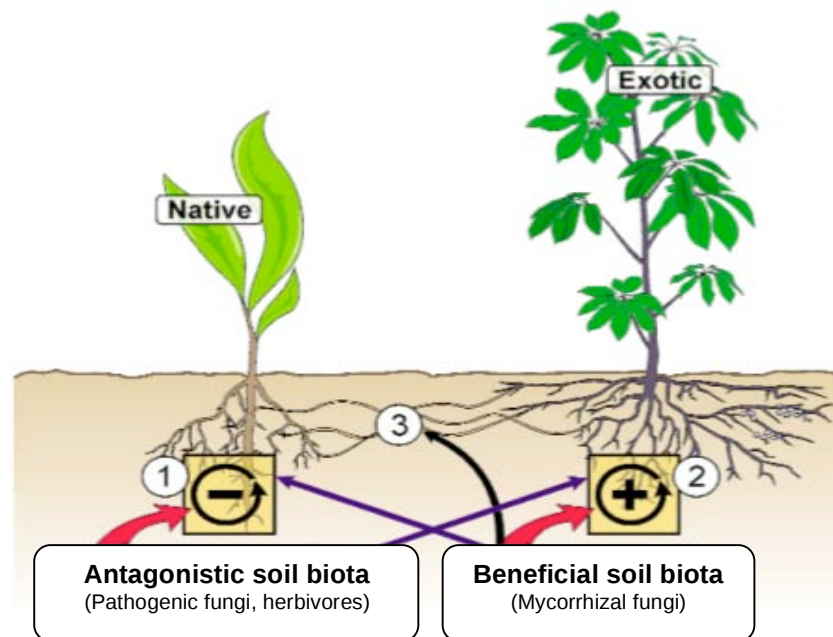


Figure 4 : Modèle conceptuel illustrant trois mécanismes potentiels d'action par lesquels les organismes telluriques peuvent affecter de manière différente les espèces végétales natives (plante de gauche) et les plantes exotiques (plante de droite) (d'après Wolfe & Klironomos, 2005).

(1) les organismes telluriques antagonistes (champignons pathogéniques, organismes herbivores) peuvent proliférer dans la rhizosphère des plantes natives, aboutissant à des **feedbacks négatifs** entre ces plantes et les organismes telluriques. (2) Certaines plantes exotiques semblent être 'épargnées' des effets négatifs créés par les organismes antagonistes du sol et, au contraire, peuvent bénéficier des organismes symbiotiques du sol tels que les champignons mycorhiziens, entraînant des **feedbacks positifs** entre les plantes exotiques et ces organismes. (3) Les plantes exotiques peuvent également exploiter les ressources nutritives via le réseau d'hyphes entre plantes voisines.

Par ailleurs, Chen *et al.*, (2007) ont montré qu'en modifiant les communautés bactériennes des sols, l'invasion par la plante invasive *Spartina alterniflora* (*Poaceae*) stimulait en même temps le développement des nématodes phytoparasites pour la flore indigène. En effet, l'apport de litière de *S. alterniflora* à C/N faible accroissait la population d'un type particulier de bactéries, entraînant ainsi une plus grande disponibilité alimentaire spécifique à ces nématodes.

Il faut cependant noter que les effets des plantes invasives sur la structure et le fonctionnement des communautés microbiennes du sol peuvent être très variables (négative, neutre ou positive) ; et ceci dépendrait entre autre de l'espèce végétale considérée, de l'écosystème envahi, des méthodes utilisées pour évaluer les modifications dans les communautés microbiennes, de l'échelle spatio-temporelle retenue pendant l'étude (Wolfe & Klironomos, 2005). Outre cette variabilité liée à l'espèce végétale et au milieu, ces mêmes auteurs suggèrent que différents groupes taxonomiques de microorganismes telluriques pourraient également ne pas répondre de façon similaire à la présence de la même plante invasive.

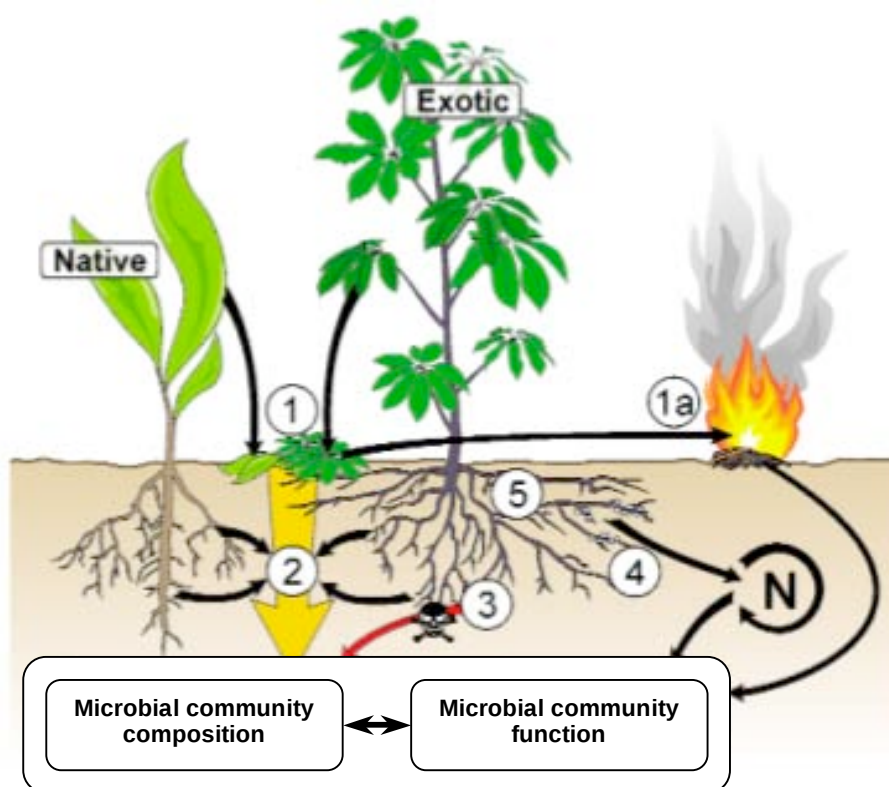


Figure 5 : Modèle conceptuel illustrant les différents mécanismes d'action par lesquels le remplacement d'une espèce végétale native (plante de gauche) par une autre plante exotique (plante de droite) peut entraîner des modifications dans la composition et le fonctionnement des communautés microbiennes (Wolfe & Klironomos, 2005).

Cinq mécanismes directs ont été illustrés : les différences dans la quantité et la qualité de (1) la litière produite ou (2) des exsudats racinaires modifiant le pool de nutriments disponibles pour les microorganismes telluriques ; (3) la production et la libération dans la rhizosphère de nouveaux composés à activité antimicrobienne ; (4) de nouvelles stratégies d'acquisition de nutriments telle que la fixation de l'azote susceptibles de modifier les cycles biogéochimiques et (5) les perturbations locales dans la zone racinaire résultant de l'architecture ou du fonctionnement des racines. Ces mécanismes directs peuvent entraîner des effets indirects, telle que la fréquence des incendies (1a).

Les effets d'une espèce exotique peuvent se manifester par l'un ou par plusieurs de ces mécanismes agissant simultanément.

Milbau *et al.*, (2003) concluent que les caractéristiques des espèces végétales vont largement déterminer l'extension ou la gravité d'une invasion (nombre de graines et de plantules), alors que le succès de l'établissement de ces espèces végétales (croissance et survie des plantes invasives) dépendrait plutôt, aussi bien des caractéristiques des espèces végétales, que de l'écosystème.

2.3.5. Restauration écologique post-invasion : rôle de la composante microbienne tellurique

Un des enjeux majeurs pour les programmes de restauration des écosystèmes après une invasion est de pouvoir assurer le retour du biotope à une situation 'recherchée' avec une composition végétale spécifique, une structure, et/ou un ensemble de fonctions bien particulières (Noss, 1990).

Après l'installation et l'envahissement du milieu par une espèce végétale invasive, une des stratégies de restauration consiste à essayer de freiner le processus d'invasion, d'éliminer les plantes déjà installées afin de réhabiliter les conditions du milieu d'avant l'invasion. Cependant, ces stratégies ont longtemps porté sur les composantes épigées beaucoup plus aisées à étudier (Wolfe & Klironomos, 2005). Les techniques couramment utilisées pour l'élimination des plantes invasives ont concerné principalement leur élimination manuelle ou mécanique, l'utilisation d'herbicides, du feu et des méthodes biologiques (Masters & Nissen, 1998 ; D'Antonio & Meyerson, 2002). En revanche, les microorganismes du sol ont généralement été peu utilisés (Wolfe & Klironomos, 2005).

Plus récemment, les microorganismes telluriques ont été utilisés dans les méthodes de restauration des sites envahis par les espèces exotiques. Dans ce contexte, le rôle de ces microorganismes dans le recyclage des éléments minéraux du sol a été mis à profit dans la méthode de lutte contre certaines plantes indésirables (D'Antonio & Meyerson, 2002). Même si la méthode semble peu applicable à large échelle, cette approche peut néanmoins s'avérer fort intéressante pour les programmes de restauration où les besoins en nutriments des plantes invasives sont bien maîtrisés. Lorsqu'une espèce végétale invasive, à fort besoin en azote, se trouve sur un site, des études ont suggéré d'y apporter de la matière organique (sciure de bois, ...) afin de réduire le pool de N disponible dans le sol (Wilson & Gerry, 1995 ; Reeve-Morghan & Seastedt, 1999 ; D'Antonio & Meyerson, 2002). Le carbone labile stimule la croissance des microorganismes telluriques résultant en une immobilisation de l'azote. Et la teneur moins élevée du sol en N devrait réduire la croissance de la plante invasive qui en dépend le plus (D'Antonio & Meyerson, 2002). Par ailleurs, dans le cadre de la lutte biologique contre *Poa annua* L., une plante invasive des terrains de golf, Zhou & Neal (1995), Imaizumi et al. (1997 ; 1998) ont trouvé des réponses positives mais variables en utilisant la bactérie *Xanthomonas campestris* pv. *poae*. Egli & Schmidt. Horwath *et al.* (1998) ont eux aussi rapporté que *Pseudomonas putida* (Trevisan) Migula pouvait également être efficace dans la lutte contre *P. annua*.

De la même manière, Gange *et al.* (1999) ont proposé que les mycorhizes à arbuscules pourraient constituer des candidats potentiels et plus respectueux de l'environnement dans la lutte contre l'invasion des terrains de golf par *P. annua* que l'utilisation des pesticides. En effet, il avait été préalablement montré que l'abondance de cette plante invasive dans les terrains de golf était négativement corrélée à la quantité de propagules mycorhiziennes dans le sol (Gange, 1994) c'est à dire que, lorsque le sol est pauvre en structures de champignons MA, *P. annua* était abondante et *vice versa*. Dans une expérimentation, ces auteurs ont donc apporté de l'inoculum endomycorhizien et ont observé que la mycorhization contrôlée pouvait en définitive réduire l'abondance de *Poa*

annua contrairement à *Agrostis stolonifera*, l'une des espèces végétales largement semées pour constituer le recouvrement végétal des terrains de golf et dont la croissance était améliorée (Gange *et al.*, 1999).

Dans le sud de la Californie (USA) en outre, des techniques de restauration de sites envahis par les espèces exotiques, basées sur l'utilisation des champignons endomycorhiziens, ont abouti à une accélération du rétablissement de la flore native. Ce qui a permis de réduire l'impact de l'érosion du sol car les espèces exotiques invasives, moins vigoureuses, étaient moins adaptées pour la protection du sol (Vogelsang *et al.*, 2004). Dans ces écosystèmes en effet, les espèces végétales natives dépendaient plus de l'association avec les champignons MA pour leur développement. Cette approche a donc consisté à favoriser la capacité compétitive de la flore native par l'inoculation mycorhizienne.

Des stratégies spécifiques de gestion des plantes invasives pourront être mises en place en favorisant par exemple le développement de communautés microbiennes clefs qui sont susceptibles de promouvoir à leur tour la croissance d'espèces végétales 'recherchées'. Cependant, l'application à large échelle de ces stratégies reste limitée par la complexité et le coût des études liées aux microorganismes telluriques. En outre, une meilleure compréhension de la structure et du fonctionnement de ces communautés microbiennes reste encore indispensable pour la détermination d'indicateurs pertinents à prendre en compte (Harris, 2003 ; Wolfe & Klironomos, 2005).

2.4. Conclusion

La structuration et la dynamique des communautés végétales sont fortement assujetties au développement des microorganismes telluriques. En retour, les plantes influenceraient en grande partie la prolifération des communautés microbiennes dans leur rhizosphère.

Suite à des pratiques culturales peu respectueuses de l'environnement et à la facilitation des déplacements des propagules végétales, les écosystèmes telluriques dans les régions tropicales sont soumis à des profondes perturbations des équilibres entre les compartiments épigés (strate végétale) et hypogés (communautés microbiennes). Ces perturbations sont de nature à modifier le fonctionnement des écosystèmes, à compromettre le maintien de la diversité biologique dans ces compartiments et à exacerber leur dégradation.

Nous envisageons donc dans notre étude une meilleure compréhension des interactions entre les espèces végétales et les communautés microbiennes rhizosphériques (en particulier les

champignons mycorhiziens à arbuscules et les communautés bactériennes qui leur sont associées) dans un écosystème Sahélien pour une meilleure gestion et une valorisation des ressources naturelles.

Partie II :

*Mécanismes de colonisation du sol par les herbacées :
effets des champignons MA et du phosphore dans les
mécanismes régissant la co-existence entre espèces herbacées*

3. Partie II : MECANISMES DE COLONISATION DU SOL PAR LES HERBACES : EFFETS DES CHAMPIGNONS MA ET DU PHOSPHORE DANS LES MECANISMES REGISSANT LA CO-EXISTENCE ENTRE ESPECES HERBACEES

Cette partie constituée de deux articles scientifiques (articles en préparation pour soumission) porte sur l'étude de l'implication des champignons mycorhiziens à arbuscules dans la structuration des espèces herbacées.

Article 1 :

Sanon A, Martin P, Thioulouse J, Assigbetse K, Prin Y, Spichiger R, Berthelin J, Galiana A, Dreyfus B, Duponnois R (2008) Diversity and spatial distribution of plant species are linked to the genetic and functional diversity of microbial communities in Natural Sahelian grassland. (en preparation pour soumission).

Article 2 :

Sanon A, Kisa M, Martin P, Prin Y, Berthelin J, Galiana A, Ducousso M, Spichiger R, Duponnois R. Feedback between plants and arbuscular mycorrhizal fungi is dependent on the mycorrhizal propagule density in an early successional arid ecosystem. (en préparation pour soumission).

Il s'agit de deux expérimentations qui se complètent, la première réalisée en milieu naturel et la seconde réalisée en serre, et qui portent sur la compréhension du rôle des champignons MA et de la richesse du sol en phosphore dans les mécanismes régissant la répartition spatiale des herbacées dans un écosystème sahélien.

3.1. Introduction

Le fonctionnement et la stabilité des écosystèmes terrestres sont principalement assujettis à la richesse spécifique des végétaux et à la composition du peuplement (Hooper & Vitousek, 1997). Différents processus permettent de réguler et de maintenir une telle biodiversité végétale, à savoir (i) la compétition entre plantes voisines (Grace & Tilman, 1990), (ii) la répartition spatiale et temporelle des ressources nutritives (Tilman, 1982), (iii) les perturbations édaphiques créant des nouvelles zones ou “patches” pour la colonisation par les plantes (Huston, 1979), et (iv) les interactions avec les autres organismes constituant les écosystèmes (Bever *et al.*, 1997).

Il a été aussi proposé que la dynamique de la flore épigée était liée au développement des organismes vivant dans le sol. En effet, un des paramètres fondamentaux de la composition et de l'activité des communautés microbiennes du sol était principalement déterminé par les caractéristiques de la strate végétale (composition et âge de la formation végétale) qui interviennent par la qualité et la quantité des exsudats racinaires et des résidus végétaux retournés au sol (Grayston *et al.*, 2001), ces facteurs s'ajoutant aux caractéristiques physico-chimiques, à l'humidité du sol, etc ... (Stotzky, 1997). En retour, les microorganismes du sol interviendraient fortement sur la composition des communautés végétales (van der Heijden *et al.*, 1998a ; Wardle, 2002).

Les champignons mycorhiziens à arbuscules (champignons MA) constituent une composante clef dans les relations plante – sol (Smith & Read, 1997 ; van der Heijden *et al.*, 1998a). Ils améliorent le prélèvement et le transport vers la plante d'éléments nutritifs comme le phosphore (Bolan, 1991 ; Duponnois *et al.*, 2005a), l'azote (Barea *et al.*, 1991), les micronutriments (Bürkert & Robson, 1994) et sont impliqués dans les stratégies de colonisation des plantes (Reynolds *et al.*, 2003 ; Nayyar *et al.*, 2008) .

Dans les régions tropicales, les sols sont généralement caractérisés par de faibles disponibilités en éléments nutritifs pour les plantes (Bationo *et al.*, 1986), mais ils supportent cependant une communauté végétale diversifiée en nombre d'espèces présentes. De plus, dans le cas des régions sahéliennes et soudano-sahéliennes où la faible pluviométrie ne permet pas le développement d'une strate forestière dense, la compétition interspécifique pour l'accès à la lumière a une importance relativement réduite. Les phénomènes de co-existence sont donc principalement régis au niveau du sol en impliquant les organismes qui y vivent. Ainsi, une meilleure compréhension de ces mécanismes est d'une importance cruciale dans toutes les opérations visant à restaurer et à revégétaliser des milieux dégradés, et ainsi conserver les ressources naturelles des écosystèmes terrestres.

De nombreuses études ont porté sur les interactions entre plantes et communautés microbiennes du sol (Stephan *et al.*, 2000 ; Nara & Hogetsu, 2004), mais très peu ont par contre porté sur ces interactions en prenant comme modèle d'étude des communautés végétales en milieu naturel.

L'objectif principal de notre première expérimentation est d'établir un lien entre la diversité végétale, les teneurs en éléments nutritifs (C, N, P) du sol et les communautés microbiennes telluriques en milieu tropical ; et donc, de déterminer les variations dans les caractéristiques chimiques, dans la structure génétique et fonctionnelle des communautés bactériennes totales et dans le Potentiel Infectieux Mycorhizien (PIM) qui sont reliées à la colonisation du sol par différentes espèces végétales. L'hypothèse scientifique de cette étude était la suivante : *“la répartition spatiale des espèces végétales est liée à la structure et la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes du sol, et à la disponibilité des nutriments. Ces interactions déterminent ainsi la capacité de chaque espèce végétale à coloniser le milieu”*.

Afin de mieux comprendre les interactions entre la richesse du sol en propagules de champignons MA, la disponibilité du phosphore et les mécanismes de co-existence des espèces végétales, une deuxième série d'expérimentations en serre a été réalisée avec deux herbacées : une légumineuse, *Zornia glochidiata* et une graminée, *Pennisetum pedicellatum*. Ces deux espèces végétales ont été retenues du fait qu'elles sont largement répandues dans les savanes herbeuses Soudano-Sahéliennes et qu'elles ont une forte relation avec les caractéristiques chimiques et microbiologiques des sols qu'elles influencent (cf premières expérimentations). Ces deux espèces végétales ont été cultivées, soit seule ou ensemble dans des pots, recevant différentes doses de propagules mycorhiziennes. L'hypothèse de cette expérimentation était la suivante : *“(i) la croissance des deux espèces végétales et (ii) le “feedback” entre les espèces végétales et les champignons MA seraient dépendants de la densité de propagules MA dans le sol”*. La réponse à la fertilisation a également été étudiée chez les deux espèces végétales retenues car il a été préalablement établi dans les expériences précédentes (expérimentation 1) que le phosphore du sol était un facteur clef dans la répartition spatiale des plantes.

3.2. Démarche expérimentale

Expérimentation 1

L'étude a été réalisée dans la Province du Yatenga située à une cinquantaine de kilomètres de Ouagadougou (Burkina Faso). Cette région sous climat soudano-sahélien avec une végétation de type savane herbeuse, est caractérisée par une longue saison sèche (6-8 mois) et des précipitations

annuelles (juin-septembre) variant de 400 à 700 mm. Les types de sol rencontrés varient des régosols, des alfisols (sols ferrugineux tropicaux lessivés) aux sols tropicaux bruns et hydromorphes (Marchal, 1983).

Une parcelle de 100 x 100 m a été délimitée de manière à prendre en compte la plus grande diversité végétale herbacée. Un total de 31 points d'échantillonnage (quadrat de 0.5 x 0.5 m) distribués dans la parcelle ont été choisis en fonction de la richesse spécifique et de l'abondance relative des espèces co-existant dans chaque quadrat. Les points d'échantillonnage (ou quadrats) ont été numérotés de 674 à 704. À chaque point de prélèvement de sol, toutes les espèces végétales (jeunes arbres et herbacées) ont été identifiées, les parties aériennes récoltées et séchées (65°C, 1 semaine). Du sol a été également prélevé de chaque quadrat (0-15 cm de profondeur), tamisé à 2 mm et gardé à température ambiante pour les analyses ultérieures. Pour chaque quadrat, des fragments racinaires ont été récoltés, nettoyés à l'eau et les biomasses déterminées (65°C, pendant 1 semaine).

Trois variables ont été mesurées pour chaque type de sol: le carbone total (g.kg^{-1}), l'azote total (g.kg^{-1}) et le phosphore total (mg.kg^{-1}). La structure des communautés bactériennes totales du sol a été analysée par la technique de *fingerprint* moléculaire PCR - DGGE [*Polymerase Chain Reaction – Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*] (Porteous *et al.*, 1997 ; Muyzer *et al.*, 1993). La similarité des profils a été calculée en déterminant le coefficient de Dice pour le nombre total de bandes (Shaw *et al.*, 1997). Un dendrogramme a été construit en utilisant la méthode UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic averages) (Thioulouse *et al.*, 1997). En outre, le Potentiel Infectieux Mycorhizien (PIM) du sol [culture de plantes mycotrophes dans le sol récolté en suivant une série de dilution par mélange du sol non stérilisé avec le même sol mais stérilisé (Plenchette *et al.*, 1989)] et les profils de la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes telluriques [(*Substrate Induced Respiration, SIR*), cf article 1] *in situ* (Degens & Harris, 1997) ont été déterminés.

Expérimentation 2

Les graines des deux espèces végétales (*Zornia glochidiata* et *Pennisetum pedicellatum*) ont été collectées des parcelles retenues lors de l'identification des espèces herbacées (échantillonnage de l'expérimentation 1). Des pots plastiques ont été remplis avec 100 g de sol stérilisé (140 °C, pendant 40 min) et des fragments de racines de poireau (*Allium porrum* L.) mycorhizés par le champignon endomycorhizien *Glomus intraradices* y ont été apportés. Pour obtenir une échelle logarithmique de la densité d'inoculation, l'inoculum a été apporté à raison de 0, 3, 10, 30 ou 100

fragments par pot et soigneusement mélangés au sol. Le nombre de fragments de racines a été uniformisé à 100 fragments par pot en rajoutant le nombre requis de fragments racinaires de poireau non mycorhizés.

Une graine prégermée de *Z. glochidiata* ou de *P. pedicellatum* (Expérience 1A) ou les deux graines prégermée de *Z. glochidiata* et de *P. pedicellatum* (Expérience 1B) ont été par la suite plantées dans chaque pot. Les pots, 10 répétitions par traitement, ont été disposés en randomization totale dans une serre et arrosés quotidiennement à l'eau distillée sans apport de fertilisant. Après 1 mois de croissance, les plantes ont été récoltées. Les racines ont été colorées (Phillips & Hayman, 1970) et les pourcentages de colonisation par les champignons MA déterminés (Brundrett *et al.*, 1985). Les biomasses aériennes et racinaires après séchage (65°C, pendant 1 semaine) ont ensuite été mesurées. La dépendance mycorhizienne de chaque espèce végétale est obtenue en calculant le rapport de la différence entre la biomasse totale de la plante mycorhizée et la biomasse totale de la plante non mycorhizée sur la biomasse totale de la plante mycorhizée, exprimée en pourcentage (Plenchette *et al.*, 1983).

Les mêmes types de pots plastiques utilisés précédemment ont été remplis avec 100 g du même sol stérilisé. Une gamme de fertilisation a été réalisée en apportant 0, 3, 10, 30 ou 100 granules d'osmocoteTM (N :P :K, 11 :8 :17). Une plante prégermée de *Z. glochidiata* et une de *P. pedicellatum* ont été plantées dans le même pot. Les plants, avec 10 répétitions par traitement, ont été disposés en randomization totale dans une serre et arrosés quotidiennement à l'eau distillée pendant 1 mois. À la récolte, les biomasses aériennes ont été déterminées après séchage (65°C, pendant 1 semaine).

3.3. Résultats

Expérimentation 1

Structure des communautés microbiennes des sols

De nombreuses bandes d'intensités différentes sont mises en évidence sur les profils DGGE des séquences 16S ADN_r, traduisant des différences dans les populations bactériennes des échantillons de sol. Les profils DGGE des sols des quadrats 674 à 689 sont caractérisés par la présence de 1 à 5 bandes bien évidentes et de nombreuses autres bandes moins intenses (50 bandes environ), suggérant que dans ces échantillons de sol, 1 à 5 populations dominent alors que de nombreuses autres populations sont plus faiblement représentées. En revanche, pour les autres

échantillons de sols (quadrats 690 à 704), les profils montrent 1 à 2 larges bandes et de nombreuses autres bandes moins intenses (46 bandes environ).

L'analyse hiérarchique des groupes basée sur les indices de dissimilarité de Dice des bandes confirme les observations faites au niveau des profils DGGE. Les échantillons de sol sont clairement divisés en 2 groupes, le 1^{er} composé des échantillons de 674 à 689 et le second, les échantillons de 690 à 704 (Figure 6). Ces 2 groupes de sol ont donc été retenus pour la description des caractéristiques des sols.

Le PIM_{50} (ou MSI_{50} , Mycorrhizal Soil Infectivity) caractérisant la quantité de sol non stérilisé nécessaire pour mycorrhizer 50% d'une population de plantes dans les conditions du test biologique est significativement plus élevé pour les échantillons de sols appartenant au 2^e groupe (690 à 704) suggérant que les propagules des champignons MA sont plus nombreux dans les sols du 1^{er} groupe (674 à 689) comparés aux sols du 2^e groupe (Tableau 1).

Tableau 1 : Relations entre les dilutions de sol et le pourcentage de plantules de *Pennisetum thyphoides* mycorhizées, et les valeurs du PIM_{50}

Soil origins	Y-intercept	Regression slopes	Regression coefficient (R^2)	P values	MSI_{50} (g.100g ⁻¹)
Group 1	65.6 b ⁽¹⁾	0.44 a	0.19	0.0418	< 0.1 a
Group 2	44.6 a	0.52 b	0.33	0.0059	10.2 b

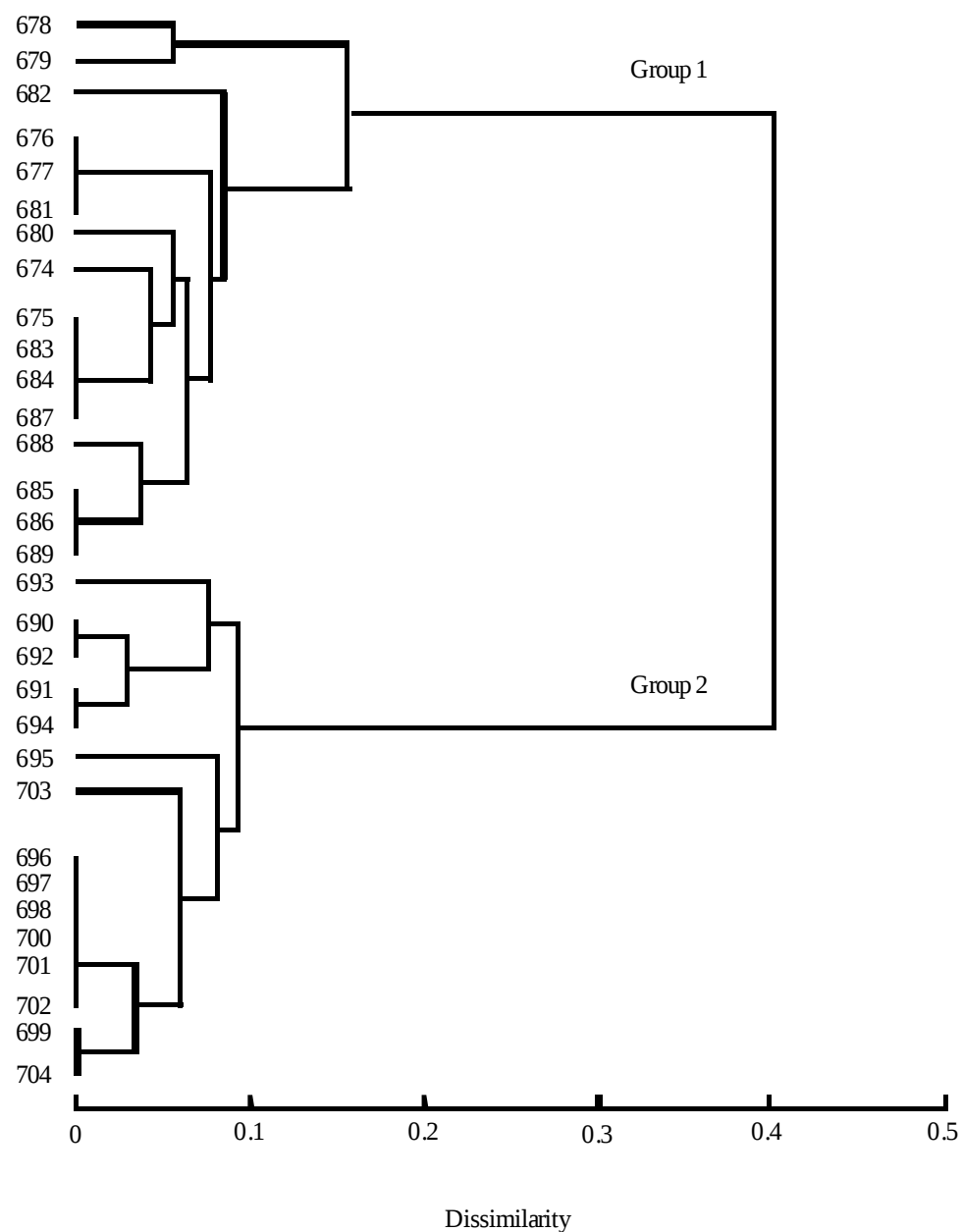


Figure 6 : Similarité entre les profils PCR-DGGE obtenus des communautés bactériennes des échantillons de sol des parcelles numérotées de 674 à 704

Relations entre les structures des espèces végétales et les communautés microbiennes des sols

L'analyse de co-inertie des relations entre la composition spécifique végétale et les profils de la DGGE est donnée à la figure 7.

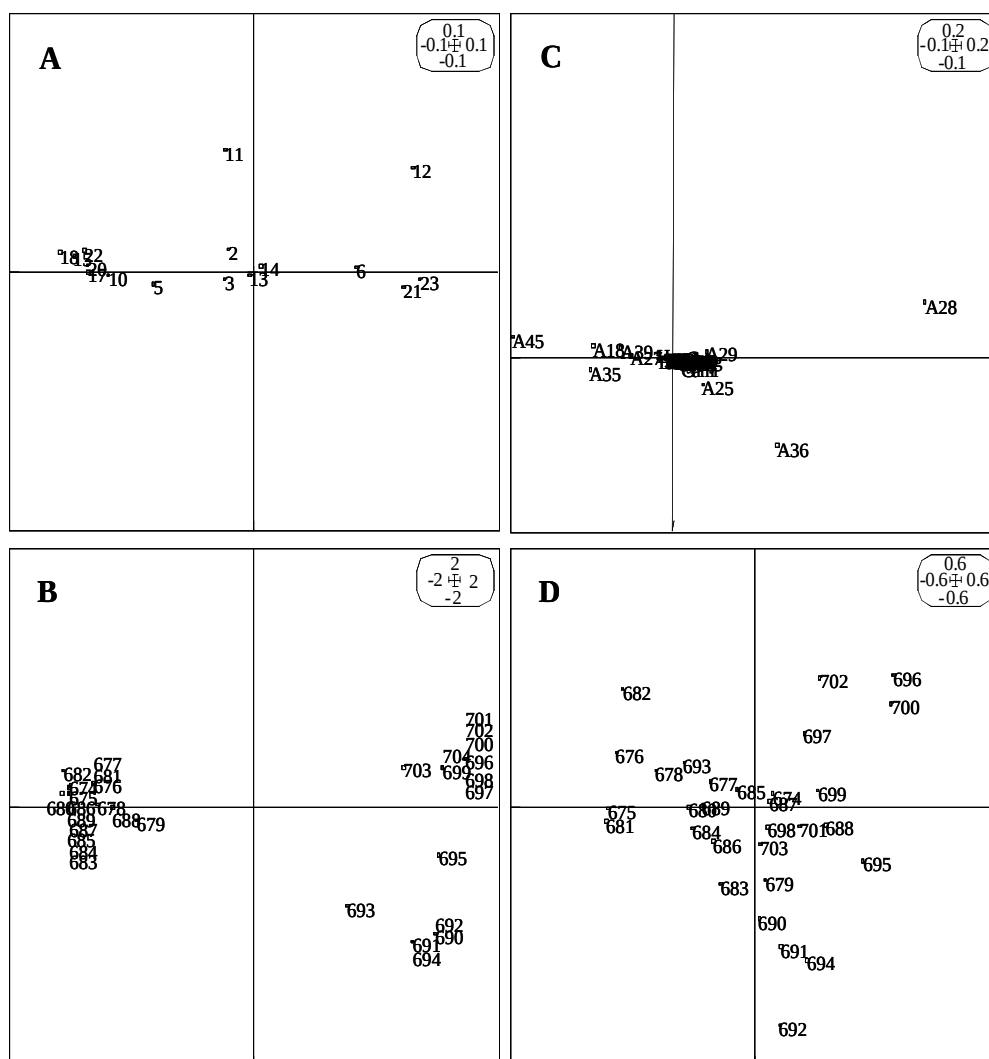


Figure 7 : Plan factoriel de l'analyse de co-inertie des relations entre la composition spécifique végétale et les profils de la DGGE

Pour les quatre plans factoriels (A, B, C et D) de la figure 7, l'axe des abscisses x représente le 1^{er} axe de co-inertie et l'axe des ordonnées y, le second axe de co-inertie. Les bandes non identiques de la DGGE ont été numérotées de 1 à 23 et sont présentées sur la figure 7A. Sept bandes (numéros 5, 10, 15, 17, 18, 20 et 22) sont situées dans la partie gauche du plan factoriel (valeur négative sur le 1^{er} axe de co-inertie) alors que, 4 autres bandes (numéros 6, 12, 21 et 23) se retrouvent du côté opposé du plan factoriel avec des coordonnées positives sur l'axe x. Le plan factoriel indique également la distribution des bandes dans les échantillons de sol (Figure 7B); avec les échantillons numérotés de 674 à 689 dans la partie gauche de la figure et en revanche, les échantillons numérotés de 690 à 704 à droite. Les groupes ainsi constitués correspondent parfaitement aux groupes déjà proposés par l'analyse hiérarchique des groupes. Sur le plan factoriel de la distribution des espèces végétales au niveau des points d'échantillonnage (Figure 7C), *Zornia*

glochidiata (A45), *Spermacoce chaetocephala* (A35) et *Cymbopogon giganteus* (A18) ont les valeurs des coordonnées négatives les plus élevées sur l'axe x tandis que *Pennisetum pedicellatum* (A28), *Walthelaria indica* (A43) et *Spermacoce radiata* (A36) ont les valeurs des coordonnées positives sur l'axe x les plus élevées. Sur le dernier plan factoriel (Figure 7D) représentant la distribution des points d'échantillonnage, on retrouve le même regroupement des parcelles que dans la figure 7B avec la plupart des points d'échantillonnage numérotés de 674 à 689 à gauche de la figure et les autres points situés à droite de la figure. Ces résultats suggèrent que (i) les communautés microbiennes du groupe 1 (points d'échantillonnage 674 à 689) présentent des différences avec celles du groupe 2 (690 à 704) et (ii) ces différences sont associées à la présence de certaines espèces végétales comme *Z. glochidiata* (A45) pour le groupe 1 et *P. pedicellatum* (A28) pour le groupe 2.

Interactions entre la présence des espèces végétales et certaines caractéristiques des échantillons de sol

Le rapport de la co-existence entre *Z. glochidiata* et *P. pedicellatum* (rapport de la biomasse de *Z. glochidiata* sur la somme des biomasses de *Z. glochidiata* et *P. pedicellatum*) est négativement corrélé à la teneur totale du sol en P (Figure 8), à la richesse spécifique des plantes (nombre d'espèces végétales présentes) et au nombre des bandes du profil DGGE des quadrats d'échantillonnage (résultats présentés dans l'article 1).

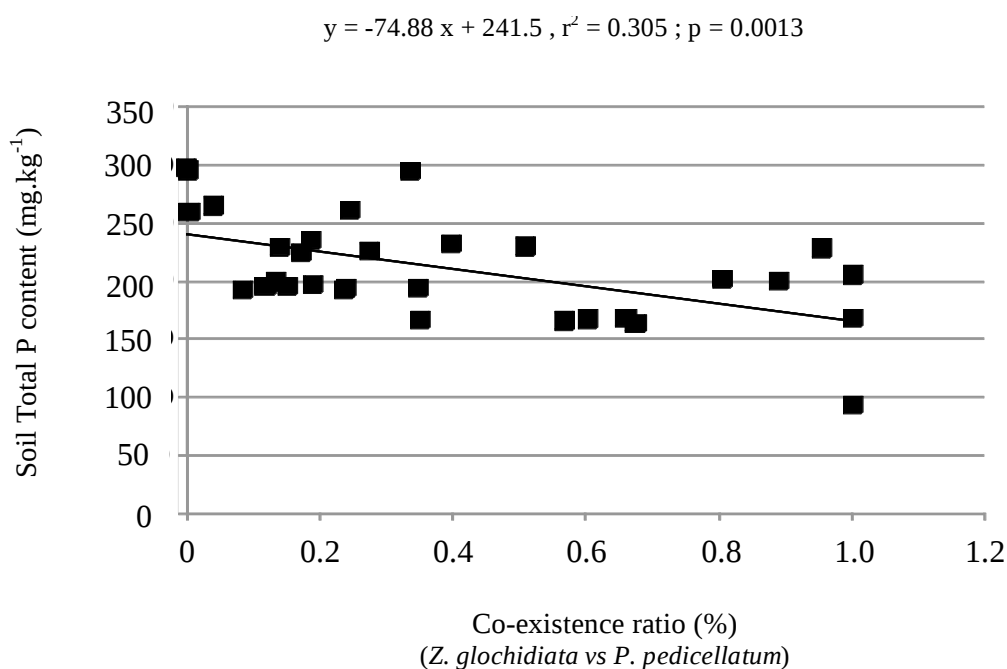


Figure 8 : Corrélation entre le rapport de co-existence entre *Z. glochidiata* et *P. pedicellatum* et la richesse du sol en P

Expérimentation 2

La croissance de *Z. glochidiata* ou *P. pedicellatum* cultivés individuellement (Expérience 1A) est significativement corrélée au logarithme du nombre de propagules mycorhiziennes introduites dans le pot. Pour *Z. glochidiata*, les dépendances mycorhiziennes varient de 29,0% (apport de 3 propagules mycorhiziens) à 68,7% (100 propagules introduits), alors pour *P. pedicellatum* cette dépendance est de l'ordre de 35,4 à 80,6% (article 2). L'effet de l'inoculation par *G. intraradices* a été significativement plus élevé chez *P. pedicellatum* que chez *Z. glochidiata* aux densités d'inoculation 30 et 100 propagules.

Lorsque les 2 espèces végétales sont cultivées dans le même pot (Expérience 1B), la croissance de la légumineuse est plus importante aux faibles densités d'inoculum (3 propagules) et décroît avec l'augmentation du nombre de propagules. En revanche, la croissance de la graminée est positivement corrélée au nombre de propagules mycorhiziens introduits dans le pot (Figure 9).

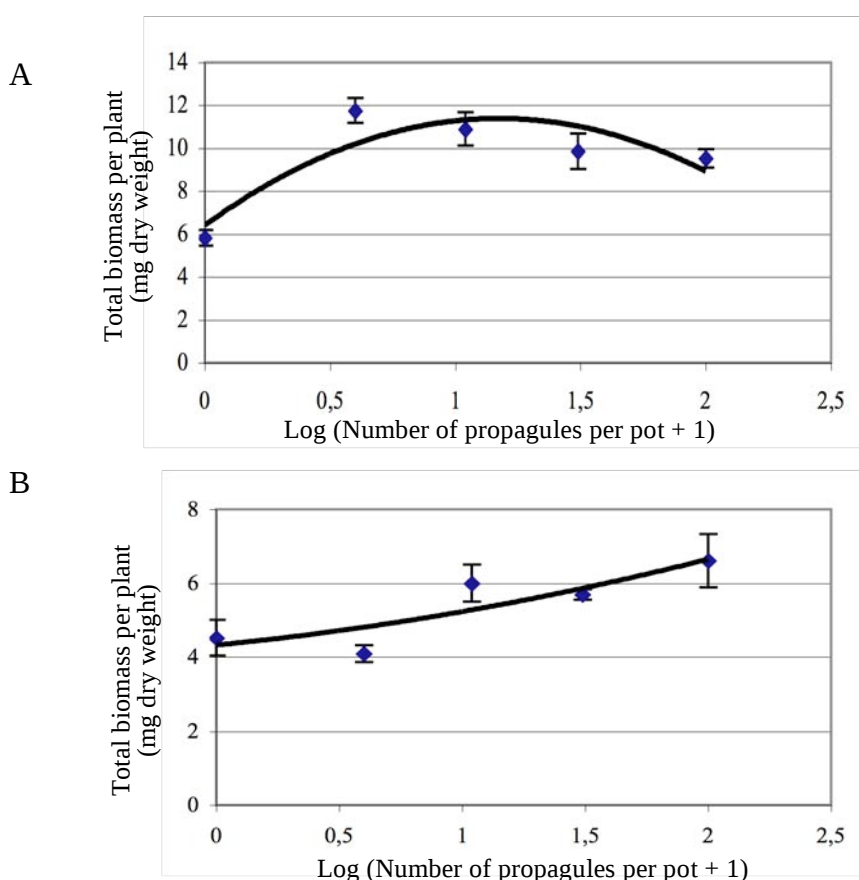
Dans l'expérience 2, l'augmentation de la teneur du sol en nutriments dont le phosphore notamment a entraîné un effet dépressif sur les plants de *Z. glochidiata* ; pour *P. pedicellatum*, un effet positif sur la croissance des plants est observé suite à l'apport de 3 et de 10 granules d'OsmocoteTM dans le pot. Aux doses plus élevées, la fertilisation a inhibé la croissance des plants (Figure 10).

3.4. Discussion

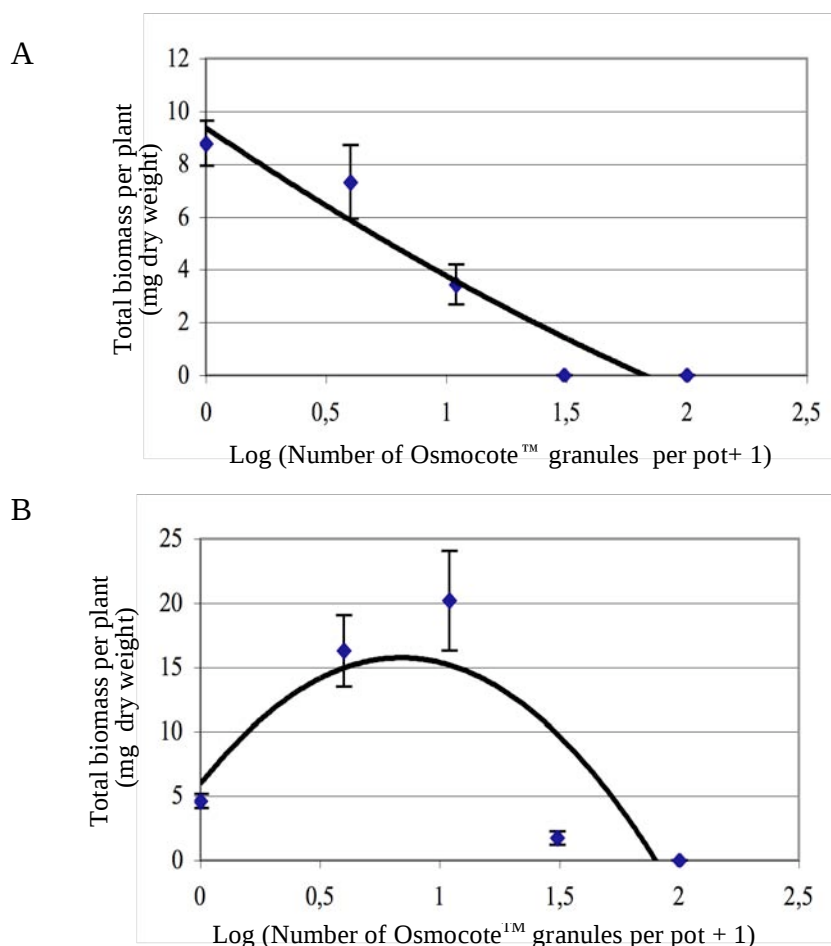
Les résultats de l'expérimentation 1 montrent clairement que (i) les échantillons de sols majoritairement colonisés par chacune des deux espèces végétales retenues (*Z. glochidiata* ou *P. pedicellatum*) hébergent des communautés microbiennes différentes aussi bien dans leur structure que dans leur diversité fonctionnelle, (ii) la dominance de chacune des espèces végétales est liée à la richesse en phosphore et au potentiel infectieux mycorhizien (PIM) du sol.

Des études ont précédemment montré que le trèfle (légumineuse) produisait plus d'exsudats racinaires que le blé (graminée) (Martin, 1971), et que les légumineuses avaient un ratio C/N plus faible que les graminées (Steele & Wallis, 1998). Il a aussi été observé que des légumineuses exsudaient plus de composés azotés que le blé (Ayers & Thornton, 1968 ; Vancura & Hanzlikova, 1972) ; ce qui pourrait entraîner une sélection de microorganismes rhizosphériques distincts. Dans la présente étude, les résultats confortent cette hypothèse du fait que l'une des espèces végétales appartient aux légumineuses (*Z. glochidiata*) et l'autre aux graminées (*P. pedicellatum*) et qu'elles ont des effets distincts sur la structure et la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes

rhizosphériques. De plus, il est bien établi que de nombreuses espèces végétales fixatrices d'azote sont particulièrement dépendantes de la symbiose mycorhizienne pour l'absorption des nutriments requis pour leur croissance et une fixation efficiente du N₂ atmosphérique (Barea *et al.*, 1991). Les champignons MA modifient ainsi les fonctions de la racine (Ex : exsudation racinaire ; Marshner *et al.*, 1997), changent le métabolisme de la plante (transfert des hydrates de carbone aux champignons) (Shachar-Hill *et al.*, 1995) et influencent les communautés microbiennes rhizosphériques (Andrade *et al.*, 1998b). En outre, les champignons mycorhiziens peuvent produire des composés qui ont un effet sélectif sur les communautés microbiennes de la rhizosphère (Hobbie, 1992 ; Söderström, 1992).



Figures 9 : Effets de la densité d'inoculation mycorhizienne sur (A) la biomasse totale par plant de *Z. glochidiata* ($y = - 3,61 x^2 + 8,49 x + 6,41$; $r^2 = 0,77$; $p < 0,0001$) et sur (B) la biomasse totale par plant de *P. pedicellatum* ($y = 0,26 x^2 + 0,65 x + 4,32$; $r^2 = 0,75$; $p < 0,0001$) dans l'expérience 1B (culture dans le même pot des deux plantes).



Figures 10 : Effets de l'apport de granules d'Osmocote™ sur (A) la biomasse totale par pot de *Z. glochidiata* ($y = 0,57x^2 + 6,18x + 9,38$; $r^2 = 0,92$; $p < 0,0001$) et sur (B) la biomasse totale par pot de *P. pedicellatum* ($y = -13,9x^2 + 23,35x + 5,93$; $r^2 = 0,68$; $p < 0,0001$) dans l'expérience 2.

L'abondance de *Z. glochidiata* est fortement corrélée à une faible teneur en phosphore total dans le sol alors que la présence de *P. pedicellatum* est associée à de fortes teneurs en phosphore total. Le développement de la légumineuse *Z. glochidiata* sur les sols pauvres en phosphore suggère que la symbiose mycorhizienne améliore l'absorption du P chez cette plante. Les communautés microbiennes associées au développement des mycorhizes diffèrent de celles de la rhizosphère (zone du sol sous influence du système racinaire des plantes) et forment un compartiment microbien particulier communément appelé « mycorrhizosphère » (Linderman, 1988). Les microorganismes mycorrhizosphériques influencent les fonctions de la mycorhize comme le prélèvement des nutriments *via* les hyphes externes des champignons MA. Le phosphore nécessaire à la croissance des plantes est faiblement disponible en particulier dans les sols tropicaux (Bationo *et al.*, 1986) et est réparti de manière très hétérogène dans l'espace et dans le temps. Le prélèvement de cet élément par les plantes entraîne la création d'une zone de déplétion autour des racines. En revanche, les champignons mycorhiziens peuvent excréter des acides organiques à faible poids moléculaire qui accélèrent l'altération des minéraux et améliorent en conséquence la nutrition en phosphore des

plantes hôtes (Jones, 1998). De plus, l'exsudation de composés organiques par les mycorhizes peut favoriser ou avoir un effet dépressif sur certaines communautés microbiennes de l'hyphosphère. De même, les bactéries peuvent également participer à rendre plus disponible le phosphore du sol car elles peuvent excréter des acides qui altèrent les minéraux (Leyval & Berthelin, 1991).

Il a été préalablement observé que la texture du sol déterminait la répartition spatiale des espèces végétales (Mando *et al.*, 1999 ; Wezel & Schlecht, 2004). En revanche, les résultats de notre étude font ressortir une nette implication des communautés microbiennes dans la répartition des communautés végétales.

Le rôle de la symbiose mycorhizienne est d'autant plus important que le sol est pauvre en phosphore (Smith & Read, 1997) et les espèces fortement mycotrophes devraient avoir un avantage compétitif lors la colonisation des sols peu fertiles. La capacité de *Z. glochidiata* à se développer sur des sols pauvres en phosphore suggère donc que la forte mycotrophie de cette espèce végétale constituerait le facteur biologique clef à la base de cette répartition spatiale. La co-existence des plantes a été utilisée par les écologistes pour décrire des associations d'espèces végétales constituant une communauté. De nombreuses théories ont été proposées pour expliquer la co-existence des plantes à travers les interactions entre espèces végétales (Grime, 1973; Ricklefs, 1977 ; Tilman & Downing, 1994 ; Rees *et al.*, 2001). Dans ce cadre, les modèles de "non interaction" ont généralement porté sur l'influence de l'hétérogénéité spatiale et les perturbations édaphiques qui pourraient favoriser ou réduire les processus de co-existence des plantes. La théorie de "*Agent-mediated coexistence*" est également un modèle de "non interaction" qui a été proposée comme un mécanisme pouvant expliquer le maintien d'un assemblage plurispécifique dans les communautés végétales (Pacala & Crawley, 1992). Parmi les "agents de facilitation" de la co-existence entre plantes, les champignons MA ont été reconnus comme des composantes clefs susceptibles de promouvoir la co-existence entre espèces végétales (Allen & Allen, 1990 ; Zobel & Moora, 1995). Si des espèces végétales moins compétitives sont beaucoup plus mycotrophes que ne le sont d'autres pourtant plus compétitives, les champignons MA vont pouvoir promouvoir la co-existence entre ces plantes en augmentant la capacité des espèces les moins compétitives à accéder aux ressources nutritives (Zobel & Moora, 1995 ; Moora & Zobel, 1996). Il a été récemment établi que le prélèvement et l'utilisation efficiente des ressources nutritives limitées pouvaient déterminer le succès d'une espèce végétale, de même que la diversité dans les communautés végétales (Darell *et al.*, 2004). Sur les sols peu fertiles, fréquemment rencontrés dans les régions tropicales, l'exclusion compétitive d'une ou de certaines espèces végétales résulterait d'une plus grande capacité d'acquisition de nutriments retrouvée chez les espèces à forte mycotrophie. L'hétérogénéité dans la répartition spatiale du phosphore dans les sols tropicaux, couplée à cette

capacité à former des symbioses microbiennes efficaces rencontrée chez certaines espèces végétales pourrait expliquer la complexité dans la répartition des plantes dans les savanes herbeuses. Ce processus de facilitation dans l'acquisition des ressources nutritives par la symbiose mycorhizienne et ses implications dans les mécanismes de co-existence des espèces végétales sont observés dans cette étude.

La deuxième expérimentation a porté sur l'étude de l'effet de la variation de la densité de propagules mycorhiziennes ou de la fertilité du sol sur les mécanismes de colonisation du sol par les deux herbacées, *Zornia glochidiata* et *Pennisetum pedicellatum*. Ces 2 espèces végétales peuvent être considérées comme fortement dépendantes de la symbiose avec les champignons MA (Habte & Manjunath, 1991), avec des dépendances mycorhiziennes variant de 68 à 80% pour *Z. glochidiata* et *P. pedicellatum* respectivement, aux fortes densités d'inoculation. Ainsi en monoculture, il peut donc être suggéré un "feedback" positif entre chacune des espèces végétales et le champignon *Glomus intraradices*. Ce résultat est sans surprise avec *Z. glochidiata* puisque cette espèce végétale appartient à la famille des légumineuses qui sont reconnues pour leur forte mycotrophie (Duponnois *et al.*, 2001b). Le champignon MA, *G. intraradices*, produit également le même effet stimulant sur la croissance de *P. pedicellatum*. Ce résultat confirme ainsi que les champignons MA sont peu spécifiques en regard des plantes hôtes qu'ils colonisent avec des effets stimulants sur la croissance de leur hôte. (Hart *et al.*, 2003).

Cependant, la réponse de ces espèces végétales à l'inoculation par un champignon MA est largement modifiée quand elles sont cultivées ensemble dans le même pot. Aux faibles densités d'inoculation, le "feedback" est positif entre la légumineuse et le symbiote fongique alors qu'un "feedback" négatif est observé avec la graminée *P. pedicellatum*. Dans cette étude, un même champignon MA entraîne simultanément les 2 types de feedback aux faibles densités d'inoculation. Il a été préalablement montré que, quand différentes espèces végétales et champignons MA sont mis en culture, la croissance et la composition des communautés fongiques dépendraient fortement des plantes hôtes (Douds & Miller, 1999 ; Kiers *et al.*, 2000). Par ailleurs, certaines souches fongiques peuvent être plus bénéfiques pour une plante que ne le sont d'autres (van der Heijden *et al.*, 1998a). Etant donné d'une part, qu'il n'y a pas de différence entre les niveaux de colonisation par les champignons MA des 2 espèces végétales en co-culture et d'autre part, qu'une seule souche de champignon MA a été inoculée, la différence de stimulation de la croissance des plantes ne proviendrait probablement pas d'une différence d'effet entre souches fongiques. Des explications pourraient être données à travers le flux de nutriments entre plantes *via* le réseau mycélien du champignon MA ou par des différences d'efficacité de la symbiose en fonction de la plante hôte. Dans la présente étude, les essais ont été réalisés dans des pots de volume réduit, facilitant alors une

colonisation complète du sol par les hyphes mycorhiziens. Ces derniers vont donc pouvoir créer un réseau mycélien connectant les plantes voisines. Il a déjà été montré que des transferts de nutriments inorganiques entre plantes voisines pouvaient se manifester *via* ce réseau mycélien en laboratoire (Malcova *et al.*, 1999) et même au champ (Walter *et al.*, 1996). Ainsi aux faibles densités d'inoculation, il est possible que la légumineuse, en créant une forte demande en nutriments pour sa croissance, va prélever ces ressources à travers un transfert de la graminée *via* le réseau mycélien en commun. Ce transfert de ressources vers la légumineuse aura donc un effet dépressif sur la croissance de *P. pedicellatum*. De plus, en fonction de la plante hôte, la symbiose mycorhizienne avec un même champignon pourrait aussi avoir des effets différents sur les activités rhizosphériques (production d'acides, ...).

Les sols tropicaux sont généralement reconnus pour leur pauvreté en phosphore (Bationo *et al.*, 1986). Il a été par ailleurs préalablement démontré que les espèces herbacées à croissance rapide dominaient dans les écosystèmes où le P devenait peu limitant au détriment des autres espèces végétales (De Deyn *et al.*, 2004). Avec 4,3 (Témoin), 6,7 (3 granules) et 12,3 mg kg⁻¹ (10 granules) de P disponible dans le sol, nos résultats indiquent un effet positif sur le développement de *P. pedicellatum* et sont en accord avec les résultats d'études qui proposaient que les espèces herbacées à croissance rapide se développaient peu sur les sols où la disponibilité en P était faible (Chapin, 1980 ; De Deyn *et al.*, 2004). Des apports importants de phosphore disponible dans le sol peuvent avoir un effet inhibiteur sur la croissance de certaines plantes comme *Z. glochidiata*.

Ainsi de cette étude, un modèle de chronoséquence dans les successions végétales peut être proposé sur la base de la richesse en propagules mycorhiziennes et de la fertilité du sol notamment la teneur totale en phosphore. Dans les régions tropicales semi-arides, il est bien établi que le potentiel mycorhizien des sols est très faible et les propagules réparties de façon très hétérogène (Estaun *et al.*, 1997). Les espèces végétales de la famille des légumineuses peuvent fortement coloniser ces sols dégradés et rehausser ainsi leur Potentiel Infectieux Mycorhizien (PIM) (Plenchette *et al.*, 1983 ; Johnson *et al.*, 1992) qui représente la quantité d'inoculum présent dans le sol sous forme de spores, d'hyphes et de débris de racines infectées. Le développement des légumineuses sera accompagné d'une meilleure distribution des propagules mycorhiziennes dans le sol et de l'installation d'un réseau d'hyphes plus dense. Ce réseau pourrait par la suite exercer un effet sélectif sur la microflore rhizosphérique (Andrade *et al.*, 1997). Il a en effet été démontré que les bactéries solubilisatrices des phosphates interagissaient en synergie avec les champignons mycorhiziens pour fournir plus de P disponible aux plantes (Toro *et al.*, 1997 ; Muthukumar *et al.*, 2001). La stimulation du développement dans l'hyphosphère de bactéries solubilisatrices de phosphates contribuera à améliorer la nutrition des plantes en P mais permettra aussi d'accroître les

quantités de cet élément disponible dans le sol. L'augmentation des teneurs en P disponible du sol peut inhiber la croissance de certaines espèces végétales (c-à-d *Zornia glochidiata*) et promouvoir le développement d'autres plantes (*Pennisetum pedicellatum*).

3.5. Conclusion

La présence et l'abondance des champignons mycorhiziens dans les sols peuvent influencer les mécanismes de co-existence entre espèces végétales et déterminer la distribution des plantes dans les écosystèmes. Par ailleurs, même pour des espèces végétales fortement mycotrophes, des "feedback" positif ou négatif peuvent exister entre la même plante et les champignons MA. Les interactions entre espèces végétales dépendraient fortement de la densité de propagules mycorhiziennes dans le sol. La fertilité du sol et la disponibilité des nutriments est aussi un paramètre majeur comme le montre cette étude en soulignant l'impact de la teneur du phosphore sur les interactions entre plantes et plantes – mycorhizes.

Article 1

Diversity and spatial distribution of plant species are linked to the genetic and functional diversity of microbial communities in Natural Sahelian grassland

by Sanon, A. ^(1,2,3,8), Martin, P. ⁽⁴⁾, Thioulouse, J. ⁽⁵⁾, Assigbetse, K. ⁽⁶⁾, Prin, Y. ⁽⁷⁾, Spichiger, R. ⁽⁴⁾, Berthelin, J. ⁽⁸⁾, Galiana, A. ⁽⁷⁾, Dreyfus, B. ⁽³⁾ and Duponnois, R. ^(1,3,*)

⁽¹⁾ IRD. Laboratoire Commun de Microbiologie IRD/ISRA/UCAD. Centre de Recherche de Bel Air. BP 1386. Dakar. Sénégal

⁽²⁾ Université Cheikh Anta Diop. Département de Biologie végétale. BP 5005. Dakar. Sénégal

⁽³⁾ IRD. UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/SUPAGRO/UM2. Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (LSTM). Montpellier. France.

⁽⁴⁾ Conservatoire et Jardin botaniques de Genève - 1 Ch de l'impératrice. PO Box 60. Postal code : CH-1292. Genève. Suisse

⁽⁵⁾ Université de Lyon, F-69000, Lyon ; Université Lyon 1 ; CNRS, UMR5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, F-69622, Villeurbanne, France.

⁽⁶⁾ IRD. Unité de Recherche SeqBio. BP 1386. CP 18524. Dakar. Sénégal

⁽⁷⁾ CIRAD. UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/AGRO-M/UM2. Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (LSTM). Montpellier. France.

⁽⁸⁾ Laboratoire des Interactions Microorganismes- Minéraux-Matière Organique dans les Sols (LIMOS). UMR 7137 CNRS-Nancy Université. Faculté des Sciences et Techniques. Nancy Université, BP 239, F-54506 Vandoeuvre-lès-Nancy Cedex, France

* Corresponding author

Tel: +221 33 849 33 22. Fax: +221 33 849 33 02

Email: Robin.Duponnois@ird.sn

ABSTRACT

The variations in soil chemical characteristics, in functional and genetic structure of microbial communities and in mycorrhizal soil infectivity in response to changes in vegetation composition were examined in natural Sahelian grassland located in Burkina Faso. The relationships between microbial activities for plant resources acquisition and the processes of plant competitive exclusion as well as the maintenance of diversity associated to these microbial-mediated activities were reported at a small-scale level. Thirty one sampling plots (0.5 x 0.5 m quadrats) were distributed through the studied area and were located according to their species richness and the relative abundance of co-existing plant species. In each sampling site, all individual plants were identified at the species level and their dry shoot biomass weighed. Physico-chemical characteristics, functionalities (patterns of *in situ* catabolic potential; ISCP) and genotypic diversity (DGGE analysis) of microbial communities, and MSI (Mycorrhizal Soil Infectivity. Assessment based on a cultivation of mycotrophic test plants on a range of concentrations of natural diluted soil) were determined from soil samples. Data were treated with one-way analysis of variance and Co-inertia analysis. The results clearly show that (i) soils under two dominant plant species (*Pennisetum pedicellatum* and *Zornia glochidiata*) had microbial communities that differ from each other in both structure and function; (ii) the dominance of each plant species was linked with soil total P content, plant species richness, number of DGGE bands and MSI. The ability of *Z. glochidiata* to grow on soils with P limiting resources suggested that its high mycorrhizal affinity could be the main biological factor to explain this spatial distribution.

On infertile soil, frequently found in tropical areas, competitive exclusion by one or a few species might result from superior nutrient-acquisition characteristics in species with high mycorrhizal dependencies. The abundance of this legume species (*Z. glochidiata*) plant was linked with a decrease in species richness. All these results are in accordance with ecological theories suggesting that competitive exclusion is influenced by plant species abilities to access limited resources.

Key words: arbuscular mycorrhizal fungi; bacterial community; exclusion; interspecific interaction; microbial diversity; soil phosphorus.

INTRODUCTION

Competitive interactions between plant species (Grace and Tilman 1990), spatial and temporal resource partitioning (Tilman 1982), disturbance creating new patches for plant colonization (Huston 1979) and interactions with other organisms that constitute the ecosystems (Brown and Gange 1989; Bever et al. 1997) are generally thought as the principal drivers of the biological processes by which plant biodiversity and species composition are regulated and maintained. Most analyses of plant biodiversity have focused on aboveground interaction almost exclusively. There are few reports on the significance of belowground diversity in shaping plant communities diversity (Wardle 2002; Bardgett 2005). Recent studies have underlined the role of biotic interactions in the soil as major drivers of the composition of plant communities (Hooper et al. 2000; Wardle 2002). It has been previously demonstrated that the composition of microbial communities is mainly determined by plant indexes such as species composition and, age and stage of development of plants (Grayston et al. 2001) as well as various environmental factors such as soil type, nutrient status, pH and moisture (Stotzky 1997). Differentiation of microbial communities with respect to the vegetation has been investigated using methods reflecting membrane chemistry such as PLFA (PhosphoLipid Fatty acid Analysis) (Kourtev et al. 2002), DNA profiles (Marilley and Aragno 1999) and assessment of the catabolic diversity of soil microbial communities (substrate induced respiration) (Degens and Harris 1997). It is generally assumed that changes in the microbial community structures are the consequence of differences in root inputs (rhizosphere exudates and root turnover) (Grayston et al. 1998; Coleman et al. 2000) as well as in the quantity and chemical quality of aboveground litter inputs.

Arbuscular Mycorrhizal (AM) fungi are essential components of sustainable soil-plant systems (Bethlenfalvay and Linderman 1992; Hooker and Black 1995; Smith and Read 1997; van der Heijden et al. 1998; Schreiner et al. 2003). They increased plant uptake of phosphorus (Plenchette and Fardeau 1988; Bolan 1991; Duponnois et al. 2005), micronutrients (Kucey and Janzen 1987; Bürkert and Robson 1994) and nitrogen (Barea et al. 1991) and are involved in plant competitive interaction (Reynolds et al., 2003; Nayyar et al., 2008). Moreover, it has been previously demonstrated that the thick-walled spores of AM fungi allow for long-term survival in soil and dispersal by wind or soil removal (Friesse and Allen 1991; Koske and Gemma 1990).

Biodiversity in soil is extremely high, particularly at the microbial scale (Torsvik et al. 1994) and it has been shown that both plant species identity and diversity strongly influence the abundance and diversity of soil communities (Johnson et al. 2003; Wardle 2002). Relationships between microbial communities and vegetation have been well documented at the plant species level (Grayston et al.

1998) and previous studies have focused on the impact of tillage practices (Hendrix et al. 1986; Doran 1987), input of fertilizers (Giller and Cadish 1995), organic residues (Friedel et al. 1996), and pesticides (Anderson and Domsch 1989) on the structure and functions of the soil microbial communities in crop conditions. In contrast, very few studies have actually documented this subject at the natural plant community level and more particularly for tropical ecosystems (Stephan et al. 2000; Chabrerie et al. 2001; Nara and Hogetsu 2004; van der Putten et al. 2007). Most of these studies have been restricted to a few ecosystem types and focused on a few taxonomic groups of organisms (Bardgett 2005). Furthermore, these studies have been mainly performed in microcosms or manipulated field plots (van der Putten, 2005). Therefore, and to avoid the disturbances associated with manipulative experiments, a combined plant-soil community interactions approach is necessary to understand the interactions between vegetation diversity and soil functional and genetic diversity.

The purpose of this study is to increase knowledge on the link between vegetation diversity, soil characteristics and microbial communities in tropical soil. We sought to gain a better understanding of these interactions by determining the variations in soil chemical characteristics, the functional and genetic structure of microbial communities and the Mycorrhizal Soil Infectivity (MSI) in response to changes in vegetation composition.

We hypothesized that soil microbial community structure and functional diversity, as well as nutrients availability could be linked to differential plant species colonization patterns and therefore, these relationships might determine plant species competitive dominance on soil patches.

MATERIALS AND METHODS

1. *Study site*

The research was conducted in the Yatenga province in the northern part of Burkina Faso. This area is Sahelian shrub-savanna with a long dry season (6-8 months). During the short rainy season (June – September), annual rainfall varies from 400 to 700 mm, while potential evapotranspiration exceeds 1900 mm. Regosoils, alfisoils (leached ferruginous tropical red soils), hydromorphic and tropical brown soils are the main types recognized in this region (Marchal 1983). From this site, a sampling area (100 x 100 m), mainly dominated by annual grasses has been chosen in order to cover the highest diversity of herbaceous plant species.

2. Sample collection

A total of 31 sampling plots (numbered from 674 to 704) were distributed in the studied area and sampling locations were chosen according to the species richness and the relative abundance of co-existing plant species observed on each quadrat. At each sampling location (0.5 x 0.5 m quadrats), all individual plants were identified at the species level and their dry shoot biomass (65°C, 1 week) weighed. Then the soil (0-15 cm depth) of each quadrat was collected, mixed, and sieved (mesh size, < 2 mm) to remove plant root materials and kept at ambient temperature before further analysis.

Three variables were measured from each soil sample: total carbon (g.kg⁻¹); total nitrogen (g.kg⁻¹) after dry combustion in a CN analyser and total phosphorus calorimetrically (mg.kg⁻¹) (Murphy and Riley, 1962; Aubert, 1978). Roots were then gently washed under tap water, oven-dried (1 week, 65 °C) and weighed.

3. Microbial community structure

The DNA fingerprinting of bacterial communities was performed by PCR – DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis). Total DNA was extracted from 0.5-g aliquots of soil by adding 0.2 g glass beads (Sigma, 0.1 mm) and 1 ml lysis buffer (0.25M NaCl; 0.1M EDTA; pH 8) and by treating the suspension by bead-beating (Bead-beater, Biospec products) 2x for 2 min with an intermittent 2 min heat (65°C) treatment. The subsequent steps were carried out as described by Porteous et al. (1997). Briefly, crude extract was concentrated with potassium acetate 5M and PEG 8000 and centrifuged 15 min at 13000 g. The pellet was dissolved in CTAB 2%, and then extracted with equal volume of chloroform. DNA was precipitated at –20°C for 15 min with 0.7 vol isopropanol and pellets were obtained by centrifugation at 4°C for 15 min at 13000 g. Pellets were then dissolved again and precipitated with ammonium acetate (2.5 M) and ethanol, washed with 70° ethanol, air-dried and the DNA was finally dissolved in 100 µl 1 x TE (Tris-EDTA buffer).

16S rDNA fragments of the bacterial soil community were amplified with primers 338f-GC and 518r (Muyzer et al. 1993). PCR was done in a model 2400 thermal cycler (Perking-Elmer, France) using Ready To Go Beads (Amersham-Pharmacia, France), 30 ng of DNA and 1µM of each primer in 25µl PCR mixtures. The PCR mixtures were submitted to 5 min initial denaturation followed by a temperature touchdown program that consisted of incubation at 94°C for 1 min, 65°C for 1 min, and 72°C for 3 min for 20 cycles. The annealing temperature was then lowered in 0.5°C steps with each cycle until 55°C was reached, and at this annealing temperature, 10 more cycles were performed. The incubation was completed with a 72°C, 10-min incubation step. PCR-amplified 16S

rDNA sequences were separated on a 1% agarose gel in Tris-borate-EDTA buffer (89 mM Tris-borate, 2 mM EDTA).

DGGE analysis was performed by using 8% acrylamide gels (acrylamide- bisacrylamide 40% (37.5/1) with a 30 to 55% denaturant gradient, where 100% denaturant was defined as 7 M urea plus 40% formamide. Approximately 500 ng of PCR product was loaded per sample. The gels were electrophoresed in 0.5 x TAE buffer at 60°C at constant voltage of 150 V for 4h 30 min by using the Bio-Rad Protean II system (Bio-Rad Laboratories, Hercules, California). The gels were stained for 30 min with ethidium bromide and washed for 10 min with MilliQ H₂O prior to UV transillumination. Banding patterns were visualized on a Dark Reader and were digitised by using a charge-coupled device camera and the Biocapt software program (Vilber Lourmat). The analysis of the DGGE community profiles were analysed using the Bio-Profil Biogene program, (Vilber Lourmat). DGGE fingerprints were scored by the presence or absence of co-migrating bands. Profile similarity was calculated by determining Dice's coefficient for the total number of bands (Shaw et al., 1997). Dendrogram was constructed by using the unweighted pair group method with arithmetic averages (UPGMA) (Thioulouse et al., 1997).

4. Mycorrhizal soil infectivity measurement

The Mycorrhizal Soil Infectivity (MSI) was determined from soil sample taken from each sampling plot and was evaluated according to a bioassay based on a dose (quantity of a non disinfected soil)–response (mycorrhizal status of test plants) biological assay (Plenchette et al. 1989). Cultivation of a population of mycotrophic plantlets was realised on a range of concentrations of natural soil diluted with the same disinfected soil. Six dilutions of each soil samples were realised by mixing the original soil in various quantities (100, 48, 24, 12, 6 and 3%, w/w) with the same autoclaved soil (140°C, 40 min) with 5 replicates per dilution. Seeds of millet (*Pennisetum typhoides* L.) were pre-germinated for two days in Petri dishes on humid filter paper. Ten germinated seeds were planted into plastic pots (5.5 cm diameter; 6 cm high) filled with 100 g of each dilution. Pots were placed in a greenhouse (30°C day, 20°C night, 10-h photoperiod) and watered daily with tap water. Plants were only grown for 2 weeks to detect the first hyphal entries and not the secondary mycorrhizal infections. Then the entire root system of each seedling was collected, gently washed under tap water, clarified in 10% KOH for 30 min at 90°C and stained with acid fuchsin (0.05 % in lactoglycerol) for 15 min. Each entire root system was observed at a 250 x magnification for the presence of AM structures. A single AM hyphal entry was considered as a record of mycorrhizal infection to give an all or nothing quantitative response. The infected plants were counted and the results were expressed as percentages of mycorrhizal plants per pot.

For each soil treatment, the percentage of mycorrhizal plants was plotted against the logarithm of non-sterilised soil concentration. Regression curves (model $Y = BX + A$) were calculated for each soil treatment and variance analysis was performed to test the non-equality of their slope. The Mycorrhizal Soil Infectivity (MSI) unit was calculated using a regression line equation (Duvert et al. 1990) and defined as the minimum dry weight (g) of soil required to infect 50% (MSI_{50}) of a plant population under the bioassay conditions and calculated for $Y = 50\%$. Anovas were carried out to compare slopes of regression lines between non-sterile soil concentrations and percentages of mycorrhizal seedlings. Soils with statistically similar slopes were grouped and a common slope was calculated to compare their y-intercepts using a *t*-test (Dagnelie 1975). This software has been created by André Carteron (INRA, Station de Génétique et d'Amélioration des plantes. Dijon. France).

4. Microbial community function

Microbial functional diversity in soil samples was assessed by measurement of the patterns of *in situ* catabolic potential (ISCP) of microbial communities (Degens and Harris 1997). Twenty nine substrates, comprising a range of amino acids, carbohydrates, organic acids and amides, were screened for differences in SIR responsiveness between soil treatments. The substrate concentrations providing optimum SIR responses were indicated in Table 1 (Degens and Harris 1997). One g equivalent dry weight soil was mixed to each substrate suspended in 2 ml sterile distilled water (West and Sparling 1986) in 10 ml bottles. CO₂ production from basal respiratory activity in the soil samples was also determined by adding 2 ml sterile distilled water to 1 g equivalent dry weight of soil. After the addition of the substrate solutions to soil samples, bottles were immediately closed and kept at 28°C for 4 hours. CO₂ fluxes from the soils were measured using an infrared gas analyser (IRGA) (Polytron IR CO₂, Dräger™) in combination with a thermal flow meter (Heinemeyer et al. 1989). Carbon dioxide measurements were subtracted from the CO₂ basal production and were expressed as mg CO₂ g⁻¹ soil h⁻¹. Catabolic evenness (a measure of relative variability in the catabolic functions) was determined using the Simpson-Yule index, $E = 1/p_i^2$ with p_i = [respiration response to individual substrates] / [total respiration activity induced by all substrates for a soil treatment] (Magurran 1988).

5. Statistical analysis

Data were treated with one-way analysis of variance. Means were compared using PLSD Fisher test ($p < 0.05$). A co-inertia analysis was realised for plant structure and soil microbial structure. Co-

inertia analysis (Dray et al. 2003) is a multivariate analysis technique that describes the relationships between two data tables. Classical methods like principal components analysis (PCA), or correspondence analysis (CA), aim at summarizing a table by searching orthogonal axes on which the projection of the sampling points (rows of the table) have the highest possible variance. This characteristic ensures that the associated graphs (factor maps) will best represent the initial data. To extract information common to both tables, canonical correlation analysis (CANCOR) searches successive pairs of axes (one for each table) with a maximum correlation. The problem is that it often leads to axes with a very high correlation, but with very low percentages of explained variance. To overcome this difficulty, COIA searches pairs of axes with maximum covariance (instead of correlation). Computations are based on the cross-table between DGGE analysis and plant variables. The importance of each axis is given by the percentage of total co-inertia, which is similar to the percentage of explained variance for each canonical axis.

Another problem of CANCOR and also of canonical correspondence analysis (CCA, Ter Braak 1986), is that the number of rows of both tables must be high compared to the number of columns of the independent variables table. When the number of rows is low, CANCOR cannot be used, and CCA is reduced to a plain CA (see for example Dray et al. 2003). COIA does not suffer from this problem, and it can be used even if the number of rows is lower than the number of columns, which is the case in this paper. A simple PCA standardisation was applied to both data tables before computing COIA.

Monte-Carlo tests can be used to check the significance of the relationship between the two tables. This method consists in performing many times a random permutation of the rows of one table (or of both), followed by the re-computation of the total co-inertia. By comparing the total co-inertia obtained in the normal analysis with the co-inertia obtained after randomisation, we get an estimation of the probability to meet a situation similar to the observed situation, without relationship between the two tables (i.e., a significance test of the relationship). Computations and graphical displays were made with the free ADE-4 software (Thioulouse et al. 1997), available on Internet at <http://pbil.univ-lyon1.fr/ADE-4/>.

6. Plant diversity measurements

Species diversity is a major concept in community ecology and it has been long discussed by biologists as well by mathematicians in an attempt to synthesize a good estimator of this notion. Species diversity is a function of the number of species present (species richness or species abundance) and the evenness with which the individuals are distributed among these species (evenness or equitability) (Margalef 1958; Pielou 1966; Hurlbert 1971). In the present study, the

species richness and the classical Shannon-Weaver entropy statistics were used (Shannon 1948; Shannon and Weaver 1949). The co-existence ratio between *Z. glochidiata* and *P. pedicellatum* was calculated by dividing the shoot biomass of *Z. glochidiata* by the sum of the shoot biomass of *Z. glochidiata* and *P. pedicellatum*.

RESULTS

Forty-three plant species have been identified from this survey. The most frequently recorded among all the sampling plots are: *Bracharia villosa*, *Indigofera stenophylla*, *Pennisetum pedicellatum*, *Spermacoce chaetocephala*, *S. radiata* and *Zornia glochidiata* (Table 2). The highest shoot biomass has been found with *P. pedicellatum*, *Spermacoce chaetocephala*, *S. radiata* and *Zornia glochidiata*. Total root biomass collected from each sampling plot ranged from 0.16 g (sampling plot 680) to 10.48 g (sampling plot 682) (Table 3). Plant species richness was from 4 (sampling plot 697) to 12 (sampling plot 678), Margalef index: from 0.672 (sampling plot 685) to 1.997 (sampling plot 691), Shannon index: from 0.722 (sampling plot 702) to 2.439 (sampling plot 694) and the equitability: from 0.485 (sampling plot 685) to 0.909 (sampling plot 679) (Table 4).

The soil carbon content ranged from 4.8 g.kg⁻¹ (sampling plot 687) to 26.0 g.kg⁻¹ (sampling plot 679), the soil nitrogen content was from 0.36 g.kg⁻¹ (sampling plot 687) to 1.52 g.kg⁻¹ (sampling plot 679) and the soil phosphorus content from 166.9 mg.kg⁻¹ (sampling plot 700) to 298 mg.kg⁻¹ (sampling plot 679) (Table 5).

The 16S rDNA-DGGE patterns of the bacterial communities from the soil samples are presented in Fig. 1. For the analysis, 16S rDNA fragments were compared, running them in parallel on two denaturing gradient gels. Numerous DGGE bands of various intensities that resulted from differences between the 16S rDNA gene sequences of different bacterial species were detected. They ranged in mobility approximately from 30% to 50% with different DGGE patterns between each treatment (Fig. 1). Soil samples (674 to 689) patterns consisted of 1 to 5 stronger bands and a large number of less intense bands (50 bands on average) indicating that in these soil samples, 1 to 5 populations dominated while many populations which were less prevalent seemed to be equally abundant. In contrast, the other soil samples (690 to 704) patterns consisted of 1 to 2 strong bands and a lower number of weak bands (46 bands on average) (Fig. 1).

Hierarchical cluster analysis confirmed these observations made from 16S rDNA-DGGE patterns. The soil samples are clearly divided into 2 groups, the first with the soil samples numbered from 674 to 689 and the second from 690 to 704. (Fig. 2).

The mean MSI_{50} of the soil belonging to the second group of soil samples was significantly higher than that calculated for the soil samples of the first group which suggested that AM propagules were more numerous and infective in the soil samples from Group 1 than those from Group 2 (Table 6).

The Co-inertia analysis of the relationships between plant species composition and DGGE analysis was shown in Fig. 3. The Monte-Carlo permutation test on the total co-inertia between the couple of tables was highly significant ($p = 0.005$), which suggested that there was a strong relationship between this couple of data set.

For the four graphics (A, B, C and D), the x-axis was the first co-inertia axis (85% of the total co-inertia), and the y-axis was the second co-inertia axis (8% of the total co-inertia) (Fig. 3). For the factor map of DGGE bands (Fig. 3A), seven bands (5, 10, 15, 17, 18, 20 and 22) were in the left part of the map (negative values of first co-inertia axis) while, on the opposite side of the map, four bands (6, 12, 21, 23) had positive coordinates on the first axis. The factor map of DGGE bands showed the distribution of the sampling plots (Fig. 3B) with sampling plots numbered from 674 to 689 on the left part of the factor map and in contrast, those numbered from 690 to 704 on the right part. In the factor map of plant species composition (Fig. 3C), *Z. glochidiata* (A45), *S. chaetocephala* (A35) and *C. giganteus* (A18) had the highest negative coordinates on the first axis and *P. pedicellatum* (A28) and *S. radiata* (A36) had the highest positive coordinates. This factor map showed a similar distribution of the sampling plots as before with most of the plots numbered from 674 to 689 in the left part of the factor map and those numbered from 690 to 704 in the right part (Fig. 3D). This suggested that (i) microbial communities from the Group 1 (674 to 689) were different from those of the Group 2 (690 to 704 sampling plots) and (ii) these differences were linked with the presence of some plant species such as *Z. glochidiata* (A45) for the Group 1 and *P. pedicellatum* (A28) for the Group 2.

The abundance of *Z. glochidiata* was positively correlated with the SIR responses with L- Glutamic acid, D-Glucose, D-Glucosamine, Gluconic acid, Uric acid, α -OH-butyric acid, and negatively correlated with L-Cystein SIR response (Table 7). The abundance of *P. pedicellatum* was positively correlated with L-Cystein, Oxalic acid SIR responses whereas it was negatively correlated with D-Glucose, D-Glucosamine, Succinamide and Gluconic acid SIR responses (Table 7). The soil total P content was positively linked with L-Cystein, Malonic acid, Formic acid and Malic acid SIR responses whereas it was negatively linked with L-Glutamine, L-Phenylalanine, D-Glucose, D-Glucosamine, Gluconic acid, Quinic acid and Uric acid SIR responses (Table 7).

The co-existence ratio between *Z. glochidiata* and *P. pedicellatum* was negatively correlated with the species richness, P content and the number of DGGE bands per quadrat (Fig. 4).

DISCUSSION

The results of the present study clearly show that (i) soils under two dominant plant species had microbial communities that differ from each other in both structure and function, (ii) the dominance of each plant species was linked with soil total P content and mycorrhizal propagule abundance (MSI Mycorrhizal Soil Infectivity).

Microbial communities from the soil dominated by *P. pedicellatum* produced different C source utilisation pattern compared to that recorded with *Z. glochidiata*. This differential utilization of C sources between both groups of sampling plots dominated by one of both plant species, suggested differential microbial community composition in the soil samples as it has been demonstrated by the DGGE analysis.

For *P. pedicellatum*, a higher aerial biomass and, consequently a more important root biomass, was accompanied with a higher utilisation of oxalic acid and cystein sources whereas the response to other C sources such as glucosamine, glucose, etc decreased. At the same time and with some compounds such as glucose, glucosamine and cystein, an opposite effect was recorded with *Z. glochidiata*. This result suggested that the microflora (C sources catabolizers) associated with *P. pedicellatum* was mainly different from microbial communities selected by *Z. glochidiata*.

Although there have been numerous studies characterising plant root exudates, the majority involving the most important arable crops (Hale et al. 1978; Bolton et al. 1992), there is no data on the quality and quantity of root exudates with *P. pedicellatum* and *Z. glochidiata*. In a previous study, it has been demonstrated that clover (legume species) had a greater exudation rate than wheat (Martin 1971) and that legumes had a lower C/N ratio than grasses (Steele and Wallis 1998). It is also generally assumed that legumes exude greater concentrations of amino acids than wheat (Ayers and Thornton 1968; Vancura and Hanzlikova 1972) that could involve a selective pressure on rhizosphere microorganisms. In the present study, the results are in accordance with these data as one belongs to the leguminous family (*Z. glochidiata*) and the other to the gramineous family (*P. pedicellatum*) and as both plant species are opposed for their effect on the functional diversity of rhizosphere microbial populations. Moreover, it is well known that many N₂-fixing plant species are especially dependent on mycorrhizas to absorb nutrients required for plant growth and efficient N₂ fixation (Crush 1974; Barea et al. 1991). We have previously demonstrated that *Z. glochidiata* was highly mycorrhizal dependent (data not shown). AM fungi modify root functions (i.e. root exudation) (Graham et al. 1981; Marshner et al. 1997), change carbohydrate metabolism of the host plant (Shachar-Hill et al. 1995) and influence rhizosphere populations (Hayman 1983; Azaizeh et al. 1995; Andrade et al. 1997; 1998). Furthermore, AM fungi can exude substances that have a

selective effect on the microbial community in the rhizosphere and in the soil (Hobbie 1992; Söderström 1992). For instance soil microbiota from *Z. glochidiata* differed from that of the *P. pedicellatum* soil by their preferential utilization of glucosamine. Since the cell walls of many fungi contain chitin, a polymer of N-acetylglucosamine (Foster 1949; Kent and Whitehouse 1955), it suggests that the presence of *Z. glochidiata*, through a better developed AM structures than *P. pedicellatum*, may result in a selection on the microbiota by exerting a glucosamine-mediated selection on bacterial communities.

The abundance of *Z. glochidiata* was strongly linked with low soil total P contents whereas the presence of *P. pedicellatum* was associated with higher total P contents. As *Z. glochidiata* grows in low P content soils, it suggests that the mycorrhizal symbiosis enhances its P absorption. The microbial communities subjected to mycorrhizas differ from those of the rhizosphere (zone of soil subjected to the influence of living roots). This microbial compartment is commonly named “mycorrhizosphere” (Linderman, 1988). Microorganisms in the mycorrhizosphere may affect mycorrhizal functions such as nutrient and water uptake carried out by the external hyphae of AM fungi. Apatite is the main primary mineral source of phosphorus in some type of soil (Landeweert et al. 2001), and the release of available P into the biological environment results in a physical and chemical weathering of these phosphate minerals. The phosphorus is required in large amounts by all plants under the inorganic phosphate ion form (H_2PO_4^-) but unfortunately P is available in low concentrations in soil and is patchily distributed in space and time. The absorption of P by plants leads to depletion of P surrounding roots. Mycorrhizal fungi, by excreting low molecular weight (LMW) organic acids, accelerate weathering of minerals and consequently enhance the P nutrition of the host plant (Jones 1998). Furthermore, these fungal exudations could favour or alter some mycorrhizosphere microbial populations. From the present study, the abundance of *Z. glochidiata* is linked with microbial preferences in catabolizing hydroxy-butyric acid, an organic compound that could be involved in such solubilization mechanisms (Duponnois et al. 2005).

According to previous results (Wezel and Schlecht 2004; Mando et al. 1999), it has been found that the difference of dominance between these two common Sudano-Sahelian plants is driven by soil characteristics, *Z. glochidiata* is more represented on sandy soils and *P. pedicellatum* had a preference for clay soils. In a finer spatial scale analysis, we demonstrate that the dominance of plant species seems to be driven locally by the microbial community replacement and by AM fungi. It has already been stated that mycorrhiza population is more important in P deficient soils (Smith and Read 1997) and mycotrophic plants may gain more competitive advantage when colonizing such areas. As described before, the ability of *Z. glochidiata* to grow on soils with P limiting resources then suggested that its high mycorrhizal affinity could be the main biological factor to

explain this spatial distribution. Plant coexistence has been used by ecologists to describe a mixture of plant species in a biotic community. Theories have tried to explain plant coexistence through interactions among species (Grime 1973; Tilman and Downing 1994; Ricklefs 1977; Callaway 1997; Rees et al. 2001) whereas non-interaction theories have generally assessed the influence of spatial segregation and disturbance that could favour or suppress plant coexistence. Agent-mediated coexistence is a non-interaction theory that has been proposed as a mechanism to explain the maintenance of multi-species assemblages in plant communities (Pacala and Crawley 1992). Among all the agents promoting plant coexistence, AM fungi have been proposed to be an important factor for maintaining plant coexistence (Janos 1980; Allen and Allen 1990; Zobel and Moora 1995). When less competitive plant species are more strongly colonized by AM fungi than a higher competitive plant species, the accessibility of less competitive plant species to nutrient resources will be promoted, and consequently, AM fungi will favour plant coexistence within plant community (Zobel and Moora 1995; Moora and Zobel 1996). It has recently been established that capture and efficient use of limiting resources could determine the competitive success of individual plant species as well as plant diversity across resource gradients (Darell et al. 2004). On infertile soil, frequently found in tropical areas, competitive exclusion by one or a few species might result from superior nutrient-acquisition characteristics in species with high mycorrhizal dependencies. The small scale patchily distribution of phosphorus in tropical soil coupled with plant species capacity to form efficient microbial symbiosis can explain the patchy distribution of aerial plants in shrub-savanna. This process of nutrient-acquisition facilitation by mycorrhizal symbiosis and its implication in plant coexistence was observed in this study at a small spatial scale but, when we consider ecosystems like a sum of overlapping small components, it suggests that these kinds of mechanisms play a key role in the whole ecosystem dynamics. In such a way the possibility of explaining plants patterns and vegetation distribution like forest-savanna contact could be approach through the plant-AM fungi interactions that compose the ecosystem.

Moreover, plant diversity was lowered by the presence of species with a superior ability to sequester resources. In the present study, *Z. glochidiata* is highly mycotrophic, and therefore, this fungal symbiosis could promote the capture and efficient use of phosphorus, the main mineral limiting resources in tropical soils. The abundance of this legume species was linked with a decrease in species richness. All these results are in accordance with ecological theories that suggest that competitive exclusion is influenced by plant species abilities to access limited resources (Tilman 1982; Tilman and Downing 1994; Freckleton and Watkinson 2001). Our results in a tropical savanna show a similar trend of functioning than temperate or semi arid grasslands.

The presence and abundance of AM fungi could mediate plant species coexistence. Further research must be done to determine the structure of AM fungal communities under both plant species recorded in the present work (*P. pedicellatum* and *Z. glochidiata*) using genetic markers, to test the role of AM species richness on plant coexistence, and finally, through a manipulative approach in macrocosms to demonstrate the potential impact of AM fungal communities in plant community structure and ecosystems dynamics.

Moreover, *P. pedicellatum* is recently listed in the weed list in Florida State, the knowledge of its ecological requirements and of its natural competitors could help managers in conservation planning. For the future it is possible to consider the use of North American native legumes as natural regulators of the *P. pedicellatum* invasion.

REFERENCES

- Allen EB, Allen MF (1990) The mediation of competition by mycorrhizae in successional and patchy environments. In: (Grace JB, Tilman D (eds) Perspectives in Plant Competition Academic Press, pp. 367-389.
- Anderson JPE, Domsch KH (1989) Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. Soil Biol. Biochem. 21: 471-479.
- Andrade G, Mihara KL, Linderman RG, Bethlenfalvay GJ (1998) Soil aggregation status and rhizobacteria in the mycorrhizosphere. Plant Soil 202:89-96.
- Andrade G, Mihara KL, Linderman RG, Bethlenfalvay GJ (1997) Bacteria from rhizosphere and hyphosphere soils of different arbuscular-mycorrhizal fungi. Plant Soil 192:71-79.
- Aubert G (1978) Méthodes d'Analyse des sols. Edition CRDP, Marseille, p. 360.
- Ayers WA, Thornton RH (1968) Exudation of amino-acids by intact and damaged roots of wheat and peas. Plant Soil 28:193-207.
- Azaizah HA, Marshner A, Römhild V Wittenmayer L (1995) Effects of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and other soil microorganisms on growth, mineral nutrient acquisition and root exudation of soil-grown maize plants. Mycorrhiza 5:321-327.
- Bardgett RD (2005) The Biology of Soil. Oxford University Press, Oxford.
- Barea JM, El-Atrach F, Azcon R (1991) The role of VA mycorrhizas in improving plant N acquisition from soil as assessed with ¹⁵N. In: Flitton C (ed) The Use of Stable Isotopes in Plant Nutrition, Soil Fertility and Environmental Studies. Joint IAEA, FAO Division, Vienna, pp 677-808.
- Bethlenfalvay GJ, Linderman RG (1992) Mycorrhizae in sustainable agriculture. ASA Special Publication N°54, Madison, Wisconsin, USA.
- Bever JD, Westover KM, Antonovics J (1997) Incorporating the soil community into plant population dynamics: the utility of a feedback approach. J. Ecol. 85:561-571.
- Bolan NS (1991) A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plant. Plant Soil 134:189-207.
- Bolton H, Frederickson JK, Elliott LF (1992) Microbial ecology of the rhizosphere. In: (Metting FB (ed) Soil microbial ecology. Marcel Dekker, New York, pp. 27-36.
- Brown VK, Gange AC (1989) Herbivory by soil dwelling insects depresses plant species richness. Funct. Ecol. 3:667-671.
- Bürkert B, Robson A (1994) ⁶⁵Zn uptake in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) by three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a root free sandy soil. Soil Biol. Biochem. 26:1117-1124.
- Callaway RM 1997 Positive interactions in plant communities and the individualistic-continuum concept. Oecologia 112:143-149.

- Chabrierie O, Poudevigne I, Bureau F, Vincelas-Akpa M, Nebbache S, Aubert M, Bourcier A, Alard D (2001) Biodiversity and ecosystems functions in wetlands : a case study in the estuary of the Seine river, France. *Estuaries* 24:1088-1096.
- Coleman MD, Dickson RE, Isebrands JG (2000) Contrasting fine-root production, survival and soil CO₂ efflux in pine and poplar plantations. *Plant Soil* 225:129-139.
- Crush JR (1974) Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. VII. Growth and nodulation of some herbage legumes. *New Phytol.* 73:743-749.
- Dagnelie P (1975) Théorie et méthodes statistiques: applications agronomiques. 2nd edition. Les presses agronomiques de Gembloux, Belgique, 472 pp.
- Darell AH, Rastetter EB, Gough L, Shaver GR (2004) Species diversity across nutrient gradients: an analysis of resource competition in model ecosystems. *Ecosystems* 7, 296-310.
- Degens BP, Harris JA (1997) Development of a physiological to measuring the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biol. Biochem.* 29:1309-1320.
- Doran JW (1987) Microbial biomass and mineralizable nitrogen distribution in no-tillage and plowed soils. *Biol. Fert. Soils* 5:68-75.
- Dray S, Chessel D, Thioulouse J (2003) Co-inertia analysis and the linking of ecological tables. *Ecology* 84:3078-3089.
- Duponnois R, Colombet A, Hien V, Thioulouse J (2005) The mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendment influence plant growth and microbial activity in the rhizosphere of *Acacia holosericea*. *Soil Biol. Biochem.* 37:1460-1468.
- Duvert P, Perrin R, Plenchette C (1990) Soil receptiveness to VA mycorrhizal association : concept and method. *Plant Soil* 124:1-6.
- Foster J W (1949) Chemical activities of fungi. Academic Press, New York.
- Freckleton RP, Watkinson AR (2001) Asymmetric competition between plant species. *Funct. Ecol.* 15:615-623.
- Friedel JK, Munch JC, Fischer WR (1996) Soil microbial properties and the assessment of available soil organic matter in a haplic luvisol after several years of different cultivation and crop rotation. *Soil Biol. Biochem.* 28:479-488.
- Friese CF, Allen MF (1991) The spread of VA mycorrhizal fungal hyphae in the soil: inoculum types and external hyphae architecture. *Mycologia* 83:409-418.
- Giller KE, Cadish G (1995) Future benefits from biological nitrogen fixation : an ecological approach to agriculture. *Plant Soil* 174:255-277.
- Grace JD, Tilman D (1990) Perspectives on plant competition. Academic Press, new York. 484 p.
- Graham JH, Leonard RT, Menge JA (1981) Membrane-mediated decrease in root exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. *Plant Physiol.* 68:548-552.
- Grayston SJ, Griffith GS, Mawdsley JL, Campbell CD, Bardgett RD (2001) Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. *Soil Biol. Biochem.* 33:533-551.
- Grayston SJ, Wang S, Campbell CD, Edwards AC (1998) Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biol. Biochem.* 30:369-378.
- Grime JP (1973) Competitive exclusion in herbaceous vegetation. *Nature* 242:344-347.
- Hale MG, Moore LD, Griffin GJ (1978) Root exudates and exudation. In: Dommergues YR Krupa SV (eds) *Interactions between non pathogenic soil microorganisms and plants.* . Elsevier Amsterdam, pp. 163-203.
- Hayman DS (1983) The physiology of vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Can. J. Bot.* 61, 944-962
- Heinemeyer O, Insam H, Kaiser EA, Walenzik G (1989) Soil microbial biomass and respiration measurements: an automated technique based on infrared gas analysis. *Plant Soil* 116:77-81.
- Hendrix PF, Parmelee RW, Crossley DA, Coleman DC, Odum EP, Groffman PM (1986) Detritus food webs in conventional and no-tillage agroecosystems. *Bioscience* 36:374-380.
- Hobbie SE (1992) Effects of plant species on nutrient cycling. *Trends Ecol. Evol.* 7:336-339.
- Hooker JE, Black KE (1995) Arbuscular mycorrhizal fungi as components of sustainable soil-plant systems. *Crit. Rev. Biotechnol.* 15, 201-212.
- Hooper DU, Bignell DE, Brown VK, Brussaard L, Dangerfield M, Wall DH, Wardle DA, Coleman DC, Giller KE, Lavelle P, van der Putten WH, De Ruider PC, Rusek J, Silver WL, Tiedje JM, Wolters V (2000) Interactions between aboveground and belowground biodiversity in terrestrial ecosystems: patterns, mechanisms and feedbacks. *BioScience* 50:1049-1061.

- Hurlbert SH (1971) The nonconcept of species diversity: A critique and alternative parameters. *Environ. Sci. & Pol.* 52:577-586.
- Huston, M.A., 1979. General hypothesis of species diversity. *Am. Nat.* 113, 81-101.
- Janos DP (1980) Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica* 12, 56-54.
- Johnson D, Booth RE, Whiteley AS, Bailey MJ, Read DJ, Grime JP, Leake JR (2003) Plant community composition affects the biomass, activity and diversity of microorganisms in limestone grassland soil. *Eur. J. Soil Sci.* 54:671-678.
- Jones DL (1998) Organic acids in the rhizosphere - a critical review. *Plant Soil* 205:25-44.
- Kent PW, Whitehouse MW (1955) *Biochemistry of the aminosugars*. Academic Press, New York, N. Y.
- Koske RE, Gemma JN (1990) VA mycorrhizae in strand vegetation of Hawaii: evidence for long-distance codispersal of plants and fungi. *Am. J. Bot.* 77:466-474.
- Kourtev PS, Ehrenfeld JG, Häggblom M (2002) Exotic plant species alter the microbial community structure and function in the soil. *Ecology* 83:3152-3166.
- Kucey RMN, Janzen HH (1987) Effects of VAM and reduced nutrient availability on growth and phosphorus and micronutrient uptake of wheat and field beans under greenhouse conditions. *Plant Soil* 104:71-78.
- Landeweert R, Hoffland E, Finlay RD, Kuyper TW, van Breemen N (2001) Linking plants to rocks: ectomycorrhizal fungi mobilize nutrients from minerals. *Trends Ecol. Evol.* 16:248-254.
- Linderman RG (1988) Mycorrhizal interactions with the rhizosphere microflora: the mycorrhizosphere effect. *Phytopathol.* 78:366-371.
- Magurran AE (1988) *Ecological diversity and its measurement*. Croom Helm. London
- Mando A, Brussaard L, Stroosnijder L (1999) Termite-and mulch-mediated rehabilitation of vegetation on crusted soil in West Africa. *Rest. Ecol.* 17, 33-41.
- Marchal JY (1983) Yatenga, dynamique d'un espace rural Soudano-Sahélien (Haute-Volta). *Travaux et Documents* 167. ORSTOM. Paris.
- Margalef DR (1958) Information theory in ecology. *Gen. Syst.* 3:36-71.
- Marilley L, Aragno M (1999) Phylogenetic diversity of bacterial communities differing in degree of proximity of *Lolium perenne* and *Trifolium repens* roots. *Appl. Soil Ecol.* 13:127-136.
- Marshner P, Crowley DE, Higashi M (1997) Root exudation and physiological status of a root-colonizing fluorescent pseudomonad in mycorrhizal and non-mycorrhizal pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Soil* 189:11-20.
- Martin JK (1971) ¹⁴C-labelled material leached from the rhizosphere of plants supplied with ¹⁴CO₂. *Aust. J. of Biol. Sci.* 24:1131-1142.
- Moora M, Zobel M (1996) Effect of arbuscular mycorrhiza and inter- and intra specific competition of two grassland species. *Oecologia* 108:79-84.
- Murphy J, Riley JP (1962) A modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chem. Acta* 27: 31-36.
- Muyzer G, de Waal EC, Uitterlinden AG (1993) Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rDNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:695-700.
- Nara K, Hogetsu T (2004) Ectomycorrhizal fungi on established shrubs facilitate subsequent seedling establishment of successional plant species. *Ecology* 85, 1700-1707.
- Nayyar A, Hamel C, Forge T, Selles F, Jefferson PG, Hanson K, Germida J (2008) Arbuscular mycorrhizal fungi and nematodes are involved in negative feedback on a dual culture of alfalfa and Russian wildrye. *Appl. Soil Ecol.* 40:30-36.
- Pacala S, Crawley MJ (1992) Herbivores and plant diversity. *Am. Nat.* 155:435-453.
- Pielou EC (1966) The measurement of diversity in different types of biological collections. *J. Theor. Biol.* 13:131-144.
- Plenchette C, Perrin R, Duvert P (1989) The concept of soil infectivity and a method for its determination as applied to endomycorrhizas. *Can. J. Bot.* 67:112-115.
- Plenchette C, Fardeau JC (1988) Prélèvement du phosphore par les racines et les mycorrhizes. *Comptes Rendus de l'Académie d'Agriculture Française* 4:117-123.
- Porteous LA, Seidler RJ, Watrud LS (1997) An improved method for purifying DNA from soil for polymerase chain reaction amplification and molecular ecology applications. *Mol. Ecol.* 6:787-791.

- Rees M, Condit R, Crawley MJ, Pacala S, Tilman D (2001) Long-term studies of vegetation dynamics. *Science* 293:650-655.
- Reynolds HL, Packer A, Bever JD, Clay K (2003) Grassroots ecology: plant-microbe-soil interactions as drivers of plant community structure and dynamics. *Ecology* 84:2281-2291
- Ricklefs RW (1977) Environmental heterogeneity and plant species diversity: a hypothesis. *Am. Nat.* 111:376-381.
- Schreiner RP, Mihara KL, Mc Daniel H, Benthlenfalvay GJ (2003) Mycorrhizal fungi influence plant and soil functions and interactions. *Plant Soil* 188:199-209.
- Shachar-Hill Y, Pfeffer PE, Douds D, Osman SF, Doner LW, Ratcliffe RG (1995) Partitioning of intermediary carbon metabolism in vesicular-arbuscular mycorrhizal leeks. *Plant Physiol.* 108:7-15.
- Shannon CE (1948) A mathematical theory of communication. *Bell Syst. Tech. J.* 27:379-423 and 623-656.
- Shannon CE, Weaver W (1949) The mathematical theory of communication. University Illinois Press, Urbana, 117 pp.
- Shaw Jr. WM, Burgin R, Howell P (1997) Performance standards and evaluations in IR test collections: cluster-based retrieval models. *Information Processing & Management* 33:1-14.
- Smith SE, Read DJ (1997) Mycorrhizal symbiosis, 2nd edition, UK: Academic Press
- Söderström B (1992) The ecological potential of the ectomycorrhizal mycelium. In: Read DJ, Lewis DH, Fitter AH, Alexander IJ (eds), *Mycorrhizas in Ecosystems*. CAB International, Wallingford, UK, pp 77-83.
- Steele KW, Wallis I (1998) The nitrogen cycle in pastures. In: Wilson JR (ed) *Symposium on advances in nitrogen cycling in agricultural ecosystems*, CAB International, Wallington, Oxon, pp 274-291.
- Stephan A, Meyer AH, Schmid B (2000) Plant diversity affects culturable soil bacteria in experimental grassland communities. *J. Ecol.* 88:988-998.
- Stotzky G (1997) Soil as an environment for microbial life. In: Van Elsas JD, Trevors JT, Wellington EMH (eds.) *Modern Soil Microbiology*, Dekker, New York, pp. 1-20.
- Ter Braak CJF (1986) Canonical correspondence analysis: a new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecology* 67:1167-1179.
- Thioulouse J, Chessel D, Dolédec S, Olivier JM (1997) ADE-4: a multivariate analysis and graphical display software. *Stat. Comput.* 7:75-83.
- Tilman D, Downing AL (1994) Biodiversity and stability in grasslands. *Nature* 367:363-365.
- Tilman D (1982) Resource competition and community structure. *Monographs in Population Biology* Vol. 17. Princeton University Press., Princeton. 296 p.
- Torsvik VL, Goksøyr J, Daae FL, Sørheim R, Michalsen J, Salte K (1994) Use of DNA analysis to determine the diversity of microbial communities. In: Ritz K, Dighton J, Giller KE (eds.) *Beyond the Biomass: Compositional and Functional Analysis of Soil Microbial Communities*. Wiley, Chichester, UK, pp. 39-48.
- van der Heijden MGA, Klironomos JN, Ursic M, Moutoglis PR, Streitwolf-Engel R, Boller T, Wiemken A, Sanders IR (1998) Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity ecosystem variability and productivity. *Nature* 396:69-72.
- van der Putten WH, Kowalchuk GA, Brinkman EP, Doodeman GTA, van der Kaaij RM, Kamp AFD, Menting FBJ, Veenendaal EM (2007) Soil feedback of exotic savanna grass relates to pathogen absence and mycorrhizal selectivity. *Ecology* 88:978-988.
- van der Putten WH (2005) Plant-soil feedback and soil biodiversity affect the composition of plant communities. In: Bardgett RD, Usher MD, Hopkins DW (eds.) *Biological Diversity and Function in Soils*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 250-272.
- Vancura V, Hanzlikova A (1972) Root exudates of plants IV. Differences in chemical composition of seed and seedlings exudates. *Plant Soil* 36:271-282.
- Wardle DA (2002) *Communities and Ecosystems: Linking the Aboveground and Belowground Components*. *Monographs in Population Biology*, Vol. 34. Princeton University Press, Princeton, USA, 392 pp.
- West AW, Sparling GP (1986) Modifications to the substrate-induced respiration method to permit measurements of microbial biomass in soils of differing water contents. *J.*
- Wezel A, Schlecht E (2004) Inter-annual variation of species composition of fallow vegetation in semi-arid Niger. *J. Arid Environ.* 56:265-282.
- Zobel M, Moora M (1995) Interspecific competition and arbuscular mycorrhiza: importance of the coexistence of two calcareous grassland species. *Folia Geobot. Phytotaxon* 30:223-230.

Table 1. Organic compounds and their appropriate concentrations used to assess patterns of *in situ* catabolic potential (ISCP) of soil samples

Organic substrates	Conc. (mM)	Organic substrates	Conc. (mM)
<i>Amino acids</i>		<i>Carboxylic acids</i>	
L-Phenylalanine	15	Ascorbic acid	100
L-Glutamine	15	Citric acid	100
L-Serine	15	Fumaric acid	100
L-Asparagine	15	Gluconic acid	100
L-Glutamic acid	15	Quinic acid	100
L-Tyrosine	15	Malonic acid	100
L-Cysteine	15	Formic acid	100
		α -ketoglutaric acid	100
<i>Carbohydrates</i>		Succinic acid	100
		Tartaric acid	100
D-Glucose	75	Uric acid	100
D-Mannose	75	Oxalic acid	100
Sucrose	75	Gallic acid	100
		Malic acid	100
<i>Amides</i>		Tri-citrate	100
		DL- α -Hydroxybutyric acid	100
D-Glucosamine	15	α -ketobutyric acid	100
Succinamide	15		

Table 2. Plant species and their shoot biomass (g dry weight) recorded in each sampling plot

Plant species	Index	Sampling plots ⁽¹⁾
<i>Acacia senegalensis</i>	A1	702 (0.1); 704 (1.2)
<i>Acacia seyal</i>	A2	700 (0.1)
<i>Acalypha segetalis</i>	A3	675 (0.1); 678 (1.5)
<i>Achyranthes aspera</i>	A4	674 (0.1); 677 (0.4); 678 (0.1); 679 (1.6); 687 (0.15)
<i>Alysicarpus ovalifolius</i>	A5	675 (0.5); 677 (1.4); 691 (1.0)
<i>Azadirachta indica</i>	A6	682 (0.05)
<i>Bidens pillosa</i>	A7	679 (0.5)
<i>Bracharia villosa</i>	A8	678 (0.1); 681 (0.4); 684 (0.5); 685 (0.2); 686 (0.4); 688 (0.6); 689 (0.1); 693 (0.5); 694 (0.4); 696 (0.1); 697 (0.1); 698 (1.0); 699 (0.5); 700 (0.5); 701 (4.7); 702 (0.2); 703 (0.2);
<i>Cassia mimosoides</i>	A9	684 (6.5); 685 (2.2)
<i>Cassia nigricens</i>	A10	691 (5.6)
<i>Cassia siberiana</i>	A11	679 (0.1); 692 (0.1); 694 (0.2)
<i>Cassia tora</i>	A12	678 (3.3); 679 (3.5);
<i>Celosia argentea</i>	A13	683 (0.87); 684 (1.5); 686 (0.1); 687 (0.15)
<i>Combretum micranthum</i>	A14	681 (1.3); 694 (0.9) ; 701 (0.34) ;
<i>Corchorus stridens</i>	A15	674 (0.1) ; 679 (0.2) ; 683 (1.3) ; 688 (0.2)
<i>Crotalaria micronata</i>	A16	683 (1.1)
<i>Cyanotis lanata</i>	A17	676 (0.2) ; 678 (0.3) ; 681 (0.1) ; 687 (0.1) ; 690 (0.1) ; 700 (0.4) ; 701 (0.1)

Table 2 (continued)

<i>Cymbopogon giganteus</i>	A18	681 (15.8); 682 (15.9) ; 688 (6.9) ; 689 (24.8) ; 690 (1.9) ; 691 (24.1) ; 692 (9.1) ; 693 (22.5) ; 695 (5.9) ; 704 (4.4)
<i>Digitaria argillacea</i>	A19	692 (1.0); 695 (0.7)
<i>Evolvus alsinoides</i>	A20	694 (2.9) ; 699 (0.2)
<i>Guiera senegalensis</i>	A21	675 (0.1) ; 677 (0.1) ; 681 (0.1) ; 688 (0.1) ; 694 (1.0) ; 695 (0.2) ; 696 (0.4) ; 703 (0.2)
<i>Heteropogon sp</i>	A22	676 (2.4)
<i>Indigofera dendroides</i>	A23	677 (2.5) ; 686 (5.6) ; 689 (4.3) ; 696 (1.6) ; 704 (0.4)
<i>Indigofera stenophylla</i>	A24	675 (2.1) ; 678 (0.9) ; 680 (7.5) ; 684 (2.1) ; 685 (1.3) ; 688 (3.3) ; 698 (0.3) ; 699 (13.4) ; 703 (5.2) ; 704 (2.4)
<i>Ipomea eriocarpa</i>	A25	687 (26.6) ; 688 (0.2) ; 689 (0.1) ; 695 (0.1)
<i>Leucas marinicensis</i>	A26	678 (0.5) ; 679 (0.2)
<i>Microchloa indica</i>	A27	676 (2.4) ; 685 (0.7) ; 696 (0.1) ; 700 (29.8) ; 703 (0.2) ; 704 (0.1)
<i>Pennisetum pedicellatum</i>	A28	674 (62.6) ; 675 (9.5) ; 676 (10.1) ; 677 (4.2) ; 678 (21.8) ; 679 (11.5) ; 680 (5.8) ; 681 (25.1) ; 682 (74.4) ; 683 (23.7) ; 684 (7.3) ; 685 (15.1) ; 686 (0.1) ; 687 (4.7) ; 688 (5.5) ; 689 (5.9) ; 690 (15.4) ; 691 (21.3) ; 692 (18.4) ; 693 (11.6) ; 694 (0.5) ; 695 (2.7) ; 696 (2.2) ; 698 (4.7) ; 699 (6.5) ; 700 (1.3) ; 701 (7.5)
<i>Peristrophe bicalyculata</i>	A29	678 (1.7) ; 679 (16.1)
<i>Polygala arenaria</i>	A30	674 (0.1) ; 675 (1.4) ; 688 (0.4) ; 689 (0.1) ; 693 (0.2) ; 695 (0.4) ; 696 (0.5) ; 702 (0.1) ; 704 (1.1)
<i>Rottboellia exaltata</i>	A31	686 (0.6) ; 699 (0.3)

Table 2 (continued)

<i>Setaria pallide-fusca</i>	A32	674 (0.1) ; 675 (0.2) ; 677 (0.1) ; 678 (1.0) ; 680 (0.2) ; 686 (0.2) ; 689 (1.9) ; 691 (1.1) ; 693 (0.2)
<i>Sida alba</i>	A33	679 (0.1); 683 (0.2)
<i>Spermacoce chaetocephala</i>	A35	674 (3.2); 676 (0.6); 685 (48.1); 688 (0.8); 692 (56.3); 693 (0.5); 697 (0.1); 698 (10.5); 699 (1.5); 700 (2.6); 703 (33.3)
<i>Spermacoce radiata</i>	A36	675 (14.8); 676 (1.2); 677 (5.4); 678 (6.1); 679 (10.6); 680 (9.5); 681 (11.6); 682 (17.1); 683 (31.5); 684 (34.5); 685 (1.2); 686 (37.2); 687 (26.9); 688 (27.8); 689 (12.7); 690 (17.8); 691 (24.2); 692 (30.1); 693 (13.8); 694 (6.5); 695 (16.1); 697 (4.7); 698 (6.4); 699 (20.8); 700 (1.2); 701 (8.9); 702 (0.4); 703 (1.5); 704 (5.2)
<i>Striga hermonthica</i>	A37	675 (0.1)
<i>Tephrosia bracteolata</i>	A39	680 (5.2); 683 (1.1); 690 (2.9); 694 (1.7); 695 (4.7); 698 (0.9); 699 (3.9); 702 (4.7)
<i>Tephrosia linearis</i>	A40	680 (0.4); 690 (0.5); 694 (2.7); 701 (0.3)
<i>Triumphetta pentandra</i>	A41	674 (6.2); 681 (1.4); 682 (0.2)
<i>Vicoa leptoclada</i>	A42	674 (0.1)
<i>Waltheraria indica</i>	A43	685 (0.8); 694 (0.6); 698 (0.9)
<i>Ziziphus mauritiana</i>	A44	676 (1.2);
<i>Zornia glochidiata</i>	A45	674 (0.1); 675 (4.8); 676 (2.1); 677 (1.6); 678 (0.1); 680 (1.9); 681 (4.1); 682 (3.2); 683 (2.2); 684 (2.3); 685 (4.7); 686 (2.1); 687 (2.5); 688 (5.7); 689 (3.9); 690 (3.6); 691 (4.9); 692 (3.3); 693 (1.8); 694 (4.0); 695 (5.6); 696 (9.1); 697 (10.6); 698 (7.1); 699 (3.5); 700 (1.7); 701 (14.6); 702 (1.8); 703 (6.3); 704 (0.7)

⁽¹⁾ Sampling plots are numbered from 674 to 704

Table 3. Total root biomass collected from each sampling plot

Sampling plot	Root biomass (g dry weight)	Sampling plot	Root biomass (g dry weight)	Sampling plot	Root biomass (g dry weight)
674	8.98	685	2.02	696	3.80
675	1.60	686	1.10	697	1.60
676	1.71	687	1.39	698	0.81
677	0.54	688	4.02	699	2.89
678	2.81	689	6.86	700	1.79
679	2.30	690	2.87	701	0.68
680	0.16	691	8.87	702	6.85
681	7.05	692	10.29	703	1.46
682	10.48	693	3.40	704	2.97
683	2.92	694	2.19		
684	1.20	695	6.97		

Table 4. Richness, equitability, Margalef and Shannon indexes of the herbaceous plant communities collected from each sampling plot

Sampling plot	Richness	Margalef Index	Shannon Index	Equitability	Sampling plot	Richness	Margalef Index	Shannon Index	Equitability
674	9	1.924	2.196	0.849	690	7	1.581	1.828	0.707
675	10	1.54	1.991	0.77	691	7	1.997	2.173	0.774
676	8	1.542	2.038	0.878	692	7	1.871	1.998	0.712
677	8	1.369	1.635	0.633	693	8	1.944	2.155	0.834
678	12	1.723	1.942	0.836	694	10	1.986	2.439	0.869
679	10	1.798	2.11	0.909	695	9	1.688	1.962	0.845
680	7	1.838	2.052	0.731	696	7	0.781	1.041	0.657
681	9	1.255	1.334	0.667	697	4	0.712	0.863	0.863
682	6	1.324	1.482	0.573	698	8	1.778	2.079	0.896
683	8	1.423	1.621	0.627	699	9	1.816	2.055	0.795
684	7	1.265	1.408	0.545	700	8	0.706	0.885	0.381
685	9	0.672	0.769	0.485	701	7	1.642	1.864	0.932
686	8	1.345	1.471	0.736	702	6	0.464	0.722	0.722
687	7	1.582	1.787	0.77	703	7	1.048	1.19	0.595
688	11	1.768	1.994	0.771	704	8	1.839	2.324	0.899
689	9	1.924	2.196	0.849					

Table 5. Total C, N and P of the soils collected from each sampling plot

Sampling plot	C (g.kg ⁻¹)	N (g.kg ⁻¹)	P (mg.kg ⁻¹)	Sampling plot	C (g.kg ⁻¹)	N (g.kg ⁻¹)	P (mg.kg ⁻¹)
674	15.1	0.89	296.2	690	10.8	0.69	198.1
675	30.1	1.02	295.4	691	16.9	0.91	235.7
676	5.8	0.51	225.3	692	8.4	0.58	196.4
677	11.3	0.74	227.1	693	12.4	0.77	200.5
678	14.2	0.91	260.7	694	9.5	0.66	201.1
679	26.0	1.52	298.0	695	7.6	0.50	164.9
680	10.5	0.75	261.9	696	11.2	0.77	202.2
681	8.8	0.60	229.5	697	6.8	0.40	94.9
682	16.3	0.96	265.8	698	8.1	0.60	168.2
683	7.1	0.51	193.1	699	10.6	0.72	167.1
684	5.7	0.45	194.6	700	7.1	0.59	166.9
685	6.5	0.48	193.3	701	6.7	0.56	169.1
686	8.8	0.59	229.2	702	12.8	0.88	168.8
687	4.8	0.36	194.5	703	7.6	0.69	206.3
688	11.7	0.77	230.4	704	8.6	0.65	196.1
689	10.5	0.69	233.3				

Table 6. Relationships between soil dilutions and percentage of mycorrhizal plantlets of *Pennisetum typhoides*, and values of the MSI₅₀.

Soil origins	Y-intercept	Regression slopes	Regression coefficient (R ²)	P values	MSI ₅₀ (g per 100 g)
Group 1	65.6 b ⁽¹⁾	0.44 a	0.19	0.0418	< 0.1 a
Group 2	44.6 a	0.52 b	0.33	0.0059	10.2 b

⁽¹⁾ Data in the same column followed by the same letter are not significantly different according ($p < 0.05$)

Table 7. Correlation coefficients between the catabolic responses resulting for addition of different substrates and the abundances of *Z. glochidiata* and *P. pedicellatum*, Soil P contents and plant species richness measured in each quadrat. Values in bold are significant at $p < 0.05$.

Substrates	Abundance of <i>Z. glochidiata</i>	Abundance of <i>P. penicellatum</i>	Soil P content	Plant species richness
L-Phenylalanine	0.312	0.234	- 0.537	0.042
L-Glutamine	0.390	0.232	- 0.357	0.120
L-Serine	0.013	0.094	0.020	0.281
L-Asparagine	0.070	0.052	0.131	0.328
L-Glutamic acid	0.229	0.061	0.318	0.025
L-Tyrosine	0.136	0.126	0.153	0.145
L-Cysteine	- 0.383	0.501	0.664	0.118
D-Glucose	0.454	- 0.359	- 0.518	0.183
D-Mannose	0.160	0.007	0.222	0.082
Sucrose	0.005	0.169	0.096	0.167
D-Glucosamine	0.411	- 0.420	- 0.707	0.036
Succinamide	0.067	- 0.376	0.291	0.092
Ascorbic acid	0.079	0.156	0.133	0.272
Citric acid	0.181	0.038	0.015	0.132
Fumaric acid	0.152	0.234	0.256	0.185

Gluconic acid	0.505	- 0.351	- 0.667	- 0.352
Quinic acid	0.174	0.222	0.407	0.211
Malonic acid	0.157	0.126	0.365	0.025
Formic acid	0.312	0.341	0.565	0.319
α -ketoglutaric acid	0.21	0.151	0.169	0.298
Succinic acid	0.122	0.004	0.015	0.058
Tartaric acid	0.044	0.038	0.056	0.152
Uric acid	0.346	0.192	- 0.470	0.074
Oxalic acid	0.014	0.354	0.187	0.050
Gallic acid	0.165	0.170	0.160	0.088
Malic acid	0.052	0.185	0.177	0.039
Tri-citrate	0.115	0.040	0.013	0.208
DL- α -OHbutyric acid	0.488	0.097	0.194	0.185
α -ketobutyric acid	0.068	0.042	0.069	0.051
Catabolic evenness	0.309	0.218	0.297	0.053

LEGEND

Fig. 1. DGGE patterns of 16S ribosomal DNA (rDNA) fragments from soil samples (674 to 704) collected from different sites (quadrat). The arrows indicate the position of unique bands in some lanes. M, marker, composed of PCR products generated from the following strains (from top to bottom): *Acinetobacte johnsonii*, *Clostridium* sp, *Enterococcus cecorum*, *Bacteriodaceae* sp, *Clostridium bifermentans* and *Pseudonocardia zijingensis*. Percent values indicate the percentage of denaturants

Fig. 2. Similarities between PCR-DGGE profiles obtained of bacterial communities in each soil samples numbered from 674 to 704.

Fig. 3. Co-inertia analysis of plant species composition and DGGE analysis

- A: factor map of DGGE analysis (Discriminant bands were numbered from 1 to 23)
- B: factor map of sampling plots numbered from 674 to 704
- C: factor map of plant species biomass composition (plants were numbered from A1 to A45, for the legend see Table 2).
- D: factor map of sampling plots

Fig. 4. Correlation curves between the co-existence ratio between *Z. glochidiata* and *P. pedicellatum* and different parameters. A: Plant species richness (fitted curve is $y = -5.559 x^2 + 3.212 x + 5.279$. $r^2 = 0.423$; $p = 0.0012$); B: Soil total P content (linear relationship; $y = -74.88 x + 241.5$, $r^2 = 0.305$; $p = 0.0013$); C: number of DGGE band (fitted curve is $y = 4.139 x^2 - 6.683 x + 50.11$, $r^2 = 0.210$; $p = 0.0187$).

Figure 1

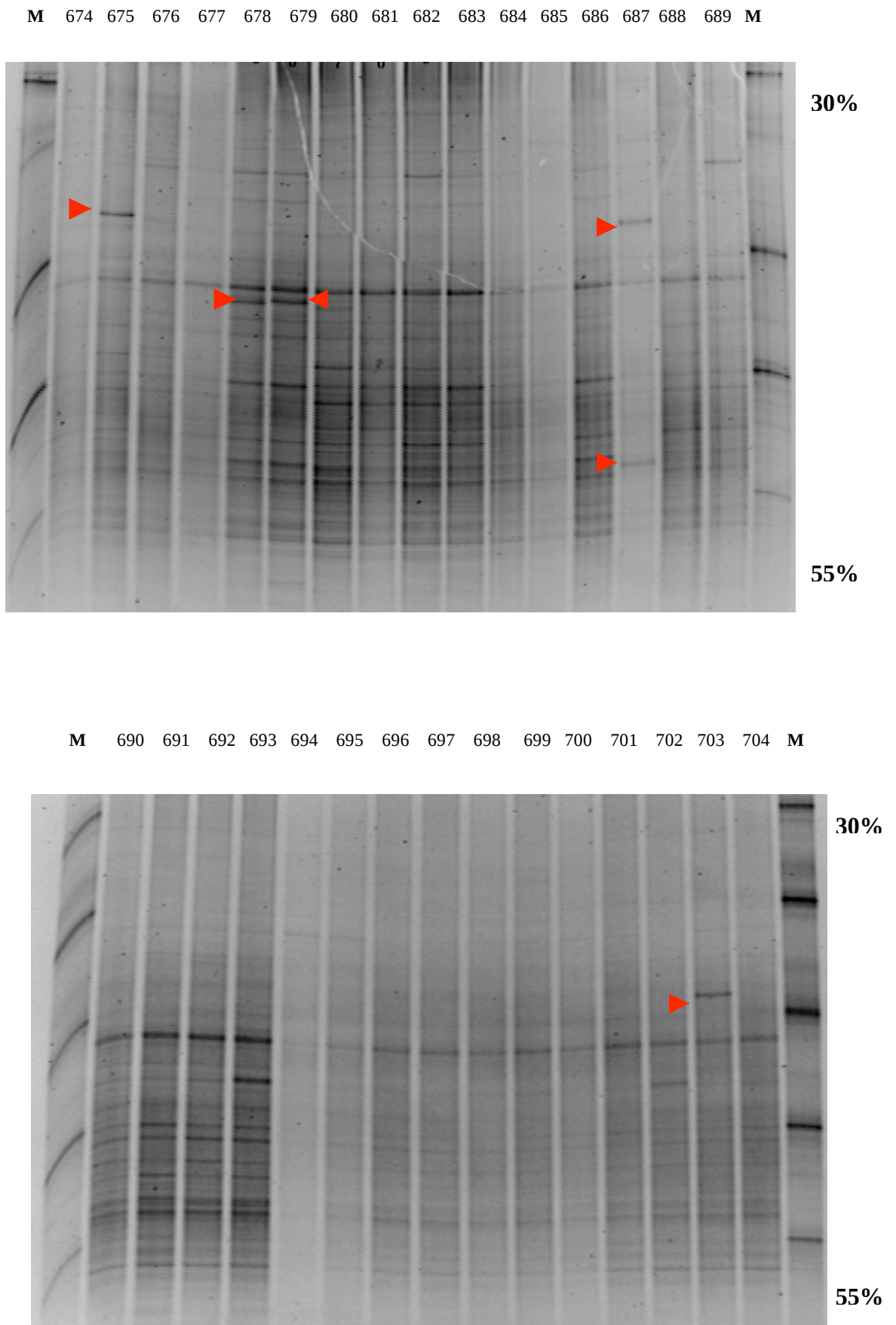


Figure 2

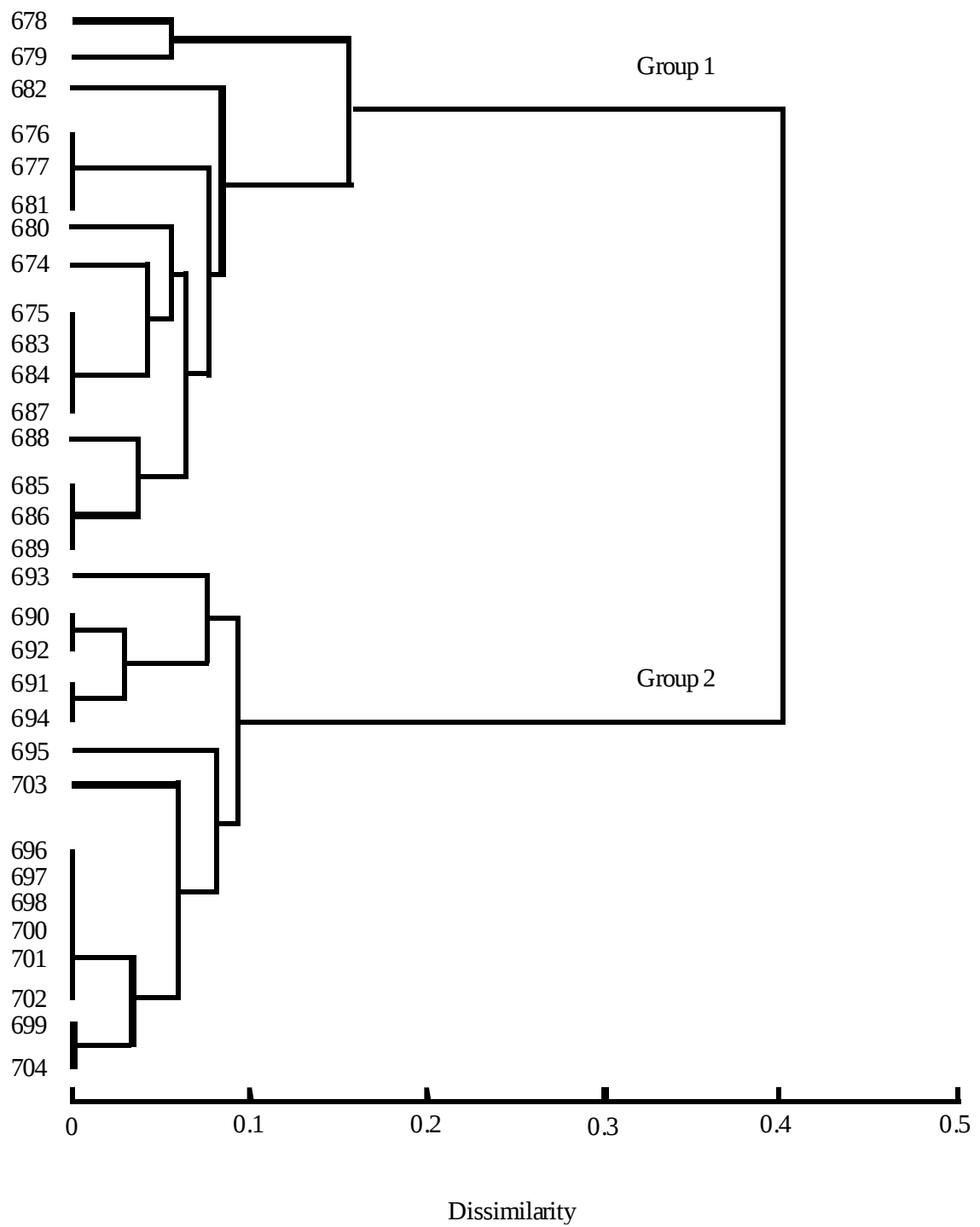


Figure 3

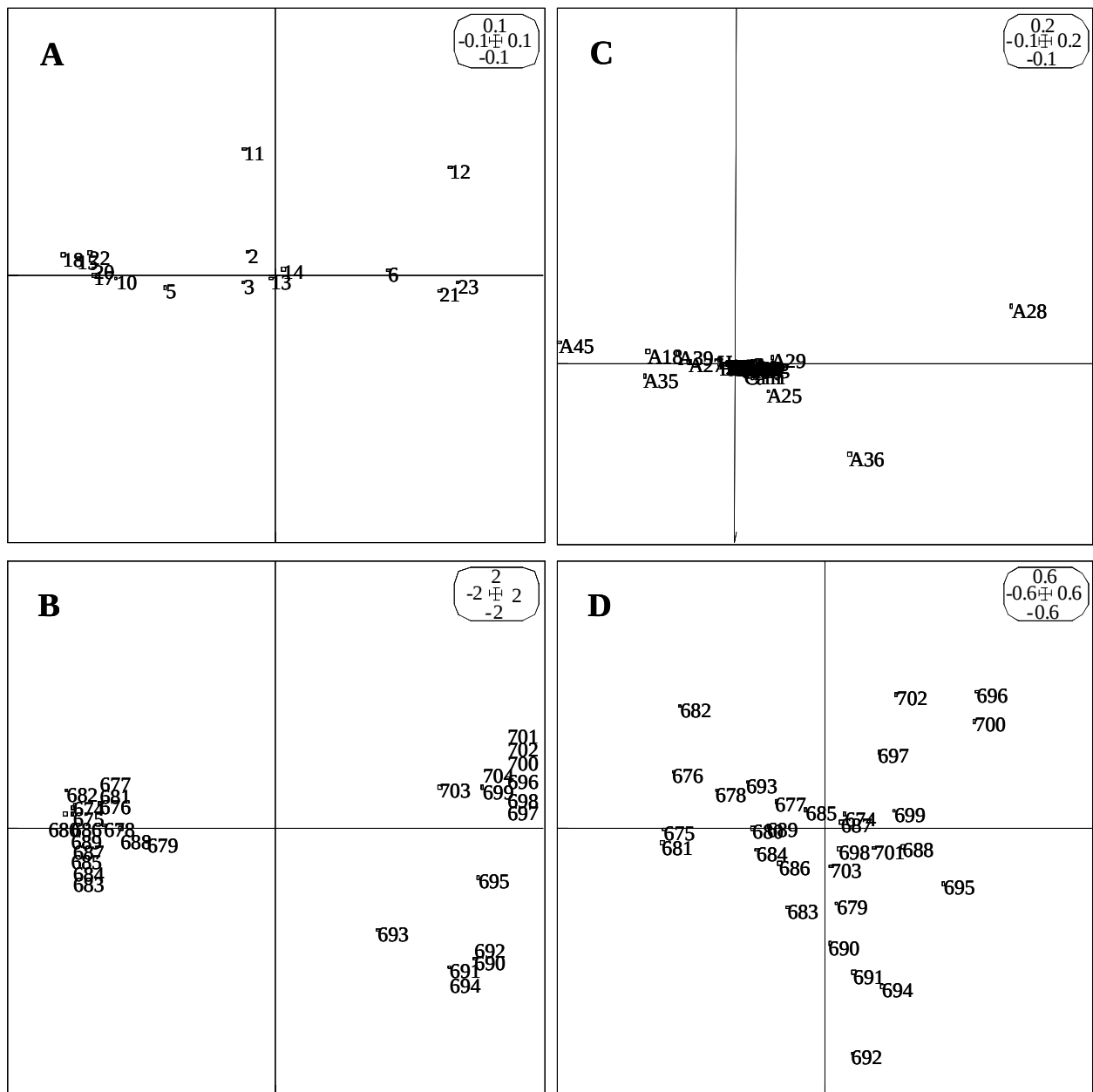
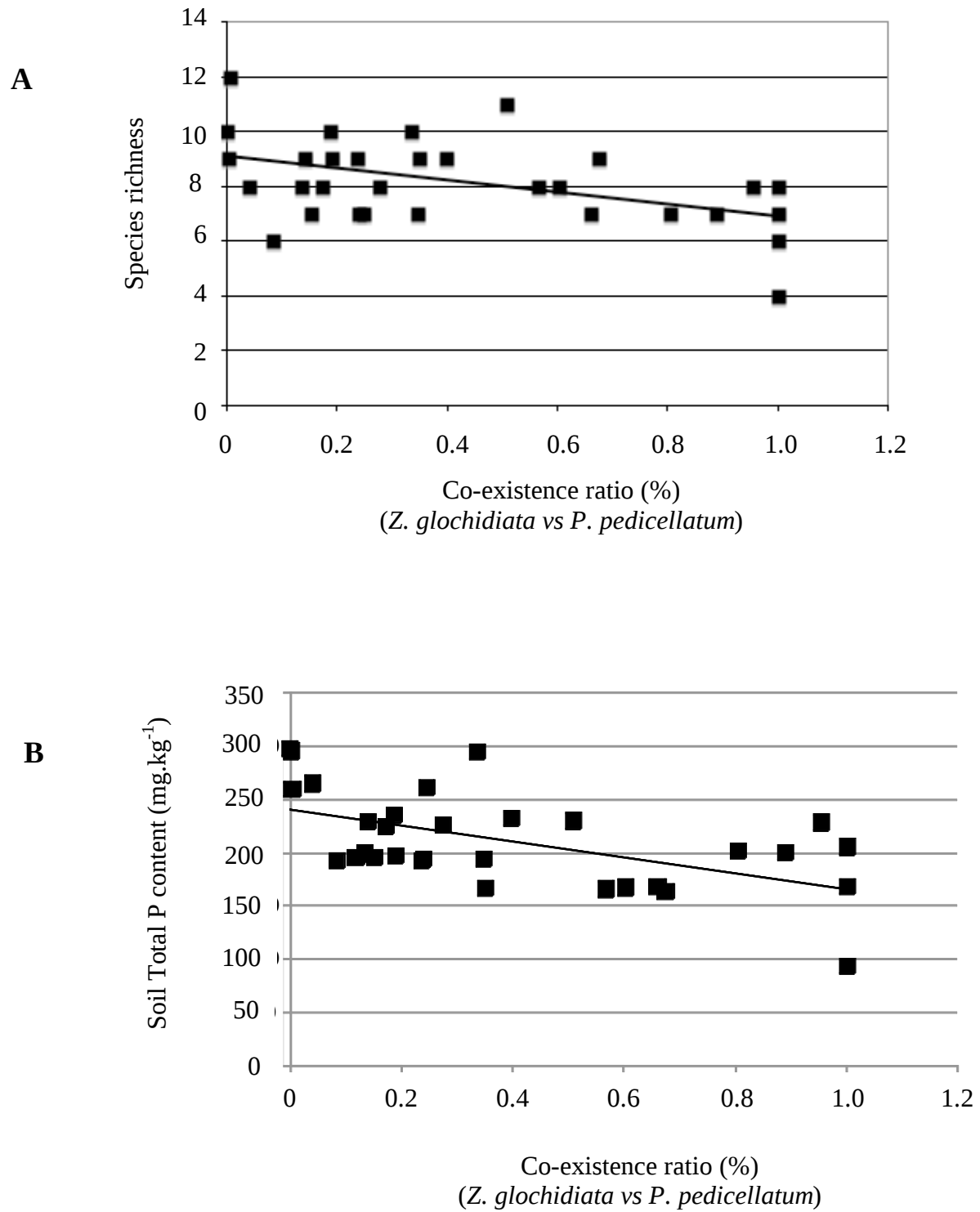
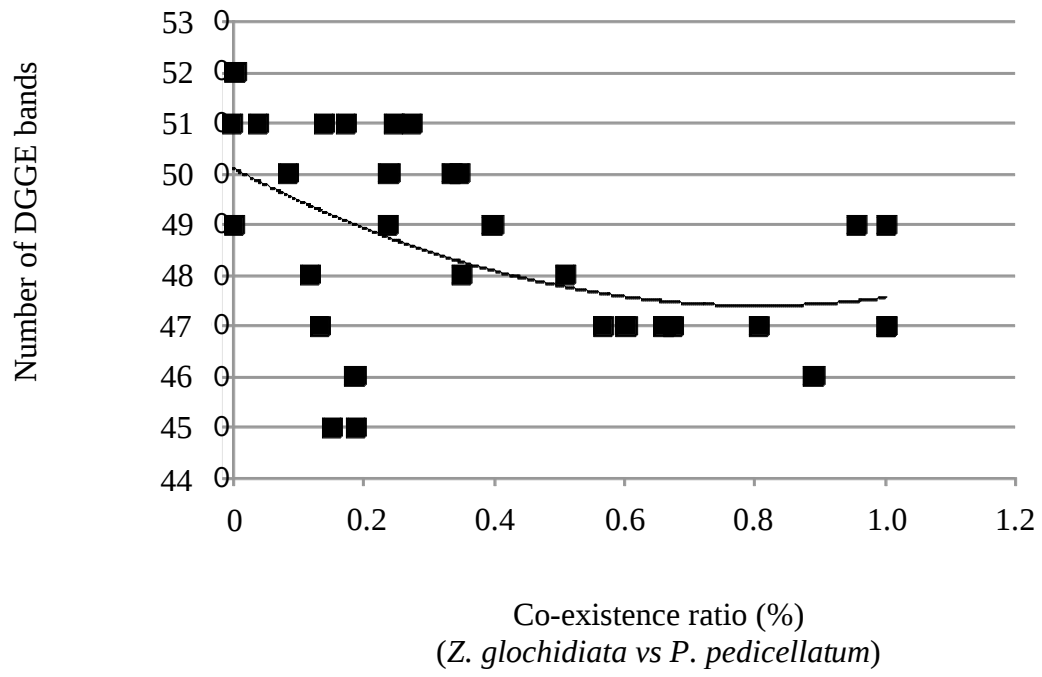


Figure 4



C



Article 2

Feedback between plants and arbuscular mycorrhizal fungi is dependent on the mycorrhizal propagule density in a early successional arid ecosystem

Sanon, A. ^(1,2), Kisa, M. ⁽¹⁾, Martin, P. ⁽³⁾, Prin, Y. ⁽⁴⁾, Berthelin, J. ⁽²⁾, Galiana, A. ⁽⁴⁾, Ducousso, M. ⁽⁴⁾, Spichiger, R. ⁽³⁾ and Duponnois, R. ^(1*)

⁽¹⁾ IRD. UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/AGRO-M/UM2. Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (LSTM). Montpellier. France

⁽²⁾ LIMOS, Laboratoire des Interactions Microorganismes - Minéraux - Matière Organique dans les Sols, UMR 7137 CNRS-UHP. Faculté des Sciences et Techniques. BP 239, 54506 Vandoeuvre-les-Nancy cedex. France

⁽³⁾ Conservatoire et Jardin botanique de Genève - 1 Chemin de l'impératrice. PO Box 60. Postal code : CH-1292. Genève. Suisse

⁽⁴⁾ CIRAD. UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/AGRO-M/UM2. Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (LSTM). Montpellier. France

* Corresponding author:

Present address:

IRD. Laboratoire Commun de Microbiologie IRD / ISRA / UCAD. Centre de Recherche de Bel Air.
BP 1386. Dakar. Sénégal

Tel: + 221 849 33 22

Fax : + 221 849 33 02

Email: robin.duponnois@ird.sn

ABSTRACT

The composition of the aboveground flora is mainly determined by the soil microbial communities, particularly Arbuscular Mycorrhizal (AM) fungi, and by the patchiness of soil nutrients distribution. To investigate the effects of AM fungi density and soil phosphorus richness variations on plants competitive dominance, greenhouse experiments were performed with two herbaceous plants *Zornia glochidiata* and *Pennisetum pedicellatum*. The two plants species were grown individually or together in pot subsequent to AM inoculation or P fertilisation. Results indicated high mycorrhizal dependencies for the two herbaceous plants. Moreover, even for highly mycotrophic plant species, negative and positive feedbacks could occur between plant species and AM fungi and that these interactions were dependent on the AM propagules density in the soil. In addition, it appeared that soil fertility was an important factor that regulated the growth of each plant species when grown together. These results underline the crucial role of AM fungi and soil nutrient in determining plants successional patterns and ecosystems biodiversity.

Key words : arbuscular mycorrhizal fungi ; soil phosphorus ; competitive dominance; plants succession.

INTRODUCTION

Soil nutrient resources in natural environments are often heterogeneously distributed at almost all scales (Reynolds et al., 1997; Farley and Fitter, 1999; Facelli and Facelli, 2002). Nutrient patches are more relevant with low mobility nutrients such as phosphate (P) and Zinc (Zn) (Cavagnaro et al., 2005). Because of differences in specific responses to nutrient heterogeneity (Wijesinghe and Hutchings, 1997; Farley and Fitter, 1999), nutrient patchiness can provide competitive advantages to plants and then affect multi- species assemblages in plant communities (Hetrick, 1991; Schwinning and Weiner, 1998). It has been recently suggested that the effects of nutrient heterogeneity on plant population structure may be strongly modified by Arbuscular Mycorrhizal (AM) formation (Facelli and Facelli, 2002). These fungi are associated with the roots of most plant species and provide to their host plant a well-distributed and extensive absorbing system in soil (Smith and Read, 1997). This positive effect involves a greater and rapid access to phosphorus resources, especially at low levels of P availability (Zobel and Moora, 1995; Moora and Zobel,

1996). Hence, AM fungi can enhance plant diversity and plant succession by a specific reduction of dominant plant species (De Deyn et al., 2003) or by a promotion of subordinate plant species (van der Heijden et al., 1998).

It is generally assumed that the influence of AM fungi on plant co-existence though their impact on nutrient resource access was more relevant in early successional ecosystems where plants and soils have been severely disturbed (Hart et al., 2003). In these environmental conditions, AM fungi are in low abundance and patchily distributed. Their subsequent development could influence plant coexistence by promoting mycorrhizal-dependent plants which will be more competitive as these species will benefit from a better uptake of limiting soil nutrient (Allen and Allen, 1990).

This feedback effect between plants and arbuscular mycorrhizal fungi has been proposed as a key factor in early successional communities on nutrient poor soils (Reynolds et al., 2003), especially in tropical soils that are strongly P-deficient (Sieverding, 1991). It has been also hypothesized that AM fungi might have differential feedback effects on plants (Bever, 1999). However, the mechanisms involved in these biological interactive processes remain unclear and, in particular, the influence of AM density on plant co-existence has rarely been assessed.

In order to investigate the interactions between AM fungi density and species co-existence, we realised a pot experiment using two herbaceous plant species, *Zornia glochidiata* and *Pennisetum pedicellatum*, very abundant in Sudano-Sahelian shrub-savanna. These plant species were inoculated with different AM fungal inoculum densities and cultivated together or not. We hypothesized that (i) growth response of both plant species and (ii) feedback between plant species and AM fungi will be dependent to the AM inoculum densities. In addition, as it has been previously established that available P was an important factor in plant co-existence, response of both plant species to P fertilisation was also assessed.

MATERIALS AND METHODS

Plant material and fungal inoculum

Z. glochidiata and *P. pedicellatum* seeds were collected in a shrubby savanna, 50 km north of Ouagadougou, Yatenga province (Burkina Faso). They were surface sterilized with 30% hydrogen peroxide for 5 min, rinsed and left to soak for 12 h in sterile distilled water. Seeds were then transferred aseptically to Petri dishes filled with 1% (w:v) water agar medium and plates were incubated at 25 °C in the dark.

The AM fungus *Glomus intraradices* Schenk & Smith (DAOM 181602, Ottawa Agricultural Herbarium) was chosen because of its ability to form abundant internal vesicles and of its high efficiency on plant growth (Duvert et al., 1990; Duponnois et al., 2005). It was multiplied on leek (*Allium porrum* L.) for 12 weeks under greenhouse conditions on Terragreen substrate. This calcined clay (particle size average 5 mm), Oil-Dri US-special Ty/IIIR (Oil-Dri Company, Chicago, Ill.) is an attapulgite from Georgia used as substrate for propagation of mycorrhizal fungi (Duponnois and Plenchette, 2003). Infected leek roots were hand cut with a scalpel in 1-2 mm pieces. Each root pieces were considered as one propagule (Duvert et al., 1990). Non mycorrhizal leek root pieces were prepared as above for the control treatments (non inoculated). Root pieces were cleared in 10% KOH for 1 h at 90°C and stained for 15 min with acid fuchsine (0.05% in lactoglycerol). They were mounted on a microscope slide and observed at a 250x magnification under a compound microscope. The proportion of root fragments without vesicles and hyphae was evaluated.

Greenhouse experiment

Experiment 1

One germinated seed of *Z. glochidiata* and/or one of *P. pedicellatum* were planted in plastic pots (5.5 cm diameter; 6 cm high) filled with 100 g of a sterilized sandy soil (140°C, 40 min). After autoclaving, the physico-chemical characteristics of the soil were as follows: pH (H₂O) 5.6; clay (%) 4.6; fine silt (%) 0.0; coarse silt (%) 0.8; fine sand (%) 25.5; coarse sand (%) 69.1; carbon (%) 2.04; total nitrogen (%) 0.04; Olsen phosphorus 4.3 mg kg⁻¹; total phosphorus 116 mg kg⁻¹.

To obtain a logarithmic scale of inoculum density (0, 3, 10, 30 and 100 infective propagules per 100 g of soil), mycorrhizal root pieces were counted under a dissecting microscope and thoroughly mixed to the soil. Then, for each inoculum density, 100 g of soil containing the required number of AM propagules, were weighed and poured into plastic pots. The pots were arranged in a randomised complete block design with 10 replicates per treatment. The pots planted with one (Experiment 1A) or both (Experiment 1B) tested plant species were placed in a greenhouse under natural light (daylight approximately 12 h, mean temperature 25°C day). Plants were watered with deionised water without addition of nutrients.

After 1-month culture, plants were uprooted and their root systems gently washed. The oven-dried weight (1 week at 65°C) of the shoots was measured. The roots were cleared and stained according to the method of Phillips and Hayman (1970). They were placed on a slide for microscopic observation at 250x magnification (Brundrett et al., 1985). About 100 1-cm root pieces were observed per plant. The extent of mycorrhizal colonization was expressed in terms of fraction of

root length with internal fungal structures (vesicles or hyphae). Then the roots were oven-dried (1 week, 65°C) and weighed. Mycorrhizal dependency of plant species was determined by expressing the difference between the total dry weight of the mycorrhizal plant and the total dry weight of the non mycorrhizal plant as a percentage of the total dry weight of the mycorrhizal plant (Plenchette et al., 1983).

Experiment 2

Plastic pots were filled with the same sterilized soil as before and amended with 0, 3, 10, 30 and 100 Osmocote™ granules (N:P:K, 11:8:17). The pots were arranged in a randomised complete block design with 10 replicates per treatment and placed in a greenhouse under natural light (daylight approximately 12 h, mean temperature 25°C day). One germinated seed of *Z. glochidiata* and one of *P. pedicellatum* were planted in each pot. After 1-month culture, the oven-dried weight (1 week at 65°C) of the shoots was measured.

Statistical analysis

Mycorrhizal dependency data were transformed by arcsin (sqrt) before statistical analysis and treated with one-way analysis of variance. Means were compared using PLSD- (Post-hoc Least Significant Difference) Fisher test ($p < 0.05$). For each experiment and for each plant species, total biomass of each plant was plotted against the logarithm of the number of AM propagules or the number of Osmocote™ granules introduced into the soil. Regression curves were calculated using Statview computer programme.

RESULTS

Vesicles and hyphae of *G. intraradices* were detected in about 95% of the root pieces. Growth of *Z. glochidiata* or *P. pedicellatum*, individually cultivated (Experiment 1A) was significantly correlated to the logarithm of the number of AM propagules introduced into the soil (Fig. 1). For *Z. glochidiata*, mycorrhizal dependency ranged from 29.0% (3 inoculated propagules) to 68.7% (100 inoculated propagules) whereas, for *P. pedicellatum*, it ranged from 35.4% to 80.6% (table 1). The mycorrhizal effect of *G. intraradices* was significantly higher with *P. pedicellatum* than that with *Z. glochidiata* at the 30 and 100 inoculum densities (Table 1). The average mycorrhizal rates were 40.6% for *Z. glochidiata* and 45.3% for *P. pedicellatum*.

When *Z. glochidiata* and *P. pedicellatum* were associated in the same pot (Experiment 1B), growth of the leguminous species was higher at the lowest inoculum density (3 inoculated propagules) and decreased at the other inoculum densities whereas growth of the gramineous species was positively correlated with the number of fungal propagules added to the soil (Fig. 2). The mycorrhizal dependency of *Z. glochidiata* was higher at the 3 inoculum density (Table 1) and the lowest value was recorded at the highest inoculum density (Table 1). An opposite effect was recorded with *P. pedicellatum* for which the highest mycorrhizal dependency was measured in the 100 inoculum density treatment (Table 1). In each treatment and for each plant species, mycorrhizal colonizations were similar as those recorded in experiment 1A.

In the experiment 2, the nutrients (P content) increase induced a significant depressive effect on the growth of *Z. glochidiata*. For *P. pedicellatum*, a positive effect on the plant growth was found when 3 and 10 Osmocote™ granules were added to the soil. At the highest rates, the granules amendments inhibited plant growth.

DISCUSSION

From this study, it could be concluded that, even for highly mycotrophic plant species, negative and positive feedbacks could occur between plant species and AM fungi and that these interactions were dependent on the AM propagules density in the soil. In addition, it appeared that soil nutrients availability was an important factor to regulate the growth of each plant species when grown together.

Mycorrhizal dependency has been usually defined as “the degree to which a plant species is dependent on the mycorrhizal condition to produce its maximum growth or yield at a given level of soil fertility (nutrients availability)” (Gerdeman, 1975). According to the definition proposed by Habte and Manjunath (1991), both plant species of our experiment can be considered as highly dependent on the AM symbiosis because the mycorrhizal dependencies ranged from 68 to 80% for *Z. glochidiata* and *P. pedicellatum*, respectively at the highest inoculum density. Hence it could be considered that a positive feedback occurred between each plant species and *G. intraradices* when grown in monoculture. It was not surprising that *Z. glochidiata* exhibited a high mycorrhizal dependency, since it belongs to the legume family which is known to be highly mycotrophic (Duponnois et al., 2001a). *G. intraradices* had a same promoting effect on *P. pedicellatum*. These results agree with the common findings considering that AM fungi are generalists with regard to the hosts that they infect and functionally equivalent in their effects on a host (Hart et al., 2003).

However, plant species responses to AM inoculation was largely changed when grown together. In particular, at the lowest AM fungal density, a positive feedback is measured between the leguminous species and the fungal inoculant whereas a negative feedback occurred between the gramineous species and the fungal symbiont. It is generally assumed that positive feedback involved mutualistic associations while negative feedback involves pathogens, parasites or herbivores (Klironomos, 2002; Reynolds et al., 2003). In the present study, a single AM fungal species can involve simultaneously both types of feedback at the lowest AM density. It has been previously established that, when different plants and fungi are grown together, AM fungi growth and species composition are host specific (Douds and Miller, 1999; Kiers et al., 2000). Some AM species could be more beneficial to a host plant than are others (van der Heijden et al., 1998; Bever, 1999; Klironomos, 2003). As no difference has been recorded between AM formation between each plant species when grown together and as only one AM fungal isolate has been inoculated, this mechanism was not probably involved in these AM fungus - plant species interactions. A most plausible explanation could be made through nutrient plant – plant fluxes *via* AM fungi hyphal network. In this present study, plant cultures have been made using small pots which facilitate complete soil colonization by AM hyphae which could create a shared mycelial network by neighbouring plants. It has been shown that inorganic nutrients transfers occurred through this mycelial network under laboratory conditions (Malcova et al., 1999) and in a field experiment (Walter et al., 1996). Hence, at the lowest inoculum density, the leguminous plant could create a carbon sink which involved a transfer through the mycelial network of large plant-derived carbon and nutrients amounts from the gramineous plant species. This leguminous effect might become detrimental for the *P. pedicellatum* growth.

It is generally assumed that tropical soils are strongly P-deficient (Duponnois et al., 2001b; Plenchette, 2000). It has been previously demonstrated that fast growing grass species increased in dominance in high initial nutrient availability while other plant species were suppressed (De Deyn et al., 2004). In the present study, nutrient addition treatment was made using Osmocote™ granules. With an average granule weight of 10 mg, soil available P contents were graded from 4.3 mg kg⁻¹ (control), 6.7 mg kg⁻¹ (3 granules per pot), 12.3 mg kg⁻¹ (10 granules per pot), 28.3 mg kg⁻¹ (30 granules per pot) and 84.3 mg kg⁻¹ (100 granules per pot). Within soil available P contents of 4.3 and 12.3 mg P kg⁻¹, our results on *P. pedicellatum* were in accordance with those of other studies from which it was concluded that growth of fast growing grass species was reduced at lower nutrient availability whereas it was increased independently of subsequent nutrient levels (Chapin, 1980, Koerselman and Meuleman, 1996; De Deyn et al., 2004).

From the results of the present study, a pattern of plant successional chronosequence could be proposed on the basis of AM propagules soil density and nutrient soil availability. Under semi-arid conditions, it is well known that AM fungal inoculum potential is very low and patchily distributed (Boerner et al., 1996; Estaun et al., 1997; Duponnois et al., 2001b). Leguminous plant species could highly colonize these degraded soils and enhance the mycorrhizal soil infectivity (MSI) (Plenchette et al., 1983; Johnson et al., 1992). This MSI represented the levels of spores, hyphae and infected roots in the soil (Duponnois et al., 2005). Hence, the development of leguminous plant species will increase the size of AM fungi patches and, consequently, promote the growth of AM mycelial network. This mycelial network will involve a selective pressure on the soil microflora resulting in a specific bacterial compartment named as “hyphosphere” (Andrade et al., 1997; Mansfeld-Giese et al., 2002). The external phase of AM fungi plays a key role in the transport of phosphorus from soil to the host plant (Jakobsen et al., 1994) and in soil aggregation (Bethlenfalvay et al., 1999). It has been found that phosphate-solubilizing bacterial strains can interact synergistically with mycorrhizal fungi and promote sustainable phosphorus supply to plants (Toro et al., 1997; Muthukumar et al., 2001). The enrichment of the hyphosphere with phosphate-solubilizing bacterial isolates could contribute to improve the nutrition of the host plants but also the soil P content. The resulting enrichment in soil P content could inhibit the growth of some plant species (i.e. *Z. glochidiata*) and promote the development of others such as *P. pedicellatum*.

The mycorrhizal propagule density could mediate plant species partitioning as well as communities dynamics. Moreover, soil P availability constitutes another parameter, which can strongly affect plant communities composition.

REFERENCES

- Andrade, G., Mihara, K.L., Linderman, R.G. and Bethlenfalvay, G.J. (1997). Bacteria from rhizosphere and hyphosphere soils of different arbuscular-mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 192: 71-79.
- Allan, E.B. and Allen, M.F. (1990). The mediation of competition by mycorrhizae in successional and patchy environments. In *Perspectives in Plant Competition* (Grace, J.B. and Tilman, D., eds). Pp. 367-389. Academic Press.
- Bethlenfalvay, G.J., Cantrell, I.C., Mihara, K.L. and Schreiner, R.P. (1999). Relationships between soil aggregation and mycorrhizas as influenced by soil biota and nitrogen nutrition. *Biology and Fertility of Soils*, 28: 356-363.
- Bever, J.D. (1999). Dynamics within mutualism and the maintenance of diversity: interference from a model of interguild frequency dependence. *Ecology letters*, 2: 52-62.
- Boerner, R.E.J., DeMars, B.G. and Leicht, P.N. (1996). Spatial patterns of mycorrhizal infectiveness of soils long a successional chronosequence. *Mycorrhiza*, 6: 79-90.
- Brundrett, M.C., Piche, Y. and Peterson, R.L. (1985). A developmental study of the early stages in vesicular-arbuscular mycorrhizal formation. *Canadian Journal of Botany*, 63: 184-194.

- Cavagnaro, T.R., Smith, F.A., Smith, S.E. and Jakobsen, I. (2005). Functional diversity in arbuscular mycorrhizas: exploitation of soil patches with different phosphate enrichment differs among fungal species. *Plant, Cell and Environment*, 28: 642-650.
- Chapin, F.S. (1980). The mineral nutrition in wild plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 11: 233-260.
- De Deyn, G.B., Raaijmakers, C.E., Zoomer, H.R., Berg, M.P., de Ruiter, P.C., Verhoef, H.A., Bezemer, T.M., van der Putten, W.H. (2003). Soil invertebrate fauna enhances grassland succession and diversity. *Nature*, 422: 711-713.
- De Deyn, G.B., Raaijmakers, C.E. and Van Der Putten, W.H. (2004). Plant community development is affected by nutrients and soil biota. *Journal of Ecology*, 92: 824-834.
- Douds, D.D. and Miller, P.D. (1999). Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystem and Environment*, 74: 77-93.
- Duponnois, R., Plenchette, C. and Bâ, A.M. (2001a). Growth stimulation of seventeen fallow leguminous plants inoculated with *Glomus aggregatum* in Senegal. *European Journal of Soil Biology*, 37: 181-186.
- Duponnois, R., Plenchette, C., Thioulouse, J. and Cadet, P. (2001b). The mycorrhizal soil infectivity and arbuscular mycorrhizal fungal spore communities in soils of different aged fallows in Senegal. *Applied Soil Ecology*, 17: 239-251.
- Duponnois, R. and Plenchette, C. (2003). A mycorrhiza helper bacterium (MHB) enhances ectomycorrhizal and endomycorrhizal symbiosis of Australian *Acacia* species. *Mycorrhiza*, 13 : 85-91.
- Duponnois, R., Colombet, A., Hien, V. and Thioulouse, J. (2005). The mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendment influence plant growth and microbial activity in the rhizosphere of *Acacia holosericea*. *Soil Biology & Biochemistry*, 37: 1460-1468.
- Duvert, P., Perrin, R. and Plenchette, C. (1990). Soil receptiveness to VA mycorrhizal association: concept and method. *Plant and Soil*, 124: 1-6.
- Estaun, V., Save, R. and Biel, C. (1997). AM inoculation as a biological tool to improve plant re-vegetation of a disturbed soil with *Rosmarinus officinalis* under semi-arid conditions. *Applied Soil Ecology*, 6: 223-229.
- Facelli, E. and Facelli, J.M. (2002). Soil phosphorus heterogeneity and mycorrhizal symbiosis regulate plant intra-specific competition and size distribution. *Oecologia*, 133: 54-61.
- Farley, R.A. and Fitter, A.H. (1999). The responses of seven co-occurring woodland herbaceous perennials to localized nutrient-rich patches. *Journal of Ecology*, 87: 849-859.
- Habte M. and Manjunath A. (1991) Categories of vesicular-arbuscular mycorrhizal dependency of host species. *Mycorrhiza* 1: 3-12.
- Hart, M.M., Reader, R.J. and Klironomos, J.N. (2003). Plant coexistence mediated by arbuscular mycorrhizal fungi. *TRENDS in Ecology and Evolution*, 18: 418-423.
- Hetrick, B.A.D. (1991). Mycorrhizas and root architecture. *Experientia*, 47: 355-362.
- Johnson, N.C., Tilman, D. and Wedin, D. (1992). Plant and soil controls on mycorrhizal fungal communities. *Ecology*, 73: 2034-2042.
- Kiers, E.T., Lovelock, C.E., Krueger, E.L. and Herre, E.A. (2000). Differential effects of tropical arbuscular mycorrhizal fungal inocula on root colonization and tree seedling growth: implications for tropical forest diversity. *Ecology letters*, 2: 52-62.
- Klironomos, J.N. (2002). Feedback with soil biota contributes to plant rarity and invasiveness in communities. *Nature*, 417: 67-70.
- Klironomos, J.N. (2003). Variation in plant responses to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology*, 84 : 2292-2301.
- Koerselman, W. and Meuleman, A.F.M. (1996). The vegetation N:P ratio: a new tool to detect the nature of nutrient limitation. *Journal of Applied Ecology*, 33: 1441-1450.
- Malcova, R., Vosatka, M. and Albrechtova, J. (1999). Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and simulated acid rain on the growth and coexistence of the grasses *Calamagrostis villosa* and *Deschampsia flexuosa*. *Plant and Soil*, 207: 45-57.
- Mansfeld-Giese, K., Larsen, J. and Bodker, L. (2002). Bacterial populations associated with mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *FEMS Microbiology Ecology*, 41: 133-140.
- Moora, M. and Zobel, M. (1996). Effect of arbuscular mycorrhiza and inter-intraspecific competition of two grassland species. *Oecologia*, 108: 79-84.

- Muthukumar, T., Udaiyan, K. and Rajeshkannan, V. (2001). Response of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) to indigenous arbuscular mycorrhizal fungi, phosphate-solubilizing and asymbiotic nitrogen-fixing bacteria under tropical nursery conditions. *Biology and Fertility of Soils*, 34: 417–426.
- Phillips, J.M. and Hayman, D.S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infections. *Transactions of the British Mycological Society*, 55: 158-161.
- Plenchette, C., Fortin, J.A. and Furlan, V. (1983). Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. I. Mycorrhizal dependency under field conditions. *Plant and Soil*, 70 : 199–209.
- Plenchette, C. (2000). Receptiveness of some tropical soils from banana fields in Martinique to the arbuscular fungus *Glomus intraradices*. *Applied Soil Ecology*, 15: 253-260.
- Reynolds, H.L., Hungate, B.A., Chapin, F.S. III, D'Antonio, C.M. (1997). Soil heterogeneity and plant competition in an annual grassland. *Ecology*, 78: 2076-2090.
- Reynolds, H.L., Packer, A., Bever, J.D. and Clay, K. (2003). Grassroots ecology: plant-microbe-soil interactions as drivers of plant community structure and dynamics. *Ecology*, 84: 2281-2291.
- Schwinning, S. and Weiner, J. (1998). Mechanisms determining the degree of size asymmetry in competition among plants. *Oecologia*, 113: 447-455.
- Sieverding, E. (1991). Vesicular arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. *Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit*, Eschborn, Germany, 371 pp.
- Smith, S. and Read, D. (1997). *Mycorrhizal symbiosis*. 2nd edition. Academic Press, London.
- Toro, M., Azcón, R. and Barea, J.M. (1997). Improvement of arbuscular mycorrhiza development by inoculation of soil with phosphate-solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability (³²P) and nutrient cycling. *Applied and Environmental Microbiology*, 63: 4408–4412.
- van der Heijden, M.G.A., J.N. Klironomos, M. Ursic, P. Moutoglis, R. Streitwolf-Engel, T. Boller, A. Wiemken, and I.R. Sanders. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity ecosystem variability and productivity. *Nature*, 396: 69-72.
- Walter, L.E.F., Hartnett, D.C., Hetrick, B.A.D. and Schwab, A.P. (1996). Interspecific nutrient transfer in a tall grass prairie plant community. *American Journal of Botany*, 83: 180-184.
- Zobel, M. and Moora, M. (1995). Interspecific competition and arbuscular mycorrhiza: importance for the co-existence of two calcareous grassland species. *Folia Geobotanica Phytotaxon*, 30: 223-230.

Table 1. Mycorrhizal dependency (%) of *Z. glochidiata* and *P. pedicellatum* in experiment 1A (plant species individually cultivated) and in experiment B (plant species dually cultivated) after 1-month culture.

Plant species	AM inoculum densities (Number of AM propagules per pot)			
	3	10	30	100
Experiment 1A				
<i>Z. glochidiata</i>	29.0 a ⁽¹⁾ A ⁽²⁾	33.2 a A	56.7 b A	68.7 c A
<i>P. pedicellatum</i>	35.4 a A	39.4 a A	70.7 b B	80.6 c B
Experiment 1B				
<i>Z. glochidiata</i>	50.0 b B	45.3 ab B	39.3 a B	38.4 a A
<i>P. pedicellatum</i>	-12.1 a A	21.9 b A	20.5 b A	26.5 b A

⁽¹⁾ For each experiment, data in the same line followed by the same small letter are not significantly different according to the PLSD Fisher test ($p < 0.05$). ⁽²⁾ For each experiment, data in the same column followed by the same capital letter are not significantly different according to the PLSD Fisher test ($p < 0.05$).

Legend

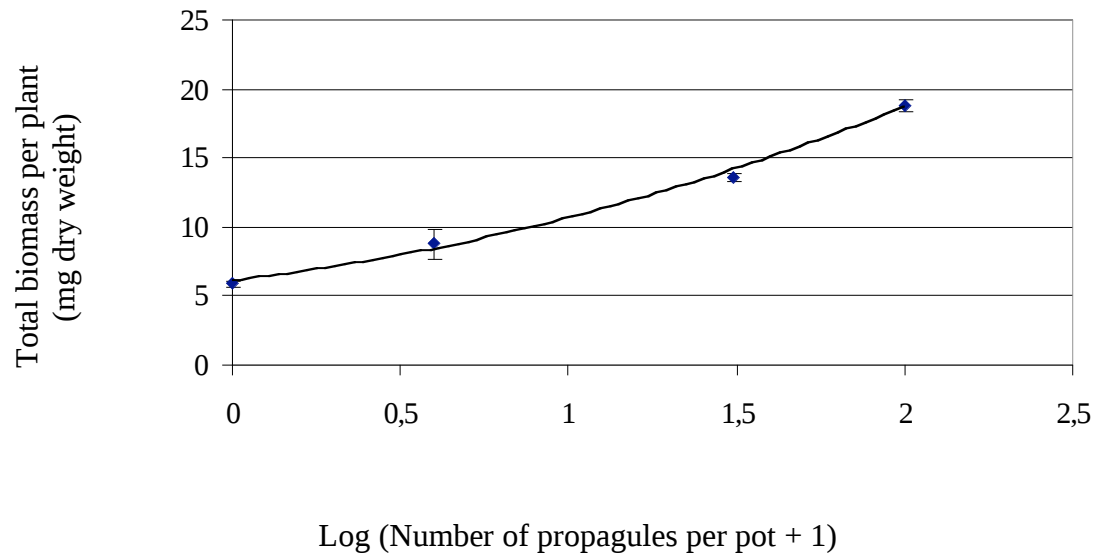
Figure 1. The effects of AM inoculum density (x-axis) on (A) total biomass per plant of *Z. glochidiata* ($y = 1.74 x^2 + 2.79 x + 6.05$, $r^2 = 0.99$; $p < 0.0001$) and on (B) total biomass per plant of *P. pedicellatum* ($y = 2.47 x^2 + 2.01 x + 3.23$, $r^2 = 0.99$; $p < 0.0001$) in the experiment 1A. Rhombs represent means ($\pm$ s.e.m.).

Figure 2. The effects of inoculum density (x-axis) on (A) total biomass per plant of *Z. glochidiata* ($y = -3.61 x^2 + 8.49 x + 6.41$, $r^2 = 0.77$; $p < 0.0001$) and on (B) total biomass per plant of *P. pedicellatum* ($y = 0.26 x^2 + 0.65 x + 4.32$, $r^2 = 0.75$; $p < 0.0001$) in the experiment 1B (co-culture experiment). Rhombs represent means ($\pm$ s.e.m.).

Figure 3. The effects of Osmocote™ granules amendments (x-axis) on (A) total biomass per plant of *Z. glochidiata* ($y = 0.57 x^2 + 6.18 x + 9.38$; $r^2 = 0.92$; $p < 0.0001$) and on (B) total biomass per plant of *P. pedicellatum* ($y = -13.9 x^2 + 23.35 x + 5.93$; $r^2 = 0.68$; $p < 0.0001$) in the experiment 2. Rhombs represent means ($\pm$ s.e.m.).

Figure 1

(A)



(B)

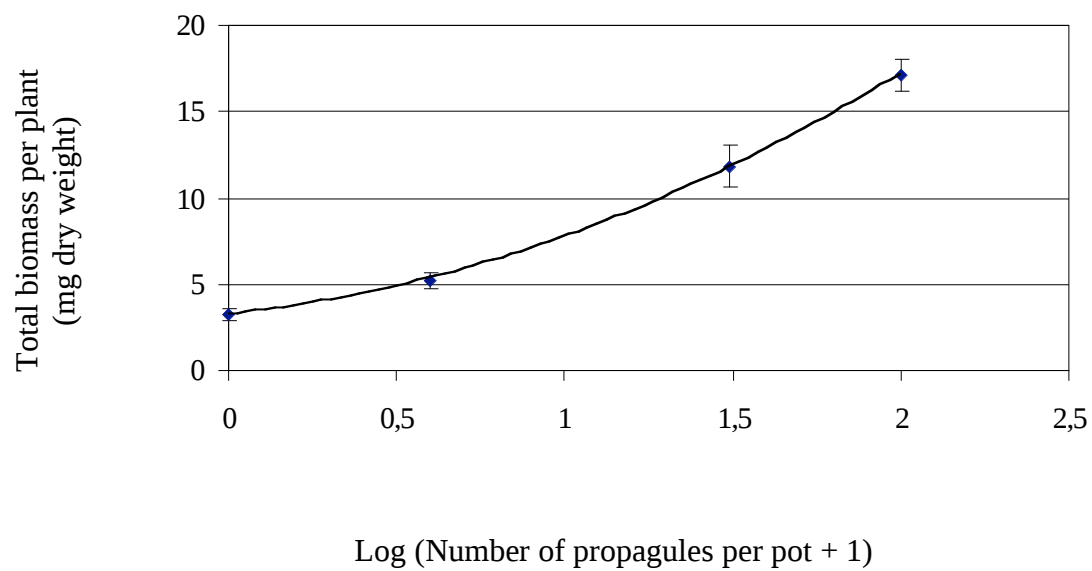
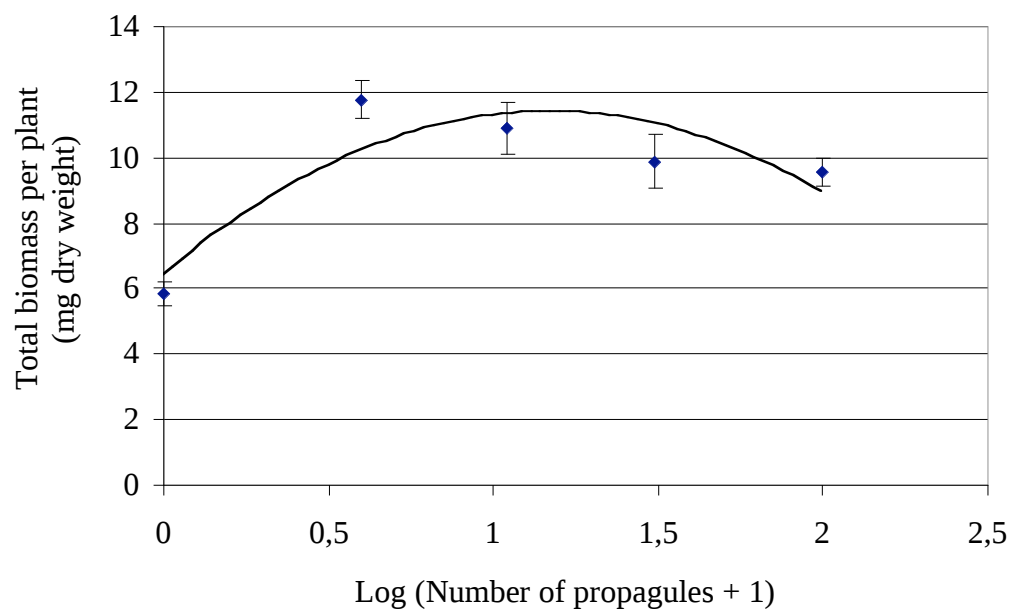


Figure 2

(A)



(B)

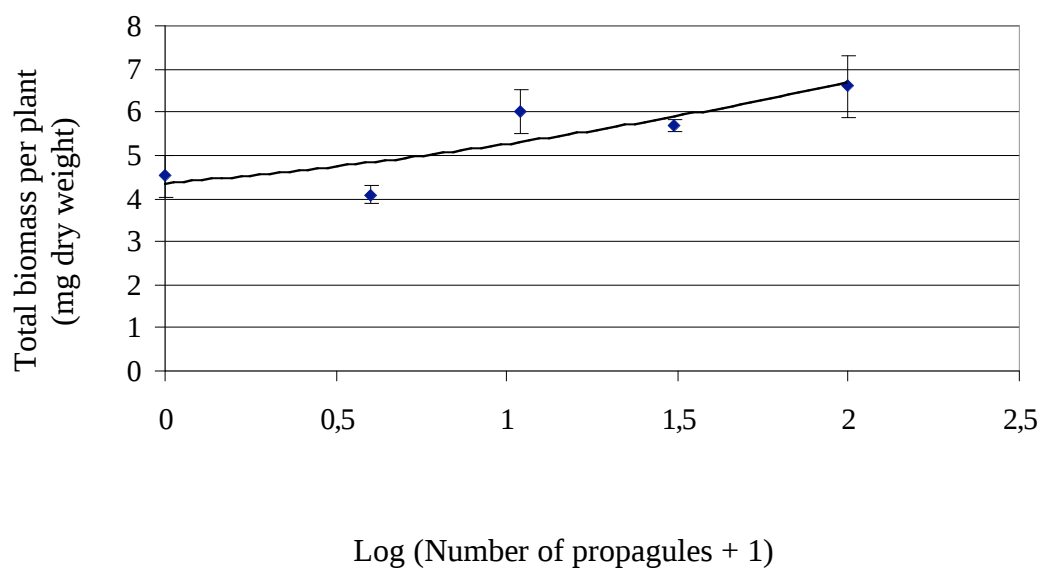
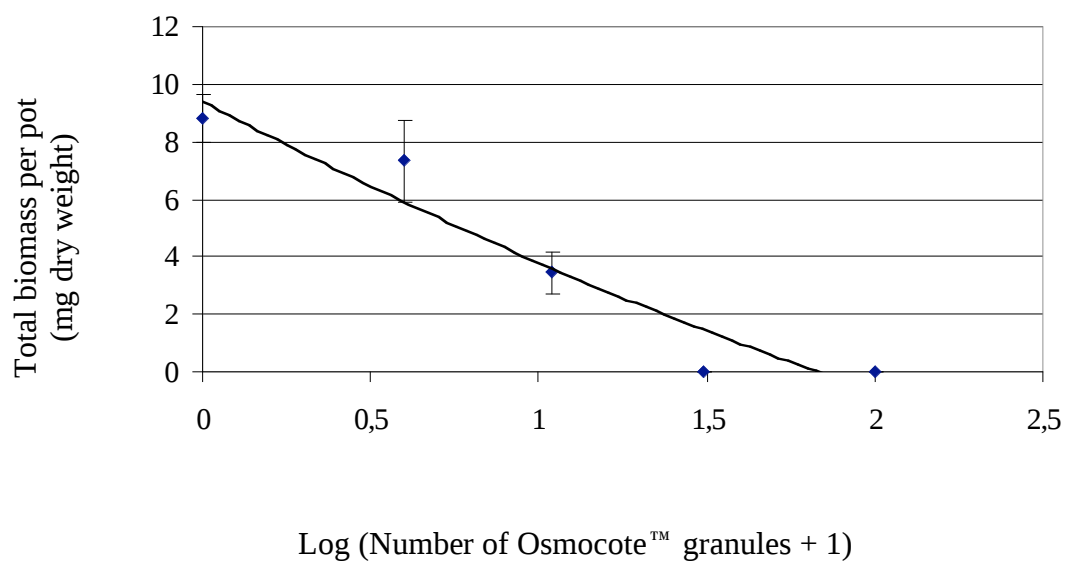
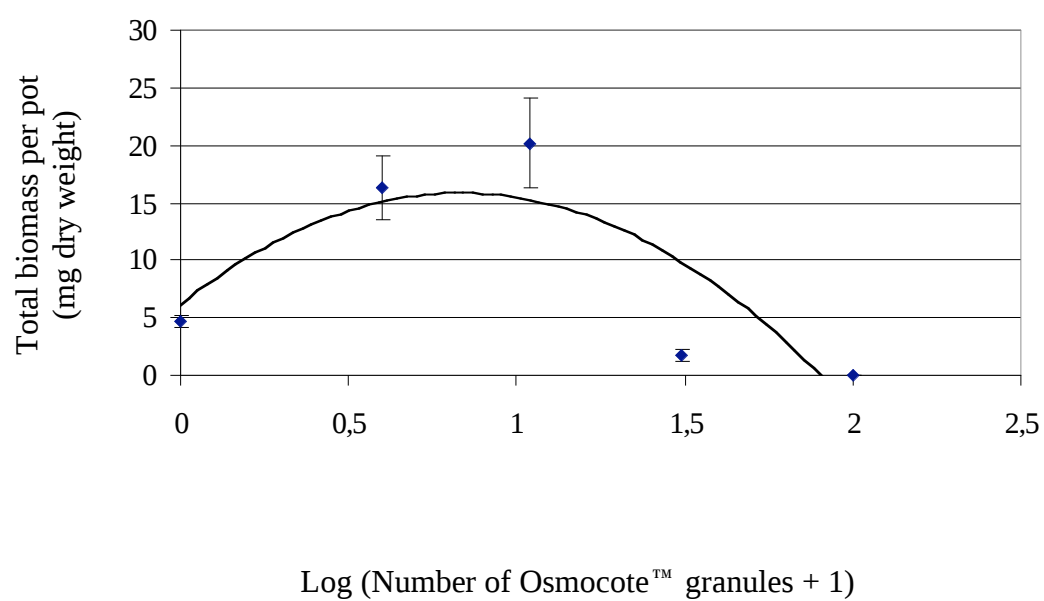


Figure 3

(A)



(B)



Partie III :

*Interactions ligneux exotiques - herbacées locales :
effets des champignons MA sur les phénomènes d'allélopathie*

4. Partie III : INTERACTIONS ENTRE LES LIGNEUX EXOTIQUES ET LES HERBACEES LOCALES : EFFETS DES CHAMPIGNONS MA SUR LES PHENOMENES D'ALLELOPATHIE

Cette partie constituée de deux articles scientifiques porte sur la mise en évidence de l'effet bénéfique des champignons MA dans l'atténuation des phénomènes d'allélopathie dus à des espèces végétales exotiques à croissance rapide, *Gmelina arborea* et *Eucalyptus camaldulensis* (largement utilisées lors des programmes de reboisement en Afrique de l'Ouest) sur les organismes endogènes (strate herbacée, communautés microbiennes telluriques) :

Article 3 :

Sanon A, Martin P, Thioulouse J, Plenchette C, Spichiger R, Lepage M, Duponnois R (2006) Displacement of an herbaceous plant species community by mycorrhizal and non-mycorrhizal *Gmelina arborea*, an exotic tree, grown in a microcosm experiment. **Mycorrhiza** 16 : 125-132.

Article 4 :

Kisa M, **Sanon A**, Thioulouse J, Assigbetse K, Sylla S, Spichiger R, Dieng L, Berthelin J, Prin Y, Galiana A, Lepage M, Duponnois R (2007) Arbuscular mycorrhizal symbiosis can counterbalance the negative influence of the exotic tree species *Eucalyptus camaldulensis* on the structure and functioning of soil microbial communities in a sahelian soil. **FEMS Microbiology Ecology** 62 : 32-44.

Il s'agit de deux expérimentations différentes et bien définies, ayant porté sur deux espèces végétales bien distinctes, dont les principaux résultats sont présentés dans une synthèse unique du fait qu'elles mettent en oeuvre la même démarche expérimentale et convergent dans la nature des résultats attendus.

4.1. Introduction

Les ligneux exotiques ont longtemps été utilisés lors des reboisements et ont occupé une part importante dans l'économie et dans les politiques environnementales des régions d'introduction. Les espèces végétales exotiques à croissance rapide, à cause de leur adaptation aux conditions peu favorables du milieu (faible pluviométrie, sols pauvres en nutriments, ...) ont été utilisées pour fournir du bois ou du fourrage, pour lutter contre l'érosion hydrique et éolienne et la désertification (Parrotta, 1993). En revanche, cette introduction et dispersion des organismes exotiques d'origine anthropique attire de plus en plus l'attention de la communauté scientifique du fait de divers impacts écologiques négatifs sur les organismes indigènes (Rejmanek, 2000 ; Callaway & Ridenour, 2004 ; Remigi *et al.*, 2008). Les plantes exotiques peuvent menacer les écosystèmes, et plus particulièrement les habitats ou les autres espèces végétales à cause (1) de leur forte croissance et leur grande capacité d'installation dans les sites d'introduction, (2) des interférences chimiques directes (effet d'allélopathie) avec les organismes indigènes influençant ainsi la structure, la composition et la dynamique de ces communautés (del Moral & Muller, 1970), et (3) des perturbations dans la capacité de résistance aux invasions et dans la résilience des écosystèmes hôtes (Levine & D'Antonio, 1999). Il a été suggéré que les plantes exotiques pouvaient modifier la composition, la structure et le fonctionnement des communautés microbiennes telluriques affectant ainsi les associations de type symbiotique (Richardson *et al.*, 2000 ; Callaway & Ridenour, 2004). Parmi les microorganismes du sol, les champignons mycorhiziens à arbuscules (champignons MA) constituent une composante clef du système sol – plante (Johansson *et al.*, 2004) car ils affectent la diversité des communautés végétales (van der Heidjen *et al.*, 1998a ; Klironomos *et al.*, 2000) et influencent les relations plante – plante (van der Heidjen *et al.*, 2003).

En Afrique au sud du Sahara, des espèces exotiques comme *Gmelina arborea* Roxb et *Eucalyptus camaldulensis*, ont largement été utilisées lors des programmes de reboisement (Ouédraogo, 1995 ; Diouf *et al.*, 2000). Ces deux espèces exotiques à croissance rapide entraînent des impacts écologiques négatifs, notamment sur la flore indigène. En effet, le développement des herbacées annuelles adjacentes aux plants de *G. arborea* ou de *E. camaldulensis* est fortement inhibé. Il a été aussi observé une baisse de la fertilité chimique, une utilisation excessive de l'eau et une acidification du sol comme conséquence de la plantation des espèces exotiques à croissance rapide (Couto & Betters, 1995). Il existe cependant peu de connaissances concernant l'influence de ces espèces végétales exotiques sur la structure et le fonctionnement des communautés microbiennes en dehors de leur zone d'origine. La possibilité que l'installation de ces espèces

exotiques puisse entraîner des perturbations dans la structure et le fonctionnement des communautés microbiennes telluriques (champignons MA et communautés bactériennes totales) n'a pas été étudiée dans les zones d'introduction.

Les deux études dont les résultats sont présentés dans cette partie avaient pour objectifs d'étudier en conditions contrôlées (i) l'impact de *G. arborea* ou de *E. camaldulensis* sur la diversité fonctionnelle des bactéries et sur les communautés de champignons MA, et (ii) l'influence de la mycorhization contrôlée de ces espèces végétales sur le “ biofonctionnement ” du sol et sur la structure de la strate herbacée sous-jacente.

4.2. Démarche expérimentale

Des plants de *Gmelina arborea* Roxb (expérience 1) ou *Eucalyptus camaldulensis* (expérience 2) ont été cultivés dans des pots de 1L contenant du sol prélevé à la station expérimentale de Kampéla (20 km de Ouagadougou, Burkina Faso) et stérilisé. Trois traitements ont été appliqués : **Témoin** (ou **Control**), **Fertilisation** (ou **FA**) : apport de 0,5 g de granules d'OsmocoteTM et **Inoculation** (ou *G. intraradices*) où les plants ont été inoculés avec des racines de poireau colonisées par le champignon endomycorhizien *Glomus intraradices*. Les pots ont ensuite été disposés en blocs randomisés en serre avec 14 répétitions par traitement et arrosés à l'eau courante sans addition ultérieure de fertilisant.

Après 4 mois de culture, 10 plants choisis au hasard ont été récoltés. La taille, les biomasses sèches des parties aériennes et racinaires, ainsi que la colonisation des systèmes racinaires par les champignons MA (Phillips & Hayman, 1970) ont été déterminées. Les quatre plants restants de chaque traitement ont été transférés dans des vases de 50L environ remplis du même sol que celui utilisé précédemment mais non stérilisé. Avant de remplir les vases, le sol a été soigneusement remué afin d'homogénéiser le stock endogène de graines des herbacées. Un quatrième traitement constitué de vases **Non Plantés** (absence d'arbre) ou **WGA** (expérience avec *G. arborea*) ou **WEC** (expérience avec *E. camaldulensis*) a été mis en place. Les vases ont ensuite été disposés en blocs randomisés à la température ambiante et les plants arrosés à l'eau courante. La culture a duré 12 mois.

À la récolte des plants, la taille, les biomasses sèches des tiges, des feuilles et des racines, et la colonisation des systèmes racinaires des arbres ont été mesurées. Les herbacées spontanées des vases ont été identifiées et pour chaque traitement, le poids des matières sèches par espèce a été mesuré. Des paramètres de diversité de la strate herbacée [richesse spécifique, indices de Simpson-

Yules ou de Shannon (Krebs, 1989)] ont par ailleurs été déterminés. Les sols contenus dans les vases ont été conservés séparément et les profils de la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes telluriques ont été établis en évaluant leur potentiel ou diversité cataboliques (*Substrate Induced Respiration, SIR*) *in situ* (Degens & Harris, 1997).

En outre, les teneurs en N et P des feuilles de *G. arborea* ont été déterminées dans l'expérience 1. Pour l'expérience 2 portant sur *E. camaldulensis*, les expérimentations ont été complétées par une analyse de la structure des communautés bactériennes du sol par la technique de PCR – DGGE [*Polymerase Chain Reaction – Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*] (Muyzer *et al.*, 1993 ; Assigbetse *et al.*, 2005) et par l'évaluation du Potentiel Infectieux Mycorrhizogène (PIM) de ces sols en mesurant la longueur des hyphes mycorrhiziens (Jakobsen & Rosendahl, 1990).

Les principaux paramètres pris en compte dans cette étude pour étudier l'impact de la mycorrhization contrôlée des deux espèces ligneuses sur le fonctionnement biologique du sol sont la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes (profils cataboliques) et la structure des communautés bactériennes totales (profils DGGE) et mycorrhiziennes (PIM).

4.3. Résultats

La croissance des ligneux et le développement de la strate herbacée sous-jacente

La fertilisation ou l'inoculation préalables des plants ont significativement amélioré la croissance des plantes aussi bien dans du sol stérilisé qu'après transplantation dans le même sol non stérilisé. Cette stimulation de la croissance se retrouve autant chez *Gmelina arborea* que chez *Eucalyptus camaldulensis*.

Après 12 mois de culture de *G. arborea* dans le sol non stérilisé (tableau 2), l'effet positif de la fertilisation et de l'inoculation est observé sur la biomasse foliaire et la biomasse totale des plants comparativement aux plantes témoins ; en revanche, les effets des traitements "Fertilisation" et "Inoculation" ne sont pas significativement différents. Les teneurs les plus élevées de N dans les feuilles sont retrouvées uniquement chez les plants fertilisés avec les granules d'Osmocote™. Les feuilles des plantes fertilisées ou inoculées avec *Glomus intraradices* contiennent significativement plus de P et de N que les témoins. Le niveau de colonisation du système racinaire de *G. arborea* par le champignon MA est significativement plus élevé chez les plantes préalablement inoculées (tableau 2).

Les biomasses aériennes et racinaires des herbacées sous jacentes suivent l'ordre suivant : Non Planté >> Inoculation > Témoin > Fertilisation (tableau 2).

Tableau 2 : Paramètres de croissance, colonisation par les champignons MA et teneurs des feuilles en P et en N des plantes de *Gmelina arborea* Roxb. fertilisées (osmocote) ou inoculées par *Glomus intraradices* après 12 mois de culture dans du sol non stérilisé. Biomasses aériennes et racinaires des herbacées récoltées dans chaque traitement (moyenne de quatre répétitions).

	Treatments			
	WGA ^a	Control	FA ^b	<i>G. intraradices</i>
Height (cm)		226.0 (31.8) ^{c d}	265.1 (7.6) a	240.4 (28.1) a
Stem biomass (g dry weight)		916 (248.5) a	1,395 (58.7) a	1,150 (60.9) a
Leaf biomass (g dry weight)		654 (32.4) a	1,300 (50.2) b	1,275 (48.1) b
Total shoot biomass (g dry weight)		1,570 (75.1) a	2,695 (86.1) b	2,425 (250) b
Root biomass (g dry weight)		520 (135.3) a	750 (22.4) a	710 (28.9) a
AM colonization		32.3 (3.4) a	25.6 (10.3) a	69.3 (9.1) b
P (mg per plant)		1.78 (0.46) a	3.56 (0.32) b	3.55 (0.28) b
N (mg per plant)		16.6 (2.35) a	30.1 (1.84) b	27.2 (9.1) ab
Above ground biomass (mg dry weight)	65.9 (3.6) c	12.1 (6.1) ab	1.64 (0.46) a	16.8 (1.56) b
Below ground biomass (mg dry weight)	18.2 (2.3) c	2.8 (1.3) ab	0.5 (0.27) a	3.6 (0.63) b

^aWithout *G. arborea* seedlings

^bPre-planting fertilizer application

^cStandard error of the mean

^dData in the same line followed by the same letter are not significantly different according to the one-way analysis of variance (P<0.05)

La richesse spécifique de ces herbacées (tableau 3) varie de 7,8 (traitement Non Planté) à 2,8 (traitement fertilisé) et l'indice de Simpson-Yules est significativement plus élevé dans les traitements non planté et inoculé par rapport aux témoins et aux plants fertilisés. La richesse catabolique est significativement élevée dans les sols du traitement fertilisé comparée aux sols des pots non plantés, alors que l'équitabilité catabolique est plus élevée chez les plants témoins ou fertilisés (tableau 3).

Tableau 3 : Effets des traitements sur la richesse spécifique de la strate herbacée, indice de Simpson-Yules, richesse et équitabilité cataboliques après 12 mois de culture de *Gmelina arborea* Roxb. dans du sol non stérilisé

	Treatments			
	WGA ^a	Control	FA	<i>G. intraradices</i>
Plant species richness	7.8 (0.66) ^{b c}	3.0 (1.15) ab	2.8 (0.74) a	5.7 (0.33) bc
Simpson-Yules diversity index	3.46 (0.29) b	1.62 (0.31) a	1.69 (0.31) a	3.16 (0.26) b
Catabolic richness	24.8 (1.43) a	28.3 (0.67) ab	30.8 (1.16) b	28.1 (2.89) ab
Catabolic evenness	12.7 (0.79) a	15.4 (0.32) b	15.4 (0.51) b	14.4 (0.46) ab

^aWithout *G. arborea* seedlings

^bStandard error of the mean

^cData in the same line followed by the same letter are not significantly different according to the one-way analysis of variance (P<0.05)

Analyse de la structure et de la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes du sol

Les profils DGGE des gènes 16S ARNr des communautés totales bactériennes des sols des traitements Témoin, Fertilisation, Inoculation et Non Planté par *Eucalyptus camaldulensis* sont présentés dans la figure 11. Des bandes d'intensités variables résultant de différences entre les séquences 16S ARNr de groupes bactériens différents sont mises en évidence, traduisant des modifications dans la structure des communautés bactériennes totales des sols. Néanmoins, l'observation des bandes des profils obtenus à partir des sols des différents traitements indique la présence de la plupart des bandes dans les quatre traitements, suggérant une communauté bactérienne commune à l'ensemble des traitements. Les sols récoltés des traitements "Témoin" et "Fertilisation" présentent des profils DGGE relativement proches tandis que les profils des sols avec "Inoculation" de *G. intraradices* ou "Non Planté" se rapprochent le plus (figure 11).

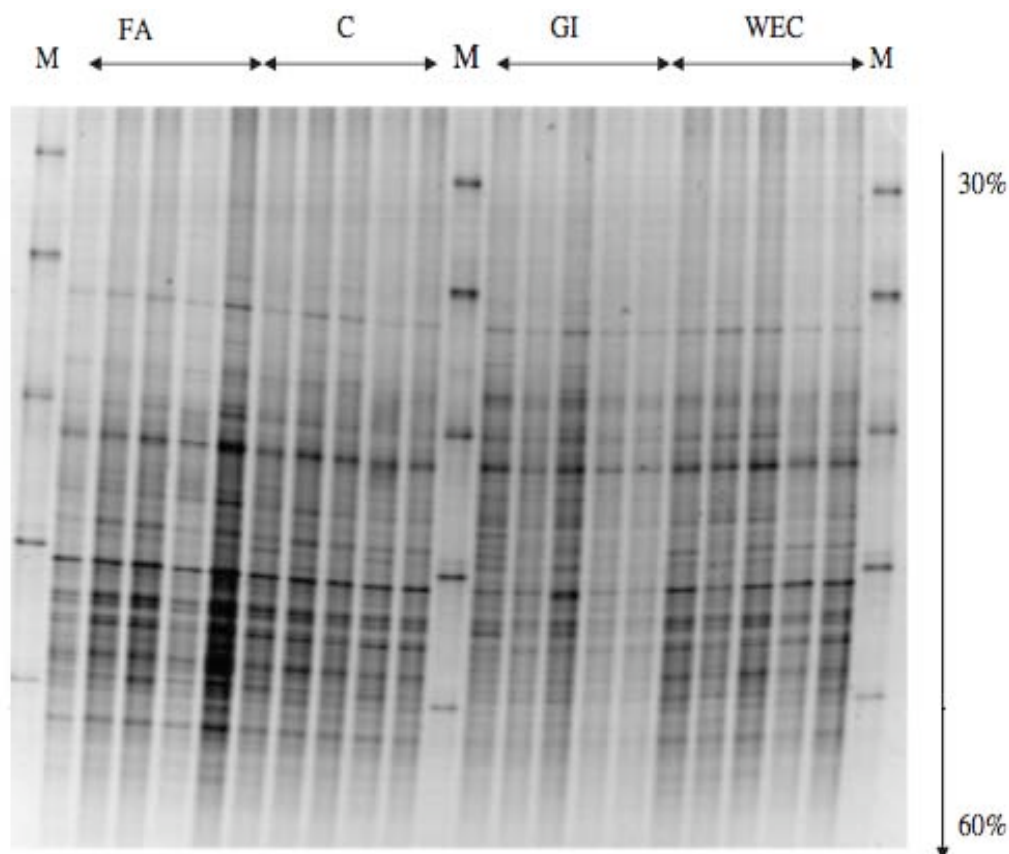


Figure 11 : Profil DGGE des séquences 16S ARNr des communautés bactériennes totales des sols sous *Eucalyptus camaldulensis* avec les traitements Fertilisation (FA), Témoin (C), Inoculation avec *Glomus intraradices* (GI) et Non Planté (WEC). Migration réalisée sur un gel acrylamide à 8%. Les valeurs en pourcentage indiquent le pourcentage de dénaturant à chaque position. M = marqueur de poids.

Le dendrogramme de l'analyse hiérarchique des résultats de la DGGE des différents traitements est présenté à la figure 12. L'analyse met en évidence quatre principaux clusters regroupés en deux branches. Ces résultats indiquent par ailleurs que la structure des communautés

bactériennes totales des sols du traitement avec inoculation de *G. intraradices* et celle du traitement "Non Planté" apparaissent reliées alors que les sols des cultures témoins (plantés par *G. arborea* sans traitement préalable) et celles préalablement fertilisées sont regroupés sur la même branche (figure 12).

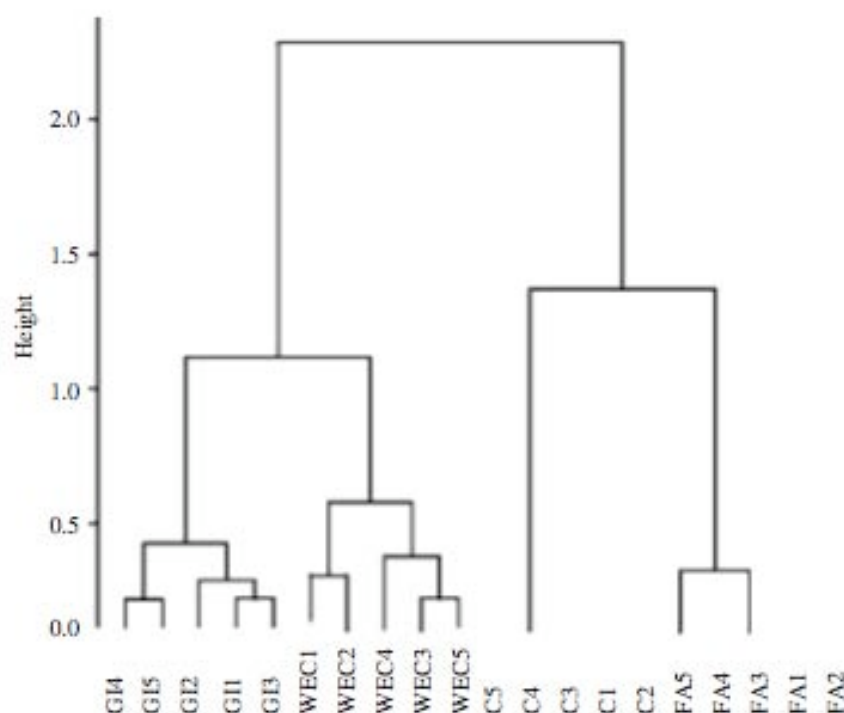


Figure 12 : Similarités entre les profils de la PCR-DGGE des communautés bactériennes totales des sols de chaque traitement appliqué à *Eucalyptus camaldulensis*: Fertilisation (FA), Témoin (C), Inoculation avec *Glomus intraradices* (GI) et Non Planté (WEC).

Le test de permutation (Between Group Analysis, BGA) montre que les communautés microbiennes des quatre traitements ont des profils cataboliques très différents ($P < 0,001$). Ces traitements sont bien séparés (figure 13) avec le sol Non Planté à gauche du plan factoriel, le traitement fertilisé à la partie supérieure droite de la figure, les sols inoculés au centre et les sols témoins à la partie inférieure droite. Des différences sont également notées au niveau des substrats préférentiellement catabolisés par les microorganismes des quatre types de sol : acide tartrique et cystéine préférentiellement catabolisés par les microorganismes du sol du traitement Témoin, acide kétoglutarique pour les communautés microbiennes du traitement Fertilisé et arginine et tyrosine pour le traitement non planté (figure 13).

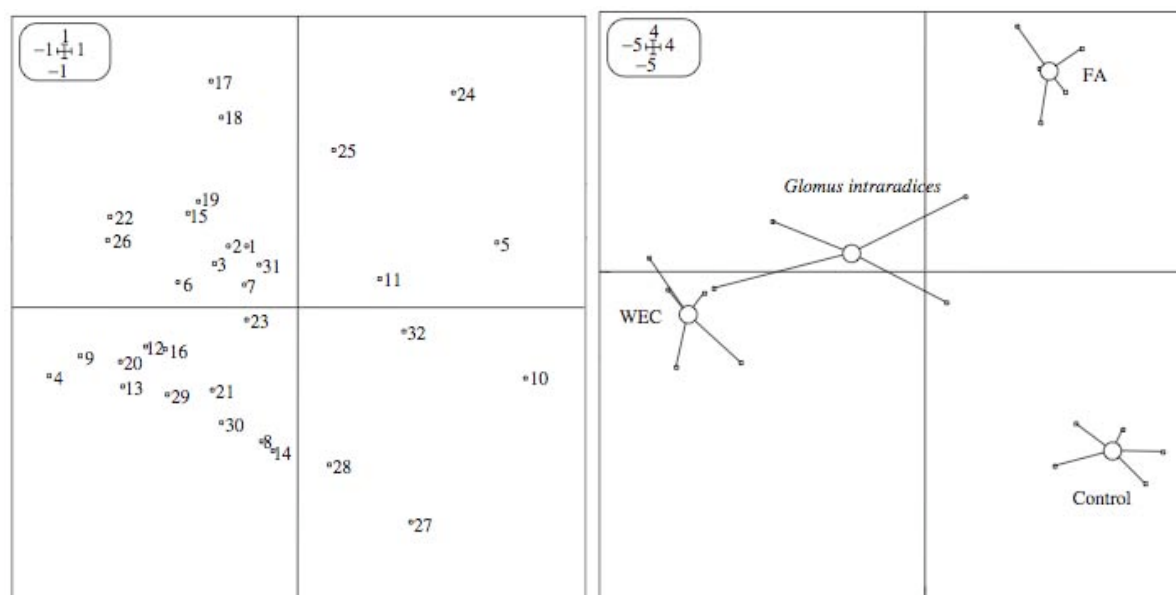


Figure 13 : Plans factoriels des profils cataboliques des sols des différents traitements appliqués à *Eucalyptus camaldulensis* : Fertilisation (FA) et Non Planté (WEC).

1 : L-phenylalanine ; 2 : L-glutamine ; 3 : L-serine ; 4 : L-arginine ; 5 : L-asparagine ; 6 : L-histidine ; 7 : L-lysine ; 8 : L-acide glutamique ; 9 : L-tyrosine ; 10 : L-cysteine ; 11 : D-glucose ; 12 : D-mannose ; 13 : sucrose ; 14 : D-glucosamine ; 15 : N-methyl-D-glucamine ; 16 : succinamide ; 17 : acide ascorbique ; 18 : acide citrique ; 19 : acide fumarique ; 20 : acide gluconique ; 21 : acide quinique ; 22 : acide malonique ; 23 : acide formique ; 24 : acide α -ketoglutarique ; 25 : acide α -ketobutyrique ; 26 : acide succinique ; 27 : acide tartrique ; 28 : acide urique ; 29 : acide oxalique ; 30 : acide gallique ; 31 : acide malique ; 32 : acide DL- α -hydroxy-butyrique.

4.4. Discussion

Les résultats obtenus de nos deux études montrent clairement que les plantes exotiques (*G. arborea* et *E. camaldulensis*) peuvent significativement modifier les communautés microbiennes des sols. La structure (profils DGGE) et la diversité fonctionnelle (profils cataboliques) des communautés bactériennes sont toutes affectées. La diversité fonctionnelle des communautés microbiennes concerne de nombreuses activités notamment de transformation, décomposition de composés organiques et minéraux, stimulation de la croissance des plantes et des propriétés chimiques et physiques du sol (Wardle *et al.*, 1999). Elle est évaluée par la définition des profils cataboliques essentiellement impliquées dans les activités de décomposition (Degens *et al.*, 2000). Les résultats que nous avons obtenus suggèrent que *G. arborea* et *E. camaldulensis* affectent cette diversité catabolique en réduisant, en éliminant ou en inhibant certaines composantes des communautés microbiennes impliquées dans les processus de décomposition des substrats organiques testés.

De ces deux études, il ressort également que l'inoculation préalable par le champignon endomycorhizien *Glomus intraradices* stimule significativement la croissance de *Gmelina arborea* Roxb. et de *Eucalyptus camaldulensis* cultivés sur sol stérilisé, et que cette stimulation se maintenait après 12 mois de culture dans le même sol mais non stérilisé. Ces résultats concordent avec d'autres études qui ont préalablement montré que cette souche fongique (*G. intraradices*) favorisait la croissance de plantes aussi bien natives qu'exotiques de l'Afrique de l'Ouest (Villénave *et al.*, 2003 ; Duponnois & Plenchette, 2003). L'une des fonctions majeures de la symbiose mycorhizienne est l'amélioration de la nutrition phosphatée des plantes (Smith & Read, 1997) et le phosphore constitue l'élément nutritif limitant le plus la productivité de la plupart des écosystèmes végétaux sous les Tropiques (Bationo *et al.*, 1986). Les résultats obtenus de ces expérimentations indiquent une nette amélioration de l'acquisition de cet élément (P) par les plants inoculés et qui se retrouve dans les feuilles des arbres.

Par ailleurs, l'étude sur *E. camaldulensis* montre que l'inoculation mycorhizienne tend à restaurer le fonctionnement du sol à sa situation initiale avant perturbation (état des vases non plantés), avec des structures de communautés bactériennes similaires, une équitabilité catabolique et un potentiel mycorhizien plus élevés dans les sols de ces deux traitements (traitements inoculé et non planté). Les champignons MA modifient l'exsudation racinaire (Grayston *et al.*, 1996), influencent le métabolisme des hydrates de carbone (Shachar-Hill *et al.*, 1995), la nature et le fonctionnement des communautés microbiennes rhizosphériques de la plante hôte (Johansson *et al.*, 2004). En outre, les hyphes mycorhiziens peuvent sans doute libérer dans la mycorhizosphère des composés qui ont un effet sélectif sur les autres microorganismes (Andrade *et al.*, 1998b). Des résultats de l'expérimentation avec *E. camaldulensis*, il ressort que l'effet de l'inoculation par le champignon MA sur la composition et le fonctionnement des communautés bactériennes du sol n'est pas dépendant de la croissance du système racinaire des plantes, mais plutôt de la présence du champignon mycorhizien et plus particulièrement de la présence du réseau mycélien extramatriciel plus dense. Ces changements dans les communautés microbiennes telluriques sont accompagnés de modifications de la composition de la strate herbacée sous-jacente. En effet, les résultats indiquent que le développement des herbacées est inhibé en présence des ligneux exotiques (*G. arborea* et *E. camaldulensis*), et plus particulièrement lorsqu'ils ne sont pas inoculés, et que cet effet négatif est corrélé à la croissance racinaire de l'arbre. Il est souvent observé que certaines espèces végétales co-existent avec d'autres pour former des communautés plurispécifiques dans leur zone d'origine mais qu'elles éliminent les espèces voisines après leur introduction dans des habitats hôtes. La production de substances allélopathiques constitue l'une des hypothèses avancées pour expliquer le succès des plantes exotiques invasives (Callaway & Aschehoug, 2000). Des auteurs ont suggéré que

les champignons MA étaient susceptibles de promouvoir la co-existence entre espèces végétales (Janos, 1980 ; van der Heidjen et al., 1998a) en constatant que l'augmentation de la longueur des hyphes dans le sol conduisait à une plus grande diversité végétale et à une productivité plus élevée de l'écosystème (van der Heidjen *et al.*, 1998a). Cet effet positif pourrait résulter de la présence d'un réseau mycélien bien développé qui assurerait une uniformisation des ressources nutritives entre les espèces végétales dominantes et celles qui le sont moins (Wirsel, 2004). Les microorganismes peuvent aussi agir sur les substances allélopathiques, en les inactivant ou en les dégradant. Les champignons MA et les communautés microbiennes mycorrhizosphériques qui leur sont associées pourraient ainsi protéger les herbacées des substances toxiques libérées par les ligneux exotiques (Pellissier & Souto, 1999 ; Blum *et al.*, 2000).

4.5. Conclusion

Les résultats de ces deux expériences montrent que les deux plantes exotiques étudiées (*G. arborea* ou *E. camaldulensis*) peuvent profondément affecter les communautés microbiennes telluriques en modifiant aussi bien leur structure que leur diversité fonctionnelle. A ces modifications sont significativement associées l'effet antagoniste de ces mêmes ligneux sur la strate herbacée. Cet effet négatif est modifié lorsque ces arbres sont préalablement inoculés par des champignons MA. Ces résultats soulignent ainsi l'importance des réseaux mycéliens des champignons MA dans les interactions microbiennes au niveau du sol et dans la structuration des écosystèmes.

Pour valider ces résultats, il apparaît nécessaire de réaliser des expérimentations en milieu naturel pour étudier l'implication des champignons MA dans les interactions entre les espèces végétales, particulièrement entre les espèces exotiques et natives. Il apparaît aussi important de réaliser ces études dans différents écosystèmes, étant donné que l'influence des champignons MA est probablement affectée par les conditions biotiques et abiotiques du milieu.

Arsene Sanon · Pascal Martin · Jean Thioulouse ·
Christian Plenchette · Rodolphe Spichiger ·
Michel Lepage · Robin Duponnois

Displacement of an herbaceous plant species community by mycorrhizal and non-mycorrhizal *Gmelina arborea*, an exotic tree, grown in a microcosm experiment

Received: 24 February 2005 / Accepted: 26 September 2005 / Published online: 19 November 2005
© Springer-Verlag 2005

Abstract *Gmelina arborea* Roxb. (*Gmelina*, Yemane) is a fast growing tree, native from India and considered as a potentially invasive woody plant in West Africa. Mycorrhizal inoculation of seedlings with *Glomus intraradices* was performed to study (1) the effect on the growth of *G. arborea*, (2) the impact on the catabolic diversity of soil microbial communities and (3) the influence on the structure of herbaceous plant species communities in microcosms. Treatments consisted of control plants, pre-planting fertilizer application and arbuscular mycorrhizal (AM) inoculation. After 4 months' culture in autoclaved soil, *G. arborea* seedlings were either harvested for growth measurement or transferred into containers filled with the same soil but not sterilized. Other containers were kept without

G. arborea seedlings. After 12 months' further culture, effects of fertilizer amendment and AM inoculation on the growth of *G. arborea* seedlings were recorded. AM colonization was significantly and positively correlated with plant diversity. The substrate-induced respiration response to carboxylic acids was significantly higher in the absence of *G. arborea* and in the presence of *G. intraradices* as compared to the other treatments. The influence of AM symbiosis on plant coexistence and on allelopathic processes of invasive plants are discussed.

Keywords AMF · Plant diversity · Catabolic diversity · *Glomus intraradices* · *Gmelina arborea*

A. Sanon · R. Duponnois
IRD, UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/AGRO-M/UM2,
Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes
(LSTM), TA10/J, Campus International de Baillarguet,
34398 Montpellier, France

P. Martin · R. Spichiger
Conservatoire et Jardin botaniques de Geneve,
1 Ch de l'impératrice,
P.O. Box 60, 1292 Geneva, Switzerland

J. Thioulouse
Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive,
CNRS UMR 5558, Université Lyon 1,
69622 Villeurbanne Cedex, France

C. Plenchette (✉)
INRA, UMR BGA,
17 Rue Sully,
21000 Dijon, France
e-mail: christian.plenchette@dijon.inra.fr
Tel.: +33-3-80693032
Fax: +33-3-80693262

M. Lepage
IRD, Unité de Recherche IBIS (Interactions Biologiques dans
les sols des systèmes anthropisés tropicaux),
01 BP182 Ouagadougou, Burkina Faso

Introduction

The biological processes by which plant biodiversity and species composition are regulated and maintained in terrestrial ecosystems could be explained from competition between neighbouring plants (Aarssen 1990; Grace and Tilman 1990), spatial and temporal resource partitioning (Ricklefs 1977; Tilman 1982), disturbance creating new patches for plant colonization (Grubb 1977; Huston 1977) and interactions with other organisms in the ecosystems (Brown and Gange 1989; Bever et al. 1997). The relationship between diversity and ecosystem functioning has generally been assessed by taking into account diversity, structure and productivity of the above-ground compartment of terrestrial ecosystems. However, plant population dynamics may be associated with the development of the below-ground community. It has been suggested that the composition and activity of microbial communities are mainly determined by plant factors such as species composition and formation age (Grayston and Campbell 1996; Westover et al. 1997; Priha et al. 1999; Grayston et al. 2001) as well as various environmental factors such as soil type, nutrient status, pH and moisture (Anderson and Domsch 1993; Stotzky 1997). In turn, feedback processes have also been proposed to consider the

influence of soil micro-organisms on the composition of plant community (Callaway 1995; van der Heijden et al. 1998; Bever 2002).

Among soil microbial communities, arbuscular mycorrhizal (AM) fungi form a key component of sustainable soil-plant systems (Bethlenfalvay 1992; van der Heijden et al. 1998; Schreiner et al. 2003; Johansson et al. 2004; Selosse et al. 2004). For instance, van der Heijden et al. (1998) have shown that plant species composition, variability, productivity and biodiversity were mainly influenced by species composition and species richness of AM fungi in artificial microcosms and macrocosms. In natural undisturbed ecosystems, AM fungi form a permanent external mycelium network and plants are linked by a common hyphal network that helps them to access and exploit the nutrient-rich zone or patches (Chiarello et al. 1982; St John et al. 1983; Ravnskov et al. 1999). In addition, AM symbiosis establishment may induce changes in both qualitative and quantitative release of exudates by the roots (Graham et al. 1981; Azaizah et al. 1995). Moreover, some plant species may exude secondary compounds from their roots that are detrimental to the growth of other plants (Whittaker and Feeny 1971). This phenomenon called allelopathy has been suggested as a mechanism that contributes to the success of particular exotic species to become dominant in invaded plant communities (Vaughn and Berhow 1999; Ridenour and Callaway 2001). However, little attention has been paid to the effects of the AM symbiosis on the interactions among plants.

The aims of our experiments were (1) to study the effect of *Glomus intraradices* on the growth of *Gmelina arborea*, a fast growing tree, native to India and a potentially invasive woody plant in West Africa; (2) to study the impact of the AM symbiosis on the catabolic diversity of soil microbial communities and (3) to study its influence on the structure of herbaceous plant species communities, in artificial microcosms.

Materials and methods

Plant and fungal inoculum

Seeds of *G. arborea* Roxb. (Provenance Peni, Burkina Faso) were surface-sterilized with concentrated sulphuric acid (36 N) for 10 min. The acid solution was then decanted off, and the seeds were rinsed and imbibed for 24 h in sterile distilled water (120°C, 20 min). They were then transferred aseptically in Petri dishes filled with 1% (w/v) water agar. After 8 days of incubation in the dark at 25°C, the germinating seeds were used when rootlets were 2–3 cm long.

G. intraradices Schenk & Smith (DAOM 181602, Ottawa Agricultural Herbarium) was multiplied on leek (*Allium porrum* L.) for 12 weeks under greenhouse conditions on a calcined clay (particle size average 5 mm), Oil-Dri US-special Ty/IIIR (Oil-Dri Company, Chicago, USA) suitable for propagation of AM fungi (Plenchette et al. 1996). Before inoculation of the *G. arborea* seedlings, the

leek plants were uprooted, gently washed and cut into infected pieces 0.5 cm long (around 250 vesicles cm⁻¹). Non-mycorrhizal leek roots, prepared as described previously, were used for the control treatment without AM inoculation.

Experimental design

G. arborea seedlings were grown in 1-l pots filled with an autoclaved sandy soil (140°C, 40 min) collected in an experimental station localized at Gampela (20 km from Ouagadougou, Burkina Faso). After autoclaving, the physico-chemical characteristics of the soil were as follows: pH (H₂O) 5.6, clay 4.6%, fine silt 0.0%, coarse silt 0.8%, fine sand 25.5%, coarse sand 69.1%, carbon 2.04%, total nitrogen 0.04%, Olsen phosphorus 4.3 mg kg⁻¹, total phosphorus 116 mg kg⁻¹.

Control, pre-planting fertilizer application (FA) and AM inoculation treatments were carried out. For AM inoculation, 1 g fresh mycorrhizal leek roots was placed in a hole (1×5 cm) in the soil of each pot. Non-mycorrhizal leek roots were introduced into control and FA treatments. The FA treatment was performed by mixing 0.5 g Osmocote (N/P/K, 11:8:17) into the soil of each pot. Pots were kept in a greenhouse in the IRD experimental station of Ouagadougou (Burkina Faso) (daylight, approximately 12 h, daily mean temperature 25°C) and were watered regularly with tap water (pH=6.5) without fertilizer. They were arranged in a randomised complete block design with 14 replicates per treatment.

After 4 months' culture, ten plants were randomly chosen from each treatment. Height was measured, and shoot dry biomass was determined after drying at 60°C for 1 week. For each plant, the entire root system was gently washed, cleared and stained according to the method of Phillips and Hayman (1970). Roots were cut into 1-cm pieces, mixed and placed on slides for microscopic observations at 250× magnification (Brundett et al. 1985). About 100 root pieces were observed per plant. The extent of AM colonization was expressed as a percentage mycorrhizal root pieces. Then, for each plant, the stained roots were collected and weighed (60°C, 1 week).

For each treatment, the remaining four plants were transferred into 50-l containers filled with the same soil as before but not disinfected and carefully mixed to ensure the homogeneity of the seed bank in the soil. Four other containers, prepared as describe previously, were kept without *G. arborea* seedlings (WGA). The pots were arranged in a complete randomised block design. They were placed outside in the IRD experimental station of Ouagadougou (Burkina Faso), in a clean area without any solar protection and grown at ambient temperature from 15 to 40°C with daily watering.

After 12 months' culture, the height of the *G. arborea* trees was measured. Herbaceous plant species naturally growing in each pot were identified, and for each species, shoot biomass was determined (60°C, 1 week). Plant biodiversity was assessed using species richness (S) and

Table 1 Organic compounds and their appropriate concentrations used to assess patterns of ISCP of soil treatments

Organic substrates	Concentrations (mM)	Organic substrates	Concentrations (mM)
Amino acids		Carboxylic acids	
L-Phenylalanine	15	Ascorbic acid	100
L-Glutamine	15	Citric acid	100
L-Serine	15	Fumaric acid	100
L-Arginine	15	Gluconic acid	100
L-Asparagine	15	Quinic acid	100
L-Histidine	15	Malonic acid	100
L-Lysine	15	Formic acid	100
L-Glutamic acid	15	α -Ketoglutaric acid	100
L-Tyrosine	15	α -Ketobutyric acid	100
L-Cysteine	15	Succinic acid	100
Carbohydrates		Tartaric acid	100
D-Glucose	75	Uric acid	100
D-Mannose	75	Oxalic acid	100
Sucrose	75	Gallic acid	100
Amides		Malic acid	100
D-Glucosamine	15	Tri-citrate	100
N-methyl-D-glucamine	15	DL- α -Hydroxybutyric acid	100
Succinamide	15	Polymers	
		Cyclohexane	100

Simpson–Yule’s diversity index (Krebs 1989) on individual species shoot biomass data. Total below-ground herbaceous plant biomass was determined in each pot. The leaves and the stems of each *G. arborea* plant were divided, and their oven-dried weights (2 weeks at 60°C) were assessed. After drying, 1 g of leaf tissue from each plant was ground, ashed (500°C), digested in 2 ml HCl 6N and 10 ml HNO₃ N and then analysed by colorimetry for P (John, 1970). Another 1 g sub-sample of leaf tissue was ground and digested in 15 ml H₂SO₄ 36N containing 50 g l⁻¹ salicylic acid for N (Kjeldahl) determination. The *G. arborea* trees were up-

Table 3 Growth response, AM colonization and on-leaf mineral content of *G. arborea* seedlings grown soils inoculated with *G. intraradices* or fertilized after 12 months’ culture in a non-disinfected soil and above- and below-ground biomasses recorded from each treatment (means of four replicates)

	Treatments			
	WGA ^a	Control	FA ^b	<i>G. intraradices</i>
Height (cm)		226.0 (31.8) ^c a ^d	265.1 (7.6) a	240.4 (28.1) a
Stem biomass (g dry weight)		916 (248.5) a	1,395 (58.7) a	1,150 (60.9) a
Leaf biomass (g dry weight)		654 (32.4) a	1,300 (50.2) b	1,275 (48.1) b
Total shoot biomass (g dry weight)		1,570 (75.1) a	2,695 (86.1) b	2,425 (250) b
Root biomass (g dry weight)		520 (135.3) a	750 (22.4) a	710 (28.9) a
AM colonization		32.3 (3.4) a	25.6 (10.3) a	69.3 (9.1) b
P (mg per plant)		1.78 (0.46) a	3.56 (0.32) b	3.55 (0.28) b
N (mg per plant)		16.6 (2.35) a	30.1 (1.84) b	27.2 (9.1) ab
Above ground biomass (mg dry weight)	65.9 (3.6) c	12.1 (6.1) ab	1.64 (0.46) a	16.8 (1.56) b
Below ground biomass (mg dry weight)	18.2 (2.3) c	2.8 (1.3) ab	0.5 (0.27) a	3.6 (0.63) b

^aWithout *G. arborea* seedlings

^bPre-planting fertilizer application

^cStandard error of the mean

^dData in the same line followed by the same letter are not significantly different according to the one-way analysis of variance ($P < 0.05$)

rooted, and their root systems were gently washed. Two grams of fresh root was randomly sampled along the root systems of *G. arborea*, and the intensity of AM symbiosis was determined as described before. Then the roots were oven-dried (1 week, 65°C) and weighed.

Table 2 Growth response of *G. arborea* seedlings and AM colonization in soils inoculated with *G. intraradices* or fertilized after 4 months’ culture in a disinfected soil (means of ten replicates)

Treatments	Height	Shoot biomass (mg dry weight)	Root biomass (mg dry weight)	AM colonization (%)
Control	22.7 (1.8) ^b a ^c	876 (28.9) a	330 (12.7) a	0
FA ^a	36.1 (2.1) b	1,540 (53.8) b	760 (20.6) b	0
<i>G. intraradices</i>	34.2 (2.37) b	1,573 (66.5) b	890 (53.2) b	22.2 (3.1)

^aPre-planting fertilizer application

^bStandard error of the mean

^cData in the same column followed by the same letter are not significantly different according to the one-way analysis of variance ($P < 0.05$)

The soil collected from each pot was carefully mixed, and 2 kg sub-samples were taken and kept at 4°C for further analysis.

Catabolic diversity of microbial communities in soil treatments

Patterns of in situ catabolic potential (ISCP) of microbial communities were determined to provide microbial functional diversity in soil treatments (Degens and Harris 1997). A range of amino acids, carbohydrates, organic acids and amides, were screened for differences in substrate-induced respiration (SIR) responsiveness between soil treatments (Table 1). The substrate concentrations providing optimum SIR responses were indicated in Table 2 (Degens and Harris 1997). One gram of equivalent dry weight soil was added to 2 ml substrate solution (West and Sparling, 1986) in 10-ml bottles. CO₂ production from basal respiratory activity in the soil samples was also determined by adding 2 ml sterile distilled water to 1 g equivalent dry weight of soil. The bottles were immediately closed after the addition of the substrate solutions to soil samples and kept at 28°C for 4 h. CO₂ fluxes from the soils were measured using an infrared gas analyser (IRGA) (Polytron IR CO₂, Dräger) in combination with a thermal flow meter (Heinemeyer et al. 1989). Results were expressed as µg CO₂ g⁻¹ soil h⁻¹. Catabolic diversity was assessed using catabolic richness and catabolic evenness. Catabolic richness, R, represented the number of substrates used by micro-organisms in each soil treatment. Catabolic evenness, E, (variability of substrate used among the range of substrates tested) was calculated using the Simpson–Yule's index, $E=1/\sum p_i^2$, with p_i =respiration response to individual substrates/total respiration

activity induced by all substrates for a soil treatment (Magurran 1988).

Statistical analysis

All data were subjected to a one-way analysis of variance using the Super Anova Computer program, and means were compared with the Newman–Keuls multiple range test ($P=0.05$). Mycorrhizal indexes were transformed by arcsin (sqrt %) before statistical analysis.

Results

After 4 months' culture in the disinfected soil, the pre-planting fertilizer application significantly increased the growth of *G. arborea* seedlings (Table 2) by ×1.50, ×1.76 and ×2.31 for height, shoot and root dry weight, respectively, compared to the controls. There was no significant difference between the FA and *G. intraradices* treatments (Table 2). AM structures (vesicles and hyphae) were observed in the latter treatment, but no AM structure was recorded in the FA and the control treatments.

After 12 months' further culture in non-disinfected soil, the positive effects of the fertilizer amendment and AM inoculation were only recorded on the leaves and the total shoot biomasses, whereas no significant difference was found for the height, the stem and root biomasses compared to the control (Table 3). The growth of *G. arborea* seedlings was not significantly different in the FA and *G. intraradices* treatments. Highest nitrogen leaf content was recorded for the FA treatment, whereas highest P leaf contents were found for FA and *G. intraradices* treatments (Table 3). AM

Table 4 Above-ground biomass (mg dry weight) of individual plant species recorded in each treatment after 12 months' culture in a non-disinfected soil

Plant species	Families	Treatments			
		WGA ^a	Control	FA ^b	<i>G. intraradices</i>
<i>Alysicarpus ovalifolius</i> (Schumach. & Thonn)	Fabaceae	0 a ^c	0 a	80 (80) ^d a	0 a
<i>Cassia obtusifolia</i> L.	Caesalpinaceae	0 a	0 a	40 (40) a	0 a
<i>Commelina subulata</i> Roth	Commelinaceae	560 (49) a	0 a	0 a	433 (30) a
<i>Cyperus rotundus</i> L.	Cyperaceae	7,700 (3,917) a	6,767 (4,548) a	840 (241) a	6,000 (1,769) a
<i>Dactyloctenium aegyptium</i> (L.) Willd	Poaceae	4,640 (2,367) b	267 (267) ab	0 a	233 (233) ab
<i>Digitaria horizontalis</i> Willd	Poaceae	20,100 (5,897) b	0 a	40 (40) a	4,000 (1,337) a
<i>Euphorbia forskalii</i> Gay	Euphorbiaceae	160 (81) a	0 a	0 a	0 a
<i>Euphorbia E. hirta</i> L.	Euphorbiaceae	13,580 (5,694) b	333 (333) a	180 (112) a	67 (34) a
<i>Eragrostis E. aspera</i> (Jacq.) Nees	Poaceae	11,740 (4,863) b	833 (833) a	20 (20) a	3,367 (2,468) ab
<i>Mitracarpus M. villosus</i> (Sw.) Cham. & Schlecht. Ex DC	Fabaceae	1,880 (394) b	460 (460) ab	0 a	33 (33) ab
<i>Pennisetum P. pedicellatum</i> Trin.	Poaceae	2,140 (1,209) b	0 a	0 a	0 a
<i>Setaria pumila</i> (Poir.) Roem. & Schult	Poaceae	740 (356) a	3,433 (2,503) a	380 (380) a	2,700 (1,532) a
<i>Zornia Z. glochidiata</i> Reichb. Ex DC	Fabaceae	2,620 (1,620) b	0 a	0 a	0 a

^aWithout *G. arborea* seedlings

^bPre-planting fertilizer application

^cData in the same line followed by the same letter are not significantly different according to the one-way analysis of variance ($P < 0.05$)

^dStandard error of the mean

Table 5 Effect of the treatments on the plant species richness, Simpson–Yule’s diversity index, catabolic richness and evenness after 12 months’ culture in a non-disinfected soil

	Treatments			
	WGA ^a	Control	FA	<i>G. intraradices</i>
Plant species richness	7.8 (0.66) ^{b c}	3.0 (1.15) ab	2.8 (0.74) a	5.7 (0.33) bc
Simpson–Yule’s diversity index	3.46 (0.29) b	1.62 (0.31) a	1.69 (0.31) a	3.16 (0.26) b
Catabolic richness	24.8 (1.43) a	28.3 (0.67) ab	30.8 (1.16) b	28.1 (2.89) ab
Catabolic evenness	12.7 (0.79) a	15.4 (0.32) b	15.4 (0.51) b	14.4 (0.46) ab

^aWithout *G. arborea* seedlings^bStandard error of the mean^cData in the same line followed by the same letter are not significantly different according to the one-way analysis of variance ($P < 0.05$)

colonization was significantly greater for the AM inoculated seedlings than in the other treatments (Table 3).

Above- and below-ground herbaceous plant biomasses ranged among the treatments as follows: WGA treatment $> G. intraradices > \text{Control} > \text{FA treatment}$ (Table 3). In the FA treatment, above- and below-ground biomasses decreased by $\times 0.24$ and $\times 0.15$, respectively, compared to the WGA treatment. Thirteen herbaceous plant species were found within all the treatments (Table 4). Seven species were predominant in the WGA treatment (*Dactyloctenium aegyptium*, *Digitaria horizontalis*, *Euphorbia hirta*, *Eragrostis aspera*, *Mitracarpus villosus*, *Pennisetum pedicellatum* and *Zornia glochidiata*), whereas no significant differences were recorded for plant species in the other treatments (Table 4). Plant species richness ranged from 7.8 (WGA treatment) to

2.8 (FA treatment), and the Simpson–Yule’s index was significantly higher in WGA and *G. intraradices* treatments than in control and FA treatments (Table 5). The extent of AM colonization along *G. arborea* root systems was significantly and positively correlated with each of the plant diversity parameters (Fig. 1a,b). Compared to the WGA treatment, the catabolic richness was significantly higher in the FA treatment, whereas the catabolic evenness was significantly higher in the control and FA treatments (Table 5). The average SIR response to carboxylic acids was significantly higher in soil from WGA and *G. intraradices* treatments than in the other treatments (Table 6). A significant response to amino acids was recorded in soil from *G. arborea* planted treatments (Table 6). No significant differences were found with amides. Average SIR response to carbohydrates was significantly higher in soil from the FA treatment than in other treatment (Table 6). Significant positive correlations were recorded between *G. arborea* root growth and both catabolic diversity indexes ($r^2 = 0.542$ for catabolic richness and $r^2 = 0.425$ with the catabolic evenness). No significant relation was found between these catabolic diversity indexes and the extent of AM colonization in *G. arborea* root systems.

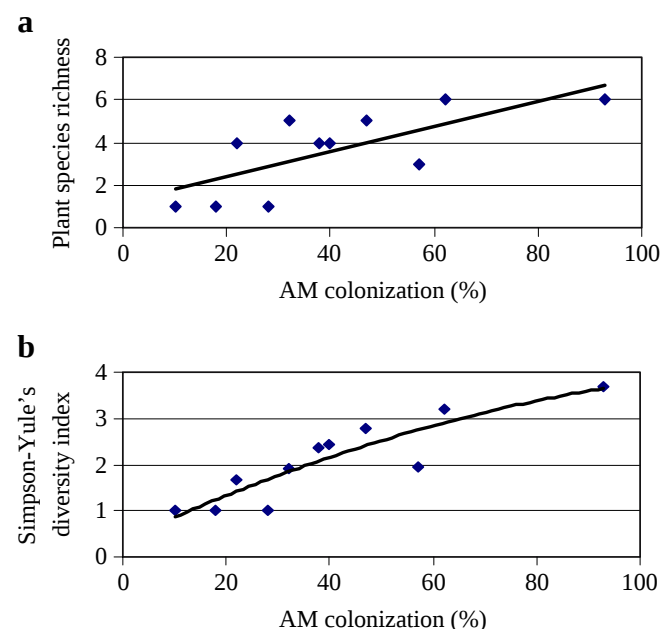


Fig. 1 Correlations between percentage of AM colonization of *G. arborea* root systems and **a** plant species richness ($y = 8.114 + 8.935x$, $r^2 = 0.526$, $p = 0.011$) and **b** Simpson–Yule’s diversity index ($y = 0.405 + 0.05x + 0.00016x^2$, $r^2 = 0.801$, $P = 0.0016$)

Table 6 Average SIR responses ($\mu\text{g CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ soil h}^{-1}$) in the four treatments with each substrate group (carboxylic acids, amino acids, amides and carbohydrates)

	Treatments			
	WGA ^a	Control	FA	<i>G. intraradices</i>
Carboxylic acids	14.86 (0.66) ^{b c}	10.96 (0.48) a	12.12 (0.87) a	14.59 (0.72) b
Amino acids	1.68 (0.36) a	3.94 (0.13) b	3.31 (0.31) b	3.45 (0.52) b
Amides	7.01 (1.30) a	8.27 (0.91) a	7.91 (1.21) a	11.56 (2.69) a
Carbohydrates	8.72 (0.58) a	9.87 (1.77) ab	13.06 (0.96) b	9.41 (1.71) a

^aWithout *G. arborea* seedlings^bStandard error of the mean^cData in the same line followed by the same letter are not significantly different according to the one-way analysis of variance ($P < 0.05$)

Discussion

From this research work, two main points deserve discussion: (1) whether an exotic tree species, *G. arborea*, potentially invasive in West Africa, can modify the microbial community function in the soil and can alter the herbaceous plant community structure and (2) whether these effects can be modified by massive AM establishment on *G. arborea* root systems.

Previous research has shown that some exotic plant species can cause an increased pH in soils as well as higher nitrification rates and available nitrate (Callaway 1995; Kourtev et al. 1998, 1999, 2003; Ehrenfeld et al. 2001). In the present study, no significant differences have been found between each treatment for these soil characteristics (nitrogen and pH) (data not shown). In contrast, the analysis of ISCP patterns in soil in which *G. arborea* had been planted (control and FA treatments) or not (WGA treatment) showed a strong differentiation of microbial community functions. It has been well established that the structure and functional diversity of microbial communities in the soil were mainly dependent on plant composition above-ground (Grayston and Campbell 1996; Priha et al. 1999; Grayston et al. 2001). Our data also clearly showed that the highest catabolic richness and evenness indexes were found in soil in which *G. arborea* had been cultured without previous *G. intraradices* inoculation. Although recent studies have assessed that catabolic abilities of microbial communities can be modified by exotic plants (Kourtev et al. 2003), the responses of catabolic diversity indexes to exotic plant species have been rarely assessed. In addition, the opposite effects of this exotic tree species on carboxylic acid, amino acid and carbohydrate responses showed that it also creates changes in functional groups within the microbiota (Meyer 1994). These changes in soil community functions could influence the structure of plant communities and modify the outcome of competition between neighbouring plants (West 1996; Watkinson and Freckleton 1997).

The influence of *G. arborea* on native herbaceous plant community structure and microbial community function is significantly modified by the massive AM inoculation of *G. arborea* seedlings. *G. intraradices* is highly beneficial to the growth of *G. arborea* seedlings in the disinfected sandy soil, and this positive effect was maintained during 12 months' culture in a non-disturbed soil. It has already been shown that AM inoculation of plants is very efficient in establishing plants on disturbed soils (Estaun et al. 1997). In addition, it has been previously established that the *G. intraradices* isolate (DAOM 1802) was very efficient on the growth of other plant hosts such as native or exotic leguminous plant species from West Africa (Villanave et al. 2003; Duponnois and Plenchette 2003). More recently, it has been demonstrated that the AM symbiosis between *Acacia holosericea* and *G. intraradices* affected the microbial activities in hyphosphere soil (Duponnois et al. 2005).

AM fungi modify root functions (i.e. root exudation) (Marshner et al. 1997), influence carbohydrate metabolism

of the host plant (Shachar-Hill et al. 1995) and modify rhizosphere populations (Azaizah et al. 1995; Andrade et al. 1998). In addition, chemical compounds that are exuded from AM hyphae have a selective effect on the microbial community in the rhizosphere and in the soil (Hobbie 1992). Together, these microbial compartments are commonly named "mycorrhizosphere" (Linderman 1988). Among all the substrates tested for the SIR measurement, our results show that carboxylic acids are the substrates yielding the highest respiratory responses and eliciting significantly different responses. These results corroborate those of Degens and Harris (1997) who found that carboxylic acids showed the most variable response in soils under different agriculture management and the highest responses on the average. As the SIR responses of microbial communities reflect soil potential in utilization of simple substrates, our results suggest that in the soil where *G. arborea* has been inoculated with *G. intraradices*, there was a higher availability of these. In addition, Duponnois et al. (2005) have also found that carboxylic acid SIR responses were highly correlated with mycorrhizal soil infectivity (MSI). In the present study, the MSI may be increased by *G. intraradices* inoculation, as resulting in the highest carboxylic acids SIR response.

It has been suggested that AM fungi might be important agents promoting plant coexistence (Janos 1980; Allen and Allen, 1990; Hart et al. 2003). van der Heijden et al. (1998) argued that an increase in hyphal lengths and nutrient exploitation occurred with increasing AM fungi richness that, in terms, led to a higher plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. Several recent papers emphasized the role of AM fungi in influencing plant diversity (O'Connor et al. 2002; Urcelay and Diaz 2003; Dhillon and Gardsjord 2004). Although hyphal length was not measured in the present study, results suggest that a well-developed mycelial network could increase the diversity and the development of herbaceous plant species communities by equalising the distribution of soil resources among competitively dominant and sub-dominant species (Wiersel 2004).

It is usually observed that many plant species coexist with neighbours in species-diverse systems in their native habitat, whereas they exclude and eliminate their neighbours after their introduction into a novel environment. Several hypotheses have been proposed to explain the success of invasive plants such as the "natural enemies hypothesis" (Gillett 1962), the existence of empty niches in recipient communities, and rapid genetic changes in invader populations in response to new selection pressure in the novel environment (Mack et al. 2000; Sakai et al. 2001). Although it has been suggested that possible allelopathic effects in degraded soils may have important implications for the susceptibility of plant communities to invasion (Lonsdale 1999), little attention has been paid to the potential role of AM fungi in such mechanisms (Callaway 1995; Ridenour and Callaway 2001). Among biotic factors, it is well known that soil degradation generally results in loss of AM propagules (Mosse 1986), particularly in semi-arid ecosystems (Mc Gee 1989), which

decreases the MSI potential and thus limits the re-establishment of indigenous plants communities (Sylvia 1990). In contrast, introduced fast growing tropical trees are usually associated with a high diversity of AM fungi in their undisturbed native area (Helgason et al. 1998). As an increase in AM fungi richness is linked with an increase in hyphal length (van der Heijden et al. 1998), the highest AM soil colonization could prevent their negative effect on neighbours because of the environmental fungal influences as describe previously. It is known that micro-organisms can act as allelochemical mediators, inactivating or metabolising toxic compounds, and mycorrhizal fungi have been hypothesized to protect seedlings against allelopathy (Pellissier and Souto 1999). This effect of mycorrhiza could also be indirect through a modification of bacterial community, as bacteria are able to break down phenolic allelochemical compounds (Blum et al. 2000; Renne et al. 2004).

In conclusion, AM fungal inoculation affected plant community structure associated with *G. arborea*. However, field-based experimental research must be undertaken to assess AM species richness and shared mycelium networks associated with this fast growing, introduced, tropical tree in its native and exotic areas using genetic markers. These experimental approaches need to be undertaken in different ecosystem types as the influence of AM fungi is probably influenced by biotic and abiotic environmental characteristics.

References

- Aarsen WL (1990) Ecological combining ability and competitive combining in plants toward a general evolutionary theory of coexistence in systems of competition. *Am Nat* 122:707–731
- Allen EB, Allen MF (1990) The mediation of competition by mycorrhizae in successional and patchy environments. In: Grace JB, Tilman D (eds) *Perspectives in plant competition*. Academic Press, New York, pp 367–389
- Anderson TH, Domsch KH (1993) The metabolic quotient for CO₂ (qCO₂) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions such as pH, on the microbial biomass of forest soils. *Soil Biol Biochem* 25: 393–395
- Andrade G, Mihara KL, Linderman RG, Bethlenfalvay GJ (1998) Soil aggregation status and rhizobacteria in the mycorrhizosphere. *Plant Soil* 202:89–96
- Azaizah HA, Marshner H, Römhild V, Wittenmayer L (1995) Effects of a vesicular–arbuscular mycorrhizal fungus and other soil microorganisms on growth, mineral nutrient acquisition and root exudation of soil-grown maize plants. *Mycorrhiza* 5:321–327
- Bethlenfalvay GJ (1992) Mycorrhizae and crop productivity. In: Bethlenfalvay GJ, Linderman RG (eds) *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. Am Soc Agron pp 1–27
- Bever JD (2002) Host-specificity of AM fungal populations growth rate can generate feed-back on plant growth. *Plant Soil* 244: 281–290
- Bever JD, Westover KM, Antonovics J (1997) Incorporating the soil community into plant population dynamics: the utility of a feedback approach. *J Ecol* 85:561–571
- Blum U, Statman KL, Flint LJ, Shaefer SR (2000) Induction and/or selection of phenolic acid-utilizing bulk-soil and rhizospheric bacteria and their influence on phenolic acid phytotoxicity. *J Chem Ecol* 26:2059–2078
- Brown VK, Gange AC (1989) Herbivory by soil dwelling insects depresses plant species richness. *Funct Ecol* 3:667–671
- Brundrett MC, Piche Y, Peterson RL (1985) A developmental study of the early stages in vesicular–arbuscular mycorrhizal formation. *Can J Bot* 63:184–194
- Callaway RM (1995) Positive interactions among plants. *Bot Rev* 61:306–349
- Chiarello N, Hickman JC, Mooney HA (1982) Endomycorrhizal role for interspecific transfer of phosphorus in a community of annual plants. *Science* 217:941–943
- Degens BP, Harris JA (1997) Development of a physiological approach to measuring the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biol Biochem* 29:1309–1320
- Dhillon SS, Gardsjord TL (2004) Arbuscular mycorrhizas influence plant diversity, productivity, and nutrients in boreal grasslands. *Can J Bot* 82:104–114
- Duponnois R, Plenchette C (2003) A mycorrhiza helper bacterium (MHB) enhances ectomycorrhizal and endomycorrhizal symbiosis of Australian *Acacia* species. *Mycorrhiza* 13:85–91
- Duponnois R, Colombet A, Hien V, Thioulouse J (2005) The mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendment influence plant growth and microbial activity in the rhizosphere of *Acacia holosericea*. *Soil Biol Biochem* (in press)
- Ehrenfeld J, Kourtev P, Huang W (2001) Changes in soil functions following invasions of exotic understory plants in deciduous forests. *Ecol Appl* 11:1287–1300
- Estaun V, Save R, Biel C (1997) AM inoculation as a biological tool to improve plant re-vegetation of a disturbed soil with *Rosmarinus officinalis* under semi-arid conditions. *Appl Soil Ecol* 6:223–229
- Gillet (1962) Pest pressure, an underestimated factor in evolution. In: systematics, association publication. *Taxonomy and geography* 4:37–46
- Grace JD, Tilman D (eds) (1990) *Perspectives on plant competition*. Academic Press, San Diego
- Graham JH, Leonard RT, Menge JA (1981) Membrane mediated decrease in root exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular–arbuscular mycorrhiza formation. *Plant Physiol* 68:548–552
- Grayston SJ, Campbell CD (1996) Functional biodiversity of microbial communities in the rhizosphere of hybrid larch (*Larix eurolepis*) and Sitka spruce (*Picea sitchensis*). *Tree Physiol* 16:1031–1038
- Grayston SJ, Griffith GS, Mawdsley JL, Campbell CD, Bardgett RD (2001) Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. *Soil Biol Biochem* 33:533–551
- Grubb P (1977) The maintenance of species richness in plant communities: the importance of the regeneration niche. *Biol Rev* 52:107–145
- Hart MM, Reader RJ, Klironomos JN (2003) Plant coexistence mediated by arbuscular mycorrhizal fungi. *Trends Ecol Evol* 18:418–423
- Heinemeyer O, Insam H, Kaiser EA, Walenzik G (1989) Soil microbial biomass and respiration measurements: an automated technique based on infrared gas analysis. *Plant Soil* 116:77–81
- Helgason T, Daniell TJ, Husband R, Fitter AH, Young JPW (1998) Ploughing up the wood-wide web? *Nature* 394:431
- Hobbie SE (1992) Effects of plant species on nutrient cycling. *Trends Ecol Evol* 7:336–339
- Huston MA (1977) General hypothesis of species diversity. *Am Nat* 113:81–101
- Janos DP (1980) Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica* 12:56–64
- Johansson JF, Paul LR, Finlay RD (2004) Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiol Ecol* 48:1–13
- John MK (1970) Colorimetric determination in soil and plant material with ascorbic acid. *Soil Sci* 68:171–177
- Kourtev P, Ehrenfeld J, Huang W (1998) Effects of exotic plant species on soil properties in hardwood forests of New Jersey. *Water Air Soil Pollut* 105:493–501

- Kourtev P, Huang W, Ehrenfeld J (1999) Differences in earthworm densities and nitrogen dynamics in soils under exotic and native plant species. *Biol Inv* 1:237–245
- Kourtev P, Ehrenfeld J, Häggblom M (2003) Experimental analysis of the effect of exotic and native plant species on the structure and function of soil microbial communities. *Soil Biol Biochem* 35:895–905
- Krebs CJ (1989) *Ecology methodology*. Harper Collins Publishers, New York
- Linderman RG (1988) Mycorrhizal interactions with the rhizosphere microflora: the mycorrhizosphere effect. *Phytopathology* 78:366–371
- Lonsdale WM (1999) Global patterns of plant invasions and the concept of invisibility. *Ecology* 80:1522–1536
- Mack RN, Simberloff D, Lonsdale WM, Evans H, Clout M, Bazzaz FA (2000) Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecol Appl* 10:689–710
- Magurran AE (ed) (1988) *Ecological diversity and its measurement*. Croom Helm, London
- Marshner P, Crowley DE, Higashi M (1997) Root exudation and physiological status of a root-colonizing fluorescent pseudomonad in mycorrhizal and non-mycorrhizal pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Soil* 189:11–20
- Mc Gee P (1989) Variations in propagules number of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a semi-arid soil. *New Phytol* 92:28–33
- Meyer O (1994) Functional groups of micro-organisms. In: Schulze ED, Money H (eds) *Biodiversity and ecosystem function*. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 67–97
- Mosse B (1986) Mycorrhiza in a sustainable agriculture. *Biol Agric Hort* 3:191–220
- O'Connor PJ, Smith SE, Smith FA (2002) Arbuscular mycorrhizas influence plant diversity and community structure in a semiarid herbland. *New Phytol* 154:209–219
- Pellissier F, Souto XC (1999) Allelopathy in Northern temperate and boreal semi-natural woodland. *Crit Rev Plant Sci* 18:637–652
- Phillips JM, Hayman DS (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans Br Mycol Soc* 55:158–161
- Plenchette C, Declerck S, Diop T, Strullu DG (1996) Infectivity of monoaxenic subcultures of the AM fungus *Glomus versiforme* associated with Ri-TDNA transformed root. *Appl Microbiol Biotechnol* 46:545–548
- Priha O, Grayston SJ, Pennanen T, Smolander A (1999) Microbial activities related to C and N cycling and microbial community structure in the rhizosphere of *Pinus sylvestris*, *Picea abies* and *Betula pendula* seedlings in an organic and mineral soil. *FEMS Microbiol Ecol* 30:187–199
- Ravnkov S, Larsen J, Olsson PA, Jakobsen I (1999) Effects of various organic compounds on growth and phosphorus uptake of an arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytol* 141:517–524
- Renne IJ, Rios BG, Fehmi JS, Tracy BF (2004) Low allelopathic potential of an invasive forage grass on native grassland plants: a cause for encouragement? *Basic Appl Ecol* 5:261–269
- Ricklefs RW (1977) Environmental heterogeneity and plant species diversity: a hypothesis. *Am Nat* 111:376–381
- Ridenour WM, Callaway RM (2001) The relative importance of allelopathy in interference: the effects of an invasive weed on a native bunchgrass. *Oecologia* 126:444–450
- Sakai AK, Allendorf FW, Holt JS, Lodge DM, Molofsky J, With KA, Baughman S, Cabin RJ, Cohen JE, Ellstrand NC, McCauley DE, O'Neil P, Parker IM, Thompson JN, Weller SG (2001) The population biology of invasive species. *Annu Rev Ecol Syst* 32:305–332
- Schreiner RP, Mihara KL, Mc Daniel H, Benthlenfalvay GJ (2003) Mycorrhizal fungi influence plant and soil functions and interactions. *Plant Soil* 188:199–209
- Selosse MA, Baudoin E, Vanderkoornhuysen P (2004) Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants. *Cr Acad Sci III Vie* 327:639–648
- Shachar-Hill Y, Pfeffer PE, Douds D, Osman SF, Doner LW, Ratcliffe RG (1995) Partitioning of intermediary carbon metabolism in vesicular-arbuscular mycorrhizal leeks. *Plant Physiol* 108:7–15
- St John TV, Coleman DC, Reid CPP (1983). Association of vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungi with soil organic matter. *Ecology* 64:957–959
- Stotzky G (1997) Soil as an environment for microbial life. In: Van Elsas JD, Trevors JT, Wellington EMH (eds) *Modern soil microbiology*. Dekker, New York, pp 1–20
- Sylvia DM (1990) Inoculation of native woody plants with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for phosphate mine lands reclamation. *Agric Ecosyst Environ* 31:253–261
- Tilman D (1982) Resource competition and community structure. *Monographs in population biology*, vol 17. Princeton University Press, Princeton
- Urcelay C, Diaz S (2003) The mycorrhizal dependence of subordinates determines the effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plant diversity. *Ecol Lett* 6:388–391
- van der Heijden MGA, Klironomos JN, Ursic M, Moutoglis P, Streitwolf-Engel R, Boller T, Wiemken A, Sanders IR (1998) Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity ecosystem variability and productivity. *Nature* 396:69–72
- Vaughn SF, Berhow MA (1999) Allelochemicals isolated from tissues of an invasive weed garlic mustard (*Alliaria petiolata*). *J Chem Ecol* 25:2495–2504
- Villanave C, Leye K, Chotte JL, Duponnois R (2003) Nematofauna associated with the mycorrhizosphere and hyphosphere of *Glomus intraradices* and exotic or native leguminous plant species mycorrhizal formation in West Africa. *Biol Fertil Soils* 38:161–169
- Watkinson AR, Freckleton RP (1997) Quantifying the impact of arbuscular mycorrhizal fungi on plant competition. *J Ecol* 85:541–545
- West HM (1996) Influence of arbuscular mycorrhizal competition between *Holcus lanatus* and *Dactylis glomerata*. *J Ecol* 84:429–438
- West AW, Sparling GP (1986) Modifications to the substrate-induced respiration method to permit measurements of microbial biomass in soils of differing water contents. *J Microbiol Methods* 5:177–189
- Westover KM, Kennedy AC, Kelley SE (1997) Patterns of rhizosphere microbial community structure associated with co-occurring plant species. *J Ecol* 85:863–873
- Whittaker RH, Feeny PP (1971) Allelochemicals: chemical interactions between species. *Science* 171:757–770
- Wiersel SGR (2004) Homogenous stands of a wetland grass harbour diverse consortia of arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microb Ecol* 48:129–138

RESEARCH ARTICLE

Arbuscular mycorrhizal symbiosis can counterbalance the negative influence of the exotic tree species *Eucalyptus camaldulensis* on the structure and functioning of soil microbial communities in a sahelian soil

Marija Kisa¹, Arsene Sanon^{2,3}, Jean Thioulouse⁴, Komi Assigbetse⁵, Samba Sylla^{2,3}, Rodolphe Spichiger⁶, Lamine Dieng⁵, Jacques Berthelin⁷, Yves Prin⁸, Antoine Galiana⁸, Michel Lepage^{9,10} & Robin Duponnois^{1,2}

¹IRD, UMR 040 CIRAD/INRA/IRD/AGRO-M/UM2, Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (LSTM), Montpellier, France;

²IRD, Laboratoire Commun de Microbiologie IRD/ISRA/UCAD, Centre de Recherche ISRA-IRD de Bel Air, Dakar, Sénégal; ³UCAD, Faculté de Sciences et Techniques, Département de biologie végétale, Dakar, Sénégal; ⁴Université de Lyon; université Lyon 1, CNRS, UMR 5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, Villeurbanne, France; ⁵IRD, UR 179 SeqBio, Centre de Recherche ISRA-IRD de Bel Air, Dakar, Sénégal; ⁶Conservatoire et Jardin botanique de Genève, Genève, Suisse; ⁷CNRS, Laboratoire des Interactions Microorganismes – Minéraux – Matière Organique dans les Sols (LIMOS), Faculté des Sciences et Techniques, Vandoeuvre-les-Nancy cedex, France; ⁸CIRAD, UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/AGRO-M/UM2, Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (LSTM), Montpellier, France; ⁹IRD, UR 179 SeqBio, Ouagadougou, Burkina Faso; and ¹⁰CNRS, Laboratoire d'Ecologie, UMR 7625, Ecole Normale Supérieure, Paris Cedex, France

Correspondence: Robin Duponnois, IRD, Laboratoire Commun de Microbiologie IRD/ISRA/UCAD, Centre de Recherche ISRA-IRD de Bel Air, BP 1386, Dakar, Sénégal.
Tel.: +221 849 33 22; fax: +221 849 33 02;
e-mail: robin.duponnois@ird.sn

Received 15 February 2007; revised 25 May 2007; accepted 27 May 2007.
First published online 22 August 2007.

DOI:10.1111/j.1574-6941.2007.00363.x

Editor: Karl Ritz

Keywords

AM symbiosis; plant diversity; catabolic diversity; *Eucalyptus camaldulensis*; *Glomus intraradices*; soil microbial communities.

Abstract

The hypothesis of the present study was that bacterial communities would differentiate under *Eucalyptus camaldulensis* and that an enhancement of arbuscular mycorrhizal (AM) density would minimize this exotic plant species effect. Treatments consisted of control plants, preplanting fertilizer application and AM inoculation. After 4 months of culture in autoclaved soil, *E. camaldulensis* seedlings were either harvested for growth measurement or transferred into containers filled with the same soil but not sterilized. Other containers were kept without *E. camaldulensis* seedlings. After 12 months, effects of fertilizer amendment and AM inoculation were measured on the growth of *Eucalyptus* seedlings and on soil microbial communities. The results clearly show that this plant species significantly modified the soil bacterial community. Both community structure (assessed by denaturing gradient gel electrophoresis profiles) and function (assessed by substrate-induced respiration responses including soil catabolic evenness) were significantly affected. Such changes in the bacterial structure and function were accompanied by disturbances in the composition of the herbaceous plant species layer. These results highlight the role of AM symbiosis in the processes involved in soil bio-functioning and plant coexistence and in afforestation programmes with exotic tree species that target preservation of native plant diversity.

Introduction

Over the last century, plantation forestry using exotic trees has developed as an integral and crucial part of many national economies and environmental programmes. Tree species such as *Pinus* spp., *Eucalyptus* spp. and *Acacia* spp. have been introduced outside their natural range throughout the 18th and 19th centuries, and have been intensively

planted in the framework of afforestation programmes or for agroforestry purposes since the second half of the 20th century (Evans, 1982). Fast-growing exotic trees have been used to provide wood or fodder for browsing livestock, prevent desertification, and curtail wind and rain erosion, because of their ability to grow rapidly under harsh conditions (Parrotta, 1993). However, this widespread anthropogenic dispersal of exotic organisms has raised growing

concern over their potentially devastating ecological impacts on native organisms. Several well-documented studies have shown the hazards that can result from an introduced tree or woody shrub that could become invasive by altering ecological interactions among native species in the invaded zone (Mooney & Hobbs, 2000; Rejmanek, 2000; Callaway & Ridenour, 2004). A general definition has been suggested by Shine *et al.* (2000): an invasive species is considered as an alien species that becomes established in natural or semi-natural ecosystems or habitat and is 'an agent of change and threatens native biological diversity'. Exotic plants could threaten ecosystems, habitats or species for different reasons, such as a higher performance in a new site (Thébaud & Simberloff, 2001), direct chemical interference (allelopathic effect) with native plant ecosystem influencing succession, dominance, community structure and composition, vegetation dynamics (del Moral & Muller, 1970), or resistance capacity of native vegetation to invasion (Hobbs & Huenneke, 1992; Levine & D'Antonio, 1999). It has also been suggested that exotic plants could interact with soil microbial communities and disrupt mutualistic associations between existing ecological associations within native communities (Richardson *et al.*, 2000; Callaway & Ridenour, 2004). Among soil microbial communities, arbuscular mycorrhizal (AM) fungi form a key component of the sustainable soil-plant system (Schreiner *et al.*, 2003; Johansson *et al.*, 2004). AM symbiosis has been usually considered as an association between host plant and endophyte only. More recently this symbiotic process has been recognized to influence soil development as much as plant development (Schreiner & Bethlenfalvay, 1995; Schreiner *et al.*, 2003; Duponnois *et al.*, 2005). It has been reported that AM fungi affect the diversity of plant communities (van der Heijden *et al.*, 1998; Klironomos *et al.*, 2000; O'Connor *et al.*, 2002) and influence relationships between plants (West, 1996; Marler *et al.*, 1999; van der Heijden *et al.*, 2003).

In its native distribution area, *Eucalyptus camaldulensis* is found over most of the Australian mainland, except southern Western Australia, south-western South Australia and the eastern coastal areas of Queensland, New South Wales and Victoria (Chippendale, 1988). In these regions, this tree species is generally dominant in the community, commonly forming pure open forests or woodlands (Costermans, 1989). It is considered to be one of the most widely planted eucalypts in the world and plantations occur in Argentina, California, Egypt, Morocco, Senegal, etc (NAS, 1980). However, *Eucalyptus* are extremely damaging ecologically to many native plant species. The annual vegetation adjacent to naturalized stands of *E. camaldulensis* is inhibited severely and annual herbs rarely survive to maturity when *Eucalyptus* litter accumulates. In addition, some concerns about the effects of *Eucalyptus* plantations are related in terms of depletion of nutrients, acidification and excessive water

utilization of the species (Couto & Betters, 1995). However, the influence of this exotic tree species on the structure and function of microbial communities is unknown outside its home range. In particular, the possibility that its establishment could cause changes on AM fungal functioning has not been studied in its introduction area.

The aims of this study were to test under glasshouse conditions the impact of *E. camaldulensis* on bacterial functional capabilities and more particularly on AM fungi density. We hypothesized that bacterial communities would differentiate under this exotic tree species, and that this influence would modify bacterial functional diversity. We further hypothesized that an enhancement of AM density (through controlled AM fungal inoculation of *E. camaldulensis* seedlings) would minimize the effect of this exotic plant species on the annual vegetation through a well-developed mycelium network that contributes to the development of the adjacent plant species. Finally, we tested the hypothesis that AM symbiosis could regulate plant species coexistence and change competitive relationships between plants.

Materials and methods

Plant and fungal inoculum

Seeds of *E. camaldulensis* Dehn. (Provenance Kambouinsé, Burkina Faso) were surface-sterilized with HgCl_2 for 10 min, thoroughly rinsed and imbibed for 24 h in sterile distilled water (120 °C, 20 min). They were then transferred aseptically in Petri dishes filled with 1% (w/v) water agar. After 8 days of incubation in the dark at 25 °C, the germinating seeds were used when rootlets were 1–2 cm long.

The AM fungus *Glomus intraradices* Schenk & Smith (DAOM 181602, Ottawa Agricultural Herbarium) was propagated on leek (*Allium porrum* L.) on a calcined clay (particle size average 5 mm), Oil-Dry US-special Ty/IIIR (Oil-Dri company, Chicago) under greenhouse conditions. After 12 weeks of culturing, the leek plants were uprooted and gently washed. Roots were then cut into 0.5-cm pieces bearing around 250 vesicles cm^{-1} . Nonmycorrhizal leek roots prepared as above were used for the control treatment without AM inoculation.

Experimental design

The germinated seeds of *E. camaldulensis* were individually grown in 1-L capacity pots filled with an autoclaved sandy soil (120 °C, 60 min) collected in an experimental station localized at Gampela (20 km from Ouagadougou, Burkina Faso). After autoclaving, the physico-chemical characteristics of the soil were as follows: pH (H_2O) 5.6, clay 4.6%, fine silt 0.0%, coarse silt 0.8%, fine sand 25.5%, coarse sand 69.1%, carbon 2.04%, total nitrogen 0.04%, Olsen phosphorus 4.3 mg kg^{-1} , total phosphorus 116 mg kg^{-1} . Three

treatments were carried out: control, preplanting fertilizer application and AM inoculation with *G. intraradices*. In AM inoculation, 1 g of fresh mycorrhizal leek roots was placed in a hole (1 × 5 cm) in the soil of each pot. Treatments without fungus (control and preplanting fertilizer application) received nonmycorrhizal leek roots at the same rate. Preplanting fertilizer application was applied by adding 0.5 g OsmocoteTM granulates into the soil of each pot (N/P/K, 11:8:17). This fertilization rate has been calculated according to the results of previous experiments (data not published). All of the planted pots were kept in a greenhouse (daylight *c.* 12 h, average daily temperature 25 °C) and were watered with tap water (pH = 6.5) as frequently as necessary to keep the soil moist. They were arranged in a randomized complete block design with 10 replicates per treatment.

After culture for 4 months, five plants were chosen randomly from each treatment. The *E. camaldulensis* plants were uprooted, the height and the oven dry weight (1 week at 65 °C) of the shoot were measured. For each plant, the entire root system was gently washed, cleared and stained according to the method of Phillips & Hayman (1970). The root pieces were placed on a slide for microscopic observation at × 250 magnification (Brundrett *et al.*, 1985). About 100 1-cm root pieces were observed per plant. The extent of AM colonization was expressed as a percentage of mycorrhizal root pieces. Then, the stained roots were collected and weighed for each plant (1 week, 65 °C).

For each treatment, the remaining five plants were transferred with their cultural substrate into 175-L capacity containers (50 × 50 × 70 cm) filled with the same soil as before but not disinfected. This soil was thoroughly mixed to ensure the homogeneity of the seed bank in the soil. Five other containers, prepared as described previously, were kept without *E. camaldulensis* seedlings. The containers were arranged in a complete randomized block design and placed outside in the IRD (Institut de Recherche pour le Développement) experimental station of Ouagadougou (Burkina Faso) in a clean area. The plants were grown without any solar protection and at ambient temperature from 20 °C to 40 °C with daily watering.

After 12 months' culture, the height of the *E. camaldulensis* trees was measured. Herbaceous plant species naturally growing in each pot were identified and their shoot and biomasses were determined (1 week, 65 °C). The composition of herbaceous layer was assessed using species richness and Shannon's diversity index (Krebs, 1989) based on individual species total biomass data. On each *E. camaldulensis* plant, the leaves and the stem were divided and their oven-dried weights were determined (2 weeks, 65 °C). Then *E. camaldulensis* plants were uprooted and their root systems were gently washed. Two grams of fresh root was randomly collected along the root system of each plant to

evaluate the intensity of mycorrhizal symbiosis. The extent of AM colonization was expressed as described before. Then the entire root systems were oven-dried (1 week, 65 °C) and weighed. The soil collected from each container was carefully mixed and 10-kg subsamples were taken and kept at 4 °C for further measurements.

Soil analysis

All soils sampled from each pot were characterized by measuring pH, total soil organic C after dichromate oxidation, total organic N by the Kjeldahl method, total soil P by acid extraction and soluble P by the Olsen–Dabin method.

Microbial community structure

The genetic structure of the soil total bacterial communities in each treatment was assessed by PCR-DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis). PCR amplification targeting total soil 16S rRNA gene bacterial community was realized with the eubacterial primer pair 338f-GC (Ovreas *et al.*, 1997) and 518r (Muyzer *et al.*, 1993). Total genomic DNA extraction and PCR amplification were performed as described previously (Assigbetse *et al.*, 2005). DGGE fingerprints were scored by the presence or absence of comigrating bands, independent of intensity. Profile similarity was calculated by determining Dice's coefficient for the total number of bands. Dendrograms were constructed by using the unweighted pair group method with arithmetic averages (Assigbetse *et al.*, 2005).

Microbial community function

The function of soil microbial communities was assessed by determining their patterns of *in situ* catabolic potential to provide microbial functional diversity in soil treatments (Degens & Harris, 1997). Different amino acids, carbohydrates, organic acids and amides were added to the soil and the short-term respiration responses were determined (Degens & Harris, 1997; Degens *et al.*, 2001). One gram of equivalent dry weight soil collected from each container was suspended in 2 mL substrate solution (West & Sparling, 1986) in 10-mL bottles. CO₂ production from basal production respiratory in the soil samples was measured by adding 2 mL sterile distilled water to 1 g of the equivalent dry weight of soil. After the addition of the substrate solutions to the soil samples, the bottles were immediately sealed with a Vacutainer stopper and incubated at 28 °C for 4 h in darkness. CO₂ fluxes from the soils were measured using an infrared gas analyser (IRGA) (Polytron IR CO₂, DrägerTM) in combination with a thermal flow meter (Heinemeyer *et al.*, 1989). The results were expressed as µg CO₂ g⁻¹ soil h⁻¹. They were 10 amino acids (L-phenylalanine, L-glutamine, L-serine, L-arginine, L-asparagine,

L-histidine, L-lysine, L-glutamic acid, L-tyrosine, L-cystein), three carbohydrates (D-glucose, D-mannose, sucrose), three amides (D-glucosamine, N-methyl-D-glucamine, succinamide) and 16 carboxylic acids (ascorbic acid, citric acid, fumaric acid, gluconic acid, quinic acid, malonic acid, formic acid, α -ketoglutaric acid, α -ketobutyric acid, succinic acid, tartaric acid, uric acid, oxalic acid, gallic acid, malic acid, hydroxybutyric acid). The amines and amino acids were added at 10 mM, whereas the carbohydrates were added at 75 mM and the carboxylic acids at 100 mM (Degens & Vojvodic-Vukovic, 1999). The catabolic evenness (E) was calculated to determine the catabolic diversity of soil treatments. It describes the variability of used substrates amongst the range of the substrates tested and is calculated using the Simpson–Yule index $E = p/p_i^2$ with p_i = respiration as the response to individual substrates/total respiration activity induced by all substrates (Magurran, 1988).

Assessment of the mycorrhizal soil infectivity

AM hyphal length was measured on membrane filters according to Jakobsen & Rosendahl (1990). Soil samples (2 kg) were collected from four containers randomly chosen in each treatment. Four dilutions were made of each soil sample by thoroughly mixing the original soil in 1:4 proportions with the same soil but autoclaved (120 °C, 40 min). Ten replicates were prepared for each dilution. Seeds of *Sorghum vulgare* Pers. were surface sterilized with 10% sodium hypochlorite, washed with sterile distilled water (120 °C, 20 min) and pregerminated for 2 days in Petri dishes on humid filter paper. One germinated seed was then transplanted into each of 100 mL pots filled with 100 g of different soil solution. The pots were placed in a glasshouse under natural light (daylight c. 12 h, mean temperature 30 °C) and watered daily with deionized water. After 40 days of growth, seedlings were uprooted and their entire root systems were washed under tap water. On each plant, the extent of AM colonization was assessed as described above.

Statistical analysis

Data were treated with one-way ANOVA. Means were compared using the Newman–Keuls test ($P < 0.05$). The percentages of the mycorrhizal colonization were transformed by arcsin(sqrt) before the statistical analysis.

Between-group analysis (BGA, Dolédec & Chessel, 1989; Culhane *et al.*, 2002) was used to analyse the substrate-induced respiration (SIR) profiles of soil samples submitted to the four treatments: soil without *E. camaldulensis*, control, preplanting fertilizer application and *G. intraradices* inoculation. BGA is an ordination method that can be used as a robust alternative to the well-known discriminant analysis (Huberty, 1994). As with the discriminant analysis,

the aim is to classify cases into *a priori* groups. However, the discriminant analysis has several drawbacks: the number of cases must be high compared to the number of variables (several times higher). Computations cannot be performed when the number of cases is lower than the number of variables. Moreover, the discriminant analysis must meet the same assumptions as the ANOVA (normal distribution, homogeneity of variances). BGA makes no assumption on data distribution and variances, and the ratio of case number to variable number is not constrained. Specifically, BGA can be used even when the number of cases is lower than the number of variables, which is the case here (20 soil samples and 32 SIR substrates). A permutation test (Monte-Carlo method) allows us to check the statistical significance of the between-groups differences. The free ADE4 software (Thioulouse *et al.*, 1997) was used to perform BGA computations.

For the assessment of the mycorrhizal soil infectivity, the relationships between the extent of AM colonization and soil dilutions were analysed using mixed effects linear regression models. The p -values for model fits were obtained by ANOVA (Venables & Ripley, 2002). Computations were conducted with the R software (R Development Core Team, 2006), using the 'nlme' package (Pinheiro & Bates, 2000). In the regression models, the fixed effects were the soil type: without *E. camaldulensis*, control, preplanting fertilizer application and *G. intraradices* inoculation and the level of dilution (nondisinfected soil/disinfected soil: 1, 1/4, 1/16, 1/64). The random effect was the repetitions for each percentage of nonsterilized soil.

Results

Eucalyptus and herbaceous species development

After 4 months' culture in the disinfected soil, AM inoculation significantly increased the growth of *E. camaldulensis* seedlings by factors of 1.40, 1.79 and 1.83 for height, shoot and root dry weight, respectively, compared with the control (Table 1). No significant differences were recorded between the preplanting fertilizer application and *G. intraradices* treatments (Table 1). No AM structures (vesicles, hyphae or arbuscules) were observed in the preplanting fertilizer application and the control treatments, whereas the extent of AM colonization was 45.6% for *G. intraradices*-inoculated seedlings.

After 12 months' further culture in nondisinfected soil, the stimulating effects of the fertilizer amendment and *G. intraradices* inoculation were recorded for all the measured parameters (height, leaf and stem biomass, root biomass; Table 2). The growth of *E. camaldulensis* seedlings was not significantly different in the preplanting fertilizer

Table 1. Growth response of *Eucalyptus camaldulensis* seedlings and AM colonization in soils inoculated with *Glomus intraradices* or fertilized after 4 months culture in a disinfected soil (means of 10 replicates)

Treatments	Height (cm)	Shoot biomass (mg dry weight)	Root biomass (mg dry weight)	AM colonization (%)
Control	32.3 (1.2)* a [†]	852 (23.6) a	326 (15.3) a	0
FA [‡]	45.3 (1.9) b	1532 (42.6) b	598 (12.6) b	0
<i>G. intraradices</i>	43.6 (2.3) b	1499 (39.7) b	624 (15.4) b	45.6 (5.9)

*Standard error of the mean.

[†]Data in the same column followed by the same letter are not significantly different according to the Newman–Keuls test ($P < 0.05$).

[‡]Preplanting fertilizer application.

Table 2. Growth response, AM colonization of *Eucalyptus camaldulensis* grown in soils inoculated with *Glomus intraradices* or fertilized, total above and below-ground biomass, plant species richness, Shannon index of the herbaceous cover recorded in each treatment after 12 months' culture in a nondisinfected soil

	Treatments			
	WEC*	Control	FA [†]	<i>G. intraradices</i>
Height (cm)		144 (1.8) [‡] a §	196 (13.7) b	166 (5.3) b
Leaf biomass (g dry weight)		52.5 (1.3) a	62.9 (2.9) b	72.1 (7.4) b
Stem biomass (g dry weight)		68.3 (3.2) a	116 (7.4) b	96.1 (5.1) b
Total shoot biomass (g dry weight)		121 (4.3) a	179 (9.2) b	168 (9.1) b
Root biomass (g dry weight)		50.5 (6.1) a	82.9 (6.6) b	73.1 (6.4) b
AM colonization (%)		38.1 (2.8) a	37.7 (3.3) a	52.1 (3.7) b
Hyphal length (m g ⁻¹ soil)	3.9 (0.6) b	2.3 (0.2) a	2.8 (0.5) a	4.2 (0.3) b
Above-ground biomass (g dry weight)	21.3 (3.5) c	1.94 (0.45) [‡] a §	1.04 (0.35) a	9.51 (3.36) b
Below-ground biomass (g dry weight)	4.2 (1.1) d	0.25 (0.06) b	0.09 (0.03) a	0.85 (1.13) c
Plant species richness	4.8 (0.49) c	2.8 (0.37) b	1.2 (0.2) a	3.0 (0.63) b
Shannon index	0.97 (0.1) c	0.63 (0.15) b	0.11 (0.11) a	0.57 (0.13) b

*Without *E. camaldulensis* seedlings.

[†]Preplanting fertilizer application.

[‡]SEM.

§Data in the line followed by the same letter are not significantly different according to Newman–Keuls test ($P < 0.05$).

application and *G. intraradices* treatments (Table 2). AM colonization was significantly greater for the AM-inoculated seedlings than in the other treatments (Table 2). The length of external hyphae was significantly greater in the soil kept without *E. camaldulensis* and in the *G. intraradices* treatment than in the other treatments (control and pre-planting fertilizer application; Table 2).

Above- and below-ground herbaceous biomasses ranged among the treatments as follows: without *E. camaldulensis* > *G. intraradices* > control > preplanting fertilizer application treatment (Table 2). The preplanting fertilizer application decreased above- and below-ground biomasses by $\times 0.05$ and $\times 0.02$, respectively, compared to the treatment without *E. camaldulensis* (Table 2). The highest plant species richness and Shannon index were recorded in the treatment without *E. camaldulensis*, whereas the lowest were found in the preplanting fertilizer application treatment (Table 2). No significant differences were found between the control and preplanting fertilizer application treatments.

Fourteen herbaceous species were found within all the treatments (Table 3). For the above-ground biomass, seven

species were predominant in the absence of *E. camaldulensis* (*Dactyloctenium aegyptium*, *Digitaria horizontalis*, *Euphorbia hirta*, *Eucalyptus viridis*, *Leucas martinicensis*, *Spermacoce radiata* *Sesamoides* sp. and *Spermacoce chaetocephala*), whereas the shoot growth of two other species (*Corchorus tridens* and *Polycarpaea corymbosa*) was larger in the *G. intraradices* treatment (Table 3). No significant differences were recorded for plant species in the other treatments except for *Eragrostis tremula* with a higher above-ground biomass in the absence of *E. camaldulensis* and in the *G. intraradices* treatment than in the others (Table 3). Highest below-ground biomasses were recorded in the treatment without *E. camaldulensis* with the following plant species: *Dactyloctenium aegyptium*, *Dactyloctenium horizontalis*, *E. tremula*, *Eucalyptus hista*, *E. viridis*, *L. martinicensis*, *Sesamoides* sp., *S. radiata* and *S. chaetocephala* whereas the highest below-ground biomasses were found in the *G. intraradices* treatment for *C. tridens*, *Oxalis corymbosa* and *P. corymbosa* (Table 4). No significant differences were detected within all the treatments with *C. siamea* and *S. festivus* (Table 4).

Table 3. Above-ground biomass (mg dry weight) of individual plant species recorded in each treatment after 12 months' culture in a nondisinfected soil

Plant species	Families	Treatments			
		WEC*	Control	FA†	<i>Glomus intraradices</i>
<i>Cassia siamea</i> Lam.	<i>Fabaceae</i>	0 a	20.4 (13.6)‡ a§	0 a	0 a
<i>Corchorus tridens</i> L.	<i>Tiliaceae</i>	179 (48.2) c	118 (8.5) b	0 a	942 (42.6) d
<i>Dactyloctenium aegyptium</i> (L.) Willd	<i>Poaceae</i>	1043 (74.7) c	23.5 (3.5) b	0 a	11.2 (8.9) b
<i>Digitaria horizontalis</i> Willd	<i>Poaceae</i>	5211b (95.9) d	112.8 (2.8) b	0 a	1021 (25.4) c
<i>Eragrostis tremula</i> Hochst. ex Steud	<i>Poaceae</i>	6690 (696) b	687 (36.9) a	741 (42.3) a	6272 (26.1) b
<i>Euphorbia hirta</i> L.	<i>Euphorbiaceae</i>	881 (50.7) c	256 (29.1) b	0 a	113 (97.3) b
<i>Euphorbia viridis</i> Klotzsch & Garcke ex Klotzsch	<i>Euphorbiaceae</i>	384 (30.3) b	0 a	0 a	0 a
<i>Leucas martinicensis</i> (Jacq.) R. Br.	<i>Lamiaceae</i>	627 (27.6) b	0 a	0 a	10.7 (5.7) a
<i>Oldenlandia corymbosa</i> L.	<i>Rubiaceae</i>	0 a	0 a	59.1 (59.1) a	562 (562) a
<i>Polycarpaea corymbosa</i> (L.) Lam	<i>Caryophyllaceae</i>	119.2 (6.5) b	0 a	0 a	291 (91.6) c
<i>Sesamoides</i> sp.	<i>Resedaceae</i>	735 (35.1) b	0 a	0 a	0 a
<i>Spermacoce radiata</i> Sieber ex DC.	<i>Rubiaceae</i>	3201 (205) c	666 (166) b	113 (12.9) a	106 (57.6) a
<i>Spermacoce chaetocephala</i> DC.	<i>Rubiaceae</i>	2248 (475) b	0 a	0 a	0 a
<i>Sporobolus festinus</i> A. Rich.	<i>Poaceae</i>	0 a	0 a	122 (122) a	0 a

*Without *Eucalyptus camaldulensis* seedlings.

†Preplanting fertilizer application.

‡SEM.

§Data in the line followed by the same letter are not significantly different according to Newman–Keuls test ($P < 0.05$).**Table 4.** Below-ground biomass (mg dry weight) of individual plant species recorded in each treatment after 12 months' culture in a nondisinfected soil

Plant species	Families	Treatments			
		WEC*	Control	FA†	<i>Glomus intraradices</i>
<i>Cassia siamea</i> Lam.	<i>Fabaceae</i>	0 a	19.1 (16.8)‡ a§	0 a	0 a
<i>Corchorus tridens</i> L.	<i>Tiliaceae</i>	60.9 (6.9) b	6.48 (5.3) a	0 a	119 (12.9) c
<i>Dactyloctenium aegyptium</i> (L.) Willd	<i>Poaceae</i>	167 (55.7) b	1.30 (0.6) a	0 a	1.48 (0.78) a
<i>Digitaria horizontalis</i> Willd	<i>Poaceae</i>	103 (7.8) d	9.34 (3.4) b	0 a	44.9 (7.5) c
<i>Eragrostis tremula</i> Hochst. ex Steud	<i>Poaceae</i>	1678 (16.7) d	73.2 (2.2) b	54.3 (3.7) a	519 (97.4) c
<i>Euphorbia hirta</i> L.	<i>Euphorbiaceae</i>	386 (3.5) d	87.5 (6.9) c	0 a	37.6 (4.9) b
<i>Euphorbia viridis</i> Klotzsch & Garcke ex Klotzsch	<i>Euphorbiaceae</i>	16.9 (7.9) b	0 a	0 a	0 a
<i>Leucas martinicensis</i> (Jacq.) R. Br.	<i>Lamiaceae</i>	177 (17.2) b	0 a	0 a	1.9 (1.9) a
<i>Oldenlandia corymbosa</i> L.	<i>Rubiaceae</i>	0 a	0 a	8.4 (8.4) a	595 (54.5) b
<i>Polycarpaea corymbosa</i> (L.) Lam	<i>Caryophyllaceae</i>	8.60 (5.5) a	0 a	0 a	58.6 (5.6) b
<i>Sesamoides</i> sp.	<i>Resedaceae</i>	423 (49.2) b	0 a	0 a	0 a
<i>Spermacoce radiata</i> Sieber ex DC.	<i>Rubiaceae</i>	555 (59.7) c	56.7 (5.7) b	2.26 (2.26) a	16.6 (16.6) a
<i>Spermacoce chaetocephala</i> DC.	<i>Rubiaceae</i>	847 (87.1) b	0 a	0 a	0 a
<i>Sporobolus festinus</i> A. Rich.	<i>Poaceae</i>	0 a	0 a	9.7 (2.7) a	0 a

*Without *Eucalyptus camaldulensis* seedlings.

†Preplanting fertilizer application.

‡SEM.

§Data in the line followed by the same letter are not significantly different according to Newman–Keuls test ($P < 0.05$).

Soil and bacterial communities analysis

After 12 months' further culture in nondisinfected soil, the chemical characteristics of soils (pH, total soil organic C, total organic N, total soil P and soluble P) were not significantly different within all the treatments (data not shown).

The 16S rRNA gene-DGGE patterns of the total bacterial communities from the control, preplanting fertilizer appli-

cation, *G. intraradices* and without *E. camaldulensis* treatments are presented in Fig. 1. Numerous DGGE bands of various intensities that resulted from differences between the 16S rRNA gene sequences of different bacterial species were detected. They ranged in mobility *c.* from 30% to 60% of the denaturing gradient with different DGGE patterns between each treatment (Fig. 1). The PCR-DGGE displayed complex profiles reflecting changes in the structure of the total bacterial communities under the different treatments.

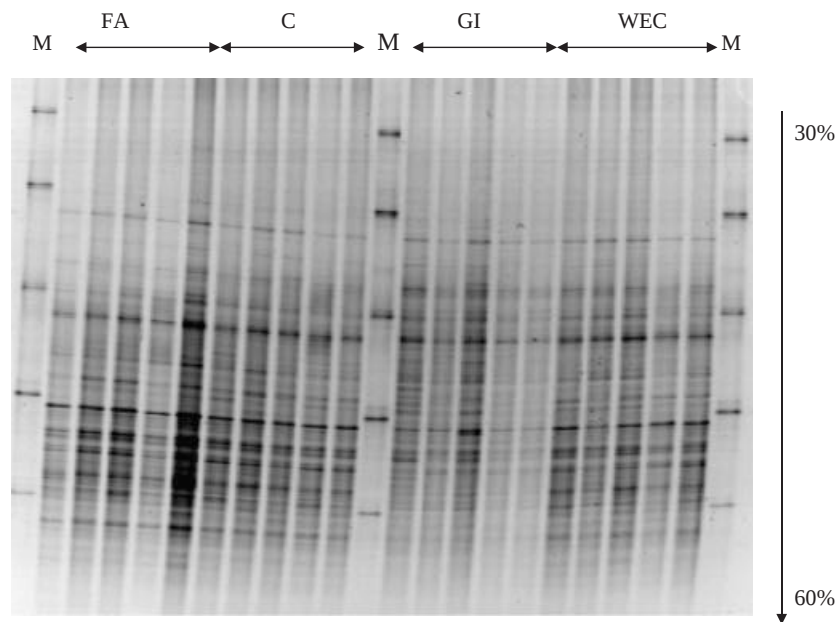


Fig. 1. DGGE of 16S rRNA gene of total soil bacterial communities in the soil without *Eucalyptus camaldulensis* (WEC), control (C), preplanting fertilizer application (FA) and AM inoculation with *Glomus intraradices* (GI). Migration was performed with an 8% acrylamide gel. Percent values indicate the percentage of denaturants at each position. M, marker, composed of PCR products generated from the following bacteria strains (from top to bottom): *Clostridium* sp., *Enterococcus cecorum*, *Bacteroidaceae* sp., *Pseudomonocardia zijingensis*, *Actinobacteria* sp.

Nevertheless, the banding patterns from different soil treatments shared most of the DGGE bands, indicating that a common bacterial population colonized the soil regardless of those treatments. The soils collected from the preplanting fertilizer application and control treatments displayed relatively common complex banding patterns while the DGGE banding profiles revealed by soils kept without *E. camaldulensis* and from *G. intraradices* treatment seemed to be related (Fig. 1). Hierarchical cluster analysis of the DGGE results for the five repetitions (1, 2, 3, 4, 5) and the four treatments (control, preplanting fertilizer application, *G. intraradices* and without *E. camaldulensis* treatments) are presented in Fig. 2. The scale gives the distances, computed by the Ward method, between repetitions and tree nodes. The analysis displayed four main clusters grouped into two related branches. The results indicated that the community structure of the *G. intraradices* and without *E. camaldulensis* treatments appeared to be related while control and preplanting fertilizer application treatments were grouped in the same branch (Fig. 2).

The permutation test of BGA showed that the four treatments gave very different substrate-induced respiration profiles ($P < 0.001$). The 20 soil samples were grouped by stars according to the soil treatments (Fig. 3b). The four treatments were very well separated, with the soil kept without *E. camaldulensis* on the left, preplanting fertilizer application in the upper right, *G. intraradices* in the middle,

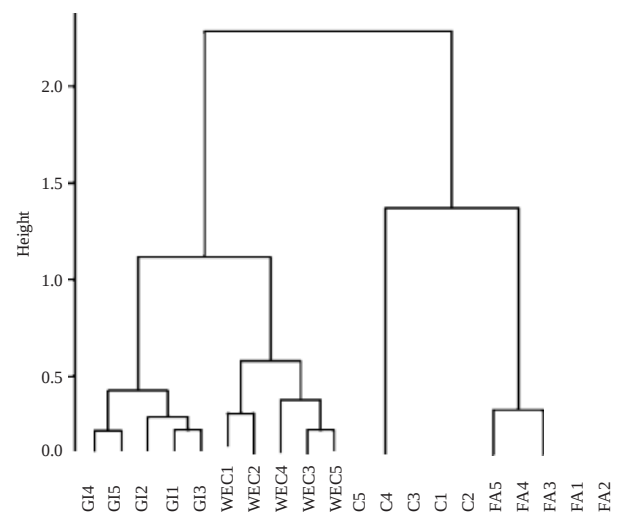


Fig. 2. Similarities between PCR-DGGE profiles obtained from bacterial communities in each soil treatments: without *Eucalyptus camaldulensis* seedlings (WEC), control (C), preplanting fertilizer application (FA) and AM inoculation with *Glomus intraradices* (GI).

and the control in the lower right of the figure. The substrates preferentially used in samples collected from the control treatment were tartaric acid and cystein (Fig. 3a). Conversely, the substrate preferentially used in preplanting fertilizer application soil samples was ketoglutaric acid,

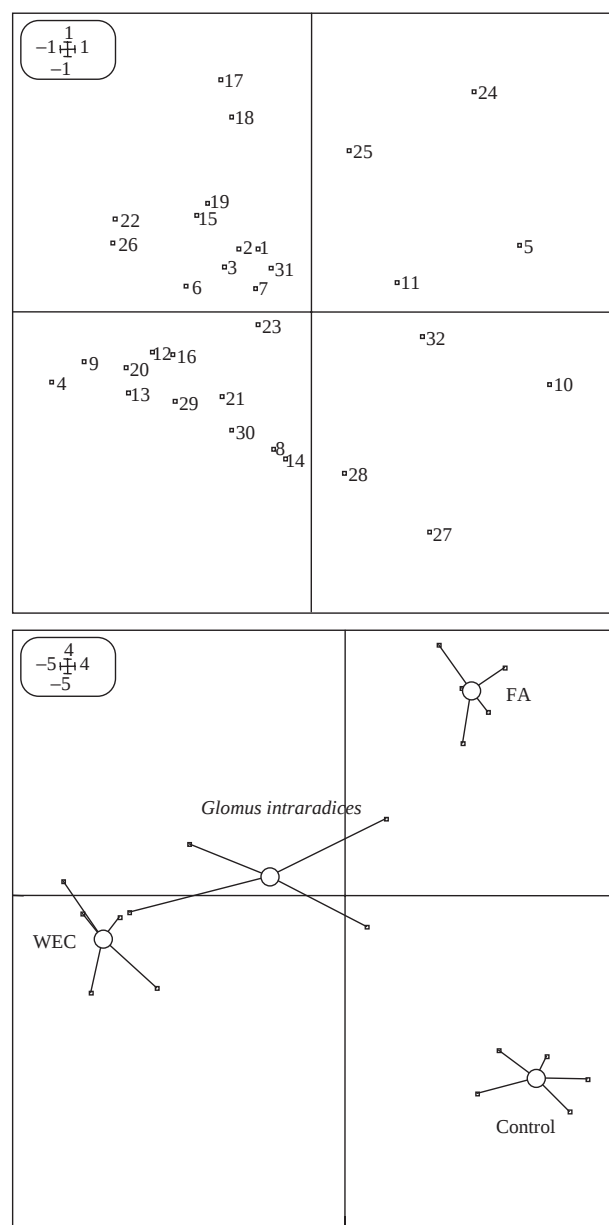


Fig. 3. Between-group analysis (BGA) of the SIR responses with respect to the soil treatments. WEC, without *Eucalyptus camaldulensis* seedlings. FA, preplanting fertilizer application. 1, L-phenylalanine; 2, L-glutamine; 3, L-serine; 4, L-arginine; 5, L-asparagine; 6, L-histidine; 7, L-lysine; 8, L-glutamic acid; 9, L-tyrosine; 10, L-cysteine; 11, D-glucose; 12, D-mannose; 13, sucrose; 14, D-glucosamine; 15, N-methyl-D-glucamine; 16, succinamide; 17, ascorbic acid; 18, citric acid; 19, fumaric acid; 20, gluconic acid; 21, quinic acid; 22, malonic acid; 23, formic acid; 24, α -ketoglutaric acid; 25, α -ketobutyric acid; 26, succinic acid; 27, tartaric acid; 28, uric acid; 29, oxalic acid; 30, gallic acid; 31, malic acid; 32, DL- α -hydroxy-butyric acid.

whereas they were arginine and tyrosine for the soil samples kept without *E. camaldulensis* (Fig. 3a).

The catabolic evenness in the *G. intraradices* treatment was significantly higher than those recorded in the other

treatments and the lowest catabolic evenness was found in the preplanting fertilizer application treatment (Table 5). The average SIR responses to amides and carbohydrates were significantly higher in soil from the treatment without *E. camaldulensis* than in the other treatments (Table 5). A significantly higher response to carboxylic acids was recorded in soil from the preplanting fertilizer application treatment (Table 5). The average SIR response to amino acids ranged among the treatments as follows: without *E. camaldulensis* > preplanting fertilizer application > control and *G. intraradices* treatments (Table 5).

The regression model between the extent of AM colonization and soil dilutions for the four different treatments showed that the treatment and the percentage of soil dilution both had very strong effects ($P < 0.0001$), but their interaction was nonsignificant ($P = 0.2322$) (Fig. 4). The differences between the control and the preplanting fertilizer application treatments ($P = 0.3007$) and between the treatments with *G. intraradices* and without *E. camaldulensis* ($P = 0.9748$) were not significant. However, the differences between the control and the *G. intraradices* treatments ($P = 0.0031$) and between the preplanting fertilizer application treatment and that without *E. camaldulensis* ($P < 0.0001$) were extremely significant.

Relationships between microbial functions, mycorrhizal soil infectivity, *Eucalyptus* and herbaceous species development

Significant positive correlations were recorded between hyphal length and above-ground biomass ($r = 0.64$, $P = 0.002$) and below-ground biomass of the herbaceous layer ($r = 0.47$, $P = 0.03$), hyphal length and catabolic evenness of the soil treatments ($r = 0.45$, $P = 0.04$). The root biomass of noninoculated *E. camaldulensis* plants (control and preplanting fertilizer application treatments) was negatively correlated to the above-ground biomass ($r = 0.82$, $P = 0.0002$) and below-ground biomass of the herbaceous layer ($r = 0.74$, $P = 0.001$), and hyphal length ($r = 0.73$, $P = 0.002$). Root growth of *E. camaldulensis* was more particularly negatively linked with the species richness of the herbaceous layer and with the soil catabolic evenness (Fig. 5).

Discussion

This study clearly shows that *E. camaldulensis* can significantly alter soil bacterial community when it has to compete for an AM fungus. Both the bacterial community structure (assessed by DGGE profiles) and function (assessed by SIR responses and soil catabolic evenness) were significantly affected. The changes in the bacterial structure and function were accompanied by changes in the composition of the herbaceous plant species layer. Since *Eucalyptus* plants in

Table 5. Catabolic evenness and average SIR responses ($\mu\text{g CO}_2\text{g}^{-1}\text{soil h}^{-1}$) with each substrate group (carboxylic acids, amino acids, amides and carbohydrates) in the four soil treatments

	Treatments			
	WEC*	Control	FA†	<i>Glomus intraradices</i>
Catabolic evenness	16.9 (0.62) [‡] b [§]	17.8 (0.87) b	9.6 (0.51) a	20.7 (1.08) c
Carboxylic acids	236 (5.3) b	209 (10.4) a	293 (6.2) c	201 (11.6) a
Amino acids	131 (7.1) bc	107 (5.1) a	112 (7.5) ab	136 (9.1) c
Amides	191 (22.9) b	118 (9.7) a	120 (15.8) a	94.7 (14.4) a
Carbohydrates	239 (50.4) b	126 (9.1) a	117 (13.2) a	123 (10.9) a

*Without *Eucalyptus camaldulensis* seedlings.

†Preplanting fertilizer application.

‡SEM.

§Data in the line followed by the same letter are not significantly different according to Newman–Keuls test ($P < 0.05$).

association with *G. intraradices* did not heavily influence the soil biology and the structure of the herbaceous layer, the results of the present study highlighted the role of AM symbiosis and more particularly, the mycorrhizal soil infectivity, in the processes involved in soil bio-functioning and plant coexistence.

The effects of *Eucalyptus* spp. on soil quality vary greatly according to the type of site on which the plantations have been established. It has been shown that an *E. camaldulensis* monoculture plantation in a previously natural *Shorea robusta* forest site resulted in an increase in the soil pH but did not change soil fertility (Jha & Pande, 1984). In contrast, it has been reported that soil-chemical properties (organic carbon, total N, P and K) declined following reforestation with *Eucalyptus*, and further declined with plantation age (Bargali et al., 1993). Moreover, previous research has shown that exotic plant species can cause an increased pH in soils as well as higher nitrification rates and more available nitrate (Callaway, 1995; Kourtev et al., 1998, 1999, 2003; Ehrenfeld et al., 2001). In the present study, no significant changes in soil chemical characteristics have been recorded which could be explained by the relatively short duration of *E. camaldulensis* culture.

Our results showed that the development of herbaceous plant species was inhibited in the presence of *E. camaldulensis* plants (more particularly with non-AM-inoculated plants) and that this negative effect was linked with the *Eucalyptus* root growth. In field conditions, *Eucalyptus* drastically alters the annual vegetation by establishing gradients of toxicity in an otherwise relatively uniform environment (del Moral & Muller, 1970). These allelopathic interferences usually occur in the ecotone where *Eucalyptus* litter accumulates. In our experiment, the litter does not accumulate in the containers and the lack of herbs cannot result from the release of toxins from eucalyptus litter. It has been also reported that many compounds released from plant roots had deleterious effects on other plants (Inderjit & Mallik, 1997; Callaway & Aschehoug, 2000; Callaway,

2002). It suggests that these substances could act as allelochemicals as has been previously demonstrated with *Centaurea diffusa* and *C. maculosa*, which induce through their root exudates a strong negative effect on Bunchgrass species in North America (Callaway & Aschehoug, 2000).

In addition, the noninoculated *E. camaldulensis* plants have induced severe disturbances in soil microbial communities. These changes were mainly dependent on the extent of root growth. It has been well established that the structure and functional diversity of microbial communities in the soil were mainly dependent on aboveground plant composition (Grayston et al., 2001). More recently, it has been demonstrated that an invasive plant (*Alliaria petiolata*, garlic mustard) can disrupt native microbial communities by eliminating the activity of native AM fungi from the soil (Stinson et al., 2006). These authors showed that garlic mustard inhibited AM formation in native tree species through phytochemical inhibition, more particularly by reducing germination rates of native AM spores (Stinson et al., 2006). In the study, a similar process has been found as *Eucalyptus* drastically reduced mycorrhizal potentials and more particularly mycelial networks. These negative impacts could result from phytochemical inhibitions of AM fungal communities but also from *Eucalyptus* allelopathic effects on herbaceous plant species that, consequently, could not be involved in the development of native AM fungi. The experiment cannot separate a direct effect of root exudates on AM fungal communities and an indirect effect on AM fungi through a decrease of the herbaceous layer. However, root systems of *E. camaldulensis* were predominant in each container compared with the root extent of herbaceous plant species (more particularly in the preplanting fertilizer application treatment) and it could be assumed that the role of annual herbs could be negligible in AM formation and other microbial components.

Disturbances of AM soil infectivity were accompanied with a strong decrease of the soil catabolic evenness. It has been hypothesized that decreases in the microbial catabolic

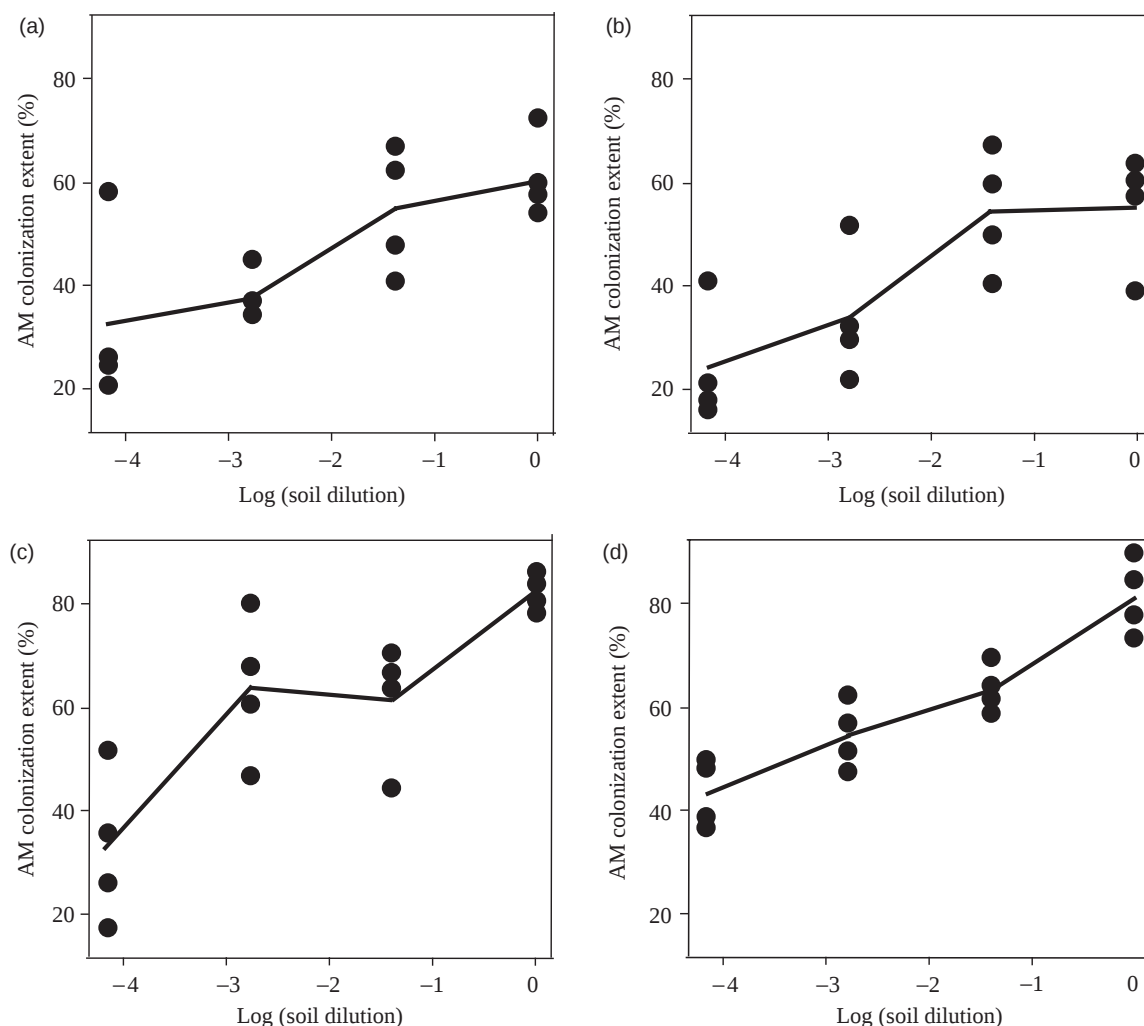


Fig. 4. Regression model between the extent of AM colonization and soil dilutions in each soil treatment. (a) Control; (b) preplanting fertilizer application; (c) AM inoculation with *Glomus intraradices*; (d) without *Eucalyptus camaldulensis* seedlings.

diversity will cause declines in the resistance of soils to stress or disturbances (Giller *et al.*, 1997). In the present study, the catabolic evenness of the soil was 16.9, which was in accordance with previous studies where catabolic evenness for soils under cropping ranged from 16.4 to 19.6 (Degens *et al.*, 2000). After 12 months' culture, fertilized *E. camaldulensis* plants had significantly decreased soil catabolic evenness to 9.6, which is rather low compared to the literature (Degens *et al.*, 2000). In addition, changes in microbial catabolic evenness were related to changes in the structure of bacterial communities. The functional diversity of microbial communities includes a vast range of activities as nutrient transformation, decomposition, plant growth promotion and modification of soil physical processes (Wardle *et al.*, 1999). The measurement of catabolic response profiles assesses the catabolic diversity of microbial communities

involved in decomposition activities (Degens *et al.*, 2000). The data suggest that *E. camaldulensis* depleted this catabolic diversity by reducing or eliminating some components of soil microbial communities involved in the decomposition of organic C fraction. A higher average SIR response with carboxylic acids was also recorded from the soils collected under fertilized *Eucalyptus*. Organic acids increase the solubility and rate of inorganic P uptake (Grayston *et al.*, 1996). It is well known that this way of phosphate acquisition is important for plants adapted to acid mineral soils with very low inorganic phosphate availability, such as for *Eucalyptus* spp. (Mulette *et al.*, 1974). Hence, large amounts of carboxylic acids could exert a selective influence on soil microbial communities through a multiplication of carboxylic acid catabolizing microorganisms while inducing a higher SIR response.

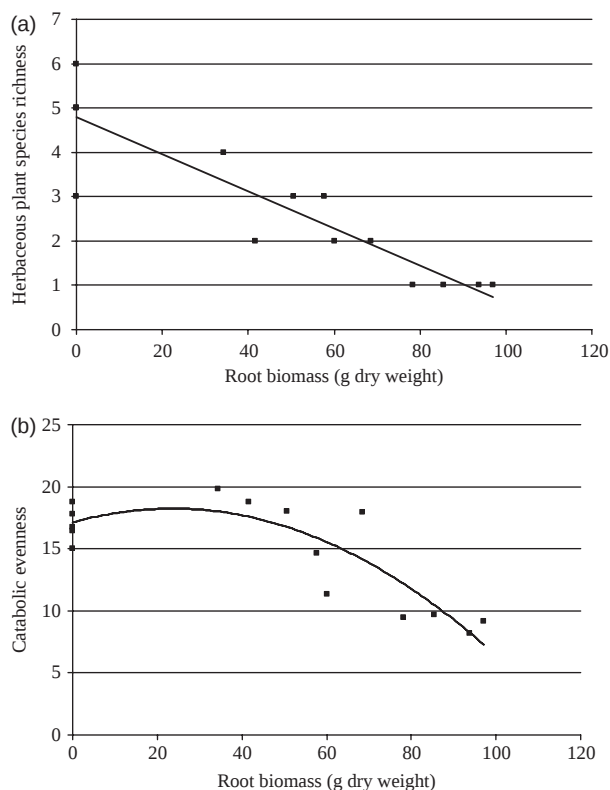


Fig. 5. Correlations between root biomass of noninoculated *Eucalyptus camaldulensis* plants (control and preplanting fertilizer application treatments) and (a) herbaceous plant species richness ($y = 4.8 - 0.42x$, $r = 0.91$, $P < 0.0001$) and (b) soil catabolic evenness ($y = -0.002x^2 + 0.096x + 117.1$, $r = 0.86$, $P = 0.0003$).

The inoculation of *G. intraradices* is highly beneficial to the growth of *E. camaldulensis* in the disinfected sandy soil, and this stimulating effect is kept during 12 months' culture in containers filled with the same soil but nondisinfected. This result is in accordance with other studies, from which it has been established that this fungal isolate was very efficient on the growth of other plant species (Villenave *et al.*, 2003; Duponnois & Plenchette, 2003; Duponnois *et al.*, 2005). Moreover, the fungal inoculation tends to return the soil to its initial conditions with a similar bacterial community structure and higher catabolic evenness and soil mycorrhizal potential. AM symbiosis generally increases root exudation (Grayston *et al.*, 1996), influences carbohydrate metabolism of the host plant (Shachar-Hill *et al.*, 1995) and influences rhizosphere microbial communities (Johansson *et al.*, 2004). AM hyphae exude chemical compounds that have a selective effect on the microbial communities in the rhizosphere and in the soil (Andrade *et al.*, 1998). Together, these microbial compartments are commonly named 'mycorrhizosphere' (Linderman, 1988). From the present study, it is clearly demonstrated that this AM fungal inoculation effect on the composition and function of soil microbial communities

was not root growth dependent but was mainly due to the presence of the AM fungus and more particularly to the extramatrical mycelium. Van der Heijden *et al.* (1998) argued that an increase in hyphal lengths led to a higher plant diversity, ecosystem variability and productivity. These results underline the importance of the extramatrical mycelium in soil microbial interactions and in the evolution of ecosystems. It has been suggested that catabolic evenness was an integrative indicator of the susceptibility of microbial communities to changes in soil conditions (Degens *et al.*, 2001). Hence, soils with high catabolic evenness are more resistant to stress and disturbance. The results highlight the importance of AM symbiosis in the functioning of soils and its importance in sustainable agriculture (Jeffries *et al.*, 2003).

In addition, AM inoculation has increased the development of herbaceous plant species under inoculated *E. camaldulensis* plants. This positive effect could result from the well-developed mycelial network by equalizing the distribution of soil resources among competitively dominant and subdominant species (Wiersel, 2004). But it is also known that microorganisms can act as allelochemical mediators, inactivating or metabolizing toxic compounds and it has been suggested that AM fungi, associated with their mycorrhizosphere microbial communities, could protect seedlings from allelopathy (Pellissier & Souto, 1999; Blum *et al.*, 2000; Renne *et al.*, 2004).

In conclusion, this study shows that exotic plant species can drastically affect soil microbial community and alter both the community structure and function. These changes are significantly correlated with the antagonistic effects of *E. camaldulensis* against herbaceous plant species. The negative impact of this exotic tree species is significantly modified when it is inoculated with an efficient AM fungus. Although these biological interactions are clearly demonstrated from the present study, field-based experimental research must be undertaken to determine the impact of AM potential on the interactions between plant species, especially between exotic and native plant species.

Acknowledgements

The authors are very grateful to Mr Sy Sekou (IRD, Burkina Faso) for his technical assistance.

References

- Andrade G, Mihara KL, Linderman RG & Bethlenfalvay GJ (1998) Soil aggregation status and rhizobacteria in the mycorrhizosphere. *Plant Soil* **202**: 89–96.
- Assigbetse K, Gueye M, Thioulouse J & Duponnois R (2005) Soil bacterial diversity responses to root colonization by an

- ectomycorrhizal fungus are not root-growth dependent. *Microbial Ecol* **50**: 350–359.
- Bargali SS, Singh RP & Joshi M (1993) Changes in soil characteristics in eucalypt plantations replacing natural broad-leaved forests. *J Veg Sci* **4**: 25–28.
- Blum U, Statman KL, Flint LJ & Shaefer SR (2000) Induction and/or selection of phenolic acid-utilizing bulk-soil and rhizospheric bacteria and their influence on phenolic acid phytotoxicity. *J Chem Ecol* **26**: 2059–2078.
- Brundrett MC, Piche Y & Peterson RL (1985) A developmental study of the early stages in vesicular-arbuscular mycorrhizal formation. *Can J Bot* **63**: 184–194.
- Callaway RM (1995) Positive interactions among plants. *Bot Rev* **61**: 306–349.
- Callaway RM (2002) The detection of neighbors by plants. *Trends Ecol Evol* **17**: 104–105.
- Callaway RM & Aschehoug ET (2000) Invasive plants versus their new and old neighbors: a mechanism for exotic evasion. *Science* **290**: 521–523.
- Callaway RM & Ridenour WM (2004) Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Front Ecol Environ* **2**: 436–443.
- Chippendale GM (1988) Flora of Australia, Volume 19, Myrtaceae, *Eucalyptus*, *Angophora*. Australian Government Publishing Services, Canberra.
- Costermans LF (1989) Native trees and shrubs of south-eastern Australia, Weldon, Sydney.
- Couto L & Betters DR (1995) *Short Rotation Eucalypt Plantations in Brazil: Social and Environmental Issues*. Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, TN.
- Culhane AC, Perriere G, Considine EC, Cotter TG & Higgins DG (2002) Between-group analysis of microarray data. *Bioinformatics* **18**: 1600–1608.
- Degens BP & Harris JA (1997) Development of a physiological approach to measuring the metabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biol Biochem* **29**: 1309–1320.
- Degens BP & Vojvodic-Vukovic M (1999) A sampling strategy to assess the effects of land use on microbial functional diversity in soils. *Aust J Soil Res* **37**: 593–601.
- Degens BP, Schipper LA, Sparling GP & Vojvodic-Vukovic M (2000) Decreases in organic C reserves in soils can reduce the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biol Biochem* **32**: 189–196.
- Degens BP, Shipper LA, Sparling GP & Duncan LC (2001) Is the microbial community in a soil with reduced catabolic diversity less resistant to stress or disturbance? *Soil Biol Biochem* **33**: 1143–1153.
- del Moral R & Muller CH (1970) The allelopathic effects of *Eucalyptus camaldulensis*. *Am Midland Nat* **83**: 254–282.
- Dolédéc S & Chessel D (1989) Rythmes saisonniers et composantes stationnelles en milieu aquatique II- Prise en compte et élimination d'effets dans un tableau faunistique. *Acta Oecol* **10**: 207–232.
- Duponnois R & Plenchette C (2003) A mycorrhiza helper bacterium (MHB) enhances ectomycorrhizal and endomycorrhizal symbiosis of Australian *Acacia* species. *Mycorrhiza* **13**: 85–91.
- Duponnois R, Colombet A, Hien V & Thioulouse J (2005) The mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendment influence plant growth and microbial activity in the rhizosphere of *Acacia holosericea*. *Soil Biol Biochem* **37**: 1460–1468.
- Ehrenfeld J, Kourtev P & Huang W (2001) Changes in soil functions following invasions of exotic understory plants in deciduous forests. *Ecol Appl* **11**: 1287–1300.
- Evans J (1982) *Plantation Forestry in the Tropics*. Clarendon Press, Oxford.
- Giller KE, Beare MH, Lavelle P, Izac A-MN & Swift MJ (1997) Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. *Appl Soil Ecol* **6**: 3–16.
- Grayston SJ, Vaughan D & Jones D (1996) Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. *Appl Soil Ecol* **5**: 29–56.
- Grayston SJ, Griffith GS, Mawdsley JL, Campbell CD & Bardgett RD (2001) Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. *Soil Biol Biochem* **33**: 533–551.
- Heinemeyer O, Insam H, Kaiser EA & Walenzik G (1989) Soil microbial biomass and respiration measurements: an automated technique based on infrared gas analysis. *Plant Soil* **116**: 77–81.
- Hobbs RJ & Huenneke LF (1992) Disturbance, diversity and invasion: Implications for conservations. *Conserv Biol* **6**: 324–337.
- Huberty CJ (1994) *Applied Discriminant Analysis*. John Wiley & Sons, New York.
- Inderjit K & Mallik AU (1997) Effect of phenolic compounds on selected soil properties. *Forest Ecol Manage* **92**: 11–18.
- Jakobsen I & Rosendahl L (1990) Carbon flow into soil and external hyphae from roots of mycorrhizal cucumber plants. *New Phytol* **115**: 77–83.
- Jeffries P, Gianinazzi S, Perotto S, Turnau K & Barea JM (2003) The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biol Fertil Soils* **37**: 1–16.
- Jha MN & Pande P (1984) Impact on growing *Eucalyptus* and sal monocultures on soil in natural sal area of Doon Valley. *Indian Forester* **110**: 16–22.
- Johansson JE, Paul LR & Finlay RD (2004) Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiol Ecol* **48**: 1–13.
- Klironomos JN, McCune J, Hart M & Neville J (2000) The influence of arbuscular mycorrhizae on the relationship between plant diversity and productivity. *Ecol Lett* **3**: 137–141.
- Kourtev P, Ehrenfeld J & Huang W (1998) Effects of exotic plant species on soil properties in hardwood forests of New Jersey. *Water Air Soil Pollut* **105**: 493–501.

- Kourtev P, Huang W & Ehrenfeld J (1999) Differences in earthworm densities and nitrogen dynamics in soils under exotic and native plant species. *Biol Inv* **1**: 237–245.
- Kourtev P, Ehrenfeld J & Häggblom M (2003) Experimental analysis of the effect of exotic and native plant species on the structure and function of soil microbial communities. *Soil Biol Biochem* **35**: 895–905.
- Krebs CJ (1989) *Ecology Methodology*. Harper Collins Publishers, New York.
- Levine JM & D'Antonio CM (1999) Elton revisited: a review of evidence linking diversity and invasibility. *Oikos* **87**: 15–26.
- Linderman RG (1988) Mycorrhizal interactions with the rhizosphere microflora: the mycorrhizosphere effect. *Phytopathology* **78**: 366–371.
- Magurran AE (1988) *Ecological Diversity and its Measurement*. Croom Helm, London.
- Marler MJ, Zabinski CA & Callaway RM (1999) Mycorrhizae indirectly enhance competitive effects of an invasive forb on a native bunchgrass. *Ecology* **80**: 1180–1186.
- Mooney HA & Hobbs RJ (2000) *Invasive Plants in a Changing World*. Island Press, Washington, DC.
- Mulette KL, Hannon NJ & Elliot AGL (1974) Insoluble phosphorus usage by *Eucalyptus*. *Plant Soil* **41**: 199–205.
- Muyzer G, De Waal EC & Uitterlinden AG (1993) Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain-reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl Environ Microb* **59**: 695–700.
- N.A.S. (1980) *Firewood Crops. Shrub and Tree Species for Energy Production*. National Academy of Sciences, Washington, DC.
- O'Connor PJ, Smith SE & Smith FA (2002) Arbuscular mycorrhizas influence plant diversity and community structure in a semiarid herbland. *New Phytol* **154**: 209–218.
- Ovreas L, Forney L, Daae FL & Torsvik V (1997) Distribution of bacterioplankton in meromictic Lake Saelenvannet, as determined by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified gene fragments coding for 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol* **63**: 3367–3373.
- Parrotta JA (1993) Secondary forest regeneration on degraded tropical lands. The role of plantations as “foster ecosystems”. *Restoration of Tropical Forest Ecosystems* (Leith H & Lohmann M, eds), pp. 63–73. Kluwer Academic Publishers.
- Pellissier F & Souto X (1999) Allelopathy in Northern temperate and boreal semi-natural woodland. *Crit Rev Plant Sci* **18**: 637–652.
- Phillips JM & Hayman DS (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans Br Mycol Soc* **55**: 158–161.
- Pinheiro JC & Bates DM (2000) *Mixed-Effects Models in S and S-PLUS*. Springer, New York.
- R Development Core Team (2006) *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>
- Rejmanek M (2000) Invasive plants: approaches and predictions. *Aust Ecol* **25**: 497–506.
- Renne IJ, Rios BG, Fehmi JS & Tracy BF (2004) Low allelopathic potential of an invasive forage grass on native grassland plant: a cause for encouragements? *Basic Appl Ecol* **5**: 261–269.
- Richardson DM, Allsopp N, D'Antonio CM, Milton SJ & Rejmanek M (2000) Plant invasion—the role of mutualisms. *Biol Rev Camb Philos Soc* **75**: 65–93.
- Schreiner RP & Bethlenfalvay GJ (1995) Mycorrhizal interactions in sustainable agriculture. *Crit Rev Biotech* **15**: 271–285.
- Schreiner RP, Mihara KL, Mc Daniel H & Bethlenfalvay GJ (2003) Mycorrhizal fungi influence plant and soil functions and interactions. *Plant Soil* **188**: 199–209.
- Shachar-Hill Y, Pfeffer PE, Douds D, Osman SF, Doner LW & Ratcliffe RG (1995) Partitioning of intermediary carbon metabolism in vesicular-arbuscular mycorrhizal leeks. *Plant Physiol* **108**: 7–15.
- Shine C, Williams N & Gundling L (2000) *A guide to designing legal and institutional frameworks on alien invasive species*. Vol. 40. IUCN, Switzerland.
- Stinson KA, Campbell SA, Powell JR, Wolfe BE, Callaway RM, Thelen GC, Hallett SG, Prati D & Klironomos JN (2006) Invasive plant suppresses the growth of native tree seedlings by disrupting belowground mutualisms. *PLOS Biol* **4**: 727–731.
- Thébaud C & Simberloff D (2001) Are plants really larger in their introduced ranges? *Am Nat* **157**: 231–236.
- Thioulouse J, Chessel D, Dolédec S & Olivier JM (1997) ADE-4: a multivariate analysis and graphical display software. *Stat Comput* **7**: 75–83.
- van der Heijden MGA, Klironomos JN, Ursic M, Moutoglis P, Streitwolf-Engel R, Boller T, Wiemken A & Sanders IR (1998) Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* **396**: 72–75.
- van der Heijden MGA, Wiemken A & Sanders IR (2003) Different arbuscular mycorrhizal fungi alter coexistence and resource distribution between co-occurring plant. *New Phytol* **157**: 569–578.
- Venables WN & Ripley BD (2002) *Modern Applied Statistics*. Springer, New York.
- Villena C, Leye K, Chotte JL & Duponnois R (2003) Nematofauna associated with the mycorrhizosphere and hyphosphere of *Glomus intraradices* and exotic or native leguminous plant species mycorrhizal formation in West Africa. *Biol Fert Soils* **38**: 161–169.
- Wardle DA, Giller KE & Barker GM (1999) The regulation and functional significance of soil biodiversity in agro-ecosystems. *Agrobiodiversity: Characterisation, Utilisation and Management* (Wood D & Lenné JM, eds), pp. 87–121. CABI, London.
- West HM (1996) Influence of arbuscular mycorrhizal infection on competition between *Holcus lanatus* and *Dactylis glomerata*. *J Ecol* **84**: 429–438.
- West AW & Sparling GP (1986) Modifications to the substrate-induced respiration method to permit measurements of microbial biomass in soils of different water contents. *J Microbiol Meth* **5**: 177–189.
- Wirsal SGR (2004) Homogenous stands of wetland grass harbour diverse consortia of arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microb Ecol* **48**: 129–138.

Partie IV :

*Interactions plante invasive - Acacias sahéliens :
étude des effets post-invasion sur le biofonctionnement du sol
et la croissance des Acacias sahéliens, et effets de
l'inoculation mycorhizienne sur la régénération des Acacias*

5. Partie IV : INTERACTIONS PLANTE INVASIVE – ACACIAS SAHELIENS : ETUDE DES EFFETS POST-INVASION SUR LE BIOFONCTIONNEMENT DU SOL ET LA CROISSANCE DES ACACIAS SAHELIENS, ET EFFETS DE L’INOCULATION MYCORHIZIENNE SUR LA REGENERATION DES ACACIAS

Cette partie porte sur l’étude de certaines modifications induites dans le sol suite à l’installation d’une plante exotique invasive, *Amaranthus viridis*, et les implications de ces modifications sur la croissance et la colonisation des racines de cinq espèces d’*Acacia* sahéliens par leurs partenaires symbiotiques (champignons MA, Rhizobia). En outre, nous avons étudié l’effet de l’inoculation des plants par un champignon MA sur la croissance des plants après invasion. Les résultats obtenus de ces expérimentations sont présentés dans l’article 5.

Article 5 :

Sanon A, Beguiristain T, Cébron A, Berthelin J, Leyval C, Sylla S, Duponnois R. Changes in soil diversity and functions following invasions of the exotic invasive plant, *Amaranthus viridis* L., decrease the growth of native sahelian *Acacia* species. (soumis à FEMS Microbiology Ecology).

Un sixième article qui doit figurer dans “*Proceedings Book of 3IMEBE*” et qui n’expose qu’une partie des résultats de cette étude avec *Amaranthus viridis* figure en annexe du manuscrit de thèse.

5.1. Introduction

L'invasion par des espèces végétales exotiques induit de profondes et diverses modifications dans la flore et la faune des écosystèmes hôtes (Adair & Groves, 1998). De nombreux processus biologiques sont susceptibles de favoriser les mécanismes d'invasion des plantes, notamment leur grande capacité d'installation dans les sites d'introduction, la "protection" de leurs ennemis naturels dans leur nouvel habitat, la production et la libération dans leur environnement de composés allélopathiques, les perturbations dans la capacité de résistance aux invasions des écosystèmes hôtes (de Moral & Muller, 1970 ; Levine & D'Antonio, 1999, Callaway & Ridenour, 2004). Ces perturbations dans les communautés végétales indigènes influencent la structure, la composition et la dynamique des peuplements végétaux. En outre, il a été suggéré que les plantes exotiques pouvaient fortement interagir avec les communautés microbiennes du sol et perturber les associations mutualistes dans le sol, pourtant indispensables à la survie des espèces natives (Richardson *et al.*, 2000 ; Callaway & Ridenour, 2004 ; Stinson *et al.*, 2006). Une des voies majeures de succès des plantes exotiques invasives serait ces modifications profondes aussi bien dans la structure que dans le fonctionnement des communautés microbiennes telluriques créées par ces organismes exogènes (Kourtev *et al.*, 2003 ; Wolfe & Klironomos, 2005 ; Mummey & Rillig, 2006 ; Stinson *et al.*, 2006).

Les champignons mycorhiziens à arbuscules constituent une composante clef dans les relations sol – plantes (Johansson *et al.*, 2004). Cette symbiose mycorhizienne influence fortement la diversité dans les communautés végétales (van der Heijden *et al.*, 1998a) et affecte les relations entre plantes voisines *via* la création d'un vaste réseau mycélien (van der Heijden *et al.*, 2003). Les Rhizobia constituent un autre groupe de symbiotes mutualistes et ces derniers s'associent aux racines des légumineuses pour former des nodosités dans lesquelles ils fixent l'azote atmosphérique (Dommergues & Mangenot, 1970 ; Dommergues *et al.*, 1999). La symbiose rhizobienne joue un rôle crucial dans le développement du couvert végétal car la pauvreté des sols en azote constitue également l'un des facteurs limitant la productivité des écosystèmes naturels particulièrement en régions tropicales (Badji *et al.*, 1988).

Amaranthus viridis L. (*Amaranthaceae*) est une adventice annuelle originaire d'Amérique Centrale. Elle est maintenant largement répandue dans toutes les régions du monde entre 30° degrés de latitude sud et 30° degrés de latitude nord (Le Bourgeois & Merlier, 1995). Au Pakistan où cette espèce végétale est devenue invasive, Hussain *et al.* (2003) ont mis en évidence l'existence d'effets allélopathiques sur la germination et la croissance des plants de *Pennisetum americanum*, *Triticum*

aestivum et de *Zea mays*. Au Sénégal, cette espèce se rencontre dans les parcelles cultivées et de plus en plus, elle envahie les zones laissées en friche, les aires de pâturage, les zones de stockage des ordures ménagères et son développement est d'autant plus important que le sol est riche en nutriments (Le Bourgeois & Merlier, 1995). De vastes peuplements végétaux largement dominés par *A. viridis* se sont progressivement mis en place, compromettant ainsi la régénération des espèces natives (herbacées, arbustives et arborées). Parmi les espèces en danger, on peut citer le cas des Acacias sahéliens, espèces pionnières des régions sèches au sud du Sahara. Ils constituent l'une des espèces végétales capable de s'adapter aux conditions climatiques stressantes du Sahel et jouent ainsi un rôle écologique primordial dans ces régions (espèces largement utilisées dans les projets de revégétalisation et pour la fixation des dunes). Ces espèces constituent par ailleurs un complément de fourrage très important pour le bétail, fournissent également du bois, de la gomme arabique (importante source de devises pour les populations locales) et améliorent la fertilité des sols. Les Acacias sont des légumineuses capables de former des associations symbiotiques avec les champignons MA et les rhizobiums et dont ils dépendent pour leur survie.

L'objectif de cette étude était d'étudier les modifications chimiques et microbiologiques du sol suite à l'invasion de *A. viridis* et de mettre en évidence les effets de ces modifications sur la croissance et la nodulation de cinq espèces d'*Acacia* largement répandues en Afrique de l'Ouest : *Acacia nilotica*, *A. raddiana*, *A. senegal*, *A. seyal* et *Faidherbia albida*. L'hypothèse scientifique sur laquelle repose ce travail est la suivante : "*Amaranthus viridis* va induire des modifications dans la structure et le fonctionnement des communautés microbiennes du sol et ces perturbations vont négativement affecter la colonisation des racines des plants d'*Acacia* par leurs partenaires symbiotiques et donc, la croissance des plantes. En revanche, l'inoculation des plants d'Acacias avec des propagules de champignons MA atténuerait l'effet dépressif de la plante invasive".

5.2. Démarche expérimentale

Le site expérimental de cette étude était localisé à la station expérimentale du centre de recherche IRD de Bel Air (14°43' N, 17°26' W) (Dakar, Sénégal). Le climat est semi-aride avec une longue saison sèche (6-8 mois), une température moyenne annuelle de 24°C et des précipitations annuelles moyennes de 300 mm (Gassama-Dia *et al.*, 2003). Les sols sont principalement de type ferrugineux tropical (Alfisol).

Dix points d'échantillonnage (quadrat de 1m x 1m) ont été répartis sur le site d'étude en fonction de la présence ou non de la plante invasive *A. viridis* (5 quadrats dans les zones envahies

par *A. viridis* et 5 autres quadrats dans les zones sans *A. viridis* colonisées par d'autres espèces herbacées mais non invasives). Du sol a été prélevé dans l'horizon 0 – 15 cm de profondeur dans chaque quadrat, soigneusement homogénéisé et tamisé (à 2 mm). Le pH_{eau}, les teneurs de C, N total, P total et P soluble (Aubert, 1978 ; Olsen *et al.*, 1954) ont été déterminés dans les échantillons de sol.

L'hydrolyse de la fluorescéine diacétate (mesure de l'activité microbienne totale) (Alef, 1998) et l'activité déshydrogénasique (renseignant sur la biomasse microbienne totale) (Prin *et al.*, 1989 ; Schinner *et al.*, 1996) ont été évaluées par des méthodes spectrophotométriques. La densité des populations bactériennes totales dans le sol a été déterminée par le nombre de copies du gène 16S en utilisant la technique de la PCR (*Polymerase Chain Reaction*) en temps réel (Cébron *et al.*, 2008) et leur structure en établissant les profils TTGE (*Temporal Thermal gradient Gel Electrophoresis*) des communautés bactériennes totales des sols (Corgié *et al.*, 2004). Une analyse en composante principale a été réalisée sur la base de l'intensité des bandes des profils TGGE afin de discriminer les deux types de sol.

La richesse des sols en propagules mycorhiziennes a été évaluée par extraction et détermination de la longueur des hyphes (Jakobsen *et al.*, 1992) et du nombre de spores (Gerdeman & Nicolson, 1963) dans les échantillons. En outre, la dépendance mycorhizienne de *A. viridis* a été analysée en évaluant la réponse de la plante à une série de doses d'inoculation par des propagules endomycorhiziennes (0, 3, 30, et 100) dans du sol stérilisé.

Trois expérimentations ont été réalisées en serre avec les 5 espèces d'*Acacia*. Dans la 1^{ère} expérimentation, les plants (un plant par pot avec 6 répétitions par traitement) ont été cultivés dans les sols avec 4 traitements : (1) sol non stérilisé prélevé sous *A. viridis*, (2) sol stérilisé (120°C pendant 60 min) prélevé sous *A. viridis*, (3) sol non stérilisé sans la plante invasive et (4) sol stérilisé sans la plante invasive. La 2^e expérimentation a consisté à cultiver les plants des *Acacias* dans du sol prélevé hors *A. viridis* mais préalablement conditionné par un extrait aqueux (obtenu par mélange de la matière sèche de la plante entière de *A. viridis* réduite en poudre et de l'eau distillée stérile) de la plante invasive ou par de l'eau distillée stérile (témoin). Dans la 3^e expérimentation, les plants d'*Acacia* ont été cultivés également dans des sols auxquels 4 traitements ont été appliqués : (1) sol sous *A. viridis*, (2) sol sous *A. viridis* inoculé par *Glomus intraradices*, (3) sol sans *A. viridis* et (4) sol sans *A. viridis* inoculé par *G. intraradices*.

Après 5 (expérimentation 1) ou 8 (expérimentations 2 et 3) mois de culture, les plantes ont été récoltées et séchées (65°C pendant 1 semaine) pour la détermination des poids des matières sèches et des nodosités formées. Le niveau de colonisation des racines des plants par les champignons MA a été évalué.

La capacité des plants d'*Acacia* à former des nodosités a été évaluée en conditions contrôlées en cultivant les plants dans des tubes Gibson (Gibson, 1963) contenant un milieu nutritif pauvre en azote (Vincent, 1970). Après 1 semaine de croissance, les tubes ont été inoculés par une de ces 3 solutions: sol sous *A. viridis* en suspension dans une solution tampon pH 7 (NaCl 0.15 M, KH_2PO_4 0.002 M, Na_2HPO_4 0.004 M), sol sans *A. viridis* en suspension dans la solution tampon et sol sans *A. viridis* en suspension dans la solution tampon à laquelle l'extrait aqueux de *A. viridis* a été rajouté. Après 6 semaines, les nodosités formées sont récoltées, comptées et séchées. L'effet antibactérien de l'extrait aqueux de *A. viridis* a également été étudié sur l'activité de 25 souches de Rhizobia isolées dans différentes régions sahéliennes à partir des 5 espèces d'*Acacia*. Pour cela, la croissance des souches rhizobiennes au contact de l'extrait aqueux de la plante invasive a été évaluée en examinant la formation de zones d'inhibition (formation de halos autour de disques de papier filtre préalablement stérilisés et imbibés de l'extrait aqueux).

5.3. Résultats

Analyse des caractéristiques chimiques, de l'activité et de la structure des communautés microbiennes des sols

Les teneurs en carbone, azote total, phosphore total et phosphore soluble sont significativement plus élevées dans les échantillons de sol prélevés sous la plante invasive *A. viridis* comparées aux teneurs des mêmes éléments en absence de la plante invasive. Les résultats indiquent également une nette augmentation des activités enzymatiques de la microflore (tableau 4). En outre, une augmentation significative du pH est observée suite à l'invasion (tableau 1 de l'article 6 en annexe). La valeur moyenne du pH des échantillons de sol en l'absence de *A. viridis* est de 7,8 alors qu'elle est de 8,4 pour les échantillons de sol sous la plante invasive.

Tableau 4 : Caractéristiques chimiques, activités enzymatiques et densité des communautés bactériennes totales des sols colonisés ou non par *Amaranthus viridis*

	Un-invaded by <i>A. viridis</i>	Invaded by <i>A. viridis</i>
Total Nitrogen (%)	0.11 (0.003) ⁽¹⁾ a ⁽²⁾	0.20 (0.006) b
Total Carbon (%)	1.21 (0.037) a	2.46 (0.067) b
Total Phosphorus (mg kg ⁻¹)	625.3 (5.24) a	1675.7 (322.48) b
Soluble Phosphorus (mg kg ⁻¹)	107.6 (19.57) a	211.6 (5.03) b
16S rDNA gene copy number per g of soil (x 10 ⁷)	4.26 a	33.73 b
Total microbial activity (mg of hydrolyzed fluorescein diacetate h ⁻¹ g ⁻¹ of soil)	8.94 (0.56) a	18.04 (1.01) b
Deshydrogenase activity (mg INTF d ⁻¹ g ⁻¹ of soil)	5.03 (0.55) a	29.44 (1.96) b

⁽¹⁾ Standard error. ⁽²⁾ Data in the same line followed by the same letter are not significantly different according to the Newman-Keul's test (p < 0.05).

Les profils TTGE des séquences 16S ADNr mettent en évidence de nombreuses bandes d'intensités différentes traduisant des différences dans les populations bactériennes des sols. De nombreuses bandes se retrouvent dans les deux types de sol suggérant des populations bactériennes communes. En revanche, il faut noter l'existence d'une bande bien représentée dans les sols colonisés par *A. viridis* mais qui semble absente ou faiblement représentée dans les sols non envahis par la plante invasive (cf figure 1 de l'article 5). L'analyse en composantes principales réalisée sur la base de l'intensité des bandes des profils TTGE sépare clairement les deux types de sol (figure 14). Les échantillons de sol colonisés par *A. viridis* forment un groupe où les individus sont très rapprochés les uns des autres, suggérant des modifications dans les populations bactériennes du sol qui aboutissent à leur homogénéisation. Les perturbations dans les communautés bactériennes du sol sont accompagnées d'une stimulation significative de la densité des populations bactériennes. La quantification du nombre de copies du gène 16S indique 33,7 x10⁷ copies de gènes par gramme de sol sous *A.viridis* contre 4,3 x 10⁷ copies de gènes par gramme de sol hors *A. viridis* (tableau 4).

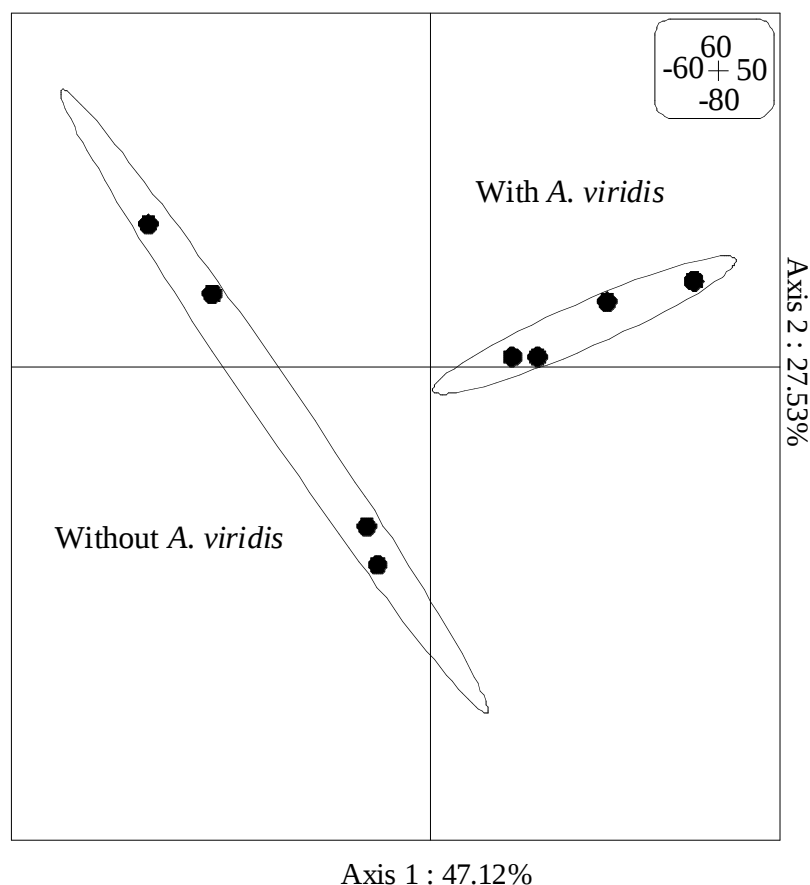


Figure 14 : Analyse en composantes principales (ACP) basée sur l'intensité des bandes des profils TGGE des sols colonisés ou non par *Amaranthus viridis*

La plante invasive réduit significativement le nombre total de spores de champignons MA (129,7 spores dans 100g de sol prélevé sous *A. viridis* contre 350,3 sans *A. viridis*) et la longueur des hyphes mycorhiziens (0,83 m g⁻¹ de sol sous *A. viridis* contre 3,21 m g⁻¹ de sol hors *A. viridis*) (tableau 5). Le nombre de nodosités et la biomasse totale des nodosités par plant diminuent significativement lorsque les plants d'*Acacia* sont inoculés par la suspension de sol sous *A. viridis* ou par le sol hors *A. viridis* ayant reçu dans l'extrait aqueux de *A. viridis* comparativement à la suspension de sol hors *A. viridis* (cf tableau 7 de l'article 5). De plus, l'extrait aqueux de la plante invasive inhibe la croissance (figure 15) de toutes les souches de *Rhizobia* testées sur boîte de Pétri (cf tableau 8 de l'article 5).

Tableau 5 : Influence de *Amaranthus viridis* sur la densité des spores de champignons MA et sur la longueur des hyphes mycorhiziens

	Un-invaded by <i>A. viridis</i>	Invaded by <i>A. viridis</i>
AM fungal species (number of AM spores per 100 g of soil)		
<i>Glomus constrictum</i>	290.2 (23.4) ⁽¹⁾ b ⁽²⁾	104.2 (6.1) a
<i>Glomus intraradices</i>	16.1 (3.1) b	5.2 (1.1) a
<i>Scutellospora armeniacae</i>	31.5 (2.6) b	13.7 (2.1) a
<i>Scutellospora claroideum</i>	12.7 (1.9) b	6.7 (1.7) a
Total number of AM spores per 100 g of soil	350.3 (26.2) b	129.7 (8.4) a
Hyphal length (m g ⁻¹ of soil)	3.21 (0.32) b	0.83 (0.08) a

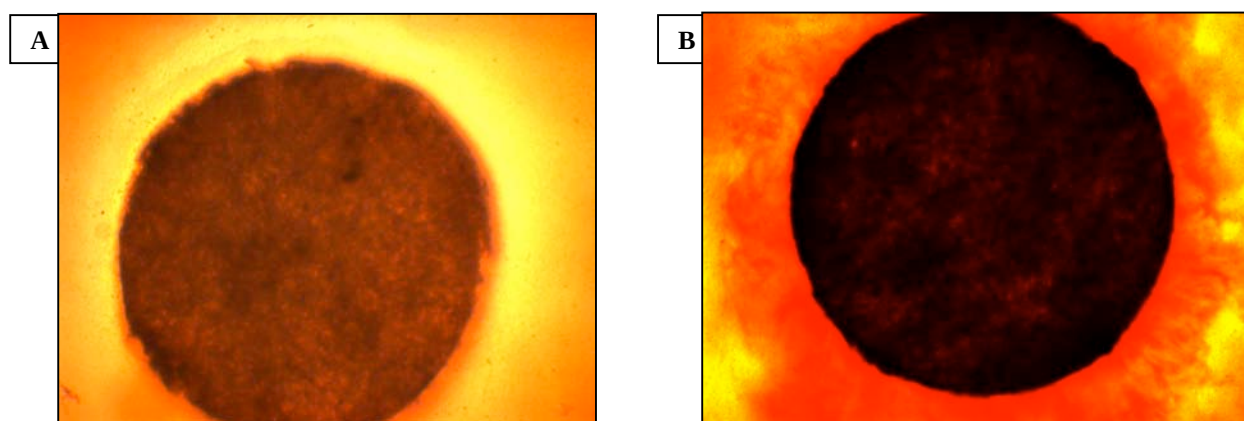


Figure 15 : Photos illustrant (A) le développement du halo autour du disque de papier buvard imbibé de l'extrait aqueux de *Amaranthus viridis* au contact des souches de rhizobium ou (B) l'absence de halo autour du disque imbibé d'eau distillée stérile

L'effet de la colonisation du sol par *Amaranthus viridis* sur la croissance des *Acacias* sahéliens

La croissance des *Acacias* ainsi que la colonisation des racines par les champignons MA et la biomasse des nodosités sont significativement réduites lorsque les plants sont cultivés dans le sol non stérilisé colonisé par *A. viridis* comparativement au sol non stérilisé sans *A. viridis* (tableau 6). D'une manière générale, la réduction du développement des plants d'*Acacia* induite par la culture dans le sol sous *A. viridis* non stérilisé est analogue à la réduction de la croissance lorsque les plants sont cultivés dans l'un des deux types de sol mais stérilisé (tableau 6). Le conditionnement préalable du sol hors *A. viridis* par l'extrait aqueux de *A. viridis* inhibe aussi bien le développement des plants d'*Acacia* que la colonisation des racines par les champignons MA et la formation des nodosités racinaires (cf tableau 5 de l'article 5). En revanche, pour les deux origines de sol,

l'inoculation de *Glomus intraradices* accroît significativement les biomasses des plants des 5 espèces d'*Acacia* et la formation de nodosités racinaires (tableau 7).

Tableau 6 : Croissance, colonisation racinaire par les champignons MA et biomasse des nodosités des plants d'*Acacia* dans les sols colonisés ou non par *Amaranthus viridis* et stérilisés ou non après 5 mois de culture

	Un-invaded by <i>A. viridis</i>		Invaded by <i>A. viridis</i>	
	Sterilized	Unsterilized	Sterilized	Unsterilized
<i>A. raddiana</i>				
Shoot biomass (mg dry weight)	128.3 b ⁽¹⁾	165.1 c	111.7 ab	100.0 a
Root biomass (mg dry weight)	88.3 ab	96.7 b	51.7 a	44.7 a
Mycorrhizal colonization (%)	-	20.8 b	-	9.7 a
Nodule biomass (mg dry weight)	-	5.5 b	-	0.0 a
<i>A. senegal</i>				
Shoot biomass (mg dry weight)	205.0 a	230.1 b	201.7 a	206.7 a
Root biomass (mg dry weight)	210.1 a	223.3 a	195.0 a	181.7 a
Mycorrhizal colonization (%)	-	75.5 b	-	33.1 a
Nodule biomass (mg dry weight)	-	8.8 b	-	2.3 a
<i>F. albida</i>				
Shoot biomass (mg dry weight)	391.7 a	485.1 b	306.7 a	385.1 a
Root biomass (mg dry weight)	500.1 ab	580.0 b	461.8 a	461.9 a
Mycorrhizal colonization (%)	-	83.7 b	-	29.8 a
Nodule biomass (mg dry weight)	-	17.5 b	-	6.9 a
<i>A. seyal</i>				
Shoot biomass (mg dry weight)	1083.3 c	1850.1 d	816.7 a	1366.7 b
Root biomass (mg dry weight)	1636.7 b	2066.7 c	1333.3 a	1633.3 b
Mycorrhizal colonization (%)	-	38.7 b	-	11.8 a
Nodule biomass (mg dry weight)	-	116.6 b	-	72.5 a
<i>A. nilotica</i>				
Shoot biomass (mg dry weight)	1953.3 b	2541.7 c	1513.3 a	2201.7 b
Root biomass (mg dry weight)	760.1 b	1006.7 c	611.7 a	930.1 c
Mycorrhizal colonization (%)	-	51.8 b	-	28.3 a
Nodule biomass (mg dry weight)	-	112.8 b	-	69.7 a

⁽¹⁾ Data in the same line followed by the same letter are not significantly different according to the Newman-Keul's test (p < 0.05)

Tableau 7 : Croissance, colonisation racinaire par les champignons MA et biomasse des nodosités des plants d'*Acacia* dans les sols colonisés ou non par *Amaranthus viridis* et inoculés ou non avec *Glomus intraradices* après 8 mois de culture

	Un-invaded by <i>A. viridis</i>		Invaded by <i>A. viridis</i>	
	With Gi ⁽¹⁾	Without Gi	With Gi	Without Gi
<i>A. raddiana</i>				
Shoot biomass (mg dry weight)	1255.1 c ⁽¹⁾	988.3 b	1431.7 c	720.2 a
Root biomass (mg dry weight)	1130.2 c	976.7 b	1190.0 c	670.1 a
Mycorrhizal colonization (%)	73.3 d	8.2 b	56.1 c	2.1 a
Nodule biomass (mg dry weight)	40.5 c	24.5 b	35.6 c	13.9 a
<i>A. senegal</i>				
Shoot biomass (mg dry weight)	1123.3 d	638.3 b	863.3 c	481.7 a
Root biomass (mg dry weight)	1205.0 c	943.3 b	1163.3 c	685.1 a
Mycorrhizal colonization (%)	49.2 d	17.8 b	28.2 c	4.3 a
Nodule biomass (mg dry weight)	68.1 d	14.7 b	29.7 c	0.0 a
<i>F. albida</i>				
Shoot biomass (mg dry weight)	1293.3 c	828.3 b	1073.3 c	570.0 a
Root biomass (mg dry weight)	1346.7 c	1140.0 b	1518.3 c	898.3 a
Mycorrhizal colonization (%)	51.2 c	15.8 b	53.3 c	5.3 a
Nodule biomass (mg dry weight)	28.6 c	18.4 b	17.7 ab	12.5 a
<i>A. seyal</i>				
Shoot biomass (mg dry weight)	2583.3 c	1891.7 b	2268.3 c	1457.7 a
Root biomass (mg dry weight)	3233.3 c	2515.0 b	2710.0 c	1498.3 a
Mycorrhizal colonization (%)	74.2 b	14.2 a	85.1 c	10.8 a
Nodule biomass (mg dry weight)	92.7 d	13.5 b	21.4 c	0.0 a
<i>A. nilotica</i>				
Shoot biomass (mg dry weight)	3320.0 b	2728.3 a	2945.1 b	2535.1 a
Root biomass (mg dry weight)	738.3 a	671.7 a	760.1 a	686.7 a
Mycorrhizal colonization (%)	36.7 b	3.2 a	25.3 b	1.8 a
Nodule biomass (mg dry weight)	29.1 c	10.1 b	18.6 bc	2.2 a

⁽¹⁾ With Gi: inoculated soil with *G. intraradices*. ⁽²⁾ Data in the same line followed by the same letter are not significantly different according to the Newman-Keul's test ($p < 0.05$)

5.4. Discussion

Les résultats de cette étude indiquent clairement que *Amaranthus viridis*, une espèce végétale non mycotrophe, induit un effet positif sur les teneurs du sol en nutriments et sur les activités globales (activités enzymatiques) des communautés microbiennes telluriques. En revanche, cette espèce végétale affecte négativement la croissance des Acacias en réduisant les communautés de microorganismes symbiotiques (champignons MA, rhizobia). Par ailleurs, l'inoculation par un champignon MA est bénéfique sur la croissance des plants en présence ou non de la plante invasive.

Des études ont préalablement montré que l'installation des plantes exotiques invasives pouvait entraîner une augmentation du pH, de même que les taux de nitrification, les teneurs de nitrates (Callaway, 1995 ; Kourtev *et al.*, 1998, 1999, 2003 ; Ehrenfeld *et al.*, 2001) et en phosphore disponible (Ehrenfeld, 2003). Il est également bien établi que la structure et la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes du sol sont principalement déterminées par la strate végétale épigée (Grayston *et al.*, 2001). Nos résultats apportent des connaissances supplémentaires en montrant une plus grande disponibilité de nutriments dans les sols colonisés par *A. viridis*. En outre, la présence de la plante invasive induit de profondes modifications dans le développement et l'activité des communautés microbiennes du sol. Les résultats de cette étude suggèrent aussi que la plante invasive *A. viridis* exercerait un effet sélectif sur les populations bactériennes en accroissant leur abondance. Cet effet résulterait en majeure partie des modifications de la quantité et de la qualité des ressources carbonées retournées au sol par la plante invasive (Wolfe & Klironomos, 2005) comme le suggère l'enrichissement en C, N, P du sol envahi.

Il a été observé que les plantes invasives se développent mieux dans les écosystèmes à forte disponibilité de nutriments comparativement aux espèces végétales natives (Burke & Grime, 1996 ; Wedin & Tilman, 1996 ; Dukes & Mooney, 1999). Elles deviennent cependant moins compétitives en condition de faible disponibilité nutritionnelle comme c'est le cas des conditions rencontrées dans de nombreux écosystèmes (Dukes & Mooney, 1999). Les résultats de notre étude corroborent cette stratégie de colonisation des biotopes hôtes par les plantes invasives. De plus, *A. viridis*, une espèce végétale non mycotrophe, devrait être plus compétitive sur les sols à faible potentiel infectieux mycorrhizogène (Grime *et al.*, 1987 ; Hartnett *et al.*, 1993). De ce fait, la réduction des communautés de microorganismes symbiotiques (champignons MA et rhizobia) devrait générer un "feedback" positif en faveur du succès de la plante invasive dans le site hôte (Vogelsang *et al.*, 2004). En effet, dans les écosystèmes pour lesquels le développement des plantes dépend fortement des symbioses telluriques (champignons MA, rhizobia), les perturbations qui auront tendance à

dégrader ces relations synergiques favoriseront l'établissement des plantes exotiques (Vogelsang *et al.*, 2004).

Les résultats de cette étude indiquent d'une part, une réduction significative des communautés de champignons MA, et d'autre part, une nette stimulation des populations et de l'activité des bactéries totales sous la plante invasive. Kourtev *et al.* (2002a) ont également observé dans des sols colonisés par la plante invasive *Berberis thunbergii*, une réduction des communautés fongiques et à l'inverse une augmentation des populations bactériennes suggérant une évolution des communautés microbiennes telluriques vers le développement de bactéries sous le contrôle de la plante invasive. Dans notre étude, la réduction des communautés symbiotiques pourrait résulter de facteurs abiotiques comme l'augmentation des teneurs en azote et en phosphore dans le sol susceptible d'inhiber le développement de ces symbiotes (Vincent, 1970 ; Smith & Read, 1997). En outre, *A. viridis* peut également affecter directement les microorganismes symbiotiques. L'inhibition de la croissance des Acacias observée lorsque les plants sont cultivés dans du sol non stérilisé prélevé sous *A. viridis* est similaire à celle des plants cultivés dans les sols stérilisés prélevés sous la plante invasive ou en son absence. Ces résultats suggèrent que *A. viridis* réduit la croissance des Acacias en affectant les communautés microbiennes du sol. Il a été en effet récemment observé que la plante invasive, *Alliaria petiolata*, affectait négativement la croissance des espèces végétales natives via l'exsudation d'un composé antifongique qui inhibait le développement des champignons MA (Stinson *et al.*, 2006). Par ailleurs, des effets d'inhibition sur des bactéries fixatrices d'azote ont été notés chez certaines plantes invasives (Rice, 1964 ; Vranjic *et al.*, 2000). Dans notre expérimentation, l'effet inhibiteur de *A. viridis* sur la nodulation par les rhizobia et la colonisation par les champignons MA des racines des plants est également observé lorsque du sol hors *A. viridis* est conditionné par l'extrait aqueux de la plante invasive. L'extrait aqueux possède donc un effet antibactérien sur toutes les souches de Rhizobia testées. Ces résultats démontrent clairement que *A. viridis* inhibe le développement des organismes symbiotiques et la formation de symbioses avec les champignons MA et les rhizobia, probablement par des effets phytochimiques. Ces modifications des communautés microbiennes telluriques se traduisent par une réduction significative de la croissance des plants d'*Acacia*.

L'inoculation des plants par *G. intraradices* a un effet bénéfique indépendamment de l'origine du sol (présence ou absence de la plante invasive) et lève l'inhibition. Ces résultats confortent ceux obtenus précédemment par Villenave *et al.*, (2003), Duponnois & Plenchette (2003) et Duponnois *et al.*, (2005a) et qui indiquaient que cette souche fongique favorisait significativement la croissance des plantes. Il est bien établi que les microorganismes du sol pouvaient agir sur les substances allélopathiques en les inactivant ou en les métabolisant (Pellisier

& Souto, 1999 ; Blum *et al.*, 2000). Dans ce cas précis, les champignons MA et les communautés microbiennes qui leur sont associées pourraient protéger les plants d'*Acacia* des composés allélopathiques (Renne *et al.*, 2004).

5.5. Conclusion

La plante invasive, *Amaranthus viridis*, inhibe le développement de la flore locale, notamment les Acacias sahéliens, au travers de processus impliquant une réduction des communautés microbiennes symbiotiques (champignons MA, rhizobia) colonisant les racines des plantes. L'inoculation contrôlée par le champignon MA, *Glomus intraradices*, favorise la croissance des Acacias dans les sols colonisés par la plante invasive. Ces résultats soulignent la nécessité d'une meilleure gestion des communautés de microorganismes symbiotiques dans le sol car ces derniers jouent un rôle clef dans la restauration de la flore native des sites colonisés par les plantes invasives non mycotrophes. En revanche, des études complémentaires sont nécessaires en vue de l'identification des composés à effet allélopathique produits par la plante invasive et d'une meilleure compréhension des mécanismes d'évolution des propriétés des sols et d'inhibition des champignons MA et des rhizobia.

Article 5

Changes in soil diversity and functions following invasions of the exotic invasive plant, *Amaranthus viridis* L., decrease the growth of native sahelian *Acacia* species

Sanon, A.^{1,2,3}, Beguiristain, T.³, Cébron A.³, Berthelin, J., Leyval, C.³, Sylla, S.^{1,4} & Duponnois, R.^{1,5,*}

¹ IRD. Laboratoire Commun de Microbiologie IRD/ISRA/UCAD. Centre de Recherche de Bel Air. BP 1386. Dakar. Sénégal

² Université Cheikh Anta Diop (UCAD). Faculté des Sciences et Techniques. Département de Biologie Végétale. BP 5005. Dakar. Sénégal

³ LIMOS. Laboratoire des Interactions Microorganismes - Minéraux - Matière Organique dans les Sols – UMR 7137 CNRS_UHP. Faculté des Sciences et Techniques. BP 70239 54506 Vandoeuvre-les-Nancy cedex. France

⁴ Université Cheikh Anta Diop (UCAD). Laboratoire Commun de Microbiologie IRD/ISRA/UCAD. Centre de Recherche de Bel Air. BP 1386. Dakar. Sénégal

⁵ IRD. UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/SUP-AGRO/UM2. Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (LSTM). TA10/J, Campus International de Baillarguet. Montpellier. France

* Corresponding author

Tel : + 221 33 849 33 22 ; Fax : + 221 33 849 33 02. Email : Robin.Duponnois@ird.sn

Running title: Soil attributes alteration and invasive plant colonization

ABSTRACT

The main objectives of this study were to determine whether the invasive plant *Amaranthus viridis* influenced soil microbial and chemical properties and to assess the consequences of these modifications on native plant growth. The experiment was conducted in Senegal at two sites: (i) one invaded by *A. viridis* and the other covered by other plant species but without *A. viridis*. Soil nutrient contents (C, N, P) were measured as well as microbial community density and diversity (e.g. Real-Time PCR quantification and TTGE fingerprinting, Arbuscular Mycorrhizal (AM) hyphal length and spores number) and microbial functions (e.g. enzyme activities) in both sites. Additionally, five sahelian *Acacia* species were grown in (1) soil disinfected or not collected from both sites, (2) un-invaded soil exposed to *A. viridis* plant aqueous extract, (3) soil collected from invaded and un-invaded sites and inoculated or not with the AM fungus *Glomus intraradices*. The results showed that the invasion of *A. viridis* increased soil nutrient availability, bacterial abundance and microbial activities. In contrast, symbiotic microorganisms (AM fungi, Rhizobia) development and *Acacia* species growth were severely reduced in *A. viridis* invaded soil. *Amaranthus viridis* aqueous extract also exhibited an inhibitory effect on Rhizobia growth indicating an antibacterial activity of this plant extract. However, the inoculation of *G. intraradices* was highly beneficial to the growth and nodulation of *Acacia* species irrespective to the soil origin. Hence exotic plant invasions drastically alter soil chemical and microbial characteristics that limit the development of native plant species such as Sahelian *Acacia* species. This negative impact of the invasive plant species was modified when *Acacia* species were inoculated by an efficient AM fungus. These results highlight the role of AM symbiosis in the processes involved in plant coexistence and in ecosystem management programmes that target preservation of native plant diversity.

Keywords: Exotic plant invasion; *Amaranthus viridis*; Soil microflora; Mycorrhizas.

INTRODUCTION

Varied and considerable impacts on native flora and fauna can result from exotic plant species that invade natural ecosystems and public lands (Adair & Groves, 1998). Exotic plants may become invasive in their introduction geographical area through a number of biological processes such as higher performance in their introduced ranges (Thébaud & Simberloff, 2001), release from their native specialized antagonists (Mitchell & Power, 2003), direct chemical interference (allelopathic effect) with native plant species (Callaway & Ridenour, 2004) and resistance variability of native plant communities to invasion (Levine & D'Antonio, 1999). These disturbances of the native plant ecosystem resulting from exotic plant invasion modify succession, dominance, community structure and composition, and vegetation dynamics (del Moral & Muller, 1970). It has been also suggested that exotic plants could disrupt mutualistic associations within native microbial communities (Richardson et al., 2000; Callaway & Ridenour, 2004). Terrestrial ecosystems functioning and stability are mainly determined by plant specific richness and composition and, accumulating evidences indicated that plant species dynamics are strongly interlinked with soil microbiota (Grayston & Campbell, 1996; Hooper & Vitousek, 1997; Hart et al., 2003; Kisa et al., 2007). Therefore, one of the main success way of exotic invasive plant species might be these exogenous organisms-mediated modifications in the structure and functionalities of soil microbial communities (Kourtev et al., 2003; Wolfe & Klironomos, 2005; Batten et al., 2006; Mummey & Rillig, 2006; Stinson et al., 2006).

Among soil microbial communities, Arbuscular Mycorrhizal (AM) fungi form an important component of the sustainable soil-plant system (Bruno et al., 2003; Johansson et al., 2004; Finlay, 2008). AM symbiosis influences plant development (Schreiner et al., 2003; Duponnois et al., 2005) as well as plant communities diversity (van der Heijden et al., 1998; O'Connor et al., 2002) and could affect relationships between plants (van der Heijden et al., 2003). Another important group of mutualists are the nitrogen-fixing bacterial associates of legumes called Rhizobia (Sprent, 2001). Rhizobia induce root nodules and fix atmospheric nitrogen into ammonium that is transferred to their leguminous hosts. This rhizobial symbiosis is important because nitrogen is one of the main nutrients that limits plant productivity in natural ecosystems, especially in tropical environmental conditions. More recently, it has been demonstrated that symbiotic interactions between legumes and rhizobia contribute to plant productivity, plant community structure and acquisition of limiting resources in legume-rich grassland communities (van der Heijden et al., 2006).

Amaranthus viridis L. (*Amaranthaceae*) is an annual weed native of Central America. This plant is now largely widespread in all warm parts of the world including regions between 30°S and 30°N (Le Bourgeois & Merlier, 1995). *Amaranthaceae* are characterized by their nitrophily and the C4 photosynthesis pathway, and these physiological traits are advantageous in man-made habitats, under conditions of fertilization and/or irrigation (Maillet & Lopez-Garcia, 1999). Furthermore, *A. viridis* and other species of *Amaranthus* are also characterized by an extended period of germination, rapid growth, and high rates of seed production (Bensch et al., 2003) that might facilitate plant invasiveness (Rejmanek & Richardson, 1996). In Pakistan where *A. viridis* is considered as an invasive plant species, Hussain et al. (2003) observed that aqueous extracts from shoots, rain leachate, litter and root exudation significantly reduced the germination and seedlings growth of pearl millet (*Pennisetum americanum*), wheat (*Triticum aestivum*) and corn (*Zea mays*). Moreover, they also found that shoot extract of this exotic plant retarded the development of meristematic cells of test species underlying allelopathic potential of *A. viridis* against crops. Of the 50 species of the genus *Amaranthus*, nine of them including *A. viridis*, have already been considered invasive and noxious in the United States and Canada (USDA Plant Database). In Senegal, *A. viridis* was reported in agrosystems, and increasingly invaded fallow lands, areas of pasture, domestic waste deposit areas. Its growth is positively correlated to soil fertility (e.g. organic matter and nitrogen contents) (Le Bourgeois & Merlier, 1995). *A. viridis* by invading large areas compromised native plant (grass-, shrub- and woodland) growth. The mechanism underlying *Amaranthus viridis* capacity to enter and proliferate within sahelian native plant communities has not yet been addressed. Amongst native threatened plants, sahelian *Acacia* species represent keystone trees in Sub-Saharan arid and semiarid areas. Indeed, they are particularly adapted to these regions harsh climatic conditions and some of them prevent wind and rain erosion, control sand dunes, are sources of wood and provide fodder for browsing livestock. These legume trees have high economical value and, their rhizobial symbiosis improves soil fertility.

The purpose of this study was to examine the potential for soil-mediated effects resulting from *A. viridis* establishment, with an emphasis on effects mediated via symbiotic soil microorganisms such as AM fungi and Rhizobia, to affect the growth of several sahelian *Acacia* species (*A. raddiana* thorns, *A. senegal* (L.) Willd. Syn., *A. seyal* Del., *A. nilotica* Willd. ex Del. and *Faidherbia albida* (Del.) A. Chev), the most representative *Acacia* species in West Africa. We hypothesized that soil microbiota will respond to *A. viridis* by changing in both structure and functionalities. We studied the modifications on the growth of *Acacia* species and their mycorrhizal and rhizobial status. We

further hypothesized that an enhancement of AM propagules density (through controlled AM fungal inoculation of *Acacia* species) would minimize the effect of this invasive plant species.

MATERIALS & METHODS

Experimental ecosystem area and soil sampling

The experimental area was located in the IRD experimental station of Bel Air (14° 43' N, 17° 26' W) (Dakar, Senegal). The climate is semi-arid with a long dry season (6-8 months), a mean annual temperature 24°C and a mean annual rainfall of 300 mm (Gassama-Dia et al., 2003). The plant cover was sparse and degraded. The vegetation is composed of grasses (*Alysicarpus ovalifolius* L., Fabaceae, *Boerhavia diffusa* L., Nyctaginaceae, *Commelina forskalaei* Vahl, Commelinaceae, *Eragrostis tremula* L., Poaceae, etc), tree species (*Acacia* spp, *Leuceuna* spp, *Balanites aegypticum*) and *Amaranthus viridis* was highly abundant. The average soil physico-chemical characteristics were as follows: pH (H₂O) 8.2; Clay (%) 5.2; fine silt (%) 1.8; coarse silt (%) 2.0; fine sand (%) 66.5; coarse sand (%) 24.5; carbon (%) 0.36; total nitrogen (%) 0.044; Soluble phosphorus (mg kg⁻¹) 39.6. A total of 10 sampling (1 x 1 m quadrat) plots were distributed in the studied area according to the presence or not of *A. viridis* plants (5 quadrats with a history of *A. viridis* and 5 quadrats without a history of *A. viridis* but covered with grasses). Then the soil (0-15 cm depth) of each quadrat was collected, mixed, and sieved (mesh size, < 2 mm) to remove plant root materials and kept at 4°C before further analysis. All soil samples were characterized by measuring total C, total N, total P, and soluble P contents (Olsen et al., 1954 ; Aubert, 1978) in the LAMA (Laboratoire des Moyens Analytiques) (Certifié International Standard for Organization 9001, version 2000, Dakar, Senegal; US Imago [Unité de Service Instrumentations, Moyens Analytiques, Observatoires en Géophysique et Océanographie], Institut de Recherche pour le Développement [www.lama.ird.sn]).

Measurement of soil microbial functionalities

Total microbial activity in soil samples was measured using the fluorescein diacetate (3', 6', diacetylfluorescein [FDA]) hydrolysis assay according to the method of Alef (1998) in which fluorescein liberated was assayed colorimetrically at 490 nm, after 1 h of soil incubation. The total microbial activity was expressed as mg of product corrected for background fluorescence per hour and per gram of soil. Deshydrogenase activity was measured by absorbance readings at 490 nm

following the method of Prin et al. (1989) and Schinner et al. (1996) with iodo nitro-tetrazolium (INT) as an artificial electron acceptor to form INT-Formazan (INTF).

Assessment of soil microbial structure

Bacterial community 16S rRNA gene copy number quantification

Real-Time PCR assays were used to quantify the 16S rRNA gene copy number in soil samples following the protocol described by Cébron et al. (2008). Total DNA from 0.5 g of soil samples were extracted using a bead beating protocol (Cébron et al., 2008). Samples were mixed with glass beads, 800 μ L of extraction buffer (100 mM Tris, 100 mM EDTA, 100 mM NaCl, 1% [wt/vol] polyvinylpyrrolidone, 2% [wt/vol] sodium dodecyl sulfate, pH 8.0) and 40 μ L of 6% CTAB in 5 mM CaCl_2 . After bead beating on a horizontal grinder Retsch (Roucaire Instruments Scientifiques, France), DNA was extracted using phenol-chloroform-isoamyl alcohol (25/24/1) and washed twice with chloroform-isoamyl alcohol (24/1). DNA precipitation was carried out using isopropanol and then resuspended in 100 μ L Tris-HCl buffer (10 mM, pH 8) and stored at -20°C . Real-Time PCR experiment was conducted in an iCycler iQ (Bio-Rad) associated with iCycler Optical System Interface software (version 2.3; Bio-Rad). Real-Time PCR were performed in 25 μ L reaction volumes containing 1X iQ SYBR Green Supermix (Bio-Rad), 0.4 μ M of each primers (968f and 1401r), 0.9 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ bovine serum albumin (BSA), 0.5 μ L dimethyl sulfoxide (DMSO), 0.1 μ L of T4 bacteriophage gene 32 Product (QBiogene) and 1 μ L of template DNA or distilled water (negative control). 10-time dilution series of plasmid standard with known concentration from 10^8 to 10^1 target gene copies μL^{-1} were used for quantification calibration curve. The following temperature profiles were used for rDNA amplifications: step one heated to 95°C (5 min), followed by 50 cycles of 4 steps of 30 s of denaturation at 95°C , 30 s at the primers specific annealing temperature (56°C), 30 s of elongation at 72°C and the SYBR Green I signal intensities were measured during a 10 s step at 80°C . The final step consisted of 7 min at 72°C . Then a melting curve analysis was performed by a final step by measuring the SYBR Green I signal intensities during a 0.5°C temperature increment every 10 s from 51°C to 95°C .

Temporal Thermal gradient gel electrophoresis (TTGE) analysis

The eubacterial primer set, 968f-GC (with the GC clamp described by Muyzer, 1992) and 1401r, was used to amplify a 475-bp fragment of the 16S rDNA (Felske et al., 1998; Heuer et al., 1999).

For each amplification reaction, 1 μL of crude DNA extract was added to 49 μL of PCR mix consisting of 50 mM buffer, 3 mM MgCl_2 , 0.2 mM deoxynucleoside triphosphates (dNTP), 3 mg mL^{-1} of bovine serum albumine (BSA), 1.5 μL of dimethyl sulfoxide (DMSO), 2 μM (each) primer, and 5 U of Taq polymerase (FastStart; Roche Diagnostic). DNA was amplified in an iCycler (Bio-Rad) with the following amplification program: 94°C for 5 min (1 cycle); 94°C for 40 s, 56°C for 30 s, and 72°C for 40 s (38 cycles); and 72°C for 5 min (1 cycle). PCR products, stained with ethidium bromide, were visualized under UV light after electrophoresis in a 1% (w/v) agarose gel to verify the size and quantity of amplified PCR products.

TTGE was realized with Dcode universal mutation detection system (Bio-Rad Laboratories) with conditions modified from Corgié et al. (2004) and described in Cebon et al. (submitted). The polyacrylamide gels (6% [wt/vol] acrylamide, 0.21% [wt/vol] bisacrylamide, 7 M urea, 1.25X Tris-acetate-EDTA, and 0.2% [vol/vol] glycerol) were allowed to polymerize for 1 h. DNA sample (10 μL) were separated by electrophoresis in 1.25X Tris-acetate-EDTA at a constant voltage (100 V), with a temperature gradient from 57 to 67°C (temperature increment of 2°C/h). After electrophoresis, gels were stained with ethidium bromide and numerized under UV light.

Quantification of band intensity was performed using Gel Doc (Biorad) coupled to the Quantity One software. For each profile, the intensity of the bands was summed and the relative intensity of each band was calculated in order to assess the abundance of the species in the initial sample (Marschner & Baumann, 2003).

Assessment of AM fungus community structure

AM hyphal length was measured on membrane filters according to Jakobsen et al. (1992). The total hyphal length was estimated using the Gridline intersect method (Hanssen et al., 1974). The AM fungi hyphae were distinguished from hyphae of other soil fungi following the morphological criteria described by Nicolson (1959). AM fungal spores were also extracted from soil samples by wet sieving and decanting, followed by sucrose centrifugation (Gerdeman & Nicolson, 1963). After centrifugation, the supernatant was poured through a 50-mm sieve and rinsed with tap water. Spores were counted under a stereomicroscope and grouped according to morphological characteristics. The relative abundance of each fungal type was calculated per 100 g of dry soil. Spore size and color were assessed in water under a stereomicroscope (Olympus SZ H10 research stereomicroscope) whereas spore wall structures and other attributes were observed on permanent slides prepared according to Azcon-Aguilar et al. (2003) under a microscope connected to a

computer with digital image analysis software. Morphotype classification to the genus level and, when possible to the species, was mainly based on morphological features such as color, size, wall structure and hyphal attachment (Morton & Benny, 1990; INVAM, 1997). Relative abundance of each fungal species in each treatment was calculated.

Greenhouse experiments

Assessment of *A. viridis* mycorrhizal dependency

The AM fungus *Glomus intraradices*, Schenk and Smith (DAOM 181602, Ottawa Agricultural Herbarium) was propagated on maize (*Zea mays* L.) for 12 weeks under greenhouse conditions in calcined clay (Plenchette et al. 1996). Maize plants were uprooted, gently washed, and colonized roots were hand-cut into 1–3 mm long pieces, bearing around 250 vesicles cm⁻¹, each considered as one propagule (Plenchette, 2000). To obtain a logarithmic scale of inoculum density (0, 3, 30, 100 propagules per 100 g soil), AM root pieces were counted under a dissecting microscope and, for each inoculum rate, the number was adjusted to 100 root pieces per 100 g of soil with non-mycorrhizal maize roots, prepared as above. Root pieces were then thoroughly mixed with a disinfected sandy soil (120°C, 60 min) whose physicochemical characteristics were as follows: pH (H₂O) 5.3; clay (%) 3.6; fine silt (%) 0.0; coarse silt (%) 0.8; fine sand (%) 55.5; coarse sand (%) 39.4; carbon (%) 0.17; nitrogen (%) 0.02; total P (mg kg⁻¹) 39 and Olsen P (mg kg⁻¹) 4.8.

Seeds of *A. viridis* collected from the experimental area, were surface-sterilized with 1% NaOCl for 15 min and rinsed with demineralized water. They were pre-germinated for 2 days in Petri dishes on humid filter paper at 25°C in the dark. The germinating seeds were used when rootlets were 1-2 cm long. For each inoculum density, plastic pots (5.5 cm diameter; 6 cm high) were filled with 100 g of soil containing the required number of AM propagules, and one pre-germinated seed of *A. viridis* was planted per pot. Pots were arranged in a randomized complete block design with six replicates per treatment. They were placed in greenhouse conditions (30°C day, 20°C night, 10-h photoperiod) and watered daily with deionized water without addition of nutrients. After 3 months of culture, the plants were harvested, and the oven-dried weight (1 week at 65°C) of shoot was recorded. The root systems were gently washed, cleared and stained according to the method of Phillips & Hayman (1970). About 50 1-cm root pieces were observed per plant under a microscope (magnification, ×250). The extent of mycorrhizal colonization was expressed as [the number of mycorrhizal root pieces]/[total number of observed root pieces]×100. Remaining roots were oven-dried (1 week at 65°C) and weighed.

Experiment 1

Seeds of sahelian *Acacia* species, *A. raddiana*, *A. senegal*, *A. seyal*, *A. nilotica* and *F. albida* were surface sterilized with 95% concentrated sulfuric acid for 15 min (*A. senegal*), 30 min (*A. seyal*, *F. albida*), 60 min (*A. raddiana*) and 120 min (*A. nilotica*). They were pre-germinated for 2 days in Petri dishes on humid filter paper at 25°C in the dark. Soils from the same origin were pooled in the lab to obtain two types of soil. One part of the soil collected from *A. viridis*-invaded area or un-invaded was disinfected by autoclaving (120°C, 60 min) and the other part was not (undisinfected) to perform four treatments: (1) soil with a history of *A. viridis*, (2) disinfected soil with a history of *A. viridis*, (3) soil without a history of *A. viridis* and (4) disinfected soil without a history of *A. viridis*. For each soil treatment and each origin, plastic pots (4 cm diameter, 20 cm height) were filled with 250 g of soil and one pre-germinated seed of the tested *Acacia* species was planted per pot. Pots were arranged in a randomized complete block design with six replicates per treatment in the same greenhouse conditions as previously described. After 5 months of culture, the plants were harvested and the oven-dried weight (1 week at 65°C) of shoot was measured. Their entire root systems were washed under tap water. On each plant the extent of AM colonization was assessed (Phillips & Hayman, 1970) and the total dry weight of root nodule per plant (1 week at 65°C) determined. Then roots were oven-dried (1 week at 65°C) and weighed.

Experiment 2

A. viridis plant extract was made by grinding 10 g fresh weight of whole plant material in 100 ml of deionized water in a Waring Blender and filtering through Whatman N° 1 paper with a Buchner funnel. 100-ml aqueous extract (or 100-ml distilled water for the control treatment) was added to plastic pots filled with 250 g of soil without a history of *A. viridis*. After 1 week of soil exposure to the extract, one germinating seed of each *Acacia* species was planted per pot with 6 replicates per treatment. Pots were arranged in a randomized complete block design in the same glasshouse conditions as before. After 8 months of culture, the plants were harvested, shoot and root biomasses were determined, the total dry weight of root nodule per plant (1 week at 65°C) and percent mycorrhizal colonization of roots were assayed.

Experiment 3

One germinating seed of each *Acacia* species was planted per pot filled with 250 g of the following soil treatments: (1) soil invaded by *A. viridis*, (2) soil invaded by *A. viridis* and inoculated with *G. intraradices*, (3) soil un-invaded by *A. viridis* and (4) soil un-invaded by *A. viridis* and inoculated with *G. intraradices*. The inoculum of *G. intraradices* was produced as previously described. The

AM inoculation consisted of adding 1 g of fresh maize root (mycorrhizal, or not for the control without fungus) into a hole (1 cm x 5 cm) made in each pot. The experimental design and the environmental conditions of culture in the greenhouse were the same as described before. After 8 month's culture, plants were harvested, dried at 65°C for 1 week, weighed to determine biomass and calculate root nodulation. Root AM colonization was determined according to Phillips & Hayman (1970).

Plant trapping tests

Pre-germinated seeds (1-2 cm long rootlets) of *Acacia* were transferred in aseptic conditions into Gibson tubes (Gibson, 1980) containing a sterile Jensen nitrogen-free medium (Vincent, 1970). The tubes were placed in growth chamber in controlled conditions (12 day-length at 28°C, 40,000 lx, 75% relative humidity and 20°C at nights). After 1 week of growth, 1 mL of stirred soil solution was added to each tube. Soil suspension was obtained by adding 10 g of each soil sample to 90 mL of sterile saline buffer pH 7 (NaCl 0.15 M, KH₂PO₄ 0.002 M, Na₂HPO₄ 0.004 M) for 1 h. Soil treatments were: (1) soil invaded by *A. viridis*, (2) soil un-invaded by *A. viridis* and (3) soil un-invaded by *A. viridis* and moistened by extract of whole plants of *A. viridis* at the same rate as described before. Four replicates were tested for each soil. Uninoculated plants were used as controls. Plants were observed for nodule formation for 6 weeks after inoculation and fresh nodules were collected, numbered and oven-dried.

Test of antibacterial activity

The aqueous extract of whole plants of *A. viridis* was tested for antibacterial activity by the diffusion technique on solid media against seeded culture of selected strains of nitrogen fixing bacteria (Table 8) (Vincent & Vincent, 1944). Sterilized filter paper discs (Diameter 13 mm) were saturated with 0.1 ml of *A. viridis* aqueous extract. One hundred ml of a 48 H liquid culture of Rhizobia was used in seeding the Petri dishes. After inoculation, dishes were usually allowed to dry for a few hours before the test discs were added. The test plates were routinely examined and zones of inhibition recorded after one week incubation at 25°C in the dark.

Statistical analysis

All data were subjected to a one-way analysis of variance and the mean values were compared using Student's t-test ($P < 0.05$). For percentage mycorrhizal infection, data were transformed by $\text{Arc sin} \sqrt{x}$. Community similarities between TTGE profiles, based on the relative band intensity,

were analyzed by principal component analysis (Wikström et al., 1999) with ADE-4 software (<http://pbil.univ-lyon1.fr/ADE-4/>) (Thioulouse et al., 1997).

RESULTS

Chemical and microbial soil characteristics

Soil nitrogen, carbon, total phosphorus and soluble phosphorus contents were significantly higher in the soil collected from *A. viridis*-invaded area than in the soil sampled from the un-invaded area (Table 1). The same positive effects of *A. viridis* were observed on total microbial activity (FDA) and the deshydrogenase activity (Table 1).

The total bacterial communities structures from the two soils were studied by TTGE analysis of 16S rDNA (Fig. 1). The TTGE gel displayed numerous bands of various intensities that resulted from differences between the 16S rDNA gene sequences of different bacterial species. The two soils shared most of the TTGE bands, suggesting that a common bacterial population colonized these soils. However, one bacterial species seemed to be more represented in soils invaded by *A. viridis*. Ordination plots generated by principal component analysis of band intensity data (representation of the two first axes, about 75% of the total inertia) clearly separated the soils on the basis of their origin (Fig. 2). The four replicates of soil collected in invaded sites formed a very close group in comparison to soils sampled in un-invaded sites, indicative of strong disturbance in recipient soil bacterial populations and therefore, their homogenization. Modifications occurred in bacterial community structure were accompanied by shifts in the community density in soil samples. The data from the quantification of 16S rRNA gene copy number indicated significant stimulation of bacterial population in soil invaded by *A. viridis*. The 16S rRNA gene copy number averaged 33.7×10^7 in soil collected from invaded sites and about 4.3×10^7 in un-invaded soil (Table 1).

The total number of AM spores as well as the length of external hyphae found in the un-invaded soil was significantly higher than that recorded in the invaded soil (Table 2). Two genera (*Glomus* and *Scutellospora*) and 4 species (*G. constrictum*, *G. intraradices*, *S. armeniaca*, *S. claroideum*) were present in both soil origins but their abundance was significantly higher in the un-invaded soil (Table 2).

Mycorrhiza (vesicles) were observed on *A. viridis* root systems only at the highest inoculum rates (30 and 100 AM propagules per 100 g of soil) (Table 3). Plant growth was negatively linked with the rates of AM inoculation ($r^2 = 0.34$, $p = 0.0028$).

Growth response of Acacia species in soils collected from un-invaded and invaded soils

The shoot and root growth, root nodule biomass and AM colonization of all the tested *Acacia* species were significantly decreased when plants were cultivated in *A. viridis*-invaded soil than in soil un-invaded (Table 4). In both *A. viridis* invaded and un-invaded sterilized soils, no significant difference in shoot and root biomasses of *A. raddiana*, *A. senegal* and *F. albida* was observed while these biomasses were significantly lower for other *Acacia* species after culture in invaded soil (Table 4). Moreover, reductions in growth of *A. raddiana*, *A. senegal* and *A. albida* plants when cultured in *Amaranthus viridis*-invaded unsterilized soil were similar to those observed when seedlings were grown in sterilized soil from both *A. viridis*-invaded and *A. viridis*-free sites (Table 4).

Extracts of whole plants of *A. viridis* significantly decreased the shoot growth of *A. senegal*, *F. albida*, *A. seyal* and *A. nilotica* and the root growth of *A. raddiana* and *A. nilotica* (Table 5). For all the *Acacia* species, mycorrhizal colonization and root nodule biomass were significantly lower in the soil inoculated with *A. viridis* aqueous extract (Table 5).

For both *A. viridis*-invaded and un-invaded soils, *G. intraradices* inoculation had significantly improved shoot and root growth of all *Acacia* species (Table 6) with higher growth stimulation in the *A. viridis*-invaded soil (Table 6). AM inoculation had also improved root nodule biomass in both soils (Table 6).

Nodulation assessment and antibacterial activity of A. viridis aqueous extract

The number of nodule and their total biomass per plant recorded on each *Acacia* species were significantly lower in the invaded soil than in the un-invaded soil (Table 7). This negative effect was found again when *A. viridis* water extract was mixed with the un-invaded soil (Table 7). In addition, *A. viridis* aqueous extract exhibited an inhibitory effect against all the rhizobial strains tested (Table 8).

DISCUSSION

Our results clearly show that the weed plant species, *A. viridis*, which is a non mycorrhizal plant, exerts a positive effect on soil nutrient content by increasing C, N, P concentrations and microbial activities (FDA and deshydrogenase) whereas it negatively affects the growth of the *Acacia* species by altering the development of rhizobia and AM communities. Moreover, AM inoculation was beneficial to the growth of *Acacia* species irrespective of whether the natural population of AM fungi in the soil was impoverished or not.

It has been reported in many studies that plant invasions were associated with elevated or fluctuating resource levels (Davis *et al.*, 2000; Ehrenfeld, 2003; Daehler, 2003). Invasive species grew better than native species at higher nutrient concentration, but not at lower nutrient availability where native vegetation is more competitive (Daehler, 2003). Studies have demonstrated that high nutrient-demanding invasive species can generate their own nutrient-rich sites, thus possibly promoting their own invasion (Vitousek *et al.*, 1987; Ehrenfeld *et al.*, 2001). Exotic plant species can cause an increased of soil pH as well as organic carbon content and nitrification rates providing more available nitrate (Callaway, 1995; Kourtev *et al.*, 1998, 1999, 2003; Ehrenfeld *et al.*, 2001) and also phosphorus content (Ehrenfeld, 2003). The changes in amounts and availability of nutrients may be attributed to concurrent changes in plant biomass or litter nutrient concentration with invasion (Ehrenfeld, 2003; Kao-Kniffin & Balser, 2008). Data of the present study support well this invasive plant strategy.

In addition, our results indicate that the presence of the invasive plant *A. viridis* has induced severe disturbances in soil microbial communities, the primary mediators of soil nutrient cycling. It has been well established that the structure and functional diversity of soil bacterial communities were mainly dependent on aboveground plant composition (Grayston *et al.*, 2001). Our data are in accordance with these previous studies since a higher global fertility is observed under *A. viridis*. It also seems that the invasive plant exerts a selective effect on some components of these bacterial communities which may vary in abundance and thus, altering links between native aboveground communities and belowground communities by ways including the timing, quality, quantity, and spatial structure of plant-derived soil inputs (Wolfe & Klironomos, 2005). Shift in the composition or abundance of particular members of the microbial community has also been suggested to alter nutrient pools and fluxes (Balser & Firestone, 2005).

From the present study, we found a higher bacterial abundance and bacterial activity in the soil collected under *A. viridis* but in contrast, a decrease in AM spores abundance and hyphal length. This invasive plant effect has already been reported by Kourtev *et al.* (2002) whose found in soil collected from the invasive Japanese barberry, *Barberis thunbergii*, an overall decrease in fungal abundance and a conversion to a microbial community dominated by bacteria. Moreover, some authors have found that increased soil fertility shifted microbial community structure with a noticeable decrease in fungi and increase in bacteria (Pennanen *et al.*, 1999; Bradley *et al.*, 2006). Since *A. viridis* is a non-mycotrophic plant species, it could be a good competitor in areas with low densities of AM fungi (Grime *et al.*, 1987; Hartnett *et al.*, 1993). This reduced dependence on mycorrhizal fungi can be viewed as part of a life history strategy that is successful in disturbed environments (Francis & Read, 1995).

Our results also indicated that *Acacia* species nodulation was significantly reduced when these plants were grown in *A. viridis*-invaded soil. This negative effect of the invasive plant on the symbiotic microorganisms (AM fungi and Rhizobia) could result from abiotic factors. Indeed, higher phosphorus and nitrogen contents in soil are known to inhibit the development of the fungal and rhizobial symbionts (Vincent, 1970; Smith & Read, 2008). However, *A. viridis* could also interfere with AM and Rhizobia colonization of *Acacia* species root systems and slower their growth in invaded soil. These inhibitions were similar to those recorded for most of the *Acacia* species in sterilized soil from both *A. viridis*-invaded and *A. viridis*- free sites. This result strongly suggested that the invasive plant reduced *Acacia* growth through a microbially-mediated effect and that this depletion did not only result from soil differences or direct allelopathy against plants. It has been recently demonstrated that an invasive plant, *Alliaria petiolata* (garlic mustard), suppressed native plant growth by disrupting AM symbiotic relationships through root exudation of antifungal compounds (Stinson *et al.*, 2006). These authors showed that garlic mustard inhibited AM formation in native tree species, more particularly by reducing germination rates of native AM spores (Stinson *et al.*, 2006). In an earlier study, Vaughn & Berhow (1999) also observed that phytochemicals could have direct effects on plant growth through allelopathy as well as indirect effects *via* disruption of AM fungi. In our experimental work, the suppressive effect of *A. viridis* on *Acacia* species nodulation and roots AM establishment was also found after the addition of *A. viridis* plant aqueous extract to un-invaded soil. In addition, this plant extract exhibited a strong antibiotic effect against all the rhizobial strains tested (Rhizobia isolated from the root systems of the targeted *Acacia* species). Hence these results clearly demonstrated that *A. viridis* disrupts the formation of AM associations and nodulation, probably through phytochemical inhibition.

Inhibition effects on nitrogen-fixing bacteria have previously been observed in pioneer plant such as *Amaranthus retroflexus* and suggested that this mechanism may be important in competition and succession among plants (Rice, 1964).

Hence, abundant soil mutualists declines may initiate a positive feedback to maintain exotic plants in their introduced area (Vogelsang *et al.*, 2004). With exotic species successful establishment, re-establishment of soil mutualists may be slowed, thereby impeding native plant species that exhibit high dependencies on these microorganisms. Therefore, in systems where native plants have strong mutualistic relationships with soil symbionts such as Rhizobia or AM fungi, disturbances that disrupt these microbial symbiotic relationships could facilitate the establishment of exotic species having a low dependency for these microorganisms for their growth and survival.

The inoculation of *G. intraradices* was highly beneficial to the nodulation as well as the growth of *Acacia* species in both soil origins. Promoting effect of AM inoculation on plant nodulation could probably result from close synergistic interactions between mycorrhizal fungi and Rhizobia (Cornet & Diem, 1982; Founoune *et al.*, 2002). In this concern, it has been demonstrated that mycorrhizal infection helps nodule formation and functioning under stress conditions (Azcon *et al.*, 1988; André *et al.*, 2005). Moreover, our result is in accordance with other studies, from which it has been established that this fungal isolate was very efficient on the growth of plant species (Duponnois & Plenchette, 2003; Villenave *et al.*, 2003; Duponnois *et al.*, 2005). Importantly, it is also well established that AM fungi could affect plant community structure by enhancing growth of the more strongly mycorrhizal plant species (Gange *et al.*, 1993; van der Heijden *et al.*, 1998b). In the case of this study on *A. viridis* invaded soil, our results provide evidence that increase in soil AM propagules density could mediate the invasive plant antagonistic effect on *Acacia* species. It has been observed that microorganisms can act as allelochemical mediators, inactivating or metabolizing toxic compounds. Previous findings suggested that AM fungi, associated with their mycorrhizosphere microbial communities, could protect seedlings from allelopathy and other phytochemical compounds (Pellissier & Souto, 1999; Blum *et al.*, 2000; Renne *et al.*, 2004).

In conclusion, our results confirm the high importance of biological mechanism by which an invasive plant can alter native communities by disrupting the development of AM fungi and Rhizobia. They also highlight the key role of AM fungi in mediating plant co-existence and the necessity to manage AM community in soil (i.e. Controlled mycorrhization of *Acacia* tree species) to improve successful re-establishment of native species. However, further research must be

undertaken to identify allelopathic processes (e.g. compounds produced by the invasive plant) and therefore, to better understand the mechanisms of soil mutualistic communities degradation.

REFERENCES

- Adair RJ & Groves RH (1998) Impact of Environmental Weeds on Biodiversity: a Review and Development of Methodology. Environment Australia, Canberra.
- Alef K (1998) Estimation of the hydrolysis of fluorescein diacetate. In: Alef, K., Nannipieri, P. (Eds), Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic Press, London, pp. 232-233.
- André S, Galiana A, Le Roux C, Prin Y, Neyra M & Duponnois R (2005) Ectomycorrhizal symbiosis enhanced the efficiency of two *Bradyrhizobium* inoculated on *Acacia holosericea* plant growth. Mycorrhiza 15: 357-364.
- Aubert G (1978) Méthodes d'Analyse des sols. Edition CRDP, Marseille, p. 360.
- Azcon-Aguilar C, Palenzuela J, Roldan A, Bautista S, Vallejo R & Barea JM (2003) Analysis of the mycorrhizal potential in the rhizosphere of representative plant species from desertification-threatened Mediterranean shrublands. Appl Soil Ecol 14: 165-175.
- Azcon R, El-Atrach F & Barea JM (1988) Influence of mycorrhiza vs. soluble phosphate on growth and N₂ fixation (¹⁵N) in alfalfa under different levels of water potential. Biol Fertil Soils 7: 28-31.
- Balser TC & Firestone MK (2005) Linking microbial community composition and soil processes in a California annual grassland and mixed-conifer forest. Biogeochem 73: 395-415.
- Batten KM, Scow KM, Davies KF & Harrison SP (2006) Two invasive plants alter soil microbial community composition in serpentine grasslands. Biol Inv 8: 217-230.
- Bensch CN, Horak MJ & Peterson D (2003) Interference of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*), Palmer amaranth (*A. palmeri*), and common waterhemp (*A. rudis*) in soybean. Weed Sci 51 : 37-43.
- Blum U, Statman KL, Flint LJ & Shaefer SR (2000) Induction and/or selection of phenolic acid-utilizing bulk-soil and rhizospheric bacteria and their influence on phenolic acid phytotoxicity. J Chem Ecol 26: 2059-2078.
- Bradley K, Drijber RA & Knops J (2006) Increased N availability in grassland soils modifies their microbial communities and decreases the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Biol Biochem 38: 1583-1595.
- Bruno JF, Stachowicz JJ & Bertness MD (2003) Inclusion of facilitation into ecological theory. Trends Ecol Evol 18: 119-125.
- Callaway RM (1995) Positive interactions among plants. Bot Rev 61: 306-349.
- Callaway RM & Ridenour WM (2004) Novel weapons: Invasive success and the evolution of increased competitive ability. Front Ecol Environ 2: 436-443.
- Cébron A, Norini MP, Beguiristain T & Leyval C (2008) Real-Time PCR quantification of PAH-ring hydroxylating dioxygenase (PAH-RHD α) genes from Gram positive and Gram negative bacteria in soil and sediment samples. J Microbiol Meth 73: 148-159.
- Corgié SC, Beguiristain T & Leyval C (2004) Spatial distribution of bacterial communities and phenanthrene degradation in the rhizosphere of *Lolium perenne* L. Appl Environ Microbiol 70: 3552-3557.
- Cornet F & Diem HG (1982) Etude comparative de l'efficacité des souches de *Rhizobium* d'*Acacia* isolées de sols du Sénégal et effet de la double symbiose *Rhizobium-Glomus mosseae* sur la croissance de *Acacia holosericea* et *A. raddiana*. Bois Forêt Trop 189: 3-15.
- Daehler C (2003) Performance comparisons of co-occurring native and alien invasive plants: Implications for conservation and restoration. Ann Rev Ecol Evol Syst 34: 183-211.
- Davis MA, Grime PJ & Thompson K (2000) Fluctuating resources in plant community: A general theory of invisibility. J Ecol 72: 319-330.
- del Moral R & Muller CH (1970) The allelopathic effects of *Eucalyptus camaldulensis*. Am Midland Nat 83: 254-282.
- Duponnois R & Plenchette C (2003) A mycorrhiza helper bacterium (MHB) enhances ectomycorrhizal and endomycorrhizal symbiosis of Australian *Acacia* species. Mycorrhiza 13: 85-91.

- Duponnois R, Colombet A, Hien V & Thioulouse J (2005) The mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendment influence plant growth and microbial activity in the rhizosphere of *Acacia holosericea*. *Soil Biol Biochem* 37: 1460–1468.
- Ehrenfeld JG (2003) Effects of exotic plant invasions on soil nutrient cycling processes. *Ecosystems* 6: 503–523.
- Ehrenfeld J, Kourtev P & Huang W (2001) Changes in soil functions following invasions of exotics understory plants in deciduous forests. *Ecol Appl* 11 : 1287–1300.
- Felske A, Akkermans ADL & De Vos WM (1998) Quantification of 16S rRNAs in complex bacterial communities by multiple competitive reverse transcription-PCR in temperature gradient gel electrophoresis fingerprints. *Appl Environ Microbiol* 64: 4581–4587.
- Founoune H, Duponnois R, Bâ AM & El Bouami F (2002) Influence of the dual arbuscular endomycorrhizal / ectomycorrhizal symbiosis on the growth of *Acacia holosericea* (A. Cunn ex G. Don) in glasshouse conditions. *Ann For Sci* 59: 93–98.
- Finlay RD (2008) Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *J Exp Bot* 59: 1115–1126.
- Francis R & Read DJ (1995) Mutualism and antagonism in the mycorrhizal symbiosis, with special reference to impacts on plant community structure. *Can J Bot* 73: 1301–1309.
- Gange AC, Brown VK & Sinclair GS (1993) VA mycorrhizal fungi: a determinant of plant community structure in early succession. *Funct Ecol* 7: 616–622.
- Gassama-Dia YK, Sané D & N'Doye M (2003) Reproductive biology of *Faidherbia albida* (Del.) A. Chev. *Silva Fenn* 37: 429–436.
- Gerdemann JW & Nicolson TH (1963) Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans Br Mycol Soc* 46: 235.
- Gibson AH (1963) Physical environment and symbiotic nitrogen fixation. I. The effect of temperature on recently nodulated *Trifolium subterraneum* L. plant. *Aust J Biol Sci* 16: 28–42.
- Grayston SJ & Campbell CD (1996) Functional biodiversity of microbial communities in the rhizosphere of hybrid larch (*Larix eurolepis*) and Sitka spruce (*Picea sitchensis*). *Tree Physiol* 16: 1031–1038.
- Grayston SJ, Griffith GS, Mawdsley JL, Campbell CD & Bardgett RD (2001) Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. *Soil Biol Biochem* 33: 533–551.
- Grime JP, Mackey JML, Hillier SH & Read DJ (1987) Floristic diversity in a model system using experimental microcosms. *Nature* 328: 420–422.
- Hanssen JF, Thingstad TF, Goksoyr J (1974) Evaluation of hyphal lengths and fungal biomass in soil by a membrane filter technique. *Oikos* 25: 102–107.
- Hart MM, Reader RJ & Klironomos JN (2003) Plant coexistence mediated by arbuscular mycorrhizal fungi. *Trends Ecol Evol* 18: 418–423.
- Hartnett DC, Heterick BAD, Wilson GWT & Gibson DJ (1993) Mycorrhizal influence of intra- and interspecific neighbour interactions among co-occurring prairie grasses. *J Ecol* 81: 785–795.
- Heuer H, Hartung K, Wieland G, Kramer I, Smalla K (1999) Polynucleotide probes that target a hypervariable region of 16S rRNA genes to identify bacterial isolates corresponding to bands of community fingerprints. *Appl Environ Microbiol* 65:1045–1049.
- Hooper DU & Vitousek PM (1997) The effects of plant composition and diversity on ecosystem processes. *Science* 277: 1302–1305.
- Hussain F, Gilani SS, Fatima I, Durrani MJ (2003) Some autecological studies on *Amaranthus viridis* L. *Pak J Weed Sci Res* 9: 117–124.
- INVAM (1997) International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizae. <http://www.invam.caf.wvu.edu/>.
- Jakobsen I, Abbott LK & Robson AD (1992) External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum*. I. Spread of hyphae and phosphorus inflow into roots. *New Phytol* 120: 371–380.
- Johansson JF, Paul LR & Finlay RD (2004) Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiol Ecol* 48: 1–13.
- Kao-Kniffin J & Balser TC (2008) Soil fertility and the impact of exotic invasion on microbial communities in Hawaiian forests. *Microb Ecol* 56: 55–63.

- Kisa M, Sanon A, Thioulouse J, Assigbetse K, Sylla S, Spichiger R, Dieng L, Berthelin J, Prin Y, Galiana A, Lepage M & Duponnois R (2007) Arbuscular mycorrhizal symbiosis counterbalance the negative influence of the exotic tree species *Eucalyptus camaldulensis* on the structure and functioning of soil microbial communities in a sahelian soil. *FEMS Microbiol Ecol* 62: 32-44.
- Kourtev P, Ehrenfeld J & Huang W (1998) Effects of exotic plant species on soil properties in hardwood forests of New Jersey. *Water Air Soil Pollut* 105: 493–501.
- Kourtev P, Huang W & Ehrenfeld J (1999) Differences in earthworm densities and nitrogen dynamics in soils under exotic and native plant species. *Biol Inv* 1: 237–245.
- Kourtev PS, Ehrenfeld JG & Häggblom M (2002) Exotic plant species alter the microbial community structure and function in the soil. *Ecology* 83: 3152-3166.
- Kourtev PS, Ehrenfeld JG & Häggblom M (2003) Experimental analysis of the effect of exotic and native plant species on the structure and function of soil microbial communities. *Soil Biol Biochem* 35: 895-905.
- Le Bourgeois T & Merlier H (1995) *Adventrop. Les adventices d'Afrique soudano-sahélienne*. Montpellier, France. CIRAD-CA (ed). 640 p.
- Levine JM & D'Antonio CM (1999) Elton revisited : A review of evidence linking diversity and invasibility. *Oikos* 87: 15-26.
- Maillet J & Lopez-Garcia C (2000) What criteria are relevant for predicting the invasive capacity of a new agricultural weed ? The case of invasive American species in France. *Weed Res* 40: 11-26.
- Marschner P & Baumann K (2003) Changes in bacterial community structure induced by mycorrhizal colonisation in spilt-root maize. *Plant Soil* 251: 279–289.
- Mitchell CE & Power AG (2003) Release of invasive plants from viral and fungal pathogens. *Nature* 421: 625-627.
- Morton JB & Benny GL (1990) Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon* 37: 471–491.
- Mummey DL & Rilling MC (2006) The invasive plant species *Centaurea maculosa* alters arbuscular mycorrhizal fungal communities in the field. *Plant Soil* 288: 81-90.
- Muyzer G, de Waal EC & Uitterlinden AG (1993) Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rDNA. *Appl Environ Microb* 59: 695-700.
- Nicolson TH (1959) Mycorrhiza in the Gramineae. I. Vesicular–arbuscular endophytes, with special reference to the external phase. *Trans Brit Mycol Soc* 42: 421– 438.
- O'Connor PJ, Smith SE & Smith FA (2002) Arbuscular mycorrhizas influence plant diversity and community structure in a semiarid herbland. *New Phytol* 154: 209–218.
- Olsen S R, Cole CV, Watanabe FS & Dean LA (1954) Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate, p. 19. U.S. Department of Agriculture circular, vol. 939. U.S. Department of Agriculture, Washington, DC.
- Pellissier F & Souto X (1999) Allelopathy in Northern temperate and boreal semi-natural woodland. *Crit Rev Plant Sci* 18: 637–652.
- Pennanen T, Liski J, Bååth E, Kitunen V, Uotila J, Westman CJ & Fritze H (1999) Structure of the microbial communities in coniferous forest soils in relation to site fertility and stand development stage. *Microb Ecol* 38: 168-179.
- Phillips JM & Hayman DS (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans Br Mycol Soc* 55:158–161
- Plenchette C, Declerck S, Diop T & Strullu DG (1996) Infectivity of monoaxenic cultures of the AM fungus *Glomus versiforme* associated with Ri-TDNA transformed root. *Appl Microbiol Biotechnol* 46:545–548.
- Plenchette C (2000) Receptiveness of some tropical soils from banana fields in Martinique to the arbuscular fungus *Glomus intraradices*. *Appl Soil Ecol* 15:253–260
- Prin Y, Neyra M, Ducouso M & Dommergues YR (1989) Viabilité d'un inoculum déterminée par l'activité réductrice de l'INT. *Agron Trop* 44: 13-19.
- Rejmanek M, Richardson DM (1996) What attributes make some plant species more invasive ? *Ecology* 77: 1655-1661.

- Renne IJ, Rios BG, Fehmi JS & Tracy BF (2004) Low allelopathic potential of an invasive forage grass on native grassland plant: a cause for encouragements? *Basic Appl Ecol* 5: 261–269.
- Richardson DM, Allsopp N, D'Antonio CM, Milton SJ & Rejmanek M (2000) Plant invasion—the role of mutualisms. *Biol Rev Camb Philos Soc* 75: 65–93.
- Rice EL (1964) Inhibition of Nitrogen-Fixing and Nitrifying Bacteria by Seed Plants. *Ecology* 45: 824–837.
- Schinner F, Ohlinger R, Kandeler E & Margesin R (1996) *Methods in soil biology*. Springer-Verlag, Berlin, 426 pp.
- Schreiner RP, Mihara KL, Mc Daniel H & Benthlenfalvay GJ (2003) Mycorrhizal fungi influence plant and soil functions and interactions. *Plant Soil* 188: 199–209.
- Smith SE & Read DJ (2008) *Mycorrhizal Symbioses*. 3rd edn. Academic Press, London.
- Sprent JI (2001) *Nodulation in Legumes*. Royal Botanical Gardens, Kew.
- Stinson KA, Campbell SA, Powell JR, Wolfe BE, Callaway RM, Thelen GC, Hallett SG, Prati D, Klironomos JN (2006) Invasive plant suppresses the growth of native tree seedling by disrupting belowground mutualisms. *PLOS Biol* 4: 727–731.
- Thébaud C & Simberloff D (2001) Are plants really larger in their introduced ranges? *Am Nat* 157: 231–236.
- Thioulouse J, D. Chessel S, Dolédec & Olivier JM (1997) ADE-4: a multivariate analysis and graphical display software. *Stat Comput* 7: 75–83.
- van der Heijden MGA, Klironomos JN, Ursic M, Moutoglis P, Streitwolf-Engel R, Boller T, Wiemken A & Sanders IR (1998a) Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396: 72–75.
- van der Heijden MGA, Bolter T, Wiemken A & Sanders IR (1998b) Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. *Ecology* 79: 2082–2091.
- van der Heijden MGA, Wiemken A & Sanders IR (2003) Different arbuscular mycorrhizal fungi alter coexistence and resource distribution between co-occurring plant. *New Phytol* 157: 569–578.
- van der Heijden MGA, Bakker R, Verwaal J, Scheublin TR, Rutten M, van Logtestijn R & Staehelin C (2006) Symbiotic bacteria as a determinant of plant community structure and plant productivity in dune grassland. *FEMS Microbiol Ecol* 56: 178–187.
- Vaughn SF & Berhow MA (1999) Allelochemicals isolated from tissues of the invasive weed garlic mustard (*Alliaria petiolata*). *J Chem Ecol* 25: 2495–2504.
- Villenave C, Leye K, Chotte JL & Duponnois R (2003) Nematofauna associated with the mycorrhizosphere and hyphosphere of *Glomus intraradices* and exotic or native leguminous plant species mycorrhizal formation in West Africa. *Biol Fert Soils* 38: 161–169.
- Vincent JG & Vincent HW (1944) Filter paper disc modification of the Oxford cup penicillin determination. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 55: 162–164.
- Vincent JM (1970) *A Manual for Practical Study of the Root Nodule Bacteria*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, p. 164.
- Vitousek PM, Walker LR, Whiteaker LD, Mueller-Dombois D & Matson PA (1987) Biological invasion by *Myrica faya* alters ecosystem development in Hawaii. *Science* 238: 802–804.
- Vogelsang KM, Bever JD, Griswold M & Schulz PA (2004) The use of mycorrhizal fungi in erosion control applications. Final report for Caltrans. California Department of Transportation Contract N° 65 A0070. Sacramento. California.
- Wikström P, Andersson AC & Forsman M (1999) Biomonitoring complex microbial communities using random amplified polymorphic DNA and principal component analysis. *FEMS Microbiol Lett* 28:131–139.
- Wolfe BE & Klironomos JN (2005) *Breaking New Ground: Soil Communities and Exotic Plant Invasion*. *BioScience* 55: 477–487.

Table 1. Chemical characteristics and enzymatic activities of soil invaded or not by *Amaranthus viridis* plants

	Un-invaded by <i>A. viridis</i>	Invaded by <i>A. viridis</i>
Total Nitrogen (%)	0.11 (0.003) ⁽¹⁾ a ⁽²⁾	0.20 (0.006) b
Total Carbon (%)	1.21 (0.037) a	2.46 (0.067) b
Total Phosphorus (mg kg ⁻¹)	625.3 (5.24) a	1675.7 (322.48) b
Soluble Phosphorus (mg kg ⁻¹)	107.6 (19.57) a	211.6 (5.03) b
16S rDNA gene copy number per g of soil (x 10 ⁷)	4.26 a	33.73 b
Total microbial activity (mg of hydrolyzed fluorescein diacetate h ⁻¹ g ⁻¹ of soil)	8.94 (0.56) a	18.04 (1.01) b
Deshydrogenase activity (mg INTF d ⁻¹ g ⁻¹ of soil)	5.03 (0.55) a	29.44 (1.96) b

⁽¹⁾ Standard error. ⁽²⁾ Data in the same line followed by the same letter are not significantly different according to the Newman-Keul's test ($p < 0.05$).

Table 2. Influence of *A. viridis* on the structure of AM fungal communities and hyphal length

	Un-invaded by <i>A. viridis</i>	Invaded by <i>A. viridis</i>
AM fungal species (number of AM spores per 100 g of soil)		
<i>Glomus constrictum</i>	290.2 (23.4) ⁽¹⁾ b ⁽²⁾	104.2 (6.1) a
<i>Glomus intraradices</i>	16.1 (3.1) b	5.2 (1.1) a
<i>Scutellospora armeniaca</i>	31.5 (2.6) b	13.7 (2.1) a
<i>Scutellospora claroideum</i>	12.7 (1.9) b	6.7 (1.7) a
Total number of AM spores per 100 g of soil	350.3 (26.2) b	129.7 (8.4) a
Hyphal length (m g ⁻¹ of soil)	3.21 (0.32) b	0.83 (0.08) a

⁽¹⁾ Standard error. ⁽²⁾ Data in the same line followed by the same letter are not significantly different according to the Newman-Keul's test ($p < 0.05$).

Table 3. Mycorrhizal dependency assessment of *A. viridis* plants on a disinfected soil inoculated with the AM fungus *G. intraradices*.

	Number of mycorrhizal root fragments per 100 g of soil			
	0	3	30	100
Shoot biomass (mg dry weight)	322.9 b ⁽¹⁾	274.3 a	206.1 a	141.5 a
Root biomass (mg dry weight)	270.2 b	171.2 ab	129.7 ab	119.8 a
Mycorrhizal colonization (%)	0 a	0 a	4.3 b	7.5 c

⁽¹⁾ Data in the same line followed by the same letter are not significantly different according to the Newman-Keul's test ($p < 0.05$)

Table 4. Growth, mycorrhizal colonization and nodule biomass of *Acacia* species in *A. viridis* invaded and un-invaded soils sterilized or not.

	Un-invaded by <i>A. viridis</i>		Invaded by <i>A. viridis</i>	
	Sterilized	Unsterilized	Sterilized	Unsterilized
<i>A. raddiana</i>				
Shoot biomass (mg dry weight)	128.3 b ⁽¹⁾	165.1 c	111.7 ab	100.0 a
Root biomass (mg dry weight)	88.3 ab	96.7 b	51.7 a	44.7 a
Mycorrhizal colonization (%)	-	20.8 b	-	9.7 a
Nodule biomass (mg dry weight)	-	5.5 b	-	0.0 a
<i>A. senegal</i>				
Shoot biomass (mg dry weight)	205.0 a	230.1 b	201.7 a	206.7 a
Root biomass (mg dry weight)	210.1 a	223.3 a	195.0 a	181.7 a
Mycorrhizal colonization (%)	-	75.5 b	-	33.1 a
Nodule biomass (mg dry weight)	-	8.8 b	-	2.3 a
<i>F. albida</i>				
Shoot biomass (mg dry weight)	391.7 a	485.1 b	306.7 a	385.1 a
Root biomass (mg dry weight)	500.1 ab	580.0 b	461.8 a	461.9 a
Mycorrhizal colonization (%)	-	83.7 b	-	29.8 a
Nodule biomass (mg dry weight)	-	17.5 b	-	6.9 a
<i>A. seyal</i>				
Shoot biomass (mg dry weight)	1083.3 c	1850.1 d	816.7 a	1366.7 b
Root biomass (mg dry weight)	1636.7 b	2066.7 c	1333.3 a	1633.3 b
Mycorrhizal colonization (%)	-	38.7 b	-	11.8 a
Nodule biomass (mg dry weight)	-	116.6 b	-	72.5 a
<i>A. nilotica</i>				
Shoot biomass (mg dry weight)	1953.3 b	2541.7 c	1513.3 a	2201.7 b
Root biomass (mg dry weight)	760.1 b	1006.7 c	611.7 a	930.1 c
Mycorrhizal colonization (%)	-	51.8 b	-	28.3 a
Nodule biomass (mg dry weight)	-	112.8 b	-	69.7 a

⁽¹⁾ Data in the same line followed by the same letter are not significantly different according to the Newman-Keul's test ($p < 0.05$)

Table 5. Growth, mycorrhizal colonization and nodule biomass of *Acacia* species in *A. viridis* un-invaded soil inoculated or not (control) with fresh extract of *A. viridis* whole plant.

	Without <i>A. viridis</i> plant extract	With <i>A. viridis</i> plant extract
<i>A. raddiana</i>		
Shoot biomass (mg dry weight)	1474.0 a ⁽¹⁾	1232.1 a
Root biomass (mg dry weight)	758.2 b	586.1 a
Mycorrhizal colonization (%)	67.2 b	30.6 a
Nodule biomass (mg dry weight)	40.0 b	29.2 a
<i>A. senegal</i>		
Shoot biomass (mg dry weight)	1010.2 b	764.3 a
Root biomass (mg dry weight)	942.1 a	824.2 a
Mycorrhizal colonization (%)	91.6 b	31.4 a
Nodule biomass (mg dry weight)	40.1 b	14.9 a
<i>F. albida</i>		
Shoot biomass (mg dry weight)	1450.2 b	990.3 a
Root biomass (mg dry weight)	1250.0 a	1007.1 a
Mycorrhizal colonization (%)	92.4 b	32.1 a
Nodule biomass (mg dry weight)	52.6 b	21.8 a
<i>A. seyal</i>		
Shoot biomass (mg dry weight)	2640.1 b	1724.3 a
Root biomass (mg dry weight)	2680.2 a	2206.1 a
Mycorrhizal colonization (%)	69.8 b	27.6 a
Nodule biomass (mg dry weight)	137.9 b	46.5 a
<i>A. nilotica</i>		
Shoot biomass (mg dry weight)	3674.1 b	3122.0 a
Root biomass (mg dry weight)	882.0 b	738.2 a
Mycorrhizal colonization (%)	57.4 b	19.8 a
Nodule biomass (mg dry weight)	130.4 b	87.9 a

⁽¹⁾ Data in the same line followed by the same letter are not significantly different according to the Newman-Keul's test ($p < 0.05$)

Table 6. Growth, mycorrhizal colonization and nodule biomass of *Acacia* species in *A. viridis* invaded or un-invaded soils and inoculated or not with *G. intraradices*.

	Un-invaded by <i>A. viridis</i>		Invaded by <i>A. viridis</i>	
	With Gi ⁽¹⁾	Without Gi	With Gi	Without Gi
<i>A. raddiana</i>				
Shoot biomass (mg dry weight)	1255.1 c ⁽²⁾	988.3 b	1431.7 c	720.2 a
Root biomass (mg dry weight)	1130.2 c	976.7 b	1190.0 c	670.1 a
Mycorrhizal colonization (%)	73.3 d	8.2 b	56.1 c	2.1 a
Nodule biomass (mg dry weight)	40.5 c	24.5 b	35.6 c	13.9 a
<i>A. senegal</i>				
Shoot biomass (mg dry weight)	1123.3 d	638.3 b	863.3 c	481.7 a
Root biomass (mg dry weight)	1205.0 c	943.3 b	1163.3 c	685.1 a
Mycorrhizal colonization (%)	49.2 d	17.8 b	28.2 c	4.3 a
Nodule biomass (mg dry weight)	68.1 d	14.7 b	29.7 c	0.0 a
<i>F. albida</i>				
Shoot biomass (mg dry weight)	1293.3 c	828.3 b	1073.3 c	570.0 a
Root biomass (mg dry weight)	1346.7 c	1140.0 b	1518.3 c	898.3 a
Mycorrhizal colonization (%)	51.2 c	15.8 b	53.3 c	5.3 a
Nodule biomass (mg dry weight)	28.6 c	18.4 b	17.7 ab	12.5 a
<i>A. seyal</i>				
Shoot biomass (mg dry weight)	2583.3 c	1891.7 b	2268.3 c	1457.7 a
Root biomass (mg dry weight)	3233.3 c	2515.0 b	2710.0 c	1498.3 a
Mycorrhizal colonization (%)	74.2 b	14.2 a	85.1 c	10.8 a
Nodule biomass (mg dry weight)	92.7 d	13.5 b	21.4 c	0.0 a
<i>A. nilotica</i>				
Shoot biomass (mg dry weight)	3320.0 b	2728.3 a	2945.1 b	2535.1 a
Root biomass (mg dry weight)	738.3 a	671.7 a	760.1 a	686.7 a
Mycorrhizal colonization (%)	36.7 b	3.2 a	25.3 b	1.8 a
Nodule biomass (mg dry weight)	29.1 c	10.1 b	18.6 bc	2.2 a

⁽¹⁾ With Gi: inoculated soil with *G. intraradices*. ⁽²⁾ Data in the same line followed by the same letter are not significantly different according to the Newman-Keul's test ($p < 0.05$)

Table 7. Nodulation of *Acacia* species *in vitro* conditions with soil suspensions from *A. viridis* invaded or un-invaded soils and from the un-invaded soil mixed with fresh extract of *A. viridis* whole plant.

<i>Acacia</i> species	Soil suspension origins		
	<i>A. viridis</i> un-invaded soil	<i>A. viridis</i> invaded soil	<i>A. viridis</i> un-invaded soil + <i>A. viridis</i> extract
<i>A. raddiana</i>			
Number of nodule per plant	7.7 b ⁽¹⁾	0.0 a	1.7 a
Total biomass of nodule per plant ⁽²⁾	5.4 b	0.0 a	0.3 a
<i>A. senegal</i>			
Number of nodule per plant	5.7 b	3.7 ab	1.2 a
Total biomass of nodule per plant	4.1 b	1.6 ab	0.4 a
<i>F. albida</i>			
Number of nodule per plant	50.5 c	21.6 b	1.6 a
Total biomass of nodule per plant	20.8 b	9.8 a	8.2 a
<i>A. seyal</i>			
Number of nodule per plant	11.0 b	0.6 a	4.2 ab
Total biomass of nodule per plant	18.2 b	9.8 a	8.2 a
<i>A. nilotica</i>			
Number of nodule per plant	2.4 a	0.0 a	0.4 a
Total biomass of nodule per plant	3.3 b	0.0 a	0.1 a

⁽¹⁾ Data in the same line followed by the same letter are not significantly different according to the Newman-Keul's test ($p < 0.05$). ⁽²⁾ Expressed in mg dry weight.

Table 8. Effect of fresh extract of *A. viridis* whole plant on nitrogen-fixing bacteria

Rhizobial strains	Genus	Host plant	Country	Effect of fresh extract of <i>A. viridis</i> whole plant
ORS 1080	<i>Rhizobium</i>	<i>A. raddiana</i>	Sénégal	+ ⁽¹⁾
ORS 1081	<i>Rhizobium</i>	<i>A. raddiana</i>	Sénégal	+
ORS 1082	<i>Rhizobium</i>	<i>A. raddiana</i>	Sénégal	+
ORS 1083	<i>Rhizobium</i>	<i>A. raddiana</i>	Sénégal	+
ORS 1084	<i>Rhizobium</i>	<i>A. raddiana</i>	Sénégal	+
ORS 1140	<i>Rhizobium</i>	<i>F. albida</i>	Sénégal	+
ORS 1141	<i>Rhizobium</i>	<i>F. albida</i>	Sénégal	+
ORS 1142	<i>Rhizobium</i>	<i>F. albida</i>	Sénégal	+
ORS 1143	<i>Rhizobium</i>	<i>F. albida</i>	Sénégal	+
ORS 1146	<i>Rhizobium</i>	<i>F. albida</i>	Sénégal	+
ORS 1302	<i>Rhizobium</i>	<i>A. seyal</i>	Burkina Faso	+
ORS 1317	<i>Rhizobium</i>	<i>A. seyal</i>	Mauritanie	+
ORS 1320	<i>Rhizobium</i>	<i>A. seyal</i>	Mauritanie	+
ORS 3453	<i>Mesorhizobium</i>	<i>A. seyal</i>	Sénégal	+
ORS 3454	<i>Mesorhizobium</i>	<i>A. seyal</i>	Sénégal	+
ORS 3160	<i>Rhizobium</i>	<i>A. nilotica</i>	Sénégal	+
ORS 3161	<i>Rhizobium</i>	<i>A. nilotica</i>	Sénégal	+
ORS 3162	<i>Rhizobium</i>	<i>A. nilotica</i>	Sénégal	+
ORS 3163	<i>Rhizobium</i>	<i>A. nilotica</i>	Sénégal	+
ORS 3164	<i>Rhizobium</i>	<i>A. nilotica</i>	Sénégal	+
ORS 3416	<i>Mesorhizobium</i>	<i>A. senegal</i>	Sénégal	+
ORS 3417	<i>Mesorhizobium</i>	<i>A. senegal</i>	Sénégal	+
ORS 3418	<i>Mesorhizobium</i>	<i>A. senegal</i>	Sénégal	+
ORS 3419	<i>Mesorhizobium</i>	<i>A. senegal</i>	Sénégal	+
ORS 3420	<i>Mesorhizobium</i>	<i>A. senegal</i>	Sénégal	+

⁽¹⁾ zone of bacterial growth inhibition around the filter paper discs moistened with the fresh extract of *A. viridis* whole plant

LEGEND

Figure 1. 16S rDNA gene-TGGE patterns of the total bacterial communities from the soils invaded or not by *A. viridis* plants.

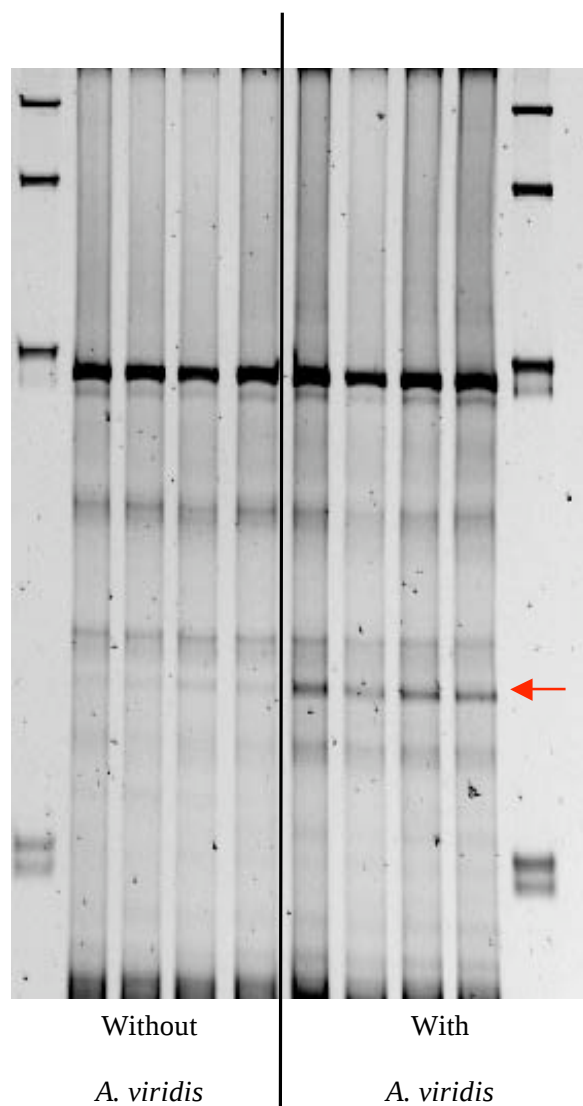
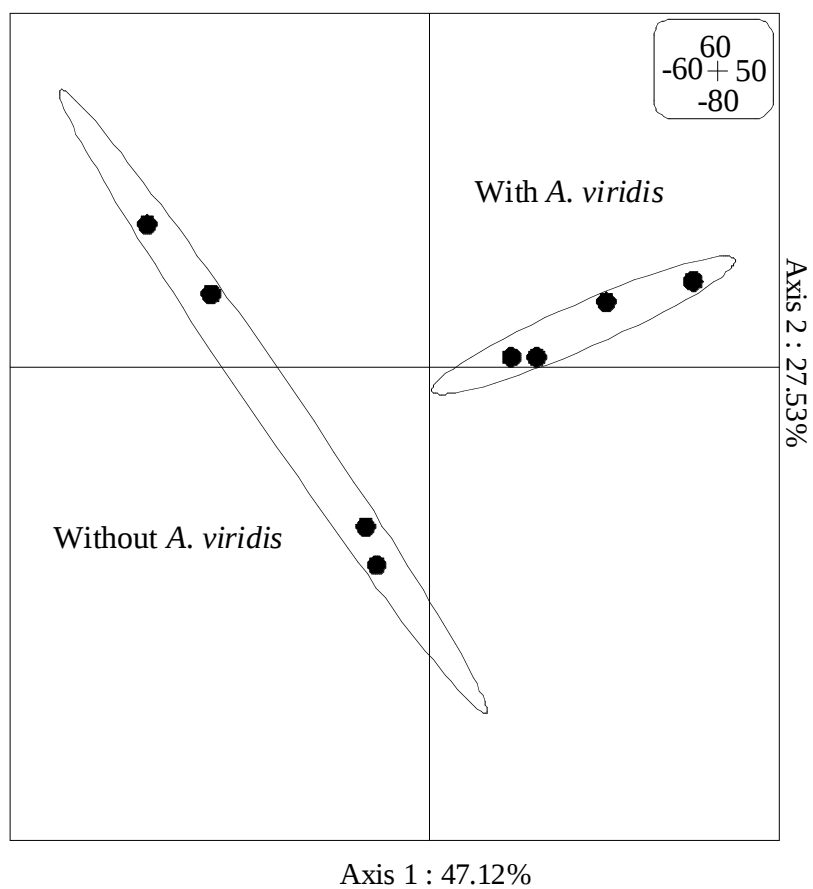


Figure 2. PCA analysis of the band intensity data of soils invaded or not with *A. viridis*.



Discussion générale

6. Partie V : DISCUSSION GENERALE

Parmi les différents mécanismes (répartition spatiale et temporelle des ressources nutritives, compétition interspécifique, perturbations édaphiques créant des nouvelles niches pour des nouvelles colonisations, interactions biotiques dans les écosystèmes, ...) susceptibles d'expliquer les processus biologiques déterminant la régulation et le maintien de la biodiversité végétale (Huston, 1977 ; Ricklefs, 1977 ; Tilman, 1982 ; Bever *et al.*, 1997 ; van der Heijden *et al.*, 1998a,b), la dynamique et l'activité microbiennes apparaissent comme des paramètres clefs. Pour mieux définir et mieux comprendre les interactions sol – microorganismes – plantes et en particulier le rôle des champignons mycorhiziens à arbuscules et de leurs microflores associées dans la structure et la dynamique des communautés végétales, le fonctionnement biologique et les propriétés de sols de milieux tropicaux sahéliens, nous avons développé 3 approches expérimentales complémentaires conduites *in situ* ou en serre :

(1) un premier axe portait sur les interactions entre le potentiel infectieux mycorhizien, la structure génétique et fonctionnelle des communautés bactériennes, certaines propriétés chimiques des sols (teneurs en C, N, P) et la structuration des communautés végétales représentées par deux plantes herbacées, une légumineuse (*Zornia glochidiata*) et une graminée (*Pennisetum pedicellatum*) communes aux agrosystèmes sahéliens.

(2) un second axe s'appliquait à l'atténuation, par la mycorhization préalable des plants, de l'allélopathie limitant le développement de la strate herbacée et de la communauté microbienne du sol ; cette allélopathie étant provoquée par des espèces ligneuses (*Gmelina arborea* et *Eucalyptus camaldulensis*).

(3) et le 3^e axe concernait l'étude de l'effet d'une plante invasive, *Amaranthus viridis*, sur la structure et le fonctionnement des communautés microbiennes, les propriétés biochimiques du sol et le développement d'Acacias sahéliens dont la croissance peut être favorisée par la présence de propagules de champignons MA.

Les résultats de ces trois approches conduisent à deux principales propositions :

- o Les champignons MA sont des agents favorisant la biodiversité végétale dans les agrosystèmes étudiés et répondent au modèle dit "d'agent déterminant la co-existence des plantes" ("*Agent-mediated plant coexistence*").

- o Les perturbations de la structure et du fonctionnement des communautés microbiennes du sol sont les paramètres favorisant le succès des processus d'invasion par les plantes exotiques.

6.1. Les champignons MA : des agents actifs de la co-existence et de la biodiversité végétale dans les écosystèmes terrestres via le modèle “Agent-mediated plants coexistence” ?

À chaque “*patche*” de sol majoritairement colonisé par une des deux espèces végétales herbacées retenues comme plante de référence (*Zornia glochidiata* et *Pennisetum pedicellatum*), correspondent des communautés microbiennes différentes, tant par leur structure que par leur métabolisme comme le révèle d’une part les profils de séquences d’ADN obtenus par PCR-DGGE et ceux d’utilisation des substrats carbonés. La comparaison des profils DGGE des communautés bactériennes totales des sols met en évidence 2 groupes bien distincts associés chacun à la présence des deux herbacées. Ces deux groupes sont aussi distingués par leur profil biochimique déterminé par l’utilisation des substrats organiques. Ainsi, l’abondance de *Z. glochidiata* est positivement corrélée à une meilleure réponse des communautés microbiennes à l’utilisation de l’acide L-glutamique, du L-glucose, du D-glucosamine, de l’acide gluconique, de l’acide urique et de l’acide OH-butyrique alors qu’elle est négativement corrélée à l’utilisation de la L-cystéine. En revanche, l’abondance de *P. pedicellatum* est positivement corrélée au catabolisme de la L-cystéine et l’acide oxalique.

L’influence de la plante, c’est-à-dire ici l’impact de la légumineuse par rapport à la graminée se manifeste aussi par la dynamique des champignons MA puisqu’il ne faut que 0,1 g de sol provenant des zones de *Z. glochidiata* pour mycorhizer 50% des plants de mil alors qu’il faut 10,2 g de sol provenant des cultures de *P. pedicellatum* pour obtenir les mêmes résultats.

Les modifications (augmentation de la quantité des exsudats, exsudats plus riches en matière azotée) observées dans l’exsudation racinaire des légumineuses (fixatrices d’azote) par rapport aux graminées (Martin, 1971 ; Steele & Wallis, 1998) suggèrent une disponibilité quantitative et qualitative en ressources carbonées dans la rhizosphère de *Z. glochidiata* différente de celle de *P. pedicellatum*. Ces différences de ressources énergétiques et nutritionnelles contribueraient à la prolifération de populations microbiennes distinctes sous les deux plantes. En outre, la symbiose mycorrhizienne modifierait également à son tour les communautés microbiennes mycorrhizosphériques en influençant et modifiant la quantité et la qualité des exsudats racinaires (Graham *et al.*, 1981 ; Leyval & Berthelin, 1993 ; Andrade *et al.*, 1997 ; Grayston *et al.*, 1996), la production d’hormones, d’enzymes extracellulaires (Leyval & Berthelin, 1993 ; Bowen, 1994 ; Smith & Read, 1997), la compétition avec les autres protagonistes dans la mycorrhizosphère (Ravnskov *et al.*, 1999), la structuration du sol (Andrade *et al.*, 1998b). La mise en place de la symbiose rhizobienne chez la légumineuse pourrait également affecter les communautés

microbiennes sous cette plante (Dommergues *et al.*, 1999). Ces différents mécanismes sont en mesure de contrôler le déterminisme de la structure et de la diversité fonctionnelle dans les communautés microbiennes telluriques.

L'abondance de *Z. glochidiata* est fortement liée à une faible teneur du sol en phosphore total tandis que *P. pedicellatum* croît mieux sur les 'patches' de sol plus riches en P. La capacité de la légumineuse *Z. glochidiata* à croître sur des sols pauvres en phosphore résulterait sans doute d'une façon générale de la forte aptitude des légumineuses à former des symbioses mycorhiziennes (de la Cruz & Garcia, 1992 ; Duponnois *et al.*, 2001b). Cette mycotrophie serait un facteur déterminant de la distribution spatiale rencontrée dans cette communauté végétale. Les champignons mycorhiziens, en excréant des acides organiques à faibles masses moléculaires, peuvent favoriser l'altération et la solubilisation des minéraux et donc libérer du phosphore soluble et assimilable par la plante hôte (Manjunath *et al.*, 1989 ; Smith & Read, 1997 ; Jones, 1998 ; Landeweert *et al.*, 2001). De plus, ces exsudats sont également susceptibles de modifier les communautés bactériennes mycorhizosphériques impliquées dans les mécanismes de solubilisation des minéraux (Ames *et al.*, 1984 ; Leyval & Berthelin, 1991), constat révélé par les profils cataboliques des communautés microbiennes.

L'expérimentation en pot réalisée avec *Zornia glochidiata* et *Pennisetum pedicellatum* afin de décrire l'effet de la densité de propagules mycorhiziennes et de la richesse du sol en phosphore confortent les résultats obtenus *in situ*. Lorsque ces deux plantes sont cultivées dans le même pot, les résultats indiquent une meilleure réponse de *Z. glochidiata* aux faibles densités de propagules et faible teneur en P, tandis que *P. pedicellatum* reste très sensible à la richesse du sol en P. Ceci suggère que la légumineuse *Z. glochidiata* va pouvoir **(i)** s'installer la première sur des sols pauvres en propagules mycorhiziennes et en nutriments ("patches" de sols largement rencontrées en zones tropicales sahéliennes), **(ii)** favoriser le développement des champignons MA et d'autres microorganismes bénéfiques notamment les bactéries solubilisatrices des phosphates (Muthukumar *et al.*, 2001) et en définitive, **(iii)** améliorer la disponibilité du P pour la plante et dans le sol. Une forte teneur en P du sol pourra par la suite inhiber la croissance de certaines espèces végétales (*Z. glochidiata*), et en revanche favoriser l'installation d'autres espèces, cas de *P. pedicellatum* (Reynolds *et al.*, 2003).

La distribution hétérogène à échelle très réduite du phosphore dans les sols tropicaux, sahéliens en particulier, combinée à la capacité de chaque espèce végétale à promouvoir des associations symbiotiques favorables avec la composante microbienne tellurique (stratégies de facilitation dans l'acquisition des nutriments) pourrait expliquer la répartition spatiale de la strate herbacée dans les sites étudiés.

Cette étude souligne l'importance des interactions qui contrôlent le développement des espèces végétales et la structure et l'activité des communautés microbiennes associées. Ces interactions ont été formalisées par le concept de '*feedback*' proposé par Bever *et al.*, (1997) et Bever (2003) et selon lequel chaque espèce végétale va modifier la composante microbienne de sa rhizosphère. En retour, ces changements vont affecter la dynamique de ces plantes en favorisant leur nutrition notamment dans le cas des microorganismes symbiotiques.

Il résulte alors de ces expérimentations les enseignements suivants :

(a) les résultats obtenus suggèrent plutôt des '*feedbacks*' positifs aboutissant à un meilleur développement de la plante hôte colonisant majoritairement le milieu. En effet, Bever *et al.*, (1997) suggèrent que dans une communauté végétale, l'espèce végétale ayant le plus grand effet sur la composante microbienne va la modifier en sa faveur et en tirera le meilleur profit pour sa croissance, dominant ainsi cette communauté. De même, Van der Putten & Peters (1997) et Reynolds *et al.* (2003) concluent à une relation forte entre l'effet du '*feedback*' sur la structuration des végétaux, et la disponibilité et/ou l'acquisition des nutriments, confirmant ainsi l'hypothèse de Bever *et al.*, (1997). Dans notre étude, les interactions entre les plantes et leur microflore associée se déroulent à des échelles très localisées et le maintien de la communauté végétale plurispécifique résulterait des effets positifs localisés des '*feedbacks*' (Bever, 1992 ; Bever, 2003).

(b) l'obtention de "*patches*" de sols avec des caractéristiques chimiques et (micro)biologiques distinctes et majoritairement colonisés par l'une ou l'autre des deux herbacées retenues laisse supposer la création de **niches** particulières, favorables à l'installation de ces espèces végétales. En effet, plusieurs espèces végétales peuvent co-exister dans un biotope en occupant l'espace en fonction de l'hétérogénéité de certaines de ses caractéristiques (Chesson, 2000). Chaque espèce sera la meilleure compétitrice sur certains "*patches*" de l'espace disponible, réduisant ainsi la compétition interspécifique au profit de la compétition intraspécifique. Ce qui favoriserait par la même occasion la co-existence de ces espèces végétales par leur installation sur différents "*patches*" du milieu (Barot & Gignoux, 2004). Ces derniers auteurs suggèrent que l'ensemble des processus d'auto-organisation et de co-évolution au sein des communautés végétales (compétition, densité – dépendance, ...) aboutit en définitive à la création et à la différenciation de niches entre espèces végétales (Barot & Gignoux, 2004) et répondent par l'affirmative à la question '*Do plants need a niche*' posée par Chesson (1991).

En ce qui concerne la dynamique des espèces végétales dans les successions, Bever *et al.*, (1997) indiquent que les modifications créées dans les communautés microbiennes par une espèce végétale peuvent s'avérer aussi favorables, sinon même plus favorables pour une autre espèce avec le temps. Cette nouvelle espèce s'installera et à terme pourra remplacer la première ("*feedback*" négatif) (Van

der Putten & Troelstra, 1990 ; Van der Putten *et al.*, 1993). Dans cette même perspective, Reynolds *et al.*, (2003) suggèrent que les ‘*feedbacks*’ positifs entre plantes et microorganismes telluriques vont jouer un rôle primordial dans les communautés végétales en début de succession concernant les sols pauvres, pendant que les ‘*feedbacks*’ négatifs contribueront au remplacement et à la diversification des végétaux dans la succession végétale avec l’amélioration de la fertilité du sol. Ceci pourrait correspondre à la dynamique à la base de la répartition spatiale des deux herbacées retenues dans notre étude.

Toutefois, le modèle théorique et expérimental à la base du concept de ‘*feedback*’ (Bever *et al.*, 1997) a été simplifié dans sa mise en oeuvre concernant les interactions entre plantes et les interactions entre plantes et microorganismes du sol (Bever *et al.*, 1997 ; Bever, 2003) : par exemple, des paramètres comme la densité - dépendance et la compétition n’ont pas été pris en compte et il a été aussi considéré que les espèces végétales utilisaient indifféremment les mêmes ressources nutritives. En outre, ce modèle décrit des effets directs et linéaires entre les modifications dans les communautés microbiennes rhizosphériques et la croissance des plantes. Le modèle proposé par ces auteurs (Bever *et al.*, 1997 ; Bever, 2003) conceptualiserait mieux la situation dans une communauté monospécifique car ces paramètres non pris en compte sont susceptibles d’influer fortement sur les stratégies de colonisation, donc de co-existence des espèces végétales. En revanche, le modèle illustre parfaitement l’implication des communautés microbiennes telluriques dans la structuration et la dynamique des végétaux, notamment dans les mécanismes du maintien de la diversité au sein des formations végétales ; en plus, il propose des démarches expérimentales en vue de sa mise en évidence (Bever *et al.*, 1997). Et d’ailleurs, il est maintenant admis et bien accepté que les interactions ‘microorganismes telluriques – espèces végétales’ interviennent profondément dans la productivité et la biodiversité des communautés végétales (van der Heijden *et al.*, 1998a ; Belnap & Phillips, 2001 ; Hart *et al.*, 2003 ; Kourtev *et al.*, 2002a, 2003 ; De Deyn *et al.*, 2004 ; Wolfe & Klironomos, 2005 ; Stinson *et al.*, 2006 ; Kisa *et al.*, 2007).

En complément des interactions entre les plantes et leur microflore rhizosphérique décrites dans le modèle de Bever (Bever *et al.*, 1997 ; Bever, 2003), notre étude décrit un modèle plus complet associant des paramètres nutritionnels comme la teneur en phosphore. Ce qui permet de se rapprocher davantage des conditions *in situ*.

L’effet bénéfique de la mycorhization sur l’atténuation de l’allélopathie causée par des espèces ligneuses exotiques (*Gmelina arborea* et *Eucalyptus camaldulensis*) et inhibitant le développement de la strate herbacée et des communautés microbiennes du sol, mettent en évidence une autre voie d’action des communautés microbiennes dans les processus favorables à la co-

existence des espèces végétales. Certaines plantes exotiques, *G. arborea* et *E. camaldulensis* notamment, ont développé des mécanismes favorisant leur expansion dans les biotopes hôtes qui se traduisent entre autre par une inhibition de la croissance des espèces végétales indigènes (del Moral & Muller, 1970 ; Whittaker & Feeny, 1971 ; Vaughn & Berhow, 1999 ; Ridenour & Callaway, 2001) et par des modifications profondes dans le fonctionnement biologique des sols (Belnap & Phillips, 2001 ; Kourtev *et al.*, 2002a,b ; 2003 ; Hawkes *et al.*, 2005 ; Batten *et al.*, 2006 ; Stinson *et al.*, 2006). Certains auteurs ont déjà évoqué un effet dépressif de ces plantes sur les communautés indigènes par l'accumulation de leur litière contenant des composés toxiques (del Moral & Muller, 1970). Nos résultats apportent des explications nouvelles en montrant que cette inhibition pourrait être régie au niveau du sol, car l'effet inhibiteur sur la strate herbacée a été noté en absence d'accumulation de litière dans les microcosmes. Il a déjà été noté que des composés exsudés par les racines de certaines plantes avaient des effets allélopathiques nuisibles au développement des plantes voisines (Whittaker & Feeny, 1971 ; Stevens, 1986 ; Callaway & Aschehoug, 2000 ; Bais *et al.*, 2002 ; Callaway, 2002 ; Callaway & Ridenour, 2004) et influencent négativement les mécanismes de co-existence entre espèces végétales. Les résultats de nos travaux indiquent aussi que l'inoculation préalable des plants par le champignon MA, *Glomus intraradices*, atténue significativement aussi bien le phénomène d'allélopathie sur la strate herbacée que les perturbations dans la structure et le fonctionnement des communautés microbiennes telluriques. Cet effet positif peut résulter de divers mécanismes dont :

(a) la mise en place d'un réseau d'hyphes mycéliens bien développé et servant de connexion entre les différentes espèces végétales (Grime *et al.*, 1987 ; Smith & Read, 1997 ; Hart *et al.*, 2003 ; Simard & Durall, 2004 ; Wirsal, 2004). Ce réseau mycélien permettrait donc d'uniformiser l'accès aux ressources nutritives entre la plante dominante (*G. arborea* ou *E. camaldulensis*) et les espèces herbacées moins compétitives, favorisant ainsi leur croissance. Grime *et al.*, (1987) ont même suggéré que le transfert d'assimilats d'une 'source' (plantes dominantes) vers un 'puits' (espèces sous-jacentes) par l'intermédiaire du réseau mycélien commun demeurerait un mécanisme clef dans le maintien des communautés pluri-spécifiques sur les sols pauvres ;

(b) la capacité de certains microorganismes du sol à inactiver ou à biodégrader les composés toxiques exsudés par les plantes exotiques, réduisant ou éliminant leur effet dépressif sur la strate végétale native. En effet, les communautés microbiennes du sol peuvent utiliser comme source de carbone et d'énergie les composés organiques dont les substances allélopathiques qui sont alors dégradées, transformées ou minéralisées (Inderjit, 2005). Les travaux réalisées par Pellisier & Souto (1999) et Blum *et al.*, (2000) ont montré sans expliquer le phénomène que les champignons MA,

associés à leur microflore mycorrhizosphérique, pouvaient protéger les plantes des effets allélopathiques.

Les résultats obtenus de cette étude (influence des champignons MA dans les mécanismes de colonisation du milieu par les herbacées *Z. glochidiata* et *P. pedicellatum* et dans l'atténuation de l'allélopathie des ligneux exotiques) nous permettent d'établir la forte implication des microorganismes telluriques, les champignons MA en particulier, dans les interactions plante – sol – plante. Cette implication se retrouve dans les stratégies de colonisation du sol par les plantes et dans les mécanismes facilitant la co-existence entre espèces végétales différentes. Les champignons MA permettent ainsi de promouvoir la diversité végétale dans les écosystèmes terrestres en intervenant dans les capacités d'installation et de survie des espèces végétales. Ils constituent de ce fait, des agents actifs du développement et du maintien de la diversité végétale. Cette implication correspond au modèle “*Agent-mediated plants coexistence*” dont nous améliorons la définition en y introduisant des paramètres du sol (teneur en nutriments, effet dose des communautés microbiennes) non pris en compte par les auteurs.

6.2. Les perturbations de la structure et du fonctionnement des communautés microbiennes du sol : clef du succès des processus d'invasion par les plantes exotiques ?

Le remplacement de la flore native par des espèces exotiques invasives s'accompagne de profondes modifications de la production végétale et sans doute des exsudats racinaires intégrant les cycles biogéochimiques des éléments dans le système sol – plante. Ces modifications dans les apports végétaux sont accompagnées de variations de pH et de la disponibilité des nutriments au niveau du sol (Ehrenfeld, 2003 ; Wolfe et Klironomos, 2005). Alors que certaines études ont mis en évidence un appauvrissement du sol en éléments minéraux induit par la plante invasive (Asner & Vitousek, 2005), les résultats obtenus dans nos expériences indiquent clairement une nette élévation du pH, une augmentation de la teneur en carbone total, en azote total, en phosphore total et en phosphore assimilable dans les sols récoltés (horizon 0-15 cm de profondeur) sous la plante exotique invasive *Amaranthus viridis*.

Il a déjà été observé que les plantes exotiques affectaient la productivité primaire nette car elles diffèrent des espèces natives aussi bien par la taille, la morphologie, la phénologie et le taux de croissance (Ehrenfeld, 2003). Les plantes exotiques invasives sont généralement caractérisées par

une croissance relative plus élevée et une production plus importante de biomasse (Walters *et al.*, 1993), donc un apport et un stockage de carbone et de nutriments plus importants. Il a été aussi noté que la litière des plantes invasives était généralement plus riche en azote et en autres nutriments que celle des plantes natives (Baruch & Goldstein, 1999 ; Nagel & Griffin, 2001 ; Ashton *et al.*, 2005) et qu'en conséquence elles se décomposeraient plus rapidement. Lorsque l'apport de carbone et de nutriments *via* la biomasse des espèces exotiques est plus important que celui des espèces natives, la disponibilité en éléments nutritifs deviendrait plus importante dans les sols colonisés, modifiant profondément le fonctionnement des cycles biogéochimiques des écosystèmes hôtes (Kourtev *et al.*, 2002a ; 2003 ; Ehrenfeld, 2003).

Des modifications du pH du sol ont d'ailleurs déjà été observées suite à l'invasion par des espèces exotiques (Kourtev *et al.*, 1998 ; 1999 ; 2003 ; Ehrenfeld *et al.*, 2001). Dans leurs études réalisées dans trois parcs différents du New Jersey (USA), Kourtev *et al.* (1998 ; 1999) ont noté une remontée du pH dans les sols prélevés sous des plantes invasives par rapport aux sols colonisés par les espèces natives. Ces auteurs expliquent l'augmentation du pH par, d'une part, un prélèvement plus important par la plante invasive des nitrates comme source d'azote et libérant ainsi des ions hydroxydes ; d'autre part, par des concentrations plus élevées en cations basiques dans la litière des plantes exotiques retournant au sol. En retour, des pH élevés dans les sols favoriseraient la nitrification et la disponibilité de nitrates, susceptible de stimuler la remontée du pH (Kourtev *et al.*, 1998 ; 1999 ; 2003).

Ces mécanismes peuvent également être impliqués dans les conditions expérimentales de ce travail. En effet, *A. viridis* est une plante annuelle qui produit une biomasse relativement importante par rapport à la flore native et cette biomasse est complètement décomposée entre la fin de la saison hivernale (au cours de laquelle la plante a poussé) et le début de la saison hivernale suivante (Robin Duponnois, *unpublished observations*). La minéralisation de l'importante quantité de biomasse produite pourrait être à l'origine de cet enrichissement du sol en C, N et P sous la plante invasive. En revanche, d'autres études (dosage de l'azote, du phosphore et de cations alcalinisants dans la litière des espèces natives et exotiques, mesure des taux de nitrification et de la disponibilité en nitrates dans les sols) sont à envisager afin de nous renseigner davantage sur les mécanismes induisant ces modifications dans les propriétés chimiques des sols après invasion.

La structure et la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes telluriques sont intimement liées à la composition des peuplements végétaux, gage d'une relation très étroite entre les compartiments épigés et hypogés dans les écosystèmes terrestres (Grayston & Campbell, 1996 ; Grayston *et al.*, 1996). L'invasion du sol par la plante invasive *A. viridis* s'est traduite par des modifications profondes dans les communautés bactériennes totales du sol : dans leur structure

d'une part, résultat révélé par les profils TGGE, par le plan factoriel ACP discriminant parfaitement les communautés bactériennes des deux types de sols et par la quantification des copies du gène 16S indiquant une nette stimulation des bactéries totales dans les sols rhizosphériques de *A. viridis*. D'autre part, une activité microbienne globale (hydrolyse de la fluorescéine diacétate, activité déshydrogénasique) nettement plus importante est observée sous la plante invasive.

En revanche, une réduction drastique des propagules endomycorhiziennes est observée suite à l'invasion: réduction du nombre de spores, de la longueur des hyphes et du niveau de colonisation des *Acacias* lorsqu'ils sont cultivés dans le sol prélevé sous *A. viridis* ou dans le sol sans la plante invasive mais conditionné par son extrait aqueux. *Amranthus viridis* réduit fortement le développement des communautés de rhizobia associées aux *Acacia* spp. aussi bien en milieu contrôlé (piégeage en tubes Gibson et effet antibactérien de l'extrait aqueux de *A. viridis*) que directement dans le sol de culture en serre (réduction de la biomasse des nodosités des plants d'*Acacia* cultivés dans le sol sous la plante invasive ou dans le sol conditionné par l'extrait aqueux de *A. viridis*).

Parmi les associations symbiotiques plantes - microorganismes telluriques, les champignons mycorhiziens constituent un exemple très largement répandu et étudié (Smith & Read, 1997). Les interactions entre ces symbiotes fongiques et les plantes pourraient modifier la structure et la dynamique des communautés végétales natives. En fonction du statut mycorhizien de la plante invasive, les champignons MA peuvent aussi bien favoriser l'invasion des plantes exotiques (Marler *et al.*, 1999 ; Zabinski *et al.*, 2002 ; Carey *et al.*, 2004 ; Fumanal *et al.*, 2006) que constituer l'élément clef dont la suppression compromet la survie de la flore native mais favorise l'installation et le succès de la plante invasive non mycotrophe (Mummey & Rillig, 2006 ; Stinson *et al.*, 2006). La dégradation de la diversité et de la richesse des communautés de champignons MA peut avoir des modifications profondes dans le fonctionnement des écosystèmes végétaux en ayant un effet limitant sur la diversité végétale et la productivité des écosystèmes (van der Heijden *et al.*, 1998a). Ainsi sous la plante invasive *Centaurea maculosa*, Mummey & Rillig (2006) ont montré que la quantité et la diversité des propagules de champignons MA disponibles dans le sol pour re-initier de nouvelles associations mycorhiziennes étaient significativement réduites. Certaines plantes invasives modifient à leur avantage le fonctionnement de la symbiose MA en intervenant sur les transferts de composés carbonés et du phosphore entre espèces végétales par le réseau d'hyphes mycorhiziens (Zabinski *et al.*, 2002 ; Carey *et al.*, 2004).

La réduction des propagules mycorhiziennes constatée sous *A. viridis* semble bien cohérente puisque cette plante est très peu mycotrophe comme indiqué par les résultats de la détermination de sa dépendance mycorhizienne. Ceci souligne que *A. viridis* assurerait très peu le renouvellement et

l'augmentation du stock de propagules mycorhiziennes. Les teneurs plus élevées en phosphore dans le sol sous la plante invasive est aussi un paramètre déterminant affectant négativement le développement de la symbiose mycorhizienne (Smith & Read, 1997).

Lorsque du sol non colonisé par *A. viridis* est préalablement conditionné par l'extrait aqueux de la plante invasive, on note une réduction du niveau de colonisation des racines des plants d'*Acacia* par les champignons MA et de leur croissance. Même si notre étude n'a pas vraiment étudié les mécanismes par lesquels les effets allélopathiques de *A. viridis* agissaient sur le développement des champignons MA comme précédemment montrés pour certaines plantes (Roberts & Anderson, 2001 ; Stinson *et al.*, 2006), nos résultats montrent un effet inhibiteur de *A. viridis* sur les champignons MA, élément clef pour la croissance et la survie des plants d'*Acacia* sur les sols tropicaux au sud du Sahara (Ducousso & Thoen, 1991). La plante invasive *Alliaria petiolata* produit des composés qui inhibent la germination des spores des champignons MA compromettant la survie des plantes natives fortement mycotrophes (Stinson *et al.* 2006).

Les effets allélopathiques de *A. viridis* déjà observés sur d'autres espèces végétales (Hussain *et al.*, 2003) et mis en évidence dans nos travaux s'appliquent aussi aux organismes symbiotiques du sol (champignons MA et rhizobia). Dans les sols en milieu naturel, les substances allélopathiques de *A. viridis* pourraient agir simultanément sur le développement des plantes natives et sur les communautés microbiennes telluriques ; ce qui contribuerait à inhiber davantage la croissance des plants d'*Acacia*.

Les expériences en serre indiquent des biomasses significativement moins importantes pour les traitements sol stérilisé sans *A. viridis*, sol non stérilisé sous *A. viridis* et sol stérilisé sous *A. viridis*; ce qui suggère que le mécanisme par lequel *A. viridis* inhiberait la croissance des plants d'*Acacia* serait fortement lié au développement des communautés microbiennes rhizosphériques.

La dynamique des communautés bactériennes dans les deux types de sols étudiés suggère des mécanismes de “*feedbacks*” avec les espèces végétales en présence. L'hypothèse de densité – dépendance négative de Janzen-Connell (Janzen, 1970 ; Connell, 1971) prédit que dans les communautés végétales en milieu naturel, les “*feedbacks*” négatifs entre plantes et organismes telluriques seraient prédominants et expliqueraient ainsi le maintien de la diversité végétale dans les écosystèmes. Contrairement aux communautés végétales natives régulées par des “*feedbacks*” négatifs, des “*feedbacks*” plutôt positifs avec les organismes telluriques sont généralement décrits pour les espèces invasives dans leur biotope hôte (Richardson *et al.*, 1994 ; Klironomos, 2002 ; Kourtev *et al.*, 2002a ; 2003 ; Callaway *et al.*, 2004 ; Fumanal *et al.*, 2006), aboutissant souvent à la mise en place de communautés végétales monospécifiques. Dans ce contexte, il a d'abord été suggéré que les plantes exotiques invasives devaient leur succès au fait qu'elles “échappaient” aux

effets antagonistes de leurs prédateurs et/ou pathogènes telluriques dans leur nouvel environnement (Knevel *et al.*, 2004). Mais il est de mieux en mieux accepté que les plantes ont également la capacité d'influencer leur abondance en agissant et en modifiant directement les communautés microbiennes rhizosphériques qui leur sont associées (Kourtev *et al.*, 2002a ; 2003 ; Duda *et al.*, 2003 ; Wolfe & Klironomos, 2005 ; Mummey & Rillig, 2006 ; Stinson *et al.*, 2006). En effet, des communautés microbiennes bien distinctes, aussi bien dans leur structure que dans leur fonctionnement, se développent sous différentes plantes ou sous des communautés végétales différentes en ayant leur spécificité (Kourtev *et al.*, 2003 ; Zak *et al.*, 2003), résultant des différences quantitatives et qualitatives des apports organiques des espèces végétales. Les espèces natives sont de ce fait fortement assujetties aux interactions avec leur microflore rhizosphérique, résultant d'une longue période de co-évolution, à tel point que des auteurs parlent de spécificité avec ces microorganismes (Jordan *et al.*, 2008). Il a même été montré qu'une plante native croissait mieux dans un sol où une autre plante native avait été préalablement cultivée comparativement au sol de culture d'une plante exotique. De même, la croissance d'une plante exotique était significativement plus importante dans le sol où une autre plante exotique avait été cultivée (Vogelsang *et al.*, 2004 ; Jordan *et al.*, 2008). Ces espèces végétales natives demeurent ainsi très vulnérables aux perturbations induites dans les communautés microbiennes par les plantes exotiques.

Si les plantes natives influencent également les populations microbiennes du sol, les modifications induites par les plantes exotiques semblent plus prononcées (Jordan *et al.*, 2008). De plus, certains mécanismes d'action des plantes exotiques peuvent être nouveaux et/ou inhabituels aux microorganismes telluriques du site hôte ou intervenir simultanément, exacerbant ainsi leur impact sur les communautés microbiennes (Wolfe & Klironomos, 2005). Il n'y a pas encore d'évidence dans la littérature indiquant que les plantes exotiques invasives établiraient des relations symbiotiques d'un type fondamentalement "nouveau" (non préexistantes) avec les communautés microbiennes telluriques et qui entraîneraient leur domination avec l'exclusion des espèces natives. Les principales conclusions des études déjà réalisées suggèrent plutôt des modifications dans la structure et le fonctionnement des communautés microbiennes telluriques natives (Ehrenfeld 2003 ; Wardle *et al.*, 2004 ; Van der Putten *et al.*, 2007) favorisées par les plantes invasives pour assurer leur survie et leur croissance [*"self-facilitative effects of soil modification by invasives"* (Jordan *et al.*, 2008)] aux dépens des espèces locales.

Nous observons de tels effets en constatant une nette stimulation (nombre et activité) des communautés bactériennes totales simultanément à une réduction drastique des propagules mycorhiziennes dans le sol sous *A. viridis*. Cette reconversion des communautés microbiennes du

sol vers des communautés dominées par les bactéries a également été observée par Kourtev *et al.* (2002a) et traduirait un nouveau mécanisme en faveur de l'invasion par les plantes exotiques [*The Mutualisms (e.g., Mycorrhizal) Degradation Hypothesis*, (Vogelsang *et al.*, 2004 ; van der Putten *et al.*, 2007)].

La stimulation des communautés bactériennes sous la plante invasive est accompagnée par une nette stimulation des activités enzymatiques microbiennes globales qui pourrait correspondre à un indice de bonne activité biologique de la fertilité du sol (Waldrop *et al.*, 2000). Des modifications structurales et fonctionnelles (profils PLFA et catabolique, activités enzymatiques) des communautés microbiennes des sols sous les plantes invasives ont déjà été observées par l'étude de Kourtev *et al.*, (2003).

Les rhizobia constituent un autre groupe de microorganismes fortement affectés par l'invasion de *A. viridis*. L'inhibition de la croissance des souches de rhizobia observée sur le milieu de culture (effet antibactérien) indique clairement une activité allélopathique de l'extrait aqueux de cette plante sur ces microorganismes. Cette observation permet de mieux définir l'effet antagoniste de *A. viridis* sur la nodulation des plants d'*Acacia* cultivés en tube Gibson et en serre comme une inhibition de la croissance des rhizobia et donc à une impossibilité de formation des nodosités aboutissant à la fixation biologique de l'azote nécessaire dans les écosystèmes pauvres en azote (Dommergues *et al.*, 1999).

Une telle réduction des communautés rhizobiennes a également été trouvée par Vranjic *et al.* (2000) qui ont observé une diminution de la croissance et de la nodulation de plants d'*Acacia sophorae* cultivés dans du sol prélevé sous la plante exotique invasive *Chrysanthemoides monilifera* spp. *rotundata* comparée au développement de la même plante cultivée dans du sol sous *A. sophorae*.

La nouvelle '**niche écologique**' générée par les modifications profondes que causent les plantes invasives (Shea & Chesson, 2002) favoriserait l'installation et l'invasion de la plante exotique à l'origine des modifications des propriétés du sol, et éventuellement l'installation de nouvelles autres espèces végétales invasives. Cette augmentation de l'invasibilité des écosystèmes telluriques par modifications des propriétés microbiennes du sol a été traduite par le concept de '*cross-facilitation process*' (Jordan *et al.*, 2008) et contribuerait ainsi à favoriser à la fois la vulnérabilité des écosystèmes hôtes et le caractère invasif des espèces végétales.

En revanche, les résultats obtenus en serre indiquent que l'accroissement du potentiel infectieux mycorrhizien des sols (principalement celui envahi par *A. viridis*) au moyen de la mycorrhization contrôlée des plants favorisait significativement la croissance des Acacias ainsi que leur nodulation. Ces résultats confortent ainsi l'hypothèse selon laquelle les perturbations des

équilibres écologiques par *A. viridis* (la réduction des populations de microorganismes symbiotiques notamment) seraient à l'origine de l'inhibition de la croissance des plantes natives.

L'ensemble des résultats de nos expériences converge et se complète pour montrer que les modifications dans la structure et le fonctionnement des communautés microbiennes du sol jouent un rôle important dans le processus d'invasion de *Amaranthus viridis*. Ces perturbations modifient le fonctionnement global des écosystèmes hôtes et contribuent à la création d'une nouvelle niche écologique favorisant la vulnérabilité des écosystèmes aux plantes exotiques invasives.

Conclusion générale - Perspectives

7. CONCLUSION GENERALE - PERSPECTIVES

Cette étude qui visait une meilleure compréhension du rôle des champignons MA et des communautés bactériennes associées dans la structuration et l'évolution des espèces végétales en milieu sahélien a été réalisée en mettant en place diverses approches expérimentales (*in situ* et en serre) et méthodes d'analyse. Les principaux résultats indiquent :

- qu'aux échantillons de sol majoritairement colonisés par *Zornia glochidiata* ou *Pennisetum pedicellatum* sont associées des propriétés chimiques (teneur totale en phosphore, en azote et en carbone) et microbiologiques (richesse en propagules de champignon MA, structure et diversité fonctionnelle des communautés microbiennes totales) distinctes pour chaque plante. Le potentiel infectieux mycorhizien du sol couplé à la disponibilité de nutriments dont le phosphore constituent des paramètres clefs dans la répartition et la dynamique des communautés végétales.
- qu'en plus de l'amélioration de la croissance des ligneux exotiques (*Gmelina arborea* et *Eucalyptus camaldulensis*), le champignon MA inoculé permet d'atténuer significativement les perturbations dans le fonctionnement biologique du sol et en particulier l'allélopathie sur la strate herbacée native liées à l'implantation de ces ligneux.
- de profondes modifications dans les propriétés chimiques du sol (pH plus élevé, augmentation des teneurs en C, N et P), dans la structure et le fonctionnement des communautés microbiennes telluriques (stimulation de la densité bactérienne totale, stimulation de l'activité microbienne totale, réduction des communautés de champignon MA et de rhizobia) sous l'effet de la plante invasive *Amaranthus viridis*. Ces perturbations du fonctionnement global de l'habitat hôte favoriseraient le développement de la plante invasive en altérant les capacités de croissance des espèces natives, les Acacias en particulier. L'inoculation préalable avec *Glomus intraradices* favorise considérablement la croissance des plantules d'*Acacia* dans le sol colonisé par la plante invasive.

Ces résultats suggèrent que les espèces végétales sont susceptibles de générer, *via* des "feedbacks" (rétroactions) positifs, des niches écologiques distinctes lors de leur cycle de développement. Ces niches écologiques générées peuvent soit favoriser la co-existence entre espèces végétales (cas où les niches sont réalisées à des échelles réduites: distribution *in situ* de *Z. glochidiata* et *P. pedicellatum*), soit réduire la croissance des autres espèces végétales et/ou à terme permettre la mise en place d'un peuplement végétal dominé par une seule espèce (niches réalisées sur des échelles plus larges : cas des plantes invasives).

Ce travail a mis en évidence le rôle majeur des microorganismes telluriques, en particulier les champignons MA et les communautés bactériennes associées, dans l'évolution spatio-temporelle des successions végétales. Afin d'améliorer les processus de revégétalisation des milieux perturbés et dégradés, une gestion rationnelle des communautés de champignons mycorhiziens dans leur milieu naturel est à recommander en vue de conserver et de valoriser la biodiversité des ressources naturelles des écosystèmes terrestres. Il s'agira entre autres de favoriser des pratiques susceptibles de maintenir ou de reconstituer le potentiel infectieux mycorhizien des sols, notamment le maintien d'une couverture végétale du sol *via* des plantes mycotrophes, l'inoculation mycorhizienne préalable des plants avant leur mise en terre lorsque le sol est fortement dégradé, ... En outre, il serait indispensable de réduire les activités anthropiques nuisibles au développement des microorganismes bénéfiques (feux de brousse, ...).

Cette étude a permis d'obtenir des résultats nouveaux qui nous interpellent davantage sur la nécessité d'une gestion harmonieuse des ressources naturelles. Comme dans tout travail de recherche, des questions subsistent et de nouvelles perspectives de recherche s'ouvrent encore afin de compléter nos connaissances sur l'implication de la composante microbienne du sol et de certaines conditions abiotiques dans la structuration des peuplements végétaux.

- o Une meilleure définition des ressources nutritionnelles paraît nécessaire comme par exemple la mesure du P assimilable par la plante beaucoup plus précise que celle du P total car elle permettrait de déduire une relation plus directe entre la disponibilité du phosphore dans le sol et la capacité des plantes à croître sur ces "patches" de sol.

- o En outre, il paraît nécessaire de prendre en compte la capacité de la légumineuse *Z. glochidiata* à former une double symbiose (champignons MA et rhizobia). Cette démarche permettrait de mieux appréhender les stratégies de colonisation du sol par différentes espèces végétales étant donné que la symbiose rhizobienne, autant que la symbiose mycorhizienne, joue un rôle déterminant dans la structuration et la dynamique des écosystèmes végétaux (van der Heijden *et al.*, 2006).

- o Les phénomènes d'atténuation de l'allélopathie des ligneux exotiques sur les organismes endogènes au travers de la mycorhization contrôlée devraient être aussi validés dans des expérimentations *in situ* (plantation d'arbres préalablement mycorhizés en pépinière).

- o Les mécanismes qui permettent à des plantes invasives (*A. viridis*) d'accroître le pH et les teneurs en nutriments dans le sol pourraient être élucidés. Des études complémentaires sont nécessaires pour préciser les paramètres impliqués:

- la détermination des teneurs en azote, en phosphore et en cations alcalinisants dans la litière de *A. viridis* et dans celle des plantes natives, et le dosage de certaines activités enzymatiques (phosphatases, aminopeptidase, ...) permettraient de mieux comprendre le *turnover* de ces éléments dans le système sol - plantes ;
- le développement des outils de biologie moléculaire conduirait à une quantification de gènes fonctionnels par la technique de la RT-PCR chez les groupes bactériens impliqués dans le cycle de l'azote notamment (Okano *et al.*, 2004 ; Henry *et al.*, 2004) pour définir la structure des communautés effectivement actives, et éventuellement leur part dans la population totale.
- o La connaissance de la diversité des communautés de champignons MA dans les sols devrait être améliorée par l'utilisation de diverses méthodes plus sensibles (TTGE, DGGE, T-RFLP, ...) pour mettre en évidence les modifications liées à l'invasion (Mummey & Rillig, 2006) que le dénombrement des spores n'a pas pu observer. Les mécanismes par lesquels *A. viridis* inhibe le développement des symbiotes fongiques pourraient être précisés en couplant avec des tests de germination de spores de champignons MA au contact d'extraits aqueux de la plante (Stinson *et al.*, 2006). Ces effets des espèces végétales ou des extraits aqueux pourraient être aussi testés sur les végétaux comme les Acacias. Le ou les composés inhibiteurs produits par *Amaranthus viridis* pourraient être identifiés.
- o Enfin, les changements d'échelle méritent d'être étudiés avec des expérimentations au champ pour par exemple préciser les effets des champignons MA sur la croissance des Acacias en présence d'une plante invasive (*A. viridis*).

Références bibliographiques

Les références citées ci - dessous concernent celles qui ont été citées hors articles

= A =

- Aarssen WL** (1983) Ecological combining ability and competitive combining ability in plants: towards a general evolutionary theory of coexistence in systems of competition. *American Naturalist* 122: 707-731.
- Adair RJ, Groves RH** (1998) Impact of Environmental Weeds on Biodiversity: a Review and Development of Methodology. Environment Australia, Canberra.
- Albino UB, Andrade G** (2006) Evaluation of the functional group of microorganisms as bioindicators on the rhizosphere microcosm. In: Rai MK (ed) Handbook of Microbial Biofertilizers. Food Products Press. pp 29-49.
- Albrecht SL, Okon Y, Lonnquist J, Burton RH** (1981) Nitrogen fixation by corn-*Azospirillum* associations in temperate climate. *Crop Science* 21: 301-306.
- Alef K** (1998) Estimation of the hydrolysis of fluorescein diacetate. In: Alef, K., Nannipieri, P. (Eds), Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic Press, London, pp. 232-233.
- Alikhani HA, Saleh-Rastin N, Antoun H** (2006) Phosphate solubilization activity of rhizobia native to Iranian soils. *Plant & Soil* 287: 35-41.
- Allen MF, Allen EB** (1990) The mediation of competition by mycorrhizae in successional and patchy environments. In: Grace JB, Tilman D (eds). Perspectives on plant competition. New York, USA. Academic Press. pp 367-389.
- Ames RN, Reid CPP, Ingham ER** (1984) Rhizosphere bacterial population responses to root colonization by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytologist* 96: 555-563.
- Andrade G, Linderman RG, Bethlenfalvay GJ** (1998a) Bacterial associations with the mycorrhizosphere and the hyphosphere of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Plant & Soil* 202: 79-87.
- Andrade G, Mihara KL, Linderman RG, Bethlenfalvay GJ** (1998b) Soil aggregation status and rhizobacteria in the mycorrhizosphere. *Plant & Soil* 202:89-96.
- Andrade G, Mihara KL, Linderman RG, Bethlenfalvay GJ** (1997) Bacteria from rhizosphere and hyphosphere soils of different arbuscular-mycorrhizal fungi. *Plant & Soil* 192: 71-79.
- Antonovics J, Clay K, Schmitt J** (1987) The measurement of small-scale environmental heterogeneity using clonal transplants of *Anthoxanthum odoratum* and *Danthonia spicata*. *Oecologia* 71: 601-607.
- Asner GP, Vitousek PM** (2005) Remote analysis of biological invasion and biogeochemical change. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)* 102 :4383-4386.
- Assigbetse K, Gueye M, Thioulouse J, Duponnois R** (2005) Soil bacterial diversity responses to root colonization by an ectomycorrhizal fungus are root-dependent. *Microbial Ecology* 50 : 350-359.
- Ashton IW, Hyatt LA, Howe KM, Gurevitch J, Lerdau MT** (2005) Invasive species accelerate decomposition and litter nitrogen loss in a mixed deciduous forest. *Ecological Applications* 15 :1263-1272.
- Aubert G** (1978) Méthodes d'Analyse des sols. Edition CRDP, Marseille, p. 360.
- Auge RM** (2001) Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11: 3-42.
- Augspurger CK** (1990) Spatial patterns of damping-off disease during seedling recruitment in tropical forests. Pest, Pathogens and Plant Communities. JJ Burdon, SR Leather (eds). Blackwell Scientific Publications, Oxford. pp 131-144.
- Ayers WA, Thornton RH** (1968) Exudation of amino-acids by intact and damaged roots of wheat and peas. *Plant & Soil* 28:193-207.
- Azcon-Aguilar C, Palenzuela J, Roldan A, Bautist S, Vallejo R, Barea JM** (2003) Analysis of the mycorrhizal potential in the rhizosphere of representative plant species from desertification-threatened Mediterranean shrublands. *Applied Soil Ecology* 22: 29-37.
- Azcon-Aguilar C, Barea JM** (1996) Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens – An overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza* 6: 457-464.
- Azcon R, Ocampo JA** (1981) Factors affecting the vesicular-arbuscular infection and mycorrhizal dependency or thirteen wheat cultivars. *New Phytologist* 87: 677-685.

= Z =

- Bâ AM, Dalpé Y, Guissou T** (1996) Les Glomales d'*Acacia holosericea* et d'*Acacia mangium*. *Bois et Forêt des Tropiques* 250: 5-18.
- Bâ AM, Balaji B, Piche Y** (1994) Effect of time of inoculation on *in vitro* ectomycorrhizal colonisation and nodule initiation in *Acacia holosericea* seedlings. *Mycorrhiza* 4: 109-119.
- Badji S, Ducousso M, Gueye M, Colonna JP** (1988) Fixation biologique de l'azote et possibilité de nodulation croisée chez les deux espèces d'*Acacias* producteurs de gomme dure : *Acacia senegal* L. Willd et *Acacia laeta* R. Br. ex Benth. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences* 307 (série. III): 663-668.
- Bais HP, Walker TS, Stermitz FR, Hufbauer RA, Vivanco JM** (2002) Enantiomeric-dependent phytotoxic and antimicrobial activity of ($\pm$) catechin. A rhizosecreted racemic mixture from spotted knapweed. *Plant Physiology* 128: 1173-1179.
- Barea JM, Jeffries P** (1995) Arbuscular mycorrhizas in sustainable soil plant systems. in: Hock B, Varma, A (eds), *Mycorrhiza, Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology*. Springer-Verlag, Heidelberg. pp 521-559.
- Barea JM, El-Atrach F, Azcon R** (1991) The role of VA mycorrhizas in improving plant N acquisition from soil as assessed with ^{15}N . In: Flitton C (ed) *The Use of Stable Isotopes in Plant Nutrition, Soil Fertility and Environmental Studies*. Joint IAEA, FAO Division, Vienna, pp 677-808.
- Barea JM, Azcon-Aguilar C** (1983) Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogen-fixing plants. *Advances in Agronomy* 36: 1-54.
- Barot S, Gignoux J** (2004) Mechanisms promoting plant coexistence: can all the proposed processes be reconciled? *Oikos* 106: 185-192.
- Baruch Z, Goldstein G** (1999) Leaf construction cost, nutrient concentration and net CO_2 assimilation of native and invasive species in Hawaii. *Oecologia* 121: 183-192.
- Bationo A, Baethgen WE, Christianson CB, Mkwunye AU** (1991) Comparison of five soil-testing methods to establish phosphorus sufficiency levels in soil fertilized with water-soluble and sparingly soluble phosphorus sources. *Nutrient Cycling in Agrosystems* 28: 271-279.
- Bationo A, Mugbogho SK, Mkwunye AU** (1986) Agronomic evaluation of phosphate fertilizers in Tropical Africa. In: Mkwunye AU, Vleck PLG (eds) *Management of nitrogen and phosphorus fertilizers in sub-saharian Africa*. Martinus Nijhoff Dordrech, Netherlands. pp 283-318.
- Batten KM, Scow KM, Davies KE, Harrison SP** (2006) Two invasive plants alter soil microbial community composition in serpentine grasslands. *Biological Invasions* 8: 217-230.
- Bazzaz FA** (1996) *Plants in changing environments: Linking physiological, population and community ecology*. Cambridge University Press, Cambridge. 350 p.
- Belcher JW, Keddy PA, Twolan-Strutt L** (1995) Root and shoot competition intensity along a soil depth gradient. *Journal of Ecology* 83: 673-682.
- Belnap J, Phillips SL** (2001) Soil biota in an ungrazed grassland : response to annual grass *Bromus tectorum* invasion. *Ecological Applications* 11: 1261-1275.
- Berthelin J, Quantin J, Stemmler S, Leyval C** (2004) Biodisponibilité du fer dans les sols: rôle majeur des activités microbiennes. *Comptes Rendus de l'Académie d'Agriculture de France*.
- Bethlenfalvay GJ, Schüepp H** (1994) Arbuscular mycorrhizas and agrosystem stability. in: Gianinazzi S, Schüepp H (eds); *Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems*. Birkhauser Verlag; Basel, Switzerland. pp: 117-131.
- Bever JD** (2003) Soil community feedback and the coexistence of competitors: conceptual frameworks and empirical tests. *New Phytologist* 157: 465-473.
- Bever JD, Westover KM, Antonovics J** (1997) Incorporating the soil community into plant population dynamics: the utility of the feedback approach. *Journal of Ecology* 85: 561-573.
- Bever JD, Morton JB, Antonovics J, Schultz PA** (1996) Host-dependent sporulation and species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a mown grassland. *Journal of Ecology* 3: 205-214.
- Bever JD** (1992) *Ecological and evolutionary dynamics of plants and their soil communities*. PhD thesis. Duke University, Durham.
- Blum U, Statman KL, Flint LJ, Shaefer SR** (2000) Induction and/or selection of phenolic acid-utilizing bulk-soil and rhizospheric bacteria and their influence on phenolic acid phytotoxicity. *Journal of Chemical Ecology* 26: 2059-2078.

- Bolan NS** (1991) A critical review of the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant & Soil* 134: 189-207.
- Bowen GD** (1994) The ecology of ectomycorrhiza formation and functioning. *Plant & Soil* 159: 61-67.
- Brooker RW** (2006) Plant – plant interactions and environmental change. *New Phytologist* 171: 271-284.
- Brooker RW, Maestre FT, Callaway RM, Lortie CL, Cavieres LA, Kunstler G, Liancourt P, Tielbörger K, Travis MJJ, Anthelme F, Armas C, Coll L, Corcket E, Delzon S, Forey E, Kikvidze Z, Olofsson J, Pugnaire F, Quiroz CL, Saccone P, Schiffrers K, Seifan M, Touzard B, Michalet R** (2008) Facilitation in plant communities: the past, the present, and the future. *Journal of Ecology* 96: 18-34.
- Bruehl GW** (1987) Soilborne Plant Pathogens. Macmillan Publishing Co., New York.
- Brundrett M, Bougher N, Dell B, Malajczuk N** (1996) Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. ACIAR Monograph 32. Canberra, Australia. Australian Center for International Agricultural Research. 374 p.
- Brundrett M** (1991) Mycorrhizas in natural ecosystems. *Advances in Ecological Research* 21: 171-313.
- Brundrett MC, Piche Y, Peterson RL** (1985) A developmental study of the early stages in vesicular-arbuscular mycorrhizal formation. *Canadian Journal of Botany* 63: 184-194.
- Budi SW, Van Tuinen D, Martinotti G, Gianinazzi S** (1999) Isolation from *Sorghum bicolor* mycorrhizosphere of a bacterium compatible with arbuscular mycorrhiza development and antagonistic towards soil-borne fungal pathogens. *Applied & Environmental Biology* 65: 5148-5150.
- Burke MJW, Grime JP** (1996) An experimental study of plant community invisibility. *Ecology* 77: 776-790.
- Bürkert B, Robson A** (1994) ⁶⁵Zn uptake in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) by three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a root free sandy soil. *Soil Biology & Biochemistry* 26:1117-1124.
- Butcher RE** (1983) Studies on interference between weeds and peas. PhD Thesis, University of East Anglia, UK.

= ☺ =

- Cabin RJ, Weller SG, Lorence DH, Cordell S, Hadway LJ, Montgomery R, Goo D, Urakami A** (2002) Effects of light, alien grass and native species additions on Hawaiian dry forest restoration. *Ecological Applications* 12: 1595-1610.
- Callaway RM, Ridenour WM** (2004) Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Frontiers in Ecology and the Environment* 2: 436-443.
- Callaway RM, Thelen GC, Rodriguez A, Holben WE** (2004) Soil biota and exotic plant invasion. *Nature* 427 : 731- 733.
- Callaway RM** (2002) The detection of neighbors by plants. *Trends in Ecology & Evolution* 17 : 104-105.
- Callaway RM, Aschehoug ET** (2000) Invasive plants versus their new and old neighbors : a mechanism for exotic invasion. *Science* 290 : 521-523.
- Callaway RM** (1995) Positive interactions among plants. *Botanical Review* 61: 306-349.
- Cardoso IM, Kuyper TM** (2006) Mycorrhizas and tropical soil fertility. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 116: 72-84.
- Carey EV, Marler MJ, Callaway RM** (2004) Mycorrhizae transfer carbon from a native grass to an invasive weed : evidence from stable isotopes and physiology. *Plant Ecology* 172 :133-141.
- Caris C, Hördt W, Hawkins H-J, Römheld V, George E** (1998) Studies of iron transport by arbuscular mycorrhizal hyphae from soil to peanut and sorghum plants. *Mycorrhiza* 8: 35-39.
- Carpenter-Boggs L, Kennedy AC, Reganold JP** (2000) Organic and biodynamic management: effects on soil biology. *Soil Science Society of America Journal* 64: 1651-1659.
- Carson WP, Root RB** (2000) Herbivory and plant species coexistence: community regulation by an outbreaking phytophagous insect. *Ecological Monographs* 70: 73-99.
- Casper BB, Jackson RB** (1997) Plant competition underground. *Annual Review of Ecology and Systematics* 28: 545-570.
- CBD** [Convention on Biological Diversity] (2006) Invasive Alien Species. Convention on Biological Diversity. Site Web: <http://www.biodiv.org/programmes/cross-cutting/alien/>.

- Cébron A, Norini MP, Beguiristain T, Leyval C** (2008) Real-Time PCR quantification of PAH-ring hydroxylating dioxygenase (PAH-RHD α) genes from Gram positive and Gram negative bacteria in soil and sediment samples. *Journal of Microbiological Methods* 73:148-159.
- Chabot R, Antoun H, Cescas MP** (1996) Growth promotion of maize and lettuce by phosphate solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar phaseoli. *Plant & Soil* 184: 311-321.
- Chapin FS** (1980) The mineral nutrition of wild plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 11: 233-260.
- Chen H, Li B, Fang C, Chen J, Wu J** (2007) Exotic plant influences soil nematode communities through litter input. *Soil Biology & Biochemistry* 39: 1782-1793.
- Chen TL, Brundrett MC, Dell B** (2000) Effects of ectomycorrhizas and vesicular-arbuscular mycorrhizas, alone or in competition, on root colonisation and growth of *Eucalyptus globulus* and *E. urophylla*. *New Phytologist* 146: 545-556.
- Chesson P** (2000) Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31: 343-366.
- Chesson P** (1991) A need for Niches? *Trends in Ecology & Evolution* 6: 26-28.
- Coleman MD, Dickson RE, Isebrands JG** (2000) Contrasting fine-root production, survival and soil CO₂ efflux in pine and poplar plantations. *Plant & Soil* 225: 129-139.
- Collins B, Wein GR** (1993) Competition between native and immigrant *Polygonum* congeners. *Canadian Journal of Botany* 71: 939-945.
- Connell JH** (1971) On the role of natural enemies in preventing competitive exclusion in some marine animals and in rain forests. In : den Boer PJ, Gradwell GR (eds). *Dynamics in Populations*. Wageningen, The Netherlands : Center for Agriculture Publishing and Documentation, 298-312.
- Connolly J, Wayne P** (1996) Asymmetric competition between plant species. *Oecologia* 108: 311-320.
- Cook D, Proctor W** (2007) Assessing the threat of exotic plant pests. *Ecological Economics* 63: 594-604.
- COP-CBD** [Conference Of the Parties to the Convention on Biological Diversity] (2006) Summary of the second global biodiversity outlook. 7p. Site web: <http://www.cbd.int/doc/meetings/cop/cop-08/official/cop-08-12-en.pdf>
- Corgié SC, Fons F, Beguiristain T, Leyval C** (2006) Biodegradation of phenanthrene, spatial distribution of bacterial populations and dioxygenase expression in the mycorrhizosphere of *Lolium perenne* inoculated *Glomus mossea*. *Mycorrhiza* 16: 207-212.
- Corgié SC, Beguiristain T, Leyval C** (2004) Spatial distribution of bacterial communities and phenanthrene (PHE) degradation in the rhizosphere of *Lolium perenne* L. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 3352-3357.
- Cornet F, Diem HG** (1982) Etude comparative de l'efficacité des souches de *Rhizobium* d'*Acacia* isolées de sols du Sénégal et effet de la double symbiose *Rhizobium* – *Glomus mosseae* sur la croissance de *Acacia holosericea* et *A. raddiana*. *Bois et Forêts des Tropiques* 198 : 3-15.
- Couto L, Betters DR** (1995) Short rotation *Eucalypt* plantations in Brazil: social and environmental issues. OKA Ridge National laboratory, Tennessee, USA.
- Crawley MJ** (1986) What makes a community invisible? in: Colonization, Succession and Stability. in: AJ Gray, MJ Crawley & PJ Edwards (eds). Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK. pp : 429-453.
- Cuddington K, Hastings A** (2004) Invasive engineers. *Ecological Modelling* 178 : 335-347.
- Curl E A, Truelove B** (1986) The Rhizosphere. Springer-Verlag, Berlin. pp 1-8.

= D =

- D'Antonio C, Meyerson LA** (2002) Exotic plant species as problems and solutions in ecological restoration: a synthesis. *Restoration Ecology* 10: 703-713.
- D'Antonio CM, Vitousek PM** (1992) Biological invasions by exotic grasses, the grass/fire cycle and global change. *Annual Review of Ecology and Systematics* 23: 63-87.
- D'Antonio CM, Mahall BE** (1991) Root profiles and competition between the invasive, exotic perennial, *Carpobrotus edulis*, and two native shrub species in California coastal scrub. *American Journal of Botany* 78: 885-894.
- Dajoz R** (1971) Précis d'Ecologie. Dunod, Paris. 334p.
- Dalpe Y, Diop T, Planchette C, Gueye M** (2000) Biodiversity of Glomales with soil depth under *Faidherbia albida* in Senegal. *Mycorrhiza* 10 : 125-129.

- Daniell TJ, Husband R, Fitter AH, Young JPW** (2001) Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising arable crops. *FEMS Microbiology Ecology* 36: 203-209.
- Darell AH, Rastetter EB, Gough L, Shaver GR** (2004) Species diversity across nutrient gradients: an analysis of resource competition in model ecosystems. *Ecosystems* 7: 296-310.
- Darwent MJ, Paterson E, McDonald AJS, Tomos AD** (2003) Two-dimensional growth of a root system described as diffusion. I. Analytical solutions. *Plant & Soil* 240: 225-243.
- Davis MA, Grime JP, Thompson K** (2000) Fluctuating resources in plant communities: A general theory of invasibility. *Journal of Ecology* 88: 528-534.
- De Bach P, Rosen D** (1991) Biological control by natural enemies. 2nd edition. Cambridge University Press. Cambridge, UK.
- De Deyn GB, Raaijmakers CE, Van Der Putten WH** (2004) Plant community development is affected by nutrients and soil biota. *Journal of Ecology* 92: 824-834.
- Degens BP, Schipper LA, Sparling GP, Vojvodic-Vukovic M** (2000) Decreases in organic C reserves in soils can reduce the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biology & Biochemistry* 32 : 189-196.
- Degens BP, Harris JA** (1997) Development of a physiological to measuring the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biology & Biochemistry* 29:1309-1320.
- de la Cruz RE, Garcia MU** (1992) Nitrogen fixation and mycorrhizae in acacias on degraded grasslands. In : Tropical acacias in East Asia and the pacific. Kamis A , Taylor DA (eds) ; Winrock International, Bangkok. pp :59-71.
- de la Cruz RE, Manalo MQ, Aggangan NS, Tambalo JD** (1988) Growth of three legumes trees inoculated with VA mycorrhizal fungi and Rhizobium. *Plant & Soil* 108: 111-115.
- del Moral R, Muller CH** (1970) The allelopathic effects of Eucalyptus camaldulensis. *American Midlands Naturalist* 83: 254-282.
- Derylo M, Skorupska A** (1992) Rhizobial siderophore as an iron source for clover. *Physiology of Plants* 85: 549-553.
- di Castri F** (1989) History of biological invasions with emphasis on the Old World.. in: Drake J, di Castri F, Groves R, Kruger F, Mooney HA, Rejmanek M, Williamson M (eds). Biological invasions: a global perspective. Wiley, new York, USA. pp: 1-30.
- Diaz S, Fargione J, Chapin III FS, Tilman D** (2006) Biodiversity loss threatens human well-being. *Plos Biology* 4 : 1300-1305.
- Diédhiou AG, Guèye O, Diabaté M, Prin Y, Duponnois R, Dreyfus B, Bâ AM** (2005) Contrasting responses to ectomycorrhizal inoculation in seedlings of six tropical African tree species. *Mycorrhiza* 16: 11-17.
- Diop TA, Gueye M, Dreyfus BL, Plenchette C, Strullu DG** (1994) Indigenous arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Acacia albida* Del. in different areas of Senegal. *Applied & Environmental Microbiology* 60: 3433-3436.
- Diouf D, Sougoufara B, Neyra M, Lesueur D** (2000) Le reboisement au Sénégal: Bilan des réalisations de 1993 à 1998. Rapport CIRAD-IRD-DEFCCS. 49 p.
- Dommergues Y, Duhoux E, Diem HG** (1999) Les arbres fixateurs d'azote : caractéristiques fondamentales et rôle dans l'aménagement des écosystèmes méditerranéens et tropicaux. Editions Espaces 34, Paris. 499 p.
- Dommergues Y, Mangenot F** (1970) Ecologie microbienne du sol. Masson, Paris. 796 p.
- Donald CM** (1958) The interaction of competition for light and for nutrient. *Australian Journal of Agricultural Research* 9: 421-435.
- Douds DD Jr, Nagahashi G, Pfeffer PE, Kayser WM, Reider C** (2005) On-farm production and utilization of arbuscular mycorrhizal fungus inoculum. *Canadian Journal of Plant Science* 85: 15-21.
- Douds Jr. DD, Miller PD** (1999) Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agrosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 74: 77-93.
- Ducousso M, Colonna JP, Badji S, Thoen D** (1991) Influence de l'azote et du phosphore sur l'établissement de la symbiose quadripartite : *Acacia holosericea*/ *Bradyrhizobium sp*/ *Glomus mosseae*/ *Pisolithus sp.* in : Physiologie des Arbres et Arbustes en zones arides et semi-arides. Groupes d'Etude de l'Arbre. Paris, France. pp : 1-14.
- Ducousso M, Thoen D** (1991) Les types mycorrhiziens des *Acacieae*. in : Physiologie des Arbres et Arbustes en zones arides et semi-arides. Groupes d'Etude de l'Arbre. Paris, France. pp : 175-182.

- Duda JJ, Freeman DC, Emlen JM, Belnap J, Kitchen SG, Zak JC, Sobek E, Tracy M, Montante J** (2003) Differences in native soil ecology associated with invasion of the exotic annual chenopod, *Halogeton glomeratus*. *Biology & Fertility of Soils* 38: 72-77.
- Dukes JS, Mooney HA** (1999) Does global change increase the success of biological invaders? *Trends in Ecology & Evolution* 14: 135-139.
- Duponnois R, Galiana A, Prin Y** (2008) The mycorrhizosphere effect: a multitrophic interaction complex improves mycorrhizal symbiosis and plant growth. In: *Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry*. Siddiqui ZA, Akhtar MS, Futai K (eds); Springer, Dordrecht, The Netherlands. pp: 227-238.
- Duponnois R** (2006a) Mycorrhiza Helper Bacteria : Their ecological impact in mycorrhizal symbiosis. In : *Handbook of Microbial Biofertilizers*. Rai MK (ed) ; Food Products Press, Binghamton NY. pp : 117-135.
- Duponnois R** (2006b) Bacteria Helping Mycorrhiza Development. In: Mukerji KG, Manoharachary C, Singh J (eds) *Microbial Activity in the Rhizosphere*. Springer-Verlag, Berlin. pp: 297-310.
- Duponnois R, Kisa M** (2006) The possible role of trehalose in the mycorrhiza helper effect. *Canadian Journal of Botany* 84: 1005-1008.
- Duponnois R, Colombet A, Hien V, Thioulouse J** (2005a) The Mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendment influence plant growth and microbial activity in the rhizosphere of *Acacia holosericea*. *Soil Biology & Biochemistry* 37: 1460-1468.
- Duponnois R, Founoune H, Masse D, Pontanier R** (2005b) Inoculation of *Acacia holosericea* with ectomycorrhizal fungi in a semi-arid site in Senegal: growth response and influences on the mycorrhizal soil infectivity. *Forest Ecology & Management* 207: 351-362.
- Duponnois R, Plenchette C** (2003) A mycorrhiza helper bacterium (MHB) enhances ectomycorrhizal and endomycorrhizal symbiosis of Australian *Acacia* species. *Mycorrhiza* 13: 85-91.
- Duponnois R, Founoune H, Lesueur D** (2002) Influence of the dual ectomycorrhizal and rhizobial symbiosis on the growth of *Acacia mangium* provenances, the indigenous symbiotic microflora and the structure of plant parasitic nematode communities. *Geoderma* 109: 85-102.
- Duponnois R, Plenchette C, Thioulouse J, Cadet P** (2001a) The mycorrhizal soil infectivity and arbuscular Mycorrhizal fungal spores communities in soils of different aged fallows in Senegal. *Applied Soil Ecology* 17: 239-251.
- Duponnois R, Plenchette C, Bâ AM** (2001b). Growth stimulation of seventeen fallow leguminous plants inoculated with *Glomus aggregatum* in Senegal. *European Journal of Soil Biology* 37: 181-186.
- Duponnois R, Bâ AM** (1999) Growth stimulation of *Acacia mangium* Willd by *Pisolithus* sp. in some senegalese soils. *Forest Ecology & Management* 119: 209-215.
- Duponnois R, Cadet P** (1994) Interactions of *Meloidogyne javanica* and *Glomus* sp. on growth and N₂ fixation of *Acacia seyal*. *Afro Asian Journal of Namatology* 4, 228-233.
- Duponnois R, Garbaye J, Bouchard D, Churin JL** (1993) The fungus-specificity of mycorrhization helper bacteria (MHBs) used as an alternative to soil fumigation for ectomycorrhizal inoculation of bare-root Douglas-fir planting stocks with *Laccaria laccata*. *Plant & Soil* 157: 257-262.
- Duponnois R** (1992) Les bactéries auxiliaires de la mycorrhization du Douglas (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) par *Laccaria laccata* souche S238. Thèse de l'Université Nancy 1. 245 p.
- Duponnois R, Garbaye J** (1990) Some mechanisms involved in growth stimulation of ectomycorrhizal fungi by bacteria. *Canadian Journal of Botany* 68: 2148-2152.

= € =

- Ehrenfeld JG** (2003) Effects of exotic plant invasions on soil nutrient cycling processes. *Ecosystems* 6: 503-523.
- Ehrenfeld J, Kourtev P, Huang W** (2001) Changes in soil functions following invasions of exotics understory plants in deciduous forests. *Ecological Applications* 11 :1287-1300.
- Eissenstat DM, Caldwell MM** (1988) Competitive ability is linked to rates of water extraction. A field study of two aridland tussock grasses. *Oecologia* 75: 1-7.
- Elton CS** (1958) *The ecology of invasions by animals and plants*. Methuen, London, UK.
- Estaún V, Save R, Biel C** (1997) AM inoculation as a biological tool to improve plant revegetation of a disturbed soil with *Rosmarinus officinalis* under semi-arid conditions. *Applied Soil Ecology* 6: 223-229.

Evans RD, Rimer R, Sperry L, Belnap J (2001) Exotic plant invasion alters nitrogen dynamics in a arid grassland. *Ecological Applications* 11: 1301-1310.

= § =

Farley RA, Fitter AH (1999) The responses of seven co-occurring woodland herbaceous perennials to localized nutrient-rich patches. *Journal of Ecology* 87: 849-859.

Firbank LG, Watkinson AR (1985) A model of interference within plant populations. *Journal of Theoretical Biology* 116: 291-311.

Fitter A (1977) Influence of Mycorrhizal infection on competition for phosphorus and potassium by two grasses. *New Phytologist* 79: 119-125.

Founoune H, Duponnois R, Meyer JM, Thioulouse J, Masse D, Chotte JL, Neyra M (2002) Interactions between ectomycorrhizal symbiosis and fluorescent pseudomonads on *Acacia holosericea*: isolation of Mycorrhiza Helper Bacteria (MHB) from a Soudano-Sahelian soil. *FEMS Microbiology Ecology* 41: 37-46.

Founoune H (2001) La symbiose ectomycorhizienne des acacias australiens en Afrique de l'Ouest : impact sur le développement de la plante hôte et sur le biofonctionnement du sol. Thèse de Doctorat. Université Moulay Ismail. Maroc. 186 p.

Founoune H, Duponnois R, Bâ AM, El Bouami F (2001) Influence of the dual arbuscular endomycorrhizal / ectomycorrhizal symbiosis on the growth of *Acacia holosericea* (A. Cunn. ex G. Don) in glasshouse conditions. *Annals of Forest Sciences* 59: 93-98.

Fowler NL (1986) The role of competition in plant communities in arid and semiarid regions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17: 89-110.

Freckleton RP, Watkinson AR (2001) Asymmetric competition between plant species. *Functional Ecology* 15: 615-623.

Frey-Klett P, Garbaye J, Tarkka M (2007) The mycorrhiza helper bacteria revisited. *New Phytologist* 176: 22-36.

Fumanal B, Plenchette C, Chauvel B, Bretagnolle F (2006) Which role can arbuscular Mycorrhizal fungi play in the facilitation of *Ambrosia artemisiifolia* L. invasion in France? *Mycorrhiza* 17: 25-35.

= ¶ =

Gange AC, Lindsay DE, Ellis LS (1999) Can arbuscular mycorrhizal fungi be used to control the undesirable grass *Poa annua* on golf courses ? *Journal of Applied Ecology* 36 : 909-919.

Gange AC (1994) Subterranean insects and fungi : hidden costs and benefits to the greenkeeper. Cochran AJ, Ferrally MR (eds). Sciences and Golf II : Proceedings of the World Scientific Congress of Golf. E. & F.N. Spon, London, UK. pp : 461-466.

Garbaye J (2000) The role of ectomycorrhizal symbiosis in the resistance of forests to water stress. *Outlook on Agriculture* 29 : 63-69.

Garbaye J (1994) Helper Bacteria : a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist* 128 : 197-210.

Garbaye J, Duponnois R (1992a) Application des BAM (Bactéries Auxilliaires de la Mycorrhization) à l'inoculation du Douglas par *Laccaria laccata* S238 en pépinière forestière. *Revue Forestière Française* 44 : 491-500.

Garbaye J, Duponnois R (1992b) Specificity and function of mycorrhization helper bacteria (MHB) associated with the *Pseudotsuga menziesii*-*Laccaria laccata* symbiosis. *Symbiosis* 14 : 335-344.

Garbaye J (1991) Biological interactions in the rhizosphere. *Experientia* 47 : 370-375.

Gassama-Dia YK, Sané D, N'Doye M 2003. Reproductive biology of *Faidherbia albida* (Del.) A. Chev. *Silva Fennica* 37 (4): 429-436.

Gause GF (1937) Experimental populations of microscopic organisms. *Ecology* 18: 173-179.

Gentili F, Jumpponen A (2006) Potential and possible uses of bacterial and fungal biofertilizers. in: Rai MK (ed) Handbook of Microbial Biofertilizers. Food Products Press. pp 1-28.

Gianinazzi S, Schüepp H (1994) Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems. Birkhäuser Verlag, Basel. 226 p.

- Gerdemann JW, Nicolson TH** (1963) Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of British Mycological Society* **46**: 235.
- Gibson AH** (1963) Physical environment and symbiotic nitrogen fixation. I. The effect of temperature on recently nodulated *Trifolium subterraneum* L. plant. *Australian Journal of Biological Sciences* **16**: 28-42.
- Girard MC, Walter C, Remy JC, Berthelin J, Morel JC** (2005) Sols et Environnement. Dunod. 816p.
- Gleeson SK, Tilman D** (1990) Allocation and the transient dynamics of succession on poor soils. *Ecology* **71**: 1144-1155.
- Gobat JM, Aragno M, Matthey W** (2003) Le sol vivant, 2^e Edition. Presses Polytechniques Universitaires Romandes, Lausanne. 568 p.
- Goldberg DE, Barton AM** (1992) Patterns and consequences of interspecific competition in natural communities: a review of field experiments with plant. *American Naturalist* **139**: 771-801.
- Goldstein AH** (1986) Bacterial solubilization of mineral phosphates: historical perspective and future prospects. *American Journal of Alternative Agriculture* **1**: 51-57.
- Grace JD, Tilman D** (1990) Perspectives on plant competition. Academic Press, New York. 484 p.
- Graham JH, Leonard RT, Menge JA** (1981) Membrane-mediated decrease in root exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. *Plant Physiology* **68**: 548-552.
- Gransee A, Wittenmayer L** (2000) Qualitative and quantitative analysis of water-soluble root exudates in relation to plant species and development. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **163**: 381-385.
- Grayston S, Griffith G, Mawdsley J, Campbell C, Bardgett R** (2001) Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry* **33**: 533-551.
- Grayston SJ, Campbell CD** (1996) Functional biodiversity of microbial communities in the rhizosphere of hybrid larch (*Larix eurolepis*) and Sitka spruce (*Picea sitchensis*). *Tree Physiology* **16**: 1031-1038.
- Grayston SJ, Vaughan D, Jones D** (1996) Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. *Applied Soil Ecology* **5**: 29-56.
- Greene DE, Johnson EA** (1994) Estimating the mean annual seed production of trees. *Ecology* **75**: 642-647.
- Grime JP** (1993) Ecology sans frontiere. *Oikos* **68**: 385-392.
- Grime JP, Hodgson JG, Hunt R** (1988) Comparative plant ecology. Unwin Hyman, London, England. 800p.
- Grime JP, Mackey JML, Hiller SH, Read DJ** (1987) Floristic diversity in a model system using experimental microcosms. *Nature* **328**: 420-422.
- Grime JP** (1979) Plant strategies and vegetation processes. John Wiley and Sons, Bath, UK. 222p.
- Grime JP** (1977) Evidence for existence of 3 primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *The American Naturalist* **111**: 1169-1194.
- Grime JP** (1973) Competitive exclusion in herbaceous vegetation. *Nature* **242**: 344-347.
- Grotkopp E, Rejmanek M, Thomas Rost L** (2002) Toward a causal explanation of plant invasiveness: seedling growth and life history strategies of 29 Pine (*Pinus*) species. *American Naturalist* **159**: 396-419.
- Grubb PJ** (1977) The maintenance of species-richness in plant communities: the importance of the regeneration niche. *Biological Reviews* **52**: 107-145.

= ♢ =

- Habte M, Manjunath A** (1991) Categories of vesicular-arbuscular mycorrhizal dependency of host species. *Mycorrhiza* **1**: 3-12.
- Hamdan H, Weller DM, Thomashow LS** (1991) Relative importance of fluorescent siderophores and others factors in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by *Pseudomonas fluorescens* 2-79 and M4-80R. *Applied and Environmental Microbiology* **57**: 3270-3277.
- Hamel C** (1996) Prospects and problems pertaining to the management of arbuscular mycorrhizae in agriculture. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **60**: 197-210.
- Hamilton JG, Holzapfel C, Mahall BE** (1999) Coexistence and interference between native perennial grass and non-native annual in California. *Oecologia* **121**: 518-526.

- Hampp R, Wiese J, Mikolajeski S, Nehls U** (1999) Biochemical and molecular aspects of C/N interaction in ectomycorrhizal plants: an update. *Plant & Soil* 215: 103-113.
- Hara T, Wyszomirski T** (1994) Competitive asymmetry reduces spatial effects on size-structure dynamics in plant populations. *Annals of Botany* 73: 185-197.
- Harper JL** (1965) Establishment, aggression and cohabitation. Pp: 243-265. In: Baker HG, Stebbins GL (Eds). The genetics of colonizing species. Academic, New York. New York, USA.
- Harris JA** (2003) Measurements of the soil microbial community for estimating the success of restoration. *European Journal of Soil Science* 54: 801-808.
- Harris JN, New PB, Martin PM** (2006) Laboratory tests can predict beneficial effects of phosphate-solubilizing bacteria on plants. *Soil Biology & Biochemistry* 38: 1521-1526.
- Harrison I, Lavery M, Sterling E** (2004) Species Diversity. *Connexions*, July 2004. 7p. <http://cnx.org/content/m12174/1.3/>.
- Hart MM, Reader RJ, Klironomos JN** (2003) Plant coexistence mediated by arbuscular mycorrhizal fungi. *Trends in Ecology & Evolution* 18: 418-423.
- Hartnett DC, Hetrick BAD, Wilson GWT, Gibson DJ** (1993) Mycorrhizal influence on intra- and intra-specific neighbour interactions among co-occurring prairie grasses. *Journal of Ecology* 81: 787-795.
- Hauggaard-Nielsen H, Jensen ES** (2005) Facilitative root interactions in intercrops. *Plant & Soil* 274: 237-250.
- Hawkes CV, Wren IF, Herman DJ, Firestone MK** (2005) Plant invasion alters nitrogen cycling by modifying the soil nitrifying community. *Ecology Letters* 8: 976-985.
- He X, Nara K** (2007) Element biofortification: can mycorrhizas potentially offer a more effective and sustainable pathway to curb human malnutrition? *Trends in Plant Science* 12: 331-333.
- He XH, Critchley C, Bledsoe C** (2003) Nitrogen transfer within and between plants through common mycorrhizal networks (CMNs). *Critical Reviews in Plant Sciences* 22: 531-567.
- Henry S, Baudoin E, López-Gutiérrez JC, Martin-Laurent F, Brauman A, Philippot L** (2004) Quantification of denitrifying bacteria in soils by nirK gene targeted real-time PCR. *Journal of Microbiological Methods* 59:327-335.
- Herrera MA, Salamanca CP, Barea JM** (1993) Inoculation of woody legumes with selected arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia to recover desertified Mediterranean ecosystems. *Applied & Environmental Microbiology* 59: 129-133.
- Hetrick BAD** (1984) Ecology of VA Mycorrhizal fungi. VA Mycorrhizae. CL Powell, DJ Bagyaraj (eds), CRC Press, Louisiana, USA. pp 35-56.
- Hierro JL, Callaway RM** (2003) Allelopathy and exotic plant invasion. *Plant & Soil* 256: 29-39.
- Hiltner L** (1904) Über neuere Erfahrungen und Problem auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie unter besonderer Berücksichtigung der Grundüngung und Brache (On recent insights and problems in the area of soil bacteriology under special consideration of the use of green manure and following. *Arbeiten der Deutschen Landwirtschaftlichen Gesellschaft* 98: 59-78.
- Hinsinger P** (2001) Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: A review. *Plant & Soil* 237: 173-195.
- Hobbie SE** (1992) Effects of plant species on nutrient cycling. *Trends in Ecology & Evolution* 7:336-339.
- Hodge A, Campbell CD, Fitter AH** (2001) An arbuscular Mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic matter. *Nature* 413: 297-299.
- Hoitink HA** (1986) Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. *Annual Review of Phytopathology* 24: 93-114.
- Hooper DU, Vitousek PM** (1997) The effects of plant composition and diversity on ecosystem processes. *Science* 277: 1302-1305.
- Howe HF, Brown JS, Zorn-Arnold B** (2002) A rodent plague on prairie diversity. *Ecology Letters* 5: 30-36.
- Horwath WR, Elliott LF, Lynch JM** (1998) Influence of soil quality on the function of inhibitory rhizobacteria. *Letters in Applied Microbiology* 26 : 87-92.
- Hussain F, Gilani SS, Fatima I, Durrani MJ** (2003) Some autecological studies on *Amaranthus viridis* L. *Pakistan Journal of Weed Science Research* 9: 117-124.
- Huston MA** (1979) General hypothesis of species diversity. *American Naturalist* 113: 81-101.
- Hutchinson TF, Vankat JL** (1997) Invasibility and effects of Amur honeysuckle in southwestern Ohio forest. *Conservation Biology* 11: 1117-1124.

Hutchinson GE (1959) Homage to Santa Rosalia or Why are there so many kinds of animals? *American Naturalist* 93: 145-159.

= **I** =

Imaizumi S, Teteno A, Fujimori T (1998) Effect of bacterial concentration of *Xanthomonas campestris* pv. *poae* (JT-P482) on the control of annual bluegrass (*Poa annua* L.). *Journal of Pesticide Science* 23 : 141-144.

Imaizumi S, Nishino T, Miyabe K, Fujimori T, Yamada M (1997) Biological control of annual bluegrass (*Poa annua* L.) with Japanese isolate of *Xanthomonas campestris* pv. *poae* (JT-P482). *Biological Control* 8 : 7-14.

Inderjit (2005) Soil microorganisms : An important determinant of allelopathic activity. *Plant & Soil* 274 : 227-236.

= **J** =

Jackson RB, Caldwell MM (1993) The scale of nutrient heterogeneity around individual plants and its quantification with geostatistics. *Ecology* 74: 612-614.

Jackson RB, Caldwell MM (1992) Shading and the capture of localized soil nutrients: nutrient contents, carbohydrates, and root uptake kinetics of a perennial tussock grass. *Oecologia* 91: 457-462.

Jakobsen I, Abbott LK, Robson AD (1992) External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L.1. Spread of hyphae and phosphorus inflow into roots. *New Phytologist* 120 : 371-380.

Jakobsen I, Rosendahl L (1990) Carbon flow into soil and external hyphae from roots of mycorrhizal cucumber plants. *New Phytologist* 115 : 77-83.

Janos DP (1980) Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica* 12: 56-64.

Janzen DH (1970) Herbivores and the number of tree species in tropical forests. *American Naturalist* 104 : 501-528.

Jasper DA, Abbot LK, Robson D (1991) The effect of soil disturbance on vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soils from different vegetation types. *New Phytologist* 118: 471-476.

Jauzen Ph (1998) Bilan des espèces naturalisées en France méditerranéenne. in : Proceedings 6^{ème} Symposium Méditerranéen EWRS, Montpellier, France, 18-25.

Johansson JF, Paul LR, Finlay RD (2004) Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiology Ecology* 48: 1-13.

Johnson D, Leake JR, Ostle N, Ineson P, Read DJ (2002) In situ (CO₂)-C-13 pulse-labelling of upland grassland demonstrates a rapid pathway of carbon flux from arbuscular mycorrhizal mycelia to the soil. *New Phytologist* 153: 327-334.

Johnson NC, Graham JH, Smith FA (1997) Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytologist* 135: 575-585.

Johnson NC, Tilman D, Wedin D (1992) Plant and soil controls on mycorrhizal fungal communities. *Ecology* 73: 2034-2042.

Jordan NR, Larson DL, Huerd SC (2008) Soil modification by invasive plants: effects on native and invasive species of mixed-grass prairies. *Biological Invasions* 10: 177-190.

Joner EJ, Leyval C (2003) Rhizosphere gradients of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) dissipation in two industrial soils and the impact of arbuscular mycorrhiza. *Environmental Science & Technology* 37: 2371-2375.

Jones DL (1998) Organic acids in the rhizosphere – a critical review. *Plant & Soil* 205: 25-44.

= **K** =

Kazakou E (2006) Vie, mort et décomposition des feuilles d'espèces de succession secondaire méditerranéenne : vers une intégration de la gestion des éléments minéraux par les végétaux. Thèse de Doctorat de l'Université Montpellier II, France. 166 p.

Kennedy TA, Naeem S, Howe KM, Knops JMH, Tilman D, Reich P (2002) Biodiversity as a barrier to ecological invasion. *Nature* 417: 636-638.

- Khan AG, Kuek C, Chaudhry TM, Khoo CS, Hayes WJ** (2000) Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere* 41: 197-207.
- Kiers, ET, Lovelock CE, Krueger EL, Herre EA** (2000) Differential effects of tropical arbuscular mycorrhizal fungal inocula on root colonization and tree seedling growth: implications for tropical forest diversity. *Ecology Letters* 2: 52-62.
- Kim D-S, Weller DM, Cook RJ** (1997) Population dynamics of *Bacillus* sp. L324-92R₁₂ and *Pseudomonas fluorescens* 2-79RN₁₀ in the rhizosphere of wheat. *Phytopathology* 87: 559-564.
- King J** (1971) Competition between established and newly sown grass species. *Journal of the British Grassland Society* 26: 221-229.
- Kisa M, Sanon A, Thioulouse J, Assigbetse K, Sylla S, Spichiger R, Dieng L, Berthelin J, Prin Y, Galiana A, Lepage M, Duponnois R** (2007) Arbuscular mycorrhizal symbiosis counterbalance the negative influence of the exotic tree species *Eucalyptus camaldulensis* on the structure and functioning of soil microbial communities in a sahelian soil. *FEMS Microbiology Ecology* 62: 32-44.
- Klironomos JN** (2002) Feedback with soil biota contributes to plant rarity and invasiveness in communities. *Nature* 417: 67-70.
- Klironomos JN, McCune J, Hart M, Neville J** (2000) The influence of arbuscular mycorrhizae on the relationship between plant diversity and productivity. *Ecology Letters* 3: 137-141.
- Knevel I, Lans T, Menting FBJ, Hertling UM, van der Putten WH** (2004) Release from native root herbivores and biotic resistance by soil pathogens in a new habitat both affect the alien *Ammophila arenaria* in South Africa. *Oecologia* 141: 502-510
- Koch KE, Johnson CR** (1984) Photosynthate portioning in split-root citrus seedlings with mycorrhizal and non-mycorrhizal root systems. *Plant Physiology* 75: 26-30.
- Kolar CS, Lodge DM** (2001) Progress in invasion biology: predicting invaders. *Trends in Ecology & Evolution* 16: 199-205.
- Kourtev PS, Ehrenfeld JG, Häggblom M** (2003) Experimental analysis of the effect of exotic and native plant species on the structure and function of soil microbial communities. *Soil Biology & Biochemistry* 35: 895-905.
- Kourtev PS, Ehrenfeld JG, Häggblom M** (2002a) Exotic plant species alter the microbial community structure and function in soil. *Ecology* 83: 3152-3166
- Kourtev PS, Ehrenfeld JG, Huang WZ** (2002b) Enzyme activities during litter decomposition of two exotic and two native plant species in hardwood forests of New Jersey. *Soil Biology & Biochemistry* 34: 1207-1218.
- Kourtev PS, Huang WZ, Ehrenfeld JG** (1999) Differences in earthworm densities and nitrogen dynamics in soils under exotic and native plant species. *Biological Invasions* 1 : 237-245.
- Kourtev PS, Ehrenfeld JG, Huang WZ** (1998) Effects of exotic plant species on soil properties in hardwood forests of New Jersey. *Water, Air and Soil Pollution* 105 : 493-501.
- Krebs CJ** (1989) *Ecological Methodology*. Harper Collins Publishers, New York. 654 p.
- Kropff MJ, Spitters CJT** (1992) An eco-physiological model for interspecific competition, applied to the influence of *Chenopodium album* L. on sugar beet. I. Model description and parameterization. *Weed Research* 32: 437-450.
- Kropff MJ, Spitters CJT** (1991) A simple model of crop loss by weed competition from early observations of on relative leaf area of the weeds. *Weed Research* 31: 465-471.

= 2 =

- Lambers H, Raven JA, Shaver GR, Smith SE** (2008) Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. *Trends in Ecology & Evolution* 23: 95-103.
- Landeweert R, Hoffland E, Finlay RD, Kuyper TW, van Breemen N** (2001) Linking plant to rocks: ectomycorrhizal fungi mobilize nutrients from minerals. *Trends in Ecology & Evolution* 16: 248-255.
- Leake JR** (2004) Myco-heterotroph/epiparasitic plant interactions with ectomycorrhizal and arbuscular Mycorrhizal fungi. *Current Opinion in Plant Biology* 7: 422-428.
- Le Bourgeois T, Merlier H** (1995) *Adventrop. Les adventices d'Afrique soudano-sahélienne*. Montpellier, France. CIRAD-CA (ed). 640 p.
- Lebreton P** (1978) *Eco-logique . Initiation aux disciplines de l'environnement*. Inter Editions, Paris. 239 p.

- Lejon DPH, Chaussod R, Ranger J, Ranjard L** (2005) Microbial community structure and density under different tree species in an acid forest soil (Morvan, France). *Microbial Ecology* 50: 614-625.
- Levine JM, Vilà M, D'Antonio CM, Dukes JS, Grigulis K, Lavorel S** (2003) Mechanisms underlying the impacts of exotic plant invasion. *Proceedings of the Royal Society of London, serie B* 270: 775-781.
- Levine JM, D'Antonio CM** (1999) Elton revisited: a review of evidence linking diversity and invasibility. *Oikos* 87: 15-26.
- Leyval C, Joner EJ** (2001) Bioavailability of heavy metals in the mycorrhizosphere. in: *Trace elements in the rhizosphere*. CRC Press. pp 165-185.
- Leyval C, Turnau K, Haselwandter K** (1997) Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza* 7: 139-153.
- Leyval C, Berthelin J** (1993) Rhizodeposition and net release of soluble organic compounds by pine and beech seedlings inoculated with rhizobacteria and ectomycorrhizal fungi. *Biology & Fertility of Soils* 15: 259-267.
- Leyval C, Berthelin J** (1991) Weathering of a mica by roots and rhizospheric microorganisms of pine. *Soil Science Society of America Journal* 55: 1009-1016.
- Linderman RG** (1988) Mycorrhizal interactions with the rhizosphere microflora: the mycorrhizosphere effect. *Phytopathology* 78: 366-371.
- Loreau M, Mouquet N** (1999) Immigration and the maintenance of local species diversity. *American Naturalist* 154: 427-440.
- Loreau M** (1998) Biodiversity and ecosystem functioning: a mechanistic model. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95: 5632-5636.
- Lovelock CE, Wright SF, Clark DA, Ruess RW** (2004) Soil stocks of glomalin produced by arbuscular mycorrhizal fungi across a tropical rain forest landscape. *Journal of Ecology* 92: 278-287.

= 20 =

- MacIntyre S, Lavorel S, Tremont RM** (1995) Plant life-history attributes: their relationship to disturbance response in herbaceous vegetation. *Journal of Ecology* 83: 31-44.
- Mack RN, Simberloff D, Lonsdale WM, Evans H, Clout M, Bazzaz FA** (2000) Biotic invasions: Causes, Epidemiology, Global Consequences, and Control. *Ecological Applications* 10: 689-710.
- Mack RN** (1989) Temperate grasslands vulnerable to plant invasion: characteristics and consequences. Pp: 155-179. In: Drake JA, Mooney HA, di Castri F, Groves RH, Kruger FJ, Rejmanek M, Williamson M (eds). *Biological invasions: a global perspective*. Wiley, Chichester, UK.
- Malcova R, Vosatka M, Albrechtova J** (1999) Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and simulated acid rain on the growth and coexistence of the grasses *Calamagrostis villosa* and *Deschampsia flexuosa*. *Plant & Soil* 207: 45-57.
- Mando A, Brussaard L, Stroosnijder L** (1999) Termite-and mulch-mediated rehabilitation of vegetation on crusted soil in West Africa. *Restoration Ecology* 7, 33-41.
- Manga AGB** (2005) Biodiversité des champignons mycorrhiziens arbusculaires d'*Acacia seyal* Del. et évaluation de leur potentialités symbiotiques en milieu salé. Thèse de L'Université Cheikh Anta Diop de Dakar. 118p.
- Manjunath A, Hue NV, Habte M** (1989) Response of *Leuceana leucocephala* to vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization and rock phosphate fertilization in an Oxisol. *Plant & Soil* 114: 127-133.
- Marchal JY** (1983) Yatenga, dynamique d'un espace rural Soudano-Sahélien (Haute-Volta). Travaux et Documents 167. ORSTOM. Paris.
- Marilley L, Vogt G, Blanc M, Aragno M** (1998) Bacterial diversity in the bulk soil and rhizosphere fractions of *Lolium perenne* and *Trifolium repens* as revealed by PCR restriction analysis of 16s rDNA. *Plant & Soil* 198: 219-224.
- Marler MJ, Zabinski CA, Callaway RM** (1999) Mycorrhizae indirectly enhance competitive effects of an invasive forb on a native bunchgrass. *Ecology* 80 :1180-1186.
- Maron JL, Connors PG** (1996) A native nitrogen-fixing shrub facilitates weed invasion. *Oecologia* 105: 302-312.
- Marscher H** (1997) Mineral nutrition of higher plant. 2e edition. Academic Press, London. 889 p.

- Marshner P, Crowley DE, Higashi M** (1997) Root exudation and physiological status of a root-colonizing fluorescent pseudomonad in mycorrhizal and non-mycorrhizal pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant & Soil* 189:11-20.
- Martin JK** (1971) ¹⁴C-labelled material leached from the rhizosphere of plants supplied with ¹⁴CO₂. *Australian Journal of Biological Science* 24:1131-1142.
- Martin MPLD, Field RJ** (1984) The nature of competition between perennial ryegrass and white clover. *Grass & Forage Science* 39: 247-253.
- Masters RA, Nissen SJ** (1998) Revegetating leafy spurge (*Euphorbia esula*)-infested rangeland with native tallgrass. *Weed Technology* 12 : 381-390.
- Matiru VN, Dakora FD** (2004) Potential use of rhizobial bacteria as promoters of plant growth for increased yield in landraces of African cereal crops. *African Journal of Biotechnology* 3: 1-7.
- Mc Arthur RH** (1972) Geographical ecology: patterns in the distribution of species. Princeton University Press, Princeton. 288p.
- Mc Arthur RH, Wilson EO** (1967) Theory of Island Biogeography. Princeton University Press, Princeton. 226 p.
- McDougall BM, Rovira AD** (1970) Sites of exudation of ¹⁴C-labelled compounds from wheat roots. *New Phytologist* 69: 999-1003.
- Meiners SJ** (2007) Apparent competition: an impact of exotic shrub invasion on tree regeneration. *Biological Invasions* 9: 849-855.
- Meyer JR, Linderman RG** (1986) Selective influence on populations of rhizosphere or rhizoplane bacteria and actinomycetes by mycorrhizas formed by *Glomus fasciculatum*. *Soil Biology & Biochemistry* 18: 191-196.
- Michelsen A, Quarmby C, Sleep D, Jonasson S** (1998) Vascular plant ¹⁵N natural abundance in heath and forest tundra ecosystems is closely correlated with presence and type of mycorrhizal fungi in roots. *Oecologia* 115: 406-418.
- Milbau A, Nijs I, Van Peer L, Reheul D, De Cauwer B** (2003) Disentangling invasiveness and invasibility during invasion in synthesized grassland communities. *New Phytologist* 159: 657-667.
- Milchunas DG, Lauenroth WK** (1995) Inertia in plant community structure: state changes after cessation of nutrient-enrichment stress. *Ecological Applications* 5: 452-458.
- Millenium Ecosystem Assessment** (2005) Ecosystems and human well-being : Biodiversity synthesis. Washington (D.C) : World Resources Institute. 86p.
- Miller DD, Domoto PA, Walker C** (1985) Colonization and efficacy of different endomycorrhizal fungi with Apple seedlings at two phosphorus levels. *New Phytologist* 100: 393-402.
- Miller SA, Madden LV, Schmitthenner AF** (1997) Distribution of *Phytophthora* spp. in field soils determined by immunoassay. *Phytopathology* 87: 101-107.
- Mitchell CE, Power AG** (2003) Release of invasive plants from viral and fungal pathogens. *Nature* 421: 625-627.
- Moora M, Zobel M** (1996) Effect of arbuscular mycorrhiza and inter- and intraspecific competition of two grassland species. *Oecologia* 108: 79-84.
- Moore JL, Mouquet N, Lawton JH, Loreau M** (2001) Coexistence, saturation and invasion resistance in simulated plant assemblages. *Oikos* 94: 303-314.
- Mosse B** (1986) Mycorrhiza in a sustainable agriculture. *Biological Agriculture & Horticulture* 3: 191-209.
- Mosse B** (1959) The regular germination of resting spores and some observations on the growth requirements of *Endogone* sp. causing vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Transactions of the British Mycological Society* 42: 273-286.
- Mouquet M, Loreau M** (2002) Coexistence in Metacommunities: The Regional Similarity Hypothesis. *American Naturalist* 159: 420-426.
- Mouquet M, Moore JL, Loreau M** (2002) Plant species richness and community productivity: Why the mechanism that promotes coexistence matters. *Ecology Letters* 5: 56-65.
- Mummey DL, Rillig MC** (2006) The invasive plant species *Centaurea maculosa* alters arbuscular mycorrhizal fungal communities in the field. *Plant & Soil* 288: 81-90.
- Muthukumar T, Udaiyan K, Rajeshkannan V** (2001) Response of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) to indigenous arbuscular mycorrhizal fungi, phosphate-solubilizing and asymbiotic nitrogen-fixing bacteria under tropical nursery conditions. *Biology & Fertility of Soils* 34: 417-426.

Muyzer G, de Waal EC, Uitterlinden AG (1993) Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rDNA. *Applied & Environmental Microbiology* 59:695-700.

= ∞ =

Naeem S, Thompson LJ, Lawler SP, Lawton JH, Woodfin RM (1994) Declining biodiversity can alter the performance of ecosystems. *Nature* 368: 734-737.

Nagashima H, Terashima I, Katoh S (1995) Effects of plant density on frequency distributions of plant height in *Chenopodium album* stands: analysis based on continuous monitoring of the height-growth of individual plants. *Annals of Botany* 75: 173-180.

Nagel JM, Griffin KL (2001) Construction cost and invasive potential : comparing *Lythrum salicaria* (Lythraceae) with co-occurring native species along pond banks. *American Journal of Botany* 88 :2252-2258.

Nara K, Hogetsu T (2004) Ectomycorrhizal fungi on established shrubs facilitate subsequent seedling establishment of successional plant species. *Ecology* 85 : 1700-1707.

Nayyar A, Hamel C, Forge T, Selles F, Jefferson PG, Hanson K, Germida J (2008) Arbuscular mycorrhizal fungi and nematodes are involved in negative feedback on a dual culture of alfalfa and Russian wildrye. *Applied Soil Ecology* 40:30-36.

Nations Unies (1992) Convention sur la Diversité Biologique ; Rio de Janeiro. 85p.

Neitko KF, Frankenberg WTJr (1989) Biosynthesis of cytokinins in soil. *Journal of the Soil Science Society of America* 53: 735-740.

Neuhauser C, Fargione JE (2004) A mutualism-parasitism continuum model and its application to plant-mycorrhizae interactions. *Ecological Modelling* 177: 337-352.

Newman EI (1988) Mycorrhizal links between plants: their functioning and ecological significance. *Advances in Ecological Research* 18: 243-270.

Newsham KK, Fitter AH, Watkinson AR (1995) Arbuscular mycorrhiza protect an annual grass from root pathogenic fungi in the field. *Journal of Ecology* 83: 991-1000.

Nilsson MC (1994) Separation of allelopathy and resource competition by the boreal dwarf shrub *Empetrum hermaphroditum* Hagerup. *Oecologia* 98: 1-7.

Norman MJT, Pearson CJ, Searle PGE (1995) The Ecology of Tropical Food Crops. Cambridge University Press, Cambridge. 436 p.

Noss R (1990) Indicators for monitoring biodiversity : a hierarchical approach. *Conservation Biology* 4 : 355-364.

Nyvall RF (1999) Field Crop Diseases, 3^d edition. Iowa State University Press.

= © =

Office of Technology Assessment (1993) Harmfull Non-Indigenous Species in the United States, OTA-F-565. U.S. Government Printing Office, Washington, DC.

Okano Y, Hristova KR, Leutenegger CM, Jackson LE, Denison RF, Gebreyesus B, Lebauer D, Scow KM (2004) Application of real-time PCR to study effects of ammonium on population size of ammonia-oxidizing bacteria in soil. *Applied & Environmental Microbiology* 70:1008-1016.

Olf H, Ritchie ME (1998) Effects of herbivores on grassland plant diversity. *Trends in Ecology & Evolution* 13: 261-265.

Olsen S R, Cole CV, Watanabe FS, Dean LA (1954) Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. U.S. Department of Agriculture circular, vol. 939. U.S. Department of Agriculture, Washington, DC. p. 19.

Ouahmane L, Hafidi M, Planchette C, Kisa M, Boumezouch A, Thioulouse J, Duponnois R (2006a) *Lavandula* species as accompanying plants in *Cupressus* replanting strategies: effect on plant growth, mycorrhizal soil infectivity and soil microbial catabolic diversity. *Applied Soil Ecology* 34: 190-199.

Ouahmane L, Duponnois R, Hafidi M, Kisa M, Boumezouch A, Thioulouse J, Planchette C (2006b) Some Mediterranean plant species (*Lavandula* spp. and *Thymus satureioides*) act as potential 'plant nurses' for the early growth of *Cupressus atlantica*. *Plant Ecology* 185: 123-134.

Ouédraogo SJ (1995) Les parcs agroforestiers au Burkina Faso. Rapport AFRENA N°79. 76 p.

= 10 =

- Parrota JA** (1993) Secondary forest regeneration on degraded tropical lands. The role of plantations as "foster ecosystems". In: Leith H, Lohmann M (eds) *Restoration Of Tropical Forest Ecosystems*. Kluwer Academic Publishers, pp 63-73.
- Pacala S, Crawley MJ** (1992) Herbivores and plant diversity. *American Naturalist* 140: 243-260.
- Packer A, Clay K** (2000) Soil pathogens and spatial patterns of seedling mortality I a temperate tree. *Nature* 404: 278-281.
- Pare T, Gregorich EG, Nelson SD** (2000) Mineralization of nitrogen from crop residues and N recovery by maize inoculated with vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant & Soil* 218: 11-20.
- Paulitz T, Linderman RG** (1989) Interactions between fluorescent pseudomonads and VA mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 113: 37-45.
- Pellissier F, Souto X** (1999) Allelopathy in Northern temperate and boreal semi-natural woodland. *Critical Reviews in Plant Sciences* 18: 637-652.
- Phillips JM, Hayman DS** (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment if infections. *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158-161.
- Piéri C** (1989) Fertilité des terres de savane. Bilan de trente années de recherche et de développement agricole au sud du Sahara. Ministère de la Coopération et du Développement. Cirad, Paris. 444p.
- Pimentel D, McNair S, Janecka J, Wightman J, Simmonds C, O'Connell C, Wong E, Russel L, Zern J, Aquino T, Tsomondo T** (2002) Economic and environmental threats of alien plant, animal and microbe invasions. in: Pimentel D (ed), CRC Press, London, 307-329.
- Pimentel D, Lach L, Zuniga R, Morrison D** (2000) Environmental and economic cost of nonindigenous species in the United States. *Bioscience* 50: 53-65.
- Plenchette C, Perrin R, Duvert P** (1989) The concept of soil infectivity and a method for its determination as applied to endomycorrhizas. *Canadian Journal of Botany* 67: 112-115.
- Plenchette C, Fortin JA, Furlan V** (1983) Growth response of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. I. Mycorrhizal dependency under field conditions. *Plant & Soil* 70: 199-209.
- Plenchette C, Fortin JA, Furlan V** (1982) Effects of different endomycorrhizal fungi on five host plants grown on calcined montmorillonite clay. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 107: 535-538.
- Porteous LA, Seidler RJ, Watrud LS** (1997) An improved method for purifying DNA from soil for polymerase chain reaction amplification and molecular ecology applications. *Molecular Ecology* 6:787-791.
- Prin Y, Neyra M, Ducousso M, Dommergues YR** (1989) Viabilité d'un inoculum déterminée par l'activité réductrice de l'INT. *Agronomie Tropicale*, 44, 13-19.
- Pysek P, Richardson DM, Rejmanek M, Webster GL, Williamson M, Kirschner J** (2004) Alien plants in checklists and floras: towards better communication between taxonomists and ecologists. *Taxon* 53: 131-143.
- Pysek P** (1997) Clonality and plant invasions: can a trait make a difference? in: De Kroon H, van Groenendaal J (eds). *The ecology and evolution of clonal plants*. Leiden, The Netherlands: Backhuys Publishers: 405-427.

= 11 =

- Ramanankierana N, Ducousso M, Rakotoarimanga N, Prin Y, Thioulouse J, Randrianjohany E, Ramaroson L, Kisa M, Galiana A, Duponnois R** (2007) Arbuscular mycorrhizas and ectomycorrhizas of *Uapaca bojeri* L. (Euphorbiaceae): sporophore diversity, patterns of root colonization, and effects on seedling growth and soil microbial catabolic diversity. *Mycorrhiza* 17: 195-208.
- Ramanankierana N, Rakotoarimanga N, Thioulouse J, Kisa M, Randrianjohany E, Ramaroson L, Duponnois R** (2006) The Ectomycorrhizosphere effect influences functional diversity of soil microflora. *International Journal of Soil Sciences* 1: 8-19.
- Rambelli A** (1973) The Rhizosphere of Mycorrhizae. in: Marks GL, Koslowski TT (eds): *Ectomycorrhizae, their ecology and physiology*. Academic Press, New York. pp 299-343.

- Ratnayake M, Leonard RT, Menge JA** (1978) Root exudation in relation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhizal formation. *New Phytologist* 1978: 543-552.
- Ravnskov S, Nybroe O, Jakobsen I** (1999) Influence of arbuscular mycorrhizal fungus on *Pseudomonas fluorescens* DF57 in rhizosphere and hydrosphere soil. *New Phytologist* 142: 113-122.
- Read DJ** (1991) Mycorrhiza in ecosystems. *Experientia* 47: 376-391.
- Rees M, Condit R, Crawley MJ, Pacala S, Tilman D** (2001) Long-term studies of vegetation dynamics. *Science* 293:650-655.
- Reever-Morghen K, Seastedt TR** (1999) Effects of soil nitrogen reduction on nonnative plants in restored grasslands. *Restoration Ecology* 7 : 51-55.
- Reeves FB, Wagner D, Moorman T, Kiel J** (1979) The role of endomycorrhizae in revegetation practices in the semi-arid Est. I. A comparison of incidence of mycorrhizae in severely disturbed vs. natural environments. *American Journal of Botany* 66: 6-13.
- Rejmanek M** (2000) Invasive plants: approaches and predictions. *Austral Ecology* 25: 497-506.
- Rejmanek M, Richardson D** (1996) What attributes make some plant species more invasive? *Ecology* 77: 1655-1661.
- Remigi P, Faye A, Kane A, Deruaz M, Thioulouse J, Cissoko M, Prin Y, Galiana A, Dreyfus B, Duponnois R** (2008) The exoyic legume tree species *Acacia holosericea* alters microbial soil functionalities and the structure of the arbuscular mycorrhizal community. *Applied & Environmental Microbiology* 74: 1485-1493.
- Rennes IJ, Rios BG, Fehmi JS, Tracy BF** (2004) Low allelopathic potential of an invasive forage grass on native grassland plant: a cause for encouragements? *Basic and Applied Ecology* 5: 261-269.
- Requena N, Perez-Solis E, Azcon-Aguilar C, Jeffries P, Barea JM** (2001) Management of Indigenous Plant-Microbe Symbioses aids Restoration of Desertified Ecosystems. *Applied & Environmental Microbiology* 67: 495-498.
- Requena N, Jeffries P, Barea JM** (1996) Assessment of Natural Mycorrhizal Potential in a Desertified Semiarid Ecosystem. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 842-847.
- Reynolds HL, Packer A, Bever JD, Clay K** (2003) Grassroots ecology: plant-microbe-soil interactions as drivers of plant community structure and dynamics. *Ecology* 84:2281-2291
- Reynolds HL, Packer A, Bever JD, Clay K** (2003) Grassroots ecology : plant-microbe-soil interactions as drivers of plant community structure and dynamics. *Ecology* 84 : 2281-2291.
- Reynolds HL, Hungate BA, Chapin FS III, D'Antonio CM** (1997) Soil heterogeneity and plant competition in an annual grassland. *Ecology* 78: 2076-2090.
- Rhodes LH, Gerdemann JW** (1975) Phosphate uptake zones of mycorrhizal and non-mycorrhizal onions. *New Phytologist* 75: 555-561.
- Rice EL** (1984) Allelopathy. Academic Press, New York, USA. 353p.
- Rice EL** (1964) Inhibition of Nitrogen-Fixing and Nitrifying Bacteria by Seed Plants. *Ecology* 45: 824-837.
- Richardson AE** (2001) Prospects for using soils microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Australian Journal of Plant Physiology* 28: 897-906.
- Richardson DM, Allsopp N, D'Antonio CM, Milton SJ, Rejmanek M** (2000) Plant invasion - the role of mutualisms. *Biological Reviews* 75: 65-93.
- Richardson DM, Williams PA, Hobbs RJ** (1994) Pine invasions in the Southern Hemisphere-determinants of spread and invadability. *Journal of Biogeography* 21 : 511-527.
- Ricklefs RW** (1977) Environmental heterogeneity and plant species diversity: a hypothesis. *American Naturalist* 111: 376-381.
- Ridenour WM, Callaway RM** (2001) The relative importance of allelopathy in interference: the effects of an invasive weed on a native bunchgrass. *Oecologia* 126: 444-450.
- Rillig MC, Mummey DL** (2006). Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist* 171, 41-53.
- Rillig MC, Steinberg PD** (2002) Glomalin production by an arbuscular mycorrhizal fungus: a mechanism of habitat modification? *Soil Biology & Biochemistry* 34: 1371-1374.
- Rillig MC, Wright SF, Eviner VT** (2002) The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in soil aggregation: comparing effects of five plant species. *Plant & Soil* 238: 325-333.
- Roberts KJ, Anderson RC** (2001) Effect of garlic mustard [*Alliaria petiolata* (Beib. Cavara and Grande)] extracts on plants and arbuscular mycorrhizal (AM) fungi. *American Midland Naturalist* 146: 146-152.
- Robinson D, Fitter A** (1999) The magnitude and control of carbon transfer between plants linked by a common mycorrhizal network. *Journal of Experimental Botany* 50: 9-13.

- Rodriguez H, Fraga R** (1999) Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances* 17: 319-339.
- Ross JP** (1980) Effect of nontreated soil on sporulation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with soybean. *Phytopathology* 70: 1200-1205.
- Ross MA, Harper JL** (1972) Occupation of biological space during seedling establishment. *Journal of Ecology* 60: 77-88.
- Rovira AD** (1965) Plant root exudates and their influence upon soil microorganisms. In: Baker KF, Snyder WC (eds) *Ecology of soil-borne pathogens – prelude to biological control*. University of California, Berkely, California; pp 170-186.
- Rufyikiri GS, Declerck S, Dufey JE, Delvaux B** (2000) Arbuscular mycorrhizal fungi might alleviate aluminium toxicity in banana plants. *New Phytologist* 148: 343-352.
- Rydin H, Borgegard S** (1991) Plant characteristics over a century of primary succession on islands: Lake Hjalmarén. *Ecology* 72: 1089-1101.

= § =

- Sala OE, Chapin FS III, Armesto JJ, Berlow E, Bloomfield J, Dirzo R, Huber-Sanwald E, Huenneke LF, Jackson RB, Kinzing A, Leemans R, Lodge DM, Mooney HA, Oesterheld M, Poff NL, Sykes MT, Walker BH, Walker M, Wall DH** (2000) Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science* 287 : 1770-1774.
- Samba RT, Sylla SN, Neyra M, Gueye M, Dreyfus B, Ndoye I** (2002) Biological nitrogen fixation in *Crotalaria* species estimated using the ¹⁵N isotope dilution method. *African Journal of Biotechnology* 1: 17-22.
- Sanchez PA, Palm CA, Buol SW** (2003) Fertility capability soil classification, a tool to help assess soil quality in the tropics. *Geoderma* 114: 157-185.
- Sanders IR** (2003) Preference, specificity and cheating in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Trends in Plant Science* 8: 143-145.
- Sanon A, Martin P, Thioulouse J, Plenchette C, Spichiger R, Lepage M, Duponnois R** (2006) Displacement of an herbaceous plant species community by Mycorrhizal and non-mycorrhizal *Gmelina arborea*, an exotic tree, grown in a microcosm experiment. *Mycorrhiza* 16: 125-132.
- Sanon KB, Bâ AM, Dexheimer J** (1997) Mycorrhizal status of some fungi fruiting beneath indigenous trees in Burkina Faso. *Forest Ecology Management* 98: 61-69
- Sasek TW, Strain BR** (1991) Effect of CO₂ enrichment on the growth and morphology of a native and an introduced honeysuckle vine. *American Journal of Botany* 78: 69-75.
- Sasek TW, Strain BR** (1988) Effect of carbon dioxide enrichment on the growth and morphology of kudzu (*Pueraria lobata*). *Weed Science* 36: 28-36.
- SBSTTA** (Subsidiary Body on Scientific, Technical and Technological Advice) 2001: Soil biodiversity and sustainable agriculture; paper submitted by the Food and Agriculture Organization of the United Nations to the Secretariat of the Convention on Biological Diversity. 28p. Site web: <http://www.cbd.int/doc/meetings/sbstta/sbstta-07/information/sbstta-07-inf-11-en.doc>.
- Schenk HJ, Mahall BE** (2002) Positive and negative plant interactions contribute to a north-south-patterned association between two desert shrub species. *Oecologia* 132: 402-410.
- Scheublin TR, Ridgway KP, Young JPW, van der Heijden MGA** (2004) Nonlegumes, legumes, and root nodules harbor different arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Applied & Environmental Microbiology* 70: 6240-6246.
- Schinner F, Ohlinger R, Kandeler E, Margesin R** (1996) *Methods in soil biology*. Springer-Verlag, Berlin, 426 pp.
- Schüßler A, Schwarzott D, Walker C** (2001) A new fungal phylum, the Glomeromycota : phylogeny and evolution. *Mycological Research* 105 : 1413-1421.
- Secilia J, Bagyaraj DJ** (1987) Bacteria and actinomycetes associated wit pot cultures of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Canadian Journal of Microbiology* 33: 1067-1073.
- Selosse M-A, Richard F, He X, Simard SW** (2006) Mycorrhizal networks: des liaisons dangereuses? *Trends in Ecology & Evolution* 21 : 621-628.
- Selosse M-A, Baudoin E, Vandenkoornhuysen P** (2004) Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants. *Comptes rendus Biologies* 327: 639-648.

- Shachar-Hill Y, Pfeffer PE, Douds D, Osman SF, Doner LW, Ratcliffe RG** (1995) Partitioning of intermediary carbon metabolism in vesicular-arbuscular mycorrhizal leeks. *Plant Physiology* 108:7-15.
- Shaw Jr. WM, Burgin R, Howell P** (1997) Performance standards and evaluations in IR test collections: cluster-based retrieval models. *Information Processing & Management* 33:1-14.
- Shea K, Chesson P** (2002) Community ecology theory as a framework for biological invasions. *Trends in Ecology & Evolution* 17: 170-176.
- Shine C, Williams N, Gundling L** (2000) A guide to designing legal and institutional frameworks on alien invasive species. Vol 40. IUCN, Switzerland. 138 p.
- Silvertown J** (2004) Plant coexistence and the niche. *Trends in Ecology & Evolution* 19: 605-611.
- Simard SW, Durall DM** (2004) Mycorrhizal networks: a review of their extent, function, and importance. *Canadian Journal of Botany* 82: 1140-1165.
- Simberloff D** (2004) A rising tide of species and literature: A review of some recent books on biological invasions. *Bioscience* 54: 247-254.
- Simberloff D** (2003) Confronting introduced species: a form of xenophobia? *Biological Invasions* 5: 179-192.
- Simberloff D** (1995) Why do introduced species appear to devastate islands more than areas? *Pacific Science* 49: 87-97.
- Simberloff D** (1986) Introduced insects: a biogeographic and systematic perspective. Pp 3-26. in: Mooney HA, Drake JA (eds). *Ecology of biological invasions of North America and Hawaii*. Wiley, New York. New York, USA.
- Six J, Frey SD, Thiet RK, Batten KM** (2006) Bacterial and Fungal contributions to carbon sequestration in Agrosystems. *Soil Science Society of American Journal* 70: 555-569.
- Smith CS, Lonsdale WM, Fortune J** (1998) Predicting weediness in quarantine context. in: Proceedings 6th EWRS Mediterranean Symposium, Montpellier, France, 33-40.
- Smith GS** (1987) Interactions of nematodes with mycorrhizal fungi. in: Veech JA, Dickson DW (eds), *Vistas on Nematology*, Society of Nematologists. Hyattsville, Maryland. pp 292-300.
- Smith SD, Huxman TE, Zitzer SF, Charlet TN, Housman DC, Coleman JS, Fenstermaker LK, Seemann JR, Nowak RS** (2000) Elevated CO₂ increases productivity and invasive species success in an arid ecosystem. *Nature* 408: 79-82.
- Smith SD, Strain BR, Sharkey TD** (1987) Effects of carbon dioxide enrichment on four Great Basin [USA] grasses. *Functional Ecology* 1: 139-144.
- Smith SE, Read DJ** (1997) *Mycorrhizal Symbiosis*, 2nd edition. Academic Press, San Diego. 605p.
- Söderström B** (1992) The ecological potential of the ectomycorrhizal mycelium. In: Read DJ, Lewis DH, Fitter AH, Alexander IJ (eds), *Mycorrhizas in Ecosystems*. CAB International, Wallingford, UK, pp 77-83.
- Souchie EL, Saggin-Junior OJ, Silva EMR, Campello EFC, Azcon R, Barea JM** (2006) Communities of P-Solubilizing Bacteria, Fungi and Arbuscular Mycorrhizal Fungi in grass pasture and secondary forest of Paraty, RJ - Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 78: 183-193.
- St-Arnaud M, Hamel C, Vimard B, Caron M, Fortin JA** (1997) Inhibition of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* in the non-VAM species *Dianthus caryophyllus* by co-culture with *Tagetes patula* companion plants colonized by *Glomus intraradices*. *Canadian Journal of Botany* 75: 998-1005.
- Steele KW, Wallis I** (1998) The nitrogen cycle in pastures. In: Wilson JR (ed) *Symposium on advances in nitrogen cycling in agricultural ecosystems*, CAB International, Wallington, Oxon, pp 274-291.
- Stemmler SJ, Berthelin J** (2003) Microbial activity, a major parameter of iron mobilisation in a typical watershed of humid tropical countries (Nsimi, Cameroon). *European Journal of Soil Science* 54: 725-733.
- Stephan A, Meyer AH, Schmid B** (2000) Plant diversity affects culturable soil bacteria in experimental grassland communities. *Journal of Ecology* 88: 988-998.
- Stevens KL** (1986) Allelopathic polyacetylenes from *Centaurea repens* Russian knapweed. *Journal of Chemical Ecology* 12: 1205-1212.
- Stinson KA, Campbell SA, Powell JR, Wolfe BE, Callaway RM, Thelen GC, Hallett SG, Prati D, Klironomos JN** (2006) Invasive plant suppresses the growth of native tree seedling by disrupting belowground mutualisms. *PLOS Biology* 4: 727-731.
- Stotzky G** (1997) Soil as an environment for microbial life. In: Van Elsas JD, Trevors JT, Wellington EMH (eds.) *Modern Soil Microbiology*, Dekker, New York, pp. 1-20.

- Strong DR, Lawton JH, Souhwood R** (1984) Insects on plants. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts, USA.
- Strullu DG** (1991) Les mycorhizes des arbres et des plantes cultivées. Techniques et Documentation Lavoisier. Paris. 242 p.
- Swift MJ, Shepherd KD** (2007) Saving Africa's Soils : Science and Technology for Improved Soil Management in Africa. World Agroforestry Centre, Nairobi. 18 p.
- Sylvia DM** (1990) Inoculation of native woody plants with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for phosphate mine lands reclamation. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 31: 253-261.

= τ =

- Tarafdard JC, Rao AV** (1997) Response of arid legumes to VAM fungal inoculation. *Symbiosis* 22: 265-274.
- Thioulouse J, Chessel D, Dolédec S, Olivier JM** (1997) ADE-4: a multivariate analysis and graphical display software. *Statistics Computing* 7:75-83.
- Thoen D, Bâ AM** (1989) Ectomycorrhizas and putative ectomycorrhizal fungi of *Azela africana* Sm. And *Uapaca guineensis* Müll Arg. in southern Senegal. *New Phytologist* 113: 549-559.
- Thoen D, Ducouso M** (1989) Champignons et ectomycorhizes du Fouta Djallon. *Bois et Forêts des Tropiques* 221: 45-63.
- Tilman D, Cassman KG, Matson PA, Naylor R, Polasky S** (2002) Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418: 671-677.
- Tilman D, Lehman CL, Thomson KT** (1997) Plant diversity and ecosystem productivity. Theoretical considerations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 94: 1857-1861.
- Tilman D, Wedin D, Knops J** (1996) Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. *Nature* 379: 718-720.
- Tilman D** (1994) Competition and biodiversity in spatially structured habitats. *Ecology* 75: 2-16.
- Tilman D, Downing AL** (1994) Biodiversity and stability in grasslands. *Nature* 367: 363-365.
- Tilman D, Pacala S** (1993) The maintenance of species richness in plant communities. in: Ricklefs RE, Schuler D (eds). Species diversity in ecological communities. Chicago, IL, USA. The University of Chicago Press. pp 13-25.
- Tilman D** (1990) Constraints and tradeoffs – Toward a predictive theory of competition and succession. *Oikos* 58: 3-15.
- Tilman D** (1988) Plant Strategies and the Dynamics and Structure of Plant Communities. Princeton University Press, Princeton. 376p.
- Tilman D** (1986) Nitrogen-limited growth in plants from different successional stages. *Ecology* 67: 555-563.
- Tilman D** (1985) The resource-ratio hypothesis of plant succession. *American Naturalist* 125: 827-852.
- Tilman D** (1982) Resource competition and community structure. Princeton Monographs in Population Biology 17. Princeton University Press, Princeton. 296 p.
- Tilman D** (1980) A graphical-mechanistic approach to competition and predation. *American Naturalist* 116: 362-393.
- Tisdall JM, Oades JM** (1979) Stabilization of soil aggregates by the root systems of rye grass. *Australian Journal of Soil Research* 17: 429-441.
- Toro M, Azcón R, Barea JM** (1997) Improvement of arbuscular mycorrhiza development by inoculation of soil with phosphate-solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability (^{32}P) and nutrient cycling. *Applied & Environmental Microbiology* 63: 4408–4412.

= $\mathfrak{U}$ =

- U.S. Congress** (1993) Harmful nonindigenous species in the United States, Office of technology Assessment, OTA-F-565. U.S. Congress Government Printing Office. Washington, D.C., USA.
- Urcelay C, Diaz S** (2003) The mycorrhizal dependence of subordinates determines the effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plant diversity. *Ecology Letters* 6: 388-391.
- Uroz S, Calvaruso C, Turpault MP, Pierrat JC, Mustain C, Frey-Klett P** (2007) Effect of the mycorrhizosphere on the genotypic and metabolic diversity of the soil bacterial communities involved in mineral weathering in a forest soil. *Applied & Environmental Microbiology* 73: 3019-3027.

= v =

- van der Heijden MGA, Bakker R, Verwaal J, Scheublin TR, Rutten M, van Logtestijn R, Staehelin C** (2006) Symbiotic bacteria as a determinant of plant community structure and plant productivity in dune grassland. *FEMS Microbiology Ecology* 56: 178-187.
- van der Heijden MGA, Wiemken A, Sanders IR** (2003) Different arbuscular mycorrhizal fungi alter coexistence and resource distribution between co-occurring plant. *New Phytologist* 157: 569-578.
- van der Heijden MGA, Klironomos JN, Ursic M, Moutoglis P, Streitwolf-Engel R, Boller T, Wiemken A, Sanders IR** (1998a) Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396: 69-72.
- van der Heijden MGA, Boller T, Wiemken A, Sanders IR** (1998b) Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. *Ecology* 79: 2082-2091.
- Van der Putten WH, Klironomos JN, Wardle DA** (2007) Microbial ecology of biological invasions. *The ISME Journal* 1 :28-37.
- Van der Putten WH, Peters BAM** (1997) How soil-borne pathogens affect plant competition. *Ecology* 78 : 1785-1795.
- Van der Putten WH, Van Dijk C, Peters BAM** (1993) Plant-specific soil-borne diseases contribute to succession in foredune vegetation. *Nature* 362 : 53-56.
- Van der Putten WH, Troelstra SR** (1990) Harmful soil organisms in coastal foredunes involved in degeneration of *Ammophila arenaria* and *Calamophila baltica*. *Canadian Journal of Botany* 68 : 1560-1568.
- Van Wilgen BW, Richardson DM** (1985) The effects of alien shrub invasions on vegetation structure and fire behaviour in south Africa fynbos shrublands: a simulation study. *Journal of Applied Ecology* 22: 955-966.
- Vancura V, Hanzlikova A** (1972) Root exudates of plants IV. Differences in chemical composition of seed and seedlings exudates. *Plant & Soil* 36:271-282.
- Vandenkoornhuyse P, Husband R, Daniell TJ, Watson IJ, Duck JM, Fitter AH, Young JPW** (2002) Arbuscular mycorrhizal community composition associated with two plant species in a grassland ecosystem. *Molecular Ecology* 11: 1555-1564.
- Vasseur L, Potvin C** (1998) Natural pasture community response to enriched carbon dioxide atmosphere. *Plant Ecology* 135: 31-41.
- Vaughn SF, Berhow MA** (1999) Allelochemicals isolated from tissues of the invasive weed garlic mustard (*Alliaria petiolata*). *Journal of Chemical Ecology* 25: 2495-2504.
- Vidal-Dominguez MT, Azcon-Aguilar C, Barea JM** (1994) Preferential sporulation of *Glomus fasciculatum* in the root nodules of herbaceous legumes. *Symbiosis* 16: 65-73.
- Viles AL, Reeses RN** (1996) Allelopathic potential of *Echinacea angustifolia* D.C. *Environmental & Experimental Biology* 36: 39-43.
- Villenave C, Leye K, Chotte JL, Duponnois R** (2003) Nematofauna associated with the mycorrhizosphere and hyphosphere of *Glomus intraradices* and exotic or native leguminous plant species mycorrhizal formation in West Africa. *Biology & Fertility of Soils* 38: 161-169.
- Vincent JM** (1970) A manual for the practical study of root-nodule bacteria. International Biological Programme. Handbook N°15. Blackwell, Oxford. UK.
- Vitousek PM, D'Antonio CM, Loope LL, Rejmanek M, Westbrooks R** (1997) Introduced species: a significant component of human-caused global change. *New Zealand Journal of Ecology* 21: 1-16.
- Vitousek PM, D'Antonio CM, Loope LL, Westbrooks R** (1996) Biological invasions as global environmental change. *American Scientist* 84: 468-478.
- Vitousek PM, Walker LR** (1989) Biological invasion by *Myrica faya* in Hawaii-plant demography, nitrogen fixation, ecosystem effects. *Ecological Monographs* 59: 247-265.
- Vogelsang KM, Bever JD, Griswold M, Schulz PA** (2004) The use of mycorrhizal fungi in erosion control applications. Final report for Caltrans. California Department of Transportation Contract no. 65A0070, Sacramento (California).150p.
- Vranjic JA, Woods MJ, Barnard J** (2000) Soil-mediated effects on germination and seedling growth of coastal wattle (*Acacia sophorae*) by the environmental weed, bitou bush (*Chrysanthemoides monilifera* spp. *rotundata*). *Austral Ecology* 25 :445-453.

= ∞ =

- Waldrop M, Balser T, Firestone M** (2000) Linking microbial community composition to function in a tropical soil. *Soil Biology & Biochemistry* 32 :1837-1846.
- Walters MB, Kruger EL, Reich PB** (1993) Growth, biomass distribution and CO₂ exchange of northern hardwood seedlings in high and low light: relationships with successional status and shade tolerance. *Oecologia* 94: 7-16.
- Walter LEF, Hartnett DC, Hetrick BAD, Schwab AP** (1996) Interspecific nutrient transfer in a tall grass prairie plant community. *American Journal of Botany* 83: 180-184.
- Wardle DA, Bardgett RD, Klironomos JN, Setälä H, van der Putten WH, Wall DH** (2004) Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science* 304 :1629-1633.
- Wardle DA** (2002) Communities and Ecosystems: Linking the aboveground and belowground components. Monographs in Population Biology, vol 34. Princeton University Press, Princeton, USA. 392 p.
- Wardle DA, Giller KE, Barker GM** (1999) The regulation and functional significance of soil biodiversity in agro-ecosystems. Wood D, Lenné JM (eds) *Agrobiodiversity: Characterisation, Utilization and Management*. CABI, London. pp 87-121.
- Warren A, Sud YC, Rozanov B** (1996) The future of deserts. *Journal of Arid Environments* 32: 75-89.
- Wedin DA, Tilman D** (1996) Influence of nitrogen loading and species composition on the carbon balance of grasslands. *Science* 274: 1720-1723.
- Weiner J** (1988) Variation in the performance of individuals in plant populations. Plant Population Ecology (eds AJ Davy, MJ Hutchings, AR Watkinson), pp 59-81. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Weiner J** (1986) How competition for light and nutrients affects size variability in *Ipomoea tricolor* populations. *Ecology* 67: 1425-1427.
- Weiner J** (1985) Size hierarchies in experimental populations of annual plants. *Ecology* 66: 743-752.
- Weiss PW, Milton SJ** (1984) *Chrysanthemonoides monilifera* and *Acacia longifolia* in Australia and South Africa. Pp 159-160. In: Dell B (ed). Proceedings of the 4th International Conference on Mediterranean Ecosystems. University of Western Australia, Nedlands, Western Australia.
- Wells MJ, Poynton RJ, Balsinhas AA, Musil KJ, Joffe H, van Hoepen E, Abbott SK** (1986) The history of introduction on invasive alien plants to southern Africa. Pp: 21-35. In: Macdonald IAW, Kruger FJ, Ferrar AA (eds). The ecology and management of biological invasions in Southern Africa. Oxford University Press, Cape Town, South Africa.
- West HM** (1996) Influence of arbuscular mycorrhizal infection on competition between *Holcus lanatus* and *Dactylis glomerata*. *Journal of Ecology* 84:429-438.
- Westover K, Kennedy A, Kelley S** (1997) Patterns of rhizosphere microbial community structure associated with co-occurring plant species. *Journal of Ecology* 85: 863-873.
- Wezel A, Schlecht E** (2004) Inter-annual variation of species composition of fallow vegetation in semi-arid Niger. *Journal of Arid Environments* 56: 265-282.
- Whisenant SG** (1990) Changing fire frequencies on Idaho's Snake River Plain: Ecological and Management Implications. The Station. Novembre 1990; Ogden, Utah: General Technical Report INT – U.S. Department of Agriculture, Forest Service; Intermountain Research Station.
- Whittaker RH** (1972) Evolution and measurement of species diversity. *Taxon* 21: 213-251.
- Whittaker RH, Feeny PP** (1971) Allelochemicals : chemical interactions between species. *Science* 171 : 757-770.
- Wieland G, Neumann R, Backhaus H** (2001) Variation of microbial communities in soil, rhizosphere, and rhizoplane in response to crop species, soil type, and crop development. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 5849-5854.
- Wilson JB** (1988) Shoot competition and root competition. *Journal of Applied Ecology* 25: 279-296.
- Wilson SD, Gerry AK** (1995) Strategies for mixed-grass prairie restoration: herbicide, tilling, and nitrogen manipulation. *Restoration Ecology* 3: 290-298.
- Wirsel SGR** (2004) Homogenous stands of wetland grass harbour diverse consortia of arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microbiology Ecology* 48: 129-138.
- Wolfe BE, Klironomos JN** (2005) Breaking New Ground: Soil Communities and Exotic Plant Invasion. *BioScience* 55: 477-487.
- Woods KD** (1993) Effects of invasion by *Lonicera tartarica* L. on herbs and tree seedlings in four New England forests. *American Midland Naturalist* 130: 62-74.

Wright SF, Upadhyaya A (1998) A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant & Soil* 198: 97-107.

= 2 =

Yang C-H, Crowley DE (2000) Rhizosphere microbial community structure in relation to root location and plant iron nutritional status. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 345-351.

Yao Q, Li XL, Ai WD, Christie, P (2003) Bi-directional transfer of phosphorus between red clover and perennial ryegrass via arbuscular mycorrhizal hyphal links. *European Journal of Soil Biology* 39: 47-54.

= 3 =

Zabinski CA, Quinn L, Callaway RM (2002) Phosphorus uptake, not carbon transfer, explains arbuscular mycorrhizal enhancement of *Centaurea maculosa* in the presence of native grassland species. *Functional Ecology* 16 :758-765.

Zak DR, Holmes WE, White DC, Peacock AD, Tilman D (2003) Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: Are there any links? *Ecology* 84: 2042-2050.

Zapata F, Roy RN (2004) Utilisation des phosphates naturels pour une agriculture durable. Bulletin FAO Engrais et Nutrition Végétale N° 13. 151p.

Zavaleta E (2000) Valuing ecosystem services lost to Tamarix invasion in the United States. in: Invasive species in changing world. Mooney HA & Hobbs J (eds). Washington DC, Island Press. pp: 261-300.

Zhou T, Neal JC (1995) Annual bluegrass (*Poa annua*) control with *Xanthomonas campestris* pv. *poae* in New York State. *Weed technology* 9 : 173-177.

Zobel M, Moora M (1995) Interspecific competition and arbuscular mycorrhiza : importance for the coexistence of two calcareous grassland species. *Folia Geobotanica Phytotaxon* 30 : 223-230.

Annexes

Article 6

Proceedings of the Third International Meeting on Environmental Biotechnology and Engineering (3IMEBE), Palma de Mallorca (Spain), September 21-25, 2008.

Session 4: Microbial ecology and molecular biology applications for better environmental control.

Lectures

The exotic invasive plant, *Amaranthus viridis* L., suppresses the growth of native *Acacia* species by altering AM fungi inoculum potential in a Sahelian ecosystem

Sanon A.^{1,2,3*}, Beguiristain T.³, Cébron A.³, Sylla S.^{1,2}, Berthelin J.³, Duponnois R.^{1,4}

¹: Laboratoire Commun de Microbiologie IRD/ISRA/UCAD, BP 1386 CP 18524 Dakar – Senegal; ²: Université Cheikh Anta Diop, Département de Biologie Végétale, BP 5005 Dakar – Senegal; ³: LIMOS, Nancy Université - CNRS, UMR 7137, BP 239 54506 Vandoeuvre-lès-Nancy Cedex, France; ⁴: IRD, UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/SupAgro/UM2, LSTM TA10/J 34398 Montpellier Cedex 5- France.

*** Corresponding author:** Laboratoire Commun de Microbiologie IRD/ISRA/UCAD, BP 1386 CP 18524, Dakar – Senegal; Phone: +221 33 849 33 28; Fax: +221 33 849 33 02

E-mail: Arsene.sanon@ird.sn or Arsene.sanon@limos.uhp-nancy.fr

Abstract

We investigated whether an exotic invasive plant affected soil nutrients availability and AM fungal communities and therefore, native plants growth upon an invasion event. Soil samples were collected on areas invaded by *Amaranthus viridis* plants and on *Amaranthus*-free sites for chemical and AM propagules density analysis. Additionally, we grew five Sahelian *Acacias* species in soil from the two sites, sterilized or not, to test for soil biota involvement in the invasion process. While nutrient availability was significantly stimulated upon *Amaranthus* invasion, we noted conversely a drastic reduction in AM fungal communities. Moreover, *Amaranthus* exerted a negative impact on *Acacia* species growth similar to this of sterilized soil. This growth inhibition was accompanied by reduction of seedling root AM colonization. Finally, the soil community could be consider as a potential positive feedback switch for plant community conversion and as a critical aspect for ecosystem resistance to invasion.

Key words: invasive species; *Amaranthus viridis*; soil microbial communities; Arbuscular Mycorrhizal fungi; Sahelian ecosystem.

1. Introduction

The large ecological and economic costs associated with invasion of terrestrial ecosystems by exotic plant species has stimulated great interest in elucidating how invasive plant species influence, and are influenced by, biotic and abiotic interactions (Mummey & Rillig, 2006). While many studies have aimed at determining aboveground impacts of exotic plant invasion, it has become increasingly of major concern that a wide range of belowground biotic interactions plays important role in determining plant interactions and ecosystem function (Bever *et al.*, 1997; Stinson *et al.*, 2006). Hence, a much better understanding of plant and soil microbial interactions is required to fully understand plant community successional dynamics in the face of exotic invasive plant species (Wolfe & Klironomos, 2005). Recent studies indicate that invasive plant species can impact microbial community composition and function, resulting from changes in plant-derived soil inputs (Ehrenfeld *et al.*, 2001; Kourtev *et al.*, 2002; van der Putten *et al.*, 2007) as well as phytochemistry interference (Vivanco *et al.*, 2004; Stinson *et al.*, 2006).

Among soil symbiotic microorganisms, Arbuscular Mycorrhizal (AM) fungi have been found to be essential components of sustainable soil-plant systems. Representing a key interface between plant hosts and soil mineral nutrients, benefits of AM fungi also include an enhanced plant resistance to pathogens and other environmental stresses, and improved water relations (Smith & Read, 1997). More recently, evidence of detrimental impact of invasive plants on AM communities, thus increasing ecosystems invasibility by nonmycorrhizal invasive plant, has been established (Vogelsang *et al.*, 2004, Stinson *et al.*, 2006). If persisting, altered microbial community composition and functioning in invaded areas may represent a limiting factor for restoration efforts even after removal of invasive species, i.e. there may be a soil ecological legacy of invasion (Mummey & Rillig, 2006).

Amaranthus viridis L. (Amaranthaceae) is an annual weed native from Central America, that is consider as 9 other *Amaranthus* species as invasive plant (USDA Plant Database). In Senegal, *A. viridis* is found in agrosystems, and increasingly invades fallow lands, areas of pasture, domestic waste deposit areas. Its growth is positively correlated to soil fertility (organic matter and nitrogen contents) (Le Bourgeois & Merlier, 1995). In *Amaranthus*-invaded large areas, the survival of native plant (grass-, shrub- and woodland) is compromised. The mechanism underlying *Amaranthus* capacity to enter and proliferate within intact Sahelian native plant communities has not yet been addressed. Moreover, much less is known about the effects of this invasive plant on soil microbiota, particularly AM fungi. *Acacia* species were selected as the bioassay test plants

because they are leguminous native of Sahelian regions and are frequently used for soil rehabilitation programs and have high economical value.

The aim of this study was: 1) to test the effects of *Amaranthus* invasion on AM fungal communities and soil nutrient availability and therefore, on the growth of native *Acacia* species, 2) to better understand the mechanisms of native plants growth inhibition by determining if this inhibition is a microbially- mediated process.

2. Material and Methods

2.1. Field site and sampling design

The study was carried out in Dakar region (14°43'N, 17°26'W) in Senegal. The climate is Sahelian influenced by maritime trade winds alleviating high temperatures and low moisture during dry season. The mean annual temperature is 24°C and rainfall 300 mm (Gassama *et al.*, 2003). On a global scale, the soil is sandy (>90% of soil) and representative of a Dior-type tropical ferruginous soil (Alfisol).

The sampling site was located at the IRD experimental station of Bel Air – Dakar. From this site, a sampling area (500 m²) has been chosen in order to cover the diversity of non-invasive plant species and soil patches completely colonized by the invasive *Amaranthus viridis*. Most frequently non invasive plants recorded were: *Alysicarpus ovalifolius* (Fabaceae), *Boerhavia diffusa* L. (Nyctaginaceae), *Commelina forskalaei* Vahl (Commelinaceae), *Eragrostis tremula* L. (Poaceae) with a canopy of hardwood trees including *Acacia* spp, *Leuceuna* spp, *Balanites aegyptiaca*. Five plots (1 m x 1 m each) were randomly chosen in the sampling area for *A. viridis*-invaded soil sampling (A) and five others in location dominated by non-invasive plants and without *A. viridis* (WA). Soils samples were collected from 1-15 cm depth layer of the 10 plots and they were sieved (mesh size, < 2 mm) to remove coarse roots and debris.

2.2. Chemical properties and chitinase activity

For each type of soil, pH in a 3:10 soil:water suspension was determined. The total organic carbon was measured according to the ANNE method (Aubert, 1978) and the total nitrogen by the Kjeldhal method. The total phosphorus and soluble phosphorus were determined calorimetrically (Murphy & Riley, 1962).

Chitinase activity was analyzed following Beam (1971). The amount of *p*-nitrophenol released was determined by spectrophotometry (Ultraspec 3000, Pharmacia Biotech) at 420 nm and compared with standard curve.

2.3. Mycorrhizal propagules density measurement

Spores of AM fungi were extracted from the soils by wet sieving and decanting, followed by sucrose centrifugation (Sieverding, 1991) and recovery of the spores through 50 µm sieving of the supernatant. Spores were counted using a stereomicroscope and grouped according to morphological characteristics: size and color, wall structure and hyphal attachment (Walker, 1983; INVAM, 1997). The different morphotypes were identified to genus.

Hyphae were extracted from each soil sample using aqueous membrane-filtration, and by subsequent microscopic examination. The total hyphal length was estimated using the Gridline intersect method (Hanssen *et al.*, 1974). The AM fungi hyphae were distinguished from hyphae of other soil fungi following the morphological criteria described by Nicolson (1959).

2.4. Greenhouse experiments with *Acacia* species

Soils from the same origin were pooled in the lab to obtain two types of soil. Half of the soil samples were sterilized by autoclaving to perform glasshouse experiments with sterile soil as well as native soil from the two origin types. On the 4 types of soils, a single seedling (seeds origin: ISRA/DRPF, Senegal) of five different *Acacia* species: *Acacia albida*, *A. nilotica* var. *tomentosa*, *A. raddiana*, *A. senegal*, *A. seyal*, was performed in pot filled with 250g of soil. Six replicates for each treatment combination were done ($4 \times 5 \times 6 = 120$ tubes). Tubes were randomly placed in the greenhouse and were watered regularly with tap water without fertilizer. After 5 months of growth, shoots, roots, and root nodules were harvested, dried at 60°C for one week, and weighed to determine biomass. An approximately 1-g subsample of roots from each seedling was extracted, cleared and stained (Phillips & Hayman, 1970) and analyzed for percent colonization by AM fungi.

2.5. Statistical methods

Data were examined by one-way analysis of variance (ANOVA) with soil origin or *Acacia* species growing on the soil as a single factor and Tukey tests ($P < 0.05$) were used for pairwise multiple comparisons between the treatment means. Before analysis, sqrt (%) were performed on mycorrhizal infection percentages and appropriate transformations were made to normalize data where necessary. Computations were performed with the free R software available on Internet at <http://r-project.org/>.

3. Results

3.1. Soil chemical characteristics and AM inoculum potential

All soil chemical characteristics measured were significantly higher ($P < 0.05$) under the invasive *A. viridis* compared to adjacent patches of non-invasive species. Results indicated about two-fold total organic carbon, total nitrogen, total phosphorus and soluble phosphorus quantities in (A) comparing with (WA) (table 1).

Conversely, we observed significant decrease in all mycorrhizal structures in the soil collected in *A. viridis* stands (table 2). Spores number reached about 350 in 50 g of soil sampled from (WA) whereas they averaged 130 in the same quantity of (A). Compared with the soil under the non-invasive plants, AM hyphal length decreased severely in the invaded areas ranging from 3.2 to 0.8 m g⁻¹ dry soil for (WA) and (A) sites respectively. The same pattern was observed with chitinase activity in soil and we obtained 89.2 and 57.8 µg *p*-nitrophenol h⁻¹ g⁻¹ dry soil for (WA) and (A) respectively.

Four AM species were detected in the soil: *Glomus* sp. strain 1 [81 and 83% of the total number of spores recorded respectively for (A) and (WA)]; *Glomus* sp. strain 2 [4 and 4.5% respectively for (A) and (WA)]; *Scutellospora* sp. strain 1 [10.5 and 8.9% respectively for (A) and (WA)]; and *Scutellospora* sp. strain 2 [5.1 and 3.6% respectively for (A) and (WA)]. Spores of *Glomus* sp. strain 1 were the most frequent in these soils. Nevertheless, no significant difference were found between the distributions of AM species within soil origins.

Table 1: Chemical characteristics of the soils sampled inside *A. viridis* areas (A) and outside *A. viridis* understory (WA)

Soil origin	Soil parameters				
	pH _{water}	Total organic carbon (%)	Total nitrogen (%)	Total phosphorus (mg kg ⁻¹)	Soluble phosphorus (mg kg ⁻¹)
A	8.4 a ^a (0.02) ^b	2.6 a (0.12)	0.2 a (0.01)	1675.7 a (58.5)	211.6 a (8.7)
WA	7.8 b (0.02)	1.3 b (0.06)	0.1 b (0.01)	625.3 b (9.0)	107.6 b (33.9)

^aData in the same column followed by the same letter are not significantly different according to the one-way analysis of variance ($P < 0.05$). ^bStandard error of the mean.

3.2. Acacias species growth in greenhouse experiment

Acacia species development was strongly affected by the presence of *Amaranthus*. *Acacia albida*, *A. seyal* and *A. nilotica* seedlings growth were significantly reduced when plants are grown in (A) ($P < 0.05$); whereas no significant difference was recorded for *A. raddiana* and *A. senegal*

despite significant high AM colonization rates for plants grown in un-sterilized (WA). The effect of *A. viridis* on these plants growth was similar to that observed when seedlings were grown in sterilized soil from both (WA) and (A) (Fig. 1A).

Table 2: AM spore density, AM hyphal length and chitinase activity in soils from invaded (A) and un-invaded (WA) areas

Soil origin	Soil parameters		
	Number of AM spores per 50 g of soil	AM hyphal length (m g ⁻¹ dry soil)	Chitinase (µg p-nitrophenol h ⁻¹ g ⁻¹ dry soil)
A	129.8 a ^a (20.4) ^b	0.8 a (0.1)	57.8 a (8.3)
WA	350.4 b (64.2)	3.2 b (0.7)	89.2 b (8.8)

^aData in the same column followed by the same letter are not significantly different according to the one-way analysis of variance (P<0.05). ^bStandard error of the mean.

Furthermore, plant mycorrhizal colonization rates were significantly reduced by the invasive plant and this effect is similar to that of soil sterilization (Fig. 1B). Root-nodule biomass was affected as well, with significant similar reductions in nodule biomass when plants were grown in (A) sterilized or not and in sterilized (WA) (Fig. 1C).

4. Discussion

4.1. Evidence of alterations in soil chemistry and AM fungal communities

Net primary production and the resulting standing crop biomass drive ecosystem processes, particularly C dynamics. Exotics have been described to increase standing crop biomass and net primary production by differing from native species in overall size, morphology, phenology and growth rate (Ehrenfeld, 2003). Differences in the litterfall mass interact with differences in the decomposition rate to affect the net flux of C into the soil. Many exotic plants could more rapidly decompose the litter than the native plants. In our experimental site, the same trend was observed when comparing decomposition rate by observation of differences in litterfall mass on the soil surface between *A. viridis* and others non-invasive plants (Duponnois, R. unpublished data). Same mechanisms could be expect to induce changes in others nutrients cycling, notably P and N. Moreover, previous results have shown that exotic plant species can cause an increase of pH in soils as well as higher N pool, N mineralization, nitrification rates and available nitrate (Ehrenfeld *et al.*, 2001; Kourtev *et al.*, 2002; Ehrenfeld, 2003).

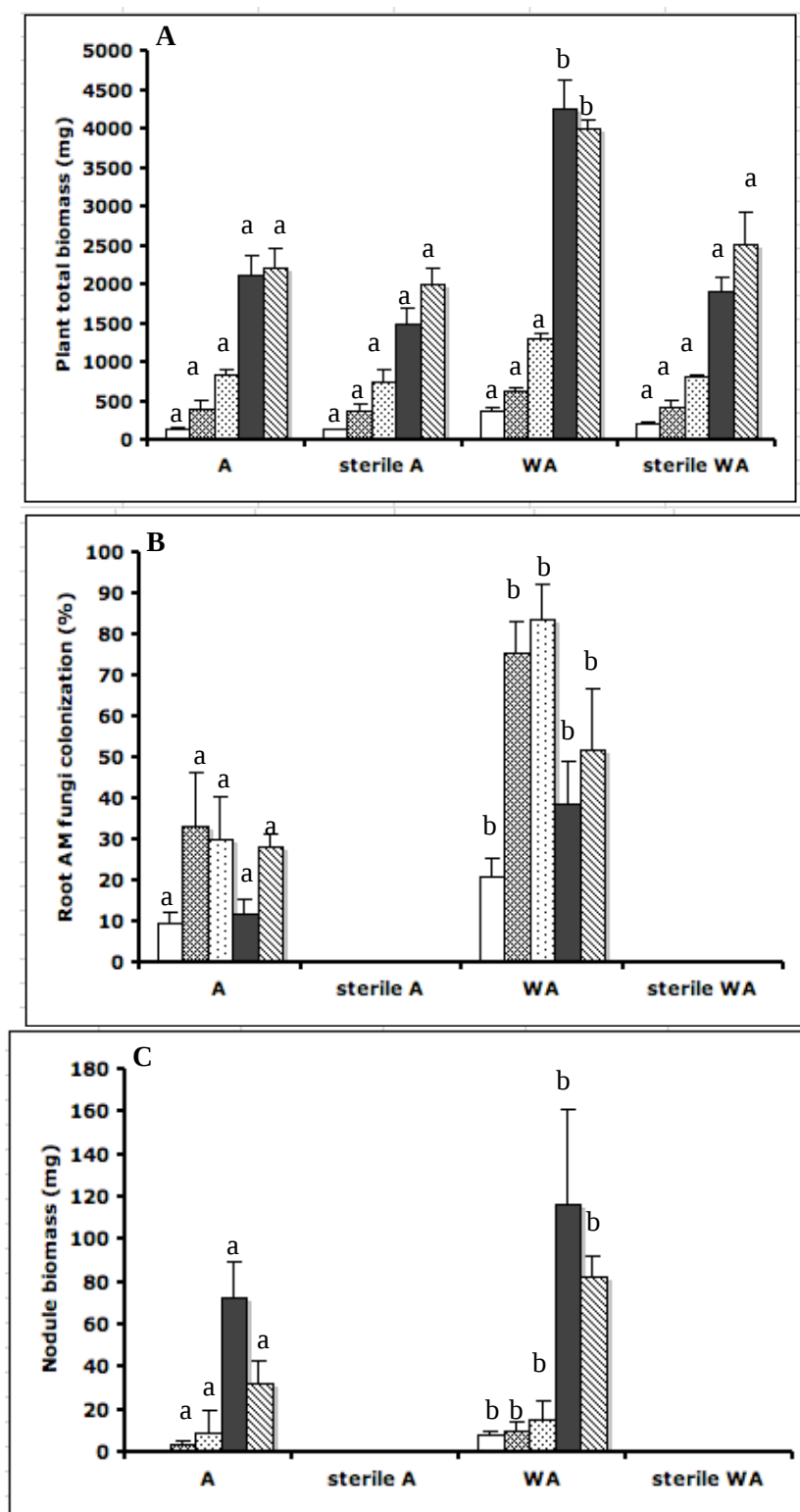


Fig. 1: Growth response (A), AM colonization (B) and nodule biomass (C) of *Acacia* species (□ : *A. raddiana*; ▨ : *A. senegal*; ▤ : *A. albida*; ■ : *A. seyal*; ▩ : *A. nilotica*) seedlings grown in invaded (A) or un-invaded (WA) by *A. viridis* (± sterilized). Bars represent the mean and standard error. For each *Acacia* species, bars indexed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$).

The increased pH recorded from the present study in soil collected from *A. viridis* stands could result from a combined plant-mediated processes including rapid uptake of nitrate (NO_3^-) by

the plant and/or higher content of base cations in the litter returning to soil (Ehrenfeld *et al.*, 2001). However, the mechanism driving the change remains unclear and further soil chemical properties that may affect soil pH such as $[\text{NO}_3^-]$, $[\text{NH}_4^+]$, nitrification rates or base cation concentrations in the litters must be undertaken to support our hypothesis. Exotic plant invasions have also been observed to affect the fluxes of a variety of other elements including P, cations and metal pollutants. Increases in soil-extractable P pools upon invasion may also result from its high uptake from soil deep horizons by exotic plants and from its release in soil surface after plant decomposition (Ehrenfeld, 2003).

Additionally, important modifications have been recorded in soil bacterial communities composition and enzyme activities (as an index of total microbial activity in a soil as well as its fertility) related to *Amaranthus* invasion process (Sanon *et al.*, in prep), altering linkages between native aboveground communities and belowground communities by ways including the timing, quality, quantity, and spatial structure of plant-derived soil inputs (Wolfe & Klironomos, 2005).

Invasive plants affect AM fungal communities in ways that may create a plant-soil biota feedback facilitating invasion and altering native communities. In this concern, it has been previously observed that mycorrhizal fungi could facilitate exotic plant invasions by increasing mycotrophic invasives competitive dominance (Richardson *et al.*, 1994; Fumanal *et al.*, 2006). Conversely, disruption of these mutualistic associations between native plants and AM fungi had also been recorded as the main mechanism facilitating nonmycorrhizal plant invasion (Mummey & Rillig, 2006; Stinson *et al.*, 2006). In our study, the invasive plant had marked detrimental effect on AM propagules in the field as indicated by AM spores number, AM hyphal length, chitinase activity, and on *Acacia* species root AM colonization rates. In this case, even if the density of mycorrhizal fungi were initially equivalent prior to the invasion event, the dominance of the exotic invasive nonmycorrhizal plant species would eventually result in reduced densities of AM fungal communities relative to sites dominated by native plant species ('the Degraded Mutualisms Hypothesis'; Vogelsang *et al.*, 2004). Increased availability of phosphorus in soil could also negatively impact AM fungi development (Smith & Read, 1997), like it is the case in soil invaded by *A. viridis*. Moreover, AM fungal communities degradation via phytochemistry pathway might also been investigated as it has been described for numerous others exotic invasives (Vivanco *et al.*, 2004; Stinson *et al.*, 2006). Importantly, allelopathic effect of *Amaranthus* had already been observed on pearl millet, wheat and corn seedlings survival (Hussain *et al.*, 2003).

Reductions in *Acacia* species nodulation were also recorded in our greenhouse experiments. Interestingly, when we studied the effect of *Amaranthus* aqueous extract on the growth of 30 strains of rhizobia originating of different areas of Africa in Petri dishes, we observed drastic inhibition of

rhizobial growth (Sanon et al. in prep). Therefore, *A. viridis* may probably exhibit allelopathic effect against symbiotic soil microbiota as suggested for *Acacia sephorae* nodulation upon bitou bush invasion (Vranjic et al., 2000).

4.2. Implications for Acacia species growth reduction

We then conducted additional experiments to gain a better understanding of the mechanisms of Acacia seedlings growth decline in the invaded soil despite an increasing nutrient availability. Results indicated a significant growth reduction when seedlings were grown in sterilized or not invaded soil and in sterilized un-invaded soil. Additionally, these growth declines were accompanied by critical reductions of plant roots colonization by AM fungi, indicating that *A. viridis* plants might reduce native plants performance by interfering with the formation of mycorrhizal associations. More importantly, the fact that *Acacia* seedlings growth reductions in invaded non sterilized soil were similar to those observed when seedlings were grown in both sterilized soils from invaded or not areas strongly supported our microbially-mediated hypothesis of native plant growth inhibition by *Amaranthus*.

Accumulating evidences indicated deleterious consequences on AM fungi populations and efficiency in soil subsequent to an increase in soil fertility, more particularly, P availability (Smith & Read, 1997). Moreover, it has been stated that Sahelian Acacia species were generally recorded on poor soils and their survival tightly depended on AM symbiosis with which they co-evolved (Ducousso & Thoen, 1991) and conversely that, *A. viridis* grew better on soils with high nutrients availability (Le Bourgeois & Merlier, 1995). Additionally, plants with reduced dependence on mycorrhizal fungi have been shown to be superior competitors in areas with low densities of AM fungi (Hartnett et al., 1993) and the reduced dependence on mycorrhizal fungi can then be viewed as part of a life story strategy that is successful in disturbed environments (Francis & Read, 1995). The initial establishment of exotic species would be facilitated by soil disturbance sufficient to reduce AM fungal densities, thereby giving invasive species a competitive advantage over native species (Vogelsang et al., 2004). The present results suggests that the successful invasion of *A. viridis* would then resulted from alteration in nutrient availability (probably by altering soil bacterial communities composition and therefore, their functioning) and exacerbation of AM inoculum density degradation at least (no differences were recorded in the distribution of AM fungus species between the two soil origins) in ways that would generate a ‘*novel ecological niche*’ which might favor the exotic invasive plant own fitness relative to that of native species. The invasive may promote a positive feedback loop (Bever et al., 1997) in which the plant increases the availability of soil nutrients, which it preferentially takes up to support the creation of larger biomass than the

native. These altered soil microbial communities could facilitate additional invasion by nonmycorrhizal nonnative species ('the cross-facilitation process', Jordan *et al.*, 2008), thus reinforcing nonnative plant dominance and inhibiting the re-establishment of native species. These results strongly supported the evidence of additional mechanisms by which soil biota could shape plant invasion processes, in addition to the enemy-escape hypothesis, and in addition to others non-microbial agents mediators (e.g. direct plant-plant allelopathy interference).

5. Conclusion

Our results provide evidence that reduced dependence on the mycorrhizal mutualism is an important aspect of the success of the invasive plant, *A. viridis*, within the area studied. The invasive transforms soil attributes such that native species are broadly disadvantaged relative to the invasive, and probably to a set of invasives. Importantly, our results suggest tightly plant-mediated relationships between soil fertility, mutualistic AM fungi, and invasion processes in a Sahelian ecosystem where man-made disturbances continue to increase nutrients availability and to degrade AM inoculum potential in soil. These results might be of crucial importance for invaded areas restoration.

References

- Aubert G., 1978. Méthodes d'analyse des sols. Edition CRDP, Marseille, p, 360.
- Beam, H.W., 1971. Effect of fluopeturon and prometryne on β -galactosidase and phosphatase produced by *Rhizoctonia solani* Khun in soil culture. M.S. Thesis, Auburn University, 86pp.
- Bever, J.D., Westover, K.M., Antonovics, J., 1997. Incorporating the soil community into population dynamics : the utility of the feedback approach. *J. Ecol.* 85, 561-573.
- Ducousso, M., Thoen, D., 1991. Les types mycorrhiziens des *Acacieae*. in : *Physiologie des Arbres et Arbustes en zones arides et semi-arides*. Groupes d'Etude de l'Arbre. Paris, France, pp, 175-182.
- Ehrenfeld, J.G., 2003, Effects of exotic plant invasions on soil nutrient cycling processes. *Ecosystems* 6, 503-523.
- Ehrenfeld, J.G., Kourtev, P., Huang, W., 2001. Changes in soil functions following invasions of exotic understory plants in deciduous forests. *Ecol. Appl.* 11, 1287-1300.
- Francis, R., Read, D.J., 1995. Mutualism and antagonism in the mycorrhizal symbiosis, with special reference to impacts on plant community structure. *Can. J. Bot.* 73 :1301-1309.
- Fumanal, B., Plenchette, C., Chauvel, B., Bretagnolle, F., 2006. Which role can arbuscular mycorrhizal fungi play in the facilitation of *Ambrosia artemisiifolia* L. invasion in France ? *Mycorrhiza* 17, 25-35.
- Gassama-Dia, Y.K., Sané, D., N'Doye, M., 2003. Reproductive biology of *Faidherbia albida* (Del.) A. Chev. *Silva Fen.* 37, 429-436.
- Hanssen, J.F., Thingstad, T.F., Goksoyr, J., 1974. Evaluation of hyphal lengths and fungal biomass in soil by a membrane filter technique. *Oikos* 25, 102-107.
- Harnett, D.C., Heterick, B.A.D., Wilson, G.W.T., Gibson, D.J. 1993. Mycorrhizal influence of intra- and interspecific neighbour interactions among co-occurring prairie grasses. *J. Ecol.* 81, 787-795.
- Hussain, F., Gilani, S.S., Fatima, I., Durrani, M.J., 2003. Some autecological studies on *Amaranthus viridis* L. *Pak. J. Weed Sci. Res.* 9, 117-124.
- INVAM, 1997. <http://www.invam.caf.wvu.edu/>.

- Jordan, N.R., Larson, D.L., Huerd, S.C., 2008. Soil modification by invasive plants: effects on native and invasive species of mixed-grass prairies. *Biol. Inv.* 10, 177-190.
- Kourtev, P.S., Ehrenfeld, J.G., Häggblom, M., 2002. Exotic plant species alter the microbial community structure and function in the soil. *Ecology* 83, 3152-3166.
- Le Bourgeois, T., Merlier, H., 1995. Adventrop. Les adventices d'Afrique soudano-sahélienne. CIRAD-Montpellier, France.
- Mummey, D.L., Rillig, M.C., 2006 The invasive plant species *Centaurea maculosa* alters arbuscular mycorrhizal fungal communities in the field. *Plant Soil* 288, 81-90.
- Murphy, J., Riley, J.P., 1962. A modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. *Analyt. Chem. Acta* 27, 31-36.
- Nicolson, T.H., 1959. Mycorrhiza in the Gramineae. I. Vesicular-arbuscular endophytes, with special reference to the external phase. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 42, 421- 438.
- Phillips, J.M., Hayman, D.S., 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 55, 158-161.
- Richardson, D.M., Williams, P.A., Hobbs, R.J., 1994. Pine invasions in the Southern Hemisphere-determinants of spread and invadability. *J. Biogeogr.* 21, 511-527.
- Sieverding, E., 1991. Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza Management in Tropical Agrosystems. GTZ, Eschborn, Germany, 371 pp.
- Smith, S.E., Read, D.J., 1997 Mycorrhizal Symbiosis, 2nd ed. Academic Press, London.
- Stinson, K.A., Campbell, S.A., Powell, J.R., Wolfe, B.E., Callaway, R.M., Thelen, G.C., Hallett, S.G., Prati, D., Klironomos, J.N., 2006. Invasive plant suppresses the growth of native tree seedlings by disrupting belowground mutualisms. *PlosBiology* 4, 727-731.
- USDA Plant Database. Plants Profile- *Amaranthus* L. http://en.wikipedia.org/wiki/Amaranth#_ref-name_1
- van der Putten, W.H., Klironomos, J.N., Wardle, D.A., 2007. Microbial ecology of biological invasions. *The ISME J.* 1, 28-37.
- Vivanco, J.M., Bais, H.P., Stermitz, F.R., Thelen, G.C., Callaway, R.M., 2004 Biogeographical variation in community response to root allelochemistry: Novel weapons and exotic invasion. *Ecol. Lett.* 7, 285-292.
- Vogelsang, K.M., Bever, J.D., Griswold, M., Schulz, P.A., 2004 The use of mycorrhizal fungi in erosion control applications. Final report for Caltrans. California Department of Transportation Contract no. 65A0070, Sacramento (California).
- Vranjic, J.A., Woods, M.J., Barnard, J., 2000. Soil-mediated effects on germination and seedling growth of coastal wattle (*Acacia sophorae*) by the environmental weed, bitou bush (*Chrysanthemoides monilifera* spp. *rotundata*). *Aust. Ecol.* 25 :445-453.
- Walker, C., 1983 Taxonomic concepts in the Endogonaceae. I. Spore wall characteristics in species description. *Mycotaxon* 18: 443-455.
- Wolfe B.E., Klironomos, J.N., 2005 Breaking new ground: soil communities and exotic plant invasion. *BioScience* 55: 477-487.

**The concept of ecological niche associated with the coexistence of plant species:
role of mycorrhizal fungi and their associated microflora
in herbaceous layer partitioning in tropical ecosystems**

Abstract

The functioning and stability of terrestrial ecosystems are mainly determined by plant specific richness and composition. Moreover, plant species dynamics are strongly correlated to soil organism development, in particular, soil microorganisms. The purpose of this study was to define the role of mycorrhizal symbiosis and its mycorrhizospheric flora in the organization and evolution of some plant communities characteristic of sahelian ecosystems.

The work undertaken within the frame of this study concerns three main axes corresponding to three levels of soil – microorganisms – plant systems evolution: (i) the implication of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) like Agent-mediated coexistence processes in an herbaceous weakly disturbed ecosystem; (ii) the study of the impact of AMF like Agent-mediated allelopathic effect of exotic fast growing trees [*Gmelina arborea* Roxb, *Eucalyptus camaldulensis* (largely used in reafforestation programmes)] on endogenous organisms (herbaceous and soil microbial communities) and lastly, (iii) the study of soil invasion by an exotic herbaceous plant [*Amaranthus viridis*] on soil microbial community (AMF, total bacteria, rhizobia) structure and function, on C, N, P availability in soil and, on the regeneration of five Sahelian *Acacia* species. The results indicate that (i) the presence and abundance of AMF in soils, associated with P availability, could strongly mediate plant species coexistence processes and thus, determine plant species partitioning in terrestrial ecosystems; (ii) AMF's are biological agents which optimize plant growth, restore degraded lands and promote plant biodiversity and finally, (iii) *Amaranthus viridis*, a very weakly mycotrophic plant species, alters soil chemistry and promotes a reduction in soil mycorrhizal and rhizobial communities after its invasion, thus compromising the survival of *Acacia* seedlings. Furthermore an increase in soil mycorrhizal propagules could make it possible to mitigate significantly the depressive effect of the invasive plant on the re-establishment of these *Acacia* species.

Key words: arbuscular mycorrhizal fungi; rhizobia; *Gmelina arborea* Roxb; *Eucalyptus camaldulensis*; *Amaranthus viridis*; plant species coexistence; allelopathy; invasive plants; biodiversity; sahelian ecosystems.

**Le concept de niche écologique associé à la co-existence des espèces végétales :
mise en évidence du rôle de la symbiose mycorhizienne et de sa microflore associée
dans la structuration de la strate herbacée en milieu tropical**

Résumé

Le fonctionnement et la stabilité des écosystèmes terrestres sont principalement dépendants de la richesse et de la composition des peuplements végétaux. De plus, la dynamique des végétaux est fortement liée au développement de la composante biotique tellurique, en particulier les microorganismes. L'objectif principal de cette étude était de définir le rôle de la symbiose mycorhizienne et de sa flore mycorhizosphérique dans l'organisation et dans l'évolution de quelques communautés végétales caractéristiques d'écosystèmes sahéliens.

Les expérimentations ont porté sur trois axes principaux correspondant à trois états d'évolution des systèmes sol – microorganismes – plantes : (i) l'implication des champignons mycorhiziens à arbuscules (champignons MA) dans les mécanismes de co-existence végétale dans un écosystème herbacé faiblement anthropisé ; (ii) l'étude de l'impact des champignons MA dans l'atténuation des effets allélopathiques des essences exotiques à croissance rapide [*Gmelina arborea* Roxb, *Eucalyptus camaldulensis* (largement utilisés lors des programmes de reboisement sous les tropiques)] sur les organismes natifs (communautés microbiennes et herbacées) et enfin, (iii) l'étude de l'effet de l'invasion du sol par une herbacée exotique (*Amaranthus viridis*) sur la structure et le fonctionnement de certaines communautés microbiennes du sol (champignons MA, bactéries totales, rhizobia), la disponibilité dans le sol de C, N, P et la régénération de cinq espèces d'*Acacia* sahélien. Les résultats indiquent que (i) la présence et l'abondance des champignons MA dans le sol, ainsi que la richesse en phosphore, peuvent fortement influencer la co-existence entre plantes et déterminer la répartition des espèces végétales dans les écosystèmes telluriques ; (ii) les champignons MA constituent des agents biologiques qui favorisent la croissance des plantes et permettent de restaurer les sols dégradés et de promouvoir la biodiversité végétale et enfin, (iii) l'invasion de *Amaranthus viridis*, une espèce végétale faiblement mycotrophe, modifie profondément certaines caractéristiques biochimiques du sol et réduit significativement les potentiels infectieux mycorhizien et rhizobien dans le sol, compromettant ainsi la survie des plants d'*Acacia*. Cependant, l'inoculation des plants avec des propagules de champignon MA permet de réduire significativement l'effet dépressif de la plante invasive sur le développement des Acacias.

Mots clefs : champignons mycorhiziens à arbuscules ; rhizobia ; *Gmelina arborea* Roxb ; *Eucalyptus camaldulensis* ; *Amaranthus viridis* ; co-existence des espèces végétales ; allélopathie ; plantes invasives ; biodiversité ; écosystèmes sahéliens.