

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université**  
**Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou**  
**Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques**  
**Département de Biochimie-Microbiologie**

**Mémoire**

De fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master Académique en Sciences  
Biologiques

Option : Biotechnologie microbienne

**Thème**

**Recherche des associations symbiotiques chez le**  
***Casuarina equisetifolia*: Outils biotechnologiques**  
**pour une agriculture durable**

Présenté par : Melle OUDAHMANE Yasmine

Devant le jury composé de

<b>Président</b>	<b>Mr. MEDJBEUR DJ.</b>	<b>MCB</b>	<b>UMMTO</b>
<b>Promoteur</b>	<b>Mr. SMAIL A.</b>	<b>MCB</b>	<b>UMMTO</b>
<b>Examineur</b>	<b>Mme BENAZZOUZ-KESBIA K.</b>	<b>MCB</b>	<b>UMMTO</b>

**Promotion: 2023/2024**

## ***Remerciements***

*Au terme de ce travail, je rends grâce au Seigneur ALLAH, de m'avoir donné la santé, le courage, la patience et toutes les capacités physiques et mentales qui m'ont permis de réaliser ce travail.*

*Mes remerciements les plus sincères, accompagnés de mon profond respect, vont à mon promoteur, M. Smail A., Maître de conférences Classe B, pour m'avoir dirigée et encouragée tout au long de ce travail. Je le remercie pour sa disponibilité, son aide précieuse, sa générosité et ses conseils avisés.*

*Je tiens également à exprimer mes remerciements les plus sincères à M. Bouacem fl, ainsi qu'à tous les professeurs qui m'ont enseignés et qui ont contribué à la richesse de mes connaissances.*

*Je remercie infiniment Mme Smail M et les ingénieurs du laboratoire pédagogique de microbiologie, en particulier Mme Guendouzi S et Mme Hassani A, pour leurs aide, leurs conseils, leurs disponibilité et leurs encouragements.*

*J'adresse mes vifs remerciements également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à cette recherche en acceptant de l'examiner et de l'enrichir par leurs propositions, notamment à Madame BENAAZZOUZ-kESBIA k, pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury, et à Monsieur MEDJBEUR DJ, qui a eu la courtoisie d'accepter d'examiner ce travail.*

*Enfin, je remercie tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.*

## *Dédicaces*

*A mes parents, pour leurs amour inépuisable, leurs soutien indéfectible et leurs confiance qui ont été ma plus grande force tout au long de ce parcours.*

*A ma grand-mère, dont les conseils et la bienveillance ont toujours été des phares dans ma vie.*

*A mes deux frères Yacine et Ellias, et à ma belle sœur Amina, pour leurs soutien chaleureux et leurs encouragements constants.*

*A ma meilleure amie, kamelia, pour sa fidélité, ces rires et ces mots réconfortants, qui m'ont aidés à traverser chaque étape avec plus de sérénité.*

*A mes amis, pour leurs présence et leurs soutien, ainsi qu'à toute ma famille, grands et petits, pour l'amour et la chaleur qui m'ont portés dans ce voyage.*

*Je vous dédie ce mémoire, avec tout mon amour et ma gratitude.*

**Yasmine**

## Liste des figures et des tableaux

### Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Représentation schématique des différents types de mycorhizes (Le Tacon, 1985)	5
<b>Figure 2 :</b> Plant de <i>Casuarina</i> .....	19
<b>Figure 3 :</b> Les différentes ectomycorhizes observées.....	26
<b>Figure 4 :</b> Les différentes structures endomycorhiziennes observées chez le <i>Casuarina</i> .....	27
<b>Figure 5 :</b> Les différents nodules actinorhiziens observés chez le <i>Casuarina</i> .....	27
<b>Figure 6 :</b> Aspects morphologiques des souches ré-isolés .....	28
<b>Figure 7 :</b> Résultats de la coloration de Gram .....	30

### Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> Aspect macroscopique des souches .....	28
<b>Tableau II :</b> Résultats de l'observation à l'état frais des souches .....	29
<b>Tableau III :</b> Résultats des tests de la galerie biochimique .....	30
<b>Tableau IV :</b> Résultats du test de dégradation des sucres, production d'H <sub>2</sub> S et de gaz sur TSI(Triple Sugar Iron).....	31

## Liste des abréviations

**MA** : Mycorhizes Arbusculaires

**BAM** : Bactérie Auxiliaire de la Mycorhization

**P** : Phosphore

**PH** : Potentiel Hydrogène

**PCA**: Plate Count Agar

**VF** : Viande-Foie

**MEVAG** : Milieu d'Etude des Voies d'Attaque des Glucides

**VP** : Voges Proskauer

**RM** : Rouge de Méthyle

**TSI**: Triple Sugar Iron

## Table des matières

**Remerciements**

**Dédicaces**

**Liste des figures et des tableaux**

**Liste des abréviations**

**Introduction**

### Synthèse bibliographique

I. La symbiose mycorhizienne.....	4
I.1.Définition de la symbiose.....	4
I.2.Définition des mycorhizes.....	4
I.3.Les différents types de mycorhizes.....	4
I.3.1. Les endomycorhizes.....	5
I.3.1.1. Les mycorhizes arbusculaires.....	5
I.3.1.2. Les mycorhizes éricoides.....	5
I.3.1.3. Les mycorhizes orchidoides.....	5
I.3.2.Les ectomycorhizes.....	5
I.3.2.1.Les mycorhizes arbutoides.....	6
I.3.3.Les ectendomycorhizes.....	6
I.4.Bénéfices de la symbiose mycorhizienne.....	6
I.4.1.Les avantages que procure la plante hôte pour le champignon.....	6
I.4.2.Les avantages que procure le champignon pour la plante hôte.....	7
I.5.Les mycorhizes en agriculture.....	7
I.5.1.Rôle des mycorhizes en agriculture.....	7
I.5.2.Impact des pratiques agricoles sur les mycorhizes.....	9
I.5.3.L'agriculture durable.....	10
I.6.Généralités sur les symbioses fixatrices d'azote.....	10
I.6.1.Les symbioses actinorhiziennes.....	11
I.7.Les bactéries auxiliaires de la mycorhization (BAM).....	12
I.7.1.Mécanisme d'action.....	12
I.8.La salinisation.....	13
I.8.1Le casuarina et la tolérance au sel.....	13

I.9Caractéristiques principales du genre casuarina .....	15
I.9.1. Systématique du <i>Casuarina</i> .....	15

### **Matériel et Méthodes**

II-Lieu et période d'étude.....	17
II-1Matériel .....	17
II-1-1Matériel biologique .....	17
II-2-2Matériel non biologique .....	17
II-2Méthodes .....	18
II-2-1-Lavage des racines.....	18
II-2-2-Etude morphologique des ectomycorhizes .....	18
II-2-3- Etude des endomycorhizes .....	18
II-2-4- Etude des nodules actinorhiziens ou actinorhizes .....	18
II-2-5- Etude des bactéries auxiliaires de la mycorhization et caractérisation de souches microbiennes .....	18
II-2-5-1- Préparation des dilutions .....	19
II-2-5-2- Ensemencement.....	19
II-2-5-3- Isolement des souches .....	19
II-2-5-4 Examen macroscopique .....	19
II-2-5-5 Examen microscopique.....	19
II-2-5-6- Galerie biochimique .....	20

## **Résultats**

III-1-Les ectomycorhizes .....	24
III-2-Les endomycorhizes .....	25
III-3-Les nodules actinorhiziens ou actinorhizes .....	25
III-4- Caractérisation des BAM .....	26
III-4-1-Caractères cultureux.....	26
III-4-2-Observation macroscopique des souches isolées .....	26
III-4-3-Etude microscopique des souches .....	27
III-4-3-1Observation à l'état frais .....	27
III-4-3-2-Observation à l'état fixé : coloration de Gram.....	28
III-4-3-3-Galerie biochimique.....	29

## **Discussion et conclusion**

<b>Discussion et conclusion.....</b>	<b>32</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>35</b>

## **Annexes**

# **Introduction**

## Introduction

De nombreux sols à travers le monde sont fragilisés et assujettis à de profondes perturbations chimiques et biologiques aboutissant à une diminution des rendements des cultures et en conséquence à de nombreuses difficultés pour satisfaire les besoins alimentaires des populations locales. Selon Sanchez et al., (2003), les principales contraintes entraînant une baisse des rendements agricoles se situent au niveau des caractéristiques des sols: les carences minérales (en particulier en P), la faible réserve en eau consécutive à une pluviométrie insuffisante, une érosion importante, de faibles teneurs en matière organique et une activité biologique tellurique déficiente. Au siècle dernier, les technologies relatives à la révolution verte basées sur l'utilisation de pesticides, d'engrais chimiques et de variétés améliorées de plantes ont permis de remédier à ces dégradations et ainsi atteindre une productivité agricole suffisante (Dalgaard et al., 2003). Toute fois ces techniques culturales ont causé des dommages à l'environnement parfois irréversible. Les conséquences directes sont la dégradation des terres et une insécurité alimentaire chronique touchant plus de 2 milliards de personne. De plus il est maintenant parfaitement admis que l'utilisation excessive des intrants chimiques affecte gravement et durablement le bio fonctionnement du sol et présente des risques pour la santé humaine (Dalgaard et al., 2003). Le défi pour les 50 années à venir est de doubler la production agricole en respectant les règles d'une agriculture durable à faibles apports d'intrants et n'ayant aucun risque pour la santé publique (Tilman et al., 2002). Une des stratégies possibles est la mise en place de pratiques agricoles reposant sur les processus et les fonctionnalités écologiques (utilisation des ressources naturelles du sol, recyclage des nutriments, choix du matériel végétal, gestion des intrants organiques et minéraux). D'autre part, il a été montré que les agroécosystèmes plurispécifiques pouvaient présenter une augmentation de productivité de 30 à 60 % en comparaison des systèmes monospécifiques, ainsi qu'une meilleure utilisation des ressources naturelles, une diminution des risques face aux variations pédoclimatiques et aux ravageurs, une limitation des processus d'érosion, et une amélioration de la stabilité pluriannuelle du fonctionnement. Parmi les composantes microbiennes impliquées dans le bio fonctionnement du sol figurent les champignons mycorhiziens considérés comme des éléments majeurs de l'interface sol/plante ainsi que les bactéries intervenants dans de nombreuses associations symbiotiques.

L'objectif principal de ce travail est de décrire les différentes associations symbiotiques au niveau racinaires chez le *Casuarina*.

# **Synthèse bibliographique**

## I. La symbiose mycorhizienne

### I.1 Définition de la symbiose

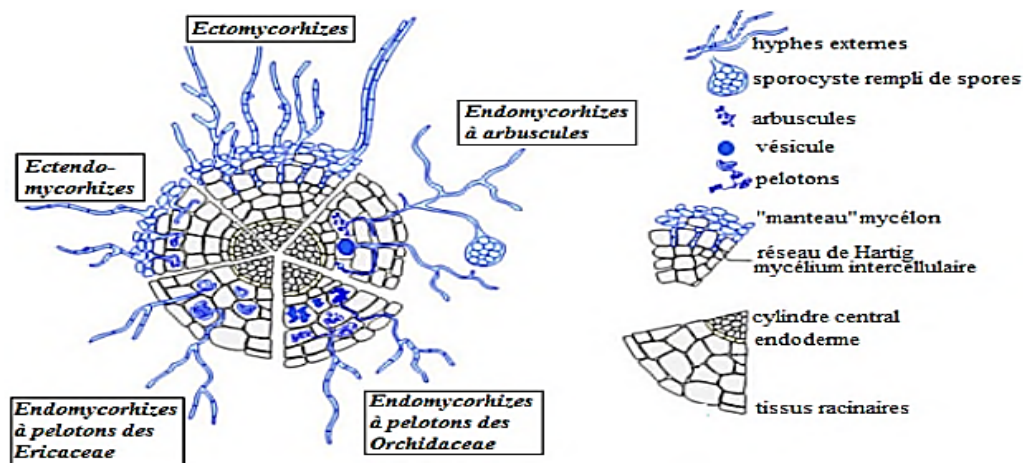
Il s'agit d'une association intime (c'est-à-dire avec pénétration des tissus de l'un des deux organismes dans ceux de l'autre, ou à l'intérieur même des cellules), durable (c'est-à-dire effective jusqu'à ce que l'un des deux organismes meure) et mutualiste (c'est-à-dire à bénéfice réciproque par l'échange des ressources complémentaires). C'est par cette dernière caractéristique que la symbiose diffère du parasitisme : alors que le parasite (comme beaucoup d'autres champignons qui causent des maladies aux plantes) exploite son hôte sans contrepartie et finit par l'épuiser et le faire mourir, le symbiote au contraire participe de façon positive au développement de la plante ; la symbiose est en quelque sorte un double parasitisme équilibré et donc stabilisé (Garbaye, 2013).

### I.2 Définition des mycorhizes

Les mycorhizes sont formées par les champignons microscopiques qui font merveille en travaillant en symbiose avec les racines des plantes. Les champignons aident les plantes à puiser des éléments nutritifs dans le sol et à s'adapter au milieu : en échange, les plantes fournissent aux champignons l'énergie qu'ils sont incapables de tirer eux-mêmes du soleil (Fortin et *al.*, 2011).

### I.3 Les différents types de mycorhizes

Il existe plusieurs types de mycorhizes ; endomycorhizes à arbuscules, ectomycorhizes, ectendomycorhizes, mycorhizes arbutoides, éricoides et orchidoides, sont classés par leurs caractéristiques morphologiques distinctes (Wang et Qiu, 2006) (**figure 1**).



**Figure 1** Représentation schématique des différents types de mycorhizes (Le Tacon, 1985).

### **I.3.1. Les endomycorhizes**

#### **I.3.1.1. Les mycorhizes arbusculaires**

Les mycorhizes arbusculaires se trouvent chez plus de 70% des espèces végétales vasculaires terrestres actuelles (Fortin et al, 2008).

Les MA sont caractérisées par la présence d'arbuscules dans les cellules corticales de la racine. L'arbuscule « en forme de petite-arbre » est une structure fongique spécifique, qui représente le principal site d'échange des nutriments entre la plante et le champignon (He et Nara, 2007). Il est ramifié, d'une structure microscopique qui se forme dans les cellules vivantes corticales de la racine (Manchanda et Garg, 2007). Ces arbuscules sont liés par des hyphes soit intercellulaires ou intracellulaires à l'intérieur de la racine. Certains champignons forment des structures de stockages arrondies appelées vésicules ou des spores dans le tissu racinaire ou dans le sol (Van der Heijden et Sanders, 2002).

Certains facteurs influencent la symbiose des mycorhizes à arbuscules tels que le type du sol (Corkidi et Rincon, 1997), la fertilité du sol (Schweiger et *al.*, 1995), l'aridité, la saturation en eau, ainsi que la salinité et le pH (Brundrett, 1991 ; Wang et *al.*, 1993).

#### **I.3.1.2. Les mycorhizes éricoides**

Les fines racines des éricacées ne comportent généralement qu'une seule couche de cellules qui constitue à la fois l'épiderme et le cortex. Chez les mycorhizes de type éricoïde, le champignon pénètre l'épiderme et forme des pelotons mycéliens (Fortin, 2008).

La symbiose est pleinement fonctionnelle dans la jeune racine lorsque toutes les cellules de l'épiderme sont colonisées (Garbaye, 2013).

#### **I.3.1.3. Les mycorhizes orchidoïdes**

Ce type de symbiose mycorhizienne est nommé orchidoïde du fait qu'il est parfaitement circonscrit aux plantes monocotylédones appelées orchidées. Les orchidées ont des graines minuscules dont la germination est impossible sans l'aide des champignons. Ce type de mycorhize est caractérisé par la formation des pelotons d'hyphes dans les cellules corticales du tissu de la racine. Tous les membres de la famille des Orchidacées sont censés former ce type de mycorhizes (Smith et Read, 2008).

### **I.3.2. Les ectomycorhizes**

Les ectomycorhizes sont ainsi nommées du fait de deux traits morphologiques caractéristiques qui les classent à part des autres types de symbioses mycorhiziennes. D'une part, les filaments

du champignon forment un manchon feutré plus au moins dense mais continu, appelé manteau, qui recouvre la surface de la racine, d'autre part, s'il est vrai que le champignon s'établi à l'intérieur de la racine, entre les cellules du cortex, il ne franchit pas les parois des cellules et ne les pénètre pas (Garbaye, 2013).

Les champignons ectomycorhiziens ont une association écologique obligatoire avec leurs hôtes, cette association obligatoire indique que les champignons acquièrent des signaux ou des nutriments spécifiques du partenaire végétal. Ils ont la capacité de former des fructifications de spores qui se libèrent au vent et donc peuvent être largement distribuées. Ces spores peuvent être également distribuées par les animaux mycophages (Allen, 1992).

### **I.3.2.1. Les mycorhizes arbutoides**

Le siège de cette symbiose est une racine courte, et la diversité de la forme général, de ramification, de couleur et de texture du manteau est la même que chez les ectomycorhizes (Garbaye, 2013).

### **I.3.3. Les ectendomycorhizes**

Cette appellation signifie que le champignon est à la fois à l'extérieur et à l'intérieur des cellules de la racine. Le champignon colonise la surface des racines courtes, forme un manteau, pénètre entre les cellules du cortex et constitue un réseau de Hartig. Chez les ectendomycorhizes le manteau n'existe pas toujours et est de toute façon lâche et peu différencié et les hyphes du réseau de Hartig émettent des branches qui perforent les parois des cellules végétales grâce à la sécrétion d'enzyme détruisant les constituants de cette paroi (Garbaye, 2013).

## **I.4 Bénéfices de la symbiose mycorhizienne**

### **I.4.1 Les avantages que procure la plante hôte pour le champignon**

L'intérêt premier que la plante procure au champignon est un abri et une protection physique contre les aléas du milieu qui environne l'ensemble (brusque variations de température, d'humidité, de paramètre chimique, agression par des organismes parasites ou macrophages, etc.) (Garbaye, 2013).

Les champignons sont hétérotrophes pour le carbone (Garbaye, 2013) .La plante fournit au champignon jusqu'à 20% des composés carbonés (sucrés), tels que : le saccharose, fructose et glucose par photosynthèse (Nezzar-Hocine, 1998).

### I.4.2 Les avantages que procure le champignon pour la plante hôte

- Le champignon permet à la plante de résister aux épisodes de dessèchement en permettant à la racine mycorhizée d'explorer un volume de sol important (Garbaye, 2013). Cette amélioration est réalisée par l'intermédiaire des filaments végétatifs extramatriciels qui augmentent considérablement le volume de sol exploité (1000 mètres de mycélium par mètre de racine) (Plassard et *al.*, 1997).
- Le champignon permet d'améliorer la capacité de la plante à absorber les éléments nutritifs en solution présent dans le sol, comme le phosphore et l'azote (Garbaye, 2013).
- Le champignon procure la possibilité d'avoir une augmentation quantitative des hormones de croissance sécrétées, tels que les gibbérellines, les auxines et les cytokinines (Duponnois et *al.*, 2013).
- Le champignon mycorhizien permet d'améliorer la tolérance de la plante-hôte à la toxicité aluminique ou manganique, à l'acidité et à la salinité excessive (Duhaux et Nicole, 2004).
- L'amélioration de l'état sanitaire de l'arbre, en le protégeant contre les agents pathogènes (certaines bactéries, nématodes, insectes, maladies fongiques, etc) (St-Arnaud et *al.*, 1997)

### I.5. Les mycorhizes en agriculture

**I.5.1 Rôle des mycorhizes en agriculture et en environnement** Les mycorhizes jouent un rôle fondamental et souvent sous-estimé dans l'agriculture moderne. Ces symbioses entre champignons et racines des plantes ne sont pas seulement essentielles pour la nutrition des plantes, mais elles contribuent également à la santé des sols et à la durabilité des systèmes agricoles et parmi ces rôles :

- **Absorption des éléments minéraux et de l'eau :** Les champignons mycorhiziens, grâce à leur mycélium étendu, augmentent considérablement la surface de contact avec le sol, facilitant l'absorption des minéraux et de l'eau. Alors que les racines des plantes seules ne peuvent pas efficacement capturer ces éléments fixés, le réseau mycélien permet aux plantes de bénéficier d'une surface d'absorption beaucoup plus large tout en économisant de l'énergie. Le mycélium des champignons peut accéder à

l'eau dans des zones du sol inaccessibles aux racines et déclencher des mécanismes de fermeture des stomates pour éviter la flétrissure (Fortin et *al.*,2008).

- **Protection contre les organismes pathogènes :** Les champignons mycorhiziens protègent les racines de deux manières : dans la rhizosphère et directement dans les tissus racinaires. Dans la rhizosphère, les champignons mycorhiziens contribuent à créer une flore microbienne diversifiée et équilibrée, ce qui limite la prolifération des pathogènes et dans les tissus racinaire ils déclenchent des mécanismes de défense, stimulant la production de substances antibiotiques contre les agents pathogènes, tout en restant eux-mêmes immunisés (Fortin et *al.*,2008).
- **Résistance aux stress environnementaux :** Les mycorhizes protègent les racines des métaux toxiques comme l'aluminium et le fer, en les séquestrant. Elles sécrètent aussi des acides organiques pour rendre le fer et le phosphore, souvent insoluble, accessible aux racines, prévenant ainsi la carence en fer et en phosphore. Elles aident également certaines plantes, à mieux résister au stress hydrique (Fortin et *al.*,2008).
- **La séquestration du carbone dans le sol :** La biomasse mycélienne des champignons mycorhiziens joue un rôle crucial dans le stockage du carbone dans les sols. Dans les forêts boréales, plus de 50 % du CO<sub>2</sub> émis par le sol provient des mycorhizes. La glomaline, une glycoprotéine produite par les mycorhizes arbusculaires, est particulièrement résistante à la décomposition et représente un tiers du carbone stocké dans les sols mondiaux. Contrairement à la croyance ancienne qui privilégiait les acides humiques comme principaux composants de la matière organique des sols agricoles, la glomaline est désormais reconnue comme ayant une importance équivalente (Fortin et *al.*, 2008).
- **Réhabilitation des sites touchés par les grands travaux :** Pour restaurer la végétation, il est essentiel d'ajouter des inoculum mycorhiziens et de la matière organique, car les sites touchés par les grands travaux peuvent être non toxiques ou toxiques. Sur les sites non toxiques, comme ceux des constructions ou des mines, l'extraction de matériaux enlève souvent la couche organique du sol, ce qui est crucial pour la végétation. Même si cette couche est conservée, elle est souvent trop mince pour recouvrir tout le site. La végétation peut repousser si le substrat est diversifié et la nappe phréatique n'est pas trop profonde. Les sites les plus difficiles sont ceux avec un substrat uniforme et une nappe phréatique profonde, car ils manquent de propagules mycorhiziennes (Fortin et *al.*, 2008).

- **Détoxification des sols et réhabilitation des sites toxiques :** Les activités industrielles produisent des résidus toxiques qui rendent les sols hostiles à la végétation, avec des éléments comme les métaux lourds ou des dérivés du pétrole. Lorsque la pollution des sols est superficielle ou accessible aux racines, la mycorhization peut aider les plantes à absorber les toxines, qui se concentrent dans leurs parties aériennes. On peut ensuite récolter ces plantes et les brûler pour éliminer les substances toxiques, et dans les sols acides les mycorhizes aident à supporter des niveaux élevés de toxines telles que l'aluminium, le fer et le manganèse. En introduisant ces champignons dans le sol, on peut rétablir une végétation adaptée à ces environnements difficiles (Fortin et *al.*, 2008).
- **La prévention de la prolifération des algues bleus dans les lacs** La dérive des fertilisants dans les lacs provoque une croissance dangereuse d'algues toxiques. La plantation des végétaux qui ont des mycorhizes, constitue la meilleure solution pour remédier à ce problème car ces champignons aident à capturer le phosphore et à protéger les lacs (Fortin et *al.*, 2008).

### I.5.2 Impact des pratiques agricoles sur les mycorhizes

L'évolution des pratiques agricoles a détérioré la fertilité des sols, notamment avec la grande culture et l'agriculture intensive du 19<sup>ème</sup> siècle, qui ont entraîné une exportation accumulée des minéraux, une utilisation accrue d'engrais chimiques et une dépendance aux pesticides. La monoculture de céréales, moins dépendantes des mycorhizes, s'est développée, tandis que les espèces modernes le sont également moins. Les recherches montrent que les plantes ayant un système racinaire grossier et peu ramifié (carotte, poireau, oignon) peuvent à peine se développer en absence de mycorhizes, même dans un sol relativement pourvu en phosphore assimilable. Pour assurer leur plein développement en absence de mycorhizes, il faut augmenter l'apport en phosphore soluble. Dans le même sol, les plantes ayant un système racinaire fin et fortement ramifié, comme le blé, arrivent à bien se développer en absence de mycorhizes, à moins que la teneur en phosphore du sol soit faible (Fortin et *al.*, 2008).

La symbiose mycorhizienne, qui est essentielle pour la croissance des plantes, dépend de la trilogie sol-plante-champignon, la dépendance mycorhizienne des plantes et du potentiel mycorhizogène du sol. Le développement des mycorhizes est aussi considérablement influencé par le système de culture et la rotation des plantes. Les pratiques agricoles, comme la création variétale pour des rendements élevés, rendent souvent les plantes moins dépendantes des mycorhizes. L'utilisation de fongicides et d'herbicides nuit également à ces

champignons. De plus, les techniques de travail du sol, comme le labour profond, perturbent les spores et le réseau mycélien, tout comme la surfertilisation et les désinfectants du sol, qui sont préjudiciables aux mycorhizes (Fortin et *al.*, 2008).

Pour maintenir un système de culture efficace, les pratiques agricoles doivent être cohérentes et tenir compte des facteurs pédologiques, climatiques, économiques et culturels. Il est donc crucial d'éviter les pratiques agricoles qui pourraient perturber ou inhiber l'activité des mycorhizes pour optimiser leur utilisation dans les systèmes de culture (Fortin et *al.*, 2008).

Il existe deux approches pour la gestion des champignons mycorhiziens aux champs et qui peuvent être compatibles avec l'agriculture durable, la première est une approche technologique qui consiste à utiliser des champignons naturels dont on introduit des souches sélectionnées à haute performance, et la deuxième est une approche agroécologique qui vise à gérer les populations indigènes existantes (Fortin et *al.*, 2008).

### **I.5.3.L'agriculture durable**

Pour promouvoir une agriculture durable, il est essentiel de réévaluer les pratiques agricoles traditionnelles en tenant compte des rôles cruciaux des mycorhizes. Ces champignons, souvent négligés dans les approches antérieures, jouent un rôle fondamental dans la fertilité des sols, la résistance des plantes et l'efficacité des pratiques agricoles. Les conférences internationales récentes ont mis en évidence la nécessité d'intégrer les mycorhizes dans les stratégies agricoles modernes, tandis que la révision des pratiques de fertilisation et des recommandations techniques est indispensable pour soutenir une agriculture durable. Afin de réussir cette transition, il est également crucial d'approfondir les connaissances sur les mycorhizes et d'adapter les politiques de recherche et développement à l'échelle mondiale (Fortin et *al.*, 2008).

### **I.6. Généralités sur les symbioses fixatrices d'azote**

Les racines de certaines plantes hébergent des bactéries symbiotiques en plus des champignons mycorhiziens (Garbaye, 2013). Ces bactéries symbiotiques sont des bactéries fixatrices d'azote qui comprennent les protéobactéries, les actinobactéries et les cyanobactéries. Les Fabacées (les légumineuses) forment des nodosités racinaires qui renferment des bactéries de la famille des Rhizobiacées, les plantes ligneuses forment des nodosités appelées actinorhizes résultant de la symbiose avec les Actinobactéries, ainsi qu'un autre groupe de plantes forment des symbioses fixatrices d'azote avec les cyanobactéries (anciennement appelées algues bleues) (Garbaye, 2013).

Toutes ces symbioses bactériennes fonctionnent de la même façon grâce à une enzyme appelée « la nitrogénase » et qui est propre aux bactéries et qui n'existe pas chez les plantes, les champignons et les animaux. La bactérie fixe l'azote moléculaire de l'air et le transforme en ammonium assimilable par les plantes, en contre partie la plante alimente la bactérie en composés carbonés provenant de sa propre photosynthèse (Garbaye, 2013).

### I.6.1 Les symbioses actinorhiziennes

Après les légumineuses, les plantes actinorhiziennes constituent le second groupe important (260 à 280 espèces) de plante fixatrice d'azote. Elles sont ainsi dénommées car elles forment des symbioses avec un actinomycète du genre *Frankia* (Duhoux et Nicole, 2004).

Contrairement aux symbioses rhizobiennes qui sont représentées par 3 familles, les symbioses actinorhiziennes concernent 8 familles et 24 genres. Tous les genres d'une même famille ne sont pas nécessairement nodulés et on trouve également des espèces non nodulées à l'intérieur d'un même genre. Les espèces actinorhiziennes sont pour la plupart des plantes ligneuses, présentes à l'état spontané, sur tous les continents et sous tous les climats, du climat arctique au climat subtropical. Elles sont cependant plus fréquentes à l'état naturel, dans les zones tempérées froides (Duhoux et Nicole, 2004).

Grâce à leur association avec *Frankia*, ces plantes sont considérées comme des plantes pionnières et édificatrices car elles jouent un rôle de premier plan au cours du processus de pédogenèse (Duhoux et Nicole, 2004).

Le mode d'infection intracellulaire par *Frankia* a été décrit par les genres *Myrica*, *Comptonia*, *Alnus* et *Casuarina* et peut être divisé en plusieurs étapes (Duhoux et al., 1996). Tout d'abord, en réponse à des signaux dont la nature est encore inconnue, les poils absorbants des racines latérales vont se déformer, puis l'actinomycète va digérer la paroi primaire de certains poils absorbants et pénétrer dans la zone de courbure de ces poils. La pénétration de *Frankia* s'accompagne d'une encapsulation des hyphes par une matrice polysaccharidique d'origine végétale et par le plasmalemme de l'hôte ; cette capsule constitue l'interface entre le partenaire végétal et le microsymbiote fixateur d'azote. Suite à la pénétration du microsymbiote, une intense activité mitotique se produit dans le cortex de la racine, près de l'infection et conduit à la formation d'une protubérance sur la racine appelée prénodule. Les filaments de *Frankia* vont envahir les cellules corticales nouvellement formées et provoquer leur hypertrophie. Ce prénodule, dont la fonction est encore inconnue, n'évolue jamais en nodule, mais constitue une étape obligatoire dans la formation du lobe nodulaire. La troisième

étape est l'initiation du lobe nodulaire dans le péricycle de la racine, en général à l'opposé des pôles de protoxylème. Le primordium a une structure de racine latérale et se développe en bordure ou de manière diamétralement apposée à l'emplacement du pré-nodule. La dernière phase est l'infection du lobe nodulaire ; les filaments de *Frankia* progressent à partir du pré-nodule, prolifèrent dans les cellules corticales de la racine et vont envahir le jeune lobe nodulaire. Les cellules corticales infectées vont s'hypertrophier et leur paroi s'épaissir en lignine.

### I.7 Les bactéries auxiliaires de la mycorhization (BAM)

Les sols se caractérisent par des propriétés physico-chimiques très variables (pH, granulométrie, concentration en eau et en nutriments, etc). Pour cette raison, dans le sol de nombreux environnements différents se côtoient, offrant une gamme d'habitats très variée pour les micro-organismes. Le sol constitue ainsi un des plus grands réservoirs de diversité biologique (Dance, 2008). Il a par exemple été estimé qu'un gramme de sol pouvait contenir jusqu'à  $10^8$  à  $10^{11}$  de cellules bactériennes (Sikorski, 2015). Ces organismes constituent des acteurs clés des cycles du carbone et des nutriments dans les sols, tels que l'azote et le phosphore, qui sont des éléments essentiels à la production des molécules du vivant tels que les acides nucléiques ou les protéines (Marschner et Rengel, 2007). Parmi ces micro-organismes, les bactéries auxiliaires de la mycorhization sont très abondantes.

Les BAM sont des bactéries qui stimulent spécifiquement l'établissement des symbioses mycorhiziennes, elles vivent en interaction tellement étroite avec la racine et les symbiotes fongiques qu'elles ont évolué en même temps qu'eux depuis très longtemps et se sont adaptées à la vie en commun, en exerçant une action bénéfique sur l'association plante-champignon. Elles appartiennent à des genres divers chez **les protéobactéries** (*Azotobacter*, *Agrobacterium*, *bradyrhizobium*, *enterobacter*, *pseudomonas*, *klebsielle*), **les Firmicutes** (*Bacillus*, *Brevibacillus*) et **les Actinobactéries** (*Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Arthrobacter*) (Garbaye, 2013)

#### I.7.1 Mécanisme d'action

Les BAM favorisent l'établissement de la symbiose de différentes manières :

- effet sur l'amélioration de la réceptivité de la racine à la colonisation par le champignon, en produisant des enzymes ramollissant la paroi des cellules de l'épiderme de la racine, facilitant ainsi la pénétration (Garbaye, 2013) ;

- les BAM agissent sur la stimulation de la croissance du mycélium dans le sol en émettant des molécules actives comme les vitamines (Garbaye, 2013) ;
- les BAM apportent de l'aide aux champignons en dégradant des molécules organiques toxiques du sol (Garbaye, 2013) ;
- les BAM aident au fonctionnement de la racine mycorhizée en participant avec le champignon à la mobilisation des éléments nutritifs du sol à partir des minéraux et de la matière organique (Garbaye, 2013) ;
- certaines BAM ont la capacité de fixer l'azote gazeux (Li et al, 1992) ou de solubiliser les phosphates (Duponnois, 1992) ce qui pourrait contribuer à une meilleure nutrition minérale de la plante.

### I.8. La salinisation

La salinisation est l'accumulation des sels hydrosolubles (potassium, magnésium, calcium, chlore, sulfate, carbonate, bicarbonate) dans les sols à des niveaux toxiques pour la plupart des plantes, animaux et champignons.

La salinisation et la sodification sont devenues une cause importante de désertification, d'érosion et de dégradation des sols et de l'agriculture et plus largement de la biodiversité (Halse et al, 2003). En moyenne, la Terre perd 10 hectares de terres cultivables par minute, dont 3 hectares à cause de la salinisation (Bülent et Örcen, 2020). Les pays les plus affectés sont la Tunisie, l'Égypte, l'Irak, l'Iran, le Pakistan et la Californie (Davoust, 2009).

#### I.8.1 Le casuarina et la tolérance au sel

Le casuarina est l'une des plantes actinorhiziennes tolérantes au sel et sont largement plantées au niveau des zones côtières comme brise vent dans les régions tropicales et subtropicales (Diem et Dommergues, 1990). Il peut être utilisé pour la restauration et la valorisation de superficies de terres salées. La tolérance au sel de ces plantes peut être améliorée en les associant avec des microorganismes symbiotiques tels que les bactéries fixatrices d'azote et les champignons mycorhiziens.

Le casuarina s'adapte aux zones dégradées grâce à de nombreuses propriétés :

- présence d'écailles verticillées cornées qui leur permettent de limiter les pertes d'eau et de s'adapter au stress hydrique ;
- association avec les microorganismes symbiotiques comme les bactéries fixatrices d'azote du genre *Frankia* et les champignons mycorhiziens qui permettent d'améliorer

la nutrition hydrominérale et particulièrement la nutrition azotée et phosphatée (Wang et Qiu, 2006).

Ces propriétés font des Casuarina des plantes pionnières largement utilisées en Agroforesterie, en Sylviculture et dans la réhabilitation des terres dégradées (NRC, 1984 ;Zhong et *al.*, 2010).

## I.9 Caractéristiques principales du genre *Casuarina*

Le *Casuarina* est un genre d'arbre de la famille des Casuarinaceae, ces dernières originaire d'Australie sont des plantes actinorhiziennes (NRC, 1984).

Les plantes de la famille des Casuarinaceae sont répartis en 8 familles ; Casuarinacées, Elaeagnacées, Myricacées, Rhamnacées, Rosacées, Datiscacées, Bétulacées et Coriacées (Wall, 2000). Ces familles sont réparties en 25 genres et comptent environ 290 espèces d'angiospermes (Dawson, 2008 ; Mansour et al, 2014). Les casuarina sont réparties en quatre genres que sont : *Allocasuarina* (Johnson, 1982), *Casuarina* (Johnson, 1988), *Ceuthostoma* (Johnson, 1988) et *Gymnostoma* (Johnson, 1980). Le genre *Casuarina* couvre cinq espèces dont les plus abondantes en Afrique sont les espèces *Casuarina equisetifolia*, *C. glauca* et *C. cunninghamia* (Diagne et al, 2013) .

Ces plantes ont une croissance rapide et peuvent atteindre trois mètres par an (NRC, 1984). Elles jouent un rôle socio-économique très important. Les Casuarinaceae produisent un bois de qualité très dur et dense (densité 0,8 à 1,2) d'où le nom de « Iron Wood » ce qui signifie bois de fer. Ce bois peut être utilisé comme bois de construction, d'ouvrage ou de chauffage. Les aiguilles des filaos sont largement utilisées dans le compost pour l'amélioration de la fertilité des sols (Soumaré, 2004).

Les espèces du genre *Casuarina* sont très tolérantes au sel et sont largement plantées au niveau des zones côtières comme brise vent dans les régions tropicales et subtropicales (Diem et Dommergues, 1990).

### I.9.1 Systématique du *Casuarina*

Sur le plan systématique, le *Casuarina* appartient aux taxons suivants, selon Angiosperm Phylogeny Group (APG III, 2009).

Régne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Hamamelidae

Ordre : Casuarinales

Famille : Casuarinaceae

Genre : *Casuarina*

Espèce : *Casuarina equisetifolia*

- Nom en Français : « Filao »/ « Pin australien»
- Nom en Anglais : « She-oak »/ « Ironwood»



# **Matériel et Méthodes**

### II-Lieu et période d'étude

Notre travail à été réalisé au niveau du laboratoire pédagogique II de microbiologie, au niveau de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou, et au niveau d'une entreprise privée de Recherche & Développement expérimental en Sciences Naturelles situé dans la commune de Draa Ben Khedda (Tizi-Ouzou), durant la période allant du mois Mars au mois d'Août de l'année 2024.

### II-1Matériel

#### II-1-1Matériel biologique

Les plants de *Casuarina* âgés de 02 ans utilisés pour cette étude, proviennent d'une pépinière située au niveau de Draa Ben Khedda. La figure 2 représente l'un des plants de *Casuarina* utilisés.



**Figure 2.** Plant de *Casuarina*

#### II-1-2-Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé dans cette étude est composé d'appareillages, d'outils de laboratoire, de produits chimiques, de réactifs et de milieux de culture (Annexe 1).

## **II-2 Méthodes**

### **II-2-1- Lavage des racines**

Les plants sont mis à tremper dans une cuvette d'eau pendant quelques heures, afin de faciliter la séparation des racines de la terre. L'ensemble du système racinaire est alors lavé sous un léger filet d'eau et une fois que les racines sont propres, elles sont récupérées à l'aide de pinces gardées dans l'eau.

### **II-2-2- Etude morphologique des ectomycorhizes**

Cette étude est effectuée à la loupe binoculaire, elle consiste à relever les caractères comme la forme (ou type de distribution), la couleur de la mycorhize, la présence ou l'absence du mycélium extramatriciel, de cordons et de rhizomorphes.

Selon Boullard (1968) et Agerer (1988), il existe plusieurs types de distributions morphologiques chez les ectomycorhizes : la distribution monopodiale, pyramidale, dichotomique, racémeuse, coralloïde et noduleuse.

### **II-2-3- Etude des endomycorhizes**

Pour l'observation des structures endomycorhiziennes, un traitement des racines est nécessaire. Les racines sont éclaircies et vidées dans une solution de potasse à 10% chauffé au bain-marie pendant plusieurs jours. Après rinçage à l'eau distillée, les racines sont ensuite mises dans une solution de vinaigre blanc durant 5 minutes pour neutraliser la potasse. Les racines sont ensuite colorées à l'encre bleue chauffée au bain-marie pendant 15 minutes. Après un dernier rinçage à l'eau distillée, les racines sont observées au microscope optique au grossissement 100 puis au grossissement 400 dans une goutte de glycérine.

### **II-2-4- Etude des nodules actinorhiziens ou actinorhizes**

Pour l'observation des actinorhizes, des échantillons du système racinaire, lavés délicatement, sont mis dans une boîte de pétrie remplie d'eau et observés à la loupe binoculaire.

### **II-2-5- Etude des bactéries auxiliaires de la mycorhization et caractérisation de souches microbiennes**

Une partie du système racinaire du *Casuarina* contenant la rhizosphère a été utilisée pour la recherche des BAM.

### **II-2-5-1- Préparation des dilutions**

Dix gramme du système racinaire possédant des petites portions du sol ont été pesés. Le tout est mis dans 90 ml d'eau physiologique stérile (Annexe 2), afin de préparer la solution mère. A partir de cette solution, une série de dilution décimale allant jusqu'à la dilution  $10^{-7}$  a été réalisée.

### **II-2-5-2- Ensemencement**

Un ensemencement en nappe en boîte est réalisé en prélevant un volume de 0,1 ml à l'aide d'une micropipette de chaque dilution (de  $10^{-1}$  au  $10^{-7}$ ), puis le volume est étalé sur les boîtes de Pétri correspondantes, contenant de la gélose nutritive (Annexe 2). L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24 heures.

### **II-2-5-3- Isolement des souches**

Après incubation, un choix de colonie qui se distinguent d'un point de vue macroscopique (forme et couleur), à été effectué. Les colonies choisies ont été ensemencées par la méthode des stries avec des pipettes Pasteur stériles, sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose PCA. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24 heures afin d'avoir des colonies pures et bien isolées.

### **II-2-5-4 Examen macroscopique**

Cet examen consiste à visualiser à l'œil nu les colonies obtenues sur la boîte de Pétri après l'incubation, afin de pouvoir déterminer la couleur, la taille, la forme, l'opacité, l'aspect de la surface et du contour.

### **II-2-5-5 Examen microscopique**

#### **a.Observation à l'état frais**

Une goutte de suspension bactérienne préparée, correspondante à chaque colonie isolée, est déposée sur une lame et recouverte par une lamelle afin qu'elle soit observée sous microscope optique au grossissement (G x100) avec de l'huile d'immersion. Ce test a pour but de déterminer la forme des cellules, leurs modes d'arrangements et leurs mobilités.

## **b.Observation à l'état fixé : coloration de Gram**

### ➤ **Préparation des frottis**

Sur des lames en verre propres, une goutte d'eau stérile est déposée avec une colonie par-dessus, le mélange est ensuite fixé par la chaleur du bec Bunsen à environ 40°C.

### ➤ **Coloration de Gram**

Les frottis préalablement préparés sont colorés avec une solution de violet de Gentiane pendant une minute puis rincés, ensuite ils sont recouverts deux fois avec le Lugol pendant 45 secondes. Puis décolorés avec de l'alcool pendant 30 secondes. L'eau du robinet est utilisée pour arrêter la décoloration, et enfin les frottis sont recolorés à la Fuschine pendant une minute puis rincés abondamment à l'eau du robinet. Une fois que les lames sont séchées, elles seront examinées sous microscope optique, à l'aide de l'objectif à immersion (Gx100). Ce test a pour but de déterminer le type de Gram, le type d'association et la morphologie des cellules.

## **II-2-5-6- Galerie biochimique**

➤ **Mise en évidence de la catalase** L'activité catalytique permet la dégradation de l'eau oxygénée en oxygène et en eau. Elle est mise en évidence en émulsionnant une à deux colonies dans une solution d'eau oxygénée à 10 volumes. Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse, traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de l'enzyme à tester

➤ **Mise en évidence du type respiratoire** Ce test permet de déterminer le type respiratoire des bactéries isolées. Il s'effectue dans des tubes contenant une gélose Viande-Foie (VF). La technique consiste à régénérer les tubes au bain Marrie à 100°C pendant 30 minutes, et les maintenir en surfusion à 45°C, pour éliminer toute trace d'oxygène. L'ensemencement se fait par piqure centrale profonde, la pipette est ensuite retirée toute en réalisant les tours des spires. Un refroidissement immédiat des tubes et une incubation à 37°C pendant 24 heures sont réalisés. La zone de développement des bactéries décrit leur type respiratoire.

➤ **Caractère Mannitol-Mobilité** Le milieu Mannitol-Mobilité permet de déterminer la dégradation du mannitol et la mobilité d'une souche. La mobilité est mise en évidence par la diffusion des bactéries à partir de la ligne d'ensemencement, en créant un trouble. La dégradation du mannitol conduit à une acidification du milieu (virage au jaune). La

souche à tester estensemencée par piqure centrale avec une pipette Pasteur stérile puis incubé à 37°C pendant 24 heures.

### ➤ **Métabolisme glucidique**

#### **1) Type de métabolisme (oxydative et fermentaire)**

Les bactéries peuvent utiliser les glucides par deux voies métaboliques : oxydative et fermentaire.

On ensemence sur MEVAG (Milieu d'Etude des Voies d'Attaque des Glucides) deux tubes par piqure centrale la colonie à tester, l'un des tubes doit être recouvert d'huile de vaseline pour créer l'anaérobiose puis on incube à 37°C pendant 24 heures.

Lorsqu'il s'agit d'un métabolisme oxydatif, il y'aura une acidification (virage au jaune) dans le tube sans la vaseline, et lorsqu'il s'agit d'un métabolisme fermentaire, il y'aura une acidification rapide dans les deux tubes, et lorsque y'a pas de changement de couleur dans les deux tubes, la bactérie est dite inactive ou non acidifiante et donc un métabolisme inerte.

#### **2) Métabolisme glucidique (Test VP et RM)**

Ce test consiste à étudier les produits terminaux de la glycolyse, afin de distinguer entre la fermentation acides mixtes (test au Rouge de Méthyle) et la fermentation butylène glycolique (test de Voges Proskauer).

La souche bactérienne à étudier est ensemencer sur le milieu Clarck et Lubs et incubé par la suite pendant 24 heures à 37°C. Après l'incubation le contenu doit être répartis en 2 autres tubes : l'un servira à la recherche des acides mixtes et l'autre à la recherche de l'acétoïne. Deux gouttes de rouge de méthyle RM et quelques gouttes des réactifs VPI et VPII sont ajoutées à chaque tube.

Lors de la lecture si le milieu vire vers le rouge, la souche est RM+, et si la réaction se traduit par un virage du milieu au rouge, la souche est VP+.

#### **3) Dégradation des sucres, production d'H<sub>2</sub>S et de gaz sur TSI (Triple Sugar Iron)**

Le milieu TSI permet l'étude de la fermentation de 3 sucres (glucose, lactose et saccharose), ainsi la production d'H<sub>2</sub>S et de gaz.

La technique consiste à ensemencer par piqure centrale et par stries la pente puis incubé à 37°C pendant 24 heures, avec capsules desserrées de manière à favoriser les échanges gazeux. Si la pente vire au jaune : la souche et lactose + et/ou saccharose +. Si le culot vire au jaune. La souche est glucose +. S'il ya décollement de la gélose : la souche est Gaz +. S'il y a noircissement du milieu dans la zone joignant le culot à la pente : la souche est H<sub>2</sub>S +.

- **Nitrate réductase** La nitrate réductase est capable de catalyser la réaction de réduction de Nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) en Nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ) et chez certaines bactéries en azote ( $\text{N}_2$ ). Une culture est réalisé dans un bouillon nitrate et incubée à  $37^\circ\text{C}$  pendant 24h. Au moment de la lecture quelques gouttes des réactifs de Griess NRI (acide sulfanilique) et NRII (a naphtylamine). En absence de nitrites, la disparition des nitrates est recherchée par addition de poudre de zinc qui va venir réduire les nitrates en nitrites (épreuve de zobell).Le virage immédiat de la couleur jaune au rouge indique que la souche est nitrate réductase positive stade  $\text{NO}_2^-$ , si le milieu reste inchangé (jaune), on ajoute alors de la poudre de zinc, s'il devient rouge le test est négatif, inchangé donc la souche est nitrate réductase positive (stade  $\text{N}_2$ ) .
- **Métabolisme des acides organiques (Citrates perméase)** Le milieu citrate de Simmons ne contient qu'une seule source de carbone qui est le citrate sous la forme de citrate de sodium. Seules les bactéries possédant l'enzyme citrate perméase sont capables de se développer sur ce milieu. L'utilisation du citrate de sodium se traduit par une alcalinisation du milieu. La technique consiste à ensemencer en surface par stries serrées et longitudinales la pente du milieu à l'aide d'une pipette chargée de la souche à étudier puis incubé à  $37^\circ\text{C}$  pendant 24 heures. Le virage de l'indicateur au bleu indique une alcalinisation du milieu donc la présence de l'enzyme :bactérie citrate positif.

# Résultats

### I-Résultats

L'observation de tous les échantillons de racines révèle la coexistence d'ectomycorhizes d'endomycorhizes et de nodules actinorhiziens ou actinorhizes.

### III-1-Les ectomycorhizes

Plusieurs morphotypes ont été observés sur les racines des plants de Casuarina (figure 3).

#### Morphotype 1

C'est une ectomycorhize simple et longue. De couleur marron, elle présente un mycélium extramatriciel abondant formé d'hyphes blancs situés surtout à l'extrémité de la mycorhize (figure 3 a).

#### Morphotype 2

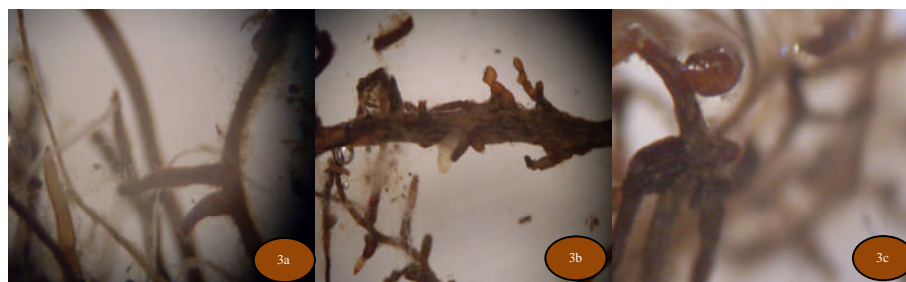
Cette mycorhize est simple de couleur blanche. Le mycélium extramatriciel est peu abondant (figure 3 b).

#### Morphotype 3

Cette ectomycorhize est simple et longue. Elle présente un mycélium extramatriciel blanc très abondant. Il est formé d'hyphes longs, très serrés et fins (figure 3 b à gauche de la photo).

#### Morphotype 4

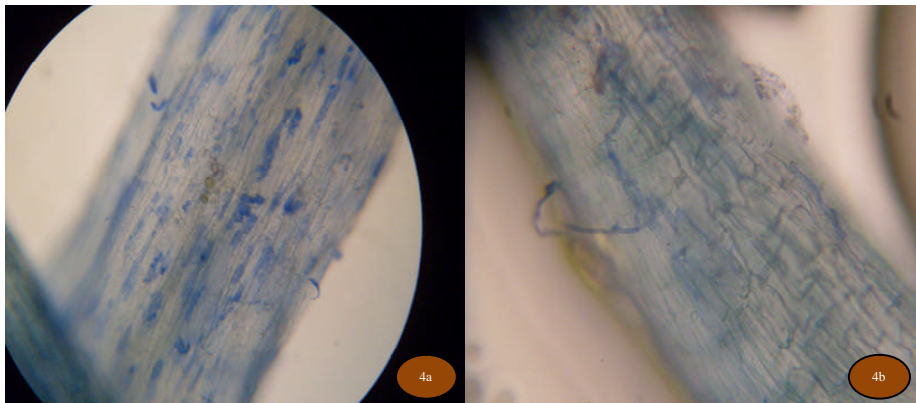
Cette mycorhize est simple et courte. De couleur marron elle présente un mycélium extramatriciel faible, il est formé d'hyphes fins et courts (figure 3 c).



**Figure 3.** Les différentes ectomycorhizes observées

### III-2-Les endomycorhizes

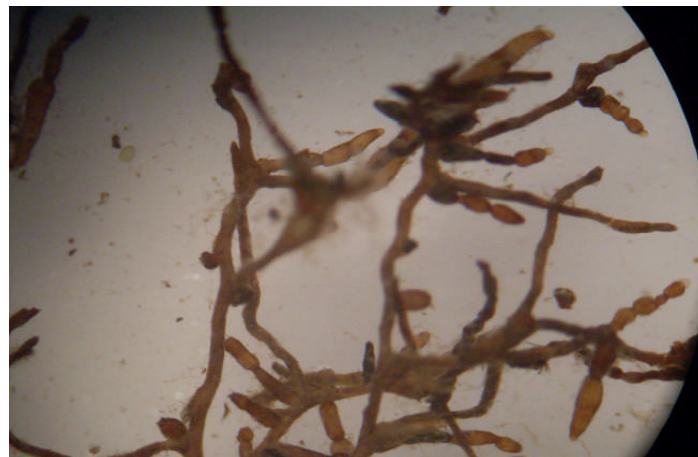
Les racines des *Casuarina* observées présentent diverses structures endomycorhiziennes. Nous avons noté la présence de vésicules ovales intracellulaires (figure 4 a). Des hyphes assez gros ont été observés. Ils sont septés et intercellulaires (figure 4 b). Ces mêmes hyphes pénètrent dans les cellules corticales.



**Figure 4.** Les différentes structures endomycorhiziennes observées chez le *Casuarina*

### III-3-Les nodules actinorhiziens ou actinorhizes

La figure 5 illustre les différents nodules observés sur les systèmes racinaires du *Casuarina*.



**Figure 5.** Les différents nodules actinorhiziens observés chez le *Casuarina*

### III-4- Caractérisation des BAM

Sur l'ensemble des 06 boîtes de Petri correspondantes aux dilutions allant de  $D10^{-1}$  jusqu'à  $D10^{-7}$ , le choix de souches a été effectué à partir des 07 dilutions. Les souches prélevées des dilutions ont été numérotées.

Le nombre de souches choisies destinées à l'ensemencement était de 09.

#### III-4-1-Caractères cultureux

Après 24 heures d'incubation à  $37^{\circ}\text{C}$  des souches ré-isolées, 09 souches ont été développées sur le milieu gélose PCA. La figure 6 illustre l'aspect et la couleur des souches obtenues.

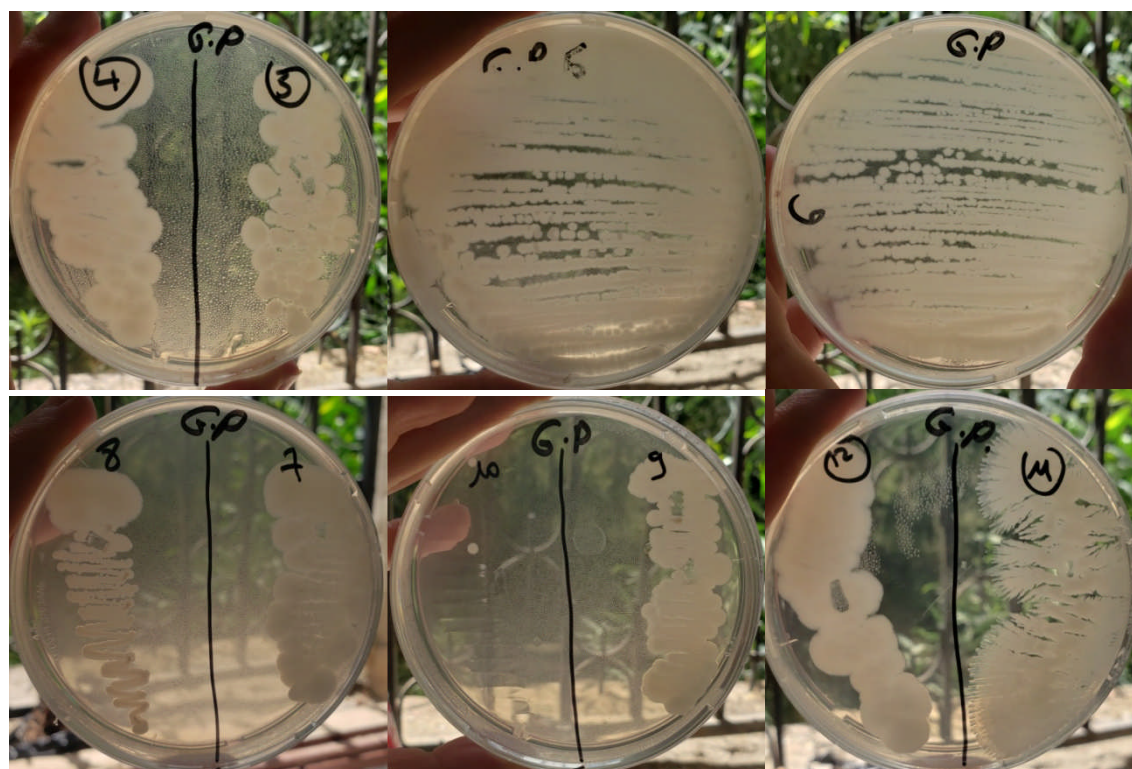


Figure 6. Aspects morphologiques des souches ré-isolés

#### III-4-2-Observation macroscopique des souches isolées

Les résultats de l'étude macroscopique des souches sont présentés dans le tableau I.

Tableau I. Aspect macroscopique des souches

Souches	Forme	Relief	Couleur	Consistance	Opacité
3	Ronde à contour régulier	Convexe	Blanche	Crémeuse	Opaque

4	Ronde à contour irrégulier	Convexe	Blanche	Muqueuse	Translucide
5	Ronde à contour irrégulier	Bombée	Blanche brillante	Crémeuse	Opaque
6	Rhizoïde à contour irrégulier	Plane	Blanche	Muqueuse	Translucide
7	Ronde à contour irrégulier	Convexe	Crème	Muqueuse	Opaque
8	Ronde à contour régulier	Convexe	Crème, brillante	Crémeuse	Translucide
9	Contour irrégulier	Bombée	Blanche	Crémeuse	Opaque
11	Bords dentelés	Convexe	Blanche, brillante	Crémeuse	Translucide
12	Ronde à contour régulier	Convexe	Blanche	Crémeuse	Opaque

### III-4-3-Etude microscopique des souches

#### III-4-3-1 Observation à l'état frais

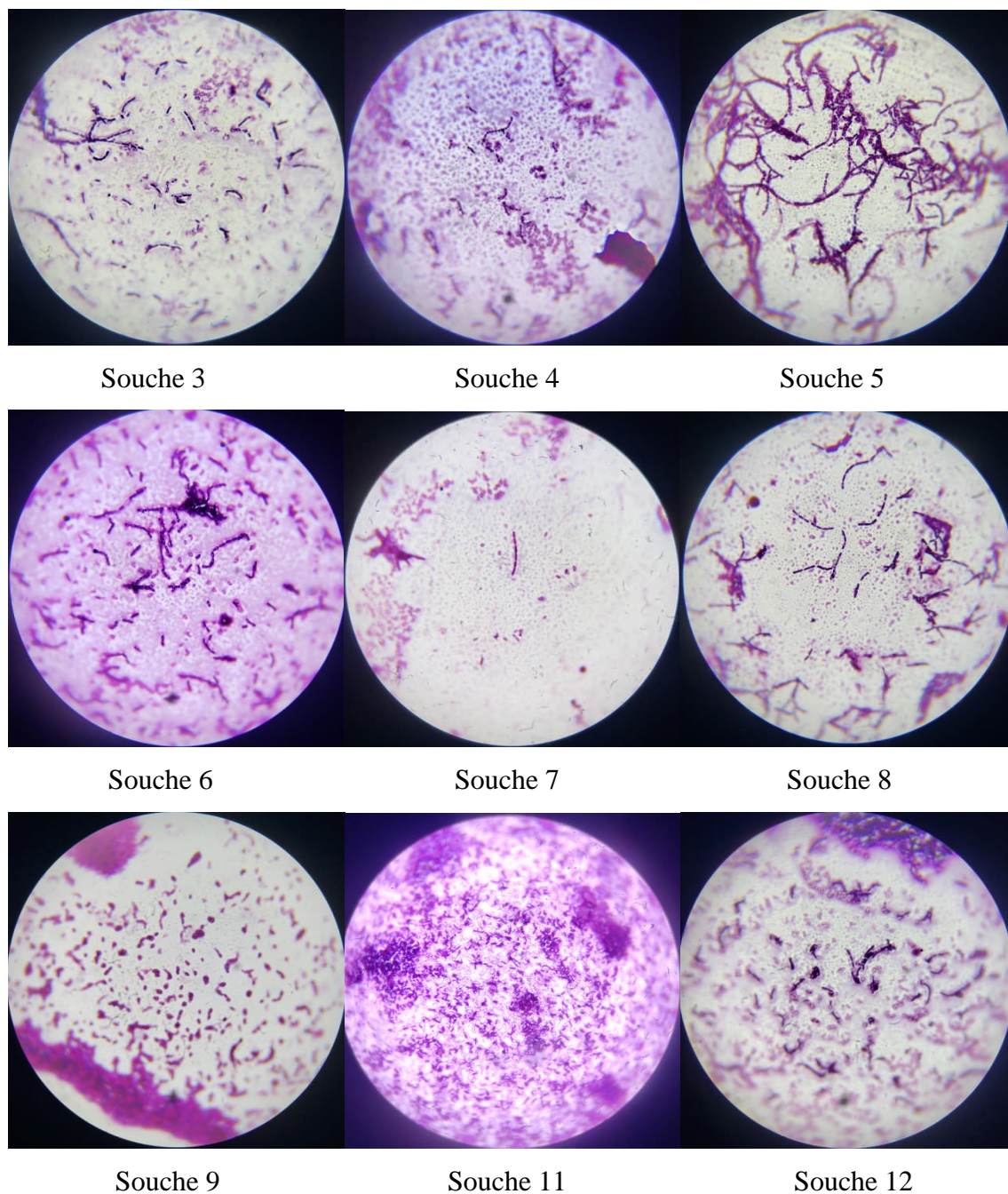
Les résultats de l'observation à l'état frais au (Gx100) avec l'huile d'immersion, sont présentés dans le tableau II.

**Tableau II.** Résultats de l'observation à l'état frais des souches

Souches	Forme	Mode d'arrangement	Mobilité	Spores
3	Bâtonnets	En chainettes	Mobile	Présentes
4	Bâtonnets	Streptobacille en chainettes	Mobile	Présentes
5	Bâtonnets	Streptobacille en chainettes	Mobile	Présentes
6	Bâtonnets	En chainettes	Mobile	Présentes
7	Bâtonnets	En chainettes	Mobile	Présentes
8	Bâtonnets	En chainettes	Mobile	Présentes
9	Bâtonnets	Isolés	Mobile	Présentes
11	Bâtonnets	Isolés	Mobile	Présentes
12	Bâtonnets	Chainettes	Mobile	Présentes

**III-4-3-2-Observation à l'état fixé : coloration de Gram**

La coloration de Gram était positive (Gram +) pour l'ensemble des souches. La figure 7 illustre les résultats de la coloration de Gram observés sous microscope optique au (Gx100) avec l'huile d'immersion.



**Figure 7.** Résultats de la coloration de Gram

### III-4-3-3-Galerie biochimique

Les résultats de l'ensemble des tests biochimiques réalisés sont présentés dans le tableau suivant.

**Tableau III.** Résultats des tests de la galerie biochimique

Souches	Catalase	Type respiratoire	Mannitol	Mobilité	Citrate perméase	Nitrate	VP	RM
<b>3</b>	+	Aero-anaérobie facultatif	+	+	+	+	-	+
<b>4</b>	+	Aero-anaérobie facultatif	+	+	+	+	+	+
<b>5</b>	+	Aero-anaérobie facultatif	+	+	+	+	+	+
<b>6</b>	+	Aero-anaérobie facultatif	+	+	+	+	+	+
<b>7</b>	+	Aero-anaérobie facultatif	+	+	+	+	+	+
<b>8</b>	+	Aero-anaérobie facultatif	+	+	+	-	+	+
<b>9</b>	+	Aero-anaérobie facultatif	+	+	+	-	-	+
<b>11</b>	+	Aero-anaérobie facultatif	+	+	+	-	+	+
<b>12</b>	+	Aero-anaérobie facultatif	+	+	+	+	+	+

+) Résultat positif, -) Résultats négatif.

Les résultats du test de dégradation des sucres, production d'H<sub>2</sub>S et de gaz sur TSI (Triple Sugar Iron) sont présentés dans le tableau suivant.

**Tableau IV.** Résultats du test de dégradation des sucres, production d'H<sub>2</sub>S et de gaz sur TSI (Triple Sugar Iron)

Souches TSI	Saccharose/ Lactose	Glucose	H <sub>2</sub> S	Gaz
<b>3</b>	+	+	-	-
<b>4</b>	+	+	-	-
<b>5</b>	+	+	-	-
<b>6</b>	+	+	-	-
<b>7</b>	-	+	-	-
<b>8</b>	-	+	-	-
<b>9</b>	+	+	-	-
<b>11</b>	+	+	-	-
<b>12</b>	+	+	-	-

+) Résultat positif, -) Résultat négatif.

# **Discussion et conclusion**

### II-Discussion et conclusion

Le *Casuarina equisetifolia* joue un rôle important en raison de ces relations symbiotiques avec les champignons mycorhiziens et les bactéries du genre *Frankia*. Ces micro-organismes augmentent la croissance et le développement des plantes (Zhong et al., 2010 ; Yang et Paszkowski, 2011). Ils améliorent également la disponibilité des nutriments en particulier le phosphore et l'azote pour la plante hôte et, en retour, ils bénéficient des glucides végétaux issus de la photosynthèse (He et Critchley, 2008 ; Smith et Read, 2008).

Les études effectuées sur le *Casuarina equisetifolia*, un arbre appartenant à la famille des Casuarinaceae, révèlent sa capacité à former des associations symbiotiques diversifiées, incluant à la fois les endomycorhizes, les ectomycorhizes et les nodules fixateurs d'azote. Cette recherche met en lumière une triple symbiose au sein de cette espèce.

Les différents morphotypes observés, reflètent la diversité des champignons mycorhiziens. Ces résultats sont compatibles avec les résultats de Lopez-Aguillon (1986), qui signale que plusieurs champignons mycorhiziens peuvent coexister sur un même système racinaire sans qu'il y ait forcément une compétition entre eux.

Nos résultats, qui ont montré une triple symbiose chez le *Casuarina*, sont en accord avec les observations de Molina et al. (1992), Taylor et al. (2000), Dahlberg. (2001) et Bruns et al. (2002), selon lesquels dans les écosystèmes forestiers, une espèce d'arbre peut héberger plusieurs espèces de champignons, voire plusieurs genres de la même espèce, et une espèce de champignons peut coloniser plusieurs espèces d'arbres.

Les recherches de Wang et Qiu (2006), montrent que le *Casuarina* peut bénéficier de la présence de différentes symbioses pour optimiser l'acquisition de nutriments et la fixation de l'azote, soutenant ainsi l'idée de la triple symbiose.

Néanmoins, les études de Kennedy (2010), montrent que lorsque plusieurs champignons mycorhiziens se trouvent sur un même site ou un même système racinaire, la croissance de certains d'entre eux diminue par des mécanismes de compétition.

Chez certaines plantes, le partenariat avec les micro-organismes est absolument indispensable et leur développement est totalement compromis en leur absence ; pour d'autres, ces partenariats améliorent la croissance et l'adaptation de la plante sans être totalement indispensables (Strullu 1991). D'une manière générale, la dépendance des plantes vis-à-vis des micro-organismes est variable en fonction des taxa considérés, mais également en fonction des contraintes environnementales et des différents stades de développement de la plante.

Les bactéries auxiliaires de la mycorhization jouent un rôle crucial dans la promotion et le soutien des interactions mycorhiziennes. Elles favorisent la colonisation des racines par les champignons mycorhiziens, améliorant ainsi l'efficacité de la symbiose. De plus, les BAM peuvent renforcer la santé des racines en réduisant les effets des pathogènes et en stimulant la croissance des biomasses mycorhiziennes. Leur présence contribue globalement à une meilleure adaptation des plantes aux conditions environnementales difficiles (Garbaye, 2013). Notre étude de caractérisation des souches microbiennes de la rhizosphère nous a permis d'identifier des bactéries présentant diverses caractéristiques biochimiques.

Les souches bactériennes isolées dans cette étude se caractérisent toutes par une coloration Gram positive et la présence de spores, ce qui suggère qu'elles appartiennent au groupe *Bacillus*. En effet, les espèces du genre *Bacillus* sont bien connues pour leur capacité à former des spores résistantes, un trait qui les distingue de nombreuses autres bactéries. Cette observation est en accord avec les caractéristiques classiques décrites par des auteurs comme *Harwood et Cutting* (1990), qui mentionnent que la formation de spores est une caractéristique clé des *Bacillus* sp.

La présence de formes rhizoïdes et de contours irréguliers dans les colonies référencées renforce l'hypothèse que les isolats pourraient appartenir à un genre d'actinomycètes. En effet, cette morphologie est fréquemment observée chez les *Streptomyces*, qui présentent une croissance filamenteuse caractéristique et des colonies à bords irréguliers, souvent rhizoïdes, comme l'ont décrit Goodfellow et al (2012).

Ces caractéristiques biochimiques de ces bactéries peuvent agir et induire des effets positifs sur la symbiose mycorhizienne.

Une étude effectuée par Bending et al. (2002) a révélé que certaines bactéries mycorhizosphériques associées à *Pinus sylvestris*, exercent une action inhibitrice sur la croissance et la colonisation des racines, alors que d'autres ont considérablement amélioré la croissance des plantes, sans toutefois influencer la colonisation racinaire par les mycorhizes et d'autres ont considérablement favorisées la multiplication d'ectomycorhizes. De ce fait, on peut dire que les communautés microbiennes peuvent avoir diverses actions sur le développement et la répartition des mycorhizes dans la rhizosphère.

La triple symbiose chez le *Casuarina equisetifolia* ouvre des perspectives intéressantes pour la transition vers une agriculture durable. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour comprendre les mécanismes mis en jeu et les conditions écologiques qui favorisent ou limitent ces interactions symbiotiques complexes.

Des recherches plus approfondies, telles que des études moléculaires, sont nécessaires pour identifier les bactéries isolées et les souches des champignons mycorhiziens.

# **Références bibliographiques**

**A**

**Allen M. F., 1992.** Mycorrhizal Functioning. Chapman Hall, New York.

**B**

**Brundrett, M. C., 1991.** Mycorrhizas in natural ecosystems. *Advances in Ecological Research*, 21, 171–213

**Bülent Okur, Nesrin Örcen, 2020.** Chapter 12 - Soil Salinization and Climate Change, in *Climate Change and Soil Interactions*, Elsevier, p. 331–350

**BENDING G. D., POOLE E. J., WHIPPS J. M., READ D. J., 2002** – Characterisation of bacteria from *Pinus sylvestris*-*Suillus luteus* mycorrhizas and their effects on root-fungus interactions and plant growth. *FEMS Microbiology and Ecology*, 39 : 219-227

**BRUNS T. D., BIDARTONDO M. I., TAYLOR D. L., 2002** – Host specificity in ectomycorrhizal communities: what do the exceptions tell us? *Integrative and Comparative Biology*, 42 : 352-359.

**C**

**Corkidi, L., Rincón, E., 1997.** Arbuscular mycorrhizae in a tropical sand dune ecosystem on the Gulf of Mexico. I. Mycorrhizal status and inoculum potential along a successional gradient. *Mycorrhiza*, 7, 9–15.

**D**

**Dalgaard, T., Hutchings, N. J., & Porter, J. R. (2003).** Agroecology, scaling and interdisciplinarity. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 95(1-3), 19-29

**Dance, A., 2008.** "What lies beneath." *Nature*, 455 (9): 724–726.

**Dawson, J. O., 2008.** The ecology of actinorhizal plants in Nitrogen-fixing actinorhizal symbioses. In: Pawlowski, K., Newton, W. E. (Eds.), *Nitrogen Fixation: Applications and Research Progress*. Springer-Verlag, Dordrecht, The Netherlands, vol. 6, pp. 199-234.

- Duponnois, R., Hafidi, M., Ndoye, I., Ramanankierana, H., Bâ, A., 2013.** Des champignons symbiotiques contre la désertification. IRD Editions, Marseille, 55: 20-33.
- Duhoux, E., Diouf, D., Gherbi, H., Franche, C., Ahee, J., Bogusz, D., 1996.** Le nodule actinorhizien. Acta Bot. Gall., 143: 593-608.
- Duhoux, E., Nicole, M., 2004.** Association et interaction chez les plantes. Ed. Dunod, 93, 18-80.
- Duponnois, R., 1992.** Les bactéries auxiliaires de la mycorhization du Douglas (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) par *Laccaria laccata* souche S238. Thèse, Université Nancy I, France.
- Diem, H. G., Dommergues, Y. R., 1990.** Current and potential uses and management of Casuarinaceae in the tropics and subtropics. In: Schwintzer, C. R., Tjepkema, J. D. (Eds.), *The Biology of Frankia and Actinorhizal Plants*. Academic Press, New York, pp. 317-342.
- Diagne, N., Diouf, D., Svistoonoff, S., Kane, A., Noba, K., Franche, C., Bogusz, D., Duponnois, R., 2013b.** Casuarina in Africa: Distribution, role and importance of arbuscular mycorrhizal, ectomycorrhizal fungi and Frankia on plant development. *Journal of Environmental Management*, 128: 204-209.
- DAHLBERG A., 2001** – Community ecology of ectomycorrhizal fungi: an advancing interdisciplinary field. *New Phytologist*, 150 : 555-562.
- F**
- Fortin, A., Plenchette, C., Piché, Y., 2008.** Les mycorhizes: la nouvelle révolution verte. Édition Multi Mondes Quac. (Eds.), Quebecs, 131p.
- Fortin, A., Plenchette, C., Piché, Y., 2011.** Les mycorhizes: la nouvelle révolution verte. Éditions Multimondes et Éditions QUAE.

**G**

**Garbaye, J., 2013.** La symbiose mycorhizienne. Une association entre les plantes et les champignons. Édition Quae, 251p.

**Goodfellow, M., et al. (2012).** « Actinomycètes : la dimension microbienne de l'écologie fongique. » *Antonie van Leeuwenhoek* , 101(1), 27-44.

**H**

**Halse, S. A., Ruprecht, J. K., Pinder, A. M., 2003.** Salinisation and prospects for biodiversity in rivers and wetlands of south-west Western Australia. *Australian Journal of Botany*, 51(6), 673-688

**Harwood, CR, et Cutting, SM (1990).** Méthodes de biologie moléculaire pour *Bacillus* . Wiley-Blackwell.

**He, X. H., & Critchley, C. (2008).** Nodulation de *Frankia*, mycorhization et interactions entre *Frankia* et les champignons mycorhiziens dans les plantes *Casuarina*. *Mycorrhize*, 3, 767-781.

**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.

**J**

**Johnson, L.A.S. (1980).** Notes on Casuarinaceae I. *Telopea*, 2, 83-84.

**Johnson, L.A.S. (1982).** Notes on Casuarinaceae II. *Journal of Adelaide Botanic Gardens*, 6, 73-87.

**Johnson, L.A.S. (1988).** Notes on Casuarinaceae III: The new genus *Ceuthostoma*. *Telopea*, 3, 133-137

**K**

**Kennedy, P. (2010).** Ectomycorrhizal fungi and interspecific competition: species interaction, community structure, coexistence mechanisms, and future research directions. *New Phytologist*, 187, 895-910.

**L**

**Le Tacon, F. (1985).** Principaux types mycorhiziens actuels représentés sur une coupe transversale de racine. INRA Nancy - La Recherche, n° 166, mai 1985

**Li, C.Y., Massicote, H.B., & Moore, L.V.H. (1992).** *Plant and Soil*, 140, 35-40.

**Lopez-Aguillon, A. (1986).** Association of Mycorrhizal Fungi with *Casuarina equisetifolia*. *Mycorrhiza*, 1(2), 119-125.

**M**

**Manchanda, G., & Garg, N. (2007).** Endomycorrhizal and rhizobial symbiosis: How much do they share? *Journal of Plant Interactions*, 2, 79–88.

**Marschner, P., & Rengel, Z. (2007).** *Nutrient Cycling in Terrestrial Ecosystems*. T. 10.

**Mansour, S.R., Oshone, R., Hurst, S.G. IV, Morris, K., Thomas, W.K., & Tisa, L.S. (2014).** Draft genome sequence of *Frankia* sp. strain CcI6, a salt-tolerant nitrogen-fixing actinobacterium isolated from the root nodule of *Casuarina cunninghamiana*. *Genome Announcement*, 2(1), e01205-13.

**MOLINA, R., MASSICOTTE H., TRAPPE J.-M., 1992** – « Specificity phenomena in mycorrhizal symbioses: community-ecological consequences and practical implications ». In Allen M. F. (ed.) : *Mycorrhizal functioning : an integrative plant-fungal process*, New York, Chapman and Hall : 357-423.

**N**

**Neumann G, Martinoia E (2002).** Cluster roots-an underground adaptation for survival in extreme environments. *Trends in Plant Science*. 7: 162–167.

**Nezzar-Hocine H., 1998.** Associations mycorhiziennes naturelles de *Cedrus atlantica* dans le massif du Djurjura (Algérie) et mycorhization contrôlée. Thèse de doctorat en Biologie et Physiologie végétale, UNV Blaise Pascal, France. 479P

**P**

**Plassard C, Chalot M, Botton B, Martin F (1997).** Revue forestière française 49 (sp), 82-98, 1997.

**S**

**Sánchez, J. M., Corbacho, C., & Costillo, E. (2003).** Patterns of structural complexity and human disturbance of riparian vegetation in agricultural landscapes of a Mediterranean area. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 95(2-3), 495-507.

**Sikorski, J. (2015).** The prokaryotic biology of soil. *Soil Organisms*, 87(1), 1–28.

**SMITH S., READ J., 2008** – Mycorrhizal Symbiosis. Ed. Hardcover, 800 p

**Soumaré, M.D., Mnkeni, P.N.S., & Khouma, M. (2004).** Effects of ramial chipped wood and litter compost of *Casuarina equisetifolia* on tomato growth and soil properties in Niayes, Senegal. In: Bationo, A. (Ed.), *Managing Nutrient Cycles to Sustain Soil Fertility in Sub-Saharan Africa*. Triscope Consulting Publishers, p. 502.

**St-Arnaud M., Hamel C., Vimard B., Caron M. et Fortin J.A., 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 Soil Science*. 54: 725-733.

**Strullu J.A. 1991.** Les mycorhizes des arbres et plantes cultivées. Lavoisier, Paris.254p

**T**

**TAYLOR A. F. S., MARTIN F., READ D. J., 2000** – « Fungal diversity in ectomycorrhizal communities of Norway spruce (*Picea abies* [L. ] Karst.) and Beech (*Fagus sylvatica* L.) along North-South transects in Europe ». In Schulze E. D. (ed.) : *Carbon and nitrogen cycling in European forest ecosystems*, Heidelberg, Springer-Verlag, Ecological studies series, 142 :

344-365.

**Tilman, D. (2019).** Biodiversité et agriculture. Dans *Résilience agricole* (pp. 39-59).

**V**

**Van der Heijden, M.G.A., & Sanders, I.R. (2002).** *Mycorrhizal Ecology* (Eds). Springer.

**W**

**Wall, L.G. (2000).** The Actinorhizal Symbiosis. *Journal of Plant Growth Regulation*, 19, 167–182.

**Wang, B., & Qiu, Y.L. (2006).** Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhiza in land plants. *Mycorrhiza*, 16, 299–363.

**Wang, G.M., Stribley, D.P., Tinker, P.B., & Walker, C. (1993).** Effects of pH on arbuscular mycorrhiza I. Field observations on the long-term liming experiments at Rothamsted and Woburn. *New Phytologist*, 124, 465–472

**Y**

**Yang, S., & Paszkowski, U. (2011).** Organisation phylogénétique des gènes de symbiose mycorhizienne arbusculaire liés au transport du phosphate dans les plantes. *Physiologie Végétale*, 155(4), 2081-2095

**Z**

**Zhang, Y., Zhong, C.L., Chen, Y., Chen, Z., Jiang, Q.B., Wu, C., & Pinyopusarerk, K. (2010).** Improving drought tolerance of *Casuarina equisetifolia* seedlings by arbuscular mycorrhizas under glasshouse conditions. *New Forest*, 40, 261–271

**Annexe01:**  
**Matériel non biologique**

**Tableau I: Appareillages et outils de laboratoires**

<b>Appareillages</b>	<b>Outilsde laboratoire</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Microscope optique</li> <li>• Bec Bunsen</li> <li>• Bain Marrie</li> <li>• Agitateur</li> <li>• Balancede précision</li> <li>• Pipettes Pasteur</li> <li>• Micropipette</li> <li>• Embouts stériles</li> <li>• Étuve d'incubation</li> <li>• Autoclave</li> <li>• Réfrigérateur</li> <li>• Vortex</li> <li>• Loupe binoculaire</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• BoitesdePetri</li> <li>• Lames</li> <li>• Lamelles</li> <li>• Becher</li> <li>• Erlenmeyer</li> <li>• Eprouvettegraduée</li> <li>• Pincés</li> <li>• Pissette</li> <li>• Portoir</li> <li>• spatule</li> <li>• Tubesstériles</li> <li>• Flaconsstériles</li> <li>• Grandesboites de Petrienverre</li> <li>• Ciseaux</li> </ul>

**Tableau II :Produits chimiques, réactifs et milieux de culture.**

<b>Produits chimiques et réactifs</b>	<b>Milieux de culture</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Violet de Gentiane, Alcool</li> <li>• Fuschine, Huile d'immersion</li> <li>• Eau oxygénée, Eau distillée stérile</li> <li>• Eau physiologique, Amidon, Lugol(I2)</li> <li>• Agar, Formol, Acide propionique</li> <li>• Ethanol à70%, Encrebleu</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Milieu Mannitol- Mobilité</li> <li>• Milieu Citrate de Simmons</li> <li>• Milieu Clarck et Lubs</li> <li>• Milieu MEVAG</li> <li>• Milieu TSI</li> <li>• Mileu viande foie</li> <li>• Milieu bouillon nitraté</li> </ul>

**Annexe 02:****Composition de solutions et milieux de culture utilisés**✓ **Eau physiologique stérile**

- Chlorure de sodium(Na Cl)..... 2,7g
- Eau distillée Qsp..... 300mL
- pH=7

✓ **Gélose nutritive**

- Eau distillée stérile Qsp... 180mL
- Extrait de viande ..... 0,18g
- Extrait de levure.....0,45g
- Peptone ..... 0,9g
- Chlorure de sodium ..... 0,9g
- Agar-agar ..... 2,7g
- pH=7

## ملخص

تلعب *Casuarina equisetifolia* دورًا رئيسيًا في النظم البيئية من خلال تعايشها مع الفطريات الفطرية و *Frankia*، مما يحسن امتصاص العناصر الغذائية، ولاسيما النيتروجين والفوسفور. تسلط دراستنا الضوء على التعايش الثلاثي في الكازوارينا، مع الجذور الفطرية الخارجية، و الجذور الفطرية الداخلية، و العقيدات الجذرية الشعاعية. وقد لوحظت أشكال مختلفة من الجذور الفطرية الخارجية و الهياكل والعقيدات الفطرية الداخلية. تم عزل تسع سلالات بكتيرية، كلها لا هوائية موجبة الجرام و اختيارية، و بعضها أظهر خصائص كيميائية حيوية محددة. ويعمل هذا التنوع التكافلي، دون منافسة بين الفطريات، على تحسين التغذية و تثبيتا لنيتروجين، مما يفتح آفاقًا للزراعة المستدامة. ولا تزال هنا حاجة إلى إجراء أبحاث جزيئية متعمقة لفهم هذه التفاعلات بشكل أفضل.

**الكلمات المفتاحية** *Casuarina equisetifolia* :، التعايش الفطري الجذري، التعايش الفطري الجذري، عقيدات الفطر الجذري، الفطريات الجذرية الخارجية، الفطريات الجذرية الداخلية، البكتيريا المساعدة في التكاثر الفطري الجذري

## Résumé

*Casuarina equisetifolia* joue un rôle clé dans les écosystèmes grâce à ses symbioses avec des champignons mycorrhiziens et des bactéries *Frankia*, améliorant l'absorption des nutriments, notamment l'azote et le phosphore. Notre étude met en évidence une triple symbiose chez *Casuarina*, avec des ectomycorhizes, des endomycorhizes et des nodules actinorhiziens. Différents morphotypes d'ectomycorhizes, des structures endomycorhiziennes et des nodules ont été observés. La caractérisation des bactéries auxiliaires de la mycorrhization a permis d'isoler neuf souches bactériennes, montrant des propriétés métaboliques spécifiques. Cette diversité symbiotique, sans compétition entre les champignons, optimise la nutrition et la fixation de l'azote, ouvrant des perspectives pour une agriculture durable. Des recherches moléculaires approfondies sont encore nécessaires pour mieux comprendre ces interactions.

**Mots clés :** *Casuarina equisetifolia*, Symbiose mycorrhizienne, Symbiose actinorhizienne, Nodules actinorhiziens, Ectomycorhize, Endomycorhize, Bactéries auxiliaires de la mycorrhization.

## Abstract

*Casuarina equisetifolia* plays a key role in ecosystems through its symbioses with mycorrhizal fungi and *Frankia* bacteria, improving nutrient uptake, including nitrogen and phosphorus. Our study highlights a triple symbiosis in *Casuarina*, with ectomycorrhizae, endomycorrhizae and actinorhizal nodules. Different morphotypes of ectomycorrhizae, endomycorrhizal structures and nodules were observed. The characterization of the auxiliary bacteria of mycorrhization allowed the isolation of nine bacterial strains, showing specific metabolic properties. This symbiotic diversity, without competition between fungi, optimizes nutrition and nitrogen fixation, opening perspectives for sustainable agriculture. In-depth molecular research is still needed to better understand these interactions.

**Keywords :** *Casuarina equisetifolia*, Mycorrhizal symbiosis, Actinorhizal symbiosis, Actinorhizal nodules, Ectomycorrhiza, Endomycorrhiza, Auxiliary bacteria of mycorrhization.