

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE 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 des Sciences Biologiques



# MÉMOIRE



De fin d'études en vue de l'obtention de Diplôme de Master Académique  
En Sciences Biologiques  
Option: Génétique et Amélioration des végétaux

## THÈME:

*ETUDE DE LA DIVERSITÉ DES MYCORHIZES  
ARBUSCULAIRES CHEZ L'ESPÈCE ALLIUM  
TRIQUETRUM (AIL TRIQUÈTRE) DANS LA  
RÉGION DE DRAA EL MIZAN*

Réalisé par:

M<sup>elle</sup> Hikem Kahina  
M<sup>elle</sup> Doucene Sonia

Sous la direction de:

Mme Taibi Hassiba

Devant le jury:

Président: M<sup>me</sup> Houchi Aini

Encadreur: M<sup>me</sup> Taibi Hassiba

Examineurs : M<sup>elle</sup> Boutabtoub Ouahiba  
M<sup>elle</sup> Abdelaoui Karima

Maitre de conférence classe « B ».UMMTO

Maitre-assistant classe « A ».UMMTO

Maitre de conférence classe « B ».UMMTO

Maitre-assistant classe « A ».UMMTO

2015/2016

## REMERCIEMENT

Avant tout nous remercieront le bon DIEU de nous avoir mis sur le droit chemin et de nous voir données la force et la patience pour mener terme à notre travail.

Les premiers remerciements vont tout naturellement à M<sup>me</sup> Taibi.H (maître assistante classe A) pour son soutien, ses encouragements, ses conseils, et surtout son humilité. Elle a su motiver, diriger, sa présence continue n'a jamais faillais, son enthousiasme pour les travaux de recherches, sont formateurs et communicatif.

Nous tenons à témoigner notre profonde gratitude à M<sup>me</sup> Houchi (maître de conférence classe B) pour nous avoir accueilli dans son laboratoire durant ces mois, et aussi de l'avoir, fais l'honneur de présider le jury.

Nous remercions M<sup>elle</sup> Abdellaoui (maître assistante classe A), et Melle boutabtoub (maîtres de conférences classe B) pour avoir accepté de jury ce travail.

Nous remercieront zohra l'ingénieur de laboratoire au département d'agronomie pour son extrême gentillesse et son aide précieuse

Nous tenons aussi à remercier nous parents, nous chères frères et sœurs pour leur encouragement durant tout notre cycle d'étude.

Nous ne saurons comment remercier nos chères ami(e)s qui ont été la pour nous et à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, soit assuré de notre profonde reconnaissance.

Figure1 : Schéma d'un fragment de racine rhizosphérique.....	4
Figure2 : Racines de plante entourées d'un réseau mycélien de champignon mycorhizien.....	6
Figure3 : Les différents types de mycorhizes.....	7
Figure4 : Illustration schématique d'une ectomycorhize en vue éclatée.....	8
Figure5 : Schéma d'une endomycorhize.....	9
Figure6 : Culture de champignon mycorhizien associé à woollsiapungens(éricacées).....	10
Figure7 : La structure d'une endomycorhize à vésicule et arbuscule.....	11
Figure8 : Schéma décrivant le mécanisme de pénétration du champignon mycorhizien dans la racine et la formation de l'appareil de pré-pénétration (PPA).....	13
Figure9 : Types de colonisation racinaire chez les champignons mycorhiziens à arbuscules.....	14
Figure10 : Cycle de développement de genre glomus.....	14
Figure11 : Caractéristique morphologique des spores CMA.....	18
Figure12 : Schéma représentatif de l'interaction sol-plante-micro-organisme.....	21
Figure13 : Action des hyphes extraordinaires du champignon.....	23
Figure14 : Le mycorhize(B) explore un plus grand volume de sol que la racine avec ses poils absorbants(A).....	24
Figure15 : Echanges de composés azotés au cours de la symbiose mycorhizienne.....	26
Figure16 : Schéma de la formation d'un agrégat du sol.....	27
Figure17 : L'Allium triquetrum.....	31
Figure 18 : présentation graphiques des différents genres des glomales recensés.....	42

Tableau I : Caractéristiques sommaires des principaux types mycorhiziens.....15

Tableau II : Caractéristiques physicochimiques de sol étudié.....38

Tableau III : Les principales caractéristiques, couleur, formes, et diamètres approximatif des différents types des spores et leur identification.....41

## *Listes des photographies*

---

Photo1 : Conservation et montage des échantillons racinaires colorés au Bleu de Trypan.....	34
Photo2 : Tamis utilisés pour l'extraction des spores .....	35
Photo3 : Destruction de la matière organique et fractionnement granulométrique .....	36
Photo4 : Conductimètre : conductivité électrique des solutions du sol.....	37
Photo5 : Structures spécifiques aux CMA observés sur écrasement racinaire d' <i>Allium triquetrum</i> (en haut coloration du cortex racinaire ; en bas à droite Arbuscules intercellulaires, à gauche présence de vésicules ovales) .....	39
Photo 6 : Spores de <i>Glomus</i> : A morphotype 1 , B morphotype 2, C morphotype 3, D morphotype 4, E morphotype 5, F morphotype 6, G morphotype 7, H morphotype 8, I morphotype 9, J morphotype 10, K morphotype 11, L morphotype 12.....	45
Photo 7 : Spores du genre <i>Acaulospora</i> , A morphotype 1, B morphotype 2, C morphotype 3, D morphotype 4, E morphotype 5 .....	47
Photo 8 : Spores de genre <i>Gigaspora</i> : A morphotype 1, B morphotype 2, C morphotype 3, D morphotype 4, E morphotype 5, F morphotype 6.....	49
Photo 9 : Spore de <i>Dentiscutata</i> .....	50
Photo 10 : Sporocarpe (morphotype A) et une spore morphotype (B )de <i>Diversispora</i> .....	51
Photo 11 : Spore de genre <i>Scutellospora</i> .....	51
Photo 12 : Spore de genre <i>Rhizophagus</i> , A morphotype 1, B morphotype 2 .....	52
Photo 13 : Spore de <i>Septoglomus</i> .....	53

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I : Partie bibliographique</b>	
<b>I. Description des relations sol /plantes micro-organismes.....</b>	<b>3</b>
I.1.la rhizosphère .....	3
I.2.les différents parties de la rhizosphère .....	3
I.3.rôles et importance des interactions plante /microorganismes .....	4
<b>II. Généralités sur les champignons mycorhiziens .....</b>	<b>5</b>
II.1.Définition des mycorhizes .....	5
II.2.Historique .....	6
<b>III.3.Les différents types de complexe mycorhizien .....</b>	<b>7</b>
III.1.Les ectendomycorhizes .....	7
III.2.Les ectomycorhizes .....	8
III.3.Les endomycorhizes .....	8
III.3.1.Les endomycorhizes a pelotons d'hyphes cloisonnées.....	9
III.3.2. Les endomycorhizes des orchidées .....	9
III.3.3. Les endomycorhizes des éricacées .....	9
III.3.4. Les endomycorhizes a vésicules et arbuscules (MA).....	10
<b>IV. Développement des structures mycorhiziens durant le cycle de vie des champignons.....</b>	<b>10</b>
IV.1.Taxonomie des champignons endomycorhiziens a arbuscules .....	15
IV.2.Analyse sporale et description morpho-anatomique .....	16
IV.3.La spécificité des endomycorhizes.....	20
<b>V. Les champignons mycorhiziens à arbuscules et les interactions .....</b>	<b>20</b>
<b>VI. Les effets bénéfiques des champignons mycorhiziens sur les plantes .....</b>	<b>21</b>

VI.1.Absorption de l'eau et des éléments nutritifs .....	21
VI.2.La nutrition phosphatée .....	23
VI.2.1.Absorption et transport de phosphore .....	23
VI.2.2.Rôles des mycorhizes dans l'amélioration de la nutrition phosphatée.....	23
VI.2.3.La solubilisation des phosphates .....	24
VI.2.4.La minéralisation de phosphores organique.....	25
VI.3.La nutrition azotée.....	25
VI.3.1.Absorption et transport de l'azote minéral (nitrate et ammonium .....	25
VI.3.2.Rôles des mycorhizes dans l'amélioration de la nutrition azotée .....	25
VI.4.Absorption des oligo-éléments.....	26
VI.5.Agrégation des sols .....	27
VI.6.Protection contre les organismes pathogènes.....	27
<b>VIII. Les facteurs limitant la mycorhization.....</b>	<b>28</b>
<b>IX. L'inoculationmycorhizien.....</b>	<b>30</b>
VIII.1.Définition.....	29
VIII.2.Facteurs déterminant la réussite de l'inoculation de CMA sur les cultures.....	29
VIII.3.Les modalités d'inoculation .....	30
<b>X. La plante hôte .....</b>	<b>30</b>
X.1.Définition .....	30
X.2.Caractéristiques .....	31
X.3.Classification.....	32
X.4.Ecologie.....	32
X.5.Discription .....	32
X.6.Utilisation .....	33

**Chapitre II : Matériels et méthodes**

<b>I. But de l'expérimentation .....</b>	<b>33</b>
<b>II. Echantillonnage .....</b>	<b>33</b>
II.1. Caractéristique de lieu de prélèvement des échantillons .....	33
II.2. Matériel végétal .....	33
III.3. Mode d'échantillonnage .....	34
<b>III. Les observations réalisées au laboratoire .....</b>	<b>34</b>
III.1. Observation de la mycorhization racinaire du matériel végétal récolté .....	34
III.2. Extraction par tamisage humide et dénombrement des spores à partir du sol .....	34
III.3. Identification des spores .....	36
<b>IV. Les caractéristiques physiques et chimiques du sol .....</b>	<b>36</b>
IV.1. Les caractéristiques physiques .....	36
IV.2. La conductivité électrique .....	37
IV.3. Le potassium .....	37

**Chapitre III : Résultats et discussion**

<b>I. Caractéristiques physico-chimiques de sol .....</b>	<b>38</b>
<b>II. Statut mycorhizien et organisation cytologique.....</b>	<b>38</b>
<b>Discussion.....</b>	<b>43</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>45</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	



***INTRODUCTION***

Il ya 400 millions d'années, alors que les continents étaient pratiquement déserts, végétaux et champignons s'associent, les un capables d'utiliser l'énergie solaire pour ce développer, les autres sont maîtres dans l'art d'absorber des nutriments du sol, c'est grâce à cette complémentarité d'ordres et de fonctions de ces organismes que naquirent au cours des ères géologique subséquentes les plantes terrestres dans toutes leurs diversités. (Mousse, 1956)

Depuis leur découverte, les champignons mycorhiziens ont fait l'objet d'importantes recherches dans le but de connaître leur fonctionnement, tant au niveau fondamental qu'au niveau appliqué (Smith et Read, 1997 ; Selosse, 2001).

C'est ainsi qu'aujourd'hui les champignons endomycorhiziens se retrouvent dans tous les écosystèmes et ce, indépendamment du type de sol, de la végétation ou des conditions de croissance (Dalpe, 1997). Mais ce n'est que depuis quelques décennies seulement que les botanistes et les mycologues ont réalisé que la majorité des plantes terrestres vivent en symbiose avec ces champignons du sol qui sont des symbiotes obligatoires (Mousse, 1956).

La plante mycorhizée s'avère mieux se nourrir et mieux s'adapter à son environnement, elle acquiert ainsi une protection accrue contre les stress environnementaux (Sylvia et Williams, 1992) notamment la sécheresse (Subramania *et al.*, 1995), le froid (Charest *et al.*, 1993 ; Pardis *et al.*, 1995) la salinité élevée (Davis et Young, 1995) et la pollution (Leyval *et al.*, 1994 ; Shetty *et al.* 1995).

L'avantage de cette symbiose ne se limite pas aux deux partenaires, mais concerne aussi l'intégrité de l'écosystème puisqu'elle améliore la qualité du sol (Caravaca *et al.*, 2002), la diversité et la productivité du couvert végétal (Van der Heijden *et al.*, 1998b), ainsi que l'établissement d'autres microorganismes bénéfiques, comme les Rhizobactéries Promotrices de la Croissance des Plantes (PGPR) (Herrera *et al.*, 1993 ; Barea *et al.*, 2002 ; Marschner et Timonen, 2006 ; Saxena *et al.*, 2006). En effet, grâce au développement de cette symbiose, il y a apparition de changements dans la quantité et la qualité des exsudats racinaires, ce qui se répercute sur la diversité des communautés microbiennes rizosphériques (Azcon-Aguilar et Barea, 1992 ; Barea, 1997 ; Gryndler, 2000 ; Marschner *et al.*, 2001 ; Marschner et Baumann, 2003).

De plus, la symbiose tend à réduire l'incidence des maladies racinaires et à minimiser l'effet nocif de certains agents pathogènes (Dehne, 1982 ; St-Arnaud et *al.*, 1995).

D'une manière générale, les plantes mycorhizées voient leur croissance et leur vigueur améliorées et acquièrent du coup une protection accrue contre les conditions environnementales défavorables à leur survie.

Plusieurs espèces végétales cultivées ont déjà été étudiées et répandent favorablement à l'utilisation de champignons mycorhiziens (Plenchette, 1991). Il reste encore à déterminer la meilleure façon d'inoculer les plantes pour favoriser à la fois le développement du champignon et de la plante. Aussi l'application d'inoculant mycorhiziens est une solution pour réduire l'utilisation des engrais minéraux phosphatés.

L'inoculation mycorhizienne en agriculture est très récente, inspiré par les succès de Cuba et de l'Inde, cette étude avait comme objectif d'évaluer le potentiel des inoculants mycorhiziens à favoriser une agriculture plus productive et moins dépendante des engrais dans les cultures de soya et de pomme de terre au Québec.

En Algérie l'étude de la biodiversité des champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) restent le parent pauvre de l'écologie microbienne malgré l'omniprésence des symbioses mycorhiziennes arbusculaires dans notre environnement naturel, elles restent insuffisamment utilisées, en agriculture moderne.

Notre travail consiste à détecter les mycorhizes arbusculaires présentent dans les systèmes racinaires et la sphère rhizosphérique de *Allium Triquetrum*.

Le présent travail de recherche est réparti en 03 chapitres :

Le premier chapitre présente le cadre général de l'étude par des rappels bibliographiques sur les notions de la rhizosphère, la mycorhize, la plante hôte et l'inoculation.

Le deuxième chapitre présente le matériel et méthodes : le matériel biologique, la méthodologie adaptée pour la réalisation des analyses physicochimiques du sol, des analyses microbiologiques et des observations microscopiques des écrasements racinaires suivies par l'analyse de l'état de mycorhization, et enfin l'isolement des spores des champignons mycorhiziens arbusculaires indigènes du sol pour les caractériser et les identifier.

Le troisième chapitre est consacré à la présentation des résultats obtenus, les interprétations, la discussion éventuelles et la conclusion générale.



*CHAPITRE I :*  
*PARTIE*  
*BIBLIOGRAPHIE*

## **I. Description des relations sol-plante-microorganismes :**

### **I.1.La rhizosphère :**

Le terme rhizosphère (du grec *rhiza*=racine ; *sphère* = *domaine d'influence*) a été utilisé pour la 1<sup>er</sup> fois par Lorenz Hiltner, (1904) pour définir la zone de sol sous l'influence des racines de légumineuses. La rhizosphère définit aujourd'hui le lieu d'interaction entre le sol, la plante et les microorganismes. Ces interactions dépendent des conditions physico-chimiques du milieu et des organismes mis en jeu.

La rhizosphère est en fait un micro-habitat dont les limites sont mal définies car il représente un gradient microbiologique et physico-chimique allant de la racine elle-même, au contact de laquelle la microflore présente les différences les plus marquées, jusqu'à une distance plus ou moins grande (1 à 5 mm) au-delà de laquelle « l'effet rhizosphérique » disparaît (Rovira et Davey, 1971).

### **I.2.Les différentes parties de la rhizosphère :**

Selon Pintonet *al.*, (2001) et Gobat et *al.*, (1998) la rhizosphère se distingue par plusieurs parties :

#### ➤ **L'ectorrhizosphère :**

L'ectorrhizosphère correspond à un volume de sol colonisé ou potentiellement colonisable par les microorganismes (bactéries et champignon) et influencé par ceux-ci. Sa définition peut s'étendre à la mycorrhizosphère correspondant au volume de sol qui environne une racine colonisée par un champignon mycorhizien permettant d'augmenter le volume de l'ectorrhizosphère (Balandrea et Knowles, 1978).

#### ➤ **L'endorrhizosphère :**

L'endorrhizosphère correspond au volume de tissus racinaire, on distingue dans cette partie le rhizoplane qui correspond à la surface même du tissu racinaire à la région intra-tissulaire et extracellulaire de la racine où se trouvent les microorganismes et la cytosphère qui correspond à la région intra-tissulaire et intracellulaire de la racine où se trouvent les microorganismes (Clark, 1949).

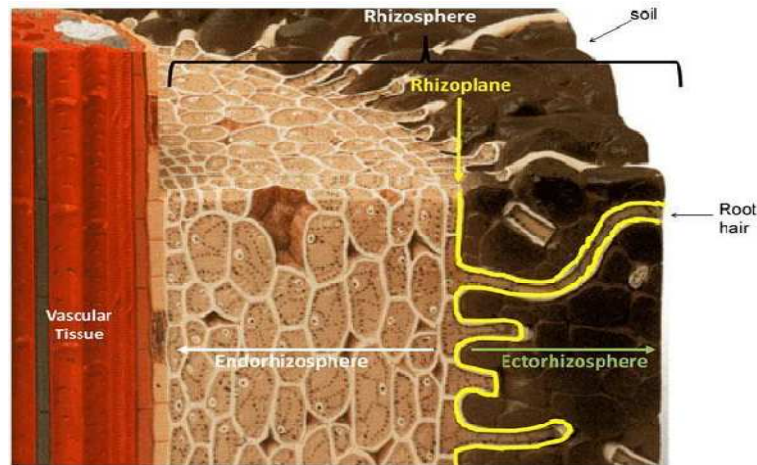


Figure 1 : schéma d'un fragment de racine rhizosphérique.(nature.com)

### **I.3 Rôle et importance des interactions plante / microorganismes :**

Dans la rhizosphère les racines des plantes opèrent des changements qualitatifs sur le sol qui les entoure. Par leur type de croissance racinaire, elles modifient les propriétés physiques du sol tant au niveau de sa microporosité que de sa macroporosité, et par leur exsudation racinaire elles modifient les propriétés chimiques(modification de Ph, de potentiel redox, de température, d'aération, d'humidité, de salinité...) qui conduisent ainsi à des modifications des propriétés biologiques et microbiologiques(Darrah, 1991).

La composition des communautés microbiennes de la rhizosphère dépend du type de plante (espèces végétales), du type de racines, de l'âge de la plante et du type de sol. Le type de plante est lié aux exsudats racinaires tels que les apports carbonés(Rovira, 1965 ; Reilley *etal.*,1996), qui agissent sur les communautés microbiennes par sélection des espèces, par l'augmentation de leur densité et par l'amélioration de leurs activités(Grayston *etal.*, 1998 ; Sicilano *etal.*, 1998 ;Miller*etal.*, 1999).

Cette communauté diminue en s'éloignant du rhizoplane(Baudoin *et al.*, 2001 ;Corgie *et al.*, 2003), on parle alors « d'effet rhizosphère ». Rouatt et Katznelson(1961) ont montré que le nombre de microorganismes de la rhizosphère diminue de manière inversement proportionnel à la distance aux racines et que l'effet rhizosphère (nombre de microorganismes dans le sol rhizosphérique /sol non rhizosphérique, R/S) varie d'une plante à l'autre. Bodelier *etal.*,(1997)estiment que les microorganismes présents dans le sol rhizosphérique sont 19 à 32 fois plus nombreux que dans le sol hors d'influence de la plante.

La présence de ces microorganismes rhizosphériques peut être très bénéfique pour les plantes dans la mesure où elles améliorent leur croissance et réduisent leur susceptibilité aux maladies causées par des facteurs biotiques (champignons pathogènes, des bactéries, des virus

et des nématodes) ou des facteurs abiotiques. Cet apport bénéfique est apporté par certaines bactéries rhizosphériques, les (PGPR) (Plant-growth-promoting rhizobacteria) qui favorisent la croissance des plantes et leur confèrent une « résistance systémique induite » (ISR) (Jungwook et al., 2008).

Il est également apporté par des champignons dit endophytes de plusieurs organes des plantes (tiges, feuilles, racines).

Les endophytes ont évolué avec leurs hôtes sur plusieurs millions d'années mais la haute virulence des endophytes peut être exclue sauf pour quelques un, ce sont des opportunistes et peuvent causer la maladie après l'affaiblissement de l'hôte par d'autres facteurs. Les endophytes mutualistes sont souvent considérés évolués par rapport aux champignons parasites ou pathogènes.

Les endophytes de plantes sont considérés comme étant un potentiel de contrôle des agents biologiques (Strullu, 1991).

Un autre type de champignons établissent des relations de mutualisme avec des plantes hôtes et améliorent leur nutrition minérale et hydrique surtout dans des conditions difficiles comme dans les zones semi-arides et dans les sols calcaires (Lambers et al., 2009), ce sont les champignons mycorhiziens qui établissent une relation symbiotique avec 80% des plantes supérieures depuis 450 millions d'années (Andre et al., 2004).

## **II. Généralités sur les champignons mycorhiziens :**

### **II.1. Définition des mycorhizes :**

D'origine gréco-latine, le mot mycorhize signifie champignon-racine (*mykes* = champignon, *rhiza* = racine) (Andre et al., 2004). Les mycorhizes relèvent donc de l'association d'un organisme photosynthétique, soit une plante verte, et d'un champignon filamenteux ; l'ensemble constitue une forme de symbiose végétale, dans laquelle la plante fournit au champignon des composés carbonés produits par la photosynthèse et en retour, le champignon approvisionne la plante en éléments minéraux et en eau provenant du sol (Hodge et al., 2010 ; Hopkins, 2003 ; Smith et Read, 2008).

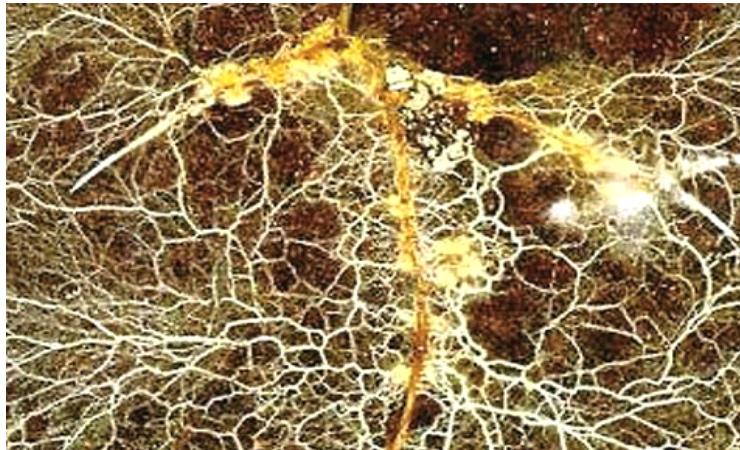


Figure2 : racines de plante entourées d'un réseau mycélien de champignons Mycorhiziens.(locationfougas.com).

## **II.2.Historique :**

L'étroite relation entre les champignons et certaines plantes supérieures a été démontrée pour la première fois par Gibelli Giuseppe, (1883) de l'institut de botanique de l'Université de Turin, il a décrit et représenté avec de nombreux détails l'ensemble structurel formé par les hyphes des champignons et les apex racinaires du châtaignier.

En 1885, l'Allemand Frank a démontré que certains champignons sont étroitement liés aux racines des arbres par des formations auxquelles il donna le nom de « mycorhizes ». Il a séparé les mycorhizes en deux types : les mycorhizes ectotrophes qui possèdent un manteau périphérique et ceux ayant un réseau intracellulaire (Strullu, 1991).

Actuellement, la proposition de Peyronnel et *al.*, (1969) fait l'unanimité de façon classique, les mycorhizes se séparent en 3 groupes principaux (figure 3):

- Les ectomycorhizes.
- Les endomycorhizes.
- Les ectendomycorhizes.

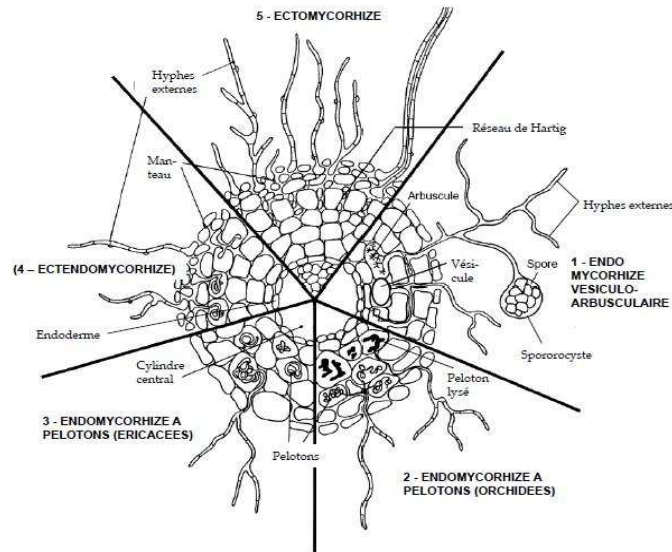


Figure 3 : les différents types de mycorhizes. (forum-svt.ac-toulouse.fr).

### III. Les différents types de complexes mycorhiziens :

Selon la façon dont le champignon s’unit à la plante, on a classé les mycorhizes en 3 grands groupes : les ectomycorhizes, les endomycorhizes et les ectendomycorhizes.

#### III.1. Les ectendomycorhizes :

Ce type de mycorhizes est relativement rare dans la nature et ne se rencontre que chez un petit nombre de végétaux, exemple de la sous famille des Arbutoidées dans la famille des Ericacées.

Ils existent de façon inconstante chez un certain nombre de pins, qui sont le plus souvent à ectomycorhizes (Durrieu, 1993).

En l’absence de données cytologiques ultra structurales, il est difficile de décrire les ectendomycorhizes car elles possèdent à la fois des caractères d’ectomycorhizes (présence du manteau et du réseau de Hartig) et des caractères d’endomycorhizes (colonisation bien organisée des cellules racinaires par le champignon). Le réseau de Hartig naît à partir des hyphes de la partie profonde du manteau, les filaments intracellulaires sont cloisonnés et ramifiés (Davet, 1996).

Les champignons concernés sont des Basidiomycètes appartenant aux genres *Amanitus*, *Boletus*, *Laccarea*, *Laccatarius*, *Paxillus*.....

En général, il ne s'agit pas de champignons ectendomycorhiziens spécifiques, ces symbiotes sont aussi liés à des arbres pour former des ectomycorhizes(Strullu, 1991).

### **III.2.Les ectomycorhizes :**

Les ectomycorhizes concernent un nombre relativement restreint 5% environ d'espèces végétales pour la plupart d'essences forestières qui constituent l'essentiel de la couverture ligneuse de la zone tempérée : Abiétacées, Fagacées, Bétulacées (Strullu,1991). Elles se caractérisent par une modification de la racine qui perd ses poils absorbants et qui est entourée par un manteau fongique, de ce manteau part un réseau mycélien externe plus ou moins développé qui va prospecter le sol et un réseau interne qui pénètre dans la racine mais sans entrer à l'intérieur d'une cellule, d'où le nom d'ectomycorhizes(Le Tacon,1985) (figure 4).

Les champignons ectomycorhiziens sont des Ascomycètes (Truffes, Terfez) et des Basidiomycètes(Amanites, Chanterelles, Cortinaires) et très rarement des champignons inférieurs les Zygomycètes, qui ne développent pas des carpophores mais des spores isolées ou renfermées dans des sporocarpes, ce groupe a peu d'importance pour les ectomycorhizes mais devient le groupe majeur pour les endomycorhizes(Strullu,1991).

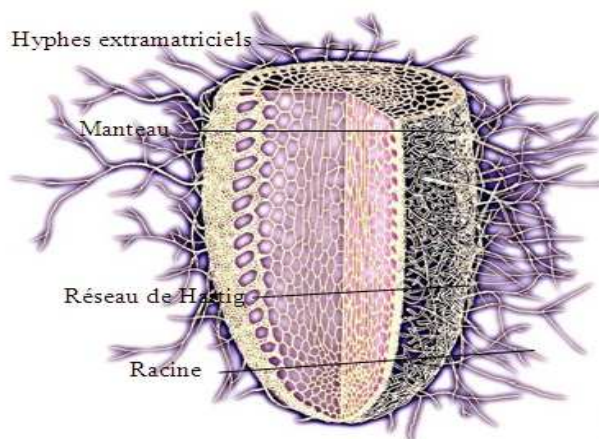


Figure 4: Illustration schématique d'une ectomycorhize.(ulaval.ca).

### **III.3.Les endomycorhizes :**

La plus ancienne notion d'endomycorhizes remonte à 1849,(Boullard, 1990), malgré que Morton *et al.*,(1995) suggèrent qu'elles sont apparues il y a 250 millions d'années. Elles sont très répandues et concernent environ 90% des espèces végétales, plus fréquentes chez les plantes herbacées et quelques espèces ligneuses.

Contrairement aux ectomycorhizes, les champignons endomycorhiziens ne forment pas de manteau fongique ni de réseau de Hartig mais seulement des hyphes intercellulaires envoyant des suçoirs bien développés dans les cellules du parenchyme cortical de la racine. Ils ne pénètrent jamais dans le cylindre central (Boullard, 1990) (figure 5).

Le terme d'endomycorhizes recouvre en fait des réalités très diverses tant en ce qui concerne les structures que le partenaire impliqué.



Figure 5 : schéma d'une endomycorhize.(smhv.net).

Suivant l'hôte et la morphologie des hyphes fongiques, on distingue 3 grands groupes :

### **III.3.1. Les endomycorhizes à pelotons d'hyphes cloisonnés :**

Ces associations sont représentées chez plusieurs familles végétales mais l'organisation générale des complexes est très variable d'une famille à l'autre (Strullu, 1991).

### **III.3.2. Les endomycorhizes des Orchidées :**

C'est un type d'endomycorhize très particulier, restreint aux espèces des orchidées qui sont l'une des familles de plantes les plus riches si ce n'est celle contenant le plus grand nombre d'espèces (peut-être 30 000)(Durrieu, 1993).

Les racines sont infectées à partir du sol dès leurs formations, le champignon ne colonise ni l'endoderme ni le cylindre central, il se limite au parenchyme cortical. A la périphérie de la racine, les tissus corticaux montrent des pelotons d'hyphes cloisonnés.

Les partenaires fongiques formant cette association appartiennent à la classe des Basidiomycètes (Strullu, 1991).

### **III.3.3. Les endomycorhizes des Ericacées :**

Ce type d'endomycorhizes se rencontre chez la majorité des Ericacées sauf chez les Arboïdes (Strullu, 1991).

Ces mycorhizes se présentent sous forme de très fines radicelles ramifiées dépourvues de poils absorbants mais d'où part un chevelum mycéliens lâche, il diffuse directement dans le sol sans constituer de manchon autour de la racine.

Le mycélium pénètre directement dans les cellules souvent par plusieurs points, il en occupe une grande partie sous forme d'un peloton d'hyphes septées.

Les endomycorhizes des Ericacées sont formées par divers champignons appartenant à la classe des Ascomycètes et des Basidiomycètes (Strullu, 1991) (figure 6).



Figure 6 : culture de champignon mycorhizien associé à *Woolliapungens* (éricacées). (wikipedia.org).

#### **III.3.4. Les endomycorhizes à vésicules et arbuscules (MA) :**

Nous les rencontrons chez certains arbres des forêts tempérées (érables, frênes, merisiers...), chez certains résineux (Taxacées, Araucacées) et chez la plupart des arbres des zones équatoriales et tropicales.

La majorité des plantes herbacées possèdent également des mycorhizes à vésicules et arbuscules et par conséquent la quasi-totalité des espèces cultivées à l'exception des crucifères et des chénopodiacées (Le Tacon, 1985).

#### **IV. Développement des structures mycorhiziennes durant le cycle de vie des Champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) :**

Les CMA sont des symbiotes obligatoires qui ne peuvent se développer qu'en présence d'une plante hôte. La colonisation des cellules corticales de la racine passe par plusieurs étapes au cours desquelles se produisent des modifications anatomiques et physiologiques importantes. Des modifications de l'architecture ultra-structurale sont observées telles que l'invagination du plasmalemme autour du mycélium, la fragmentation de la vacuole, la

disparition des amyloplastes et l'augmentation du nombre de vésicules de Golgi et de Mitochondries (Bonfant et *al.*, 1981) ; mais il n'y a pas de manteau entourant la racine, il existe cependant des réseaux mycéliens interne et externe.

Un mycorhize active est constituée de :

- **Une partie extra-racinaire :** qui inclut le mycélium externe du champignon développé dans le sol, les spores et dans quelques cas les cellules auxiliaires.
- **Le réseau mycélien extra-racinaire :** dans le sol, il se compose d'hyphes colonisateurs, non cloisonnés ramifiés en hyphes secondaires et tertiaires. Au niveau de ces hyphes se différencient des structures ramifiées considérées comme sites privilégiés de prélèvement de nutriments et d'absorption d'eau pour la plante hôte (Bago et *al.*, 1998).(figure7).

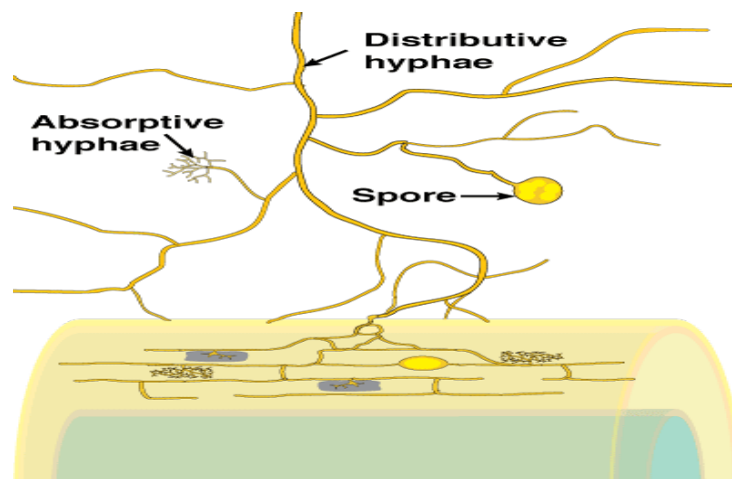


Figure 7 : la structure d'une endomycorhize à vésicule et arbuscule .(supagro.fr).

- **Les spores :** sont unicellulaires, à paroi épaisse, avec plusieurs couches, de forme généralement globoïde, asexuées, riche en lipides, elles sont formées à l'extrémité de la racine. Les spores peuvent être regroupées en grappes ou en sporocarpes entourées ou non d'un peridium. Ce type de propagules commun à tous les glomerales, constitue l'un des moyens par lesquels le champignon survit durant l'absence de la plante hôte. La spore mature possède une paroi chitineuse hydrophobe (Hosney, 1997) qui joue un rôle important dans la résistance aux conditions de stress. Elle assure la dissémination de l'espèce et maintient le système d'information génétique du champignon (Morton, 1993).

L'infection de la plante hôte peut être initiée à partir de plusieurs propagules : spores, fragments racinaires mycorhizés, hyphes présents dans le sol (Ouahman, 2007).

La colonisation des racines de la plante par les champignons endomycorhiziens passe par les étapes suivantes :

**Stade 1 : germination de la spore :**

Le déclenchement de la germination des spores et la croissance de mycélium sont stimulés par la présence des racines de la plante hôte et les exsudats racinaires volatils des plantes riches en sucres, en composés phénoliques et en acides aminés (Koske et Gemma, 1992). C'est la raison pour laquelle les champignons mycorhiziens arbusculaires nécessitent la présence des racines de la plante hôte pour se développer (Giovanetti et al., 1993). La germination de la spore se déroule en quatre étapes dans l'ordre suivant : hydratation du contenu de la spore, augmentation de l'activité enzymatique, apparition du tube germinatif après quelques jours, et le développement de ce dernier en hyphes (Tommerup, 1984). Les spores de certaines espèces de CMA peuvent germer en absence de la plante hôte mais la croissance des hyphes est moins importante (Diop et al., 1994).

Dans le sol, la germination de la spore est sous le contrôle de plusieurs facteurs externes tels que l'humidité, la température, le pH, la salinité (Hepper, 1979 ; Estaun, 1991) et endogènes tels que le stade de maturation, la dormance et la taille de la spore (Gemma et Koske, 1988 ; Hetrick, 1984).

**Stade 2 : formation de l'appressorium et colonisation de la racine :**

Après germination, les spores développent un mycélium fongique. Ce dernier entre en contact avec la racine ce qui permet la formation des structures appelées appressoria dont le rôle réside dans la propagation du mycélium intra-racinaire (Giovanetti et al., 1996). Les mycéliums pénètrent et se développent entre les cellules du rhizoderme et colonisent les parties superficielles du cortex racinaire (Smith et Read, 1997). L'infection a lieu dans la zone d'élongation de la racine, ce qui influence l'apparition des racines latérales qui, à leur tour, sont infectées et permettent l'extension du mycorhize source (figure 8).

**Stade 3 : formation des arbuscules :**

Une ramification du mycélium dans les cellules, au contact de l'endoderme permet l'élaboration des arbuscules qui ont comme rôle d'augmenter la surface de communication entre le mycélium fongique et la cellule hôte via l'invagination du plasmalemme. Cette surface, appelée interface arbusculaire, est le siège favorisé des échanges entre les deux partenaires.

Deux types de colonisation racinaire sont généralement différenciés en fonction de la structure de l'arbuscule: le type Arum et le type Paris. Le type Arum se distingue par une phase intercellulaire de croissance exubérante d'hyphes et une production d'arbuscules terminaux sur les branches d'hyphes intracellulaires. Le type Paris se caractérise par unecroissance d'hyphes intracellulaires considérables formant des enroulements et portant des petits arbuscules (Figure9).

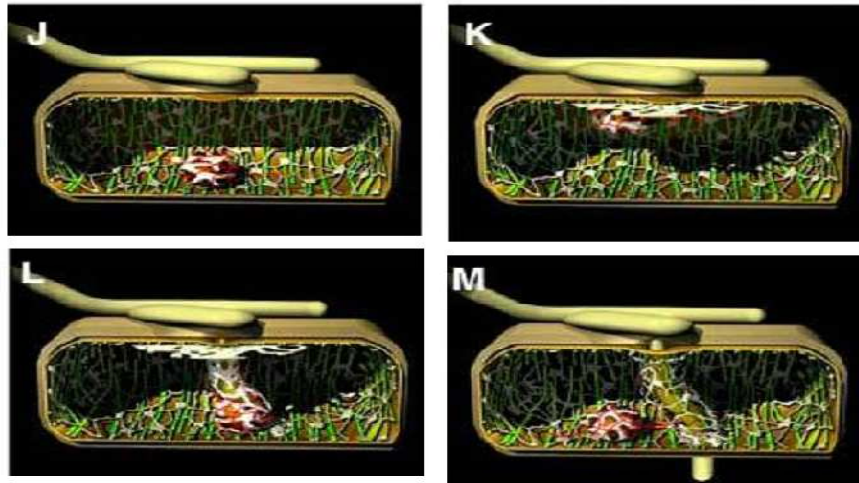


Figure 8 : schémas décrivant le mécanisme de pénétration du champignon mycorhizien dans la racine et la formation de l'appareil de pré-pénétration (PPA) Genre et *al.*,(2005).

**J** : contact entre le champignon et une cellule épithéliale de la racine au niveau de l'appressorium (ap).

**K** : au contact du champignon, le noyau (n) de la cellule végétale migre à la surface de la racine, à proximité de l'appressorium.

**L** : en migrant vers la face basale de la cellule, le noyau entraîne la formation d'une structure tubulaire riche en cytosquelette et en réticulum endoplasmique : l'appareil de pré-pénétration (PPA).

**M** : un hyphe du champignon (hp) traverse la cellule végétale et pénètre la racine par l'intermédiaire du PPA.

Code couleur : vert, microtubules ; rouge, micro-filaments d'actine ; blanc, réticulum endoplasmique.

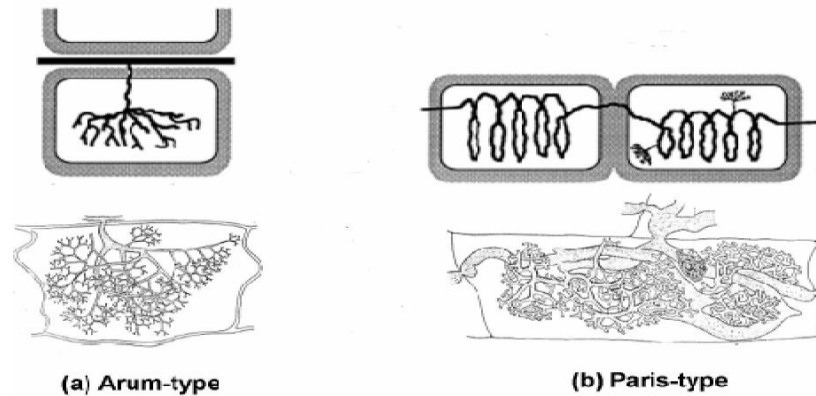


Figure 9 : types de colonisation racinaire chez les champignons mycorhiziens à arbuscules (Smith et Smith, 1997).

#### Stade 4 : Formation de vésicules :

Le renflement du mycélium qui progresse dans et entre les cellules racinaires aboutit à la formation des vésicules qui ont des formes ovoïdes, possédant plusieurs noyaux et des lipides. Lors de la sénescence de la racine, les vésicules sont libérées dans le sol où elles peuvent générer de nouvelles mycorhizes Strullu et *al.*, (1996). La figure 10 récapitule les différents stades d'infection racinaire.

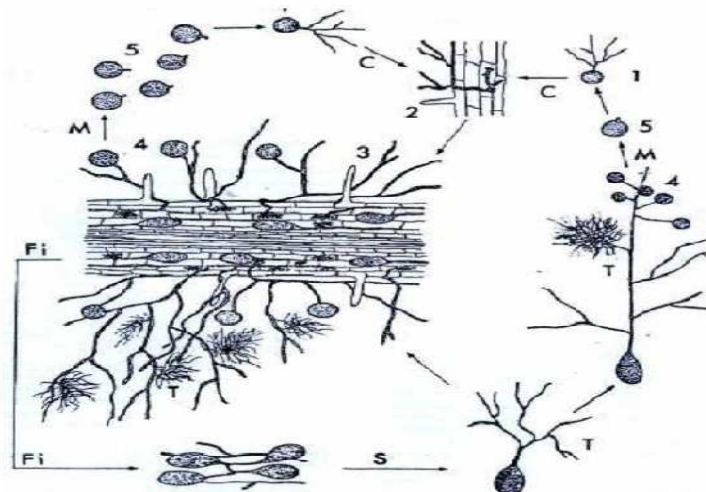


Figure 10: Cycle de développement du genre *Glomus* (d'après Strullu et *al.*, 1997).

- |  |                            |
|--|----------------------------|
| 1: germination des spores                            | C : contact racinaire      |
| 2: colonisation des cellules corticales de la racine | Fi : forme intra-racinaire |
| 3: formation des arbuscules et des vésicules         | M : maturation sporale     |
| 4: infection des racines néoformées                  | S : phase saprophytique    |
| 5: développement des spores.                         | T : thalle.                |

Les différentes caractéristiques relatives aux différents types de mycorhizes sont résumées dans le tableau n°1ci-après.

Tableau 1 : caractéristiques sommaires des principaux types mycorhiziens.(anonyme)

Type morphologique	Endomycorhizien 'vésiculo-arbusculaire'	Ectomycorhizien	Ectendomycorhizien <sup>1</sup>	Endomycorhizien 'à pelotons' <sup>2</sup>
Phytobionte	Plus de 80% des Spermaphytes et la plupart des Ptéridophytes	Spermaphytes ligneux et de très rares Ptéridophytes	Spermaphytes (certains ligneux, certaines Éricales)	Spermaphytes (Éricacées, Orchidées) et certaines Ptéridophytes
Mycobionte	Non septés Glomales (Zygomycètes) 200 à 500 espèces	Ascomycètes et Basidiomycètes 5000 espèces au moins	Septés Ascomycètes et quelques espèces de Basidiomycètes	Ascomycètes (Éricacées) et moins de 100 espèces de Basidiomycètes (Orchidées)
Structures fongiques	Vésicules seulement ou vésicules et arbuscules (suçoirs ramifiés intracellulaires)	Manteau fongique autour de la racine et réseau de Hartig cortical, strictement extracellulaire	Manteau plus au moins épais, réseau de Hartig et suçoirs (Monotropoïdes) ou pelotons (Arbutoïdes) intracellulaires (variable)	Hyphes et pelotons intracellulaires
(% masse de l'organe mixte)	(10%)	(40%)		(40%)
Spécificité d'hôte	Aucune	Nulle à forte selon le couple	?	?
Ancienneté	Silurien	Crétacé (ou plus tardif ?)	Crétacé (ou plus tardif ?)	Crétacé (ou plus tardif ?)
Ressources exploitées par le mycobionte	Phosphore inorganique : soluble ou adsorbé ; oligoéléments	Phosphore et azote organiques ou minéraux : solubles, adsorbés ou insolubles, oligoéléments	Mal connues et variables Le mycobionte peut être parasite ou mutualiste d'un autre végétal (Monotropoïdes)	Phosphore et azote organiques, parfois glucides insolubles (cellulose...)
Localisation majeure	Tous les sols, sauf hydromorphes : sols tropicaux et tempérés; peu fréquents en sol boréal	Divers sols, dont ceux moyennement minéralisés : sols tempérés et boréaux, parfois tropicaux		Sols à matière organique non minéralisée : sols boréaux et d'altitude surtout, les orchidées sont plus ubiquistes

<sup>1</sup> Les mycorhizes arbutoïdes et monotropoïdes des Éricales entrent dans cette catégorie.

<sup>2</sup> Les mycorhizes éricoïdes des Éricales et celles des Orchidées sont comprises dans cette catégorie.

### V. Taxonomie des champignons endomycorhiziens à arbuscules :

Plusieurs classifications ont été proposées par plusieurs chercheurs. En 1974, Gerdmann et Trappe ont pu résumer la diversité de ces champignons endomycorhiziens en évoquant une première classification basée essentiellement sur la similarité des phénotypes de leurs spores. Ainsi, cinq genres ont été définis *Endogone*, *Glomus*, *Sclerosystis*, *Acaulospora*, et *Gigaspora*. Ensuite, les mêmes auteurs ont révisé la famille des Endogonacées. 44 espèces au sein de 7 genres ont été caractérisées. Parmi elles, beaucoup de taxons ont été redéfinis, 2 genres (*Acaulospora*, *Gigaspora*) et 12 nouvelles espèces ont été décrits.

Ames et Schneider, (1979) mettaient en évidence le nouveau genre *Entrophosporadans* la famille des Endogonaceae, avec *Entrophosporainfrequens*, espèce qui existait avant dans le genre *Glomus* sous le nom de *Glomus infrequens*. Walker et Sanders, (1986) ont séparé en deux genres, *Gigapora* et *Scutellospora*. En 1987, Schenck et Perez comptaient plus de 150 espèces décrites. Morton et Benny, (1990) ont ensuite subdivisé l'ordre des glomales en deux sous-ordres : les Glomineae et les Gigasporineae. Ces derniers comportent trois familles et six genres séparés selon des critères comme par exemples :

- La présence des vésicules attribuée au sous-ordre des Glomineae.
- La formation des sporocarpes séparant les Glomaceae des Gigasporaceae et des Acaulosporaceae.
- La forme d'hyphe d'attachement, allongé chez les Glomaceae, conique et non persistant après maturation chez Acaulosporaceae et conique mais plus arrondi chez les Gigasporaceae.

Redecker et al., (2006) ont utilisé à la fois les données morphologiques et moléculaires et ont transféré *Sclerocystis coremioides* dans le genre *Glomus*, éliminant ainsi le genre *Sclerocystis*. Se basant sur les données morphologiques, moléculaires et biochimiques, Morton et Redecker, (2001) ont décrit deux autres familles : Archaeosporaceae et Paraglomaceae. La première famille renferme l'Archaeospora, avec trois espèces et la seconde le genre *Paraglomus* avec aussi deux espèces. En 2004, Walker et Schüssler ont proposé une nouvelle classification tout en se basant sur de nouvelles analyses moléculaires. Ils ont classé les champignons mycorhiziens arbusculaires en 4 ordres : Glomerales (Morton et Benny), Diversisporales, Archaeosporales, et Paraglomerales (Walker et Schüssler).

### **V.1. Analyse sporale et description morpho-anatomique :**

Selon Sturmer et Bellei, (1994); Morton et al., (1995), les spores sont parmi les moyens disponibles pour mesurer la richesse et la diversité des CMA dans un sol. Les communautés de ces champignons présentes dans un sol peuvent être estimées en termes de nombres d'espèces présentes et d'abondance de chacune d'elles dans la communauté. L'estimation de l'abondance peut être faite par l'observation directe de nombres de spores présent dans le sol (Gerdemann et Nicolson, 1963 ; Brundrett et al., 1994). Par contre, leur identification est le plus souvent difficile à cause des faibles variations morpho-typiques. Les spécialistes utilisent

plusieurs critères qui permettent de distinguer ou moins les genres. Selon Brundrett et al.,(1994) , ces critères sont : ( figure 11 ).

- **Le développement de la spore :** c'est un critère essentiel pour définir le genre chez les glomales (Morton, 1988). Les espèces des genres *Scutellospora* et *Gigaspora* ont des spores qui se développent à partir d'un bulbe de l'hyphe suspenseur, par contre les espèces du genre *Glomus* se forment à partir d'une hyphe étroite tandis que les espèces d'*Acaulospora* et *Entrophospora* ont des spores qui deviennent sessiles après leur détachement de la saccule sporifère.

- **L'arrangement des spores :** les spores des CMA peuvent être produites isolées ou en sporocarpe dans le sol.

- **La forme de la spore :** la majorité des spores des CMA ont une forme globuleuse mais chez certaines espèces on peut avoir ovoïde, allongé ou amorphe.

- **La taille de la spore :** ce critère est peu utilisé du fait de l'existence d'une grande variabilité dans la taille des spores. Mais dans certains cas, il peut aider à distinguer entre les espèces.

- **La couleur de la spore :** elle peut être utilisée pour distinguer et séparer entre les morphotypes. La couleur peut varier du rouge au jaune ou rouge pourpre.

- **L'ornementation :** les spores peuvent avoir aussi une ou plusieurs couches sporales qui varient dans leur épaisseur, structure et leur apparence. *Acaulospora*, *Entrophospora* et *Scuteluspora* par exemple ont une structure sporale complexe avec une couche externe très épaisse

- **Le contenu de la spore :** les spores contiennent des lipides et autres composés qui varient selon la couleur et peuvent être arrangés en granules ou en gouttelette. Ceci peut renseigner sur le type de spore à un âge donné.

- **La gémination de la spore :** ce mécanisme peut être utilisé pour distinguer les spores des CMA, particulièrement les espèces de genre *Scutellospora* qui ont des boucliers de gémination avec des replis complexes sur leur paroi externe.

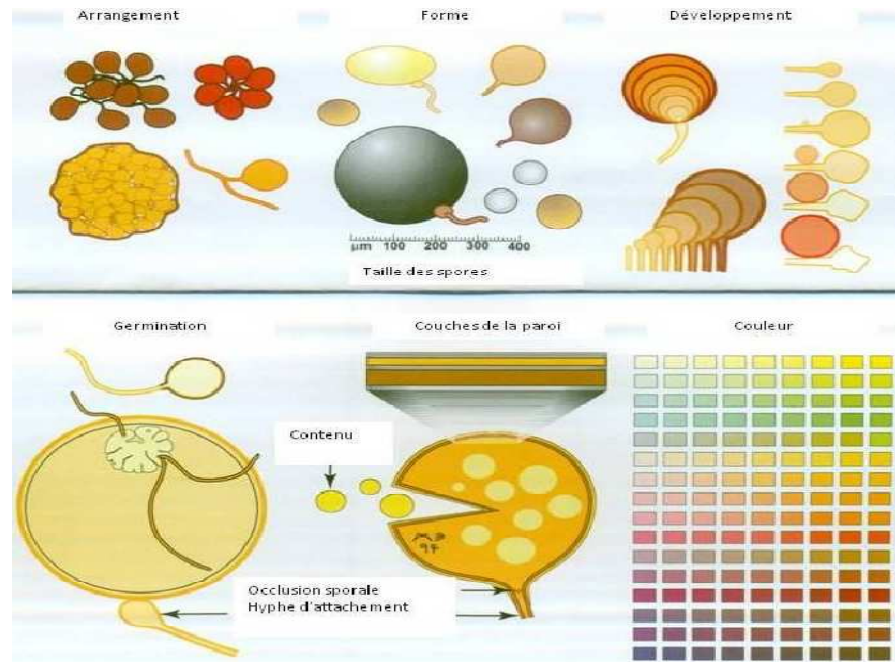
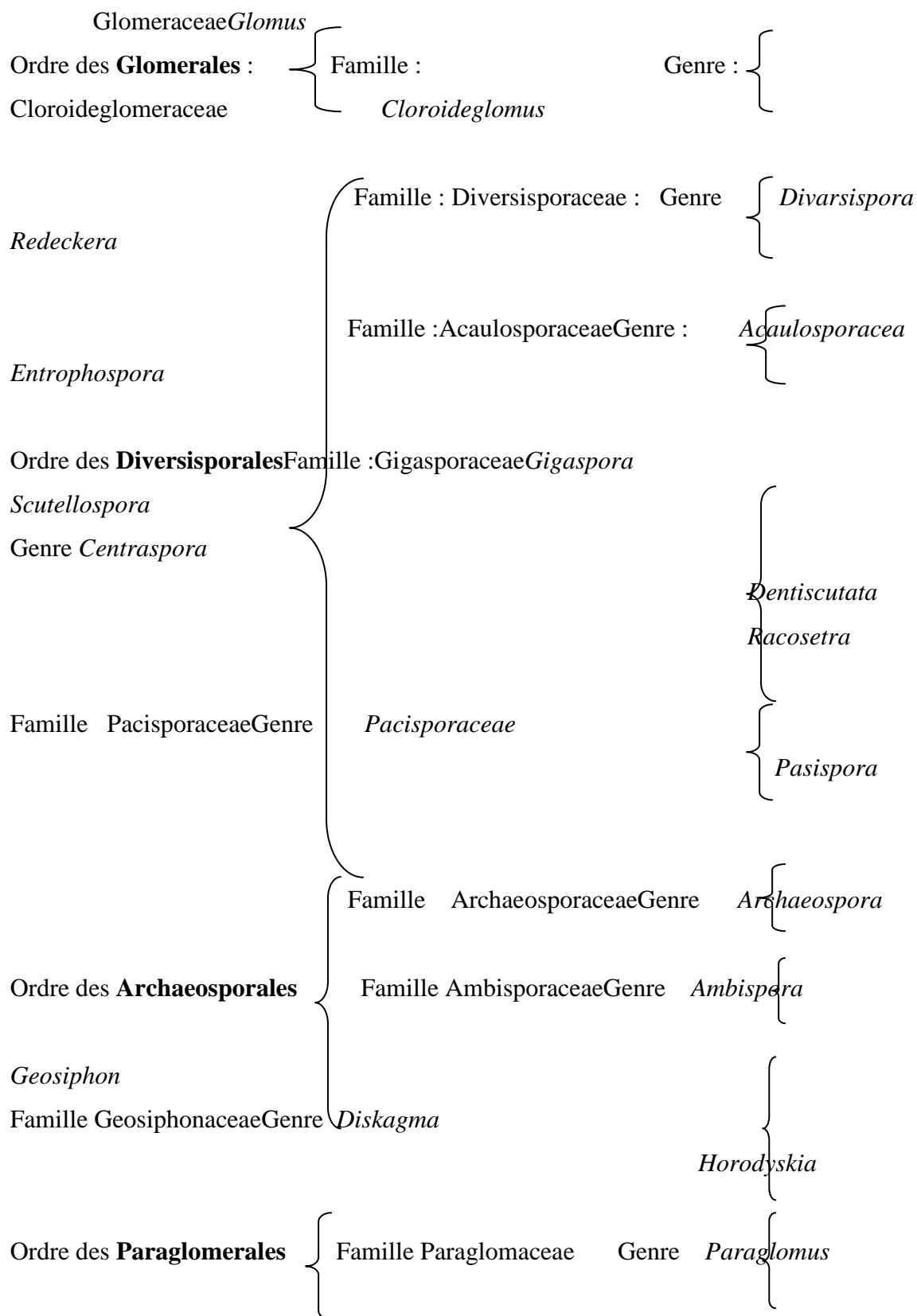


Figure 11 : Caractéristiques morphologiques des spores de CMA Brundrettetal.,(1994).

La classification des Glomales :

Phylum Glomeromycota, classe Glomeromycetes présenté par Davis Invam :



## **V.2. La spécificité des endomycorhizes :**

Chez les endomycorhizes à arbuscules, il n'y a pas de spécificité entre la plante hôte et le partenaire fongique, contrairement aux ectomycorhizes et aux endomycorhizes à peloton fongique (Moser *et al.*, 1983). Un champignon endomycorhizien peut s'associer à plusieurs plantes et une même plante peut être infectée par plusieurs espèces de champignons. La colonisation passe par plusieurs étapes et provoque des changements dans la morphologie des racines de l'hôte. Ces modifications sont dues à un échange de signaux entre les deux partenaires (Gianninazzi-Pearson et Gianninazzi, 1988).

L'absence de spécificité stricte peut s'expliquer par le caractère obligatoire de la symbiose pour ces champignons. Il a été suggéré que l'hétérogénéité des matériels génétiques des champignons mycorhiziens soit l'un des facteurs assurant le large spectre d'hôtes de ces organismes, en permettant une diversité dans les systèmes de reconnaissance et de signalisation entre partenaires (Reinhardt, 2007).

## **VI. Les champignons mycorhiziens à arbuscules et les interactions :**

La compréhension du fonctionnement de la symbiose mycorhizienne doit prendre en compte les diverses composantes de la communauté microbienne rhizosphériques.

- **Effet mycorhizosphère :**

L'installation des mycorhizes peut affecter la population microbienne de la rhizosphère directement ou indirectement à travers des changements dans les exsudats racinaires (composition et quantité) ou même à travers les exsudats fongiques. Cet effet est appelé effet mycorhizosphère (Lindennan, 1992). La colonisation mycorhizienne peut influencer la composition spécifique de la communauté microbienne en augmentant quelques groupes et en réduisant d'autres (Krishnaraj et Sreenivasa, 1992; Christensen et Jakobsen, 1993).

- **Interactions avec les champignons ectomycorhiziens :**

Ce type d'interaction a fait également l'objet de plusieurs études scientifiques. Les chercheurs se sont intéressés à l'effet d'une double symbiose endomycorhizienne et ectomycorhizienne sur la croissance des végétaux. Les résultats ont montré qu'il n'existait pas d'antagonisme entre les champignons ectomycorhiziens et endomycorhiziens. Cependant, les travaux de Founoun *et al.*, (2001 et 2002) sur *Acacia holosericea*, ont montré que la double inoculation de l'espèce avec le *Glomus aggregatum* et le *Pisolithus tinctorius* n'a pas induit d'effets synergiques intéressants sur la croissance.

• **Interaction avec les bactéries fixatrices d'azote :**

Ces interactions sont d'une grande importance dans les écosystèmes dégradés, où les ressources en phosphore et en azote sont rares. Selon Requena et al., (2001), des expériences de double inoculation avec les champignons mycorhiziens à arbuscules et une bactérie du genre *Rhizobium* associée à l'espèce *Anthyllis cytisoides*, ont montré que les teneurs du sol en azote, en matière organique et en agrégats hydro-stables ont augmenté, et que le reliquat d'azote transféré vers une plante non fixatrice *Lavandula* sp' est significativement amélioré. Des résultats similaires ont été obtenus par Dianou et Bâ, (1999) après inoculation de (*Glomus manihotis*) avec des rhizo-bactéries et un champignon mycorhizien à arbuscules (*Vigna unguiculata*). (Figure 12)

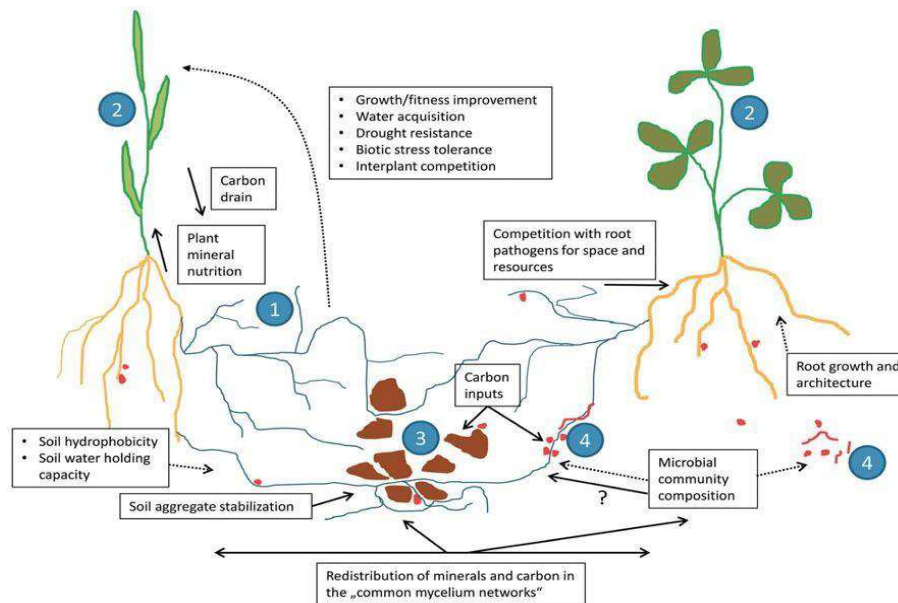


Figure 12 : schéma représentatif de l'interaction sol-plante-micro-organismes (1-mycélium mycorhizien, 2- plante, 3- agrégats de sol, 4-micro-organismes de sol). (fao.org).

**VII. Les effets bénéfiques des champignons mycorhiziens sur les plantes :**

La nutrition minérale et l'augmentation de l'absorption en eau par la plante sont certainement les bénéfices les plus connus des mycorhizes. Elles confèrent toutefois plusieurs autres avantages aux plantes et écosystèmes, notamment l'agrégation du sol, la protection contre les pathogènes et la résistance au stress environnementaux (Tao et Zhiwei, 2005).

**VII.1. Absorption de l'eau et des éléments nutritifs :**

L'absorption de l'eau et des éléments nutritifs constitue la toute première fonction attribuée aux mycorhizes, notamment l'absorption des éléments peu mobiles dans le sol (Bolan, 1991 ; Smith et Read, 1997).

L'augmentation de la surface d'absorption du système racinaire par la présence de réseaux d'hyphes de champignons mycorhiziens favorise l'absorption de l'eau. Le mycélium des champignons permet à la plante de puiser dans les petits interstices qui ne sont habituellement pas accessibles aux racines des plantes.

De même les hyphes extra-radiculaires minces des champignons pénètrent dans le sol sur une large région et peuvent l'exploiter plus efficacement que les racines des plantes (Bothe *et al.*, 1994). Ce qui leur confère une capacité à pourvoir la plante en éléments nutritifs qui diffusent au-delà des zones d'épuisement aux environs de la racine (Marchner, 1995 ; Sieverding, 1991).

Ainsi, les plantes mycorhizées ont tendance à être moins affectées par les périodes de sécheresse (Fortinet *al.*, 2008 ; Roy-Bolduc et Hijri, 2010 ; Smith et Read, 2008). Leur résistance au stress hydrique augmente aussi par un signal déclenché par les CMA qui peut assurer une fermeture plus rapide des stomates, et qui prévient une flétrissure irréversible (Davies *et al.*, 1992 ; Subramanian et Charest, 1997).

Les CMA améliorent la croissance des plantes ce qui se traduit d'une manière générale par une augmentation de la biomasse végétale produite. Cette stimulation de la croissance peut aussi se traduire par une floraison et une fructification plus précoces et plus abondantes (Wang *et al.*, 1993).

Certains souches de CMA peuvent même intervenir dans la réduction des effets toxiques causés par les métaux lourds tels que le Cd, le Mn, le Ni, le Pb, le Cu, le Zn, etc. et permettent la réduction de l'absorption de ces métaux par les plantes (Leyval *et al.*, 1997 ; Joner et Leyval, 2001 ; Weissenhorn *et al.*, 1995 ; Killham et Firestone, 1986).

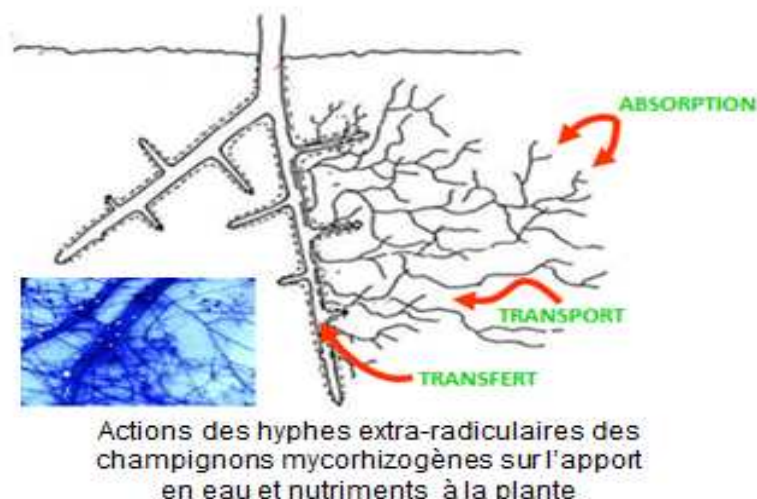


Figure 13 : actions des hyphes extra-radicales des champignons mycorrhizogènes sur l'apport en eau et nutriments à la plante.(fao.org).

## VII.2. La nutrition phosphatée :

### VII.2.1 Absorption et transport de phosphore :

Dans le sol, les formes minérales du phosphore diffèrent selon le degré d'assimilabilité.

Les formes immédiatement assimilables par les plantes sont représentées par les ions ortho-phosphates :  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  à un pH acide et les ions  $\text{HPO}_4^{2-}$  à un pH > 5 dans la solution du sol. Ces formes sont qualifiées par certains auteurs de phosphore bio-disponible ou phyto-assimilable (Frossardet *al.*,1995). Les ions phosphates adsorbés à la surface des colloïdes (argile, humus) par l'intermédiaire des cations de calcium et d'aluminium diffusent dans la solution du sol au fur et à mesure que celle-ci s'appauvrit suite à sa consommation par les plantes (Dommergues et Manganot, 1970). L'ion  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  est le plus utilisé par les plantes.

L'absorption de phosphates par la plante implique très probablement des transporteurs de la famille Pht1 (Godfroy, 2008).

### VII.2.2.Rôles des mycorhizes dans l'amélioration de la nutrition phosphatée :

Autour des racines et des poils absorbants, une zone appauvrie en phosphate se crée car le phosphate étant très peu mobile, une fois absorbé par les racines, il met du temps à être remplacé. Les champignons MA permettent d'augmenter le volume de sol exploré et de dépasser cette zone d'appauvrissement grâce à leur mycélium extra-racinaire composé, d'hyphes très fins et bien plus longs que les poils absorbants (environ 100 fois plus) (Javot et *al.*, 2007). Ils augmentent les surfaces absorbantes du système racinaire et élargissent la zone d'épuisement en phosphore (OwusuBennoah et Wild, 1979).(Siverding, 1991 ; Marscher

,1991) constatent que le taux de phosphore absorbé par unité de longueur de la racine colonisée et 2 à 3 fois plus élevé que dans les racines non colonisées. L'efficacité de systèmes racinaires mycorhizes est due principalement à une extension de la surface d'absorption et le volume du sol prospecté grâce aux hyphes fongiques. (Sylvia,1986) a mesuré une moyenne de 12 mètres d'hyphes de champignons endomycorhiziens par gramme de sol dans une dune subtropicale et estime que la longueur d'hyphes qui se développent autour de la racine peut atteindre 200 à 1000 mètres pour un centimètre de racine. (Dodd, 1994) rapporte que le mycélium extracellulaire de *Glomus geosporum* et *Glomus monosporum* peut atteindre une distance de 6 à 9 cm au-delà de la racine.

Les ions phosphates situés en dehors de la zone d'épuisement de la racine sont ainsi à la portée des mycorhizes (figure 14), et sont véhiculés sans obstacle sur des distances que les mécanismes de diffusion et de convection ne permettent pas de franchir dans un intervalle de temps compatible avec la durée d'une culture (Plenchett, 1982).

### VII.2.3 La solubilisation des phosphates :

La solubilisation des phosphates par les champignons mycorhiziens à arbuscules est faite grâce aux acides organiques (Gadd, 1999). Parmi les acides organiques qui jouent un rôle important dans la solubilisation des phosphates naturels, les acides oxalique, malique et citrique qui sont considérés comme des agents chélatants efficaces pour les métaux trivalents (exemple :  $Al^{3+}$  et  $Fe^{3+}$ ) et aux enzymes libérés dans le milieu par les champignons (Feng et al., 2003).

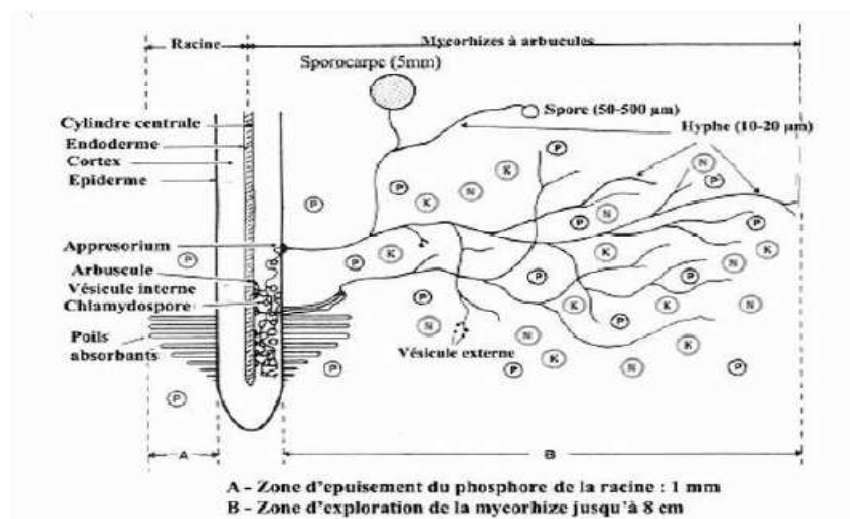


Figure 14 : Le mycorhize (B) explore un plus grand volume de sol que la racine avec ses Poils absorbants (A) (d'après Plenchette, 1982).

#### **VII.2.4. La minéralisation du phosphore organique :**

Quelques auteurs ont suggéré que, grâce aux hyphes fongiques, les racines mycorhizées pourraient avoir accès au phosphore de la matière organique (Jayachandran *et al.*, 1992).

La minéralisation microbienne du phosphore organique se fait par l'action d'enzymes déphosphorylantes (phosphatases) synthétisées par les micro-organismes. La réaction la plus connue est l'attaque de l'acide phytique avec libération de phosphate (Dommergues et Mangenot, 1970).

Acide phytique (C<sub>6</sub>H<sub>18</sub>O<sub>24</sub>P<sub>6</sub>) + H<sub>2</sub>O → Inositol (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) + 6H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>

#### **VII.3. La nutrition azotée :**

##### **VII.3.1 Absorption et transport de l'azote minéral (nitrate et ammonium) :**

Selon le degré de minéralisation et de nitrification, les concentrations en nitrate et ammonium dans les sols sont très variables (quelques micro-molaires à plusieurs millimolaires) (Marschner, 1995).

Les plantes se sont adaptées et ont ainsi développé des systèmes spécifiques de transport de nitrate ou d'ammonium : un système de transport à haute affinité ou HATS pour High Affinity Transport System, et un système de transport à basse affinité ou LATS pour Low Affinity Transport System (Crawford et Forde, 2002). Par définition, les transporteurs de type HATS interviennent dans le transport d'azote présent en faible concentration dans le milieu (< 0,5 mM), et les transporteurs de type LATS sont particulièrement actifs pour de fortes concentrations externes (> 0,5 mM).

Le transport du nitrate nécessite un système de transport actif couplé à une H<sup>+</sup>/ATPase (l'absorption d'un anion NO<sub>3</sub><sup>-</sup> se fait avec 2H<sup>+</sup> par un mécanisme de symport) (Glass et Siddiqi, 1995).

Le transport d'ammonium est assuré par des canaux uni-port d'ammonium voltage dépendant, piloté par la famille de transporteurs ATAMT Ludewig *et al.*, (2002).

##### **VI.3.2 Rôles des mycorhizes dans l'amélioration de la nutrition azotée :**

L'augmentation des teneurs en azote dans le cas de plantes mycorhizées résulte principalement de la capacité du champignon à améliorer la décomposition de la matière organique et à améliorer la minéralisation de l'azote de la matière organique (Hodge *et al.*, 2001). L'apport des mycorhizes dans la nutrition azotée, est donc bien identifié comme résultant d'un accroissement de la nutrition phosphatée (Mosse, 1977).

La fixation d'azote ne peut en effet être pleinement efficace que si la nutrition phosphatée de la plante est satisfaisante.

Le champignon absorbe les ions nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) et ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) présents dans le sol par l'intermédiaire du mycélium extra-radicalaire (1). Au niveau de ce mycélium, le métabolisme du champignon stocke l'azote prélevé sous forme de glutamine (2) et l'exporte vers le mycélium intra-radicalaire sous forme d'arginine (3) (figure 15). Dans la racine, l'arginine est soit utilisée pour le métabolisme du champignon (4), soit dégradée en ammonium puis exportée vers la plante par l'intermédiaire d'un transporteur (AMT) (5).

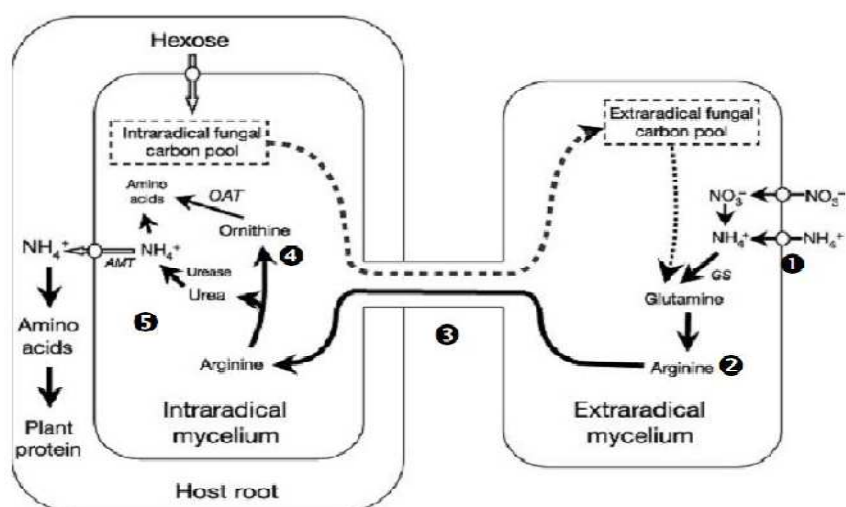


Figure 15 : Echanges de composés azotés au cours de la symbiose mycorhizienne (d'après Govindarajulu *et al.*, 2005 ;Godfroy, 2008).

#### **VII.4.L'absorption des oligo-éléments :**

Si l'amélioration de la nutrition minérale par la symbiose mycorhizienne a été surtout étudiée pour le phosphore, on sait qu'une nutrition équilibrée dépend aussi d'autres éléments tels que le soufre et les oligo-éléments comme le cuivre, le zinc, le manganèse et le fer (Kothari *et al.*, 1990). Ces éléments sont peu mobiles dans le sol et on estime que leur mécanisme d'absorption est le même que le phosphore, c'est-à-dire que l'augmentation de leur prélèvement est essentiellement due à une meilleure exploration du sol par les hyphes extra-racinaires. (Vinayak et Bagyaraj, 1990) ont effectivement observé une mobilisation plus importante du phosphore, zinc et du cuivre chez des plantes mycorhizées de Citrange "Troyer" (porte-greffe d'agrumes), par rapport aux mêmes plantes non mycorhizées.

#### **VII.5.Agrégation des sols :**

Les mycéliums ont la propriété d'excréter une glycoprotéine, la glomaline. Les champignons mycorhiziens qui sont très abondants dans certains sols peuvent en produire des quantités importantes, dont plusieurs études ont montré le rôle dans la stabilité structurelle de sol.

La glomaline agit comme une colle qui assemble les particules les plus fines du sol pour en faire des agrégats dont on connaît le rôle fondamental pour la fertilité des sols, en retenant l'eau et les éléments minéraux et en favorisent les échanges gazeux et l'aération et évitant l'érosion des sol (Fortine et *al.*,2008).

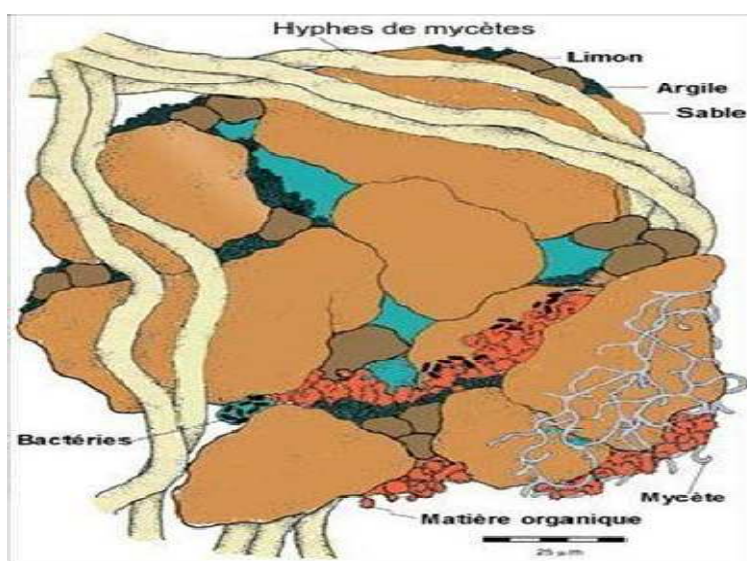


Figure 16: schéma de la formation d'un agrégat du sol. (scoopti.fr).

#### **VII.6. Protection contre les organismes pathogènes :**

Dans la nature, les plantes sont continuellement soumises à des agressions de la part des microorganismes phyto-pathogènes et organismes herbivores ; les plantes inoculées avec des champignons mycorhiziens à arbuscules sont plus résistantes aux attaques de champignons pathogènes et à l'exposition à des toxines du sol (Fitter, 1991 ; Moser et Haselwandter , 1983 ;Schiapp et *al.*,1987). Ces champignons mycorhiziens peuvent intervenir de 2 façons et à 2 endroits pour protéger les racines contre les champignons pathogènes : dans la rhizosphère et dans les tissus racinaires (Budiet *al.*, 1999).

A l'échelle de la rhizosphère et surtout de la mycorhizosphère, l'espace entourant immédiatement le mycorhize, les micro-organismes sont confrontés à la compétition et à l'antagonisme, ce qui a pour effet d'établir une flore microbienne diversifiée et équilibrée.

Dans cet environnement, les propagules des champignons pathogènes ne parviennent pas à proliférer et leur nombre reste toujours relativement faible.

Le second mécanisme permettant aux plantes mycorhizées de mieux résister aux maladies est lié à des modifications des activités physiologiques dans la racine. Les plantes mycorhizées agressées par un agent pathogène réagissent en produisant des substances antibiotiques contre ces organismes (Fortine *et al.*, 2008).

#### **VIII. Les facteurs limitant la mycorhization :**

Le comportement des champignons mycorhiziens dépend des facteurs environnementaux régnant au sein de leur biotope (Sturmer et Bellei, 1994). La formation, le développement et l'efficacité de la symbiose endomycorhizienne ne sont pas liés seulement aux espèces de plantes hôtes et des champignons mais également à tout un ensemble de facteurs tels que les fongicides, le travail du sol, sels sodique, métaux lourds, la température, le pH, et l'excès de phosphore.

Les fongicides ont généralement une action répressive sur le développement des CMA (Menge, 1982 ; Trappe *et al.*, 1984). La fonction de cette action dépend de la substance active, du mode d'action, de la dose utilisée et de la date d'application (Jabaji-Hare *et al.*, 1984 ; Miranda, 1989). L'effet des fongicides sur les CMA est plus important au stade "jeunes plantes". Lorsque la mycorhization est bien installée, l'application des fongicides a moins d'effets. Les herbicides ont généralement peu ou pas d'effet direct sur les CMA. Ils peuvent, néanmoins, éliminer certaines plantes mycotrophes et par conséquent entraîner la réduction du pouvoir infectieux dans le sol.

Le travail intensif du sol a un effet significatif sur la charge mycorhizienne. Il entraîne une fragmentation du mycélium extra-racinaire (Hamel *et al.*, 1994) et réduit la densité des spores (Galvez *et al.*, 2001) et la diversité en espèces (Jansa *et al.*, 2002). Ces effets causent une diminution de la charge mycorhizienne dans le sol ce qui entraîne des répercussions sur la nutrition minérale et par conséquent sur la croissance des plantes hôtes.

La présence de sels sodique (NaCl) dans un sol influence la composition de la flore endomycorhizienne, puisque le sel retarde la germination des spores des champignons à arbuscules et réduit le taux d'élongation du mycélium (Juniper *et al.*, 1993 ; Millen *et al.*, 1998). La propagation du mycélium et la colonisation des racines de la plante hôte sont significativement réduites (Mc Millen *et al.*, 1998 ; Ruiz-Lozano *et al.*, 2000). La chute de la viabilité des mycéliums mycorhiziens sous stress salin peut être un facteur critique dans la survie et la réussite de la mycorhization (Dixon *et al.*, 1973).

Toutefois, certains champignons symbiotiques sont capables de se développer dans de telles conditions (Pond et *al.*,1984). En effet, l'association endomycorhizienne a été observée dans des environnements à forte salinité chez plusieurs espèces végétales (VanDuin et *al.*,1989 ; Cooke et Lefor, 1990). Certaines espèces de champignons mycorhiziens à arbuscules possèdent une large tolérance à la salinité (Rosendahl, 1991; Dixon et *al.*, 1993).

Les métaux lourds peuvent réduire et éliminer la colonisation des racines par les champignons mycorhiziens ainsi que la germination des spores des champignons mycorhiziens à arbuscules (Gildon et Tinker, 1981). Les concentrations les plus élevées en métaux lourds dans le sol diminuent significativement le nombre total de spores, la taille et la diversité des populations mycorhiziennes dans le sol (Del Val et *al.*, 1999). Les travaux de Boyle et Paul (1988) montrent qu'il existe une corrélation négative entre la concentration de zinc et la colonisation des racines par le champignon à arbuscules dans des sols traités par des boues industrielles. La symbiose mycorhizienne est aussi influencée par la température du sol (Smith et Bowen, 1979). L'inoculation mycorhizienne à arbuscules pourrait être diminuée sous l'effet d'un faible PH (Heijne et *al.*, 1996). Des niveaux excessifs de phosphore empêcheraient également la germination des spores et inhibent la croissance des mycéliums issus des spores germées ainsi que le développement des mycéliums externes (Abbott et *al.*, 1984).

## **IX. L'inoculation mycorhizienne :**

### **IX.1. Définition :**

Le terme inoculum désigne les spores et /mycélium en solution ou non que l'on va introduire dans le milieu de culture. Il devra être vierge de tout organisme pouvant rentrer en compétition.

### **IX.2. Facteurs déterminants la réussite de l'inoculation de CMA sur les cultures :**

Les facteurs qui ont une influence sur la réponse des plantes à la colonisation par les MA sont la plante-hôte, le bilan minéral du sol, et l'inoculation potentielle des champignons producteurs de MA. Les pratiques agricoles, la rotation des cultures et la jachère peuvent affecter les populations d'AMF (Sylvia,2000).

Selon Angulo (1997) Contreras (1987) et Ruiz (1993), interviennent également des facteurs environnementaux tels la température ou la disponibilité en eau pour la plante-hôte.

Les techniques d'inoculation sont différentes selon l'espèce-hôte (par aspersion, enrobage de graines...) et ne se pratiquent pas nécessairement aux mêmes moments du stade de développement (Fao, 2005).

### **IX.3. Les modalités d'inoculation :**

Les inocula peuvent être apportés de diverses façons le plus souvent, ils sont introduits en les mélangeant aux substrats de culture ou à la couche superficielle du sol. Les effets généralement observés sont une meilleure reprise et un développement végétatif plus robuste.

D'autres modes d'inoculation peuvent être pratiqués, comme le pralinage des racines et l'injection au pied des arbres. De nouvelles technologies sont aussi en développement, comme l'enrobage de graines avec des spores de champignons MA, ou leur distribution via les circuits d'arrosage. Leur réussite devrait fortement favoriser l'essor de l'utilisation des champignons MA en production végétale.

## **X. La plante hôte :**

### **Ail à 3 angles / *Allium triquetrum* L. / Amaryllidaceae**

#### **X.1. Définition :**

L'ail à trois angles ou ail triquètre est une plante de la famille des Amaryllidacées qui pousse en Méditerranée. Utilisée pour l'ornement, elle s'est naturalisée en Grande-Bretagne, en Bretagne et en Normandie, principalement sur le littoral. Elle pousse souvent sur les talus, en groupes assez denses.

En raison de son développement rapide, particulièrement en périphérie des zones urbaines et le long des sentiers, l'ail triquètre est considéré en Bretagne comme une espèce invasive préoccupante. Sa prolifération en tapis dense entraîne la disparition des espèces locales.



Figure 17: l'*Allium triquetrum*.(wikipedia.org).

## **X.2. Caractéristique :**

L'*Allium triquetrum* est un petit ail d'ornement, qui porte des fleurs en clochettes blanches aux nervures vertes. Sa tige a la particularité d'être triangulaire d'où son nom d'Ail à trois angles ou à tige triquète.

C'est une plante bulbeuse, tapissant, haute de 20 à 40cm, à tige glabre, triangulaire, épaisse. Elle porte des feuilles caduques, linéaires, plates, larges de 5 à 10mm, vert moyen. De mars à mai, des inflorescences poussent aux extrémités des tiges en ombrelles lâches, retombantes de 3 à 5 clochettes blanches à cœur et nervure centrale des pétales verts. Coupée, elle dégage une forte odeur d'ail.

Originnaire des régions méditerranéennes, l'*Allium triquète* tolère tous les sols riches, frais et bien drainés en situation chaude. Paillez en hiver pour le protéger du froid, il devient vite envahissant. La culture en pot est possible dans les régions de grand froid. (Algerie)

**X.3. Classification de Cronquist (1981) :**

<u>Règne</u>	<u>Plantae</u>
<u>Sous-règne</u>	<u>Tracheobionta</u>
<u>Division</u>	<u>Magnoliophyta</u>
<u>Classe</u>	<u>Liliopsida</u>
<u>Sous-classe</u>	<u>Liliidae</u>
<u>Ordre</u>	<u>Liliales</u>
<u>Famille</u>	<u>Aliaceae</u>
<u>Genre</u>	<u>Allium</u>
<u>Espece</u>	<i>Allium triquetrum</i>

**X.4. Ecologie :**

L'ail à 3 angles a des origines méditerranéennes.

Cette plante se multiplie par graines mais aussi par division du bulbe principal.

De nature vigoureuse et prolifique, elle s'est naturalisée dans de nombreuses localités et son invasion est préoccupante. Une fois installée, les espèces locales disparaissent et il est impossible de s'en débarrasser.

Elle croît souvent sur les talus, les friches et les fossés en population dense une fois bien installée.

On la trouve du bord de mer jusqu'aux collines.

Elle est plutôt rare et localisée pour le moment, toujours en population importante.

**X.5. Description :**

Un petit bulbe de forme ovoïde, blanc, donne naissance à deux ou trois longues feuilles basales.

A l'écrasement, il se dégage une forte odeur d'ail.

La tige florale mesure de 20 à 40 cm, de forme triangulaire (cf. « à 3 angles, ou triquètre »).

Elle porte des fleurs blanches, du mois de mars à juin, en ombelle penchée d'un seul côté

Au milieu des pétales, on distingue une nervure verte.

#### **X.6.Utilisation :**

Il a été introduit grâce à ses propriétés culinaires et ornementales.

Tout comme l'ail de cuisine, cet ail est comestible :

Le bulbe, les feuilles et les fleurs se mangent. Toutefois à l'endroit où vous le ramasserez.

Certaines zones de récolte ne sont pas conseillées comme les bords de sentier fréquentés par exemple.

Concernant le jardin d'ornement, c'est une belle plante facile de culture et magnifique à la floraison, mais ses propriétés invasives ne jouent pas en sa faveur.

Nous vous déconseillons de planter cet ail, quel que soit l'endroit, mais aussi de manipuler des bulbes.

L'emploi d'un désherbant commercial n'est efficace que sur la partie visible de la plante, mais pas sur le bulbe.

D'une manière générale, il faut se méfier de tous les « légumes-racines » qui repartent d'eux même, comme par exemple le poireau perpétuel, l'oignon rocamboule, le topinambour...

Pour toutes ces raisons, suivez notre conseil : évitez de planter cet ail chez vous ! Mais si vous trouvez une belle station où il est déjà installé



*CHAPITRE II :*  
*MATÉRIELS ET*  
*MÉTHODES*

## **I. But de l'expérimentation :**

Cette expérimentation rentre dans le concept de la gestion des mycorhizes des agro écosystèmes comme étant des services éco systémiques à valoriser. Pour cela nous avons trouvé utile d'étudier la rhizosphère d'une espèce spontanée l'ail triquètre(*Allium triquetrum*) ou l'ail à trois angles pouvant être utilisée comme inoculum endomycorhizien.

Le travail a comporté trois volets qui sont comme suit :

1. Observation de la mycorhization racinaire de l'espèce concernée.
2. Dénombrement et identification des spores de champignons endomycorhiziens dans la rhizosphère.
3. Etude des caractéristiques physicochimiques du sol rhizosphérique.

## **II. Echantillonnage :**

### **II.1. Caractéristiques du lieu de prélèvement des échantillons :**

L'échantillonnage a eu lieu sur plusieurs points dans une prairie naturelle au niveau de la région de Draa el mizan située à 42km de la wilaya de tiziouzou 36°32'06.0"N 3°50'01.0"E(pluviométrie, Température)

Les plaines de Draâ El Mizan Région à forte hydrographie, elle se développe sur une trentaine de Km à une altitude n'excédant pas les 300 mètres. Elle est constituée de plaines longilignes fertiles faiblement vallonnées sur une superficie de 24000 ha. Elle se présente comme une étroite dépression enclavée entre les versants sud des monts du massif central et nord du Djurdjura.

### **II.2. Matériel végétal :**

L'ail triquètre(*Allium triquetrum*) apparait à la fin de l'hiver, au début du printemps, il fait surface et envire ses environs d'une odeur légère d'ail. Cette plante pousse, en masse, dans les endroits ombragés et humides et/ou près des petits cours d'eau. Les premières feuilles apparaissent entre les mois de février les fleurs blanches entre les mois mars et avril.

### **II.3. Mode d'échantillonnage :**

Des plantules d'ail triquètre choisis aléatoirement sont prélevées entièrement avec leur système racinaire et 2 à 3kg du sol rhizosphérique à une profondeur de 30cm au maximum selon Alexander (1986), les mycorhizes en général ne dépassent jamais 10 cm de profondeur.

L'échantillonnage est réalisé à la fin de l'hiver (fin Février début Mars) alors que la plante était bien fleurie, stade favorable pour un maximum de mycorhization.

### **III. Les observations réalisées au laboratoire :**

#### **III.1. Observation de la mycorhization racinaire du matériel végétal récolté :**

Le système racinaire des plantules déterrées est délicatement lavé à l'eau pour éliminer toutes les traces de sol en prenant le soin de le garder le plus complet possible, par la suite les racines sont colorées au bleu de trypan selon la technique de Philips et Hayman (1970)(voir annexe 1 )ce qui nous a permis de mettre en évidence au microscope photonique l'infection racinaire mycorhizienne à arbuscules.



Photo1 : conservation et montage des échantillons racinaires colorés au Bleu de Trypan.

#### **III.2. Extraction par tamisage humide et dénombrement des spores à partir du sol**

- **Extraction :**

Les échantillons du sol sont traités par la technique d'extraction de tamisage humide (Gerdmann 1963 et Daniel et Skipper, 1982).

Les spores ont été extraites à partir de cinq échantillons de 10g de sol, qui sont mis chacun dans environ 500 ml d'eau de robinet, le mélange est agité longuement pour

l'homogénéisation, puis laissé au repos pendant 1 min, il est par la suite tamisé sous filet d'eau à travers des tamis de mailles allant de 2 mm à 200  $\mu\text{m}$  et 50  $\mu\text{m}$  disposés respectivement l'un au-dessus de l'autre.

Les suspensions retenues uniquement par les tamis de 200 $\mu\text{m}$  et 50  $\mu\text{m}$  sont transférées chacune dans un bécher et feront l'objet d'une double centrifugation eau /saccharose à 20%, à 2 000 trs/mn pendant 5min afin de séparer les spores des particules de sol et des fragments racinaires.

- **Dénombrement :**

Après centrifugation, le surnageant est récupéré et filtré sur du papier absorbant (papier mouchoir). L'estimation du nombre de spores de chaque échantillon a été effectué par comptage sous loupe binoculaire. Les spores de chaque échantillon de sol (5) sont récupérées avec une pince dans des petits flacons hermétiques contenant de l'eau et conservées au réfrigérateur.



Maille 2mm

Maille 200 $\mu\text{m}$

Maille 50 $\mu\text{m}$

Photo2 : tamis utilisés pour l'extraction des spores.

### III.3. Identification des spores :

Les spores sont examinées sous la loupe binoculaire, et placées entre lame et lamelle contenant un fixateur (lactoglycerole) pour être observées au microscope photonique (x 10, x 40) muni d'un microscope oculaire. Les spores sont séparées par morphotype (forme, taille, couleur) et elles sont photographiées. L'identification des espèces basée sur les caractères morphologiques, a été réalisée en utilisant des descriptions d'espèces d'origine comme la clé Blazkowski (Blazkowski, 2012) et des sites spécialisés (Blazkowski <http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota> et INVAM: <http://invam.wvu.edu>). L'abondance relative des spores est déterminée (Johnson et *al.*, 1991) comme suit:

$$\text{Abondance relative} = \text{NSE} \times 100 / \text{NSTE}$$

Où NSE = nombre total de spores observées d'une espèce de Glomerales et  
NSTE = nombre total des spores observées pour toutes espèces confondues.

### IV. Les caractéristiques physiques et chimiques du sol :

#### IV.1. Les caractéristiques physiques :

L'analyse granulométrique est réalisée suivant la méthode normalisée AFRON NF X 31-107 (voir annexes).

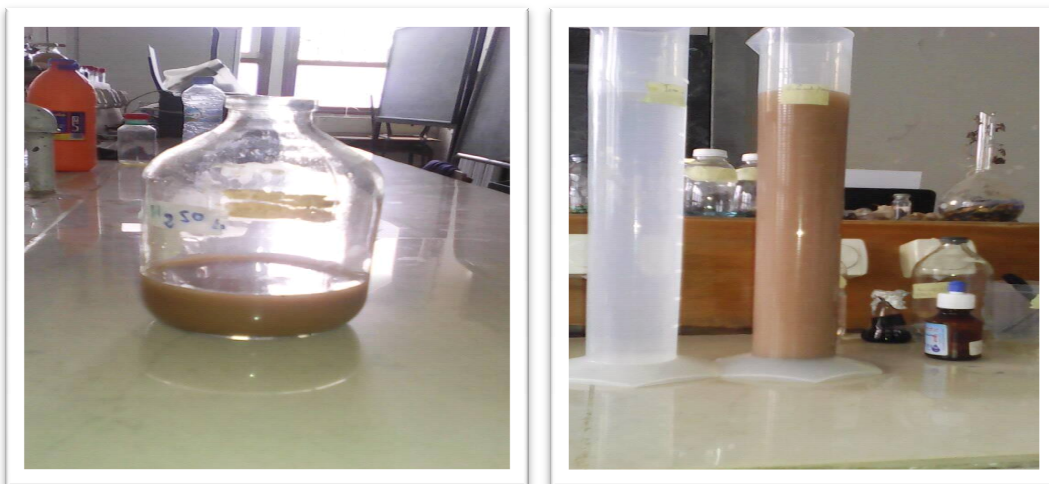


Photo 3: destruction de la matière organique (à gauche) et fractionnement granulométrique.

**IV.2 La conductivité électrique :**



Photo 4: conductimètre : conductivité électrique des solutions du sol.

**IV.3. Le potassium :**

La mesure de la teneur en potassium est réalisée suivant la norme d'AFNOR NF X31-108. (Voir annexe).



***RÉSULTATS ET  
DISCUSSIONS***

### I- Caractéristiques physico-chimiques de sol :

Tableau II : caractéristiques physicochimiques de sol étudié :

Argile (%)	Limon (%)	Sable grossier (%)	Sable fin (%)	Totale (%)	Carbone (%)	matière organique (%)	Potassium g
19	47	25	9	100	2,337	4,019	28,5

En reportant les pourcentages respectifs en limons, argiles et sables (donnés par une analyse d'un échantillon au laboratoire) dans le triangle textural, on détermine la texture exacte du sol.

Les résultats des caractéristiques physico-chimiques de site étudié montrent que le sol de l'ail triquètre est constitué essentiellement de limon et de sable, donc il a une structure grumeleuse et une texture limoneuse.

Le taux de MO dans ces sols est de 4,019 ce qui représente un sol faiblement humifère

### Statut mycorhizien et organisation cytologique :

L'observation microscopique des écrasements racinaires d'*Allium triquètre* (*Allium triquëtrum*) après coloration au bleu de trypan a révélé des structures endophytiques caractéristiques des endomycorhizes (Photos 5). Aucune ectomycorhize n'a été observée. Ces structures mycorhiziennes sont des hyphes non septés qui se ramifient le long du cortex racinaire et des vésicules ovales s'intercalant entre les cortex cellulaires en plus des foies d'arbuscules, ce qui classe l'ail triquètre comme une espèce à vocation mycorhizienne arbusculaire.

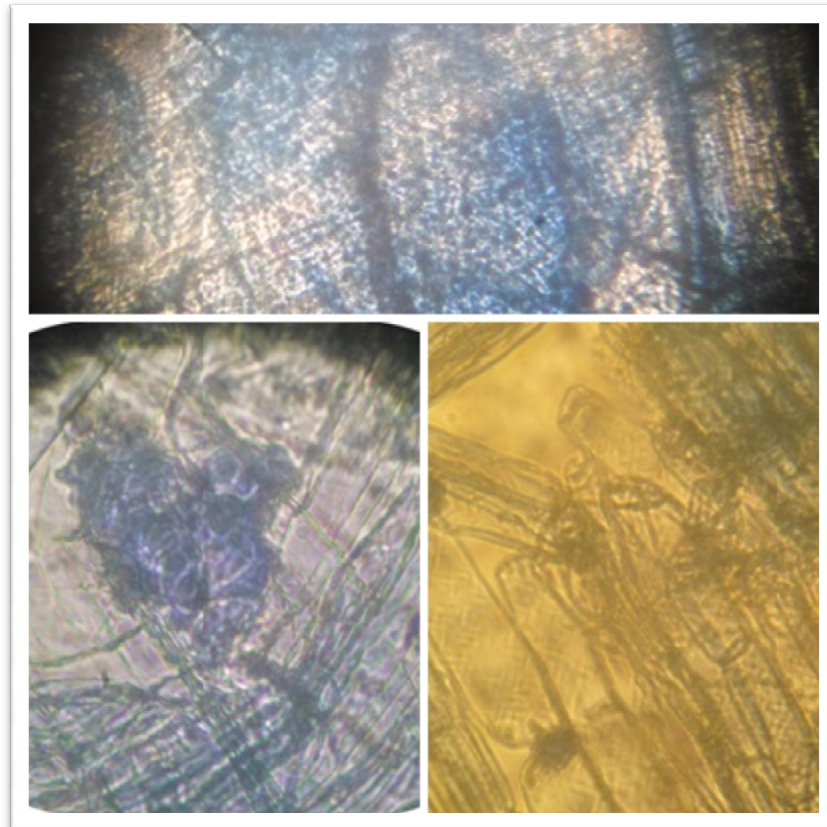


Photo 5 : Structures spécifiques aux CMA observés sur écrasement racinaire D'Allium Triquètrum (en haut coloration du cortex racinaire ; en bas à droite Arbuscules intercellulaires, à gauche présence de vésicules ovales).

### **III- Dénombrement des spores contenues dans les échantillons desol**

L'estimation du nombre de spores a été effectuée par comptage sous laloupe binoculaire, dont la moyenne = 250 spores pour 10g de sol pour 4 échantillons, et le totale = 1170 spores mais seul 120 spores ont été identifiés.

**L'abondance relative des spores** est déterminée (Johnson et *al.*, 1991) comme suit:

$$\text{Abondance relative} = 100 \times \text{NSE} / \text{NSTE}$$

Où NSE = nombre total de spores observées d'une espèce de Glomerales et NSTE = nombre total des spores observées pour toutes espèces confondues.

$$\text{NSTE} = 120 \text{ spores}$$

Abondance relative :

$$\text{Glomus} : 48 \times 100 / 120 = 40\%$$

## ***Résultats***

---

Gigaspora :  $26 \times 100/120 = 21,67\%$

Acaulospora :  $19 \times 100/120 = 15,83\%$

Diversispora :  $8 \times 100/120 = 6,66\%$

Dentiscutata :  $7 \times 100/120 = 5,83\%$

Rhizophagus :  $5 \times 100/120 = 4,17\%$

Septoglomus :  $4 \times 100/120 = 3,33\%$

Scutellospora :  $3 \times 100/120 = 2,5\%$

### **III.1. Distribution et diversité des populations de spores**

Nos observations indiquent la présence de 8 genres « Glomus, Acaulospora, Gigaspora, Rhizophagus, Dentiscutata, Diversispora, Septoglomus, Scutellospora », appartenant à 4 familles différentes : « Glomeraceae, Acaulosporaceae, Gigasporaceae, Diversisporaceae »

## Résultats

Tableau III : les principales caractéristiques, couleur, formes, et diamètres approximatif des différents types des spores et leur identification :

Couleur	Forme	Taille (µm)	Nombre des spores	Identification (genre)
Brun foncé à noir, Pale à brun foncé. Brun foncé Marron claire	Subglobuleuses Globuleuses, ellipsoïdes, irrégulières ou triangulaires,	58 à 250	48 (40%)	Glomus
Jaune brun à orange brun, Pale jaune brun à l'obscurité orange brun, Subhyaline , Pale orange brun	Globuleuses, subglobuleuses, irrégulières ou Oblongue.	80 à 240	19 (15,83%)	Acaulospora
	Globuleuse, subglobuleuse, parfois irrégulières	160 à 440	25 (21,67%)	Gigaspora
Crème pale avec une teinture rose	Ellipsoïde	160 à 280	1	Gigasporarosea
Hyaline à jaune pale, blanc, jaune brun	Globuleuses, obvales, irrégulières, elliptique	40 à 140	5 (4,17%)	Rhizophagus
Rouge brun à orange brun	Globuleuses, subglobuleuse, oblongue	160 à 390	7(5,83%)	Dentiscutata
Orange brun, crème, brun foncé, jaune brun	Globuleuses, subglobuleuses, irrégulières	75 à 540	8(6,66%)	Diversispora
Orange brun à rouge brun foncé, noir	Globuleuses, subglobuleuses, irrégulières	60 à 200	4(3,33%)	Septoglomus
Jaune brun	Oblongue, ellipsoïde	120 à 400	3 (2,5%)	Scutelospora

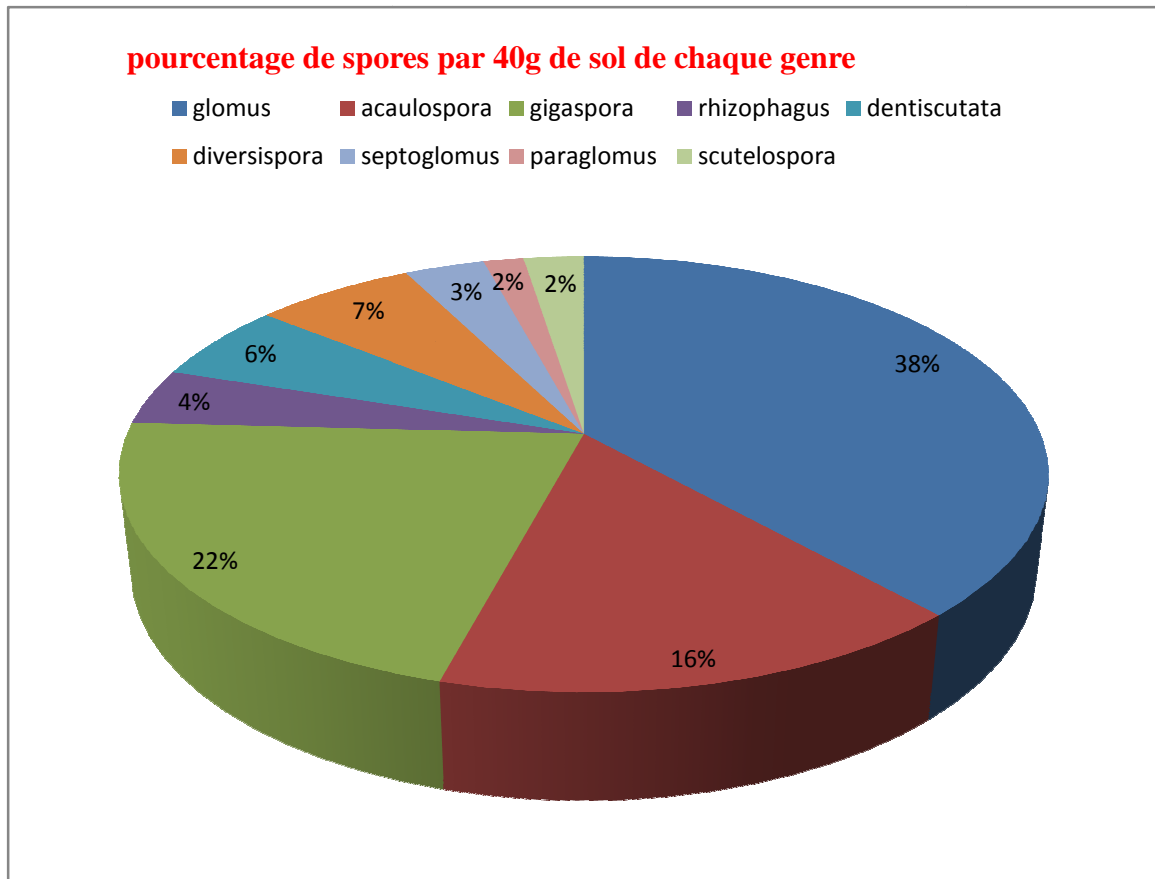


Figure 18 : présentation graphique des différents genres des glomales recensés.

Pour discuter nos résultats il est primordial de commencer par une étude prospective sur les caractères physico-chimiques du sold'Ail triquètre qui montrent une structure grumeleuse et une texture sablo-limoneuse c'est-à-dire qu'il est constitué essentiellement de limon(47%)et de sable (34%), l'argile (19%). La matière organique est de 4,019% c'est-à-dire d'un niveau moyen. Ces paramètres peuvent jouer un rôle essentiel dans la répartition des champignons mycorhiziens. En effet, (Klironomos *et al.*,1993) suggèrent que la matière organique pourrait être un régulateurs de la sporulation des champignons mycorhiziens arbusculaires.

L'analyse microscopique des racines d'Ail triquètre a révélé une grande présence de structures de champignons endomycorhiziens (Hyphes non septés, arbuscules et vésicules) dans les écrasements racinaires observés ; ceci est justifié par l'espèce qui fait partie des *Allium* comme le poireau (*Allium porum*) qui est fortement mycophile et utilisé pour cela dans les essais de piégeage.

L'exploration de l'abondance des Glomales par les caractères morphologiques et nos observations rapportées ici sont conformes à celle rapportée dans les conclusions de (Singh *et al.*, 2008). Le champignon se développe d'une manière simpliste et se propage directement à l'intérieur des cellules du cortex racinaire. Nous avons donc mis l'accent sur l'identification des CMA dans les sols et les racines en fonction de la morphologie caractéristique des champignons. Le nombre de spores récupérées à partir des échantillons de sol est relativement élevé (environ de 2500 spores/100g de sol) ; les caractéristiques morphologiques des spores ont indiqué la présence de champignons AM appartenant à l'ordre Glomérales et des Diversisporales. Donc une diversité importante des types de spores.

Les particularités observées dans ce site font penser que la nature du couvert végétal intervient dans l'abondance et la diversité des spores de glomales. Il convient de noter que la variation du nombre de spores peut être aussi due au processus de formation de spores, leur germination et de la période d'échantillonnage qui coïncide avec le stade floraison de la plante hôte ainsi que des variations climatiques et des propriétés physico-chimiques du sol. On outre, la différence significative observée dans la composition de la population de glomales dans ce site permet d'émettre l'hypothèse de l'influence positive du couvert végétal et sur la répartition et la dynamique des populations de spores.

L'identification des champignons mycorhiziens est une étape qui exige de l'expérience et de la spécialisation. Les résultats que nous avons obtenus sur la base des clés d'identification révèlent une diversité mycorhizienne importante. En effet, nous avons noté la présence de 8 genres et 31 morphotypes de spores. Le genre *Glomus* est largement dominant dans ce sol (40%), suivi de *Gigaspora* (21,67%) ensuite *Acaulospora* (15,83%) *Diversispora* (6,66%), *Dentiscutata* (5,83%), *Rhizophagus* (4,17%), *septoglomus* (3,33%), et enfin *Scutelospora* (2,5%). Phénotypiquement, 4 familles de Glomales sont rencontrées dans ce sol ; il s'agit de la famille des Glomeraceae, Acaulosporaceae, Gigasporaceae, Diversisporaceae.

Ces résultats sont en accord avec ceux observés par Abbas et Abourouh., (2002) et permettent de penser que la distribution naturelle des spores de Glomales serait sous le contrôle de facteurs édaphiques et/ou de la composition floristique (Johnson et *al.*, 1991 ; Bâ et *al.*, 1996).

Différents auteurs ont associé l'incidence élevée des spores de *Glomus* avec leur capacité à produire plus des spores dans un temps plus court que les autres genres. Aussi des études antérieures ont également révélé que les espèces de *Glomus* sont de bonnes colonisatrices de nombreuses plantes, et que le sol sableux est favorable à l'installation de populations élevées de Glomale sous plusieurs climats et latitudes. il ya également une corrélation positive avec l'augmentation de la matière organique ainsi que certains éléments tels le carbone et l'azote (Jhonson *etal.*, 1991).



Cette étude a été consacrée à l'exploitation des spores d'endomycorhizes issues de la rhizosphère d'une espèce végétale spontanée (*Allium triquetrum*) l'Ail triquètre prélevées dans des prairies naturelles au niveau de Draa el mizan (wilaya de Tizi Ouzou).

Les examens microscopiques des fragments des racines de cette plante ont révélé la présence de structures caractéristiques des endomycorhizes arbusculaires : des arbuscules, des vésicules et des hyphes non septés.

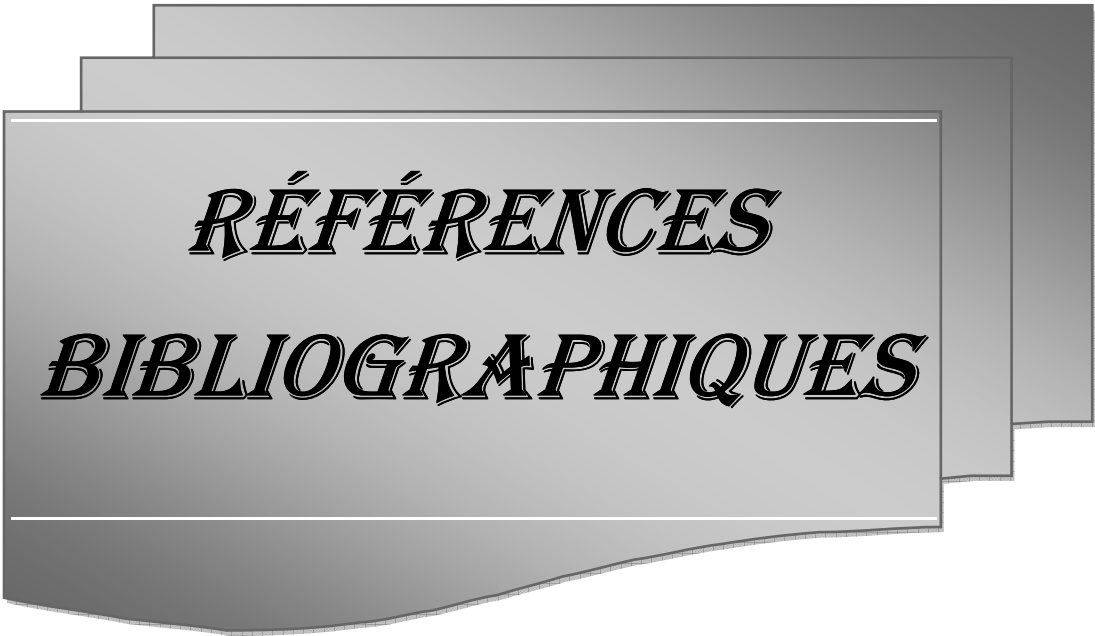
Notre travail a en outre, permis d'identifier après isolement des spores par la méthode de tamisage humide et leur caractérisation morpho typique 8 genres de CMA appartenant à l'ordre des Glomales qui sont « *Glomus*, *Gigaspora*, *Acaulospora*, *Diversispora*, *Dentiscutata*, *Rhizophagus*, *Septoglomus* et en fin *Scutellospora* » et 31 morphotypes, la fréquence de ces genres est 40%, 21,67% , 15,83%, 6,66%, 5,83%, 4,17% 3,33% et 2,5% respectivement . Ces résultats mettent en évidence une prédominance et une diversité relative des espèces du genre *Glomus*.

Les variabilités quantitatives et qualitatives observées dans l'étude de pouvoir endomycorhizogène de sol seraient probablement du aux conditions climatiques et /ou édaphiques. Cette étude taxonomique mérite d'être approfondie pour déterminer l'effet des conditions écologiques sur la diversité des sols en inoculum, par l'utilisation des techniques de biologie moléculaire (PCR, RFLP, RAPD, séquençage de l'ADN) pour caractériser les champignons non identifiés notamment du genre *Glomus* et établir les relations phylogénétiques entre les espèces de champignons MA. Une voie de recherche future doit également privilégier l'identification au niveau spécifique des différents spécimens et reconsidérer la taxonomie des Glomales, par ce que les champignons mycorhiziens sont des composants essentiels de la rhizosphère des plantes dans les écosystèmes naturels et importants pour des systèmes plante-sol durables en raison de leur efficacité symbiotique.

La richesse rhizosphérique de l'ail triquètre permet d'être exploitée comme inoculum mycorhizien dans le cadre de la valorisation des bio-fertilisants ouvrants une voie à l'agriculture durable et conservatrice dans les zones hostiles.



*CHAPITRE I :*  
*PARTIE*  
*BIBLIOGRAPHIE*



***RÉFÉRENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES***

## Références bibliographiques

---

- Abbas Y et Abourouh M, 2002. Les mycorhizes à arbuscules et possibilité d'amélioration de la qualité des plants en pépinières forestières. *Ann. Rec. For.* 35 : 1-15.
- Abbott L .K ;Robson A. D et Boer G, 1984. The effect of phosphorus on the formation of hyphae in soil by the vesicular- arbuscularmycorrhizal fungus *Glomus fasciculatum*. *New phytol.*97: 437-446.
- Ames R.N et Schneider R.W, 1979. *Entrophospora*, a new genus in the endogonaceae. *Mycotaxon* 8, pp. 347-352.
- Andre J.F ; Planchette C ;PicheY, 2004. Les mycorhizes. La nouvelle révolution verte. Edition *multi monde*.
- Azcón-Aguilar C. and Barea J.M., 1992. Interactions between Mycorrhizal fungi and other rhizosphere microorganisms. En: Allen M.F. (ed) *Mycorrhizal functioning: An integrative plant-fungal process*. Chapman & Hall, New York, pp. 163-198
- Bâ A ; Dalpé Y et Guissou T, 1996. Les Glomales d'*Acacia holocericea* et d'*Acacia magium*. *Bois et Forêts des Tropiques*, 250 : 5-18.
- Bago B ;AzcónA.C ; Goulet A et Piché Y, 1998. Branched absorbing structures (BAS): a feature of the extraradical mycelium of symbiotic arbuscularmycorrhizal fungi. *New Phytologist* 139 : 375-388.
- Balandreau J et Knowles R, 1978. The rhizosphere. In *Interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants*. Dommergues Y.R. and Krupa S.V. eds. Elsevier, Amsterdam. 475 p.
- Baudoin E ; Benizri E et Guckert A, 2001. Impact of artificial root exudates on the bacterial community structure in bulk soil and maize rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 1183-1192.
- Berch S. M;Forthine J.A, 1983. Lectotypification of *Glomus macrocarpum* and proposal of new combination : *Glomus australis*, *Glomus versiforme*, and *Glomus tenebrum* (Endogonaceae). *Can. J. Bot.* 61:2608-2617.
- Blaszkowski J, 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota), *Endogone* and *complixipes* species deposited in the Department of Plants Pathology, University of Agriculture in Szczecin, Poland, 230p.
- Blaszkowski J; Czerniawska B, 2008. *Glomus eburneum* and *Scutellosporafilgida*, species of arbuscularmycorrhizal fungi (Glomeromycota) new for Europe. *Acta Mycol* 43 (1): 57-65.
- Bodelier P.L. E; Wijilhuizen A.G ; Blom C.W.P.M et Laanbroek H. J, 1997. Effects of photoperiod on growth of and denitrification by *Pseudomonas chlororaphis* in the root zone of *Glyceria maxima* studied in a genotobiotic microcosm. *Plant and Soil*, 190, 91-103.

## Références bibliographiques

---

- Bolan N.S., 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil*, vol. 134, pp. 189-207.
- Bonfante F. P; Dexheimer J; Gianinazzi S; Gianinazzi V; Pearson et Scannerini S, 1981. Cytochemical modifications in the host-fungus interface during intracellular interaction in vesicular Arbuscularmycorrhizae, *Plant Science*.22: 13-21.
- Bothe H; Klingner A; Kaldorf M; Schmitz O; Esch H; Hundeshagen B; Kernebeck B, 1994. Biochemical approaches to the study of plant-fungal interactions in arbuscularmycorrhiza Institut, Universitiit zu Kdln, Gyrhofstr. 15, D-50923 K6ln (Germany).
- Boullard B, 1990. Guerre et paix dans le règne végétal. Edition marketing, p. 336.
- Brundett M. C ;Melville Let Peterson R. L, 1994. Practical methods in mycorrhiza research. Mycological publication, Waterloo, Canada, 161 p.
- Budi S.W;Blal B; Gianinazzi S, 1999. Surface- sterilization of *Glomus mosseae* sporocarps for studying endomycorrhization in vitro. *Mycorrhiza*, 9 : 65-68.
- Caravaca F., Barea J.M., Figueroa D. and Roldán A., 2002. Assessing the effectiveness of mycorrhizal inoculation and soil compost addition for enhancing reforestation with *Olea europaea* subsp. *sylvestris* through changes in soil biological and physical parameters. *Applied Soil Ecology*, 20 : 107-118
- Charest C ;Dalpe Yet Brown A, 1993 .The effect of vesicular arbuscularmycorrhizae and chilling on two hybrids of *Zea mays* L. *Mycorrhizae* 4 :89-92.
- Christensen H et Jakobsen I, 1993. Reduction of bacterial growth by a vesicular–arbuscular mycorrhizal fungus in the rhizosphere of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Biol. Fert. Soils*.15 : 253–258.
- Clark F.E, 1949. Soil microorganisms and plant roots. *Advances in Agronomy*, 1, 241-288.
- Cooke J. C et Lefor M. W, 1990. Comparison of vesicular-arbuscularmycorrhizae in plants from distributed and adjacent undistributed regions of a coastal salt marsh in Clinton Connecticut, USA, *Environ. Management*. 14 : 131-137
- Corgie C ; Joner E J ; et Leyval C, 2003. Rhizospheric degradation of phenanthrene is a function of proximity to roots. *Plant and Soil*, 257, 143-150.
- Crawford N.M et Forde B.G, 2002. Molecular and Developmental Biology of Inorganic Nitrogen Nutrition. In *The Arabidopsis Book*. Edited by Meyerowitz E, Somerville C, American Society of Plant Biologists, Rockville, MD, doi/10.1199/tab.0011: 1-25.
- Dalpe Y, 1997 .Biodiversité des champignons mycorrhiziens. Rapport préparé pour la troisième réunion du « Subsidiary Body on scientific, technical and technological advice (SBSTTA) ». Centre des recherches de l'est sur les céréales et les oléagineuses (CRECO). Convention sur la Biodiversité, Montréal, Québec, Canada, du premier au cinq septembre 1997.

## Références bibliographiques

---

- Darrah P.R, 1991. Models of the rhizosphere. Microbial population dynamics around a root releasing soluble and insoluble carbon. *Plant and Soil*, 133, 187-199.
- Davet P, 1996. Vie microbienne du sol et production végétale. 1ère édition, INRA, Paris.
- Davies F.T; Potter J.R; Linderman R.G , 1992. Drought resistance of mycorrhizal pepper plants independent of leaf P concentration-response in gas exchange and water relations. *Physiologia Plantarum*, 87: 45-53.
- Davis E.A et Young J.L, 1985. Endomycorrhizal Colonisation of glass-house grown wheat as influenced by fertilizer salts when banded or soil-mixed. *Can.J.Bot.* 63:1196- 1203.
- Dehne H.W, 1982. Interaction between vesicular arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. *Phytopathology*. 72 :1115-1119.
- Del val C; Barea J.M et Azcon A.C, 1999. Diversity of arbuscular mycorrhizal *Fungus* population in heavy- metal-contaminated soils. *Appl. Envir.Microbio.* 13 : 718-723.
- Dianou D et Bâ A. M, 1999. Réponse de *Vigna unguiculata*(L) Walp. À l'inoculation de rhizobactéries et de champignon mycorrhizien en présence de phosphates naturels dans : *Annales, Série B, Science exacte et Science de la nature*, Vol VII, 1999, UO.
- Diop T.A ; Plenchette C et Strullu D.G, 1994. In vitro culture of sheared Mycorrhizal roots, *Symbiosis*. 17 : 217-227.
- Dixon R.K ; Rao M.V et Garg V.K, 1973. Water relations and gas exchange of mycorrhizal *Leucaena leucocephala* seedlings, *J. Trop. Forest Sci.* 4: 542-552.
- Dixon R.K ; Garg V.K et Rayo M.V, 1993. Inoculation of *Leucaena* and *Prosopis* seedlings with *Glomus* and *Rhizobium* species in saline soil: Rhizosphere relations and seedling growth. *Arid Soil Research and Rehabilitation*. 7 : 133-144.
- Dodd J.C, 1994. Approaches to the study of the extraradical mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi. Dans: *Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems*, Gianinazzi, S. et Schüepp, H. (éds). Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland. 147-166.
- Dommergues Y ; Mangenot F, 1970. *Ecologie microbienne du sol*, Paris Fr, Masson et Cie. 802p.
- Durrieu G, 1993. *Ecologie des champignons*. Ed. Masson. Paris. Milan. Barcelone. Bom, 207p.
- Estaun M .V, 1991. Efecto de las micorrizas vesículoarbusculares en las relaciones hídricas y en el crecimiento de plantas sometidas a estrés salino, Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Universidad de Granada. 139 p.
- Feng G ; Song Y. C ; Christie P, 2003. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to utilization of organic sources of phosphorus by red clover in a calcareous soil. *Appl. Soil Ecol.* 22:139-48.
- Fitter A.H; Schellenbaun, L; Berta G; Ravolanirina F; Tisserant B; Gianninazzi S, 1991. Influence of endomycorrhizal infection on root morphology in a microporopagated woody plant-species (*Vitis vinifera* L.) *Annals of Bot.*, 68 : 135-141.

## Références bibliographiques

---

Fortin J. A ; Plenchette C; Piché Y, 2008. Les mycorhizes. La nouvelle révolution verte. MultiMondes. Ed. Québec, 131 p.

Founoune H ; Duponnois R ; Bâ A. M ; Sall S ; Branget I ; Lorquin J ; Neyra M et Chotte J. L, 2001. Mycorrhiza Helper Bacteria stimulate ectomycorrhizal symbiosis of *Acacia holosericea* with *Pisolithus alba*. New Phytologist. 153 : 81-89.

Founoune H ; Duponnois R ; Meyer J. M ; Thioulouse J ; Masse D ; Chotte J. L et Neyra M, 2002. Interaction between ectomycorrhizal symbiosis and *fluorescent pseudomonas* on *Acacia holosericea*: isolation of mycorrhiza helper bacteria (MHB) from Soudano-Sahelian soil. FEMS Microbiology Ecology. 41: 37-46.

Frossard E ; Brossard M ; Hedley M. J et Metherell A, 1995. Reactions controlling the cycling of phosphorus in soils In: phosphorus in the Global Environment. Edited by Tiessen H. Scope Published by John Wiley & sons Ltd.

Gadd G. M, 1999. Fungal production of citric and oxalic acid: importance in metal speciation, physiology and biochemical processes. Adv. Microb. Physiol. 41: 47 –92.

Galvez L; Douds D; Drinkwater L.E et Wagoner P, 2001. Effect of tillage and farming system upon VAM fungus populations and mycorrhizas and nutrient uptake of maize. Plant and Soil. 228 : 299-308.

Gemma J. N et Koske R.E, 1988. Seasonal variation in spore abundance and dormancy of *Gigaspora gigantea* and in mycorrhizal inoculum potential of a dune soil. Mycologia. 80 : 211-216.

Genre A ; Chabaud M ; Timmers T ; Bonfante P et Barker D.G, 2005. Arbuscular Mycorrhizal Fungi Elicit a Novel Intracellular Apparatus in *Medicago truncatula* Root Epidermal Cells before Infection. The Plant Cell. 17(12): 3489-3499.

Gerdeman J.W et Nicolson T.H, 1963. Spore of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans. Brit. Mycol. Soc. 46 : 235-244.

Gerdemann J.W; Trappe J.M, 1974. The Endogonaceae in the Pacific Northwest. Myc. Memoir., 5 : 1-76.

Gianinazzi P.V et Gianinazzi S, 1988. Morphological integration and functional compatibility between symbiotes in vesicular-arbuscular association. In : Cell to cell signal in plant, animal and microbial symbiosis, Berlin. Edits. 73-84.

Gibelli G, 1883. Nuovi Sullo del castagno della dell'inchiro. Memoire R. Acad. Sci.

Gildon A et Tinker P. B, 1981. A heavy metal tolerant strains of mycorrhizal fungus. Trans. Br. Mycol. soc. 77 : 648-649.

Giovanetti M ; Avio L et Sbrana C, 1993. Factors affecting appressorium development in the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mossae* (Nicol. et Gerd.) Gerd. et Trappe. New Phytologist. 123 : 114-122.

Giovanetti M ; Sbrana C ; Citernesi A.S et Avio L, 1996. Analysis of factors involved in fungal recognition responses to host derived signals by arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytologist. 133 : 65-71.

## Références bibliographiques

---

Glass A.D.M et Siddiqi M.Y, 1995. Nitrogen absorption by plants roots. In *Nitrogen Nutrition In Higher Plants*. Edited by H.S.Srivastava and R.P.Singh., Associated Pub.Co. New Delhi. 21-56.

Gobat J.M ; Aragno M et Matthey W, 1998. Le sol vivant. Bases de pédologie, biologie des sols. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Collection Gérer l'Environnement N° 14, Lausanne. 569 p.

Godfroy O, 2008. Etudes génétique et moléculaire de deux gènes de *Médiator truncatula*, DMI3 et RPG, contrôlant l'établissement de symbioses racinaires, thèse de doctorat. Université Toulouse. 142.

Grayston S.J; Wang S ; Campbell C.D et Edwards A. C, 1998. Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, 30, 369-378.

Hamel C; Dalpé Y; Lapierre C; Simard R et Smith D.L, 1994. Composition on the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi population in a old meadow as affected by pH, phosphorus, and soil disturbance. *Agriculture, Ecosystem and Environment*. 49 : 223-231.

Lambers H ; Christophe M , Benoît J et Philippe H , (2009) . Plant-microbe-soil interactions in the rhizosphere: an evolutionary perspective *Plant Soil* 321:83-115

Heijne B, Dam van D, Heil G.W et Bobbink R, 1996. Acidification effects on Vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) infection, growth and nutrient uptake of established Heathland herb.

Hepper C.M, 1979. Germination and growth of *Glomus caledonius* spores: the effects of inhibitors and nutrients. *Soil Biol an Biochem*. 11 : 269-277.

Herrera M.A., Salamanca C.P. and Barea J.M. 1993. Inoculation of Woody Legumes with Selected Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Rhizobia To Recover Desertified Mediterranean Ecosystems. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59 (1) : 129-133

Hetrick B.A.D, 1984. Ecology of VA mycorrhizal Fungi. In *VA Mycorrhiza*, Edit. By Powell C.L.

Hiltner L, 1904. Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Barche (on recent insights and problems in the area of soil bacteriology under special consideration of the use of green manure and fallowing). *arbeiten der Deutschen Landwirtschaftlichen Gesellschaft*, 98, 59-78.

Hodge A ; Campbell C. D ; Fitter A .H, 2001. An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. *Nature* 413 : 297-299.

Hodge, A ; Helgason, T et Fitter A.H, 2010. Mini-review : Nutritional ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *Fungal Ecology*, vol. 3, p 267-273.

Hopkins W.G , 2003. *Physiologie végétale*. Deuxième édition, Bruxelles, De Boeck Université, 352 p.

Hosney M, 1997. Tailles et contenu en (G+C) des génomes de glomales. Complexité du Génome et polymorphisme des ADN ribosomiques chez une espèce -modèle : *Scutellospora Castanea*, Université de Bourgogne, Dijon.

Jabaji H. S ; Deschene A et Kendrick B, 1984. Lipid content and composition of vesicles of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. *Mycologia*, 76 (6): pp. 1024-1030.

Jansa J; Mozafar A ; Anken T ; Ruh R ; Sanders I.R et Frossard E, 2002. Diversity and structure of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil. *Mycorrhiza*.12 : 225-234.

Johnson N.C ;Pfleger F.L ; Crookston R.K et Simmons S.R, 1991. Vesicular -arbuscular mycorrhizas respond to corn and soybean cropping history. *New Phytol.*117,657–664.

Johnson N.C; Zak D.R ; Tllman D et Pfleger F.L,1991.Dynamics of vesicular – arbuscular mycorrhizae during old field succession. *Oecologia*86 : 348 -353.

Javot H ;Pumplin N et Harrison M. J, 2007. Phosphate in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: transport properties and regulatory roles. *Plant, Cell and Environment*, 30 (3) : 310-322.

Jayachandran K; Schwab A.P et Hetrick B.A.D, 1992. Mineralization of organic phosphorus by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi, *Soil Biology and Biochemistry*. 24 : 897-903.

Joner E.J et Leyval C, 2001. Bioavailability of heavy metals in the mycorrhizosphere. In *Trace elements in the rhizosphere*. Gobran G., Wenzel W.W. and Lombi E. eds. CRC press LLC, Boca Raton. 321 p.

Juniper S et Abbott L, 1993. Vesicular-arbuscular mycorrhizas and soil salinity, *Mycorrhiza*4 : 45–57.

Jungwook Y ; Joseph W ; Kloepper et Choong M.R , 2008. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Plant Science Vol.14 No.1*. 2

Killham K et Firestone M. K , 1986. Vesicular arbuscular mycorrhizal mediation of grass response to acid and heavy metal deposition. *Plant Soil*, 72, 39-48.

Koske R.E et Gemma J. N, 1992. Fungal reactions to plants prior to mycorrhizal formation. In: *Mycorrhizal Functioning: an integrative plant-fungal process*. Edited by M.F.Allen. 3-36.

Kothari S.K; Marschner H et Römheld V, 1990. Direct and indirect effects of VA mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms on acquisition of mineral nutrients by maize (*Zea mays* L.) in a calcareous soil. *New Phytologist*, 116 : 637- 645.

Krishnaraj P.U et Sreenivasa M.N, 1992. Increased root colonization by bacteria due to inoculation of vesicular– arbuscular mycorrhizal fungus in chilli (*Capsicum annuum*). *Zentralblatt für Mikrobiologie*147 : 131–133.

Klironomos J.N., Moutoglou P., Kendrick B.W. and Widden P., 1993. A comparison of spatial heterogeneity of VAM fungi in two maple-forest soils. *Can J. Bot.*, 71 : 1472-1480.

Lange P.S ; Nobel C.B.O ; Ziegler H.S et Berlin H .New York. *Plant and soil* 179 : 197-206

Le Tacon F, 1985. Les Mycorhizes : une coopération entre plantes et champignons. *La recherche* n°166, pp. 624–632.

## Références bibliographiques

---

- Leyvel C ; Weissen H.I ; Glashoff A et Berthelin J, 1994 . Influence of heavy metals on germination of arbuscular mycorrhizal fungal spores in soils. *Acta Bot. Gallica*. 141 : 523-528.
- Leyvel C ; Haselwandter K et Turnau K , 1997. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function : physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza*, 7, 139-153.
- Lindennan R G, 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions. In: G.J. Bethlenfalvai and R.G. Linderman (Editors), *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture*. ASA Spec. Publ., Madison, WI. 45-70.
- Ludwig U ; Von Wirén N et Frommer W.B, 2002. Uniport of NH<sup>4</sup> by the root hair plasma membrane ammonium transporter LeAMT1 ; 1. *J Biol Chem* 277: 13548-13555.
- Marchner B , 1995 . Bodenchemische und biologische Einflussfaktoren der Freisetzung von PAK und PCB in einem Rieselfeldboden. *Mitteilung. Deutsche Bodenkundliche Gesellschaft* 76, 365-368.
- Mc Millen B.G ; Juniper S et Abbott L.K, 1998. Inhibition of Hyphal growth of a vesicular arbuscular fungus in soil containing sodium chloride limits the spread of infection from spores. *Soil Bio. Biochem.* 30 : 1639-1646.
- Menge J.A, 1982. Effect of soil fumigant and fungicides on vesicular-arbuscular fungi. *Phytopathology*, 72 : 125-1182.
- Millen M .C ; Juniper S et Abbott L, 1998. Inhibition of Hyphen Growth of VAM containing Sodium chloride of infection from Fungus in soils limits the spread spores. *S.B.B.* 30 : 1639-16465.
- Miller K.M ; Ming T. J ; Schulza A.D. et Withler R.E , 1999. Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DDGE): a rapid and sensitive technique to screen nucleotide sequence variation in populations. *Bio Techniques*, 27, 1016-1030.
- Miranda D, 1989. Effect of xenobiotics on endomycorrhizal infection and isoflavonoid accumulation in soybean roots. *Plant Physiology and Biochemistry*. 27 : 697-670.
- Morton J.B, 1988. Taxonomy of VA mycorrhizal fungi: classification, nomenclature and identification. *Mycotaxon* 32: 267-324.
- Morton J.B et Benny J, 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glominae and Gigasporinae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an amediation of Glomaceae. *Mycotaxon*, 37 : 471-491.
- Morton J.B ; Bentivenga S.P et Bever J.D, 1995. Discovery, measurement and interpretation of diversity in symbiotic endomycorrhizal fungi (Glomales, Zygomycetes). *Can. J. Botany* 73 : S25-S32
- Morton J. B. et Redecker D, 2001. Two new families of Glomales, *Archaeosporaceae* and *Paraglomaceae*, with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. *Mycologia*, 93: 181-195
- Moser M ; Haselwandter K, 1983. Ecophysiology of mycorrhizal symbiosis, in: *Encyclopedia of Plant Physiology*, New Series, vol. 12, pp. 392-421. Eds O. L.

- Mousse B, 1956. Fructification of an Endogone species causing endotrophic mycorrhizae in fruit plants. *Ann. Bot. (London)* 20 : 349-362.
- Mosse B, 1977. The role of mycorrhiza in legume nutrition on marginal soils. In : exploiting the legume rhizobium symbiosis in tropical agriculture, Vincent J M, Whitney A S, Bosc J, eds, University of Hawaii, U.S.A. Misc. pub. 145 : 275-292.
- Ouahmane L, 2007. Rôles de la mycorrhization et des plantes associées (lavande et thym) dans la croissance du cypres de l'Atlas (*Cupressus atlantica* G.) : conséquences sur la biodiversité rhizosphérique et la réhabilitation des milieux dégradés, thèse de doctorat. Université de la Méditerranée, Faculté des Sciences Semlalia. 196.
- Owusu B.E et Wild A, 1979. Autoradiography of the depletion zone of phosphate around onion roots in the presence of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *New Phytol.* 82 : 133-140.
- Paradis R ; Dalpe Y et Charest C, 1995. The combined effect of arbuscular mycorrhizae and short term cold exposure on wheat. *New Phytol.* 129 : 637-642.
- 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 infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 55 : 158-161.
- Pinton R ; Varanini Z et Nannipieri P, 2001. *The rhizosphere*, New York.
- Plenchette C, 1982. Les endomycorhizes à vésicules et arbuscules (VA) : Un potentiel à exploiter en agriculture. *Phytoprotection*. 63 : 86-102.
- Pond E.C ; Menge J.A et Jarrell W.M, 1984. Improved Growth of *Tomato* in salinised soil by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi collected from saline soils. *Mycologia*, 76 : 7484.
- Redecker D et Raab P, 2006. Phylogeny of the Glomeromycota (arbuscular mycorrhizal fungi): recent developments and new gene markers. *Mycologie*, 98: 885-895.
- Reilley K.A ; Banks M.K et Schwab A.P, 1996. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. *Journal of Environmental Quality*, 25, 212-219.
- Reinhardt D, 2007. Programming good relations-development of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Current Opinion in Plant Biology*, 10 (1) : 98-105.
- Requena N ; Perez S.E ; Azcon A.C ; Jeffries P et Barea J.M, 2001. Management of indigenous plant-microbe symbioses aids restoration of desertified ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology*. 67 : 495-498.
- Rosendahl C. NetRosendahl S, 1991. Influence of VAM fungi (*Glomus* Spp.) on the response of cucumber (*Cucumis sativus* L.) to salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 31 (3) : 313-318.
- Rouatt J.W et Katznelson H, 1961. A study of the bacteria on the root surface and in the rhizosphere soil of crop plants. *Journal of Applied Bacteriology*, 24, 164-171.
- Rovira A.D, 1965. Interaction between plant root and soil microorganism. *Annual Reviews of Microbiology*, 19, 241-266.

## Références bibliographiques

---

- Rovira A.D et Davey C.B , 1971. Biology of the rhizosphere. In *The Plant root and its Environment*, Ed C E.W. University Press of Virginia, Charlottesville.
- Roy-Bolduc, A et Hijri M, 2010. The Use of Mycorrhizae to Enhance Phosphorus Uptake: A Way Out The Phosphorus Crisis. *Journal of biofertilizers and biopesticides*, vol.2, n°1, p.doi: 10.4172/2155-6202.1000104.
- Ruiz-Lozano J M et Azcon R, 2000. Symbiotic efficiency and infectivity of an autochthonous Arbuscular mycorrhizal *Glomus* sp. from saline soils and *Glomus deserticola* under salinity. *Mycorrhiza*. 10 : 1-7.
- Schtiapp H ; Dehn B ; Sticher H, 1987. Interaktionen zwischen VA-Mykorrhiza and Schwermetallbelastungen. *Angew. Bot.* 61 85-96.
- Siciliano S.D ; Theoret C.M ; Freitas J.R ; Hucl P.J et Germida J.J, 1998. Differences in the microbial communities associated with the roots of different cultivars of canola and wheat. *Canadian Journal of Microbiology*, 44, 844-851.
- Sieverding E, 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. GTZ publishers, Germany, 371 p.
- Sharma S ; Parkash V ; Aggarwal A, 2008. Glomales I : monographie of *Glomus* spp. (*Glomaceae*) in the sunflower rhizosphere of Haryana, India. *Helia*, Nr. 49 : 13-18.
- Shetty K.G ; Herick B.A.D et Schwab A.B, 1995. Effet of mycorrhizae fertilizer amendments on size tolerance of plants. *Environmental Pollution* 88 : 307-314.
- Smith S.E et Bowen G.D, 1979. Temperature Soil, mycorrhizal infection and nodulation of *Medicago truncatula* and *Trifolium subterraneum*. *Soil. Biol. Biochem.* 11: 469-473
- Smith S.E ; Read D.J, 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. Second edition. Academic Press ; Harcourt Brace and Company Publishers, 605p.
- Smith F.A et Smith S.E, 1997. Structural diversity in (vesicular-) arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytologist*. 137: 373-388.
- Smith S.E et Read D.J, 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. Troisième édition, New York, Academic Press, 800p.
- Strullu D.G, 1991. Les mycorhizes des arbres et plantes cultivées, université UFR environnement 2, boulevard la voisier 49045 Angers Cedex. 28-42
- Strullu D.G ; Diop T.A et Planchette C, 1996. Contribution à la réalisation de collections de *Glomus in vitro* et proposition d'un cycle de développement. *C.R. Acad. Sci Paris* 320, 4147.
- Stürmer S.L ; Bellei M.M, 1994. Composition and seasonal variation of spore populations of Arbuscular mycorrhizal fungi in dune soils on the island of Santa Catarina, Brazil. *Canadian Journal of Botany* 72 : 359-363.
- Stürmer S.L ; Morton J.B, 1997. Developmental patterns defining morphological characters in spores of four species in *Glomus*. *Mycologica*, 89 : 72-81.

## Références bibliographiques

---

- Subramanian K.S ;Charest C ; Dwyer L.M et Hamilton R.I,1995 :Arbuscularmycorrhizae and water relations in under drought stress at tasseling. *New phytol.*192:643-650.
- SubramanianK.S ;Charest C, 1997. Nutritional, growth, and reproductive responses of maize (*Zea mays* L.) to vesicular mycorrhizal inoculation during and after stress at tasseling.*Mycorrhiza*, 7: 23-25.
- Sylvia D.M, 1986. Spatial and temporal distribution of vesicular-arbuscularmycorrhizal fungi associated with *Uniolapaniculata* in Florida foredunes. *Mycologia*, 78 728-734.
- Tao L ;Zhiwei Z, 2005. Arbuscularmycorrhizas in a hot and aride ecosystem in southwest China.*Appl Soil Ecol*, 29 : 135-141.
- Tommerup I.C, 1984. Effect of soil water potential on spores germination by VA mycorrhizal fungi.*Trans.Brit. Mycol. Soc.* 83 : 193-202.
- Trappe J.M ; Molina R et Castellano M, 1984. Reactions of mycorrhizal fungi and mycorrhiza formation to pesticides. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 22: 331–359.
- Van der Heijden M.G.A., Klironomos J.N., Ursic M., Moutoglis P., Streitwolf-Engel R., Bolier T., Wiemken A. and Sanders I.R., 1998b. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 396 : 69-72
- Van-Duin W.E ; Romeza J et Ernst W. H. O, 1989. Seasonal and spatial variation in the occurrence of vesicular-arbuscular (VA) mycorrhiza in salt marsh plants. *Agric. Ecosy. Environ.* 29 : 107-110.
- Vinayak K et Bagyaraj D.J, 1990. Vesicular-arbuscularmycorrhizae screened for troyercitrange. *Biology and Fertility of Soils*, 9 : 311-314.
- Walker C ,1983. Taxonomic concepts in the Endogonaceae :Spore wall characteristics in species descriptions. *Mycotaxon*, 18 : 443-455.
- Walker Cet Sanders F.E, 1986.Taxonomic concepts in the endogonaceae. III: Theseparation of *Scutellospora* gen. Nov. From *Gigaspora*Gerd.&Trappe.*Mycotaxon*,XXXII 17: 169-182.
- Wang G.M ;Stribley D.P ; Tinker P.B ; Walker C, 1993.Effects of pH on arbuscularmycorrhiza I. Field observations on the long- term liming experiments at Rothamsted and Woburn. *New Phytol*, 124: 465-472.
- WeissenhornI ;MenchM etLeyval C, 1995. Bioavailability of heavy metals and arbuscularmycorrhiza in a sewage-sludge-amended sandy soil.*SoilBiology and Biochemistry*, 27, 287-296.

### **Sites internet :**

<http://www.nature.com/scitable/knowledge/library/the-rhizosphere-roots-soil-and-67500617>

<http://forum-svt.ac-toulouse.fr/viewtopic.php?t=4103>

<http://forum-svt.ac-toulouse.fr/viewtopic.php?t=4103>

<http://theses.ulaval.ca/archimede/fichiers/22964/ch01.html>

[http://www.smhv.net/especes\\_mycorhizogenes.ws](http://www.smhv.net/especes_mycorhizogenes.ws)

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Mycorhize>

<http://www.supagro.fr/ress-pepites/processusecologiques/co/SymbiosesMycorhizienne.html>

[https://fr.wikipedia.org/wiki/Ail\\_%C3%A0\\_trois\\_angles](https://fr.wikipedia.org/wiki/Ail_%C3%A0_trois_angles)

### **Protocoles des méthodes utilisées au laboratoire :**

#### **I. Coloration des racines :**

##### **Technique de coloration au bleu de trypan :**

La technique de (Philips et Hayman, 1970) modifiée, et utilisée pour mettre en évidence au microscope photonique en premier lieu l'infection mycorhizienne à arbuscules. Une partie des racines au FAA est récupérée et rincée plusieurs fois à l'eau de robinet pour enlever toutes traces de fixateur.

##### **I.1. Eclaircissement et coloration des mycorhizes :**

- Les racines sont découpées en fragments de 1cm de longueur environ, mises dans une solution d'hydroxyde de potassium (KOH) à 10% , et placées dans l'étuve à 90°C pendant 1 heure.
- Nous remplaçons la solution de KOH aussitôt qu'elle devient foncée. Pour éliminer le reste des pigments, nous transférons les racines dans une solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peroxyde d'hydrogène) à 10% à 90°C pendant 20 min jusqu'à blanchissement total de racines.
- Les racines sont ensuite rincées plusieurs fois à l'eau avec un passage dans un bain d'acide lactique à 10%.
- Elles sont transférées dans une solution de bleu de trypan et placées dans l'étuve à 90°C pendant 1 heure.

##### **I.2. Montage et observation :**

- Après avoir retiré les racines de la solution colorante, elles sont rincées à l'eau courante, puis placées dans une boîte de pétrie contenant du glycérol.
- Les segments montés dans du glycérol sont placés entre lame et lamelle. Soigneusement écrasés, puis observés au microscope photonique à différents grossissements.

### **II. Analyses physiques du sol :**

#### **1-Pesée :**

La prise d'essai varie en fonction de la texture de l'échantillon déterminée lors de la description du profil. Il faut pesé :

- 5g de terre pour les échantillons a texture argileuse.
- 10g de terre pour les échantillons a texture moyenne.
- 20g de terre pour les échantillons a texture sableuse.
- Pour savoir est ce que c'est du sol argileux ou bien sableux on façonne un boudin avec le sol.
- Si il se casse facilement donc sableux.
- Si c'est contraire donc argileux.
- D'après l'expérience le sol est donc sableux.
- Déterminer l'humidité résiduelle en faisant sécher a l'étuve à 105°C.
- Une prise d'essai de 10g de terre et cela pendant 24 heures.
- Calculer la teneur en eau en pesant l'échantillon avant et après passage à l'étuve.
- Noter la valeur obtenue qui constitue l'humidité résiduelle.

#### **2-destruction de la matière organique :**

- La prise d'essai est introduite dans un bêcher de 600 ml de forme haute, en suite mouiller l'échantillon par un jet de pissette d'eau distillée.
- Ajouter 50ml d'eau oxygénée à 20 volumes par petite fraction pour éviter le débordement de la mousse dans le cas des échantillons riches en matière organique.
- Laisser reposer une nuit.
- Porter au bain de sable, couvrir le bêcher d'un verre de montre et laisser évaporer en évitant l'ébullition qui décomposerait rapidement l'eau oxygénée.

- Agiter périodiquement le bêcher pour faire descendre la mousse.
- Ajouter au besoin quelques gouttes d'éthanol.
- Ne jamais laisser l'échantillon aller a sec.
- Quand la mousse a disparu, la réaction est terminée. Le traitement peut durer plusieurs heures.
- Si l'échantillon est très humifère, il peut nécessiter de nouvelles additions d'eau oxygénée.
- Ajouter périodiquement 10ml d'eau oxygénée et continuer l'attaque jusqu'à la disparition de la mousse.
- Si l'échantillon n'est pas carbonaté, faire passer le contenu du bêcher dans une fiole d'agitation d'un litre au moyen d'eau distillée sans dépasser le volume de 500ml.

### **3-prélèvement de différentes fractions granulométriques :**

**A-** Taux de l'argile +limons fins : il faut commencer par le prélèvement de cette fraction.

- Déterminer le temps de sédimentation selon la température lue sur le thermomètre plongé dans l'éprouvette témoin contenant l'eau et l'héxamétaphosphate de sodium (prélever a 10 cm de profondeur après 4min 48secondes si la température est de 20°C)
- Récupéré le contenu de la pipette dans une capsule tarée et faire sécher a l'étuve a 105°C (P1)

**B-** Mesure de l'argile : il faut remettre en suspension les particules par agitation énergique

- Déterminer le temps de sédimentation selon la température (prélever a 10 cm de profondeur après 8 heures de sédimentation à 20°C).
- Le volume prélevé est transféré dans une capsule tarée et séchée à l'étuve.

**C-** Les fractions plus grossières, sable grossiers, sable fins et limons grossier sont déterminés par tamisage après lavage des fractions fines déterminées par la sédimentation.

La somme de ces 5 fractions granulométriques minérales est égale à 100%.

### III. La conductivité électrique :

La conductivité électrique est mesurée selon la méthode (d'AFNOR NF X31- 108).

- Peser 20g de sol tamisé au travers d'un crible de 2mm.
- Porter dans un bêcher de 250ml, ajouter 100 ml d'eau distillée.
- Agiter pendant 2 minutes avec un agitateur magnétique.
- Laisse reposer pendant 30 minutes.
- Filtrer.
- Refilerez pour obtenu un filtrat clair.
- Ajouter 2 gouttes d'héxamétaphosphate de sodium a 0.1%, ce produit évite la précipitation de  $\text{CaCO}_3$ .
- La solution est prête pour être mesurée à l'aide d'un conductimètre.

### IV. Le potassium :

La mesure de la teneur en potassium est réalisée suivant la norme d'AFNOR NF X31-108.

- **Extraction de potassium :**

- Préparation de la solution d'acétate d'ammonium en introduisant 77.08g d'acétate d'ammonium dans une fiole de 1000ml, compléter au volume a l'eau distillée.
- Agiter jusqu'à la dissolution complète du produit.
- Mesure le PH de la solution qui doit être égal à 7, si le PH est différent de 7, il faut l'ajuster avec l'acide ou la base correspondants (acide acétique ou hydroxyle d'ammonium).
- Peser 5 g de sol et les placer dans une fiole d'agitation de 200ml.
- Ajouter 50ml de la solution d'acétate d'ammonium.
- Agiter pendant 2 heures.

- Filtrer la suspension dans une fiole jaugée de 50ml, compléter au trait de jauge à l'eau distillée.
- Préparer une dilution de 1/10 en mettant 5 ml de la solution extraite dans une fiole de 50ml, compléter au volume à l'eau distillée.
- Après le passage de la gamme d'étalonnage, passer l'échantillon au spectrophotomètre a flamme.

- **Préparation de la gamme d'étalonnage :**

Le dosage du potassium au spectrophotomètre a flamme nécessite d'étalonner l'appareil de mesure. la gamme d'étalonnage est préparée de la façon suivante :

- Solution mère a 1000 ppm : introduire 1.907g de KCl dans une fiole jaugée de 1000ml, bien agiter et compléter au volume.
- Solution fille a 100ppm : prendre 10ml de la solution mère, les introduire dans une fiole de 100ml, compléter au volume.
- Solution d'étalonnage : prendre des fioles de 100ml et introduire les volumes suivants :

Tableau2 :

Solution N°	Nombre de ml à prendre de la solution fille a 100ppm	Concentration obtenues en ppm
1	0.5	0.5
2	1	1
3	2	2
4	4	4
5	8	8
6	12	12
7	16	16
8	20	20

- Compléter au trait de jauge avec la solution d'acétate d'ammonium ou avec de l'eau distillée
- Passer la gamme d'étalonnage au spectrophotomètre et lire la lecture obtenue pour chaque concentration

- **Calcul des résultats et interprétation :**

- Calculer le coefficient d'étalonnage en divisant la somme des lectures par la somme de la concentration (C).
- Calculer K en meq /100g.

$$K \text{ en meq/100g} = \frac{L.D.V.100}{C.1000.P.39}$$

L : lecture correspondant à l'échantillon.

C : coefficient d'étalonnage.

D : inverse du rapport de dilution (=1 dans le cas où aucune dilution n'est réalisée).

V : volume extrait (50ml).

P : prise d'essai (5g).

A : facteur de conversion mg-méq (1 /39).

Un des principaux objectifs de l'agronomie est d'assurer une production végétale élevée, en qualité comme en quantité, tout en préservant à long terme la fertilité des sols et la stabilité des écosystèmes. Ainsi, différentes techniques ont été mises au point afin d'optimiser l'environnement de la plante ainsi que la plante elle-même. La symbiose mycorhizienne qui est connue depuis de longue date de la communauté scientifique, pourrait être une de ces techniques mais n'a fait l'objet que de peu d'applications. Une approche innovante consiste à formuler de nouvelles matières fertilisantes « les inoculums mycorhiziens » en mélangeant à leurs constituants des microorganismes capables d'établir des relations symbiotiques : les champignons endomycorhizogènes. Pour pouvoir faire des contrôles sur ces produits novateurs, une méthode d'extraction par le tamisage humide et de dénombrement des spores ont été mises en place. Nos résultats indiquent la présence des genres *Glomus*, *Gigaspora*, *Acaulospora*, *Diversispora*, *Dentiscutata*, *Rhizophagus*, *Septoglomus*, *Scutellospora*, avec une répartition non homogène qui pourrait être lié aux facteurs édaphiques et/ou climatiques.

**Mots-clés** : champignons endomycorhizogènes, extraction, dénombrement, spores, symbiose mycorhizienne.

**Abstarat :**

A key objective of agronomy is to ensure high crop production, in quality and quantity, while preserving long-term soil fertility and ecosystem stability. Thus, various techniques have been developed to optimize the environment of the plant so that the plant itself. Mycorrhizal symbiosis that has been known for long time the scientific community, could be one of these techniques but has been the subject of little applications. An innovative approach is to formulate new fertilizers "mycorrhizal inoculants" by mixing their constituents microorganisms capable of establishing symbiotic relationships: endomycorhizogènes mush fungi. In order to make controls on these innovative products, an extraction method by wet screening and enumeration of the spores were put in place. Our results indicate the presence of the genera *Glomus*, *Gigaspora*, *Acaulospora*, *Diversispora*, *Dentiscutata*, *Rhizophagus*, *Septoglomus*, *Scutellospora*, with uneven distribution that could be related to soil factors and / or climatic.

**Keywords:** endomycorhizogènes fungi, extraction, counting, spores, mycorrhizal symbiosis.