

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou**



**Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques**

**Département de Biochimie-Microbiologie**

*Mémoire de fin d'études*

**Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie**

**Spécialité: Biotechnologie Microbienne**

**Les bactéries rhizosphériques du cèdre de l'Atlas**  
**(*Cedrus atlantica*): Etude des propriétés**  
**enzymatiques**

Présenté par: **RADJA Lydia**

**RAMDANE CHERIF Meriem**

**Soutenu devant le jury composé de:**

<b>M<sup>me</sup></b>	<b>TALEB-TOUDERT K.</b>	<b>MCB</b>	<b>UMMTO</b>	<b>Présidente</b>
<b>M<sup>r</sup></b>	<b>BOUACEM K.</b>	<b>MCA</b>	<b>UMMTO</b>	<b>Promoteur</b>
<b>M<sup>r</sup></b>	<b>SMAIL A.</b>	<b>MCB</b>	<b>UMMTO</b>	<b>Co-promoteur</b>
<b>M<sup>me</sup></b>	<b>BENAZZOUZ-KESBIA K.</b>	<b>MCB</b>	<b>UMMTO</b>	<b>Examinatrice</b>

**Année universitaire: 2020/2021**

# *Remerciements*

## Remerciements

---

*Au terme de ce travail, nous remercions en premier lieu ALLAH, maître des cieux et de la terre de nous avoir illuminé et ouvert les portes de savoir, et de nous avoir donné la volonté et le courage d'élaborer ce travail.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à notre promoteur Mr Bouacem K., Maître de Conférences Classe A, d'avoir accepté de nous encadrer et de nous avoir conseillé, aidé et guidé tout au long de la réalisation de ce travail.*

*Nous remercions infiniment notre co-promoteur Mr Smaïl A., Maître de Conférences Classe B, pour son aide, sa compréhension, ses encouragements, ses conseils et sa disponibilité, et de nous avoir fait confiance et croire en nous.*

*Nos remerciements vont aux membres de jury:  
M<sup>me</sup> TALEB-TOUDERT K., qui nous a fait l'honneur de présider ce jury  
M<sup>me</sup> BENAZZOUIZ-KESBIA K., qui a accepté d'examiner ce travail*

*Nous exprimons nos profonds remerciements à toute l'équipe de laboratoire pédagogique de Microbiologie, en particulier les ingénieurs de laboratoire M<sup>me</sup> Guendouzi S. et M<sup>me</sup> Ouhocine D., pour leurs modestie, gentillesse, disponibilité, l'aide et l'intérêt qu'elles ont apporté à notre travail.*

*Nous tenons à remercier les membres de parc national du Djurdjura qui nous ont offert les plants de Cèdre de l'Atlas.*

*À la fin, nous remercions toute personne ayant contribué de prêt ou de loin dans l'élaboration et l'aboutissement de ce modeste travail.*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*À ma maman chérie Ouïza, la prunelle de mes yeux. Je te remercie  
pour tout ce que tu as fait pour moi, pour tous tes sacrifices, ta  
tendresse et ta grande patience;*

*À mon papa Saïd, mon homme de référence. Merci d'être là pour moi,  
de croire en moi, et de m'encourager dans chaque pas que  
j'entreprends;*

*Vous trouverez ici mes vifs respects, mes plus profondes  
reconnaisances et tout mon amour. Je souhaite vous avoir rendu fier  
de moi;*

*À ma nièce Melyssa, que j'aime plus que tout au monde;*

*À mon cher frère Amar, et ma sœur de cœur Lília et son mari, pour le  
meilleur et pour le pire;*

*À mes chers amis, Takfarinas, Thinhinan, Sarah et Massinissa, pour  
leur encouragement permanent, et leur soutien moral;*

*À Meriem, chère amie avant d'être binôme et sa famille;*

*À vous cher lecteur.*

*LYDIA*

*C'est avec joie que je dédie cet humble travail ...*

*À mes chers parents, symbole d'amour et de tendresse, qui n'ont pas cessé de m'encourager, me guider et de prier pour moi. Je vous remercie pour l'amour et le soutien inconditionnels que vous me portez et les sacrifices que vous avez faits et continuez de faire pour moi, depuis mon enfance. J'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours;*

*À mes chères grands-mères azizen «Jida Ouïza» et «Jida Tassadit», pour l'amour, lefchouch, le soutien et les prières infaillibles;*

*À mes chères sœurs «Hadjer» et «Assia», avec lesquelles je partage la joie et la tristesse, le bien et le mal;*

*À la mémoire de ma chère petite sœur «Assinate», j'aurais souhaité ta présence en ce moment pour partager ma joie, tu es et tu seras toujours dans mon cœur «Bébé azizen»;*

*À tous les membres de ma famille qui me sont chers: Oncles et Tantes maternelles et paternelles, Cousins et Cousines, chacun en son nom;*

*À mes chers enseignants du primaire à l'université, auxquels je dois beaucoup de mérite;*

*À ma chère amie et binôme «Lydia» et sa famille;*

*À mes cher(e)s ami(e)s et camarades;*

*À vous chers lecteurs;*

*Puisse Dieu le très haut, vous accorder tous: santé, bonheur et longue vie, et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive. Et que ce travail soit à la hauteur de vos aspirations.*

*MERTEM*

*Liste des figures et  
des tableaux*

# Liste des figures et des tableaux

---

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b>	Répartition naturelle du Cèdre de l'Atlas en Afrique du nord.....	03
<b>Figure 2:</b>	Principaux types mycorhiziens actuels représentés sur une coupe transversale d'une racine modifiée.....	04
<b>Figure 3:</b>	Représentation schématique des ectomycorhizes.....	05
<b>Figure 4:</b>	Distribution morphologique des ectomycorhizes .....	06
<b>Figure 5:</b>	Représentation schématique des différentes voies d'établissement de la symbiose mycorhizienne.....	09
<b>Figure 6:</b>	Schéma récapitulatif de l'étude.....	11
<b>Figure 7:</b>	Le plant du Cèdre de l'Atlas.....	12
<b>Figure 8:</b>	Morphologie des ectomycorhizes des racines de <i>Cedrus atlantica</i> en pépinière, observée sous une loupe binoculaire .....	18
<b>Figure 9:</b>	Anatomie des ectomycorhizes des racines de <i>Cedrus atlantica</i> en pépinière, observée sous microscope .....	18
<b>Figure 10:</b>	Aspects morphologiques des souches ré-isolées.....	19
<b>Figure 11:</b>	Résultats de la coloration de Gram.....	21
<b>Figure 12:</b>	Résultat de l'activité protéolytique.....	23

## Liste des tableaux

<b>Tableau I:</b>	Aspect macroscopique des souches.....	19
<b>Tableau II:</b>	Résultats de l'observation à l'état frais des souches.....	20
<b>Tableau III:</b>	Résultats des tests de la galerie biochimique.....	21
<b>Tableau IV:</b>	Résultats de l'activité enzymatique.....	23

# *Liste des abréviations*

## Liste des abréviations

---

**BAM:** Bactéries Auxiliaires de la Mycorhization.

**ECM:** Ectomycorhize.

**AM:** Mycorhize à arbuscules.

**P:** Phosphore.

**PGPR:** *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria* (Rhizobactéries stimulant la croissance des plante).

# *Table des matières*

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des figures et des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction .....	01

## Synthèse bibliographique

<b>I- Caractéristiques principales du genre <i>Cedrus</i> .....</b>	<b>02</b>
I-1- Systématique du Cèdre de l'Atlas .....	02
I-2- Aire de répartition du Cèdre de l'Atlas en Afrique du nord .....	02
<b>II-Symbiose mycorhizienne .....</b>	<b>03</b>
II-1- Généralités .....	03
II-1-1- Symbiose .....	03
II-1-2- Symbiose mycorhizienne et mycorhizes .....	04
II-2- Les différentes symbioses mycorhiziennes.....	04
II-2-1- Endomycorhizes.....	04
II-2-2- Ectomycorhizes .....	05
II-2-2-1- Distributions morphologiques des ectomycorhizes .....	06
II-2-3- Ectendomycorhizes .....	06
II-3- Bénéfices de la symbiose mycorhizienne .....	07
II-3-1- Bénéfices tirés par le champignon .....	07
II-3-2- Bénéfices tirés par la plante.....	07
<b>III-Bactéries rhizosphériques.....</b>	<b>07</b>
III-1- Rhizobactéries stimulant la croissance des plantes.....	08
III-2- Bactéries auxiliaires de la mycorhization.....	08
III-2-1- Définition.....	08
III-2-2- Mécanismes .....	08
III-2-3- Spécificité .....	10

## Matériel et Méthodes

I-Lieu et période d'étude.....	11
<b>II-Matériel .....</b>	<b>12</b>
II-1- Matériel biologique .....	12
II-2- Matériel non biologique.....	12
<b>III-Méthodes .....</b>	<b>12</b>
III-1- Lavage des racines .....	12
III-2- Séparation et conditionnement des racines.....	12
III-3- Etude anatomo-morphologique des racines.....	12
III-3-1- Etude morphologique.....	13
III-3-2- Etude anatomique .....	13
III-4- Quantification de la colonisation mycorhizienne .....	13

III-5- Caractérisation des souches microbiennes .....	14
III-5-1- Préparation des dilutions .....	14
III-5-2- Ensemencement .....	14
III-5-3- Isolement .....	14
III-5-3-1- Examen macroscopique .....	14
III-5-3-2- Examen microscopique .....	14
a. Observation à l'état frais .....	14
b. Observation à l'état fixé: coloration de Gram .....	14
➤ Préparation des frottis .....	14
➤ Coloration de Gram .....	14
c. Galerie biochimique.....	15
➤ Mise en évidence de la catalase.....	15
➤ Mise en évidence du type respiratoire .....	15
➤ Caractère Mannitol-Mobilité.....	15
➤ Utilisation de Citrate comme seule source de carbone .....	15
➤ Métabolisme glucidique: rouge de méthyle et Voges Proskauer .....	15
III-5-4- Recherche de l'activité enzymatique .....	16
III-5-4-1- Recherche des amylases.....	16
III-5-4-2- Recherche des cellulases .....	16
III-5-4-3- Recherche des chitinases.....	16
III-5-4-4- Recherche des protéases.....	16

## Résultats et Discussions

<b>I-Résultats .....</b>	<b>17</b>
I-1- Description anatomo-morphologique des ectomycorhizes .....	17
I-2- Quantification de la colonie mycorhizienne .....	18
I-3- Caractérisation des bactéries auxiliaires de la mycorhization.....	18
I-3-1- Caractères cultureux .....	19
I-3-2- Observation macroscopique des souches obtenues .....	19
I-3-3- Etude microscopique des souches .....	20
I-3-3-1- Observation à l'état frais.....	20
I-3-3-2- Observation à l'état fixé: coloration de Gram.....	21
I-3-3-3- Galerie biochimique .....	22
I-3-4- Activités enzymatiques .....	23
<b>II-Discussion .....</b>	<b>24</b>
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>27</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>28</b>
<b>Annexes</b>	

# *Introducción*

L'interface racine-sol est un environnement dynamique, où les micro-organismes, les racines des plantes et les constituants du sol interagissent et développent ce que l'on appelle la rhizosphère (Rigamonte et *al.*, 2010).

Du fait de l'allongement et la ramification continue des racines, la rhizosphère se déplace, se déforme et se modifie sans cesse. C'est dans ce contexte dynamique que s'établit, se maintient et fonctionne la symbiose mycorhizienne (Garbaye, 2013). Cette dernière résulte d'une association entre les champignons du sol et les racines des plantes, formant ainsi une mycorhize. Il existe plusieurs types de mycorhizes classés selon leur organisation morphologique en: ectomycorhizes (ECM), endomycorhizes et ectendomycorhizes (Strullu, 1991).

Pendant longtemps, la symbiose mycorhizienne a été considérée comme une relation bipartite entre les racines des plantes et les champignons mycorhiziens. Cependant, dans des conditions naturelles, les mycorhizes sont entourées de communautés bactériennes et fongiques complexes, qui interagissent avec la symbiose mycorhizienne au niveau physique, métabolique et fonctionnel. C'est pourquoi il est plus pertinent aujourd'hui de qualifier les racines mycorhiziennes et les communautés microbiennes associées de: Complexe Mycorhizien Multitrophique (Frey-Klett et Garbaye, 2005).

Bien qu'il soit assez clair que les complexes mycorhiziens jouent un rôle majeur dans la production globale et le cycle des nutriments, la structure et le fonctionnement de ces complexes, et plus particulièrement l'importance des interactions entre les bactéries et la symbiose mycorhizienne, ont été jusqu'à présent très mal documentés. Les investigations séminales de Bowen et Theodorou (1979) puis Garbaye et Bowen (1989) ont démontré que la microflore de la rhizosphère pouvait avoir un impact positif ou négatif sur la symbiose mycorhizienne, selon les isolats bactériens (Frey-Klett et Garbaye, 2005).

À partir d'études d'isolement et d'identification d'espèces bactériennes présentes dans les champignons mycorhiziens et d'analyses de l'action bactérienne sur la symbiose, Duponnois et Garbaye (1991) ont proposé pour la première fois le terme de Bactéries auxiliaire de la mycorhization, se référant uniquement aux bactéries qui ont favorisé l'établissement de la symbiose racine-champignon. Ce concept a été renforcé et précisé plus tard par Garbaye (1994) (Rigamonte et *al.*, 2010).

La majorité des plantes terrestres vivent en symbiose avec des champignons du sol (Mosse, 1956). Certaines espèces végétales contractent strictement des associations ectomycorhiziennes, cas de la majorité des Gymnospermes tels que le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*), qui est une essence forestière endémique dans les montagnes de l'Afrique du nord (Nezzar-Hocine, 1998).

L'objectif de ce travail est d'effectuer une étude anatomo-morphologique des mycorhizes de Cèdre de l'Atlas, suivie d'une caractérisation des bactéries auxiliaires de la mycorhization, ainsi que leur activités enzymatiques.

*Synthèse  
bibliographique*

### I- Caractéristiques principales du genre *Cedrus*

Le genre *Cedrus* est classé parmi les spermatophytes (plante à graine), il est dit résineux car différentes parties de l'arbre contiennent de la résine (Toth, 2005). Il recouvre quatre espèces: *Cedrus atlantica* Manetti: Cèdre de l'Atlas; *Cedrus libani* Barrel: Cèdre du Liban; *Cedrus deodora* London: Cèdre de l'Himalaya et *Cedrus brevifolia* Henry: Cèdre de Chypre. Le cèdre de l'Atlas, constitue indiscutablement l'essence noble des forêts du Maroc et de l'Algérie (Nezzar-Hocine, 1998).

#### I-1- Systématique du Cèdre de l'Atlas

Sur le plan systématique, le cèdre de l'Atlas appartient aux taxons suivants, selon Angiosperm Phylogeny Group (APG III, 2009):

Règne: Archéplastides

Clade: Gymnospermes

Ordre: Pinales

Famille: Pinacées

Sous-Famille: Abiétées

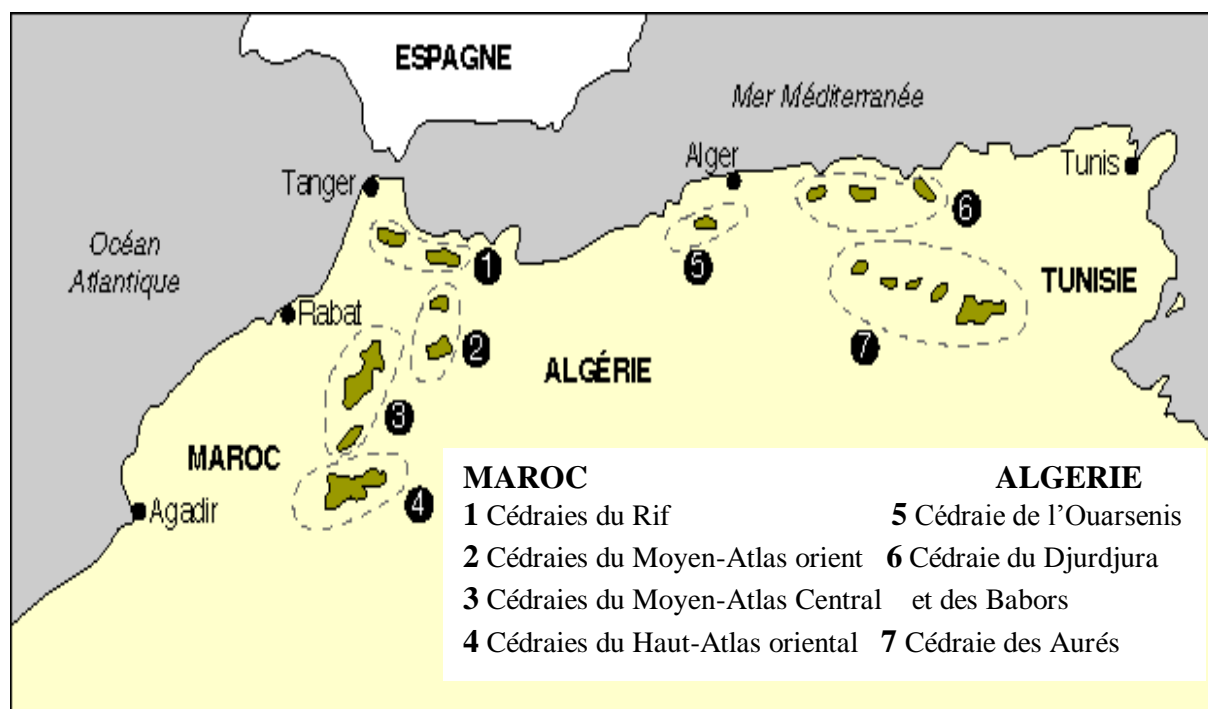
Genre: *Cedrus*

Espèce: *atlantica*

- Nom Anglais: «Atlas Cedar».
- Nom Arabe: «Arz al Atlas» / «al Meddad».
- Nom Berbère: «Inguel» / «Begnoun».

#### I-2- Aire de répartition du Cèdre de l'Atlas en Afrique du nord

Le cèdre de l'Atlas est une essence forestière endémique dans les montagnes de l'Afrique du nord (Nezzar-Hocine, 1998). Il manque en Tunisie et ne se rencontre qu'en Algérie et au Maroc (Derridj, 1990). En Algérie, les massifs forestiers du Cèdre sont dispersés et beaucoup plus réduit qu'au Maroc. Ils s'individualisent en îlot plus ou moins importants, observés à l'ouest et à l'est (Derridj, 1990). Les cédraies sont réparties dans deux grands ensembles (Nezzar-Hocine, 1998): l'Atlas Tallien (humide) et l'Atlas Saharien (sèche) (Figure1).



**Figure 1:** Répartition naturelle du Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*) en Afrique du nord (in Saoudi et Draoui, 2017).

## II-Symbiose mycorhizienne

Les microorganismes représentent la majorité des organismes vivants du compartiment sol. En effet, un gramme du sol contient de 6000 à 50 000 espèces bactériennes et jusqu'à 200 mètres d'hyphes fongiques (Peyret-Guzzon, 2014).

Les Fungi ou champignons sont des eucaryotes, chimio-hétérotrophes, ubiquistes et qui sont classés en saprophytes, parasites et symbiotes, selon leur mode de vie (nutrition) (Strullu, 1991).

### II-1- Généralités

#### II-1-1- Symbiose

À l'origine, la symbiose désignait les formes de vie en commun (Strullu, 1991), la symbiose est définie comme étant une **association** entre deux ou plusieurs organismes différents (symbiotes), **intime** (c à d: avec pénétration des tissus de l'un des deux organismes dans ceux de l'autre, ou à l'intérieur même des cellules), **durable** (c à d: effective jusqu'à ce que l'un des deux (2) organismes meurt) et **mutualiste** (à bénéfice réciproque via l'échange de ressources complémentaires) (Smail, 2017). Strullu en 1991 a décrit deux types de symbioses faites par les champignons, qui sont:

- **Les lichens:** qui désignent l'union entre un champignon et une algue, formant des «thalles» de morphologie spécifique.
- **Les mycorhizes:** qui désignent l'association entre un champignon et une plante, formant des organes complexes appelés «mycorhizes».

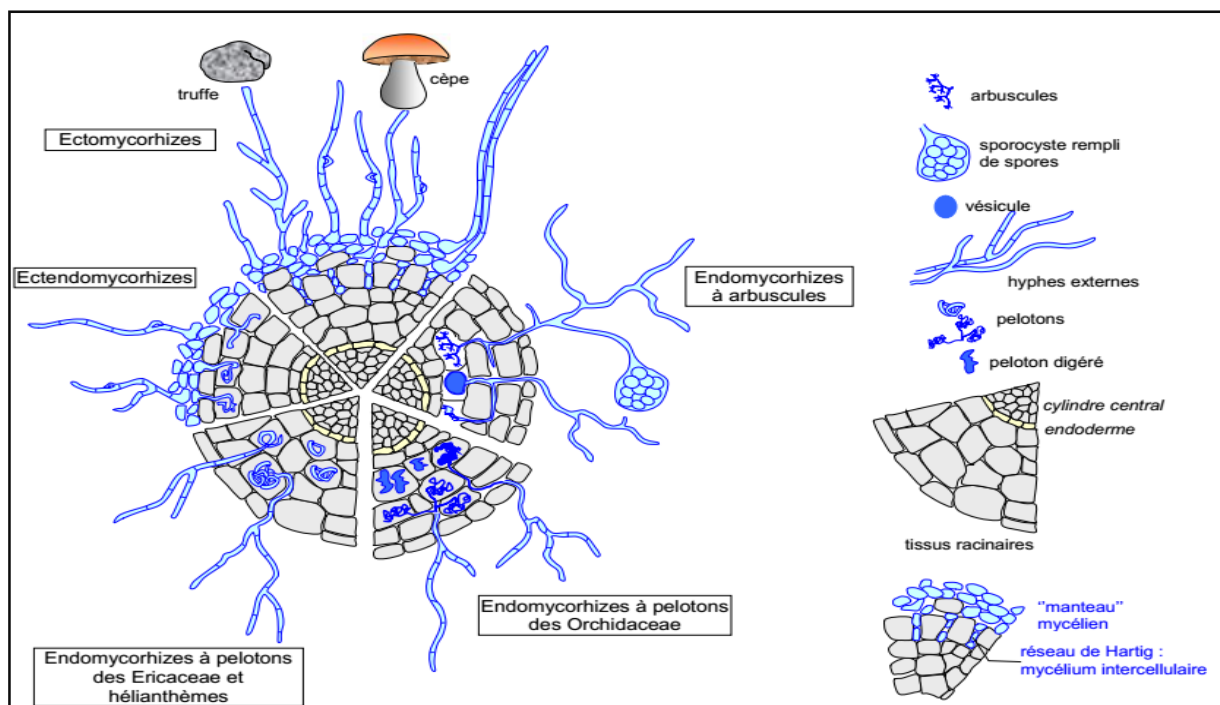
## II-1-2- Symbiose mycorhizienne et les mycorhizes

La symbiose mycorhizienne est une association symbiotique mutualiste (gagnant-gagnant), entre un champignon et une racine de plante- hôte (Peyret-Guzzon, 2014). Donnant naissance à des «mycorhizes» qui sont donc des organes complexes intégrant les champignons symbiotiques et les racines des plantes (Strullu, 1991), et qui représentent la forme de symbiose la plus répandue dans le monde végétal (Nezzar-Hocine, 1998).

Le terme «mycorhize» vient du nom grec «muco» = (champignon) et «rhiza» = (racine) (Frank, 1885) in (Nezzar-Hocine, 1998). Les mycorhizes constituent des partenaires essentiels dans la relation sol- plante- microorganismes.

## II-2-Les différentes symbioses mycorhiziennes

Il existe plusieurs types de mycorhizes classés à partir de leur organisation morphologique (Peyret-Guzzon, 2014) dont les trois principales classes, d'après (Strullu, 1991), sont: les endomycorhizes, ectomycorhizes et ectendomycorhizes, qui sont représentées sur une coupe transversale (Figure 2).



**Figure 2:** Principaux types mycorhiziens actuels représentés sur une coupe transversale d'une racine modifiée (LeTacon, 1985).

### II-2-1- Endomycorhizes

Le type de mycorhizes le plus dominant et les végétaux concernés sont beaucoup plus nombreux: arbres, arbustes, plantes maraîchères et les plantes de grandes cultures (Strullu, 1991; Garbaye, 2013). Cette symbiose entraîne peu de modification dans la morphologie

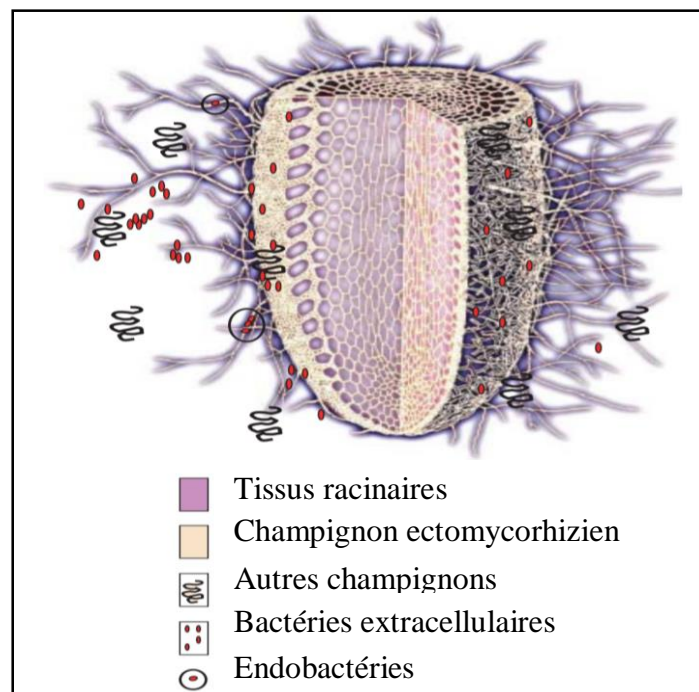
racinaire (Toudert- Taleb, 2000) et se caractérise par la présence de mycélium intracellulaire et l'absence de manteau fongique (Nezzar-Hocine, 1998). Selon l'hôte et la morphologie des hyphes fongiques, il existe deux groupes:

- Endomycorhizes à vésicules et arbuscules: sont formées généralement par les **Glomeromycètes**.
- Endomycorhizes à pelotons d'hyphes cloisonnés:
  - Formées par les champignons supérieurs **Ascomycètes** ou **Basidiomycètes**, qui pénètrent à l'intérieur des cellules corticales de la racine formant ainsi des pelotons.
  - Formées par deux (2) groupes de végétaux: *les orchidées* et *les éricacées* (Strullu, 1991).

### II-2-2- Ectomycorhizes

Elles concernent 05% du taxa végétal (Nezzar-Hocine, 1998) dont de nombreuses espèces forestières (Toudert-Taleb, 2000), qui appartiennent principalement aux familles ou sous-familles des: Betulaceae, Caesalpinioideae, Dipterocarpaceae, Fagaceae, Myrtaceae, Papilionoideae et Pinaceae exemple: le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*) (Duponnois et *al.*, 2013). Les symbiotes fongiques appartiennent aux **Ascomycètes**, **Basidiomycètes** et des **Glomeromycètes** (Strullu, 1991). Elles entraînent d'importantes modifications dans la morphologie racinaire:

- Disparition des poils absorbants (Toudert-Taleb, 2000).
- Le champignon entoure complètement la racine et constitue le manteau fongique, à partir duquel, des filaments mycéliens progressent dans le sol pour former le réseau extra matriciel (Strullu, 1991) (Figure 3).

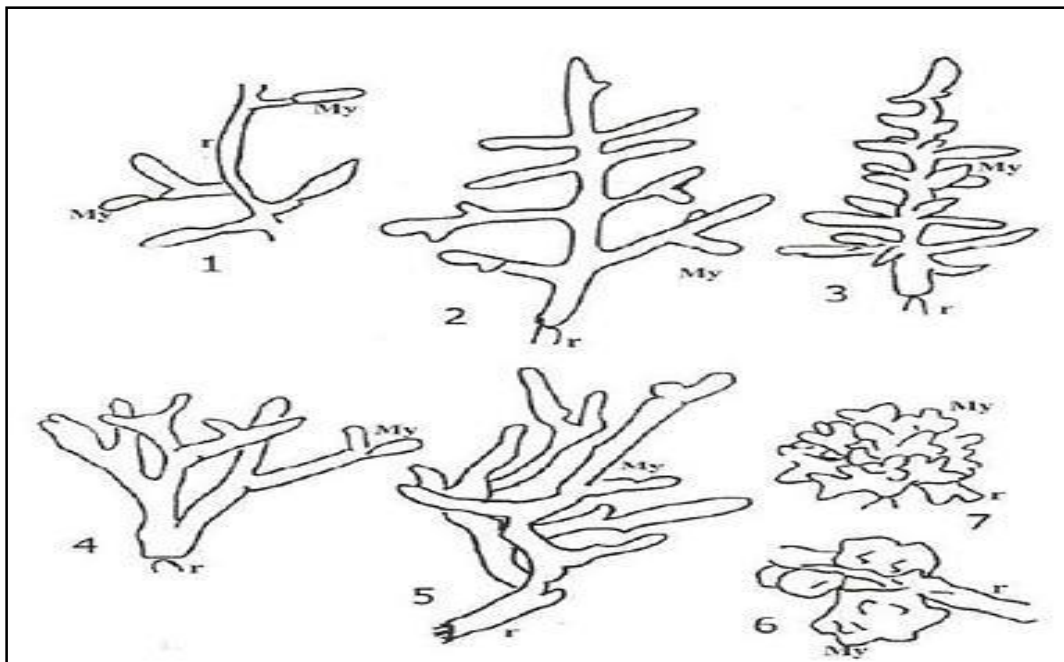


**Figure 3:** Représentation schématique de la symbiose ectomycorhizienne (Frey-Klett, 2005).

### II-2-2-1- Distributions morphologiques des ectomycorhizes

Selon Boullard (1990), les ectomycorhizes peuvent avoir plusieurs distributions morphologiques (Figure 4):

- a) **La structure monopodiale:** un système mycorhizien qui possède un long axe avec les ramifications latérales situées sur le même plan (figure 4. 2).
- b) **La structure pyramidale:** les mycorhizes sont de plus en plus nombreux et ramifiés, en s'éloignant de l'axe de la racine longue qui les porte (figure 4. 3).
- c) **La structure dichotomique:** les mycorhizes sont divisés très vite en deux de façon répétée le long de la racine longue (figure 4. 4).
- d) **La structure racémeuse:** les mycorhizes sont échelonnés de part et d'autre le long de la racine comme les fleurs sur une grappe (figure 4. 5).
- e) **La structure noduleuse:** les mycorhizes dichotomiques ou coralloïdes sont regroupés dans un voile fongique qui donne l'aspect d'un nodule (figure 4. 6).
- f) **La structure coralloïde:** un ensemble de dichotomies répétées (figure 4. 7).



**Figure 4:** Distribution morphologique des ectomycorhizes (Agerer, 1994 *in* Bournine, 2017)

1. Simple, 2. Monopodiale, 3. Pyramidale, 4. Dichotomique, 5. Racémeuse, 6. Noduleuse, 7. Coralloïde. r (Racines porteuses de mycorhizes) / My (Mycorhizes).

### II-2-3- Ectendomycorhizes

Ce sont des formations intermédiaires entre les deux types mycorhiziens précédents, C'est-à-dire, un manteau fongique et un réseau de Hartig (caractères d'ectomycorhizes) et des pénétrations dans des cellules corticales bien organisées au niveau structural (caractères d'endomycorhizes) (Strullu, 1991; Frendi, 2003).

Ce type de symbiose est relativement rare dans la nature (Durrieu, 1993), il est observé chez les Arbutacées, les Monotropacées (Duponnois et *al.*, 2013). Il est réalisé par les

champignons appartenant aux **Basidiomycètes**, du genre: *Amanita*, *Laccaria*, *Paxillus*, ...etc. (Strullu, 1991).

### II-3- Bénéfices de la symbiose mycorhizienne

L'association mycorhizienne favorise un certain nombre d'échanges entre: le sol, le champignon et la plante-hôte (Nezzar-Hocine, 1998). De nombreux travaux, dont ceux de (Boullard, 1968; Strullu, 1991; Garbaye, 2013; Kaur et Sharma, 2021), affirment les bénéfices mutuels entre les deux partenaires (plante/ champignon), garantissant ainsi cette coexistence.

#### II-3-1- Bénéfices tirés par le champignon

La plante fournit au champignon jusqu'à 20% des composés carbonés (sucrés), tels que: saccharose, fructose et glucose par photosynthèse (Nezzar-Hocine, 1998). Ce qui permet d'assurer sa croissance.

#### II-3-2- Bénéfices tirés par la plante

La symbiose mycorhizienne influence positivement la stabilité structurale des sols, ce qui stimule la croissance de la plante- hôte, grâce à:

- L'augmentation quantitative des hormones de la croissance secrétées, tels que: les gibbérellines, les auxines et les cytokinines (Duponnois et *al.*, 2013).
- L'augmentation des quantités d'eau reçues par la plante, grâce à l'expansion du volume du sol atteint par les hyphes extra-matriciels et les cordons mycéliens (Bâ et *al.*, 2011).
- L'amélioration de la capacité de la plante à absorber les éléments minéraux, en particulier le phosphore via la minéralisation (Strullu, 1991).
- L'amélioration de l'état sanitaire de l'arbre, en la protégeant contre les agents pathogènes (certaines bactéries, nématodes, insectes, maladies fongiques, ...) (St-Arnaud et *al.*, 1997).
- Selon Smail (2017), la symbiose améliore la résistance de la plante hôte face à de nombreux stress environnementaux (stress hydrique, stress osmotique, ... etc.).
- Le développement de la tolérance de la plante-hôte aux métaux lourds, températures extrêmes et aux pH défavorables (Nezzar-Hocine, 1998).
- L'amélioration de l'absorption de certains ions, en particulier les oligo -éléments, comme: le cuivre, le potassium et le zinc (Peyret-Guzzon, 2014).
- La favorisation de la coexistence entre plusieurs espèces végétales, ce qui améliore la productivité et la biodiversité végétales dans les écosystèmes (Duponnois et *al.*, 2013).

### III- Bactéries rhizosphériques

Selon Garbaye (2013), les bactéries rhizosphériques sont des bactéries libres, qui interagissent avec la symbiose mycorhizienne, et vivent à la surface ou à proximité immédiate des racines ou de leur extensions fongiques (éventuellement jusqu'à l'intérieur du manteau des ectomycorhizes, entre les filaments du champignon), mais sans association plus intime avec le tissu de la plante.

Certaines de ces bactéries, sont spécialisées et ne colonisent que les niches écologiques rhizosphériques, avec parfois des préférences pour telle ou telle espèce de plante ou telle espèce de champignon mycorhizien. Parmi ces bactéries, on distingue les rhizobactéries stimulant la croissance des plantes (PGPR) et les bactéries auxiliaires de la mycorhization (BAM) (Garbaye, 2013).

### III-1- Rhizobactéries stimulant la croissance des plantes

Les PGPR sont des bactéries rhizosphériques ayant un effet positif sur la nutrition minérale et le développement des plantes. Cet effet bénéfique peut être direct, lorsque la bactérie stimule la croissance racinaire (symbiose associative entre la bactérie PGPR et sa plante), ou indirect, lorsqu'elle contrôle des organismes parasites des tissus racinaires (Antagonisme) (Garbaye, 2013).

### III-2- Bactéries auxiliaires de la mycorhization

La communauté microbienne libre du sol et, plus particulièrement les bactéries rhizosphériques, interagissent avec l'établissement des symbioses endo- et ectomycorhiziennes (Garbaye, 1994). Certaines de ces bactéries inhibent la formation des mycorhizes, mais d'autres isolats particuliers, majoritairement représentés à proximité immédiate du champignon et des racines mycorhizées, stimulent l'établissement de la symbiose. Elles ont été appelées bactéries auxiliaires de la mycorhization «BAM» (Garbaye, 1994).

#### III-2-1- Définition des BAM

Les BAM sont des bactéries libres, qui vivent en interaction tellement étroite avec la racine et symbiotes fongiques, qu'elles ont évolué en même temps qu'eux depuis très longtemps et se sont adaptées à la vie en commun (co-evolution), en exerçant une action bénéfique sur l'association plante-champignon (Garbaye, 2013). Néanmoins, les BAM ont été considéré comme un groupe de PGPR (*Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Rhizobacteries Stimulant la Croissance des Plantes*) par (Kaur et Sharma, 2021), dont leur rôle majeur est de favoriser la colonisation mycorhizienne par différents mécanismes.

Les BAM appartiennent à des genres divers, chez les **Proteobacteries** (*Azospirillum*, *Agrobacterium*, *Azotobacter*, *Burkholderia*, *Bradyrhizobium*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Rhizobium*), les **Firmicutes** (*Bacillus*, *Brevibacillus*, *Paenibacillus*) et les Actinobacteries (*Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Arthrobacter*) (Garbaye, 2013).

#### III-2-2- Mécanismes des BAM

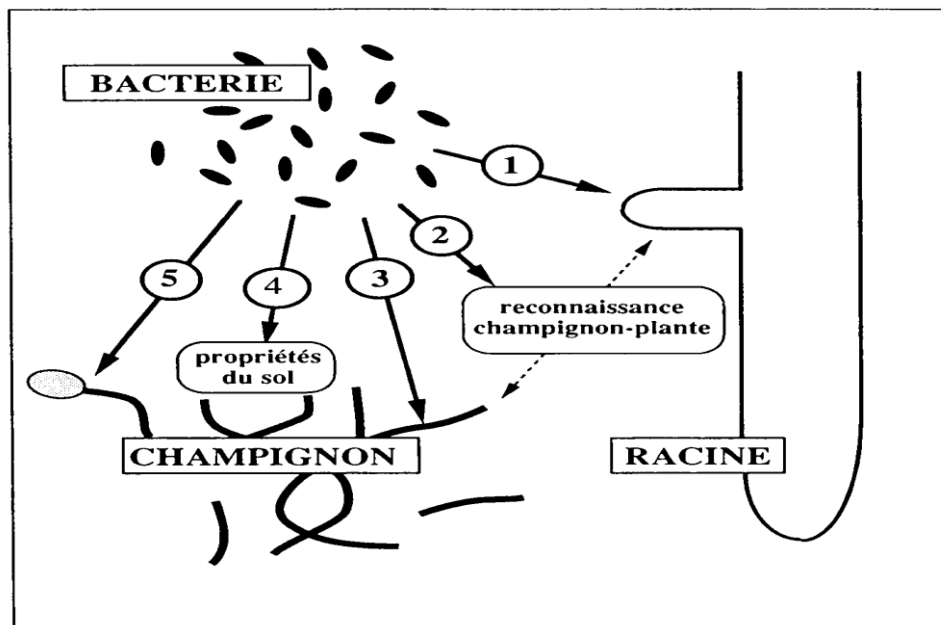
Plusieurs expérimentations (Dupponois, 1992; Garbaye, 1994; Poole et al., 2001; Schrey et al., 2005) ont montré que les BAM stimulent la formation des racines latérales, qui conduit essentiellement à une augmentation des points potentiels auxquels les plantes et les

champignons peuvent interagir, en synthétisant des Phytohormones, y compris les auxines et l'éthylène (Frey-Klett, 2007).

Selon Mosse (1962), certaines bactéries et leurs filtrats de culture étaient capables de stimuler la germination des spores mycorhiziennes arbusculaires de *Glomus mosseae*. Également, dans certains cas, la bactérie stimule la croissance du mycélium dans le sol en émettant des molécules actives à très faible concentration, comme des vitamines que le champignon ne produit pas ou des molécules «signal», c'est-à-dire, des substances non nutritive mais qui modifient le développement ou le comportement d'un organisme tiers. De telles molécules «signal» d'origine bactérienne, peuvent aussi agir en améliorant la réceptivité de la racine à la colonisation par le champignon, en produisant des enzymes ramollissant la paroi des cellules de l'épiderme de la racine, en facilitant ainsi la pénétration (Garbaye, 2013).

Dans d'autres cas, elles agissent non pas au niveau de la racine ou du champignon seul, mais indirectement au niveau du «dialogue moléculaire» qui précède la symbiose. Certaines observations suggèrent que les BAM aideraient aussi le champignon en dégradant des molécules organiques toxiques du sol (Garbaye, 2013). Enfin, une fois que la symbiose mycorhizienne est établie, les bactéries participent avec le champignon à la mobilisation des éléments nutritifs du sol, à partir des minéraux et de la matière organique, afin d'aider le fonctionnement de la racine mycorhizée (Garbaye, 2013).

La figure 5 présente les différentes voies possibles par lesquelles ces bactéries auxiliaires de la mycorhization, favorisent l'établissement de la symbiose mycorhizienne.



**Figure 5:** Représentation schématique des différentes voies d'établissement de la symbiose mycorhizienne (Garbaye, 1994).

(1) Effet sur la réceptivité de la racine. (2) Interférence avec les mécanismes de reconnaissance racine-champignon. (3) Effet direct sur la croissance du champignon. (4) Modification des propriétés du sol rhizosphérique. (5) Effet sur la germination des propagules.

### III-2-3- Spécificité des BAM

Selon Garbaye (1994), les BAM sont spécifiques aux champignons mais pas aux plantes. De nombreuses études ont été menées afin d'explorer la spécificité de l'interaction entre les BAM et les champignons, et entre les BAM et la plante symbiote, et divers résultats ont été obtenus (Rigamonte et al., 2010).

Parmi eux, ceux de (Garbaye et Dupponois, 1992) et (Dunstan et al., 1998) qui ont démontré une spécificité fongique dans les interactions ectomycorhizienne et différents isolats de bactériens auxiliaires de la mycorhize. Or, Dupponois et Plenchette (2003) ont rapporté que la même bactérie *Pseudomonas monteilii*, isolée de la plante *Pisolithus alba*, était capable de stimuler le développement des mycorhizes chez *Acacia holosericea*, avec deux espèces de *Scleroderma* et, plus surprenant, avec le champignon endomycorhizien *Glomus intraradices* (Frey-Klett et Garbaye, 2005; Rigamonte et al., 2010).

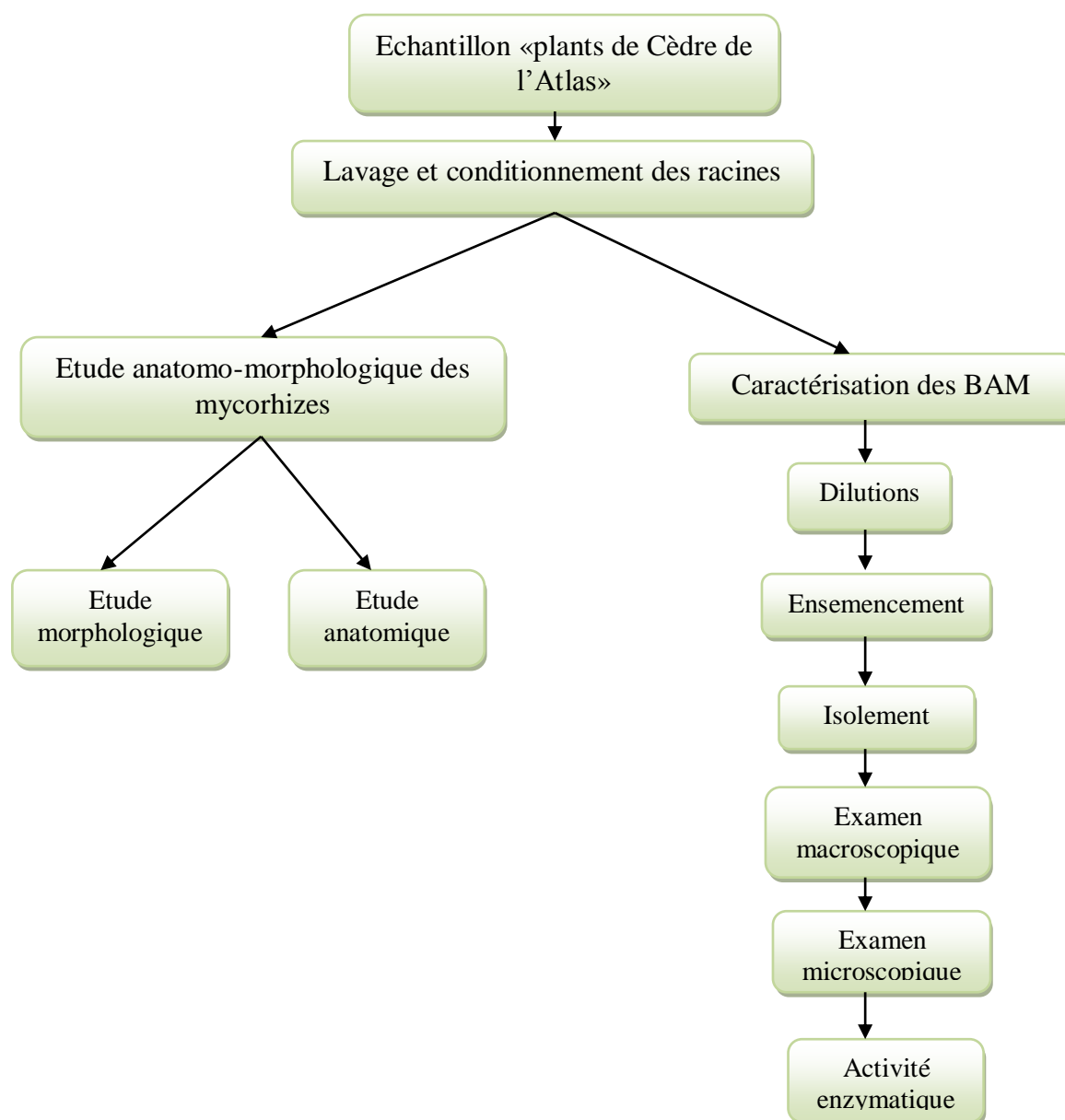
Donc d'une manière générale, on peut déduire que la spécificité de l'effet auxiliaire semble varier avec les souches bactériennes (Frey-Klett et Garbaye, 2005).

# *Matériel et Méthodes*

### I-Lieu et période d'étude

Notre travail a été réalisé au niveau de laboratoire pédagogique I et II de microbiologie, et au niveau de laboratoire de recherche d'écologie, au sein de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, durant la période allant du mois de Juin au mois d'Octobre de l'année 2021.

La figure 6 montre le schéma récapitulatif des principales étapes de notre recherche.



**Figure 6:** Schéma récapitulatif de l'étude.

### II-Matériel

#### II-1- Matériel biologique

Les plants du cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*) à étudier, ont été produits dans la pépinière du parc national du Djurdjura, située au niveau de Thala Mahdi à Aghrib. Le sol utilisé est un sol de chênaie, qui présente une texture argilo-limoneuse. La figure 7 représente les plants de Cèdre utilisés.



**Figure 7:** Plants du Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*).

A) Plants en sachet, B) Plant extrait du sachet.

#### II-2- Matériel non biologique

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

### III-Méthodes

Après ouverture des conteneurs des plants, les différentes méthodes utilisées pour cette étude sont:

#### III-1-Lavage des racines

Les plants sont mis à tremper dans une baignoire d'eau afin de faciliter l'élimination du sol, pendant quelques minutes, l'ensemble est alors lavé sous un léger filet d'eau, en éliminant les petites pierres, morceau de bois, vers de terre...etc. Une fois les racines sont propres, elles sont récupérées à l'aide de pinces gardées dans l'eau.

#### III-2- Séparation et conditionnement des racines

Les racines doivent être maintenues en permanence dans l'eau afin d'éviter leur dessèchement à l'air libre. À l'aide de ciseaux, les racines ou les axes racinaires sont séparés des plus grosses racines, qui sont ensuite immergées dans l'eau dans des grandes boîtes de Petri en verre.

#### III-3- Etude Anatomomorphologique des racines

Après le lavage des racines, la recherche et l'étude des ectomycorhizes est faite sous loupe binoculaire, puis sous microscope optique.

### III-3-1- Etude morphologique

Les fragments du système racinaire sont déposés, toujours recouvert d'eau, dans une petite boîte de Petri.

Les ectomycorhizes sont décrites en se basant sur la couleur, la forme (ou distribution) de la mycorhize, la présence ou l'absence du mycélium extramatriciel, ainsi que son importance, et la présence ou l'absence de cordons et de rhizomorphes.

Les racines mycorhizées sont classées en plusieurs types morphologiques, suivant la classification établie par Agerer (2001) et Garbaye (2013), basée sur les types d'exploration, c'est-à-dire la façon dont le mycélium extraracinaire (extramatriciel) est organisé vis-à-vis des éléments du sol qu'il colonise et sur le mode spatial d'exploitation des ressources.

Les types d'exploration, sont:

- Le type d'exploration par contact (mycorhize lisse ou mycorhize sans mycélium extraracinaire).
- Le type d'exploration à courte et moyenne distance.
- Le type d'exploration à grande distance, caractérisé par des cordons et des rhizomorphes.

### III-3-2- Etude anatomique

Les types morphologiques sélectionnés sont séparément fixés dans du fixateur FPA constitué de: Formol (3%), Acide propionique (5%) et Ethanol à 70% (92%).

Des coupes transversales ont été réalisées, à main levée, sur chaque type mycorhizien, puis colorées à l'encre bleu, pour contraster le champignon par rapport aux tissus de la racine.

L'observation sous microscope optique, nous a permis de mettre en évidence: le manteau fongique, l'importance du réseau de Hartig et la présence ou l'absence de tanins.

### III-4- Quantification de la colonisation mycorhizienne

La méthode de quantification proprement dite dépend du type de mycorhizes, en particulier de la répartition des structures symbiotiques sur les racines. Concernant le type ectomycorhizien, dont le siège est les racines courtes spécialisées, l'unité de mycorhization est la racine courte et ce sont elles qui sont dénombrées, en précisant à chaque fois s'il s'agit d'une racine courte non mycorhizée ou d'une mycorhize. Le taux de mycorhization est exprimé en pourcentage de racines courtes mycorhizées par rapport au nombre total de racines courtes comptées.

Une échelle proposée par Goncalves (1994) a été utilisée pour évaluer l'importance de la mycorhization:

- La mycorhization est faible si la longueur des racines mycorhizées est inférieure à 10% ;
- La mycorhization est modérée ou assez bonne si cette longueur est comprise entre 10% et 50% ;
- La mycorhization est abondante ou très bonne si cette longueur est supérieure à 50%.

### III-5- Caractérisation des souches microbiennes

Une partie du système racinaire du cèdre de l'Atlas contenant le mycorhizoplant, est utilisée pour rechercher les BAM.

#### III-5-1- Préparation des dilutions

Un gramme du système racinaire possédant de petites portions du sol a été pesé. Le tout a été mis dans 9 mL de l'eau physiologique stérile (Annexe 2), afin de préparer la solution mère. À partir de cette solution, une série de dilution décimale allant jusqu'à la dilution  $10^{-8}$  a été réalisée.

#### III-5-2- Ensemencement

Un volume de 1 mL a été prélevé de chaque dilution (de  $10^{-1}$  au  $10^{-8}$ ), puis ont été étalés sur les boîtes de Petri correspondantes, contenant la gélose nutritive (Annexe 2). L'incubation a été réalisée à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures.

#### III-5-3- Isolement

Après incubation, un choix de colonies qui se distinguent d'un point de vue macroscopique (forme et couleur), a été effectué.

Les colonies choisies ont été ensemencées par la méthode des stries avec des pipettes Pasteur stériles, sur des boîtes de Petri contenant la gélose nutritive. Puis, incubées à  $30^{\circ}\text{C}$ , afin d'avoir des colonies pures et bien isolées.

##### III-5-3-1- Examen macroscopique

Cet examen consiste à visualiser les colonies obtenues sur boîtes de Petri après incubation, à l'œil nu, permettant la description des colonies, à savoir: la couleur, la taille, la forme, l'opacité, l'aspect du surface et de contour.

##### III-5-3-2- Examen microscopique

###### a. Observation à l'état frais

Une goutte de suspension bactérienne préparée, correspondante à chaque colonie isolée, a été déposée sur une lame, puis recouverte d'une lamelle, a été observée sous microscope optique au grossissement (Gx40).

Ce test a pour but de déterminer la forme des cellules, leur mode d'arrangement et leur mobilité.

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

###### ➤ Préparation des frottis

Sur des lames en verre propres, des frottis des colonies isolées ont été réalisés puis fixés par la chaleur en les passant, par mouvements rapides, trois à quatre fois sur la flamme du bec Bunsen.

###### ➤ Coloration du Gram

Les frottis préalablement préparés sont colorés avec une solution de violet de Gentiane pendant une minute, ensuite ils sont recouverts deux fois avec le Lugol pendant 45 secondes. Puis, décolorés avec l'alcool pendant 30 secondes. L'eau du robinet a été utilisée pour arrêter l'effet de l'alcool, les frottis ont été recolorés à la Fuschine pendant une minute puis rincés abondamment à l'eau du robinet.

Une fois les lames sont séchées, elles seront examinées sous microscope optique, à l'aide de l'objectif à immersion (Gx100).

Ce test a pour but de classer les bactéries en deux groupes différents: les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif. Il permet également de préciser le mode de regroupement et la morphologie des cellules.

### c. Galerie Biochimique

#### ➤ Mise en évidence de la catalase

La présence de catalase est expérimentalement démontrée en mélangeant quelques colonies de la souche à étudier avec quelques gouttes d'eau oxygénée, s'il y a présence de catalase on constate un phénomène d'effervescence au niveau de l'échantillon.

#### ➤ Mise en évidence du type respiratoire

Ce test permet de prédire le type respiratoire des bactéries isolées. Il s'effectue dans des tubes contenant une gélose Viande-Foie (VF). La technique consiste à régénérer les tubes au bain Marrie à 100°C pendant 30 minutes, et les maintenir en surfusion à 45°C, pour éliminer toute trace d'oxygène. L'ensemencement se fait par piqure centrale profonde, la pipette est ensuite retirée tout en réalisant les tours des spires. Un refroidissement immédiat des tubes, suivis d'une incubation à 37°C pendant 24-48 heures, sont réalisés.

#### ➤ Caractère Mannitol-Mobilité

Le milieu Mannitol Mobilité est un milieu faiblement gélosé permettant de tester simultanément la mobilité et l'utilisation du mannitol:

- La mobilité est mise en évidence par la diffusion des bactéries à partir de la ligne d'ensemencement, en créant un trouble.
- La dégradation du mannitol conduit à l'acidification du milieu (virage au jaune).

Ensemencer les bactéries à tester par une piqure centrale, avec une pipette Pasteur stérile, dans des tubes contenant le milieu Mannitol-Mobilité, puis incubé à 37°C pendant 24-48 heures.

#### ➤ Utilisation du citrate comme seule source de carbone

Le caractère citrate est recherché sur le milieu Citrate de Simmons. Ce milieu, en tube incliné, permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme seule source de carbone et d'énergie.

La pente de milieu de Citrate de Simmons est ensemencée par des stries longitudinales au moyen d'une pipette Pasteur stérile avec un inoculum de chaque souche bactérienne isolée. L'incubation s'effectue à 37°C pendant 24-48 heures.

La fermentation du citrate de sodium qui est un triacide sera transformé en diacide, entraînant ainsi une alcalinisation du milieu provoquant un virage de couleur du milieu vers le bleu.

#### ➤ Métabolisme glucidique: Test Voges Proskauer et Rouge de Méthyle

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

Les souches préalablement mises en suspension sont ensemencées sur le milieu Clarck et Lubs, puis incubées à 37°C pendant 24 heures.

Chaque tube est ensuite réparti sur deux tubes, l'un servira à la recherche des acides mixtes et l'autre à la recherche de l'acétoïne. Ajouter respectivement dans chaque tube deux gouttes de rouge de méthyle RM et quelques gouttes des réactifs VPI (napht-1-ol) et VPII (hydroxyde de potassium ou de sodium).

Lecture: si le milieu vire vers le rouge, la souche est RM+. Mais si la réaction se traduit par un virage du milieu au rouge, la souche est VP+.

### **III-5-4- Recherche de l'activité enzymatique**

#### **III-5-4-1- Recherche des amylases**

Ce test est réalisé en cultivant les bactéries isolées sur milieu nutritif gélosé contenant 1% d'amidon soluble, par ensemencement en spot avec une pipette Pasteur stérile. Après incubation à 30°C pendant 24 heures, la révélation des résultats est effectuée avec le Lugol (I<sub>2</sub>).

Le résultat immédiat de l'hydrolyse de l'amidon est ainsi mis en évidence par la présence d'une zone claire autour des colonies.

#### **III-5-4-2- Recherche des cellulases**

Ce test est réalisé en cultivant les bactéries isolées sur milieu nutritif gélosé contenant 1% de cellulose soluble, par ensemencement en spot avec une pipette Pasteur stérile.

Après incubation à 30°C pendant 24 heures, la révélation des résultats est effectuée avec le rouge Kongo à 1% (Annexe 2) après 15-30 minutes d'incubation des boîtes de Petri à la température ambiante.

L'hydrolyse de la cellulose est ainsi mise en évidence par la présence d'une zone claire autour des colonies.

#### **III-4-4-3- Recherche des chitinases**

Ce test est réalisé en cultivant les bactéries isolées sur milieu nutritif gélosé contenant 1% de la chitine soluble, par ensemencement en spot avec une pipette Pasteur stérile.

La lecture des résultats est effectuée après incubation à 30°C pendant 24 heures. L'hydrolyse de la chitine est ainsi mise en évidence par la présence d'une zone claire autour des colonies.

#### **III-4-4-4- Recherche des protéases**

Ce test est réalisé en cultivant les bactéries isolées sur milieu gélosé, double agar (2,7g d'agar présent dans la gélose nutritive, plus l'ajout de 2g d'agar) et 100 mL du lait UHT 0% matières grasses, par ensemencement en spot avec une pipette Pasteur stérile.

La lecture des résultats est effectuée après incubation à 30°C pendant 24 heures. L'hydrolyse de la protéine du lait (caséine) est ainsi mise en évidence par la présence d'une zone claire autour des colonies.

# *Résultats et Discussion*

### I-Résultats

#### I-1- Description anatomo-morphologique des ectomycorhizes observés

Les ectomycorhizes rencontrées sur les plants du cèdre présentent les aspects morphologiques et anatomiques suivants (Figure 8 et 9).

**Morphotype 1:** C'est une mycorhize marron à distribution simple. Le mycélium extra matriciel est peu abondant. Ses hyphes courts retiennent des particules du sol. On observe un cordon blanchâtre (figure 8.a). La coupe transversale nous a révélé un manteau fongique épais, un réseau de Hartig qui s'étend sur deux à trois couches des cellules corticales, et des tanins très abondants (figure 9.A).

**Morphotype 2:** C'est une mycorhize simple et courte de couleur marron. Elle présente un mycélium extra matriciel assez abondant. Il est composé d'hyphes fins et courts très serrés rassemblés en touffes (figure 8.b). La coupe transversale nous a révélé un manteau fongique assez épais, un réseau de Hartig qui s'étend sur deux à trois couches du cortex. Les tanins sont peu abondants (figure 9.B).

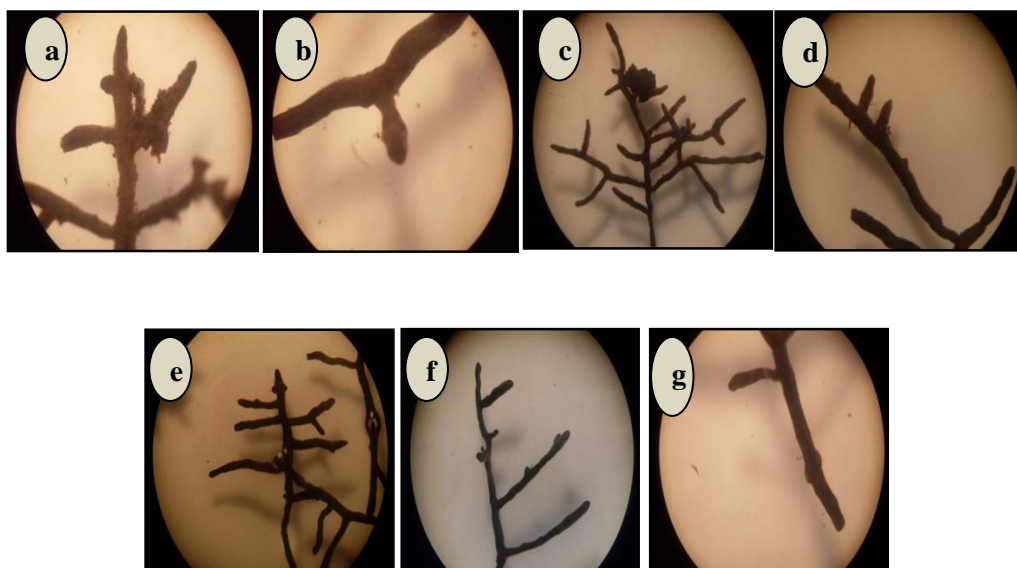
**Morphotype 3:** C'est une mycorhize à distribution coralloïde, de couleur marron. Le mycélium extra matriciel est peu visible (figure 8.c). En coupe transversale, le manteau fongique est épais, le réseau de Hartig est profond, et les tanins sont très abondants (figure 9.C).

**Morphotype 4:** Cette ectomycorhize est simple de couleur marron. Le mycélium extra matriciel est peu abondant. On distingue parfois un cordon fin et ramifié (figure 8.d).

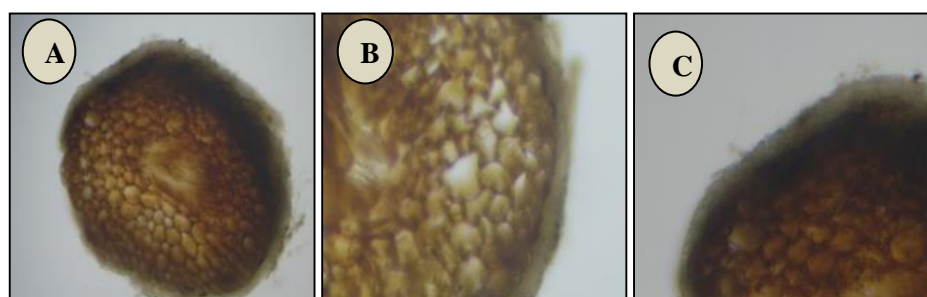
**Morphotype 5:** C'est une mycorhize ramifiée de couleur marron. Le mycélium extra matriciel est peu abondant. Il est formé d'hyphes fins et très courts. Les cordons et les rhizosphères sont absents (figure 8.e).

**Morphotype 6:** Cette mycorhize est simple et longue, de couleur marron. On distingue un mycélium extra matriciel peu abondant formé d'hyphes très courts et très fins (figure 8.f).

**Morphotype 7:** C'est une mycorhize marron et simple. Le mycélium extra matriciel de couleur blanc pâle et peu abondant, il est formé d'hyphes blancs et courts. On distingue à sa base un cordon assez court (figure 8.g).



**Figure 8:** Morphologie des ectomycorhizes des racines de *Cedrus atlantica* en pépinière, observée sous une loupe binoculaire.



**Figure 9:** Anatomie des ectomycorhizes des racines de *Cedrus atlantica* en pépinière, observée sous microscope optique.

### I-2- Quantification des ectomycorhizes

Le taux de mycorhization obtenu est 65%. Selon l'échelle proposée par Goncalves (1994), cette mycorhization est très bonne.

### I-3- Caractérisation des BAM

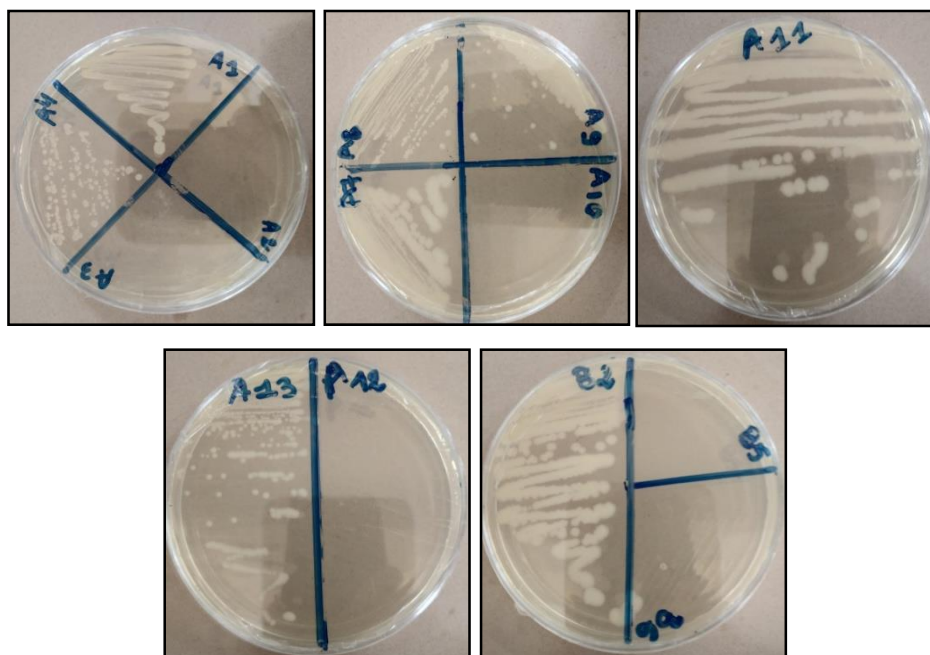
Sur l'ensemble des 08 boîtes de Petri correspondantes aux dilutions allant de  $D10^{-1}$  jusqu'au  $D10^{-8}$ , le choix de souches a été effectué uniquement à partir de la  $D10^{-2}$ ,  $D10^{-3}$  et  $D10^{-4}$ . Les souches prélevées des trois dilutions ont été nommées A, B, C respectivement.

Le nombre de souches choisies, destinées à l'ensemencement était de 32 souches. Après 24h d'incubation, 21 souches ont été développées, isolées, puis conservées à 4°C pendant 2 mois (période des vacances «15 juillet -15 septembre»). Par la suite, un ré-isolément a été

effectué afin de vérifier la pureté des souches, mais également pour qu'elles soient fraîches pour la réalisation des divers tests de caractérisation.

### I-3-1- Caractères cultureux

Après 24h d'incubation à 30°C des souches ré-isolées, 14 souches ont été développées sur le milieu gélose nutritive. La figure 10 illustre l'aspect et la couleur des souches obtenues.



**Figure 10:** Aspects morphologiques des souches ré-isolées.

### I-3-2-Observation macroscopique des souches obtenues

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

**Tableau I:** Aspect macroscopique des souches.

Souches	Forme	Relief	Couleur	Consistance	Opacité
A1	Ronde à contour irrégulier	Convexe	Marron foncé	Crémeuse	Opaque
A3	Ronde	Convexe	Blanc clair	Crémeuse	Transparente
A4	Ronde à contour régulier	Convexe	Marron clair	muqueuse	Opaque
A7	Ronde à contour irrégulier	Elevée	Blanche	Crémeuse	Opaque
A8	Ronde à contour régulier	Bombée	Blanche	Crémeuse	Opaque
A9	Ronde à contour irrégulier	Elevée	Blanche	Crémeuse	Opaque à centre transparent
A11	Ronde à contour	Elevée	Blanche	Crémeuse	Opaque

	régulier				
<b>A13</b>	Ronde à contour irrégulier	Elevée	Blanche	Crémeuse	Opaque
<b>A14</b>	Irrégulière	Plane	Blanche	Crémeuse	Translucide
<b>B2</b>	Ronde à contour irrégulier	Elevée	Blanche	Crémeuse	Opaque
<b>C1</b>	Ronde à contour régulier	Bombée	Jaune brillante	Crémeuse	Opaque
<b>C4</b>	Ronde à contour régulier	Bombée	Jaune	Crémeuse	Opaque
<b>C9</b>	Ronde à contour irrégulier	Elevée	Blanche	Sèche	Translucide
<b>C12</b>	Ronde à contour régulier	Elevée	Blanche	Muqueuse	Translucide

### I-3-3- Etude microscopique des souches

#### I-3-3-1- Observation à l'état frais

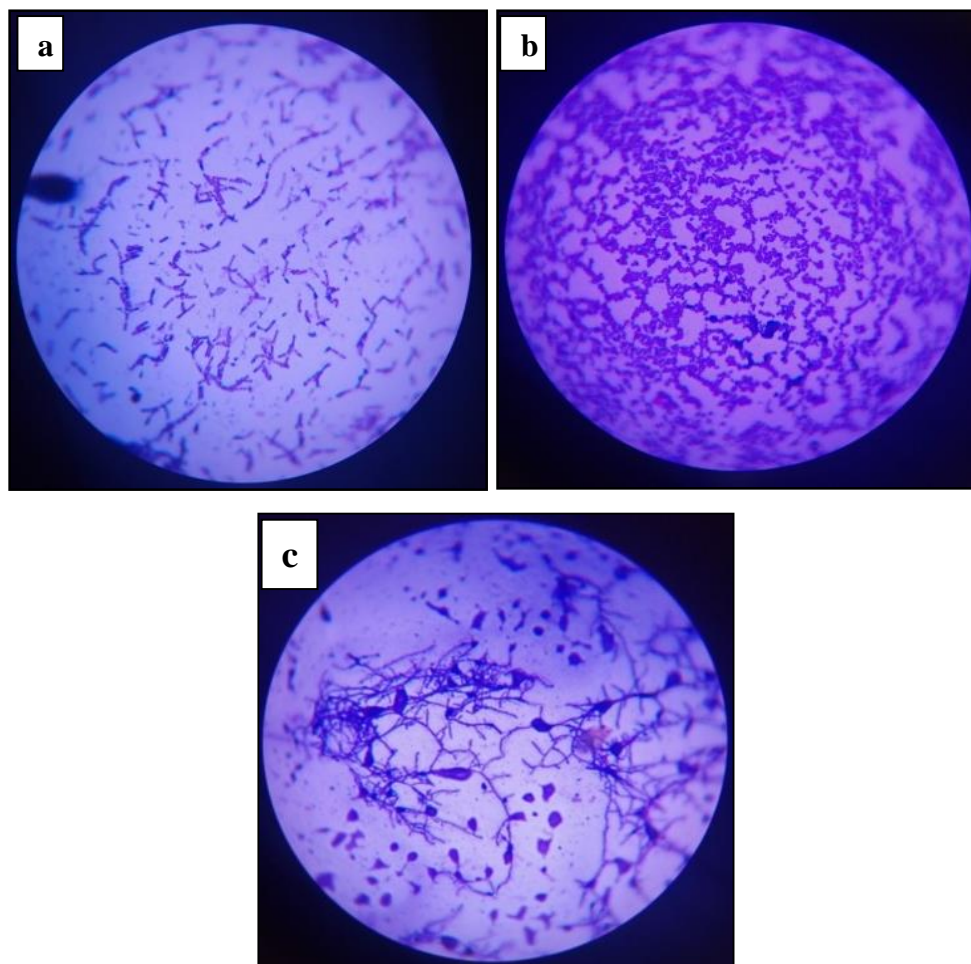
Les résultats de l'observation à l'état frais au (Gx100) des souches, sont présentés dans le tableau II.

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

Souches	Forme	Mode d'arrangement	Mobilité
<b>A1</b>	Bâtonnet	Isolé	-
<b>A3</b>	Bâtonnet fin	Isolé	+
<b>A4</b>	Bâtonnet	Diplobacille	-
<b>A7</b>	Long bâtonnet	Diplobacille	-
<b>A8</b>	Bâtonnet	Diplobacille	-
<b>A9</b>	Bâtonnet	En chaînette	-
<b>A11</b>	Petit bâtonnet	En chaînette	-
<b>A13</b>	Petit bâtonnet	En chaînette	-
<b>A14</b>	Bâtonnet	En chaînette	-
<b>B2</b>	Petit bâtonnet	Isolé	-
<b>C1</b>	Cocci	En amas	-
<b>C4</b>	Cocci	En amas	-
<b>C9</b>	Filaments	En amas	-
<b>C12</b>	Petit bâtonnet	Isolé	-

### I-3-3-2- Observation à l'état fixé: Coloration de Gram

La coloration de Gram était positive (Gram+) pour l'ensemble des souches. La figure suivante illustre les résultats de la coloration de Gram observés sous microscope optique au (G×100). Elles ont été sélectionnées, pour montrer les 03 formes principales observées suite à l'étude microscopiques des souches.



**Figure 11:** Résultats de la coloration de Gram.

- a) Bâtonnet en chaînettes G+, b) Cocci en amas grappe de raisin G+, c) forme filamenteuse des Actinomycètes G+.

### I-3-3-3- Galerie biochimique

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

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

Caractères	Catalase	Type	Manitol	Mobilité	Citrate perméase	VP	RM
Souches		respiratoire					
<b>A1</b>	+	Aérobic strict	/	/	+	+	-
<b>A3</b>	+	Aero-anaérobie	/	/	-	+	-

		facultatif					
<b>A4</b>	+	Aérobie stricte	+	-	-	+	-
<b>A7</b>	+	Aero-anaérobie facultatif	/	/	-	+	+
<b>A8</b>	+	Aérobie stricte	/	/	+	-	+
<b>A9</b>	+	Aero-anaérobie facultatif	/	/	-	-	+
<b>A11</b>	+	Aero-anaérobie facultatif	/	/	-	+	-
<b>A13</b>	+	Aero-anaérobie facultatif	+	-	-	+	-
<b>A14</b>	+	Aero-anaérobie facultatif	+	+	-	-	-
<b>B2</b>	+	Aero-anaérobie facultatif	+	-	-	-	+
<b>C1</b>	+	Aero-anaérobie facultatif	/	/	-	-	+
<b>C4</b>	+	Aérobie stricte	+	-	-	-	+
<b>C9</b>	+	Aero-anaérobie facultatif	-	-	+	-	+
<b>C12</b>	+	Aero-anaérobie facultatif	/	/	-	+	-

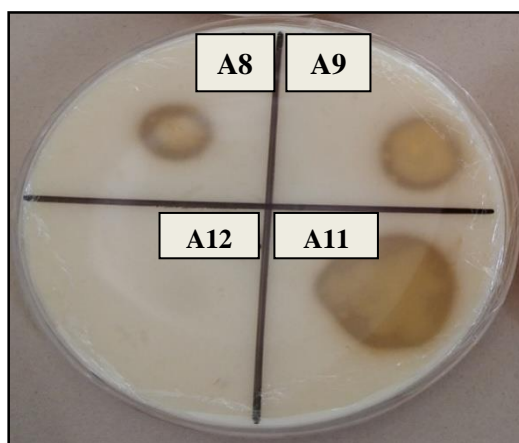
+) Résultat positif, -) Résultat négatif, /) Test non réalisé

### I-3-4- Activité enzymatique

Les résultats de la recherche des enzymes (Amylase, Cellulase, Chitinase et Protéase) sont représentés dans le tableau IV. Les résultats de l'activité protéolytique des 04 souches (A8, A9, A11 et A12) sont illustrés dans la figure 12.

**Tableau IV:** Résultats de l'activité enzymatique.

Souches	Amylase	Cellulase	Chitinase	Protéase
A 1	+	+	-	+
A 3	-	+	-	-
A 4	+	+	-	+
B 2	+	+	-	+
A 7	+	+	-	+
A 8	+	-	-	+
A 9	+	+	-	+
A 11	+	+	-	+
A 13	+	+	-	+
A 14	+	+	-	+
C 1	+	+	-	-
C 4	+	+	-	-
C 9	+	+	-	-
C 12	+	+	-	-



**Figure 12:** Résultat de l'activité protéolytique.

### II-Discussion

Les plants de cèdre utilisés au cours de ce travail, âgés de 19 mois, ont été produits dans un sol forestier de chênaie. En effet, l'étude anatomo-morphologique des mycorhizes des plants du cèdre, a révélé sept différents types d'ectomycorhizes. En coupe transversale, ces ECM présentent un manteau fongique, un réseau de Hartig et des tanins.

Ces résultats sont en accord avec ceux de Lepoutre (1963) et Nezzar-Hocine (1995 et 1998), indiquant que la mycorhization est favorisée dans un sol forestier, du fait de sa richesse en propagules de champignons mycorhiziens. Citant l'expérimentation réalisée par Nezzar-Hocine (1998), qui a démontré que l'apport de 10% seulement de sol forestier, en pépinière, était suffisant pour apporter les propagules fongiques nécessaires, pour atteindre un niveau et une qualité de mycorhization comparable, à ceux obtenus dans le sol de forêt pur. De même, ces résultats confirment ceux du test biologique obtenu par Nezzar-Hocine et *al.* (1995), montrant que le potentiel infectieux ectomycorhizien du sol de la cédraie, est très élevé.

En outre, cette mycorhization est dû à l'existence d'un grand nombre d'espèces fongiques communes, au cèdre et au chêne liège. Car, ils occupent le même étage géographique dans leur aire naturelle, le cas de la forêt de Djurdjura (Nezzar-Hocine, 1998). De plus, selon le même auteur, la mycorhization peut se développer largement en pépinière, dès les premiers mois de culture, à condition d'utiliser un substrat de culture adapté, de façon qu'il y ait une réceptivité plus au moins importante entre le substrat, les plantules de cèdre et les cultures mycorhiziennes de champignons symbiotiques.

La quantification de la colonisation mycorhizienne, est estimée à 65%, qui est considérée selon l'échelle de Goncalves (1994), comme abondante. En revanche, nos résultats contredisent ceux d'Abourouh (2000), qui a constaté que la chance de trouver, dans les pépinières forestières, des plants du cèdre ectomycorhizés, est très faible et que sur ces plants, le nombre d'ECM est négligeable.

L'établissement de la symbiose mycorhizienne est aussi influencée par des microorganismes rhizosphériques, particulièrement, les bactéries. Les bactéries peuvent avoir développé des mécanismes d'interaction sélective, avec les microorganismes environnants, avec des effets neutres ou positifs sur les associations mycorhiziennes, mais un effet négatif sur les agents pathogènes des racines en général. En raison de l'effet bénéfique de ces bactéries sur la mycorhization, le concept des bactéries auxiliaires de la mycorhization, a été créé.

De nombreuses actions des BAM sur cette symbiose ont été proposées: dans la mobilisation des éléments nutritifs des minéraux du sol et de la matière organique, dans la détoxification du sol ectomycorhizosphérique en terme d'élimination et/ou dégradation des métabolites antagonistes et xénobiotiques, dans la réceptivité de la racine au champignon, dans la reconnaissance des champignons racinaires, dans la croissance fongique et dans la germination des propagules fongiques (Garbaye, 1994; Frey-Klett et *al.*, 2007). Ces divers mécanismes sont effectués, grâce à la synthèse de différentes substances. Telles que: les hormones de croissance, des antibiotiques, des antifongiques, des enzymes, ...etc. (Duponnois et *al.*, 2013).

Les enzymes sont synthétisées en grande partie par les champignons, mais également par les bactéries. Elles ont montré un effet significatif, sur l'augmentation de la réceptivité de la racine. En effet, les BAM facilitent la colonisation du système racinaire, avant le contact

entre le champignon mycorhizien et la plante hôte. Cela se produit grâce à une production contrôlée d'enzymes de digestion de la paroi cellulaire, permettant la pénétration des hyphes fongiques dans les racines et facilitant leur propagation à l'intérieur des tissus racinaires (Tarkka et Frey-Klett, 2008).

L'assouplissement de la paroi cellulaire des racines, pourra rendre les plantes plus sensible à la colonisation fongique. Les premiers travaux de Mosse (1962), ont montré que certains microorganismes appartenant au genre *Pseudomonas*, produisent des enzymes qui dégradent la paroi cellulaire et favorisent l'établissement de la mycorhization arbusculaire sur les racines. De même, les filtrats de culture bactérienne et les préparations enzymatiques étaient tout aussi efficaces, pour favoriser le développement de l'AM. En revanche, les expérimentations d'Aspray et al. (2006), ont montré que *Paenibacillus* sp. EJP73 n'a favorisé l'établissement de mycorhizes, chez le pin sylvestre, que lorsque la bactérie était en contact direct avec les racines courtes.

En outre, les enzymes sont aussi synthétisées comme produits allélochimiques, qui réduisent les dommages causés par les agents pathogènes des plantes. Les enzymes lytiques telles que: les chitinases, les cellulases, les protéases, les xylanases, les peroxydases...etc, ont été utilisé pour lyser les parois cellulaires de nombreux champignons phytopathogènes (Balvantin-Garcia et al., 2011; Medina-de la Rosa et al., 2016). Mais, selon De-Boer et al. (1998), le potentiel enzymatique des bactéries du sol ne reflète pas, nécessairement, le potentiel d'inhibition de la croissance des phytopathogènes.

Au cours de cette étude, les essais de caractérisation de ces bactéries, et l'étude de certaines de leurs activités enzymatiques, chez les plants du cèdre, nous a permis d'isoler 14 souches bactériennes. Nous remarquons que 13 souches ont présentés une activité amylolytique et cellulolytique, à l'exception de souches A3 et A8 respectivement. Concernant l'activité protéolytique, elle est présente chez 9 souches (A1, A4, B2, A7, A8, A9, A11, A13 et A14), tandis que, l'activité chitinolytique est quasiment absente. Ces résultats indiquent la prédominance des activités amylolytiques et cellulolytiques, par rapport à l'activité protéolytique qui est moins exercée.

En comparant le nombre des activités enzymatiques secrétées par chaque souche bactérienne, nous constatons que les 8 souches (A1, A4, B2, A7, A9, A11, A13 et A14), possèdent trois activités enzymatiques (amylase, cellulase et protéase), ce qui signifie qu'elles ont une forte activité enzymatique. Suivie des souches (A8, C1, C4, C9 et C12), qui produisent uniquement deux enzymes, montrant une activité enzymatique moyenne. Cependant, l'activité enzymatique est considérée faible, pour la souche A3, qui produit uniquement la cellulase.

Des investigations plus poussées, comme l'étude moléculaire, sont nécessaires pour confirmer que les bactéries isolées sont des BAM. En effet, d'après Bending et al. (2002), l'étude des effets de certaines bactéries mycorhizosphériques de *Pinus sylvestris*, a révélé que certains isolats bactériens associés préférentiellement aux racines ectomycorhiziennes, ont une action inhibitrice sur la croissance et la colonisation racinaire. D'autres isolats, ont considérablement amélioré la croissance des plantes, mais sans aucun effet sur la colonisation des racines par les champignons. Tandis qu'un seul isolat a doublé la formation d'ECM. De ce fait, selon les mêmes auteurs, la distribution spatiale et la taille des communautés bactériennes au sein de la mycorhizosphère, sont d'une importance considérable, pour

déterminer la nature et l'étendue des effets bactériens sur la formation de mycorhizes et la croissance des plantes.

Suite à l'absence des travaux traitants les activités enzymatiques, secrétées par les bactéries auxiliaires de la mycorhization, il est difficile d'interpréter les résultats obtenus dans cette étude.

# *Conclusion*

On comprend de plus en plus que les microbes modulent la distribution et la productivité des plantes. Après les plantes, les bactéries constituent la plus grande proportion de la biomasse mondiale. Combinée à leur dominance actuelle, la compréhension relativement récente de leur rôle évolutif dans la respiration, la photosynthèse, la nutrition et la défense des plantes indique que les scientifiques commencent seulement à comprendre le rôle des bactéries dans la biologie végétale et en écologie.

Avec de longues histoires évolutives de partenariats intimes qui ont conduit l'évolution des plantes, il ne serait guère surprenant de découvrir des fonctions végétales supplémentaires qui sont étayées par des bactéries associées aux racines. Dans l'ensemble, les rôles largement négligés des microbes, y compris les bactéries, dans la modulation des fonctions des plantes et des écosystèmes méritent une compréhension et une considération plus approfondies.

À cet effet, le présent travail qui consistait à réaliser une étude anatomo-morphologique des mycorhizes du cèdre de l'atlas, suivi d'une caractérisation des bactéries auxiliaires à la mycorhization et d'une étude de leurs activités enzymatiques, nous a révélé la présence des ectomycorhizes typiques et une assez bonne biodiversité mycorhizienne. En outre, les bactéries isolées, ont présenté une diversité métabolique et des activités enzymatiques diverses.

Cette étude reste préliminaire, et le thème reste ouvert pour de prochaines études. En perspectives, il sera dans l'avenir intéressant de:

- Identifier ces bactéries isolées, sur le plan moléculaire, pour s'assurer qu'ils s'agissaient des BAM.
- Déterminer le potentiel enzymatique de ces bactéries.
- Caractériser les activités enzymatiques les plus intéressantes, et rechercher d'autres enzymes.

Concernant les mycorhizes, nous suggérons de:

- Travailler dans des conditions biologiques et naturelles, pour préserver et conserver le potentiel infectieux mycorhizogène (PIM) des sols.
- Mettre en œuvre la symbiose mycorhizienne comme outil biologique performant, dans le cadre d'une ingénierie écologique, afin d'optimiser la gestion durable des terres.
- Exploiter la mycorhization, comme outil biotechnologique de décontamination des sols et eaux pollués; via la stratégie de phytoremédiation et mycoremédiation.

*Références  
bibliographiques*

### A

**Abourouh M., 2000.** Mycorhizes et mycorhization des principales essences forestiers du Maroc. Thèse de doctorat d'état es-sciences, spécialité Mycologie. Faculté des Sciences, UNV Mohamed V, Rabat, Maroc. 175P.

**Aspray T.J., Eirian-Jones E., Whipps J.M. et Bending G.D., 2006.** Importance of mycorhization helper bacteria cell density and metabolite localization for the *Pinus sylvestris*-*Lactarius rufus* symbiosis. *Federation of European Microbiological Societies: Microbiology-Ecology*. 56: 25-33.

### B

**Bâ A., Duponnois R., Diabeté M. et Dreyfus B., 2011.** Les champignons ectomycorhiziens des arbres forestiers en Afrique de l'ouest: Méthodes d'étude, diversité, écologie, utilisation en foresterie et comestibilité. Marseille. Institut de Recherches pour le Développement Editions. 252P.

**Balvantin-Garcia C., Gregorio-Jauregui K.M., Nava-Reyna E., Perez-Molina A.I., Martinez-Hernandez J.L., Rodriguez-Martinez J. et Ilyina A., 2011.** Biocatalysis in control of phytopatogenic fungi and methods for anti-fungal effect detection. Livre de Progress in Molecular and Environmental Bioengineering - From Analysis and Modeling of Technology Application, de Capri Angelo. Editions *Assouline*. 18: 405-426.

**Benabid A., 1994.** Biogéographie phytosociologie et phytodynamique des cédraies de l'Atlas *Cedrus atlantica* Manetti. *Silva Mediterranea*. Actes du séminaire international sur le Cèdre de l'Atlas. Ifran (Maroc). 7-11 juin 1993. Pp 62-69.

**Bending G.D., Poole E.J., Whipps J.M. et Read D.J., 2002.** Characterisation of bacteria from *Pinus sylvestris*-*Suillus luteus* mycorrhizas and their effects on root-fungus interactions and plant growth. *Federation of European Microbiological Societies: Microbiology-Ecology*. 39: 219-227.

**Boullard, 1968.** Les mycorhizes: Monographie et Biologie végétale. Edition *Masson et Cie*. 135P.

**Boullard, 1990.** Guerre et paix dans le règne végétal. Editions *marketing*. 336P.

**Bournine-Harchaoui C., 2017.** La double symbiose mycorhizienne chez deux espèces forestières, *Taxus baccata* L. et *Populus nigra* L., situées dans la région de Tizi-Ouzou (Tikjda, Akfado et Ait Ziki). Thèse de doctorat en sciences biologiques. FSBSA, UMMTO. 136P.

## Références bibliographiques

### D

**De-Boer W., Klein-Gunnewick P.J.A., Lafeber P., Janse J.D., Spit B.E et Woldendorp J.W., 1998.** Anti-fungal properties of chitinolytic dune soil bacteria. *Soil Biology and Biochemistry*. 30: 193-203.

**Derridj A., 1990.** Etude de la population de *Cedrus atlantica* Manetti en Algérie. Thèse de doctorat en sciences. Toulouse. 258P.

**Duponnois R., Hafidi M., Ndoye I., Ramanankierana H. et Bâ A., 2013.** Des champignons symbiotiques contre la désertification. IRD Editions, Marseille. 55: 20-33.

**Durrieu G., 1993.** Ecologie des champignons. Edition *Masson*. 70P.

### F

**Frendi T., 2003.** Contribution à l'étude de la mycorhization chez le Peuplier Blanc (*Populus alba*). Master en Biologie et Physiologie végétale. FSBSA, UMMTO. 76P.

**Frey-Klett P., Garbaye J., 2005.** Mycorrhiza helper bacteria: a promising model for the genomic analysis of fungal-bacterial interactions. *New Phytologist*. 168: 4-8.

**Frey-Klett P., Garbaye J. et Tarkka M., 2007.** The mycorrhiza helper bacteria revisited. *New Phytologist*. 176: 22–36.

### G

**Garbaye J., 1994.** Les bactéries auxiliaires de la mycorhization: une nouvelle dimension de la symbiose mycorhizienne. *Acta Botanica Gallica*. 141:4, 517-521.

**Garbaye J., 2013.** La symbiose mycorhizienne: une association entre les plantes et les champignons. Paris. Editions Quæ, 251p.

### K

**Kaur J. et Sharma J., 2021.** Orchid Root Associated Bacteria: Linchpins or Accessories? *Front Plant Sciences*. 12: 661-966.

### L

**Le Tacon F., Jung G., Mugnier J. et Michelot P., 1985.** Efficiency in a forest nursery of an ectomycorrhizal fungus inoculum produced in a fermentor and entrapped in polymeric gels. *Canadian Journal of Botany*. 63: 1664 –1668.

## Références bibliographiques

**Le Poutre B., 1963.** Premiers essais de synthèse sur le mécanisme de régénération des cédraies marocaines. Rapport 1957-1961. *Annales de la Recherche forestière au Maroc*. 7: 1-20.

### M

**Medina-de la Rosa G., Lopez-Reyes L., Carcano-Montiel M.G., Lopez-Olguin J.F., Hernandez-Espinosa M.A. et Rivera-Tapia J.A., 2016.** Rhizosphere bacteria of maize with chitinolytic activity and its potentiel in the control of phytopathogenic fungi. *Archives Phytopathology and Plant Protection*. 49: 310-321.

**Mosse B., 1957.** Observations on the extra-matrical mycelium of a vesicular-arbuscular endophyte. *British Mycological Society*. 42: 439-448.

**Mosse B., 1962.** The establishment of vesicular-arbuscular mycorrhiza under aseptic conditions. *Journal of General Microbiology*. 27: 509-520.

### N

**Nezzar-Hocine H., Perrin R. et Halli-Hergas R., 1995.** Mesure du potentiel infectieux ectomycorhizien du sol de la cédraie d'Ighil-Inguel (Djurdjura): application à l'étude du transfert à un substrat de pépinière. C. R. 2<sup>ème</sup> Colloque National "Plants Forestiers", Salé (Maroc), 30-31 mars 1995.

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

### P

**Peyret-Guzzon M., 2014.** Etudes moléculaires de la diversité des communautés et populations des champignons mycorhiziens à arbuscules (*Glomeromycota*). Sciences agricoles. Université de Bour-gogne, France. 191P.

### R

**Rigamonte T. A., Pylro V.S. et Duarte G. F., 2010.** The role of Mycorrhization helper bacteria in the establishment and action of ectomycorrhizae associations. *Brazilian Journal of Microbiology*. 41: 832-840.

### S

**Saoudi A. et Draoui F., 2017.** Contribution à l'étude des mycorhizes du cèdre (*Cedrus atlantica*) dans une plantation. Master en sciences agronomiques, gestion des forêts et des espaces naturels. FSBSA, UMMTO. 39P.

## Références bibliographiques

---

**Smail A., 2017.** Etude de la biodiversité des microorganismes symbiotiques chez le Pin Noir (*Pinus nigra* subsp *mauretanica*) au Djurdjura. Thèse de doctorat en sciences biologiques. FSBSA, UMMTO. 216P.

**St-Arnaud M., Hamel C., Vimard B., Caron M. et Fortin J.A., 1997.** Inhibition of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* in the non-VAM species *Dianthus caryophyllus* by co-culture with *Tagetes patula* companion plants colonized by *Glomus intraradices*. *Canadian Journal of Soil Science*. 54: 725-733.

**Strullu D. G., 1991.** Les mycorhizes des arbres et plantes cultivées. Edition *Lavoisier*. 254P.

### T

**Tarkka M.T et Frey-Klett P., 2008.** Mycorrhiza Helper Bacteria. *New Phytologist*. 132P.

**Toth J., 2005.** Le cèdre de France: Etude approfondie de l'espèce. Edition *l'harmattan*. Paris. 207P.

**Toudert-Taleb K., 2000.** La mycorhization du Pin d'Alep: Etude des mycorhizes et sélection des Bactéries Auxiliaires de la mycorhization (BAM), application à la mycorhization et à la lutte contre un agent de fonte de semis. Magister en Biologie, option: écologie et biologie des populations. FSBSA, UMMTO. 111P.

# *Annexes*

**Annexe 01:**  
**Matériel non biologique**

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

<b>Appareillages</b>	<b>Outils de laboratoire</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Microscope optique</li> <li>• Bec Bunsen</li> <li>• Bain Marrie</li> <li>• Agitateur</li> <li>• Balance de précision</li> <li>• Pipettes Pasteur</li> <li>• Micropipette</li> <li>• Embouts stériles</li> <li>• Étuve d'incubation</li> <li>• Autoclave</li> <li>• Réfrigérateur</li> <li>• Vortex</li> <li>• Loupe binoculaire</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Boites de Petri</li> <li>• Lames</li> <li>• Lamelles</li> <li>• Becher</li> <li>• Erlenmeyer</li> <li>• Eprouvette graduée</li> <li>• Pincés</li> <li>• Pissette</li> <li>• Portoir</li> <li>• spatule</li> <li>• Tubes stériles</li> <li>• Flacons stériles</li> <li>• Grandes boites de Petri en verre</li> <li>• Ciseaux</li> </ul>

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

<b>Produits chimiques et réactifs</b>	<b>Milieux de culture</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Violet de Gentiane, Alcool</li> <li>• Fuschine, Huile d'immersion</li> <li>• Eau oxygénée, Eau distillée stérile</li> <li>• Eau physiologique, Amidon, Lugol (I<sub>2</sub>)</li> <li>• Cellulose, Rouge Kongo, Chitine</li> <li>• Agar, Formol, Acide propionique</li> <li>• Ethanol à 70%, Encre bleu</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Milieu Mannitol- Mobilité</li> <li>• Milieu Citrate de Simmons</li> <li>• Milieu Clarck et Lubs</li> </ul>

### Annexe 02:

#### Composition des solutions et milieux de culture utilisés

##### ✓ Eau physiologique stérile

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

##### ✓ Gélose nutritive

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

##### ✓ Rouge Kongo 1%

- Eau distillée stérile Qsp.....50 mL
- Rouge Kongo.....0,05 g

## Résumé

Le présent travail consiste à réaliser une étude anatomo-morphologique des mycorhizes du Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*), suivie d'une caractérisation des bactéries auxiliaires à la mycorhization et d'une étude de leurs activités enzymatiques. Les résultats obtenus au cours de cette étude ont montré la présence des ectomycorhizes (ECM) typiques et une assez bonne biodiversité mycorhizienne. En outre, les bactéries isolées, ont présenté une diversité métabolique et plusieurs activités enzymatiques. En effet, nous avons obtenu 7 différents types d'ECM typiques et un taux de mycorhization estimé à 65%, considérée comme étant bon, qui peut être due à la présence des propagules de champignons dans le sol utilisé dans la production de ces plants et aux bactéries auxiliaires à la mycorhization. Les essais de caractérisation de ces bactéries et l'étude de leurs activités enzymatiques, ont révélé 14 souches bactériennes, avec la prédominance des activités amylases et cellulases par rapport à l'activité protéase, et l'absence de l'activité chitinase. Il est important de valoriser la symbiose mycorhizienne, comme outil biotechnologique dans le cadre de la protection et de la préservation des agro-écosystèmes, ainsi que dans la gestion durable des terres arables, menacées par les actions anthropiques de part le monde.

**Mot clés:** Cèdre de l'Atlas, Symbiose mycorhizienne, Ectomycorhize, Bactéries auxiliaires de la mycorhization, Activités enzymatiques.

## Abstract

The present work consists in carrying out an anatomo-morphological study of the mycorrhizae of the Atlas cedar (*Cedrus atlantica*), followed by a characterization of the mycorrhiza helper bacteria and a study of their enzymatic activities. The obtained results during this study showed the presence of typical ectomycorrhizae (ECM) and a fairly good mycorrhizal biodiversity. In addition, the isolated MHB exhibited a metabolic diversity and many enzymatic activities. Indeed, 7 different types of typical ECM were obtained and an estimated mycorrhization rate of 65%, considered being good, which may be due to the presence of the fungal propagules in the soil used in the production of these plants and mycorrhiza helper bacteria. The characterization tests of these bacteria and the study of their enzymatic activities, revealed 14 bacterial strains, with the predominance of amylase and cellulase activities over protease activity, and the absence of chitinase activity. It is important to promote mycorrhizal symbiosis, as a biotechnological tool in the context of the protection and preservation of agro-ecosystems, as well as in the sustainable management of arable land, threatened by human actions around the world.

**Keywords:** Atlas cedar, Mycorrhizal symbiosis, Ectomycorrhizae, Mycorrhiza helper bacteria, Enzymatic activities.