

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou



Faculté des Sciences Agronomiques et des Sciences Biologiques
Département de Biochimie et Microbiologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie
Spécialité : Biotechnologie végétale et valorisation des plantes.

Contribution à l'étude du comportement d'*Hedysarum flexuosum* et sa communauté symbiotique face au stress hydrique

Présenté par :

M^{elle} AIT TAYEB Ouardia

M^{elle} MORSLI Amel

Soutenu le **26/10/2021** devant le jury :

- **Président : Mr MEDJBEUR. Dj**
- **Promotrice : M^{me} KADI-BENNANE. S**
- **Examinatrice : M^{me} HARCHAOUI. Ch**

Promotion : 2020/2021

Remerciements

■ Nous remercions **Allah** de nous avoir donné la foi, la patience, le courage et la force pour réaliser ce modeste travail.

■ Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements et notre profonde reconnaissance à notre promotrice **M^{me} KADI-BENNANE**, qui a accepté de nous encadrer et qui nous a dirigés avec confiance tout au long de ce mémoire. Sa compréhension, sa gentillesse, sa patience, ses conseils, ses remarques, ses encouragements et son soutien indéfectible auront été important dans la réalisation de ce mémoire.

■ Nous tenons à remercier **Mr. MEUDJBEUR**, notre Co-promoteur, pour ces qualités humaines, sa patience et son dynamisme et pour nous avoir guidés et conseillés afin de mener à bien ce travail.

■ Nous tenons à remercier aussi l'ingénieur de laboratoire **M^{me} BEDRISSI Karima**.

■ Nous remercions bien évidemment nos parents qui n'ont cessé de nous encourager et de croire en nous. Ils nous ont toujours tout donné pour que nous puissions réaliser ce que nous avons envie de faire. Le mot merci ne peut pas exprimer tout ce que nous ressentons, mais il y a quelque chose de plus fort dans nos cœurs.

■ Nous tenons remercier aussi les membres de jury d'avoir accepté de juger notre travail.

■ Enfin, nos remerciements s'adressent à toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

*Tout au début, je tiens à remercier ALLAH le tout puissant de m'avoir
donnée du courage et de patience afin de réaliser ce modeste travail
que je dédie à :*

*Ma très chère maman et à mon père pour leurs sacrifices, leurs
multiples soutiens et pour leurs affection quotidiennes, merci d'être
présent en toutes circonstances. Je pris le tout puissant de vous donner
une très belles vie et m'aider à être toujours votre fierté, que dieu vous
garde pour moi.*

*A mon chère mari Mohammed qui m'a toujours soutenue, encouragé à
aller loin et me rend le difficile facile*

Ma binôme Ouardia.

A tous mes amis /amies.

A toute ma promotion : enseignants et étudiants.

A tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce travail.

Amel

Dédicaces

Je dédie ce mémoire

A mes chers parents ma mère et mon père

Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leurs encouragements

A mes chers frères : EL HACHIMI - LYES

A mes chers sœurs : SOUHILA - SARA - NABILA

A ma binôme : AMEL pour sa sympathie

A mes amis de promotion de 2^{ème} année Master BVP

A tous ceux qui ont participé à ma réussite.

Ouardia

Liste des figures

Figure 1 : Axe aérienne et feuilles d' <i>H.flexuosum</i>	4
Figure 2 : Inflorescences d' <i>H.flexuosum</i>	4
Figure 3 : Graines d' <i>H.flexuosum</i>	5
Figure 4 : Système racinaire et nodosité d' <i>H.flexuosum</i>	5
Figure 5 : Racine en coupe longitudinale montrant un nodule fonctionnel	8
Figure 6 : Les types de la symbiose mycorrhizienne.	10
Figure 7 : Schéma de dispositif expérimental mise en place pour l'étude de l'effet de la symbiose sur la croissance de <i>Sulla flexuosa</i>	17
Figure 8 : Dispositif expérimental.....	18
Figure 9 : Mise en culture les grains du Sulla	19
Figure 10 : Capacité de rétention de l'eau dans le sol.....	20
Figure 11 : Protocole d'extraction des spores des différentes fractions du sol de la station d'étude.....	21
Figure 12 : Photographie du pied à coulisse électronique.....	22
Figure 13 : Répartition du nombre de spores en fonction des diamètres	27
Figure 14 : Vu d'une spore avec son hyphe suspenseur sous une loupe binoculaire (G×40).....	27
Figure 15 : Taux de maintien des grains dans le sol stérile et sol témoin à une semaine de l'expérimentation.	28
Figure 16 : Courbe d'évolution de la hauteur de la tige en fonction de temps.	28
Figure 17 : Evolution de la longueur racinaire des plants de <i>Sulla flexuosa</i>	29
Figure 18 : Comparaison de l'évolution de la croissance en diamètre du collet des plantules...	31
Figure 19 : Courbe d'évolution de la biomasse aérienne selon les traitements.	32

Figure 20 : Evolution et comparaison des poids totaux des plantules au cours des stades de prélèvement.	33
Figure 21 : Distribution de la production de la matière sèche des parties aériennes.	34
Figure 22 : Nombres des feuilles chez les plantes stressées et les non stressées	35
Figure 23 : Comparaison de la largeur et longueur des feuilles de <i>Sulla flexuosa</i> stressées et non stressées	36
Figure 24 : Comparaison de la hauteur d'hypocotyle des plantules stressées et les non stressés.....	37
Figure 25 : Observation des tissus corticale de la racine de <i>Hedysarum flexuosum</i> à différents stades et dans le sol stérile et témoin.....	40
Figure 26 : Concentration de la proline chez les plantes stressées et les non stressés.....	42

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques édaphiques du sol de la station de bastos	26
Tableau 2 : Analyse de la variance de la hauteur de tige.....	29
Tableau 3 : Comparaison de l'évolution de la longueur racinaire des plantules de <i>Sulla flexuosa</i> élevées sur sol stérile et sur sol témoin selon les différents stades de croissance (ANOVA)	30
Tableau 4 : Résultats de l'analyse de la variance de la croissance en diamètre de collet.....	31
Tableau 5 : Résultats de l'Analyse de la variance de la biomasse aérienne (mg) de <i>Sulla flexuosa</i> selon les différents traitements et stades.....	32
Tableau 6 : Comparaison de l'évolution des pois totaux entre les traitements et les stades (ANOVA).....	33
Tableau 7 : Analyse de la variance des organes morphologiques chez les plantes stressées et les non stressés.	37
Tableau 8 : Fréquence mycorhizienne FM (%), intensité mycorhizienne IM(%) et teneur en arbuscules a (%) chez les plantes stressées et les non stressées.	41

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

Chapitre 1: Les légumineuses

1. Présentation de l'espèce <i>Hedysarum flexuosum</i>	3
1.1. Systématique.....	3
1.2. Caractères morphologiques	3
1.2.1. L'axe aérien.....	3
1.2.2. Fleurs et inflorescence.....	4
1.2.3. Fruits et graines.	5
1.2.4. Système racinaire	5
1.3. Air de répartition	6
1.4. Les exigences pédoclimatiques	6
1.4.1. Les exigences climatiques.....	6
1.4.2. Les exigences édaphiques	6
1.5. Intérêt de <i>Sulla Flexuosa</i>	6
1.5.1. Intérêts agronomiques	6
1.5.2. Intérêts écologiques.....	7
1.5.3. Intérêts thérapeutiques.....	7

Chapitre 2 : La symbiose.

1. La symbiose bactérienne et son intérêt.....	8
2. La symbiose mycorhizienne.	9
2.1. Les types de symbiose mycorhizienne.	9
2.2. Intérêts des champignons mycorhiziens.	11
2.2.1. Protection phytosanitaire.	11
2.2.2. Nutrition hydrominérale.	11
2.2.3. Production d'hormone.	11

Chapitre 3 : Le stress hydrique.

1. Rôle de l'eau dans la plante.....	12
2. Définition du stress hydrique.....	12
3. Effets du stress hydrique sur le développement de la plante.....	13
4. Mécanisme d'adaptation des plantes au stress hydrique.	13

Matériels et méthodes

1. Protocole expérimentale	17
2. Méthodes.	17
2.1. Préparation du sol.....	18
2.2. Préparation des graines.....	18

2.3.	Test de viabilité des graines.	19
2.4.	Scarification et désinfection des graines.	19
2.5.	Mise en culture.	19
3.	Paramètres mesurés.	20
3.1.	Capacité de rétention de l'eau dans le sol.	20
3.2.	Analyse du sol.	20
3.2.1.	pH du sol.	20
3.2.2.	Conductivité électrique.	20
3.2.3.	Protocole d'extraction des spores.	21
4.	Détermination des paramètres de germination.	21
4.1.	Taux de germination.	21
4.2.	Mesure de la croissance en longueur.	22
4.3.	Mesure de la biomasse et de la matière sèche.	22
5.	Protocole de la mise en évidence de l'effet du stress hydrique sur la croissance et la germination des plantes d' <i>H.flexuosum</i>	22
5.1.	Comptage du nombre de feuille	22
5.2.	Mesure morphologique.	22
5.3.	Suivi de mycorhization.	23
5.3.1.	L'intensité de mycorhization.	23
5.3.2.	Dosage de la proline.	23
5.3.3.	La teneur en arbuscules	24
5.4.	Dosage de la proline	24

Résultats et discussions

1.	Etude du sol.	26
1.1.	Dénombrement des spores.	26
2.	Paramètre de la croissance des plantules.	27
2.1.	Maintien des plantules de germination après plantation.	27
2.2.	Hauteur des parties aériennes.	28
2.3.	Longueur racinaire.	29
2.4.	Diamètre du collet.	30
2.5.	Biomasse aérienne.	31
2.6.	Poids totaux des plantules.	33
2.7.	Matière sèche aérienne.	34
3.	Effet du stress hydrique sur la croissance d' <i>H.flexuosum</i>	35
3.1.	Nombre des feuilles.	35

3.2.	Longueur et largeur des feuilles.	36
3.3.	L'Hypocotyle des plantes.	36
4.	Suivi de mycorhization.	38
4.1.	Evaluation de colonisation mycorhizienne et la teneur en arbuscules.	39
4.2.	Teneur en proline.	42
Conclusion générale		43

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

La famille des légumineuses est la famille végétale qui fournit le plus grand nombre d'espèces utiles à l'homme, qu'elles soient alimentaires, industrielles ou médicinales comprenant des plantes herbacées, des arbres, des arbustes ou des lianes.

La présence des légumineuses dans les systèmes de culture est une opportunité pour améliorer la fertilité des sols et les rendements des cultures.

L'espèce *Hedysarum flexuosum* nommé également *Sulla flexuosa* est une légumineuse fourragère spontanée, endémique de l'est algérien et de la Tunisie. Kadi *et al* (2015) ont mentionné dans leurs travaux, la qualité fourragère de l'espèce en remplacement de la luzerne dans l'alimentation du petit élevage. Ils rapportent également qu'elle consiste en un patrimoine d'un grand intérêt agronomique qui peut être exploité dans la valorisation des sols dégradés.

Toute fois les végétaux sont connus pour être à la majorité des êtres vivants qui vivent en symbiose dans leurs milieux. Et parmi ces interactions, on distingue les symbioses mycorhiziennes qui stimulent l'absorption de l'eau et des éléments minéraux et les symbioses bactériennes qui permettent de fixer l'azote atmosphérique.

L'amélioration des interactions symbiotiques et la sélection de couple performant (plante-microorganisme) permettent d'augmenter le rendement en biomasse des plantes, et une meilleure fertilisation naturelle du sol qui peut remplacer les intrants chimiques. Elles confèrent également une forte aptitude à supporter des conditions écologiques stressantes (Davet, 1996).

De ce fait et pour promouvoir la culture à grande échelle de *Sulla flexuosa* en Algérie et ailleurs, il est nécessaire de faire l'inventaire de la communauté symbiotique de l'espèce et de renseigner sur le développement de l'espèce et de son statut symbiotique à différents stades de croissance. Cette nécessité est à l'aval d'une gestion durable de la culture fourragère à grande échelle.

Notre travail s'inscrit dans l'axe de recherche de l'équipe mycorhize qui contribue à l'étude d'une part de l'effet de la communauté symbiotique sur le développement d'*Hedysarum flexuosum* et d'un autre part à l'évaluation du comportement de *Sulla* et de sa communauté symbiotique face au stress hydrique au premier stade de croissance.

Notre travail s'organise comme suit :

1. Une première partie bibliographique scindée en trois chapitres de synthèse concernant la présentation de l'espèce *hedysarum flexuosum*, la symbiose et le stress hydrique ;
2. Une seconde partie expérimentale comprenant le protocole mis en place et le matériel et méthodes utilisés ;
3. La troisième dans laquelle seront exposés les résultats et discussion ;
4. Nous terminerons avec une conclusion générale.

1. Présentation de l'espèce *Hedysarum flexuosum* :

Le terme *Hedysarum* est un nom composé de deux parties, Hedys : sucré et aroma : arôme. *Hedysarum flexuosum* est une légumineuse papilionacée herbacée à la famille des Fabacées de la tribu des Hedysarées. (Hémissi, 2007).

1.1. Systématique :

Selon Quezel et Santa (1962), *Hédysarum* est classée comme suit :

- Embranchement : **Spermaphytes**
- Sous-embranchement : **Angiospermes**
- Classe : **Dicotylédones**
- Sous class. **Dialypétales**
- Série : **Caliciflores**
- Ordre : **Rosales**
- Famille : **Fabacées (légumineuses)**
- Sous-famille : **Papilionacées**
- Genre : **Hedysarum**
- Espèce : **flexuosum**

1.2. Caractéristiques morphologiques :

Le groupe des *Sulla* méditerranéens est constitué de formes pérennes (herbacées, rarement arbustives), souvent tétraploïdes ($2n = 4x = 32$) et sont très polymorphes et essentiellement allogames et diploïdes ($2n = 16$) (Ben Fadhel *et al.*, 2006).

1.2.1. L'axe aérien :

L'appareil végétatif aérien est constituée d'une tige principale dressée (50 à 150 cm de long) et de ramifications plagiotropes (Boussaid *et al.*, 1989).

Les feuilles sont composées (trifoliées), imparipennées à stipule libre. Elles se présentent sous forme d'une série de deux folioles opposées et une foliole terminale généralement plus grande (Doree, 2000). Elles présentent une dissymétrie avec la foliole

terminale au bas du rachis foliaire et se caractérisent par une phyllotaxie de type alterne distique (Abdelguerfi-Berrekia, 1985).



Figure 1: Axe aérienne et feuilles d'*H.flexuosum* (Medjbeur *et al.*, 2019).

1.2.2. Fleurs et inflorescence :

Hedysarum flexuosum est très proche morphologiquement de *H. coronarium*. Elles sont distinguées par de petites fleurs (1.5 à 2 cm), brièvement pédonculées, sont ornementées par des bractées scarieuses et portent chacune à la base du calice, deux bractéoles. La corolle est généralement rouge vif ou violacée mais peut aussi être blanche (Boussaid *et al.*, 1989).

Le développement végétatif est essentiellement hivernal. La floraison a lieu d'Avril à Mai et le dessèchement des individus commence dès le début du mois de juin (Abdelguerfi-Berrekia, 1985).

Les inflorescences axillaires et à pédoncule égalant la feuille axillante, sont en grappes spiciformes ovoïdes et allongées à la fructification (Boussaid *et al.*, 1989).



Figure 2: Inflorescences d'*H.flexuosum* (Medjbeur, 2013).

1.2.3. Fruits et graines :

Le fruit est une gousse tomenteuse, plus ou moins comprimée, constituée d'un nombre variable d'articles (jusqu'à huit articles par gousse). (Prosperi *et al.*, 1995).

Les graines (2.5 x 25 mm) sont réniformes ou ovoïdes, elles sont luisantes, de couleur marron ou jaunâtre à radicule fortement saillante (Boussaid *et al.*, 1989).

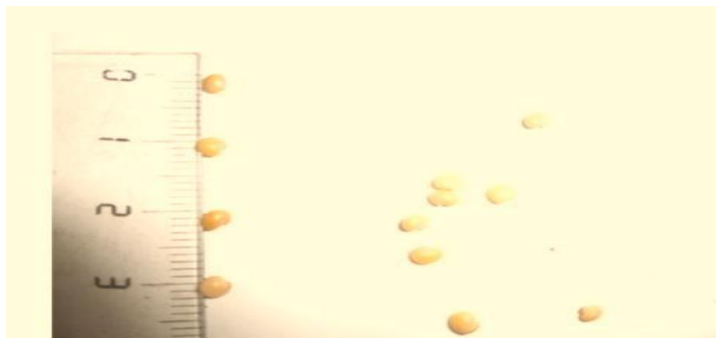


Figure 3: Graines d'*H. flexuosum* (Medjbeur, *et al.*, 2013)

1.2.4. Système racinaire :

Le système racinaire de type pivotant, représenté par une racine principale pouvant dépasser 2m de longueur, et des racines secondaires bien développées, munies de nombreuses nodosités fixatrices d'azote atmosphérique (Lapeyronie, 1982).



Figure 4: Système racinaire et nodosité d'*H. flexuosum* (Medjbeur, 2019).

1.3. Aire de répartition :

Dans le bassin méditerranéen, l'aire de répartition de l'espèce *Hedysarum flexuosum* est relativement limitée. Elle s'étend du sud de la péninsule ibérique à l'Afrique du Nord selon Ben Fadhel *et al.* (2006).

En Algérie et au Maroc, l'espèce se développe sur des substrats marneux et marno-calcaires dans des régions où la pluviométrie moyenne annuelle est supérieure à 550 mm (Abdelguerfi-Berrakia *et al.*, 1991).

En Algérie, l'espèce abonde sur les pentes septentrionales de l'Atlas Mitidjien et manque sur les hauts plateaux et au désert. L'étendue des populations varie souvent selon l'état de dégradation des sites. Mais, d'une façon générale, les populations sont surpâturées ou récoltées au stade végétatif pour l'alimentation du bétail (Boussaïd *et al.*, 1995).

1.4. Les exigences d'*Hedysarum flexuosum* :**1.4.1. Exigences climatiques :**

Hedysarum flexuosum pousse à des altitudes faibles à moyennes inférieures à 600 m et se développe sous des pluviométries annuelles supérieures à 550 mm/an (Prosperi *et al.*, 1995 ; Boussaïd *et al.*, 1991).

1.4.2. Exigences édaphiques :

Hedysarum flexuosum se développe sur les sols argileux bien drainés ou marneux (Prosperi *et al.*, 1995). Elle préfère les sols en pente et évite l'exposition Nord-est et Est (Abdelguerfi-Berrekia *et al.*, 1991).

1.5. Intérêt de *Sulla flexuosa* :**1.5.1. Intérêt Agronomiques :**

Les légumineuses fourragères sont une source importante de protéines, leurs valeurs nutritives est supérieur à celle des graminées. Les performances agronomiques de *Sulla* sont bien établies : les populations naturelles, à port érigé sont souvent bien adaptés aux fauchages et assurent un pâturage abondant de qualité (Abdelguerfi-Berrekia *et al.*, 1991). En Algérie, *H. flexuosum* produit à l'état spontané, 50 tonnes de matière verte /ha est similaire à celui sous conditions australiennes (De Koning *et al.*, 2003).

Le Sulla est très apprécié des animaux car il est doté d'un important coefficient de digestibilité. En effet, malgré le diamètre important de ses tiges bien supérieur à celui de la Luzerne, le foin du Sulla est moins riche en cellulose brute (Piccioni, 1965 in Belmihoub, 2012). Le Sulla est utilisé et apprécié dans l'alimentation des moutons (Molle *et al.*, 2003), des chèvres (Bonanno *et al.*, 2007) des vaches (Ramirez-Restrepo et Barry, 2005) et des lapins (Cucchiara, 1989). Le fourrage constitué de 35% de Sulla permet de remplacer la Luzerne déshydratée assurant un régime d'engraissement de lapin, et une meilleure performance de production laitière chez les brebis. Il améliore aussi le poids et carcasse et le rendement à l'abattage pour les petits ruminants grâce à son contenu élevé en matière sèche (Sitz *et al.*, 2006 ; Bonnano *et al.* 2005).

1.5.2. Intérêt Ecologiques :

Le Sulla a un rôle important dans l'amélioration et la fertilité des sols par la fixation d'azote atmosphérique via les bactéries du genre *Rhizobium*, ce qui fait de cette espèce un excellent précédent culturale pour les céréales et contribue également à l'amélioration à la fertilité organo-chimique du sol (Gounot, 1958, Trifi *et al.*, 2002).

Cette espèce est également appréciée dans les régions du Nord du Maroc et de la nouvelle Zélande, pour son utilité établie dans la protection des sols contre l'érosion et pour la valorisation des régions dégradées, particulièrement, dans les zones arides et semi arides (Douglas, 1998 ; Hannachi *et al.*, 2004, Elboutahiri, 2010).

En apiculture, Sulla est considéré comme une plante mellifère appréciée par les abeilles (Frame, 2000 ; Hannachi-Salhi, 2004 ; Niar, 2014). Les travaux de Niar (2014) ont ainsi mis en évidence une dominance de pollen de Sulla (50%) associé à d'autres espèces mellifères (*Eucalyptus*, *Thymus* et *Citrus*) dans les miels Algériens.

1.5.3. Intérêt Thérapeutiques :

Les travaux de Niezen *et al.* (2002), ont montrés la présence de tanins condensés dans le Sulla qui réduit les infections gastro-intestinales chez les bovins et les caprins car ils dégradent les protéines dans le rumen. Ces travaux ont mis en évidence, l'action anti-parasitaire de Sulla, grâce à l'effet anthelminthique de ces tanins condensés dans les feuilles.

Définition :

Selon Lavaud (2019), la symbiose est une relation complexe d'équilibre entre les partenaires, qui peut glisser vers le parasitisme si l'hôte végétal est affaibli, puis vers la saprotrophie (le recyclage de matière morte) après sa mort.

1. La symbiose bactérienne et son intérêt :

Les légumineuses présentent l'énorme avantage par rapport aux autres plantes de pouvoir s'associer à des bactéries du sol communément appelées rhizobiums. Cette association aboutit à la formation d'un petit organe particulier au niveau des racines, le nodule, au sein duquel les bactéries, grâce à leur activité nitrogénase, fixent l'azote atmosphérique et transfèrent celui-ci à la plante sous une forme combinée assimilable. En contrepartie, la plante fournit les éléments nutritifs assurant le développement de la bactérie. C'est donc une véritable symbiose avec un échange bénéfique pour les 2 partenaires.

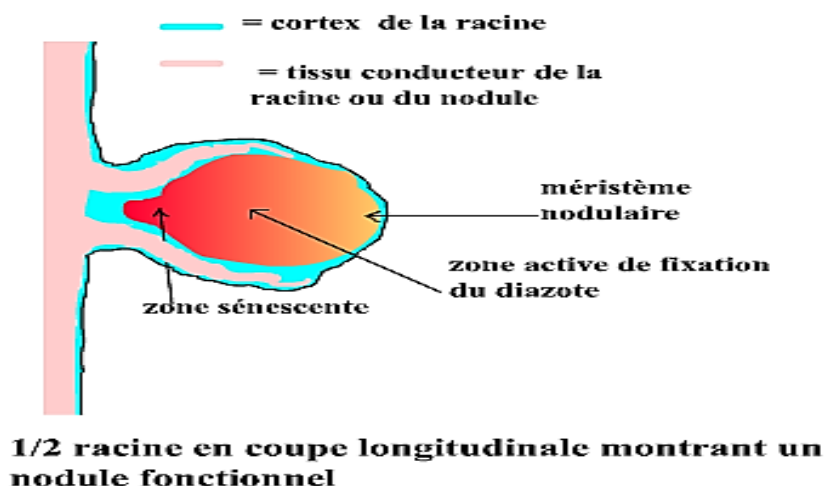


Figure 5 : Racine en coupe longitudinale montrant un nodule fonctionnel.

Grâce à cette association symbiotique, les légumineuses participent à la revégétalisation des écosystèmes pauvres en azote, en s'établissant comme flore pionnière, initiatrice d'une succession écologique. Elles constituent par ailleurs une source d'alimentation extrêmement importante aussi bien pour l'homme (soja, pois, haricot...) que pour l'animal (trèfle, luzerne...).

2. La symbiose mycorhizienne :

Selon Davet (1996), les mycorhizes sont le résultat de l'association symbiotique d'un champignon et d'une racine, toutes les Gymnospermes terrestres, près de 85% des Angiospermes et une partie des Ptéridophytes (Fougères, Prêles, etc.) sont mycorhizées, ce qui représente près de 95% des plantes vasculaires.

La symbiose mycorhizienne est indispensable à la vie des végétaux terrestres : 80% des plantes supérieures (plantes à racines) doivent obligatoirement être mycorhizées pour leur alimentation en eau et en sels minéraux (Lavaud, 2019).

Les champignons mycorhizogènes vivent en partie à l'intérieur des tissus de la plante, où leur mycélium est en contact étroit avec les cellules vivantes du parenchyme cortical, et en partie à l'extérieur où leurs filaments prospectent un volume de sol incomparablement plus grand que le volume accessible aux poils absorbants. Alors que la longueur moyenne d'un poil absorbant est de l'ordre d'un millimètre, le réseau mycélien issu du mycorhize s'étend au moins jusqu'à 8 cm de la racine dans les endomycorhizes et davantage encore chez les ectomycorhizes. Les hyphes, appliqués à la surface des agrégats, sont en contact intime avec les particules élémentaires du sol et leurs faibles diamètres leur permettent de pénétrer dans les pores les plus fins. Les Champignons mycorhizogènes relient donc littéralement le sol à la plante. (Davet, 1996).

Les Champignons reçoivent de la plante des substrats carbonés simples (de 5 à 10 % des composés photosynthétiques) et des substances de croissance, et bénéficient d'une situation qui les met à l'abri des compétiteurs. (Davet, 1996).

Les plantes tirent de l'association des avantages qui se traduisent par une amélioration de leur croissance d'autant plus spectaculaire (par rapport à des sujets non mycorhizés) que le sol est plus pauvre et moins propice à leur développement. (Davet, 1996).

3.1. Les types de symbiose mycorhizienne :

Selon Pierre Davet (1996), il existe en fait plusieurs types de mycorhizes.

Trois principaux types d'associations mycorhiziennes sont répertoriés : Les ectomycorhizes, les endomycorhizes et les ectendomycorhizes. Les formes les plus répandus sont les endomycorhizes à arbuscules. (Smith et Read, 1997).

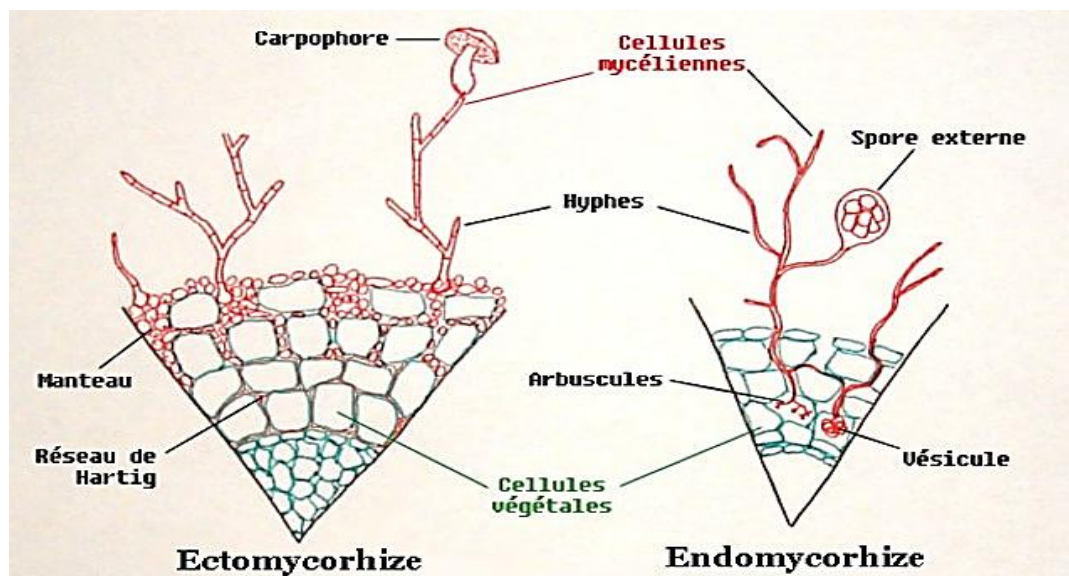


Figure 6 : Les types de la symbiose mycorhizienne.

Les endomycorhizes

Les endomycorhizes ou mycorhizes à arbuscules (VAM), regroupés dans le phylum Glomeromycota, sont des champignons filamenteux coenocytiques qui colonisent à la fois le sol et les racines en établissant un pont entre la rhizosphère et la plante. Les hyphes extra-racinaux augmentent le volume de sol (eau et minéraux) accessible à la plante alors que les hyphes intra-racinaux se propagent dans les espaces intercellulaires, se gonflent en vésicules selon leur génotype et forment des arbuscules intracellulaires créant une importante zone d'interface entre les cellules des deux partenaires, sites privilégiés d'échanges nutritifs (Dalpé, 2005).

➤ Les ectomycorhize

Les espèces de champignons ectomycorhiziens sont environ au nombre de 6000 dans le monde (Lavaud, 2019). Selon Lavaud (2019), les hyphes forment un manteau qui recouvre la surface de la racine, pénètrent le cortex et se placent entre les cellules sans jamais passer la paroi cellulaire, ils forment alors ce que l'on nomme « le réseau de Hartig ». Elles colonisent environ 5% des plantes vasculaires terrestres.

➤ Les ectendomycorhizes

Les ectendomycorhizes sont des types d'associations intermédiaires entre les deux précédentes ; un manteau externe coexiste avec des hyphes qui pénètrent à l'intérieur des cellules racinaires, soit sous forme de pelotons (mycorhizes arbutoïdes), soit sous forme d'hyphes très courtes (mycorhizes monotropoïdes). (Fortin *et al.*, 2008).

3.2. Rôles des champignons mycorhiziennes

Le mycorhize est une symbiose bénéfique, qui s'exprime selon De Rougemont (2007).

Par :

- La nutrition, l'accès aux sels minéraux et à l'eau ;
- La résilience au stress, abiotique ou biotique ;
- La structure du sol et le milieu ambiant ;
- La protection phytosanitaire.

3.1.1. Protection phytosanitaire

Selon Hirsh et Kapulnik (1998) et Stenstrom *et al.*, (1997), les associations mycorhiziennes :

- Augmentent la résistance des plantes aux stress environnementaux et aux agents pathogènes ;
- Les champignons mycorhiziens peuvent produire des substances antibiotiques qui pourraient avoir un effet contre les pathogènes ;
- Le manteau des ectomycorhizes agit comme une barrière mécanique contre les pathogènes qui tenteraient de pénétrer dans la racine ;
- La présence de champignons symbiotiques limite la quantité totale de substances exsudées par la racine et utilisables par les pathogènes ;
- Après la colonisation des racines par les champignons mycorhiziens, l'hôte peut produire des inhibiteurs contre les pathogènes.

3.1.2. Nutrition hydrominérale

D'après Kugler (1986), les mycorhizes augmentent la résistance des plantes au stress hydrique. Ils favorisent la nutrition hydrominérale du végétal, par l'absorption du phosphate (nutriment le plus immobile du sol) et favorise celle de l'azote et du potassium, du zinc, du cuivre et de l'eau (Meyer *et al.*, 2008).

L'effet bénéfique de la mycorhisation dans l'alimentation hydrique de la plante hôte est en partie lié au vaste réseau d'hyphes qui prospectent le sol (Smith et Read 1997).

3.1.3. Production d'hormone

Les extrémités des racines sont le siège de la production d'hormones végétales telles que les cytokinines et les gibbérellines, qui assurent la régulation du développement et la croissance de la plante.

1. Introduction :

Notre travail est scindé en deux volets :

1. La contribution à l'étude de l'apport de la symbiose mycorhizienne et rhizobienne d'*Hedysarum flexuosum* au premier stade de croissance.
2. Effet du stress hydrique sur la croissance et la communauté symbiotique de *Sulla flexuosa*.

L'expérimentation a été réalisée au niveau du laboratoire de l'équipe mycorhizes du département de Biologie à l'UMMTO. Le sol utilisé est a été prélevé au niveau du terrain l'université Mouloud Mammeri « Bastos » qui se situe au sud-est de la commune de Tizi-Ouzou avec une latitude de 6°21'53''N et une longitude de 4°03'16'', à 663 m d'altitude. La partie expérimentale a été réalisée pendant la période du mois d'Avril au mois de Juillet 2021.

2. Protocole expérimentale :

32 pots ont été désinfectés à la javel puis rincés et séchés, dans chacun contient 3,5kg de substrat et 1cm de graviers sont placés au fond du chaque pot dont 16 pots sont soumis à 3 stérilisations successives à l'autoclave de 20 minutes chacune et à 120°C.

Nous avons mis 8 graines germées dans chaque pot avec un arrosage de 3 fois /semaine de fin d'Avril jusqu'à fin Mai et chaque jour pour le mois de juin. Pour se faire nous avons mis en place un protocole en bloc aléatoire (Figure 7).

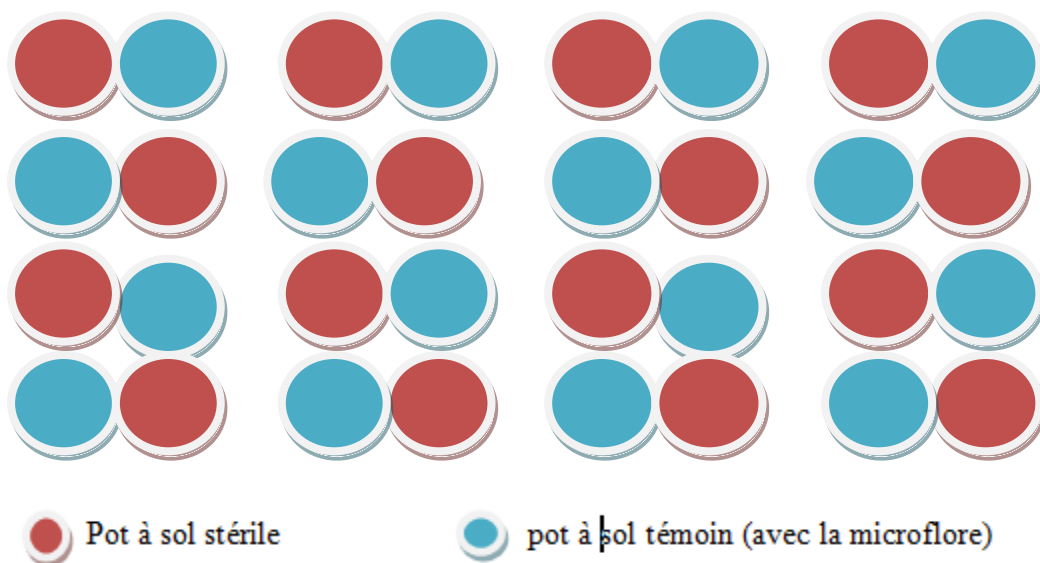


Figure 7 : Schéma du dispositif expérimental mis en place pour l'étude de l'effet de la symbiose sur la croissance de *Sulla flexuosa*.

Cependant à une semaine du début de l'expérimentation, des contaminations sont apparus sur la surface des pots à sol stérile. De ce fait, nous avons scindé le traitement à sol stérile en deux : traitement à sol stérile contaminé et traitement à sol non contamination.

Après 15 jours de germination, 12 plantules ont été prélevées chaque semaine : 6 plantules soumises au traitement du sol stérile et 6 plantules soumises au traitement de sol non stérile. Les paramètres de croissance post-germination ont été déterminés.

Les plantules soumises au traitement sol stériles ont totalement périés au bout de 2 mois de développement. Cependant, les plantules du traitement à sol témoin se sont développées est ont été soumises à un stress hydrique pendant 20 jours (3 pots à raison de 5 plantules).



Figure 8 : Dispositif Expérimental

2.1. Préparation du sol :

Le sol a été prélevé, nettoyé et débarrassé des grands cailloux et débris végétaux puis mis sécher pendant 24h. Après séchage, le sol a été broyé avec des pierres et tamisé avec un tamis de 20mm de diamètre.

2.2. Préparation de graines :

Les graines de *Hedysarum flexuosum* utilisées ont été collectées sur les plantes matures dans la région Bastos de Tizi-Ouzou par Dr. Meudjbeur.

Au laboratoire, nous avons procédé à l'écossage les enveloppes des gousses pour libérer les graines pour les triés manuellement. Les graines vides et infestées par le bruche sont éliminées.

2.3. Test de viabilité des graines :

Pour tester la viabilité des graines sélectionnées consiste à mettre les graines dans un récipient d'eau distillé, les graines qui se précipitent au fond de bécher sont considérées comme mûre celle qui remontent à la surface sont soit immature ou mortes et par conséquent sont supprimer du lot. Afin d'homogénéiser la taille des graines testées nous les avons fait passer à travers un tamis avec une porosité de 2mm pour ne retenir que celle ayant une dimension supérieure à cette valeur.

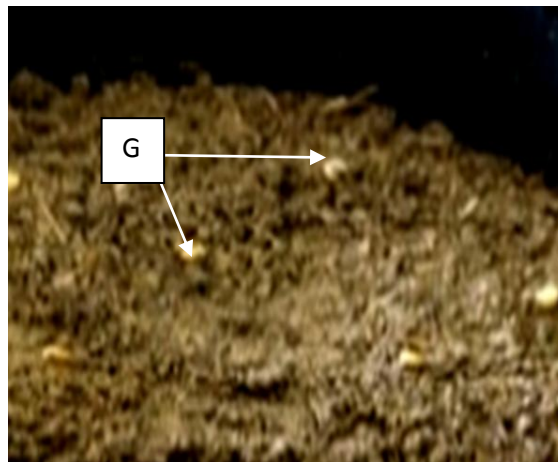
2.4. Scarification et désinfection des graines :

Afin d'éviter d'éventuelles dormance tégumentaire, nous avons réalisés une scarification mécanique à l'aide du papier abrasif telle que recommandée par Abdelguerfi-Berrakia (1985).

Les graines ont été traitées à l'eau de javel (5%) pendant 5 minutes, puis rincées abondamment à l'eau distillée puis mises dans des boites de pétri pour l'imbibition et la germination.

2.5. Mise en culture :

Le semis est effectué dans les pots préparés remplis de substrat (3,5Kg/Pot). Nous avons mis 8 graines germées dans chaque pot avec un arrosage de 3fois /semaine de (fin d'Avril jusqu'à fin Mai) et chaque jour pour le mois de juin.



G : graines pré-germées

Figure 9 : Mise en culture les grains du Sulla.

3. Paramètres mesurés :

3.1. Capacité de rétention de l'eau dans le sol :

Nous avons mis 500ml d'eau pour 2 pots, pour le cas stérile et non stérile, après une heure, le résultat sera calculer comme suit : $R=V-Q$ avec :

R : capacité de rétention d'eau dans le sol

V : le volume d'eau versée.

Q : le volume d'eau qui s'infiltré à travers le sol.



Figure 10 : Capacité de rétention de l'eau dans le sol.

3.2. Analyse du sol :

3.2.1. pH du sol : le Ph du sol est mesuré suivant ce protocole :

1. Pesez 20g du sol et le mettre dans un bécher.
2. Versez de 50ml d'eau distillé pour obtenir une consistance boueuse.
3. Laissez bouillir pendant une 1/2h.
4. Agitez grossissement 5 à 6 minutes (de manière brute) avec un agitateur.
5. Laissez reposer pendant 1heure.
6. Mesurez le Ph par le pH-mètre.

3.2.2. Conductivité électrique : elle est calculée suivant le protocole :

1. Pesez 10g du sol.
2. Versez 50ml d'eau distillé (rapport 1/5 terre/eau).
3. Agitez 5minutes puis laissez reposer 2 heures.

La conductivité électrique du sol est mesurée par le conductimètre.

3.2.3. Protocole d'extraction des spores :

Tout d'abord on a prélevés 200g du sol puis est tamisé par une série de cinq tamis empilés, dont le diamètre de haut en bas 2mm, 200 μ m, 150 μ m, 100 μ m, 50 μ m dans l'ordre, sont utilisés pour faire un tamisage humide.

- Le filtrat retenue de chaque tamis est récupérée dans des boites de pétri.
- 6 ml de contenu de chaque diamètre nous les mettons dans des éprouvettes graduées puis on a ajouté une solution de saccharose à 20% jusqu'à 10ml.
- Les échantillons sont alors placés dans des tubes à essais puis passés à la centrifugeuse à 3000 t/mn pendant 10 minutes.
- A la fin de centrifugation les spores sont concentrées à la l'interphase eau-saccharose, on les prélève à l'aide d'une pipette.
- L'observation et le comptage des spores sont réalisés dans des boites de pétri par comptage direct à la loupe binoculaire ZEISS.



Figure 11 : Protocole dénombrement des spores des différentes fractions du sol de la station d'étude.

4. Détermination des paramètres de germination :

Les plantules ont été prélevées après 15jours de germination avec un prélèvement de 12 plantules chaque semaine, 6 pour le cas stérile et 6 pour le cas non stérile.

4.1. Taux de germination :

Le taux de germination (TG) est exprimé par le rapport du nombre de graines germées (n) sur le nombre total de graines testées (N) rapporté à 100% (Côme, 1970).

$$TG = \frac{n}{N} \times 100$$

4.2. Mesure de la croissance en longueur :

Les plantules qui ont été prélevées chaque semaine sont séparées en leur parties racinaires et caulinaires. Les racines sont lavées soigneusement à l'eau, le diamètre du collet et les longueurs des parties aériennes et racinaires sont mesurées à l'aide d'un Pied à Coulisse électronique.



Figure 12 : Photographie du Pied à coulisse électronique.

4.3. Mesure de la biomasse et de la Matière sèche :

La biomasse exprimée en gramme (g) a été mesurée par la pesée de la partie aérienne, puis de la matière sèche après étuvage à 80°C pendant 48h.

5. Protocole de la mise en évidence de l'effet du stress hydrique sur la croissance et la germination des plantes d'*H. flexuosum*.

Pour mettre en évidence l'effet du stress hydrique sur le développement des plants de *sulla flexuosa*, En plus des paramètres morphométriques (diamètre, hauteur de la tige et longueur des racines) nous avons suivi deux paramètres :

5.1. Comptage du nombre de feuilles :

Le comptage du nombre moyen de feuilles par plant est effectué à la fin de la l'expérimentation (après deux mois). Pour ce faire, un lot de 13 plants pour le cas stressées et non stressées a été choisi pour compter le nombre de feuilles par plant.

5.2. Mesure morphométrique :

A l'aide du pied à coulisse, la hauteur de l'hypocotyle, de la longueur et de largeur de la feuille terminale de 13 plantes a été mesurée à la fin de l'expérimentation.

5.3. Suivi de mycorhization :

Les racines séparées de la partie aérienne ont été étudiées chaque semaine suivant le protocole Phillips et Hayman (1970):

1. Les racines sont rincées délicatement à l'eau du robinet dans une passoire fine pour les débarrassées des particules de terre, puis sont séparées selon leurs diamètres.
2. Les racines sont coupées en petits morceaux de 1cm de longueur.
3. Les racines sont placées dans des tubes à essai contenant une solution de koh à 10% afin les vider les racines de leurs contenus cellulaires et mises à l'étuve.
4. Les racines sont ensuite abondamment rincées sous l'eau courante.
5. Elles sont ensuite passées à l'eau oxygénée pendant 10 minutes.
6. Puis sont placées dans une solution de l'acide lactique pendant 5 minutes.
7. Les racines sont rincées et éliminées de l'acide puis recouvertes avec une solution de bleu de trypan 1/4h à chaud.
8. Les racines sont finalement rincées abondamment puis les passer à l'observation avec la glycérine.

5.3.1. L'intensité de mycorhization :

M : intensité de mycorhization relative et **m** : intensité de mycorhization absolue qui exprime la portion du cortex colonisée par rapport à l'ensemble du système racinaire.

$$m (\%) = (95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1) / (N - n_0)$$

$$M (\%) = (95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1) / N$$

N₅, n₄, n₃, n₂ et n₁ sont les nombres de fragments respectivement notés dans les cinq classes d'infection marquant l'importance de la mycorhization à savoir :

5=plus de 95%, 4= de 50à95%, 3=30 à 50%, 2= 1à 30% et 1=1% du cortex.

5.3.2. La teneur en arbuscules (a) de la partie mycorhizée :

$$a \% = (100m_{A3} + 50 m_{A2} + 10m_{A1})/100$$

m_{A3}, m_{A2} et m_{A1} sont les pourcentages de mycorhization de qualité arbusculaire données, calculés suivant le modèle :

$$m_{A1} = (95n_5A_i + 70n_4 + A_i + 30n_3 + A_i + 5n_2 + A_i + n_1 + A_i)F/M(N - n_0)$$

$n_5 A_i$, $n_4 A_i$, $n_3 A_i$, $n_2 A_i$ et $n_1 A_i$ sont respectivement les nombres de fragments notés $5A_i$, $4A_i$, $3A_i$, $2A_i$ et $1A_i$.

5.3.3. La teneur en arbuscules (A) du système racinaire qui reflète les potentialités d'échange symbiotique de l'association, son efficacité.

5.4. Dosage de la proline

L'extraction et le dosage de la proline est basé sur la méthode de Troll et Lindsley (1955) modifié par Bates *et al.*, (1973).

La proline réagit en milieu acide et à chaud avec la Ninhydrine pour donner un composé rouge, soluble dans les solvants organiques, tel que le benzène.

➤ Pour les plantes stressées :

Une masse de 0.08g de la matière végétale sèche est broyée et mise à macération dans 4ml de méthanol. Les flacons sont hermétiquement fermés et placés dans un bain-marie à 80°C pendant 1heure.

On prélève 0.4 ml de l'extrait auquel on ajoute 0.4 ml d'acide acétique et 0.4ml de Ninhydrine.

Après agitation au vortex, les tubes sont placés dans un bain-marie à 80°C pendant 30 minutes.

Après refroidissement, 2 ml de benzène sont rajoutés au mélange ainsi qu'une pincée de Sulfate de sodium Na_2SO_4 , afin d'éliminer l'eau qu'il renferme.

Après agitation au vortex, deux phases se développent après décantation :

- La phase supérieure benzénique contenant la proline est prélevée,
- La phase inférieure aqueuse, qui est éliminée.

La densité optique des échantillons est lue à une longueur d'onde 615 nm au spectrophotomètre UV-110-02.

La courbe étalon de la proline est réalisée, elle est préparée à partir d'une solution mère de la proline à 10Mm.

Les teneurs en proline sont exprimées en $mg \cdot g^{-1}$ de MVS et représentent la moyenne de trois répétitions.

➤ **Pour les plantes non stressées :**

Une masse de 0.05g de la matière végétale sèche est broyée et mise dans 2.5ml de méthanol. Les flacons sont hermétiquement fermés et placés dans un bain-marie à 80°C pendant 1 heure.

On prélève 0.25ml de l'extrait auquel on ajoute 0.25ml d'acide acétique et 0.25ml de Ninhydrine.

Après agitation au vortex, les tubes sont placés dans un bain-marie pendant 30 min.

Après refroidissement, 1.25ml de benzène sont rajoutés au mélange ainsi qu'une pincée de Na_2SO_4 .

1. Etude du sol :

L'analyse du sol de la station de Bastos a permis de déterminer les caractéristiques des transcrites dans le tableau 1.

Tableau 1. Caractéristiques édaphiques du sol de la station de Bastos.

Variables	pH	Capacité de rétention de l'eau		Conductivité électrique
		Sol stérile	Sol témoin	
Moyenne	7,90 / 24°C	R=478ml	R=500ml	$\sigma=0,26\text{ms/m}$ / 23 ,1°C

Le pH de notre sol est 7,90 à 24°C, le sol de Bastos est caractérisé par un pH neutre. La conductivité électrique évoque un sol de texture limono-argileuse.

D'après les résultats obtenus lors de la mesure de la capacité de rétention de l'eau dans le sol, nous avons remarqué que l'eau s'infiltre rapidement dans le sol stérile avec une capacité de rétention d'eau de 22ml de moins que le sol témoin. La capacité de rétention en eau est importante, cependant, le sol témoin enregistre une valeur relativement élevée que celle du sol stérile.

1.1. Dénombrement des spores :

La présence des spores de champignons endomycorhiziens dans un sol donne une idée sur la bonne santé du sol ainsi que la richesse de ce dernier en microflore. Le comptage des spores après tamisage humide du sol de la station de Bastos a permis d'observer la présence de spore avec un nombre de 9 spores de diamètres supérieur à 200 μm , 6 spores de diamètre supérieur à 2 μm , 4 spores de diamètre supérieur à 150 μm , 7 spore de diamètre supérieur à 100 μm et 5 spores de diamètre supérieur à 50 μm (Figure 13). Les spores observées étaient de tailles variables de formes rondes, translucide avec un contenu cytoplasmique visible (Figure 14).

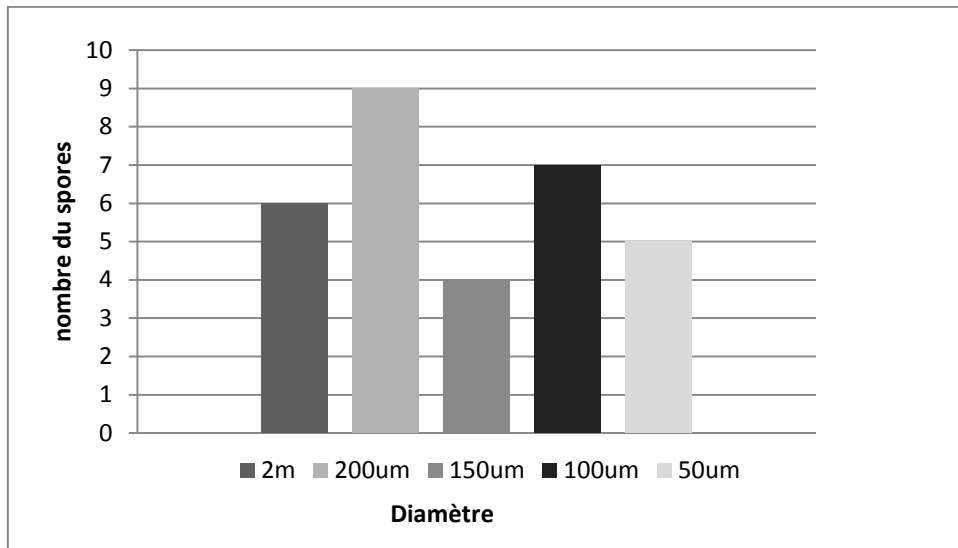


Figure 13 : Répartition du Nombre de spores en fonction des diamètres.

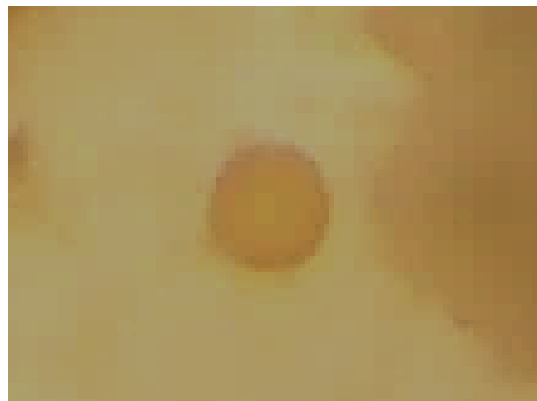


Figure 14 : Vu d'une spore avec son hyphe suspenseur sous la loupe binoculaire (G×40).

2. Paramètre de croissance des plantules :

2.1. Maintien des graines pré-germées :

Les résultats obtenus concernant le maintien des graines dans les deux traitements s'est révélé différent (Figure15). Les taux de maintien des graines de *H. flexuosum* après une semaine de semis sur substrat stérile a été plus important que celles sur substrat témoin.

Cependant, à la fin de l'expérimentation, nous avons enregistré après deux mois, un taux de mortalité des plantules sur sol stérile totale comparativement aux plantules sur sol témoin qui se sont maintenues.

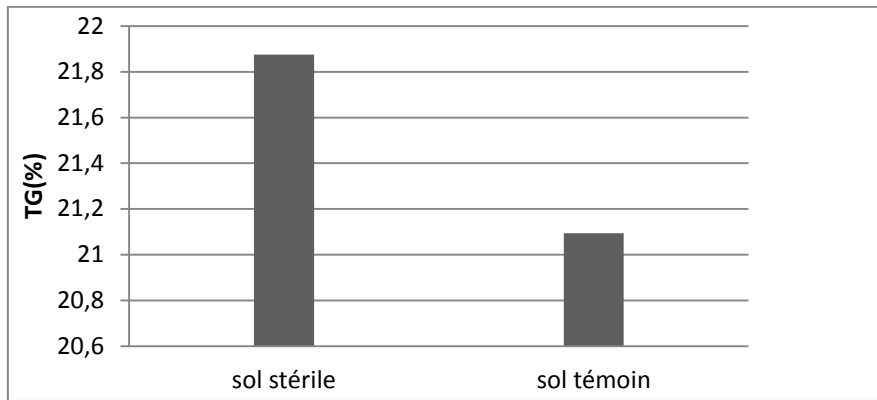


Figure 15 : Taux de maintien des graines dans le sol stérile et sol témoin à une semaine de l'expérimentation.

2.2. Evolution de la Hauteur des parties aériennes :

L'analyse de la croissance de la tige a permis de rapporter une augmentation concomitante de la hauteur moyenne des tiges chez les plantules témoins et stériles à partir du stade 1 jusqu'au stade 4 et nous avons observé une diminution au stade 5 (Figure16).

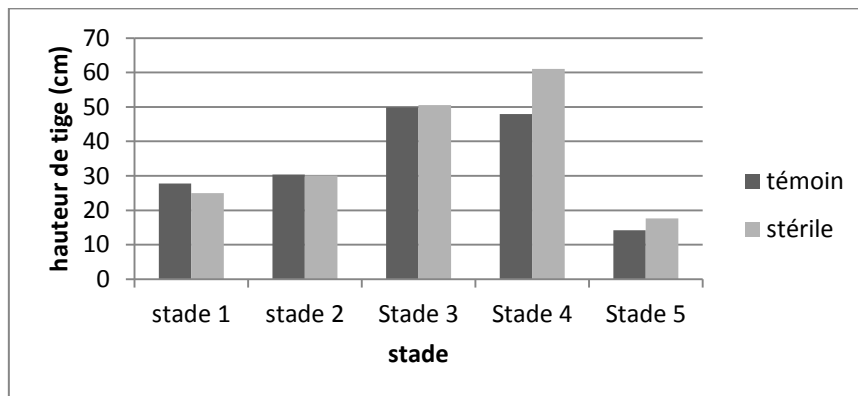


Figure 16 : Courbe d'évolution de la hauteur de la tige en fonction de temps.

D'après les résultats de l'analyse de la variance (Tableau 2), il apparaît que les plantules issues du traitement sur sol stérile sans contamination au stade 4 présentent des hauteurs de tige les plus marquées avec des valeurs de 71.23 ± 15.69 mm suivi par celles élevées sur le substrat témoin (avec la microflore) au stade 3.

Tableau 2 : Analyse de la variance de la hauteur de tige.

Traitement sol-plantule	Hauteur de tige
Sol stérile au stade 1	25,01 ± 3,84 a
Sol stérile avec contamination au stade 2	29,40 ± 6,94 acd
Sol stérile avec contamination au stade 3	48,94 ± 10,09 bcef
Sol stérile avec contamination au stade 4	50,81 ± 15,06 def
Sol stérile sans contamination au stade 2	30,77 ± 9,86 ade
Sol stérile sans contamination au stade 3	52,14 ± 17,41 def
Sol stérile sans contamination au stade 4	71,23 ± 15,69 f
Sol témoin au stade 1	27,72 ± 3,18 ab
Sol témoin au stade 2	30,38 ± 5,93 ac
Sol témoin au stade 3	49,88 ± 11,13 e
Sol témoin au stade 4	47,88 ± 12,36 ce

2.3. Evolution de Longueur racinaire :

La longueur moyenne des racines des plantes témoins est en augmentation hormis chez les plantules au stade 4 pour lesquelles nous avons observé une diminution.

Par contre, les plantes stériles nous avons noté une évolution en dent de scie de la croissance. Cependant, nous notons une croissance du système racinaire plus intéressante chez les plantules élevées sur sol stérile que celles élevées sur sol témoin à l'exception des plantules au stade 4 qui ont enregistré une croissance de la longueur racinaire plus importante que chez les plantules élevées sur sol témoin (figure 17).

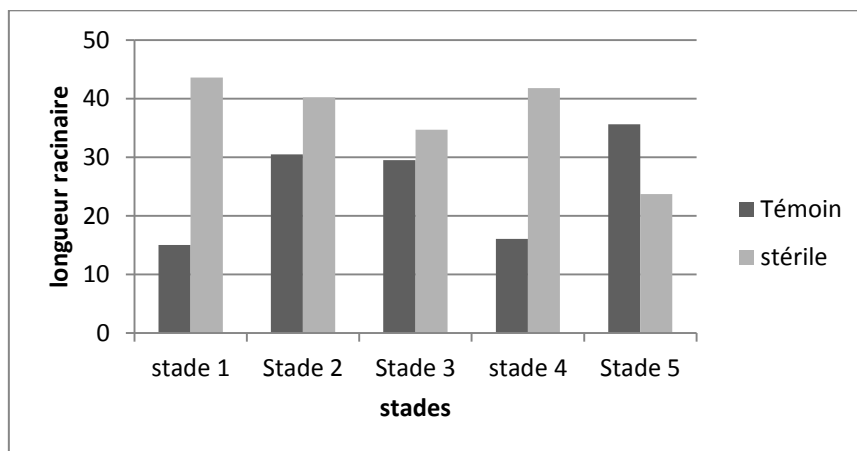


Figure17 : Evolution de la longueur racinaire des plantules de *Sulla flexuosa* élevées sur sol stérile et sur sol témoin selon les différents stades de croissance.

D'après les résultats obtenus de l'analyse de la variance, nous notons que les plantules soumises aux traitements sol stérile au stade 1 et sol stérile sans contamination au stade 4 présentent le développement le plus important des racines marqué par des valeurs 43.58 ± 20.79 pour le sol stérile au stade 1 et 46.72 ± 18.12 pour le sol stérile sans contamination au stade 4 (Tableau 3).

Tableau 3 : Comparaison de l'évolution de la longueur racinaire des plantules *de Sulla flexuosa* élevées sur sol stérile et sur sol témoin selon les différents stades de croissance (ANOVA).

Traitement sol-plantule	Longueur Racinaire
Sol stérile au stade 1	43,58 ± 20,79 b
Sol stérile avec contamination au stade 2	38,20 ± 16,28 ab
Sol stérile avec contamination au stade 3	31,36 ± 5,64 ab
Sol stérile avec contamination au stade 4	36,80 ± 11,63 ab
Sol stérile sans contamination au stade 2	42,23 ± 14,27 ab
Sol stérile sans contamination au stade 3	38 ± 5,34 ab
Sol stérile sans contamination au stade 4	46,72 ± 18,12 b
Sol témoin au stade 1	15,04 ± 4,40 a
Sol témoin au stade 2	30,45 ± 17,41 ab
Sol témoin au stade 3	29,49 ± 8,42 ab
Sol témoin au stade 4	16,05 ± 8,44 a

2.4. Croissance en Diamètre du collet :

La croissance en diamètre moyen du collet des plantules sur substrat témoins et stériles ont toutes enregistré une diminution selon les stades. En effet, les diamètres les plus élevées ayant été enregistrés pour les plantules prélevées au premier et deuxième stade. D'après les résultats de la variance nous avons observé que dans le sol témoin au stade 2 un important développement de diamètre de collet avec une valeur de 1.92 ± 0.20 mm et un faible diamètre de collet dans le sol témoin au stade 3 et dans le sol stérile avec contamination au stade 4.

Nos résultats peuvent être expliqués par la qualité germinative des semences qui est fonction de son génome mais aussi de multiples facteurs que Côme (1993) regroupe en quatre catégories : les facteurs avant la récolte, les facteurs de la récolte, les facteurs après la récolte et les facteurs de la germination. Selon Chaussat et Chapon (1981), une relation directe entre le poids de la graine et sa vitesse de germination pour différentes espèces notamment celle du genre *Triticum*.

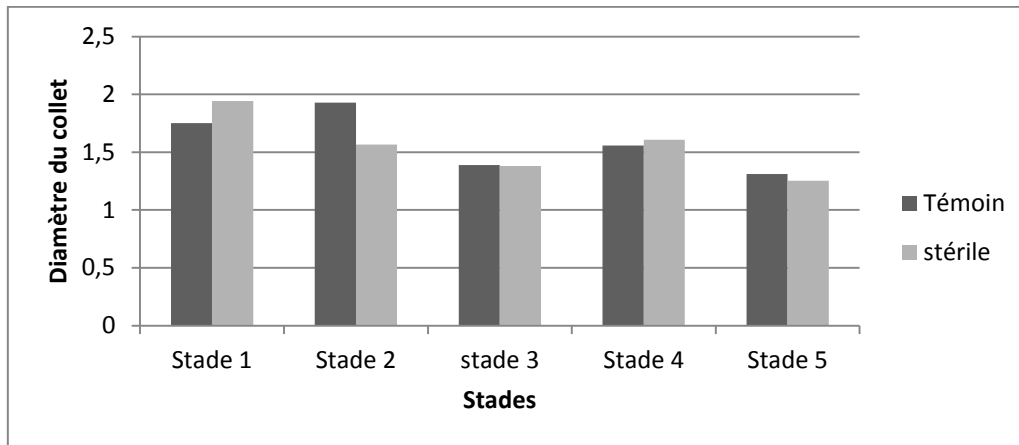


Figure 18 : Comparaison de l'évolution de la croissance en diamètre du collet des plantules élevées sur sol stériles et sur sol témoin selon les stades.

Tableau 4 : Résultats de l'analyse de la variance de la croissance en diamètre de collet.

Traitement sol-plantule	Diamètre de collet
Sol stérile au stade1	1,94 ± 0,28 bc
Sol Stérile avec contamination au stade 2	1,66 ± 0,14 ac
Sol Stérile avec contamination au stade 3	1,39 ± 0,11 ac
Sol Stérile avec contamination au stade4	1,30 ± 0,19 a
Sol Stérile sans contamination au stade 2	1,47 ± 0,19 ac
Sol Stérile sans contamination au stade 3	1,36 ± 0,11 ab
Sol Stérile sans contamination au stade 4	1,91 ± 0,47 ac
Sol témoin au stade 1	1,75 ± 0,25 ac
Sol témoin au stade 2	1,92 ± 0,20 c
Sol témoin au stade 3	1,38 ± 0,33 a
Sol témoin au stade 4	1,55 ± 0,40 ac

2.5. Comparaison de l'évolution de Biomasse aérienne selon les stades et les traitements :

L'évolution de la biomasse aérienne des plantules telle illustrée par la figure19 évoque une courbe normale de croissance des végétaux avec une augmentation en fonction du temps. Elle atteste de l'avantage des plants évoluant sans partenaires symbiotiques (Rhizobium et mycorhize). Cependant, à la fin de l'expérience, la courbe de croissance des plants du traitement témoin au stade 5 (final) semble rattraper celle des plants sans symbioses.

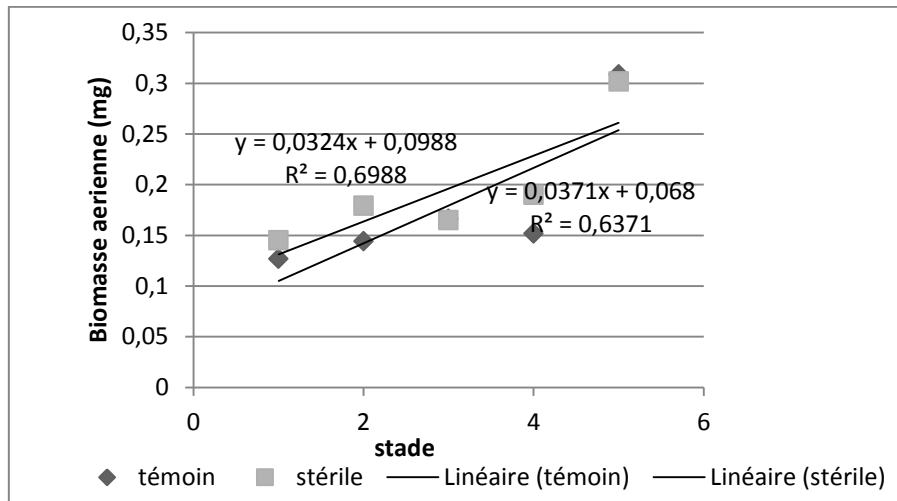


Figure 19 : Courbe d'évolution de la biomasse aérienne selon les traitements (sol témoin et sol stérile).

Tableau 5 : Résultats de l'analyse de la variance de la biomasse aérienne (mg) de *Sulla flexuosa* selon les différents traitements et stades.

Traitement/ Variables	P.B.A (mg)
Sol Stérile au stade 1	0,12 ± 0,02 a
Sol Stérile avec contamination au stade 2	0,16 ± 0,03 ab
Sol Stérile avec contamination au stade 3	0,14 ± 0,01 ab
Sol Stérile avec contamination au stade 4	0,14 ± 0,02 ab
Sol Stérile sans contamination au stade 2	0,17 ± 0,02 ab
Sol Stérile sans contamination au stade 3	0,17 ± 0,04 ab
Sol Stérile sans contamination au stade 4	0,19 ± 0,03 b
Sol Témoin au stade 1	0,11 ± 0,01 a
Sol Témoin au stade 2	0,12 ± 0,02 a
Sol Témoin au stade 3	0,15 ± 0,03 ab
Sol Témoin au stade 4	0,14 ± 0,02 ab

Il résulte de notre expérience que les plantules au stade 4 soumis au traitement sol stérile sans contamination présentent la production en biomasse la plus importante avec une valeur 0.19±0.03mg.

2.6. Evolution du Poids total des plantules :

L'évolution des poids totaux des plantules a accusé une évolution lente lors des premiers stades de croissance pour augmenter d'un rapport de deux fois lors du 5ème stade (figure 20).

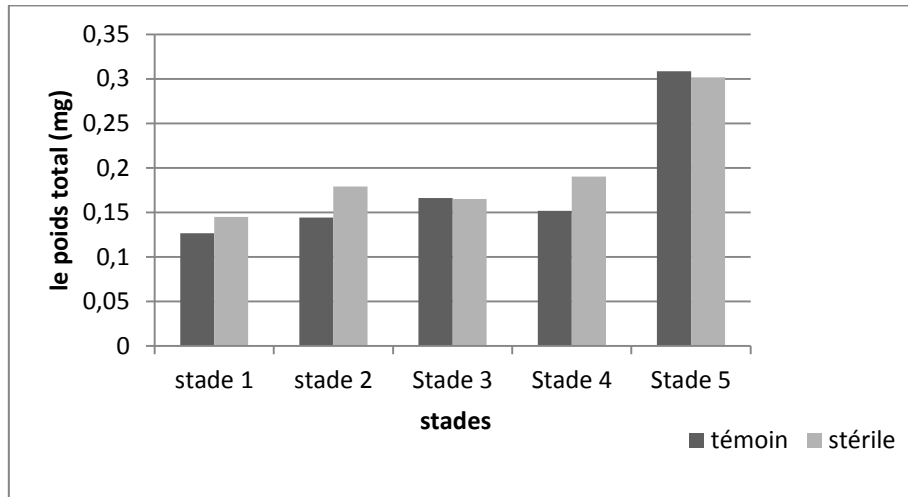


Figure 20 : Evolution et comparaison des poids totaux des plantules au cours des stades de prélèvement.

En effet, les résultats de l'analyse de la variance a permis de mettre en évidence une homogénéité entre la majorité des stades sauf pour plantules élevées sur sol stérile sans contamination au stade 4 pour lesquelles nous avons noté des différences significatives et qui se démarques du lot (Tableau 6). En effet, la comparaison des plantules issues des différents stades et traitements permettent de noter une meilleure production en biomasse totale chez les plantules soumis au traitement sol stérile sans contamination au stade 4 avec la valeur $0,22 \pm 0,04$ mg.

Tableau 6 : Comparaison de l'évolution des pois totaux entre les traitements et les stades (ANOVA).

Traitement sol-plantules	Poids total
Sol Stérile au stade 1	$0,14 \pm 0,02$ a
Sol Stérile avec contamination au stade 2	$0,17 \pm 0,03$ ab
Sol Stérile avec contamination au stade 3	$0,14 \pm 0,01$ a
Sol Stérile avec contamination au stade 4	$0,16 \pm 0,01$ ab
Sol Stérile sans contamination au stade 2	$0,18 \pm 0,03$ ab
Sol Stérile sans contamination au stade 3	$0,18 \pm 0,04$ ab
Sol Stérile sans contamination au stade 4	$0,22 \pm 0,04$ b
Sol Témoin au stade 1	$0,12 \pm 0,01$ a
Sol Témoin au stade 2	$0,14 \pm 0,02$ a
Sol Témoin au stade 3	$0,16 \pm 0,03$ ab
Sol Témoin au stade 4	$0,15 \pm 0,02$ a

2.7. Evolution de la production en matière sèche aérienne :

La production en matière sèche des parties aériennes des plantules a accusé une augmentation progressive en fonction des stades de développement avec une démarque de production chez les plantules de *Sulla flexuosa* sans symbiotes au 4ème stade (figure 21).

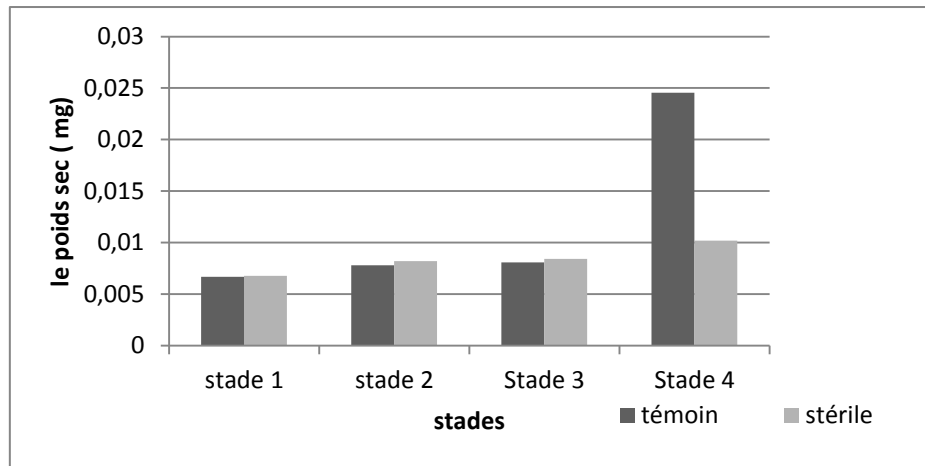


Figure 21 : Distribution de la production de la matière sèche des parties aériennes.

Discussion

La première partie de l'expérimentation concernant la mise en évidence de l'apport de la symbiose à la croissance et au développement des plantules de *Sulla* aux premiers stades de croissance a permis de noter un effet négatif des symbiotes sur les plantules de cette dernière. Selon plusieurs auteurs, les plantes écotrophes dépendent d'abord de leurs réserves cotylédonaire pour leur croissance juvénile (Marshall & Kozlowski, 1976 ; Mulligan et Patrick, 1985 ; Kitajima, 2002). En effet, la germination est une période pendant laquelle les jeunes plantes poussent et sont très sensibles aux influences environnementales, elles sont à peine enracinées et présentes encore trop peu de feuillage pour répondre à ses besoins énergétiques. Il est donc évident que les symbiotes alourdissent le bilan énergétique des réserves cotylédonaire de par le partage des réserves avec les symbiotes. Ceci serait à l'origine de la baisse progressive du taux de maintien des plantules post germination jusqu'à la perte totale des plantules soumises au traitement avec sol stérile et apparition de contamination dans les pots. En effet, les plantes dotées de mycorrhizes et de nodules rhizobiens présentent une résistance systémique accrue aux pathogènes (Liu *et al.*, 2007).

Le suivi et la mesure des variables morphologiques ont permis d'enregistrer des différences significatives entre les stades et les traitements. Bien que l'amélioration de la nutrition hydrique et minérale des plantes grâce à la symbiose rhizobienne et mycorhizienne a été déterminée et l'effet « mycorhize » est attribué à une meilleure utilisation de l'eau par la plante en raison du volume de sol exploré par les hyphes mycéliens (Garbaye, 2000 ; Auge, 2001), il est, cependant, dans notre expérience, mis en évidence qu'à partir du stade 4. Ce dernier évoque le début de l'efficacité de la symbiose rhizobienne et mycorhizienne chez *sulla flexuosa* qui correspond à 2 mois de développement des plantules.

3. Résultats du test de l'effet du stress hydrique sur la croissance d'*Hedysarum flexuosum* et de la symbiose :

Après 2 mois de culture, les plantules sur sol témoin (avec microflore) ont été soumises à un stress hydrique. Les résultats de l'effet induit ont été estimés par la mesure des paramètres morphologiques (longueurs et largeur des feuilles, masses des organes, diamètre du collet, volume racinaire, nombre de feuilles par plante) et biochimique (teneur en proline) ont été mesurées chez les plantes témoins et les plantes stressées et sont :

3.1. Comparaison du nombre de feuilles entre les plants stressés et non stressés

Le nombre moyen de feuilles le plus élevé est enregistré chez les plantes témoins, chez les plantes stressées le nombre moyen de feuilles se trouve réduit.

Les résultats de la variation de feuilles tels illustrés dans la figure (22) attestent d'un léger effet du stress sur la production de feuille chez *Sulla*. Bien que l'analyse de la variance n'a montré aucune différence significative probablement dû au petit nombre de plants (répétition) enregistré au niveau de l'expérimentation.



Figure 22 : Nombres des feuilles chez les plantes stressées et les non stressés.

3.2. Longueur et largeur des feuilles :

Les dimensions des longueurs et les largeurs moyennes des feuilles mesurées ont également enregistré une valeur moyenne de la longueur et largeur de la feuille terminale pour les plants non stressés respectives de $12,49 \pm 0,41$ mm et $16,28 \pm 6,54$ mm et de $9,69 \pm 4,26$ mm et $14,34 \pm 6,87$ mm pour les plants stressés (figure 23).

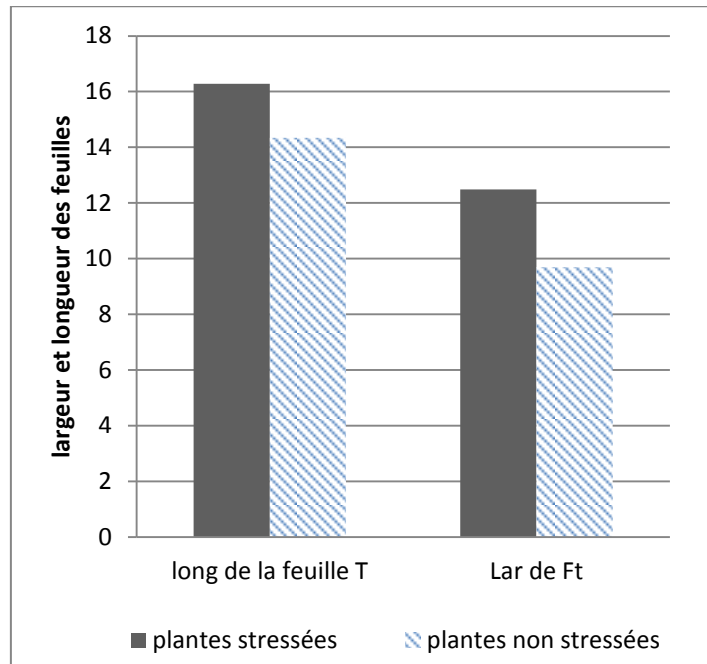


Figure 23 : Comparaison de la largeur et longueur des feuilles de *Sulla flexuosa* stressées et non stressés.

3.3. Evolution de la croissance de l'hypocotyle des plantes :

Les résultats de la longueur moyenne de l'hypocotyle des plantes sont illustrés dans la figure 24. Nous avons observé une augmentation de la hauteur de l'hypocotyle chez les plantes témoin et une diminution chez les plantes stressées.

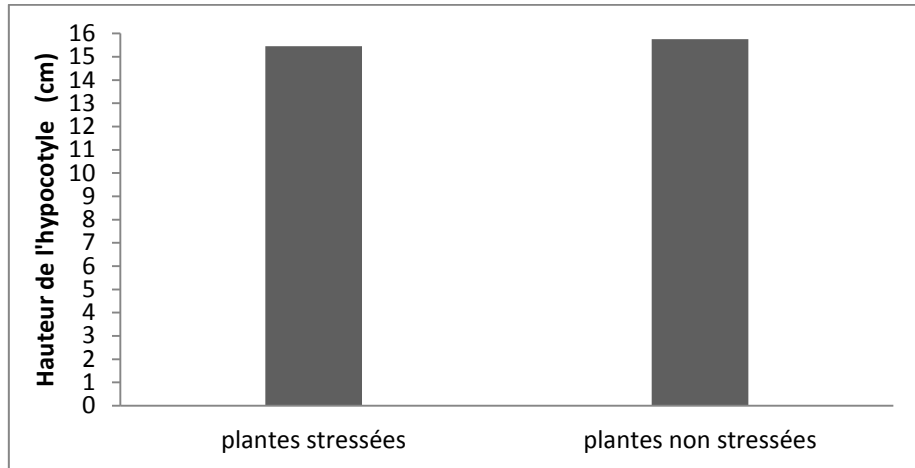


Figure 24 : Comparaison de la hauteur d'Hypocotyle des plantules stressées et non stressées.

A l'exception de la variable longueur des tiges des plantes stressées, les résultats obtenus (tableau 7) indiquent une diminution de la longueur des racines, l'hypocotyle, nombre des feuilles, diamètre du collet, le poids, la longueur et largeur des feuilles terminales chez les plants tressés comparativement aux plants non stressés sans pour autant confirmer la présence de différence significative comparativement aux plantes témoins..

Tableau 7 : Analyse de la variance des organes morphologiques chez les plantes stressées et les non stressés.

Variabes	Plantules sans stress	Plantules stressées	P
Diamètre au collet	1,25 ± 0,26	1,31 ± 0,43	0.78
Hauteur de la tige	17,63 ± 8,30	14,16 ± 9,95	0.51
Hauteur de l'hypocotyle	15,45 ± 7,33	15,75 ± 3,08	0.92
largeur de la feuille terminale	12,49 ± 0,41	9,69 ± 4,26	0.14
Longueur de la feuille terminale	16,28 ± 6,54	14,34 ± 6,87	0.61
Longueur racinaire	23,71 ± 23,71	35,62 ± 22,93	0.37
Nombres de feuilles	2,50 ± 1,04	2,71 ± 0,75	0.67
Poids de biomasse	0,22 ± 0,07	0,21 ± 0,13	0.96
Poids total	0,30 ± 0,08	0,30 ± 0,13	0.91

Discussion :

Il est évident que En situation de stress hydrique, la plante met en place des mécanismes d'adaptation pour rééquilibrer son statut hydrique, aux dépend d'une fraction de son métabolisme. (Arvalis- Institut du végétal, 2014).

Le manque d'eau limite la croissance des végétaux, en modifiant la relation entre la disponibilité et les besoins (Bezzala., 2005). Ce stress affecte la croissance, le développement de la plante (Krista., 2003 ; Zryd., 2004) et une réduction significative de la production de biomasse totale de la plante (Kramer, 1980 ; Albouchi et *al.*, 2000). Les dégâts produits par le stress hydrique se manifestent par une chlorose, des phénomènes de sénescence, et l'abscission des feuilles. Les feuilles nouvellement formées montrent une réduction de leurs surface (Debaek et *al.*, 1996).

La diminution de la surface foliaire des feuilles et du nombre de feuille et de la taille est considérée comme une réponse ou adaptation au manque d'eau (Blum, 1996). Lors de notre expérience, nous avons noté une différence, bien que non significative, qui s'est traduit par une production légèrement plus élevée en biomasse aérienne chez les plants non stressés comparativement aux plants stressés.

A l'inverse, la longueur du système racinaire s'est mieux développé chez les plants stressés avec une valeur moyenne respectives de $35,62 \pm 22,93$ mm comparativement au plants non stressés $23,71 \pm 23,71$ mm. Ces résultats ont été aussi rapporté par El hassani et Persoons, (1994) qui précisent que les plantes à enracinement superficielle et peu dense souffrent plus du déficit hydrique que celles à enracinement profond. Bagga et *al.*, (1970) précisent que le système racinaire profond est un critère de sélection important qui conférerait à la plante une capacité d'extraction de l'eau supérieure dans les zones arides.

4. Suivi de la symbiose mycorhizienne et rhizobienne :

Le suivi de la mycorhizienne et rhizobienne chez *Sulla* lors de l'expérience effectué à intervalle d'une semaine a permis l'observation au microscope des nodules et des structures mycorhiziennes telles que des hyphes extra et intracellulaire et des arbuscules chez les plantules au stades 3,4,5 dans les racines des plantes *d'Hedysarum flexuosum*. Il a été confirmé l'absence de ces structures chez les plants du premier et deuxième stade ainsi que chez les plants élevés sur sol stériles. Lors du stade 5 en cas du stress hydrique, nous remarque des nodules à la surface.

4.1. Evaluation de colonisation mycorhizienne et la teneur en arbuscules :

La fréquence de mycorhization des racines des plants soumis au stress hydrique (Stade5) est estimé à FM (%) = 100%, de même que l'intensité de colonisation des racines estimée IM (%) 72 %. Chez les plantes non stressées, nous avons observé aussi une colonisation des racines moins importante que les plantes stressées avec une fréquence de mycorhization FM (%) = 40% et avec une intensité IM aussi moins importante que les plantes stressés IM (%) = 22.5% (Tableau 8).

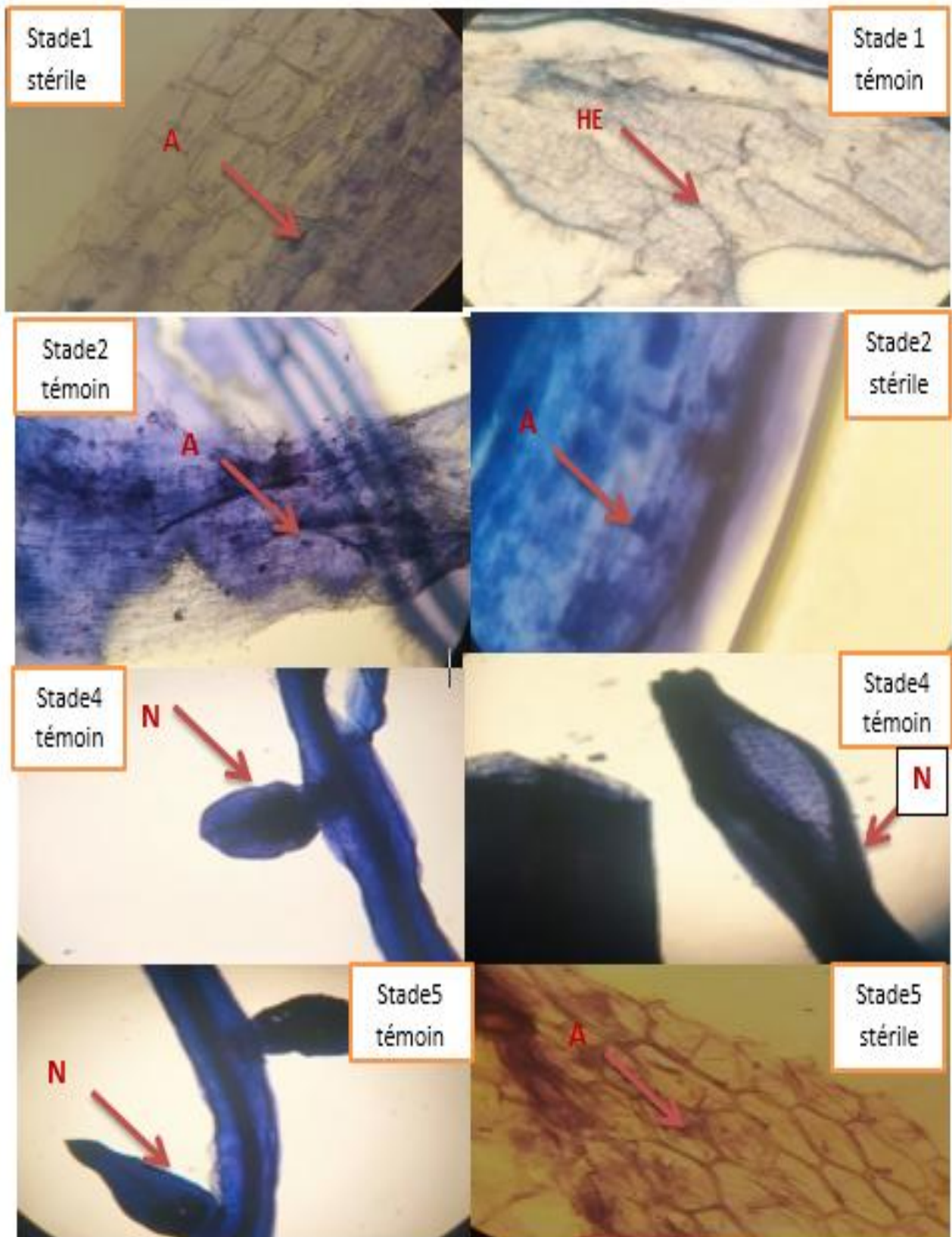


Figure 25 : Observation du tissu corticale de la racine de *Hedysarum flexuosum* à différents stades et dans le sol stérile et témoin (N : nodule, A : arbuscule, HE : hyphe extra matriciel).

Un effectif de nodules de 3 nodules chez les plantes stressées comparativement à un seul chez les plantes non stressées indiquerait l'efficacité de la symbiose rhizobienne face au stress hydrique.

La teneur en arbuscules (a) de la partie mycorhizée chez les plantes stressées est plus importante que les non stressés avec une valeur de 81.38% pour les plantes stressées et 60.44% pour les non stressés. En ce qui concerne la teneur en arbuscules (A) du système racinaire elle est plus importante chez les plantes stressées que les non stressées (Tableau 8).

Tableau 8 : Fréquence de mycorhization FM (%), intensité mycorhizienne IM (%) et teneur en arbuscules a (%) de la partie mycorhizée et la teneur en arbuscule A(%) du système racinaire chez les plantes stressées et les non stressées

Traitement	FM(%)	IM(%)	a(%)	A(%)	Nbr nodules
Plantes stressées	100%	72%	81.38%	7.45%	3
Plantes non stressées	40%	22.5%	60.44%	2.25%	1

Discussion :

Notre expérience révèle que les plants de *Sulla* stressés étaient plus mycorhizes et un nombre plus important de nodules que ceux non stressés à l'âge de 3 mois de développement. Le stress hydrique induit une augmentation significative de la colonisation mycorhizienne et de nodules des racines d'*Hedysarum flexuosum*, ce qui montre un développement important des structures fongiques qui favorisent les échanges nutritifs entre les deux partenaires symbiotiques. Ces échanges se traduisent par une amélioration du statut hydrique et nutritionnel de la plante hôte et se reflète en terme de maintien de la croissance de la plante en condition de stress hydrique.

En effet, les plantes disposent de plusieurs stratégies d'adaptation au stress hydrique dont l'aptitude à s'associer à des partenaires symbiotiques avec des champignons mycorhiziens et des bactéries rhizobiennes. La tolérance dans le cas d'un abaissement du potentiel hydrique du sol des plantes mycorhizées s'exprime par une diminution de la résistance au transport de

l'eau dans les racines mycorhizées et par le maintien de la turgescence des cellules foliaires grâce à l'accumulation de solutés (Samaali Sarra., 2020).

Benjamin Jayne et Martin Quigley ont démontré que les plants mycorhizés présentent une meilleure conductivité hydraulique et un taux de transpiration réduit en situation de sécheresse. Cette propriété peut être expliquée par leur capacité à réguler leur niveau d'ABA (acide abscissique) mieux et plus rapidement que les plantes sans symbiose mycorhizienne. Cela établit un meilleur équilibre entre la transpiration de la feuille et le mouvement de l'eau dans les racines en situation de sécheresse ou après celle-ci (Jayne B *et al.*, 2013).

4.2. Teneur en proline :

La comparaison du dosage de la proline des plants a permis de relever une production de cette dernière, plus élevée chez les plantes témoins (16.16 mol/l) que chez les plantes stressées (4.11 mol/l) figure 26.

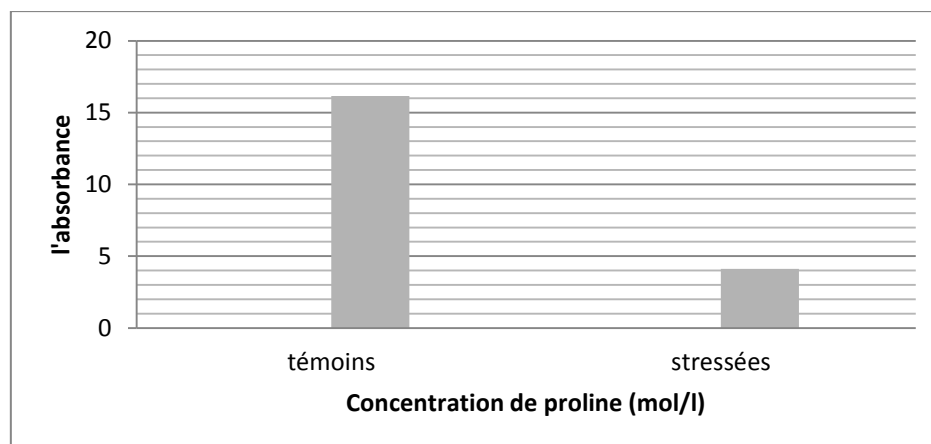


Figure 26 : Concentration de proline chez les plantes stressées et les non stressés.

Les résultats obtenus lors de notre test concernant le dosage de la proline chez les plantes témoins plus élevée que chez les plantes stressées peut être expliqué par le fait que chez certaines espèces le déficit hydrique ne s'exprime guère par l'élévation de la teneur en proline. De nombreux travaux rapportent que la proline s'accumule dans la plante lorsqu'elle se trouve en condition défavorables (Sivaramakrishnan *et al.*, 1988), ce qui traduit le caractère de la résistance aux stress (Greenway et Munnus, 1980). Cependant, chez certaines espèces sensibles, la présence de cet acide aminé est par contre amoindrie (Chen *et al.*, 1995). Selon Feitosa *et al.*, (2001) et Meloni *et al.*, (2004), le rôle attribué à la proline dans la réponse des plantes au stress reste parfois controversé.

L'étude menée au laboratoire mycorhize avait pour objectif d'une part l'étude de l'effet de la communauté symbiotique et d'un autre part à l'étude du comportement d'*Hedysarum flexuosum* en présence et en absence de stress hydrique.

Les résultats obtenus attestent de la meilleure croissance des plants de *Sulla flexuosa* élevés sans partenaires symbiotiques (sol stérile) lors des deux premiers mois. Cependant, nous avons observé l'apparition de champignon parasite sur les pots à sol stérilisé à 10 jours de culture. Les plants élevés sur sol stérile ont totalement dépéri au bout de deux mois de culture.

Le rôle protecteur des partenaires symbiotiques a été démontré. En effet, les plants élevés sur sol témoin (non stérile) ont observé une croissance lente au début de l'expérience pour mieux se maintenir à la fin de l'expérience. Nos résultats confirment qu'aux premiers stades de croissance de *Sulla flexuosa*, les symbiotes ne sont pas fortement sollicités sauf pour la lutte contre les pathogènes ce qui a permis aux plants associés aux symbiotes de se maintenir contrairement aux plants non associés.

Les résultats que nous avons obtenus par l'application du stress hydrique sur la croissance et le développement de l'espèce *Sulla*, a permis de noter un effet négatif sur les paramètres morphométriques à savoir une réduction de la longueur de la feuille, de la largeur de la feuille, du diamètre au collet, de la hauteur de l'hypocotyle, du nombre de feuilles, de la longueur racinaire des plantes stressées en rapport aux plants témoins (sans stress hydrique). Le stress hydrique affecte la croissance, le développement de la plante et une réduction significative de la production en biomasse totale.

En situation de stress hydrique, *Sulla* semble mettre en place un mécanisme d'adaptation pour rééquilibrer son statut hydrique par une élévation de la colonisation mycorhizienne et par la présence en plus grand nombre de nodule qui permettent une meilleure résistance à la déshydratation et le maintien d'une bonne activité.

Notre travail s'inscrit dans le projet de recherche de l'équipe mycorhize. Afin de promouvoir la culture de *Sulla flexuosa* en agriculture biologique et l'introduit comme espèces de grandes cultures. Il serait intéressant de poursuivre ce travail par l'étude des différentes populations locales à différents stades de germination afin de renseigner les exigences de l'espèce spontanée.

Annexe 01 : Matériels utilisés au laboratoire :

- ♣ Des tamis.
- ♣ Une balance analytique.
- ♣ Etuve
- ♣ Une balance électronique.
- ♣ Papier aluminium.
- ♣ Autoclave.
- ♣ Les pots.
- ♣ Papiers verre.
- ♣ Boîtes de pétries.
- ♣ Vaporisateur.
- ♣ Pied à coulisse électronique.
- ♣ Microscope photonique.
- ♣ Microscope à loupe.
- ♣ Lame et lamelle, les tubes à essai+support, fiole, pipette graduée, bécher, pissette, erlenmeyer, éprouvette graduée.
- ♣ Pince, compte-gouttes, entonnoir, verre de montre, papier filtre, passoire, spatule, ampoule.
- ♣ Agitateur.
- ♣ PH mètre, conductimètre.
- ♣ Plaque chauffante, frigidaire, casserole, les cuvettes.
- ♣ La centrifuge.
- ♣ Distillateur.

Annexe 02 : Courbe d'étalonnage A= f©

$$A=k*c$$

concentration de proline pour les plantes ST

$$K=yB-Ya/xB-Xa$$

$$C=0.308/0.075$$

$$K=0.6-0/8-0$$

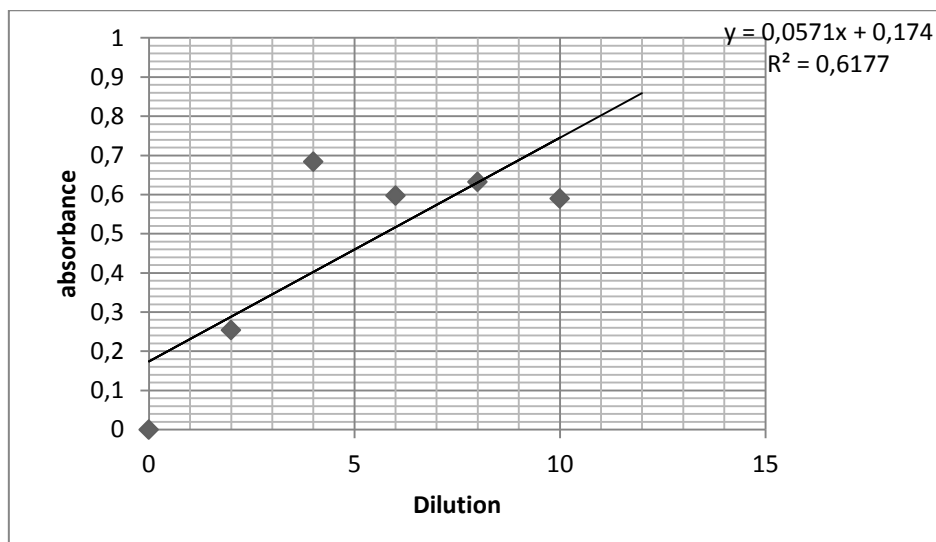
$$C=4.11\text{mol/L}$$

$$K=0.075\text{ mol.L}$$

concentration de proline pour les plantes non ST

$$C=1.212/0.075$$

$$C=16.16\text{mol/L}$$



Courbe d'étalonnage de dosage de la proline

Références Bibliographiques :

Abdelguerfi-Berrekia R., Bounaga N. et Guittonneau ; G. G 1991. Répartition des espèces spontanées du genre *Hedysarum* selon certains facteurs du milieu en Algérie.

Abdelguerfi-Berrekia, R., 1985. Contribution à l'étude du genre *Hedysarum* L. en Algérie. Thèse Magister, I.N.A., 1-131.

Ben Fadhel, N., Afif, M., et Boussaid M. 2006. Structuration de la diversité génétique de *Hedysarum flexuosum* en Algérie et au Maroc. Implications sur sa conservation. Eds. Fourrages.186, 229-240.

Boussaid M., Ben fadhel N. et Marrakchi M. Variabilité morphologique et iso enzymatique de populations naturelles maghrébines d'*Hedysarum flexuosum* L. Institut national des sciences appliquées et de technologie B.P.676, 1080 Tunis Cedex, Tunisie. Laboratoire de génétique et biologie moléculaire, Faculté des sciences de Tunis Campus universitaire, 1060 Tunis, Tunisie.

Chen H., D. Kuang et J. Wang., 1995. Studies on selection and characterisation of a stress tolerant sugarcane cell line. Chin. J. Biotechnol., 11, 2, p.93-99.

Dalpe, 2005. Les mycorhizes : un outil de protection des plantes mais non une panacée. Article; phytoprotection, vol. 86, n° 1, 2005, p. 53-59.

De Koning, C., Yates, R., Wurst, M., 2010. Sulla (*Hedysarum coronarium*) Management Package. SARDI with funding from Pastures Australia.

Doree., 2000. Evolution des taux de MS, MO, MM du *Sulla flexuosa* en fonction du stade végétatif et des différentes parties de la plante. Mémoire de fin d'étude, université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques.

Douglas., 1998 ; Hannachi et al., 2004 in Sebihi, 2008 ; Elboutahiri, 2010 ; Ben Jeddi, 2005. Contribution à l'étude de l'effet de la contrainte saline sur deux espèces d'*Hedysarum* (*H.flexuosum* et (*H.coronarium*) au stade plein croissance. Mémoire de fin d'étude. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

Feitosa LC., J. Cambraia, MA. Olivo Cano & HA. Ruiz., 2001. Plant growth and solute accumulation and distribution in two sorghum genotypes under NaCl stress. Braz. J. Plant, Physiol, 13, 270-284.

Hémissi., 2007. Evolution des taux de MS, MO, MM du *Sulla flexuosa* en fonction du stade végétatif et des différentes parties de la plante. Mémoire de fin d'étude, université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques.

Hirsh et Kapulnik (1998) et Stenstrom et al. (1997). Contribution à l'étude des champignons mycorhiziens et leur action contre le stress hydrique chez *Hedysarum coronarium* L. Mémoire de fin d'étude, université Abderrahmane Mira de Béjaia. Faculté des sciences des sciences de la nature et de la vie.

Greenway H. & R. Munns., 1988. Mechanisms of salt tolerance in non halophytes. Annual Review of Plant physiology, 25, 149-190.

Gounot, 1958., Trifi et al., 2002 in Slim et Ben Jeddi, 2011. Contribution à l'étude de l'effet de la contrainte saline sur deux espèces d'*Hedysarum* (*H.flexuosum* et (*H.coronarium*) au stade plein croissance. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.

Kadi et al. 2015. Evolution des taux de MS, MO, MM du *Sulla flexuosa* en fonction du stade végétatif et des différentes parties de la plante. Mémoire de fin d'étude, université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques.

Kugler, (1986), Meyer et al., 2008. Contribution à l'étude des champignons mycorhiziens et leur action contre le stress hydrique chez *Hedysarum coronarium* L. Mémoire de fin d'étude, université Abderrahmane Mira de Bejaia. Faculté des sciences des sciences de la nature et de la vie.

Lapeyronie A. 1982. Les productions fourragères méditerranéennes. Généralités caractères botanique et Biologiques. T.I.G.P. Maisonneuve et La rose. Paris.

Lavaud, 2019. Les Mycorhizes, un réseau d'avantage. Compte-rendu à partir de notes.

Meloni DA., MR. Gulotta., CA. Martinez and MA. Oliva., 2004. The effects of salt stress on growth , nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba*. Braz.J.Plant,physiol., Vol 16,N°1,8p.

Molle et al., 2003, Bonanno et al., 2007 Ramirez-Restrepo et Barry, 2005 et Cucchiara 1989, Sitz et al., 2006 ; Bonnano et al., in Belmihoub, 2012. Evolution des taux de MS, MO, MM du *Sulla flexuosa* en fonction du stade végétatif et des différentes parties de la

plante. Mémoire de fin d'étude, université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques.

N. Ben fadhe, M. Afif, M. Boussaid. Structuration de la diversité génétique de *Hedysarum flexuosum* en Algérie et au Maroc. Implications sur sa conservation. Fourrages (2006) 186, 229-240.

Piccioni, M., 1965. Dictionnaire des aliments pour les animaux. Ed. Agricole. (La maison rustique, ed.). Paris, France, 532-534.

Pierre Davet, 1996. Vie microbienne du sol et production végétale. 1^{ère} édition, INRA, Paris.383p.

Prosperi, J.M. ; Guy. P et Balfourier F., 1995. Ressources génétiques des plantes fourragères et à gazon. INRA. (Paris).119-121.

Quezel et Santa 1962. Contribution à l'étude des champignons mycorhiziens et leur action contre le stress hydrique chez *Hedysarum coronarium* L. Mémoire de fin d'étude, université Abderrahmane Mira de Bejaïa. Faculté des sciences des sciences de la nature et de la vie.

Sivaramakrishnan S., V. Pattel, G.Flower and LG. Paleg., 1988. Proline accumulation and nitrate reductase activity in contrasting sorghum lines during mid-season drought stress. Plant Physiol., 74, p.418-426.

Smith et Read, 1997. Symbiose mycorhizienne et nutrition minérale. Document.

Résumé :

L'espèce *Hedysarum flexuosum* nommé est une légumineuse fourragère spontanée, endémique de l'est algérien et de la Tunisie. Kadi *et al* (2015) rapportent la qualité fourragère de l'espèce en remplacement de la luzerne dans l'alimentation du petit élevage. Cependant, l'espèce *Sulla flexuosa* reste très peu étudiée. De ce fait et pour promouvoir la culture à grande échelle de *Sulla flexuosa* en Algérie et ailleurs, il est nécessaire de faire l'inventaire de la communauté symbiotique de l'espèce et de renseigner sur le développement de l'espèce et de son statut symbiotique à différents stades de croissance et son comportement face au stress hydrique. Un protocole en bloc aléatoire est installé a raison de 32 pots soit 16 avec sol stérile et 16 pots avec sol non stérile (témoin) afin d'installer des graines de *Sulla* prégermées. Au bout de deux mois 6 pots avec sol témoin ont été soumis à raison de 3 pots aux stress hydrique et 3 ont été arrosés tous les jours. Les résultats obtenus attestent de la croissance des plants de *Sulla flexuosum* élevés sans partenaires symbiotiques (sol stérile) plus importante lors des deux premier mois. Cependant, nous avons observé l'apparition de champignon parasite sur les pots à sol stérilisé à 10 jours de culture. Les plants élevés sur sol stérile ont totalement dépéri au bout de deux mois de culture. Le rôle protecteur des partenaires symbiotiques a été démontré. En effet, les plants élevés sur sol témoin (non stérile) ont observé une croissance lente au début de l'expérience pour mieux se maintenir à la fin de l'expérience. Nos résultats confirment qu'aux premiers stades de croissance de *Sulla flexuosa*, les symbiotes ne sont pas fortement sollicités sauf pour la lutte contre les pathogènes ce qui a permis aux plants associer aux symbiotes de se maintenir contrairement aux plants non associer.