



**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOD MAMMERI DE TIZI OUZOU**

**Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biologie Animale et Végétale**

**Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de
Master en Biologie.**

Spécialité : Génétique et Amélioration des Plantes.

THEME :

**Contribution à l'étude des endomycorhizes de
Zizyphus lotus provenant de la région de Mekla
(Tizi Ouzou).**

Réalisé par : Mme BOUSSENA-BELGAID Aldjia

Soutenu le 30/10/2015 devant le jury :

Présidente : Mme SAHMOUNE F.

Promotrice : Mme TALEB-TOUDERT K.

Examinatrice : Mme ABDELLAOUI K.

Examineur: Mr MEDJBEUR Dj.

MACCA A l'UMMTO.

MC B l'UMMTO.

MACCA A l'UMMTO.

MACCA A l'UMMTO.

**03^{ème} promotion
Septembre 2015**

Remerciements

Je remercie dieu le tout puissant qui m'a donné la force d'accomplir ce travail.

Je tiens à remercier ma chère promotrice madame Taleb, la perle précieuse de notre département pour sa présence permanente à mes côtés, son grand soutien aussi bien sur le plan moral que sur le plan pratique et je ne saurais décrire ses efforts innombrables à m'apporter son aide durant toutes les étapes de ce travail et à me consacrer son temps précieux du début jusqu'à la fin ; sans lesquels je n'aurais jamais pu aboutir à ce résultat.

Permettez-moi madame de vous dire que vous êtes une bénédiction pour moi et pour tous les étudiants qui ont ou qui auront la chance de vous avoir comme enseignante ainsi que comme promotrice.

Je tiens à remercier également, les membres du jury Mme Sahmoune F. malgré ses nombreuses occupations d'avoir accepté de présider ce jury, Mlle Abdellaoui K. et Mr Medjbeur Dj. pour avoir eu l'amabilité de nous faire partager leurs impressions en examinant ce travail.

A monsieur Smail enseignant à l'UMMTO qui m'a incitée à aimer les mycorhizes.

Je remercie aussi monsieur Ait Mouloud S., madame Camélia, monsieur Deguiche, madame Chebout S., monsieur Lachbi K. et tout le personnel de son laboratoire, monsieur Feraguig et toutes les personnes qui ont apporté aussi peu soit-il une contribution pour la concrétisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents surtout ma maman chérie que j'aime énormément qui a toujours été là pour moi, qui m'a soutenu et prié pour moi.

A ma sœur adorée Drifa qui m'a beaucoup appris et m'a toujours épaulé, aimé et rassuré même dans les pires moments.

A ma très chère sœur Daouia

A mon cher frère Karim.

A mon adorable époux Yacine qui m'a donné du courage et de l'espoir.

A mes beaux-parents Saïd et Safia.

A mes belles sœurs Ellis et Céline.

A mes beaux-frères Elias et Yanis.

A la mémoire de mon beau-frère Ghiles.

A mes très chères amies Nadia et Naima que j'aime ainsi qu'à leurs parents qui ont toujours été là pour moi.

A toutes mes amies.

A tous mes camarades du laboratoire de CIV.

Aldjia

Liste des figures

Figure1 : Représentation schématique des sections transversales des huit types de mycorhizes décrits dans le texte (Garbaye, 2013)	4
Figure2 : Anatomie des MA. (Palenzuela et Barea, 2002).....	8
Figure 3 : Cycle de vie d'un champignon endomycrhizien AM (Duhoux et Nicole, 2004).....	9
Figure 4 : Représentation schématique des trois principaux types des trois types de colonisation du cortex racinaire (Garbaye ,2013).....	10
Figure 5 : Hyphes d'un champignon mycorhizien répandus largement dans le sol (Egli et Brunner, 2002)	12
Figure 6 : Morphologie générale de <i>Zizyphus lotus</i> (Mekla, 2015).....	14
Figure 7 : Aire de répartition de <i>Z. lotus</i> dans le monde (points jaunes) (Anonyme 1)	16
Figure 8 : Situation géographique de la station d'étude Mekla en Algérie dans la wilaya de Tizi-Ouzou Source : Google map.....	18
Figure 9 : Station d'échantillonnage (Mekla 2015)	19
Figure 10 : passage des échantillons de sol rhizosphérique à travers une batterie de tamis au laboratoire de génie civile.....	20
Figure 11 : tarières contenant les spores isolées du sol rhizosphérique de <i>Zizyphus lotus</i> à travers la batterie de tamis	21
Figure 12 : Sol rhizosphérique de <i>Z. lotus</i>	22
Figure 13 : Echantillon de racines <i>Z. lotus</i>	22
Figure14 : Dépouillement des racines de <i>Z. lotus</i> au laboratoire	23
Figure15 : Lavage et tri des racines de <i>Z. lotus</i> au laboratoire	23
Figure 16 : Trois types de sclérotés fongiques remplissant des cellules corticales racinaires Gx 40 racinaires	26
Figure 17 : Sclérote présentant des zébrures caractéristiques, observé au microscope photonique au GX40	26
Figure 18 : Différents morphotypes de spores isolés à partir de la rhizosphère de <i>Z. lotus</i> de la station.....	27
Figure 19 : Différents morphotypes de spores isolées à partir de la rhizosphère de <i>Z. lotus</i>	29

Figure 20 : structure anatomique d'une endomycorhize VA de type intermédiaire	32
Figure 21 :Endomycorhize de <i>Z. lotus</i> de type intermédiaire.....	33

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau1 : Tableau récapitulatif des caractéristiques morphologiques des huit types de symbiose mycorhizienne. (Garbaye ,2013).....	5
Tableau 2 : caractéristiques bioclimatiques et floristiques du site d'étude (Mekla	19
Tableau 3 : Caractéristiques physico-chimiques du sol du site d'étude	25
Tableau 4 : Principales caractéristiques (forme et diamètre approximatif) des différents types des spores et leur identification.....	30
Tableau 5 : Potentiel infectieux du sol de Mekla.....	30
Tableau 06 : Abondance, densité et taille des spores dans le sol rhizosphérique de <i>Z. lotus</i> provenant de la région de Mekla	31
Tableau 7 : Diversité morphologique et abondance relative des spores de CMA.....	31
Tableau 8 : Quantification des MA de <i>Z.lotus</i> dans la station de Mekla	34

Sommaire

Introduction.....	1
1. Définition	3
2. Différents types de mycorhizes.....	3
2.1. Les endomycorhizes	6
2.1.1. Formation de l'endomycorhize à arbuscule et vésicule.....	7
2.1.2. Cycle de vie d'un champignon endomycorhizien AM.....	9
2.1.3. Morphologie des endomycorhizes arbusculaires.....	9
3. Avantages de l'association mycorhizienne.....	10
3.1. Absorption des éléments minéraux	10
3.2. Amélioration de la nutrition phosphatée.....	11
3.3. Protection contre les polluants.....	12
3.4. Résistance aux maladies	13
Chapitre II : étude bibliographique de la plante hôte	
1. Présentation de la plante hôte <i>Zizyphus lotus</i>	14
1.1. Description botanique	14
1.2. Habitat.....	14
1.3. Classification botanique.....	15
1.4. Synonyme.....	15
1.5. Dénomination vernaculaire	15
1.6. Répartition géographique.....	15
2. Propriétés de <i>Z. lotus</i>	16
2.1. Activités anti-inflammatoires et analgésiques	17
2.2. Activités antifongiques et anti-mollusques.....	17
2.3. Activités anti-ulcérogéniques.....	17
2.4. Autres activités.....	17
Chapitre III : Matériel et méthodes	

I. Statut mycorhizien de <i>Zizyphus lotus</i>	18
1. Description de la station d'étude et analyse du sol	18
1.1.1. Site d'étude	18
1.2. Echantillonnage et extraction des spores de CMA	20
1.3. Abondance relative des spores.....	21
1.4. Description morphologique des spores isolées	22
II. Statut mycorhizien et cytologique de <i>Z. lotus</i>	22
II.1. Prélèvement des racines	22
II.2. Tri et conservation des racines	23
II. 3. Etude des racines mycorhizées par la méthode d'écrasement des racines.....	23
II.4. Montage.....	23
II.5. Estimation de la fréquence d'endomycorhization	24
Chapitre XI : Résultats et discussion	
1. Caractéristiques physico-chimiques du sol.....	25
2. Isolement et essai d'identification des spores de CMA.....	27
2.1. Description morphologique des spores de CMA isolées au niveau du site de Mekla.....	28
2.2. Abondance relative des spores appartenant aux différents genres de champignons endomycorhiziens.....	30
2.3. Diversité et abondance des communautés de spores de CMA au niveau de <i>Z. lotus</i>	31
3. Associations symbiotiques chez un peuplement naturel de <i>Z. lotus</i>	31
3.1. Associations symbiotiques de <i>Zizyphus lotus</i> à l'état naturel	33
3.1.1. Statut mycorhizien et cytologique	33
3.1.2. Quantification des mycorhizes associés aux racines <i>Z. lotus</i>	34
Conclusion	38
Références bibliographique	39

Annexes

Introduction

Introduction :

Les champignons mycorrhiziens, éléments de la population de microorganismes de la rhizosphère, sont incapables de photosynthèse et sont complètement dépendants, pour les substances carbonées, de la plante qu'ils colonisent. Ils fournissent en retour de l'azote, du phosphore et d'autres substances minérales qu'ils sont capables de mobiliser grâce à leurs connexions hyphales avec le sol. De ce fait la symbiose mycorrhizienne est activement étudiée pour ses effets bénéfiques sur la croissance des plantes et son rôle potentiel en agriculture forestière. Il est actuellement admis que la symbiose mycorrhizienne est une association obligatoire et à bénéfice réciproque entre une racine de plante et un champignon (Béreau *et al.*, 2003).

Il a d'ailleurs été suggéré que 80 % des espèces de plantes terrestres, 90 % des espèces de plantes vasculaires et plus de 95 % de l'ensemble des familles de plantes soient mycorrhizées. Smith et Read (1997) in Zitouni (2010).

De nombreuses études se sont intéressées essentiellement aux interactions ectomycorhiziennes, rares sont les études menées sur les relations à caractère endotrophe. Elles se sont limitées à quelques espèces telles que le Cyprès de l'Atlas l'olivier et l'eucalyptus Khelfen Goucem (2000); Sidhoum (2011); Benmazari (2012).

De même Abbas (2014) a rapporté qu'au Maroc, les études sur les interactions endomycorhiziennes se limitent à celle d'Ouahman (2007) sur le Cyprès du Tassili et l'Arganier par Nouaïm (1994).

Parmi les espèces à intérêt écologique et médicinale, les espèces du genre *Zizyphus*, à grand potentiel de sélection, représentent des exemples extraordinaires de plantes pérennes dans les zones arides et semi-arides voire même désertiques de presque tous les continents grâce à leur capacité de résistance à la sécheresse. L'aire naturelle de la majorité des jujubiers se situant entre 20° et 30° de latitude, zone caractérisée par des climats chauds et secs et où sont localisés la majorité des déserts du globe. Les jujubiers subsistent bien dans les environnements arides grâce à leurs mécanismes physiologiques et morphologiques d'adaptation (REICH, 1991; ARDNT *et al.*, 2001; CLIFFORD *et al.*, 1998). Ils jouent un rôle très important dans la conservation des sols grâce à leurs systèmes racinaires profonds et vigoureux qui

permettent une stabilisation des substrats et protègent ceux-ci contre l'érosion (Laamouri et *al.*, 2008)

Notre étude rentre dans le cadre de la mise en évidence pour la première fois de la diversité et la structuration des communautés de champignon mycorhizien arbusculaire endogènes associés à la rhizosphère de *Zizyphus lotus* dans un sol d'une friche à Mekla en Kabylie dans la wilaya de Tizi Ouzou.

Cette étude est scindée en trois parties.

La première est consacrée à une revue bibliographique relative au phénomène de mycorhization et à la plante hôte *Zizyphus lotus*. La deuxième partie développe le matériel et méthodes utilisés pour l'étude de l'association mycorhizienne de *Zizyphus lotus*. Dans la troisième partie sont présentés les résultats et leur discussion et enfin une conclusion clos notre travail.

Chapitre 1

1. Définition

Les mycorhizes (du grec : mukes : champignon, rhiza : racine) sont des organes mixtes formés par des racines et des champignons du sol. En réalité, ces associations, impliquées dans l'absorption des éléments minéraux du sol, sont très fréquentes et se trouvent non seulement dans les racines de près de 90% des plantes à fleurs, mais également dans les organes souterrains de nombreux Bryophytes et Ptéridophytes. Ces associations symbiotiques sont généralement mutualistes (Duhoux et Nicole, 2004). Les champignons (hétérotrophes) fournissent des éléments minéraux à la plante (autotrophe), en échange de molécules carbonées issues de la photosynthèse. Cette colonisation est mutualiste, spécifique, durable et à bénéfices réciproques entre le mycélium des champignons et les racines des plantes (Maunoury, 2010).

2-Différents types de mycorhizes

Il existe sept types de mycorhizes classés selon leur écologie, leur morphologie et leur structure : les mycorhizes à vésicules et à arbuscules ou mycorhizes à arbuscules (MA), les ectomycorhizes (ECM), les ectendomycorhizes, les mycorhizes arbutoïdes, monotropoïdes, éricoïdes et orchidoïdes (Dechamplain, 2002). Garbay(2013) quant à lui en distingue huit types résumés dans la figure 1. Leurs principales caractéristiques sont groupées dans le tableau 1.

Dans cette présente étude nous ne détaillerons que le cas des endomycorhizes.

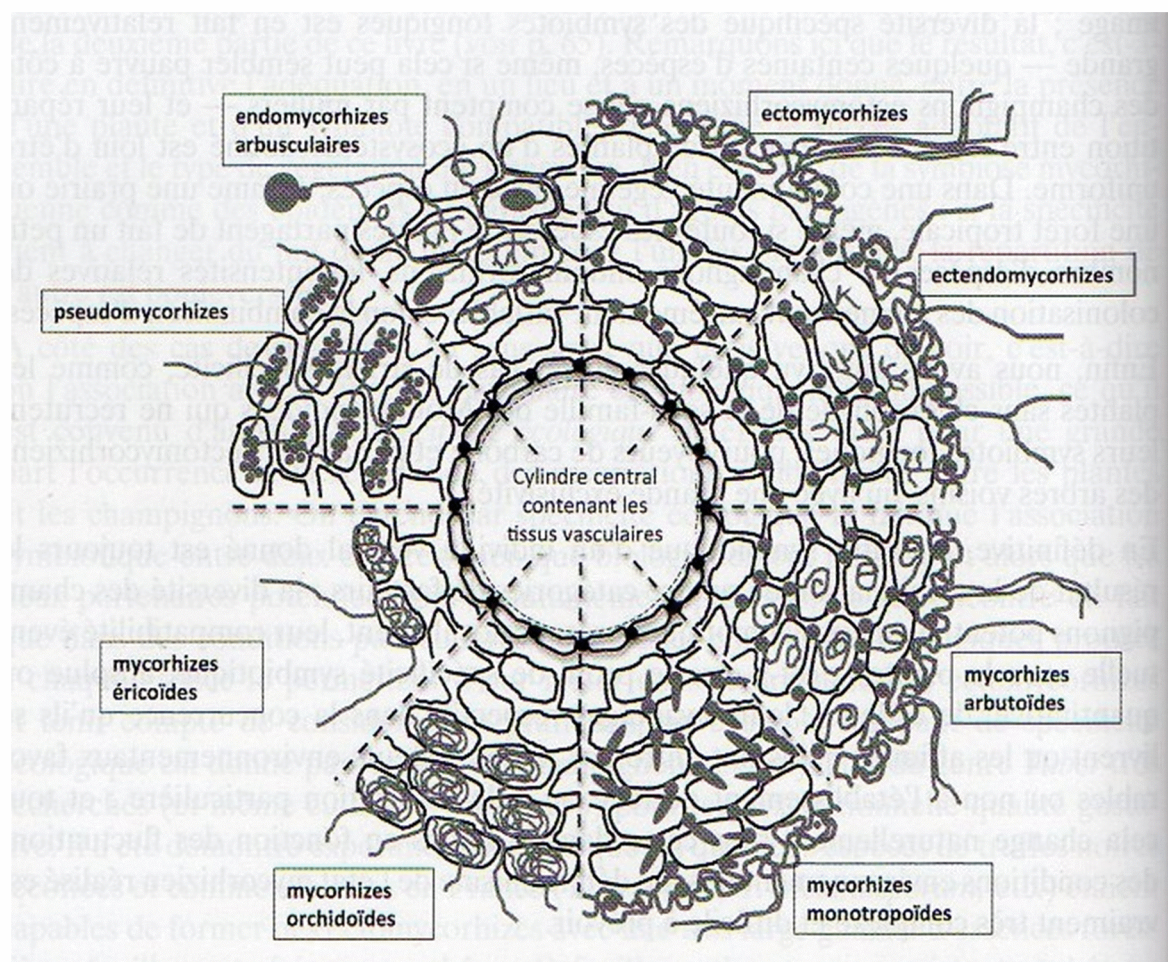


Figure1 : Représentation schématique des sections transversales des huit types de mycorhizes.(Garbaye,2013).

Tableau 1 : Tableau récapitulatif des caractéristiques morphologiques des huit types de symbiose mycorhizienne. (Garbaye ,2013).

Types de symbiose mycorhizienne	Groupes de plantes concernés	Groupe de champignons dominants	Présence d'un manteau fongique	Morphologie du mycélium externe	Présence d'un réseau de Hartig	Colonisation intracellulaire
Ectomycorhizes	Certaines Gymnospermes et Angiospermes	Ascomycètes et Basidiomycètes	Oui	Très diverse : filaments isolés, mèches, cordons, rhizomorphes	Oui	Non
Ectendomycorhizes	Certaines Pinacées (Gymnospermes)	Ascomycètes	Facultatif	Filaments isolés	Oui	Oui (filaments ramifiés)
Mycorhizes arbutoïdes	Ericacées (tribus des <i>Arbutoideae</i> et <i>Pyroloideae</i>)	Basidiomycètes	Facultatif	Filaments isolés ou mèches	Oui	Oui (spires)
Mycorhizes monotropoïdes	Ericacées (tribus des Basidiomycètes <i>Monotropoideae</i>)	Basidiomycètes	Oui	Filaments isolés ou mèches	Oui	Oui (doigts)
Mycorhizes orchidoïdes	Toutes les orchidées	Basidiomycètes	Non	Filaments isolés	Non	Oui (peletons)
Mycorhizes éricoïdes	Autres Ericacées et certaines Bryophytes	Ascomycètes	Non	Filaments isolés	Non	Oui (peletons)
Pseudo mycorhizes à endophytes brun cloisonné	Tous les groupes de plantes terrestre	Ascomycètes	Non	Filaments isolés	Non	Oui
Endomycorhizes arbusculaires	Presque tous les groupes de plantes terrestres	Gloméromycètes	Non	Filaments isolés	Non	Oui (arbuscules, spires, vésicules)

2.1. Les endomycorhizes

Les champignons impliqués dans ce type, sont des colonisateurs internes. Ces mycorhizes ne comprennent ni manteau fongique, ni réseau de Hartig, mais seulement des hyphes intercellulaires qui pénètrent la racine et se répartissent entre et à l'intérieur des cellules du cortex pour former une structure d'échange, entre la plante et le champignon (Dommergues et *al.*, 1999).

Les endomycorhizes sont extrêmement fréquentes sous toutes les latitudes et dominant dans les régions tropicales. Elles concernent plus de 90 % des plantes, des espèces herbacées, mais aussi des espèces ligneuses ainsi que des hépatiques et des anthocérotes (deux groupes de végétaux proches des mousses). Curieusement, du côté du partenaire fongique, seulement quelque 250 espèces, qui appartiennent tous à l'embranchement des Glomeromycota, sont impliquées dans ce type de symbiose. Ces champignons n'ont pas de reproduction sexuée connue et ne produisent pas de sporophores. De plus, il n'est pas possible de les cultiver seul sur des milieux synthétiques, car ils ne peuvent se nourrir que sur les racines, ce qui rend leur étude en laboratoire particulièrement difficile. En revanche, ils produisent en abondance de grosses spores (100 μm et plus de diamètre) dans le sol (Silar et Malagnac, 2013).

Les principales divisions de population de Glomeromycètes sont synthétisées ci-dessous conformément aux clés de détermination élaborées par Morton et Benny (1990) et Schussler Walker et (2010) :

Phylum Glomeromycota

Classe des Glomeromycetes

Ordre des Glomerales

Famille Glomeraceae

Genre *Glomus*

Ordre des Diversisporales

Famille Diversisporaceae

Genre *Diversispora*

Famille Acaulosporaceae

Genre *Entrophospora*Genre *Acaulospora*

Famille Gigasporaceae

Genre *Gigaspora*Genre *Scutellospora*

Famille Pacisporaceae

Genre *Pacispora*

Ordre des Archaeosporales

Famille Archaeosporaceae

Genre *Archaeospora*

Ordre des Paraglomerales

Famille Paraglomaceae

Genre *Paraglomus***2.1.1. Formation de l'endomycorhize à arbuscule et vésicules**

D'après Gaveriaux (2012) lorsqu'une racine rencontre au cours de sa croissance, les hyphes du sol, issues d'une germination récente, les hyphes sont comme attirées. Elles viennent se placer le long de la racine. Des contacts s'établissent, de petits gonflements apparaissent, ils correspondent à des appressoriums à partir desquels les hyphes vont pénétrer dans la partie externe de la racine en passant entre les cellules de l'épiderme et du cortex. Les hyphes vont pouvoir se développer, se ramifier, coloniser les racines. Cette communication est possible grâce aux strigolactones, libérées par la plante. Après l'entrée des hyphes dans le cortex, elles vont se ramifier en dichotomie en donnant des hyphes ayant un diamètre de plus en plus petits ; à partir d'une hyphe initiale. L'ensemble de ces ramifications forme un petit arbre d'où le terme d'arbuscule. Après le développement des arbuscules, des

hyphes commencent à se renfler à certains endroits de leur parcours ou à leur extrémité pour donner des espaces de stockage qui permettront la mise en réserve de diverses substances : lipides, tri-acylglycérol.... Ces structures sont les vésicules qui peuvent être inter ou intracellulaires (Palenzuela et Barea, 2002). (Fig 2).

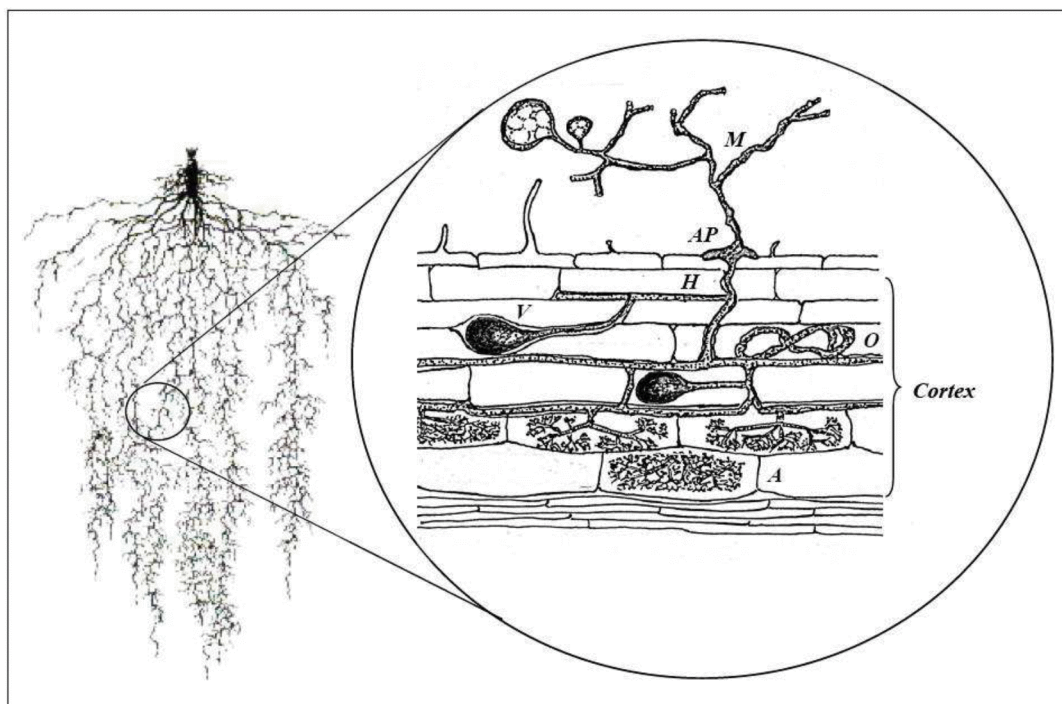


Figure2 : Anatomie des MA. Abréviations: A : Arbuscule; AP: Appressorium; S: Spore; H : Hyphe intracellulaire ; M : Mycélium extra-racinaire ; V : Vésicule (Palenzuela et Barea, 2002).

2.1.2. Cycle de vie d'un champignon endomycorhizien AM

Le cycle de vie d'un champignon endomycorhizien AM comporte plusieurs phases résumées dans la figure 3 :

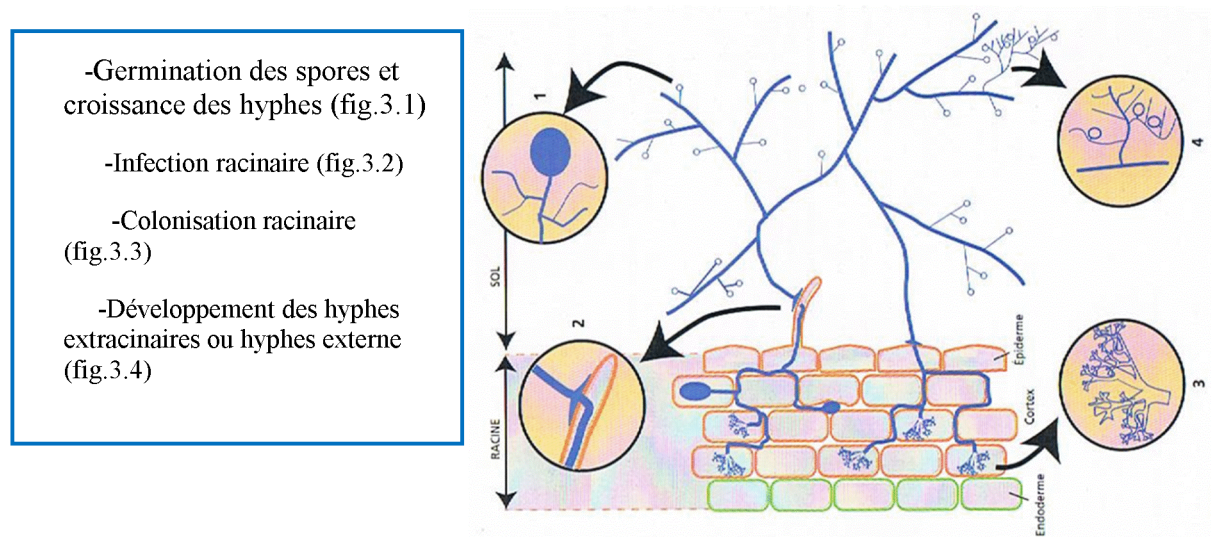


Figure 3 : Cycle d'un champignon endomycorhizien AM (Duhoux et Nicole, 2004).

2.1.3. Morphologie des endomycorhizes arbusculaires

Deux types d'organisation d'endomycorhizes arbusculaires nommés Paris et Arum ont été définis et résumés ci-dessous :

Dans le type Arum, le filament mycélien se ramifie et s'étend rapidement dans la direction longitudinale de la racine en progressant entre les assises cellulaires (fig.4.).

Il émet des branches latérales qui pénètrent dans les cellules en traversant la paroi cellulosique et s'y ramifient dansent, en repoussant et invaginant la membrane (fig.4.).

C'est le résultat de cette hyper ramification, qui ressemble à un petit arbre (arbuscule) qui donne son nom à cette forme de symbiose mycorhizienne.

Dans le type Paris, le plus fréquent, le filament mycélien ne chemine pas entre les cellules. Il passe de l'une à l'autre traversant les parois et s'enroule sur lui-même en faisant plusieurs spires à l'intérieur de chaque cellule. (Fig .4)

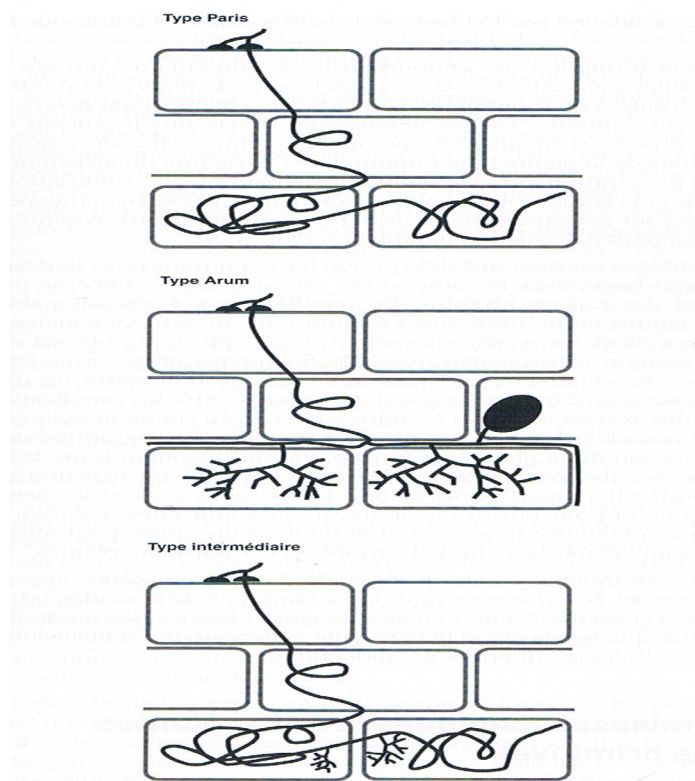


Figure 4 : Représentation schématique des trois principaux types de colonisation du cortex racinaire par les Glomeromycètes formant des endomycorhizes à arbuscules. Les parois de trois assises de cellules corticales sont présentées en gris, la surface de la racine se trouvant vers le haut de la figure. Le champignon est représenté par un trait gras noir. En haut : type Paris typique, avec un mycélium continu et non ramifié progressant de cellule en cellule dans lesquelles il forme des spires. Au milieu : type Arum typique, le mycélium progressant entre les cellules et formant des branches latérales portant des arbuscules. En bas type mixte Garbaye (2013).

3. Avantages de l'association mycorhizienne

Il a été démontré que la colonisation des racines par des champignons mycorhiziens améliore la croissance et la productivité de plusieurs plantes en augmentant généralement l'absorption d'éléments nutritifs (Smith et Read, 2008).

3.1. Absorption des éléments minéraux

L'absorption des éléments nutritifs constitue la toute première fonction attribuée aux mycorhizes. Notamment l'absorption des éléments peu mobiles du sol, comme le phosphore et le zinc. Cette efficacité accrue des plantes mycorhizées à absorber les éléments nutritifs du sol vient d'abord de l'augmentation de la surface de contact entre le mycélium fongique et la solution du sol. Pour les éléments mobiles tels que le

potassium ou l'azote, la racine y'a accès facilement. Mais dans le cas du phosphate et du zinc ces éléments se fixent facilement à d'autres substances, ce qui les prive de leur mobilité, la racine doit alors aller au-devant de ces éléments minéraux en développant un système racinaire de plus en plus important. L'énergie utilisée pour développer ces abondantes racines priverait alors les autres parties de la plante de précieuses ressources utiles, notamment à leur croissance et leur reproduction. Le réseau mycélien de la rhizosphère solutionne le problème. En effet, les champignons mycorhiziens, surtout arbusculaires, excellent à générer un maximum de surface d'absorption en utilisant un minimum d'énergie (Fortin et *al.*, 2008).

3.2. Amélioration de la nutrition phosphatée

De façon générale, les plantes mycorhizées accumulent plus de phosphore que les plantes non mycorhizées. Cette accumulation est due à une absorption par le champignon puisqu'elle disparaît par l'application d'un fongicide. Le phosphore est stocké dans les structures fongiques sous forme de polyphosphates, il est ensuite transféré à la plante au niveau arbusculaire (Gianinazzi -Pearson et Gianinazzi, 1986).

Les racines mycorhizées absorbent les éléments minéraux à de faibles concentrations et de façon plus importante par unité de longueur racinaire. Les hyphes extra-racinaires sont capables de prélever le phosphore bien au-delà de ce qui serait d'épuisement des racines seules et assure, sa translocation au cortex de la racine hôte (Sanders et Tinker, 1971). L'amélioration de la nutrition phosphatée est donc essentiellement due à une absorption plus efficace des ions de la solution du sol grâce à une grande exploration du milieu par les hyphes extra-racinaires (Sanders et *al.*, 1977). Cette absorption active le renouvellement de la solution du sol à partir d'ions phosphate plus ou moins fixés. Le pouvoir fixateur des sols n'est pas un facteur limitant de la croissance quand les plantes sont mycorhizées et l'efficacité relative des mycorhizes est d'autant plus grande que le pouvoir fixateur est élevé.

Enfin, quelques auteurs ont suggéré que, grâce aux hyphes fongiques, les racines mycorhizées pourraient avoir accès au phosphore de la matière organique (Jayachandran et *al.*, 1992). Étant donné que les hyphes se répandent largement dans les sols, la surface d'absorption est beaucoup plus grande que celle occupée par les poils absorbants des plantes non mycorhizées (Egli et Brunner, 2002) (fig.4).



Figure 5: Hyphes d'un champignon mycorhizien répandus largement dans le sol (Egli et Brunner, 2002).

3.4. Protection contre les polluants

Les mycorhizes protègent aussi l'arbre des effets toxiques des polluants. Depuis le début de l'industrialisation au 19^e siècle, les émissions de polluants contiennent entre autres des métaux lourds qui se déposent aussi en forêt. Si certains de ces éléments, tels le fer, le zinc ou le cuivre, sont indispensables à la plante, d'autres sont toxiques, comme le plomb, le cadmium, le nickel, le mercure ou le chrome. Les métaux lourds n'étant pas décomposables, ils s'accumulent dans la biosphère et constituent ainsi un danger croissant pour les organismes vivants. Mais une partie des champignons mycorhiziens y résistent particulièrement bien, même lorsque leurs teneurs dans le sol sont élevées. Tout comme l'aluminium, certains métaux lourds se fixent dans le mycélium; on les trouve dans les granules de polyphosphates, à l'intérieur des cellules, sur les parois et noyaux cellulaires ainsi que dans des protéines spéciales. Chez les plantes ectomycorhizées, ils sont retenus dans le manteau fongique et ils ne parviennent à la racine de la plante qu'en quantités réduites. Ici, la mycorhize est comparable à un filtre. Ces métaux lourds s'accumulent dans les fructifications du

champignon, au risque de rendre les champignons comestibles impropres à la consommation (Egli et Brunner, 2002).

3.5. Résistance aux maladies

De nombreux chercheurs ont découvert que, parfois, la présence du champignon endomycorhizien procure une meilleure résistance envers les pathogènes racinaires. En effet, une plante ayant une meilleure nutrition minérale est souvent plus résistante envers les pathogènes. De part l'absorption accrue d'éléments minéraux, les racines mycorhizées peuvent aussi compenser les pertes de racines causées par le pathogène (Linderman, 1994). La rhizosphère subit aussi d'importants changements, entraînant des modifications des populations bactériennes pouvant favoriser la plante (Meyer et Linderman, 1986). Par ailleurs, comme bien souvent le champignon mycorhizien et le pathogène occupent les mêmes sites dans la racine. Une compétition s'établit entre eux, autant pour l'espace que pour la nourriture (Cordier et *al.*, 1996). Ces divers mécanismes peuvent donc entraîner une meilleure résistance envers les pathogènes.

Les champignons endomycorhiziens peuvent aussi jouer un rôle éliciteur important. Il faut en effet considérer que lors des premières phases de l'établissement de la symbiose, le champignon mycorhizien attaque la plante enzymatiquement afin de pénétrer jusqu'à travers la paroi primaire. Cette agression entraîne l'activation de divers mécanismes de défense chez la plante (Volpin et *al.*, 1995).

Chapitre 2

1. Présentation de la plante hôte *Zizyphus lotus*

1.1. Description botanique

Zizyphus lotus (jujubier) est un arbuste fruitier, épineux ne dépassant pas 2,5m (Ozenda ,2004). C'est un arbrisseau à feuilles caduques, de 1 à 3 m de haut, très épineux. Les branches sont gris –blanc poussant en zigzag, entrelacées. Les feuilles sont alternes, plus ou moins elliptiques, de 1 à 2 cm de long, 7 mm de large, un peu coriaces, brillantes dessus. Elles présentent 3 nervures nettes. Les stipules transformées en une épine courbe et une épine droite. Les fleurs sont groupées par 5, androgynes, petites, jaunes en pseudo-ombelles petites aux aisselles des feuilles. Les sépales ouverts en étoiles et les pétales sont petits. L'ovaire est supère. Le fruit est une drupe brun-jaune, plus ou moins sphérique, de 1 à 1,5 cm de long, comestible mais de goût fade.



Figure 6: Morphologie générale de *Zizyphus lotus* (Mekla, 2015)

1.2. Habitat

Zizyphus lotus affectionne les collines sèches, pierreuses, de préférence sur des supports calcaires (Bayer et *al.*, 1990).

1.3. Classification botanique

Z. lotus appartient à la famille des Rhamnacées sa position systématique selon Cronquist, (1981) est la suivante :

Règne	Plantae
Sous- règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous- classe	Rosidae
Ordre	Rhamnales
Famille	Rhamnaceae
Sous- famille	Paliureae
Genre	<i>Zizyphus</i>
Espèce	<i>Zizyphus lotus</i>

1.4. Synonymes

Zizyphus vulgari s'est également appelé le Jujubier de Berbérie,
Zizyphus sylvestris, *Zizyphus parcifolia* (CATOIRE et al., 1999)

1.5. Dénomination vernaculaire

Les principales dénominations de *Zizyphus lotus* sont :

Les français le nomment jujubier, Zizyphus lotus ou jujubier sauvage (Bellakhdar, 1997 ; BABA AISSA, 1999). En Arabe, il est nommé, Sedra (est cité dans le CORAN), Azar, N'beg (pour le fruit) (Bellakhdar, 1997 ; BABA Aissa ,1999). En Berbère, Tazuggwart (Bellakhdar, 1997).

1.6. Répartition géographique

Dans le monde, le genre *Zizyphus* renferme environ 50 espèces des régions tropicales et subtropicales des deux hémisphères. L'une d'entre elles, *Zizyphus lotus*, est spontanée dans le sud de l'Espagne et du Portugal, en Sicile et en Grèce (Bross

,2000). Elle se rencontre aussi dans les steppes désertiques d'Afrique du Nord et Asie Mineure (Paris et Dillemann ,1960).

Z. lotus est répandu dans toute l'Algérie sauf dans le Tell Algéro-constantinois (Quezel et Santa, 1962).

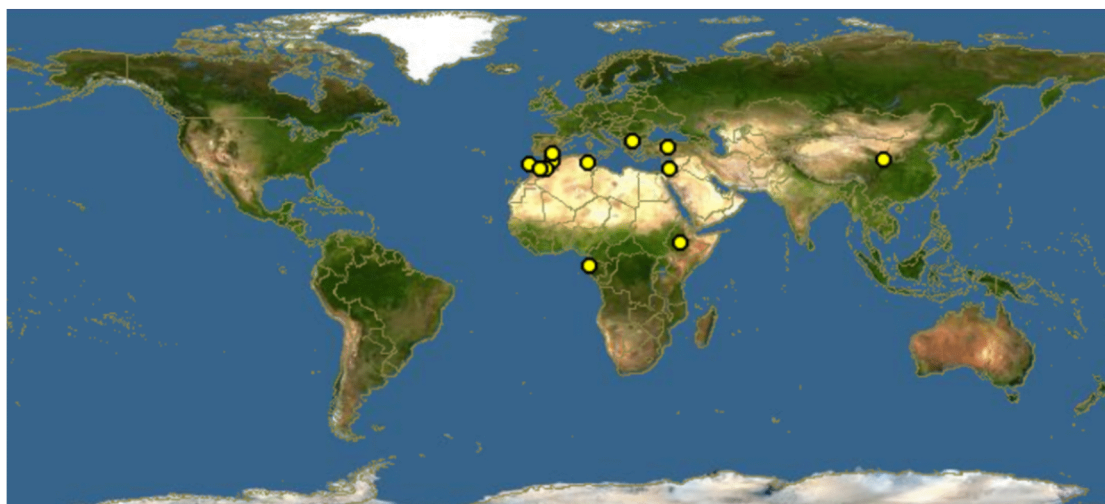


Figure 7 : Aire de répartition de *Z. lotus* dans le monde (points jaunes) (Anonyme 1)

D'autres espèces de *Zizyphus* existent à travers le monde, les plus connues sont :

Zizyphus muroconata Wild (Malgras, 1992 ;Boullard, 2001).

Zizyphus spina christi (L) Willd (Baba Aissa, 1999 ; Boullard, 2001).

Zizyphus saharae Batt (Baba Aissa, 1999).

Zizyphus spinosa (Iserien, 2001).

Zizyphus jujube Mill. (Dobignard et al, 2013).

Zizyphus mauritiana Lam. (Dobignard et al. ,2013).

2. Propriétés de *Z. lotus*

Z. lotus est caractérisé par différentes vertus thérapeutiques rapportées par de nombreux auteurs.

2.1. Activités anti-inflammatoires et analgésiques

Les flavonoïdes et les saponines de l'écorce des racines de *Z. lotus* ont montré une activité anti-inflammatoire significative (Borgi et Chouchane, 2006). *Z. lotus* inhibe la production de monoxyde d'azote (NO). Cette activité apparaît potentiellement avec l'extrait méthanolique de l'écorce des racines qui est la source possible de l'agent anti-inflammatoire dans la réaction de l'hypersensibilité retardée induite paroxazolone (Borgi et *al.*, 2008).

Les feuilles de *Zizyphus lotus* possèdent des effets analgésiques attribués à leur contenu en principes actifs : les flavonoïdes et les saponines (Borgi et *al.*, 2007 . Borgi et *al.*, 2008).

2.2. Activités anti-fongiques et anti-mollusques

Les différents extraits (éthéré, chloroformique, extrait d'acétate d'éthyle et méthanolique) de *Z. lotus* se sont avérés très actifs *in vitro* vis-à-vis de neuf souches des champignons pathogènes et des mollusques comme *Balimus truncatus* (hôtes intermédiaire et vecteur de la transmission de la bilharziose) (Lahlou et *al.* , 2002).

2.3. Activités anti-ulcérogéniques

Les feuilles et l'écorce des racines de *Zizyphus lotus* possèdent une importante activité antiulcérogénique attribuée à la présence des tanins et des flavonoïdes connus par leur effets gastro protecteur (Borgi et *al.* , 2007).

2.4. Autres activités

Les fruits de *Zizyphus lotus* sont décrits comme adoucissant, et entrent dans le traitement de la gorge et les irritations broncho-pulmonaires. De même, la poudre des feuilles sèches et des fruits est appliquée dans le traitement des furoncles (Borgi et *al.* , 2007(a)). D'ailleurs l'écorce des racines de *Z. lotus* est utilisée dans la médecine traditionnelle dans le traitement du diabète (Ghedira et *al.* , 1995).

Chapitre 3

Matériel et méthodes

Dans ce chapitre nous commencerons par décrire, en premier lieu la station d'étude et par la suite les différentes méthodes utilisées pour quelques analyses physico-chimique du sol d'une part et d'autre part la description des spores et des mycorhizes associées à la rhizosphère de *Zizyphus lotus* de la station de MEKLA dans la wilaya de Tizi-Ouzou.

I. Statut mycorhizien de *Zizyphus lotus*

1. Description de la station d'étude et analyse du sol

1.1.1. Site d'étude

La daïra de MEKLA est située à environ 24 km de la wilaya de Tizi-ouzou. Elle a une superficie de 64,71 km² (Fig. 7).



Figure 8 : Situation géographique de la station d'étude Mekla en Algérie dans la wilaya de Tizi-ouzou (Google map).

Les caractéristiques bioclimatiques et floristiques de cette station sont représentées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Caractéristiques bioclimatiques et floristiques du site d'étude (Mekla).

Station	Caractéristiques floristiques	Alt (m)	M (C°)	M (C°)	P (mm)	Q2	Bioclimat
Mekla (Wilaya de Tzi-ouzou)	Pelouses d'herbacées limitrophe d'un champ d'olivier (<i>Oleauropea</i>)	300	30	4.7	1210	163.9	Humide tempéré



Figure 9 : Station d'échantillonnage (Mekla 2015).

Nous avons collecté et analysé au laboratoire 5 échantillons de sol de 500g chacun prélevés à proximité du système racinaire de 5 arbres de *Z.lotus* à 20 cm de profondeur. Les échantillons de sol ainsi récoltés le 5 mai 2015 ont été homogénéisés pour obtenir un échantillon représentatif. Les paramètres physico-chimiques évalués sont :

- Le pH, mesuré à l'aide d'un pH mètre après saturation du sol à 2,5.
- La granulométrie, déterminée par tamisage du sol séché à l'air libre.
- Le phosphore total, évalué après transformation en orthophosphates.

Les détails techniques utilisés figurent respectivement en annexes 1.

I.2. Echantillonnage et extraction des spores de CMA

Pour l'isolement des spores du sol prélevé des racines de *Ziziphus lotus*, nous avons utilisé la méthode de tamisage humide de Gerdeman et Nicolson (1963). Elle s'effectue directement sur les échantillons prélevés sur le terrain. Une quantité de 50 g de chaque échantillon de sol est mise dans 500ml d'eau de robinet. Le mélange est agité longuement pour l'homogénéisation puis laisser au repos pendant 1mn. Ensuite il est passé à travers une série de tamis de maille 500 μ m, 250 μ m, 125 μ m, 80 μ m, 63 μ m, disposés respectivement l'un au-dessus de l'autre dans l'ordre ci-dessus mentionné (Fig.10).



Figure 10 : Passage des échantillons de sol rhizosphérique à travers une batterie de tamis au laboratoire de L G E A (laboratoire de Géométrie, Environnement et Aménagement).

Les suspensions des 4 derniers tamis sont transférées chacune dans une tarière (Fig. 11). Le contenu de chaque tarière centrifugé à 2000 tours/mn pendant 5 mn. Le surnageant contenant les spores mortes est éliminé et au culot est ajoutée une solution de saccharose.

L'ensemble est centrifugé de nouveau à 500 tours/mn pendant 10mn.

Après centrifugation, le surnageant est déversé sur du papier filtre et les spores récupérées sous une loupe binoculaire à l'aide d'une pince à bords recourbés.



Figure 11 : Tarières contenant les spores isolées du sol rhizosphérique de *Ziziphus lotus* à travers la batterie de tamis.

I.3. Abondance relative des spores

La communauté de CMA de l'échantillon de sol a été estimée par comptage direct sous loupe binoculaire du nombre de spores présentes dans 100 g de sol.

L'abondance relative de chaque genre est calculée comme étant le rapport du nombre de spores de ce genre et du nombre total de spores dénombrées

$$A = n/N$$

où :

A= abondance relative.

n= nombre de spores du genre fongique considéré.

N= nombre total de spores dénombrées.

I.4. Description morphologique des spores isolées

Pour l'approche d'identification des champignons mycorhiziens à arbuscules, une dizaine de spores de chaque morphotype, ont été récupérées à partir du sol échantillonné dans la région de Mekla. Elles ont été montées entre lame et lamelle et observées au microscope optique (X40).

La détermination du genre est basée sur la classification établie par Schenk et Perez (1987).

II. Statut mycorhizien et cytologique de *Z.lotus*

II.1. Prélèvement des racines

L'échantillonnage des racines du jujubier a eu lieu le 6 mai 2015 à la station de MEKLA sur 3 arbres pris au hasard. Nous avons creusé à l'aide d'une pioche en profondeur d'environ 20 cm et récolté les racines. Celles-ci ont été gardées dans le sol, puis mises dans des sacs en plastique étiquetés et transportés au laboratoire (Fig.13 et 12). Parallèlement du sol non rhizosphérique loin de toute influence racinaire (sol témoin) est également récolté et analysé.



Figure 12 : Sol rhizosphérique
de *Z. lotus*



Figure 13 : Echantillon de racines de
Z.lotus

Au laboratoire les racines sont séparées délicatement de leur support (sol) puis elles sont mises dans de l'eau et nettoyées soigneusement à l'aide d'un pinceau.

II.2. Tri et conservation des racines



Figure14 : Dépouillement des racines *Z. lotus* au laboratoire



figure15 : Lavage et tri des racines de *Z.lotus*

Elles sont ensuite conservées dans du FAA (Formol-Acide acétique- Alcool) dont la Composition est donnée en annexe 2.

II.3. Etude des racines mycorhizées par la méthode d'écrasement des racines

La méthode utilisée est celle de Guizon et Selosse (2010). Les racines prélevées de la solution de conservation (FAA) sont coupées à une longueur de 1 à 2cm et mises dans des tubes à essais avec une solution de KOH (hydroxyde de potassium) à 10 % et chauffées au bain- marie 90°C durant 1 heure, pour vider les cellules de leurs contenus cytoplasmiques. Cette opération détruit le contenu des cellules végétales et décolore les tanins des racines ligneuses. La solution devient alors brun-rouge.

La potasse, est éliminée puis les fragments de racines sont rincés à l'eau du robinet et placés dans de l'eau acidifiée pour neutraliser la potasse.

Elles sont ensuite immergées dans du bleu trypan pendant 15 à 20 minutes puis rincées à nouveau avec de l'eau distillée.

II.4. Montage

Les fragments colorés sont montés entre lame et lamelle dans une goutte d'eau. Ils sont ensuite écrasés avec le bout arrondi d'un crayon de papier en bois.

Pour une observation directe nous avons monté les racines dans de l'eau. Celles observées plus tard sont montées dans du lactoglycérol (annexe I).

Les lames sont observées au microscope photonique, chaque fragment étant soigneusement vérifié sur toute sa longueur, au grossissement X100 puis X400.

II.5. Estimation de la fréquence d'endomycorhization

Pour évaluer l'importance de l'infection mycorhizienne nous avons opté pour le système le plus simple qui consiste à noter (+) les fragments pourvus de mycorhizes et (-) ceux qui en sont dépourvus (Plenchette et *al.*, 1989)

Des échantillons représentatifs comportant entre 30 et 100 cm de racines ont été évalués selon la méthode de Sanchez et *al.* (2007). Elle consiste à parcourir la lame dans le sens horizontal, en commençant par le premier tiers de la première racine et on note pour chaque racine s'il y'a ou non colonisation. On parcourt à nouveau la lame en partant du deuxième tiers de la racine et ainsi de suite jusqu'au troisième tiers.

L'infection a été estimée par le paramètre **fréquence de mycorhization (F)** en utilisant la formule ci-dessous :

$$F\% = [(N - n_0) / N] \times 100$$

N : Nombre de fragments observés

n_0 : Nombre de fragments sans traces de mycorhization

Trente fragments de chaque échantillon pris au hasard ont été placés par groupe de cinq sous le microscope. L'infection a été estimée par le pourcentage de nombre de fragments colonisés par CMA puis par le pourcentage de la longueur effectivement infectée de chaque fragment rapporté à sa longueur totale.

Chapitre 4

Résultats et discussion

Dans cette partie, nous exposerons en premier lieu les résultats obtenus lors de cette étude puis nous procéderons à leur discussion

Résultats

1. Caractéristiques physico-chimiques du sol

Les caractéristiques physico-chimiques du site étudié sont groupées dans le tableau 3.

Tableau 3 : Caractéristiques physico-chimiques du sol du site d'étude.

Site d'étude	pH	Argile	Limon	Sable	Phosphore assimilable (mg/100)
Mekla	7.9	35.14	38.95	25.80	1.45

La caractérisation physico-chimique du sol du site étudié (tableau 5) montre que *Z.lotus* est une essence qui repose sur un substrat alcalin, formé essentiellement de limon (38,95 %), d'argile (35,14%) et de sable (25,80%) c'est donc une texture argilo-limoneuse.

Le sol étudié a montré qu'il est caractérisé par un pH de 7.9 légèrement alcalin pauvre en phosphore assimilable 1,45.

Des sclérotés fongiques remplissant les cellules corticales racinaires ont été décelés. Leurs caractéristiques morphologiques ont permis d'en distinguer quatre types. Les uns petits ovoïdes marron claire, d'autres oranges massifs de forme ovale. le troisième type est représenté par des structures arrondies groupées en grappe de couleur marron, enfin le quatrième type de grande taille de couleur orange présentant des zébrures de couleur noire (Fig.16).

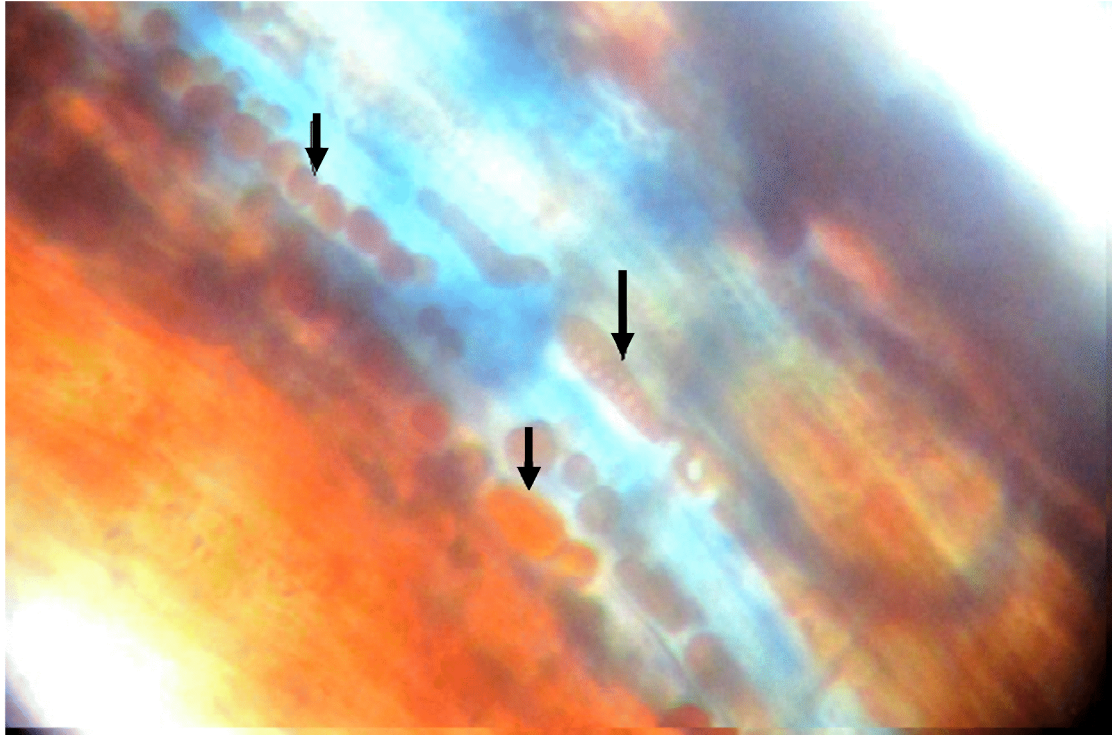


Figure 16 : Trois types de sclérotés fongiques remplissant des cellules corticales racinaires Gx 40 racinaires (flèches).

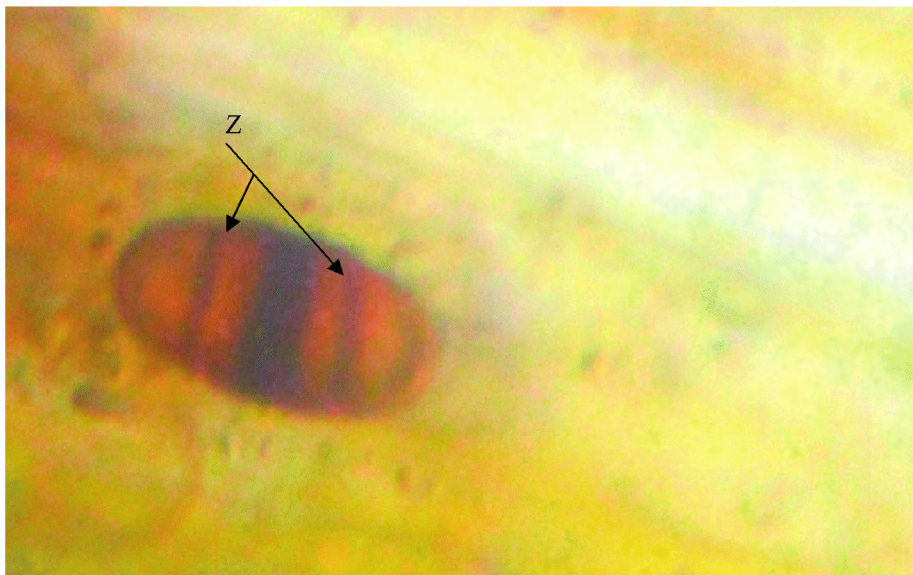


Figure 17: Sclérote présentant des zébrures caractéristiques , observé au microscope photonique au GX40.

Z : zébrure

2. Isolement et essai d'identification des spores de CMA

L'exploration de l'abondance des Glomales par les caractères morphologiques et morphométriques de leurs spores a révélé un nombre élevé (Fig. 18).

Les échantillons de spores collectées sont morphologiquement comparables aux espèces décrites dans la littérature.

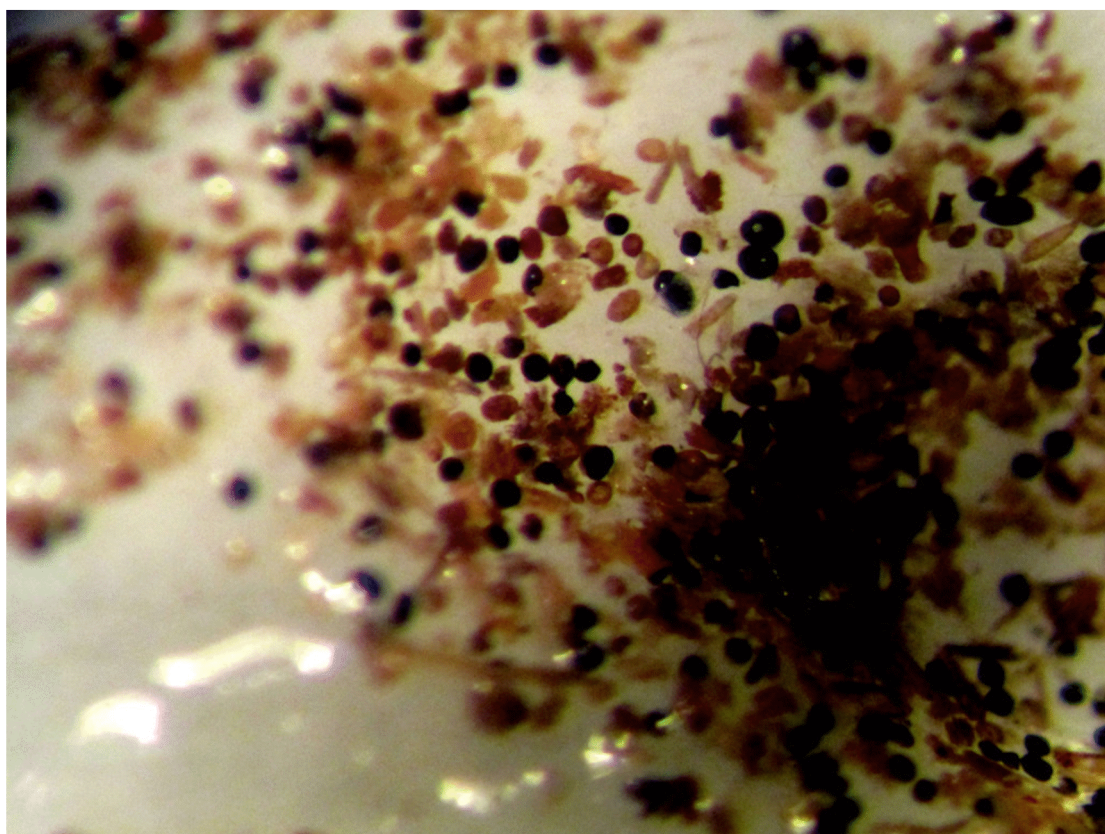


Figure 18 : Différents morphotypes de spores isolées à partir de la rhizosphère de *Z. lotus* de la station de Mekla.

L'utilisation de la clé de détermination élaborée par Schenck et Perez (1987) a permis l'identification de 10 genres dont les caractéristiques sont données pour les quatre genres les plus importants dans le cas de la mycorrhizosphère étudiées.

Gigaspora

Les spores appartenant aux espèces du genre *Gigaspora* ne présentent pas de paroi interne.

Glomus

C'est le type de spore le plus abondant qui présente une grande diversification et une large répartition dans beaucoup d'habitats dans la nature .

L'examen des spores nous a permis de rencontrer une large gamme de taille allant de 80 μm à 250 μm . La couleur peut varier du jaune pâle au jaune foncé . Elles sont circulaires ou sphériques. Le suspenseur est soit droit, courbé ou bifurqué.

Acaulospora

Très rare, ce genre de spores est de grande taille allant de 302 à 114 μm avec une forme globuleuse ou sub globuleuse. Les spores de couleur marron foncée présentent une paroi épaisse facilement destructible. Elles ont un aspect luisant et sont reliées latéralement à des saccules sporifères en position terminale elles sont sessiles dès leur formation d'où le nom du genre *Acaulospora*.

Scutellospora

Les spores ne se forment pas dans des sporocarpes. Elles ont une forme globuleuse, de couleur jaune pâle à jaune marron et une taille de 190 à 302 μm . L'hyphe d'attachement ou suspenseur est élargie à la sortie de spore et effilé par la suite.

2.1. Description morphologique des spores de CMA isolées au niveau du site de Mekla

L'examen microscopique des spores sous la loupe binoculaire à fort grossissement a montré l'existence de 12 morphotypes différents selon la couleur, la forme, la taille et le suspenseur (Fig.19).

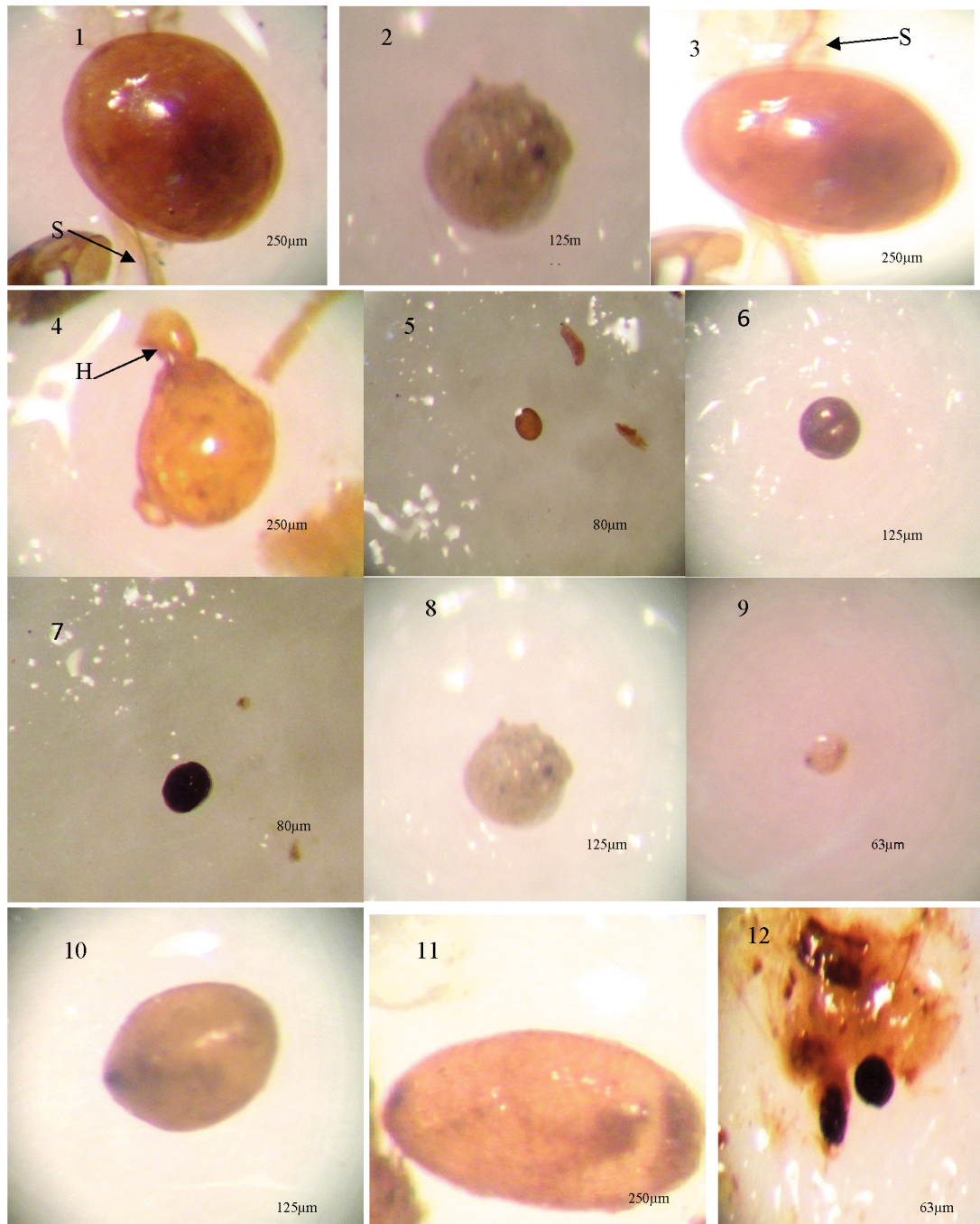


Figure 19 : Différents morphotypes de spores isolées à partir de la rhizosphère de *Z. lotus*.

S : suspenseur.

H : hyphe d'attache.

L'ensemble des caractéristiques morphologiques et morphométriques des spores est présenté dans le tableau 4.

Tableau 4 : Principales caractéristiques (forme et diamètre approximatif) des différents types des spores et leur identification.

Type	Couleur	Forme	Diamètre(=µm)	Identification
1	Brun	Sphérique, présence d'un suspenseur droit	250µm	<i>Glomus</i>
2	Brun clair à foncé	Subsphérique	63µm	<i>Glomus sp.</i>
3	Jaune	Sphérique, présence d'un suspenseur bifurqué	250 µm	<i>Glomus sp.</i>
4	Jaune orange	Irregulière, présence d'une hyphes d'attache	250 µm	<i>Gigaspora sp.</i>
5	Marron	Sphérique	80µm	<i>Glomus</i>
6	Marron foncé	Sphérique	125 µm	Non identifiée
7	Noir	Sphérique	80µm	<i>Scutellospora Gregaria</i>
8	Blanc+squames noires	Légèrement ovale	125µm	<i>Scutellospora verrucosa</i>
9	Blanc crème	Sphérique	63µm	<i>Glomus sp.</i>
10	Marron+squames noires	Ovale	125µm	Non identifiée
11	Miel	Sphérique	250 µm	<i>Acaulospora lavis</i>
12	Noir	Sphériques groupées en grappe	63µm	<i>Glomus</i>

Nous avons noté la présence du genre *Glomus*, *Gigaspora*, *Acaulospora* et *Scutellospora*.

Le genre *Glomus* est le plus fréquemment rencontré suivi du genre *Gigaspora*.

2.2. Abondance relative des spores appartenant aux différents genres de champignons endomycorhiziens

Le sol analysé a révélé la présence de 1500 spores par 100 g de sol ce qui témoigne du fort potentiel infectieux du sol étudié (tableau 5).

Tableau 5 : Potentiel infectieux du sol de Mekla.

Site	Nombre de spores /100g de sol sec
Mekla	1900

2.3. Diversité et abondance des communautés de spores de CMA au niveau de *Z. lotus*

Le nombre de spores déterminées à la fois dans le sol témoin et dans le sol rhizosphérique en même temps que leurs densités sont données dans la tableau 6.

Tableau 06: Abondance, densité et taille des spores dans le sol rhizosphérique de *Z. lotus* provenant de la région de Mekla

Spores dénombrés Taille des spores	Sol rhizosphérique	Sol témoin	Densité
] 500,250]	1000	00	20
] 250,125]	500	00	10
] 125,80]	250	00	5
] 80,63]	150	00	3

L'étude morphologique des spores rencontrées au niveau du site d'étude est resumée dans le tableau 7.

Tableau 7: Diversité morphologique et abondance relative des spores de CMA

Genre	<i>Acaulospora</i>	<i>Scutellospora</i>	<i>Gigaspora</i>	<i>Glomus</i>
Abondance relative	13,15 %	7,89 %	21,05 %	57,89%

3. Associations symbiotiques chez un peuplement naturel de *Z. lotus*

Un important cortège endomycorhizien a été observé dans les racines de *Z. lotus*.

L'analyse microscopique des racines de *Zizyphus lotus* a montré que cette espèce est naturellement infectée par des CMA et aucune présence d'ectomycorhizes n'a été observée. L'organisation cytologique des racines mycorhizées observées au microscope optique est illustrée par la figure 20.

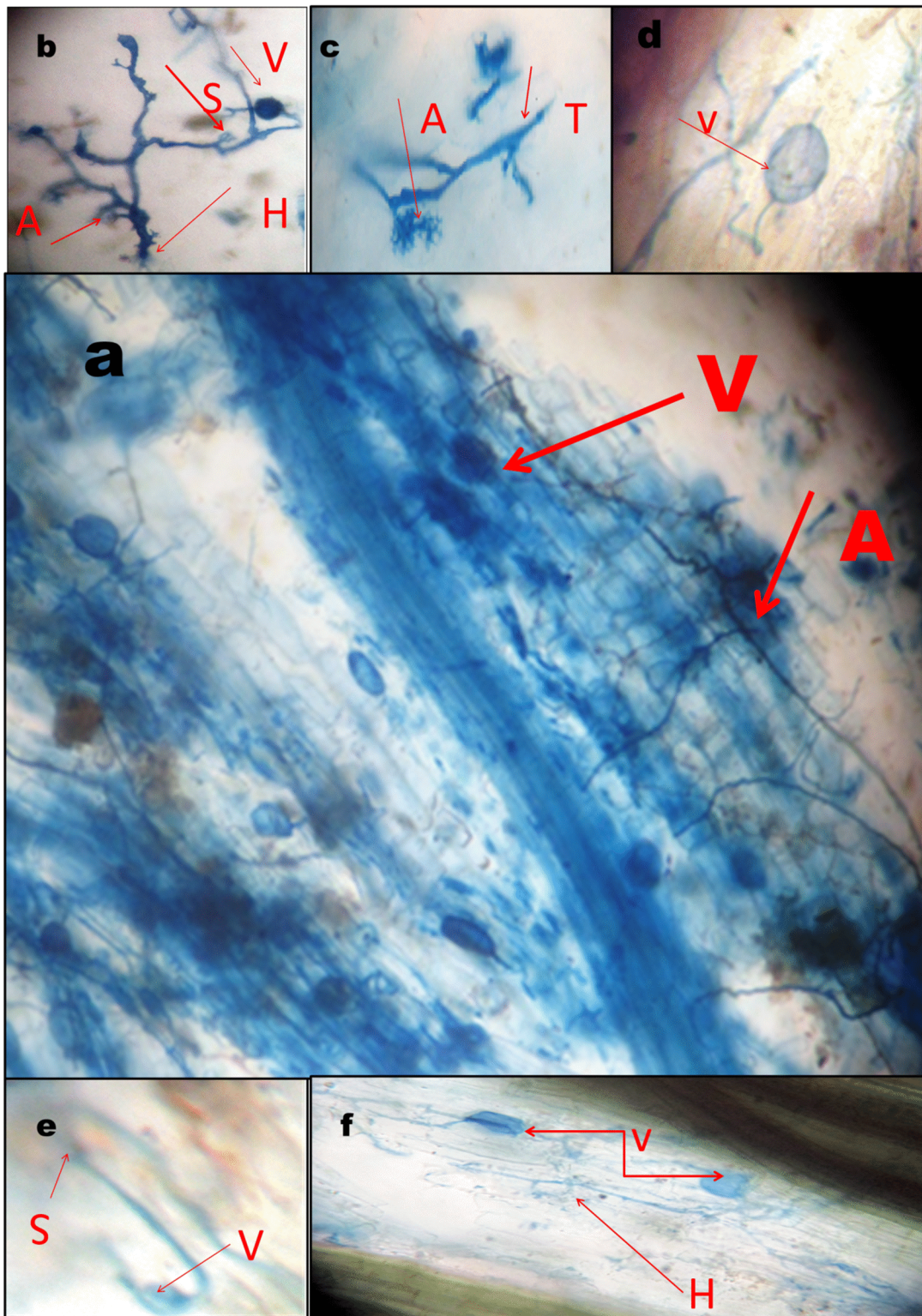


Figure 20 : structure anatomique d'une endomycorhize VA de type intermédiaire.

a : détail des principales structures d'une endomycorhize VA. (A : arbuscule, V : vésicule ovoïde, S : spore, H : hyphe mycélienne).

b:detail d'un arbuscule. (T : tronc, A : arbuscule).

c : détail d'une vésicule (V : vésicule intracellulaire, S : spire).

d : vésicule intracellulaire (S : spire).

e : vésicule intercellulaire

f : cellules infectées par un CMA (V : vésicule ovoïde, H : hyphes mycéliennes).

Dans tous les échantillons de racines observées, la structure mycorhizienne Intermédiaire est la seule rencontrée. La symbiose endomycorhizienne illustrée par la figure ci-dessous montre qu'il s'agit d'un type intermédiaire rapporté par Garbay (2013) et qui domine chez les espèces ligneuses et herbacées sous différents climats (Fig.21).

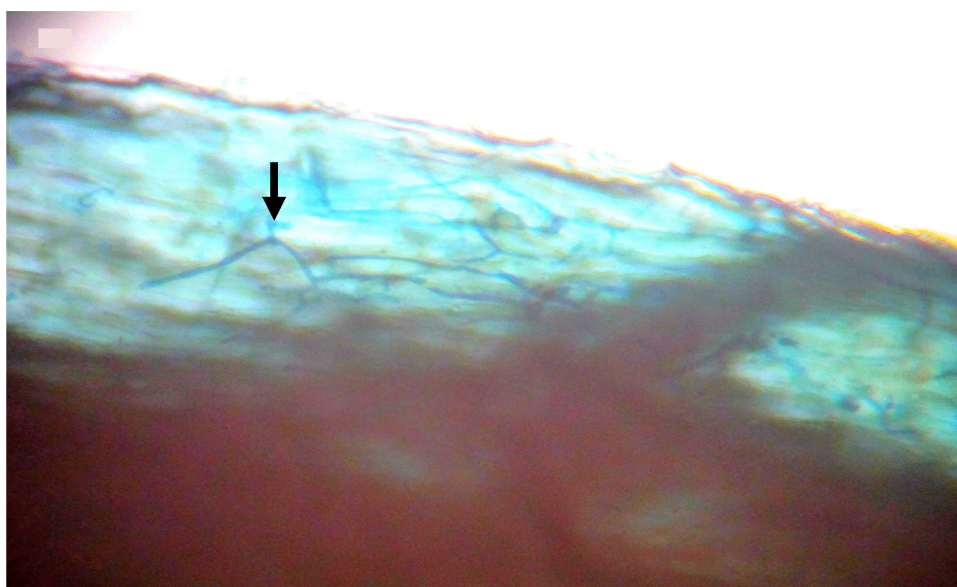


Figure 21 :Endomycorhize de *Z. lotus* de type intermédiaire.

Observez les hyphes myceliennes dans les cellules du cortex racinaire. Ces dernières en sortant s'enroulent en spire (flèche).

3.1.Associations symbiotiques de *Ziziphus lotus* à l'état naturel

3.1.1. Statut mycorhizien et cytologique

L'organisation cytologique des racines de *Z. lotus* observées au microscope a montré que cette espèce ne présente qu'un seul type d'association. La coloration au bleu de trypan a révélé des structures caractéristiques des endomycorhizes (Fig20.a).

Aucune structure externe caractéristique des associations ectomycorhiziennes n'a été observée.

Les structures mycorhiziennes apparaissent sous forme d'hyphe myceliennes qui se ramifient le long du cortex racinaire (fig.20 f). et des vésicules ovoïdes s'intercalant entre les cortex racinaires (fig.2d). des arbuscules de type intermédiaire ont été observés (fig.20b). Ce qui place *Z.lotus* dans le groupe des plantes à CMA. Les cellules des cortex racinaires observées au microscope optique ont montré une densité en champignons mycorhiziens CMA.

3.1.2. Quantification des mycorhizes associées aux racines *Z.lotus*

La fréquence de mycorhization F, est importante dans les racines échantillonnées à partir d'arbres appartenant à un peuplement naturel de *Z.lotus*. La colonisation racinaire exprimée en taux de mycorhization peut atteindre les 90% (tableau 8).

Tableau 8 : Quantification des MA de *Z.lotus* dans la station de Mekla

Site	Fréquence %
Mekla	91 ,66

Lorsque la symbiose est bien installée et que les conditions pour le développement de la plante sont favorables, la colonisation mycorhizienne concernede 60 % à 80 % de la longueur des racines vivantes.

Les résultats du tableau 8 indiquent une abondance des endomycorhizes dans les racines de *Ziziphus lotus* (Fig.21).

Les vésicules à l'intérieur du cortex racinaire de la figure 20, sont de petits sacs à paroi épaisse intra-ou intercellulaire, de formes variées (sphériques,allongée) ou Les vésicules sont d'autant plus nombreuses que les spires et ou les arbuscules sont abondants et que la plante hôte est vigoureuse (fig 20).

Discussion

La texture du sol, le pH et la quantité de phosphore assimilable sont des paramètres essentiels dans la répartition et l'abondance des champignons mycorhiziens. C'est ainsi que Mosse (1973) a remarqué que le genre *Glomus*

apparaissait généralement dans les sols à pH neutre ou alcalin ce qui est le cas de notre sol qui est légèrement alcalin et pauvre en phosphore assimilable. Le sol témoin est exempt de spores fongiques contrairement au sol rhizosphérique qui s'est distingué par sa richesse avec abondance du genre *Glomus*.

Les échantillons de spores collectées sont morphologiquement comparables aux espèces décrites dans la littérature.

Cependant, ils montrent des variations dans le diamètre des spores par rapport à la description d'origine faite par Schenk et Perez (1987). Ces variations morphométriques des caractères des spores observées à l'état naturel pourraient traduire la présence d'écotypes fongiques dans le sol du site prospecté. En effet, Jeffries et Barea (2001) ont relié la nature des communautés de CMA au type de peuplement végétal et à l'existence d'écotype.

Le sol prospecté renferme des spores denses et diversifiées et sont aptes à générer des endomycorhizes. Ce fait s'est traduit par un taux d'endomycorhization de 90 % qui correspond à une intensité de mycorhization. En côte d'Ivoire Bivoko et *al.*(2013) ont trouvé dans un sol acide (5,17) et pauvre en phosphore assimilable (< 30,71 ppm), 44 espèces de CMA réparties en 13 genres. Les densités des spores de CMA, sont inférieurs à 14,68 spore g⁻¹. Ce résultat est bien supérieur au notre du point de vue nombre d'espèces qui n'est que de 3, 4 genres et 12 morphotypes. L'abondance des CMA pourrait avoir un rôle écologique tel que la stabilité du sol (synthèse de glomaline). La texture du sol de nature limono-argileuse a montré une corrélation positive avec les communautés de CMA. Il en est de même dans notre cas bien que la texture du sol est argilo-limoneuse.

Ils ont également révélé l'abondance du genre *Glomus* (55,17%) et *Acaulospora* (30,14%) alors que ce sont les genres *Glomus* et *Gigaspora* qui se sont montrés les plus abondants avec des taux respectifs de 57,89% et 21,05% dans le sol de notre site d'étude. Il a été rapporté par Stutz et *al.* (2000) que les spores appartenant au genre *Glomus* se vivent dans les écosystèmes arides et semi-arides. Elles seraient plus adaptées aux environnements soumis à un stress.

Une étude récente menée par Bouazza et *al.* (2015) dans une Terga à climat semi-aride dans le Nord Ouest algérien, sur les endomycorhizes de 4 espèces végétales

(*Acacia saligna*, *Lotus certicus*, *Retama monosperma* et *Pistacia lentiscus*) a montré que la rhizosphère était riche en spores à potentiel endomycorhizien avec 12 morphotypes répartis dans 4 genres différents (*Glomus*, *Scutellospora*, *Gigaspora* et *Acaulospora*) avec une prédominance de *Glomus*. Ces auteurs ont conclu que les espèces végétales étudiées sont adaptées aux conditions environnementales locales de la Terga et promouvoient la symbiose endomycorhizienne. Elle constitue donc un moyen pour réhabiliter les milieux dégradés. Elles peuvent en plus constituer une importante source d'inoculum de CMA dans les écosystèmes semi-aride. Ces résultats concordent avec ceux que nous avons obtenus.

Le fort pourcentage de mycorhization enregistré pourrait s'expliquer par le fait qu'il s'agit d'un sol non perturbé donc une endomycorhization non altérée.

Une étude menée par Abbas (2014) sur le Thuya du grand Atlas (*Tetraclinis articulata* (Vahl) au Maroc a révélé la richesse des racines de cette essence en CMA. En effet, ils ont observé un taux de mycorhization supérieur à 80% et les spores isolées sont dominées par le genre *Glomus*. Ce résultat concorde avec celui que nous avons déterminé avec un taux de mycorhization de 90% et c'est le genre *Gigaspora* qui est le plus fréquemment rencontré suivi du genre *Glomus*.

Il est généralement admis que la richesse spécifique des spores dans un sol donné peut atteindre une cinquantaine d'espèces de Glomeromycetes, mais elle est plus fréquemment de l'ordre de la dizaine. Dans notre cas nous n'avons pu identifier que 3 espèces à savoir *Scutellospora gregaria*, *Scutellospora verrucosa*, *Acaulospora lavis* sur un total de 12 morphotypes décrits.

Les champignons endomycorhizien arbusculaires occupent les racines longues en croissance continue.

Dans tous les échantillons de racines observées, la structure mycorhizienne Intermédiaire est la seule rencontrée. Ce résultat conforte l'idée selon laquelle les formes intermédiaires semblent prédominer chez les espèces ligneuses et herbacées sous différents climats. Ce type morphologique est caractérisé par une progression des hyphes mycéliennes de cellule en cellule comme dans le cas du type Paris, sans hyphes intercellulaires et avec des spires intracellulaires. Certaines de ces spires

portent de petits arbuscules. Les Glomeromycetes forment aussi des vésicules de forme ovale dont le rôle n'est pas encore complètement élucidé.

Comme nous l'avons signalé de ce qui précède les champignons responsables des endomycorhizes arbusculaires appartiennent tous à la classe des Glomérormycètes dans laquelle ont été décrits environ 250 espèces distribuées dans quatre ordres.

La fréquence de mycorhization F, est importante dans les racines échantillonnées à partir d'arbres appartenant au peuplement naturel de *Z.lotus* exploré en comparaison avec les résultats rapportés dans la littérature. En effet, Jasper et al .(1994) ont observé sous forêt 62% de mycorhization. Dans le même ordre d'idée Diem et al. (1981) ont détecté 30 %. Il est généralement admis que les sols les moins fertiles permettent les plus fortes mycorhizations. Ainsi, il a été montré que plus le sol était pauvre en phosphore et en azote plus le rôle de la mycorhization dans le développement des plantes est important (Sieverding, 1991).

Des appressoriums, des hyphes non cloisonnées intracellulaires, des vésicules de différentes formes (ovale, irrégulière, lobée et rectangulaire) et des arbuscules sont présents dans les échantillons de racines de *Z. lotus* (vésicules ovale ou ellipsoïde) a notre connaissance le statut endomycorhizien de *Z. lotus* a été rapporté pour la première fois. Nous avons également noté la dominance des endomycorhizes de type intermédiaire ce qui confirme ce qu'a rapporté Garbaye (2013) que les endomycorhizes à arbuscules peuvent être trouvées dans les racines de pratiquement toutes les espèces végétales.

Guissou et *al.*, (2009) indiquent clairement que la croissance du jujubier est très faible en absence de MVA, ceci confirme que le jujubier est une espèce hautement dépendante des MVA. Ces derniers ont une plus grande capacité d'absorption du phosphore que les plantes non mycorhizées grâce au réseau d'hyphes extramatriciellelles qu'elles développent et qui leur permet d'explorer un volume de sol plus important Balan (1992).

Chapitre 5

Cette étude a été consacrée à l'exploration des associations endomycorhiziennes chez *Ziziphus lotus* dans un site d'étude localisé dans la région de Mekla dans la wilaya de Tizi-Ouzou. Le sol soumis à une caractérisation physico chimique relative à la mesure du pH, la granulométrie et le taux de phosphore assimilable a montré qu'il s'agit d'un sol argilo limoneux, à pH légèrement alcalin (7.9) et très pauvre en phosphore avec 1.45. Les résultats sur le statut mycorhizien de cette essence montrent que la mycorhization est une réalité écologique. Tous les fragments observés sont densément endomycorhizés. Les structures endomycorhiziennes sont caractérisées par la présence de spires, d'arbuscules ainsi que des vésicules qui se trouvent à l'intérieur du cortex racinaire. Ces structures montrent que cette association est de type intermédiaire (seul type morphologique observé).

Le taux d'endomycorhization par les CMA a atteint les 90% dans les racines du peuplement naturel de *Z. lotus* du site d'étude.

Nous avons aussi observé quatre types de sclérotés qui sont des masses de mycélium fongique intercellulaire qui servent d'organe de conservation pour la survie à long terme du champignon.

Différents morphotypes de spores appartenant à l'ordre des Glomales ont été isolés et identifiés au niveau de la rhizosphère de *Z. lotus* de la station de Mekla. Ceci suppose que les racines de cette essence dépendent étroitement des CAM ce qui dénote son caractère mycotrophique.

Les CAM appartenant à la classe des Glomeromycetes synthétisent une glycoprotéine, la glomaline, jouant un rôle essentielle dans la stabilité et la fertilité du sol du fait de son caractère hydrophobe, stable, collant et complexant les métaux.

L'ensemble de ces résultats montre que la symbiose mycorhizienne associée à *Z. lotus* fait intervenir des espèces de Gloméromycètes appartenant aux genres *Glomus*, *Gigaspora*, *Acaulospora* et *Scutellospora*.

Il serait intéressant de procéder à l'étude plus complète du sol prélevé du site d'étude considéré.

Créer des banques d'inoculum afin de préserver le cortège fongique indigène. de procéder à l'étude microbiologique du sol des racines mycorhizées et de déterminer les microorganismes auxiliaires de la symbiose endomycorhizienne.

Références bibliographiques

ABBAS Y. (2014) Microorganismes de la rhizosphère des Tétracлинаies : un outil pour optimiser la régénération assistée du *Tetraclinis articulata* Vahl. Master. Thèse de Doctorat thèse de doctorat. Université Mohammed V Faculté des Sciences Rabat. p.157.

Ardnt S.K., Clifford S.C., Popp M. (2001) *Ziziphus* A Multipurpose Fruit Tree For Arid Regions. In: Sustainable land-use in Deserts. Breckle S.W., Veste M. and Wucherer W., Springer. Heidelberg, Stuttgart, New York, 388-399.

Ba A., Duponnois R., Danthu P., Diallo I., Guissou T., Sanon K., Sacko O., Guissou T., Kondé S., Planchette C. (1998) Utilisation des phosphates naturels par des jujubiers mycorhizés, in ISSS (Ed.). Ann. Sci. Forest. 55 p :925-931

Baba Aissa F. (1999) Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, Substances Vegetales d'Afrique d'Orient et d'Occident. Ed : EDAS. Pp : 144-146.

Bayer E., Buttler K.P., Finkenzeller X., Grau J. (1990) De lachaux et Niestlé S.A., Lausanne (Switzerland) – Paris. P.96.

Bellakhdar J. (1997) La Pharmacopée marocaine traditionnelle, Médecine arabe ancienne et savoir populaires - Saint -Etienne. Ed : TEC et DOC. Ibis press. Pp : 464-465.

Béreau M., Louisanna E., de Grandcourt A., Garbaye J. (2013) Symbiose mycorhizienne et nutrition minérale. Rev.For.Fr.LV.numéro spécial.p76.

Bivoko D.R.R., Ahonzo N. , Amkes L., Zeze A. (2013) Impact des propriétés physicochimiques des sols de culture du manioc sur l'abondance et la diversité des communautés de champignons mycorhiziens à arbuscules dans la zone agroécologique d'Azague, Sud-Est de la côte d'Ivoire. Agronomie Africaine 25 (3) :251-254.

Bolan N.S. (1991) A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. Plant and Soil 134: 189-207

Borgi W., Chouchane N. (2006) Activite anti-inflamatoire des Saponosides des ecorces de racines de *Zizyphus lotus* (L)- Revue des Regions Arides. **9** :283-286.

Borgi W., Ghedira K., Chouchane N. (2007) Anti-inflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks. *Fitoterapia*. **78**:16-19.

Borgi W., Bouraoui A., Chouchane N. (2007) Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts, *Journal of Ethnopharmacology*, **12**:228-231.

Borgi W., Recio M.C., Rios J.L., Chouchane N. (2008) Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L.) Lam. *South African Journal of Botany*, **14**:320-324.

Bross J. (2000) Larousse des arbres. Dictionnaire des arbres et des arbustes. Ed: Larousse. ISBN. Pp: 576.

Boullard B. (2001) Dictionnaire des plantes médicinales du monde. Ed : Estem. Pp : 768.

Catoire C., Zwang H., Bouet C. (1999) Les jujubiers ou le *Zizyphus* fruits oubliés .article du n^o 1.

Cordier C., S. Gianinazzi p., Gianinaz Pearson V. (1996) Colonisation patterns of root tissues by *Phytophthora nicotianae* var. *Parasitica* related to reduced disease in mycorrhizal tomato. *Plant Soil* **185**(2):223-232

Cronquist A. (1981):An Integrated System Of Classification Of Flowering Plants. Columbia University.Pp: 1256.

Debuigne G., Couplan F. (2009) Petit Larousse des plantes Médicinales. Ed : Larousse. Pp : 375.

Dechamplain, N., Gosselin, L. (2002) Les champignons Mycorrhiziens : PISTSE Université Laval.12p, Pp : 1-10-7.

Diem, H.G., Gueye, I., Gianinazzi-Pearson V., Fortin, J.A. et Dommergues, Y.R. (1981) Ecology Of VA Mycorrhizae In The Tropics : The semi-aride zone of Senegal. *Acta Oecologica / Oecologia Plantarum*, 16 : 53-62.

Dommergues, Y., Duhoux, E., Diem, H.G. (1999) Les Arbres Fixateurs d'Azote : Caractéristiques Fondamentales et Rôle dans l'Aménagement des Ecosystèmes Méditerranéens et Tropicaux. Editions Espaces 34, Paris. 499 p.

Duhoux E., Nicole M. (2004) Associations et Interactions Chez Les Plantes. Ed DUNOD. P.54

Egli S., Brunner I. (2002). Les Mycorhizes Une Fascinante Biocénose En Forêt ; Institut Fédéral De Recherches WSL CH-8903 Birmensdorf.

Fortin J.A. Plenchette C., piché Y. (2008). Les mycorhizes La Nouvelle Révolution Verte. Multi Monde Quae (Eds) Québec 131p.

Garbaye J. (2013) La symbiose Mycorhizienne Une Association Entre Les Plantes et Les Champignons. Ed Quae.p. 48,49,56,57,62.

Gaveriaux J.P. (2012) Bull.Soc.Mycol.Nord Fr.92 :01-17.p(1-17)

Gerdeman J.W. and Nicolson T.H. (1963). Spore of Mycorrhizal Endogone Species Extracted From Soil By Wet Sieving And Decanting. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 46 : 235-244.

Ghedira K., Chemli R., Caron C., Nuzillard J.M., Zeches M., Le Men-Olivier L. (1995) Four Cyclopeptide Alkaloids From *Zizyphus lotus*. *Phytochemistry* ,38 :767-772

Guisso T., (2009) Contribution of Arbuscular Mycorrhizal Fungi To Growth And Nutrition Uptke By Jujube And Tamarind Seedlings In A Phosphate (P) Deficient Soil. *Afr.J.Microbiol.Res* 3 (5) :297-304.

Guizon A., Selosse M. A. (2010) Coloration des mycorhizes, *Biologie – Géologie* n°4, 6 p

Iserin P. (2001) Larousse Encyclopédie Des Plantes Médicinales : Identification, Préparation, soins. Ed: Larousse .VUEF, PARIS. Pp: 283.

Jasper J.P., Hayes J.M., Mix A.C., Prahl F.G. (1994) Photosynthetic Fractionation Of I3C And Concentrations Of Dissolved CO2 In The Central Equatorial Pacific During The Last 255,000 years. *Paleoceanography* 9:781-798.

Jayachandran K., Schwab A.P., Hetrick B.A.D. (1992) Mineralization Of Organic Phosphorus By Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Soil Biol Biochem* 24:897 - 903

Jeffries P., Barea J.M. (2001) Arbuscular Mycorrhiza: A Key Component Of Sustainable Plant–Soil Ecosystems. In: Hock B (ed) *The Mycota. Vol IX: fungal associations*, Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 95–11

Laamouri A., Ammari Y., Albouchi A., Sghaier T., Mguis K. et Akrimi N. (2008) Etude Comparative De La Croissance et Du Développement du Système Racinaire de Trois Espèces de Jujubier en Tunisie *Geo-Eco-Trop*, 32: 37 - 46).

Lahlou M., El Mahi M., Hamamouchi J. (2002) Evaluation des Activités Antifongiques et Molluscide de *Zizyphus lotus* (L.) Desf. du Maroc. *Journal des annales pharmaceutiques française* ,60 :410-414.

Linderman, R.G. (1986) Managing Rhizosphere Microorganisms In The Production Of Horticultural Crops. *Hort.Science*21: 1299-1302.

Linderman R.G. (1994) Role of VAM Fungi In Biocontrol. In: Pflieger FL & Linderman RG (Eds) *Mycorrhizae and Plant Health* (pp 1–26). APS Press, St Paul.

Maunoury, A. (2010) L'impact Négatif des Pesticides Sur la Nutrition des Plantes L'exemple de la Bouillie Bordelaise .140p, Pp: 3-6

Morton, J. B., Benny, G. L. (1990) Revised Classification of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (Zygomycetes) : A New Order, Glomales, Two New Suborders,

Glomineae and Gigasporineae, and Two new Families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, With an Emendation of Glomaceae. *Mycotaxon* 37: 471–491.

Mosse B. (1973) Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IV. In soil given additional phosphate. *New Phytol.* 72:127–13

Nouaim R. (1994). Écologie Microbienne des Sols d'Arganeraies: Activités Microbiologiques des Sols et Rôle des Endomycorhizes dans la Croissance et la Nutrition de l'Arganier (*Argania spinosa* L.). Thèse de doctorat d'État, Agadir, 193 p.

Ouahmane L. (2007) Rôle des Mycorhizes et des Plantes Compagnes (lavande et thym) sur la Croissance du Cyprés de l'Atlas (*Cupressus atlantica* G.) : Conséquences sur la Biodiversité Rhizosphérique et la Réhabilitation des Sites Dégradés. Thèse de Doctorat National, Fac. Sc. Semlalia, Marrakech : 226 p.

Ozenda P. (2004) Flore et Vegetation de Sahara. 3eme edition. Ed: CNRS, Paris. Pp 60.

Paris R.G. Dillemann (1960) Les Plantes Médicinales des Régions Arides : II - Considérées Surtout du Point de Vue Pharmacologique. Recherche sur la Zone Aride. UNESCO. p 5

Plenchette C. Perrin R. (2005). The Concept of Soil Infectivity and a Method for Its Determination as Applied to Endomycorhizas. *Can. J. Bot.*, 67 :112-115.

Palenzuela J., Barea J. et al. (2002) Effects of Mycorrhizal Inoculation of Shrubs From Mediterranean Ecosystems and Composted Residue Application on Transplant Performance and Mycorrhizal Developments in a Desertified Soil. *Biology and Fertility of Soils*, 36, pp.170-175.).

Quezel P et Santa S. (1962) Nouvelle Flore de l'Algérie et Régions Désertiques Méridionales. Tome2. Centre National de la Recherche, Paris, and 565p.

Sanders, F.E., Tinker, P.B. (1971) Mechanisms of Absorption of Phosphate From Soil by Endogone Mycorrhizas. *Nature*, 232 : 278-279

Sanders, F.E., Tinker, P.B., Black R.L.B., Palmerly, S. M. (1977) The Développement of Endomycorrhizal Root Systems. I. Spread of Infection and Growth-Promoting Effects With Four Species of Vesicular-Arbuscular Endophyte. *New Phytologist* 78, 257-268.

Sanchez G., Jimenez F., Ampudia A., Merino V. (2012) In Search of a Fast Screening Method For Detecting The Malfunctioning of Cognitive Impairment. *Eur. J. Psychol. Appl. Legal Context*, 4 (2), 99-196

Schenk N.C. and Perez Y. (1987) Manual for The Identification of VA Mycorrhizal Fungi. First Edition INVAM.

Schussler A., Walker C. (2010) The Glomeromycota. A Species List With New Families and New Genera. Electronic Version Free lyavailable Online at www.amf-phylogeny.com

Sieverding E. (1991) Vesicular-arbuscular Mycorrhiza Management in Tropical Agrosystems. Technical Cooperation, Federal Republic of Germany Eschborn. ISBN 3-88085-462

Silar p., Malagnac F. (2013) Les champignons redécouverts. Ed. Paris Belin. Vol. 1 p231.

Smith S.E., Read D.J., (1997) Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, Inc San Diego California. ISBN 0-12-652840-3.

Stutz J.C., Copeman R., Martin C.A., Morton. J.B. (2000) Patterns of Species Composition and Distribution of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Arid Regions of South-Western Namibia Africa. *Can.J.Bot.*, 78 :237-245.

Volpin H., Phillips DA., Okon Y., Kapulnic k. (1995) Suppression of an Isoflavonoid Phytodexin Defense Response in Mycorrhizal Alfalfa Roots. *Plant Physiol.* 108 : 1449-1454.

Zitouni F.-E.-H. (2010) Étude des Associations Mycorrhiziennes Entre Quatre Espèces de Terfèz et Diverses Plantes Cistacées et Ligneuses en Conditions Contrôlées. Thèse de l'Université d'Oran.Es-Senia. p : 49.

Annexes

1. Etude du sol

L'étude du sol a été effectuée en nous basant sur les méthodes décrites par Rouiller et *al.*(1972)

Annexe 1

A. - Phosphore assimilable et réserves mobilisables (Bases, Fer, Manganèse, Phosphore)

1- Méthodes d'estimation du phosphore assimilable (Fardeau J.L. et Rouiller J.)

a-Phosphore isotopiquement échangeable : test cinétique

Agiter durant une nuit, dans un flacon plastique de 250 ml, un mélange sol/solution contenant 10 g de sol et 88 ml d'eau distillée.

Puis injecter dans le mélange, agité à raison de 200 tours par minute, environ, par un barreau magnétique recouvert de Teflon, 1 ml d'une solution contenant de 50 KBq .ml⁻¹ à 300 KBq. ml⁻¹ sous forme d'ions ³²P0₄ sans entraîneur. Mesure de la quantité *R* de la radioactivité injectée dans le système.

-Après 55 secondes d'agitation prélever environ 8 ml du mélange à l'aide d'une seringue médicale plastique de 10 ml.

-Filtrer immédiatement, sous pression manuelle, sur filtre à pores de 0,2 μ, pour déterminer la quantité *r₁* de radioactivité restant en solution après une minute de contact entre *R* et le mélange sol-solution.

Recommencer cette opération à 4, 10,40 et 100 minutes pour obtenir les valeurs de *r₁*, *r₄*, *r₁₀*, *r₄₀* et *r₁₀₀*.

-Filtrer alors, toujours sur filtre à pores de 0,2 μ, environ 10 ml de solution pour déterminer par dosage colorimétrique la concentration, *c*, des ions phosphate de la solution.

-Établir la droite la plus probable : $\text{Log}(r_{\text{tmm}}/R) = \text{Log}(r_1 / R) - n \text{Log } t$ pour connaître les paramètres *r₁/R* et *n*.

-La quantité *E_I* d'ions phosphates immédiatement assimilables a pour valeur :

$$E_I = (R/r_1) \cdot 10 \cdot c$$

E, étant exprimé en mgP.kg⁻¹ sol et *c* en mgP.l⁻¹.

La quantité *E_t*, d'ions disponibles en un temps *t* a pour valeur : $E_t = E_I \cdot t_n$.

NB. ; Il est possible de faire des prélèvements à n'importe quel instant (noter t_i).

b- Protocoles d'extraction du phosphore assimilable

pour toutes les méthodes présentées ci-dessous l'extraction et le dosage du phosphore de l'extrait font l'objet d'une description très détaillée, dans la norme AFNOR-X 31116.

c-Protocole détaillé de la méthode Duchallfour et Bonneau

Nous proposons cette méthode, très adaptée à la grande majorité des sols, sols forestiers tempérés notamment.

-Extraction à l'acide sulfurique N/250 (Phosphore lié au Calcium).

-Verser 1 g de sol broyé, homogénéisé dans un tube de centrifugeuse avec 50 ml d'acide tamponné avec $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.05 N. agiter 30 mn. Centrifuger. Filtrer.

-Procéder à une seconde extraction avec 50 ml d'acide. Agiter 30 mn. Centrifuger Joindre le deuxième filtrat au premier. Liqueur A.

-Extraction à la soude N/10 (Phosphore lié à l'aluminium, et au fer, et humophosphates.)

-Ajouter 50 ml de soude N/10 sur le culot. Agiter 30 mn. Centrifuger. Filtrer.

-Procéder à une seconde extraction avec 50 ml de soude N/10. Agiter 30 mn. Centrifuger. Joindre le deuxième filtrat au premier. Liqueur B.

*Dosage colorimétrique.

-Verser 10 ml de la liqueur B dans un tube de centrifugeuse. Ajouter 2 ml H_2SO_4 N pour précipiter les acides humiques. Centrifuger. Récupérer le surnageant S.

-Ajouter 10 ml de liqueur A à S, avec 2 ml de solution molybdique et 3 gouttes de SnCl_2 . Compléter en fiole de 50 ml.

Colorimétrer à 660 nm au bout de 8 mn. La coloration jaune des acides fulviques ne gêne pas dans ces conditions.

Faire une gamme étalon préparée de la même façon.

Autre mode de dosage : chromatographie ionique (en solution diluée).

Tests hydrochimiques et éléments solubles

- pH : pH H_2O et pH KCl

Ces deux déterminations conjointes sont d'un grand intérêt pour la majorité des sols hormis les sols neutres et surtout carbonatés, puisque $\Delta\text{pH} = \text{pH H}_2\text{O} - \text{pH KCl}$ révèle l'acidité potentielle ou acidité d'échange. La mesure du pH dans les sols carbonatés n'aurait d'intérêt que si elle respectait la pression partielle in situ pCO_2 , ce qui n'est pas réalisable en laboratoire.

Mise en suspension : Po = 10 g de sol dans un flacon à agitation avec 25 ml de solution. Agitation (avec agitateur culbuteur) 60 minutes à température proche de 20C^0 .

La mesure nécessite une agitation ménagée (barreau magnétique) et une stabilisation de la lecture sur le pH-mètre.

Le choix, l'entretien et l'étalonnage des électrodes couplées au pH-mètre sont importants.

L'électrode de verre dite << électrode combinée >> (coaxiale à l'électrode de référence) est souvent utilisée et doit être maintenue soigneusement en état (saturation KCl, intégrité de l'électrode de verre, lavages soigneux entre chaque mesure).

L'étalonnage tient compte de la température et se fait couramment avec deux étalons pH 4, pH 7.

Annexe2

1. Etude anatomique des racines mycorhizées

a- Préparation des colorants :

Afin d'observer les constituants intracellulaires de nos fragments de racines, colorants nous avons utilisé du bleu trypan dont la préparation est décrite ci-dessous :

-Bleu de trypan :

-Peser 0,2g de bleu de trypan.

-mélanger dans 100ml d'eau distillée.

-agiter pendant 30 minutes sur un agitateur.

II-Conservation des échantillons racinaires :

-Composition du Formol-Acide acétique- Alcool (FAA) :

- 50 ml d'eau distillé
- 50ml d'Ethanol à 5%
- Prendre 90 ml de cette préparation, lui rajouter :
- 5ml d'Acide Acétique
- 5 ml de Formol

b. Ecrasement des racines :

Le matériel utilisé pour l'observation des racines écrasées :

- 1- Lactoglycérol : pour conserver les lames, il a le rôle de limiter l'évaporation
1 volume d'acide lactique 100% + 1 volume de glycérine (ou glycérol) + 1 volume d'eau distillé.
- 2- La Potasse KOH 10 %.
- 3- des tubes à essai dans un portoir allant dans un bain marie à 90° C.
- 4- un tamis ou microplaine pour récupération et rinçage.
- 5- L'eau acidifiée : eau distillée + un peu d'acide chlorhydrique très dilué.

Résumé

Des échantillons de sol et de racines de *Zizyphus lotus* ont été prélevés dans la région de Mekla dans la wilaya de Tizi-Ouzou en Algérie.

La mesure du pH a montré que ce sol est légèrement alcalin (7,9), de texture argilo-limoneuse et pauvre en phosphore assimilable.

L'isolement des spores de CAM a permis d'identifier 12 morphotypes appartenant à l'ordre des Glomeromycètes.

Cette étude a également permis de constater la prédominance du genre *Glomus*.

Un seul type morphologique d'endomycorhizes à vésicules et arbuscules a été observé. Il s'agit du type intermédiaire le plus fréquemment observé chez toutes les espèces ligneuses et herbacées.

Mots clés : *Zizyphus.lotus*, Algérie, CMA, endomycorhizes, vésicules.

Summary

Samples of ground and roots of *Zizyphus lotus* were taken in the region of Mekla in the wilaya of Tizi-Ouzou in Algeria.

The measure of pH showed that this ground is slightly alkaline (7,9), of argilo-muddy and poor texture P comparable.

The isolation of the spores of CAM allowed to identify 12 morphotypes belonging to the order of Glomeromyceta.

This study also allowed to notice the ascendancy of the *Glomus* kind.

A single morphological type of vesicular and arbuscular endomycorhiza was observed. It is about the most frequently intermediate type observed to all the ligneous and herbaceous species.

Key words: *Zizyphus lotus*, Algeria, CMA, endomycorhiza, vesicles.