

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOU D MAMMARI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BMC



Mémoire de fin d'études

En vue d'obtention du Diplôme Master en Sciences Biologiques

Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes

Thème

**APPROCHE COMPARATIVE DE LA COMMUNAUTE
SYMBIOTIQUE DE LA POPULATION D'*HEDYSARUM*
FLEXUOSUM DANS LA REGION DE TIZI-OUZOU**

Présenté par : AKLIL DRIFA

Devant le jury

Président **Mr. LIMAN K.**

Maitre de conférences classe B, à UMMTO

Promotrice : **Mme. KADI-BENNANE S.** **Maître de conférences classe A, à l'UMMTO**

Co promoteur: **Mr. MEDJEBEUR DJ.**

Maitre de conférences classe B, à l'UMMTO

Examinatrice : **Mme. MEZAOUR N.**

Maitre assistante de classe A, à l'UMMTO

2020 - 2021

Remerciements

A l'issue de ce travail, je remercie avant tout DIEU, le tout puissant, maître des cieux et des terres, de nous avoir donné la volonté, le courage, et la santé pour réaliser ce travail.

Mes remerciements les plus sincères vont à Mme KADI L. ma promotrice qui m'a fait l'honneur d'avoir veillé et dirigé avec beaucoup d'attention et de soins mon mémoire. Je suis très reconnaissante pour sa bienveillance, ses précieux conseils, patience et disponibilité. J'espère qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

*J'exprime mon profond remerciement à Mr MEDJEBEUR D. mon Co-promoteur
Pour l'aide précieuse qu'il m'a apporté et leur orientation*

Je remercie vivement, Mr LIMANE A., d'avoir accepté d'honorer en président de jury d'examination. Ainsi que Mme MEZAOUER N. pour l'honneur qu'il m'a fait de bien vouloir examiner mon travail.

Je tiens à remercier l'ingénieur de laboratoire mycorhize au niveau de département Biologie Mm BEDED K. pour son accueil, son temps et d'avoir mis tous les moyens à ma disposition.

Enfin, mes remerciements les plus sincères à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicace

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers :

Mes chers parents

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse Dieu, le très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A la mémoire de mon grand-père, décédé trop tôt. Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde.

A mon cher frère SAMIR, qui n'a pas cessé de me conseiller, m'encourager tout au long de mes études, que Dieu le protège.

A mes adorables sœurs KAISSA, FATIMA et NADIA qui m'ont toujours soutenu, que Dieu les protège.

A mes chères grandes parentes maternelles que Dieu les protège.

A mes oncles : ALI, MEHENA et SAID

A mes adorables : M'HEMED, MAHMI et INES.

A mon cher SAMIR, qui m'a toujours offert le soutien et le réconfort, j'exprime envers lui un profond amour, reconnaissance et attachement inconditionnels.

*A mes amies : FARIDA, DJIDJI, OUIZA, SORAYA, SYLIA, HASSINA, KATIA HAYET
RYMA, SABRINA, AMINA et SOFIANE*

DRIFA

Dédicace spéciale

Je dédie travail à ma meilleure enseignante qui a été toujours à mes cotes, qui a été un ange que dieu m'a envoyé, elle m'a aidée et encouragée beaucoup c'est grâce à elle que je suis arrivé là.

*Malheureusement aujourd'hui elle n'est plus là pour me partager ce moment exceptionnel madame **Nait Kaci- Boudiaf Malika** cette réussite est pour toi et ce bonheur est grâce à toi .je ne t'oublierais jamais que dieu t'accueille dans son vaste paradis.*

SOMMAIRE

Dédicace	
Remerciement	
Liste d'abréviation	
Liste des tableaux	
Liste de figure	
Introduction	1

Partie bibliographique

Chapitre I : la plante hôte

1. Généralités sur les légumineuses.....	3
1. 1. Définition	3
1.2. Caractéristiques botaniques des légumineuses.....	3
1.3. Intérêt des légumineuses	3
1.3.1. Intérêt alimentaire.....	3
1.3.2. Intérêt agronomique	4
1.1.4. Présentation de <i>Hedysarum flexuosum</i>	4
1.4.1. Systématique	5
1.4.2. Caractéristiques morphologiques	5
1.4.3. Les fleurs de Sulla.....	6
1.4.4. Répartition géographique	7
1.4.5. Exigences écologiques	8
1.4.5.1. Exigences climatiques	8
1.4.5.2. Exigences édaphiques.....	9

1.4.6. Les compositions chimiques	9
1.4.6.1. La matière sèche	9
1.4.6.2. La matière minérale totales	9
1.4.6.3. Calcium et cendre insoluble	10
1.4.6.4. La matière azotée	10
1.4.6.5. Les acides aminés	10
1.4.6.6. La matière grasse	10
1.4.6.7. Cellulose brute	11
1.4.7. Usages fourragères d' <i>Hedysarum flexuosum</i>	11
1.4.8. Intérêt environnemental.....	11

Chapitre II : les symbioses

1. Interactions plantes-microorganismes	13
2. Symbiose rhizobium-légumineuses.....	13
3. la symbiose chez <i>Hedysarum flexuosum</i>	13
3.1. Définition des nodules	13
3.2 .la formation des nodules	14
3.3. Structure des nodules	15
3.4. Fixation de l'azote	16
4. La symbiose mycorhizienne	16
4.1. Définition des mycorhizes.....	16
4.2. Les différents types des mycorhizes	16
4.2.1. Les ectomycorhizes	16
4.2.2. Les endomycorhizes	16

4.2.3. Les endomycorhizes à arbuscules	17
4.3. Structures endomycorhiziennes.....	18
4.3.1. Les arbuscules	18
4.3.2. Les vésicules	18
4.3.3. Les hyphes	18
4.4. Rôles de mycorhizes.....	19
5. La symbiose tripartite.....	19

Partie expérimentale

Matériels et méthodes

1. Objectif de travail.....	21
2. la présentation des stations d'étude	21
3. Méthode d'analyse du sol	22
3.1. Conductivité électrique	22
3.2. pH eau	23
4. Méthode d'observation de la symbiose	24
4.1. Symbiose rhizobienne	24
4.2. Symbiose endomycorhizienne	25
4.2.1. La fréquence de mycorhization F.....	25
4.2.2. L'intensité de mycorhization M	26
4.2.3. La teneur en arbuscules A	26
4.2.4. La teneur en arbuscule (a) de la partie mycorhizée	26
5. Traitement statistique	27

Résultats et discussions

1. Propriété de sols	28
2. Statut symbiotique de <i>Sulla flexuosa</i>	28
2.1. Symbiose rhizobium	28
2.1.1. Nombre des nodules	29
2.1.2. Aspect morpho-anatomique des nodules de rhizobia chez <i>S. flexuosa</i>	31
2.1.3. Classification selon la coloration des nodules.....	32
3. L'analyse de la symbiose mycorhizienne chez <i>Sulla flexuosa</i>	38
3.1. Evaluation de l'infection endomycorhizienne.....	39
3.1.1. La fréquence de mycorhization F	39
3.1.2. L'intensité de mycorhizations absolue m et relative M	39
3.1.3. La teneur en arbuscules de la partie racinaire A et la partie mycorhizée a	39
Conclusion générale	46
Références bibliographiques	

Listes des figures

Figure 1 : Photographie des fleurs et des feuilles de <i>Sulla</i>	6
Figure 2 : système racinaire de <i>Sulla</i>	7
Figure 3 : Répartition géographique de <i>Hedysarum flexuosum</i> en Algérie.....	8
Figure 4 : Illustration de l'interaction plante-champignons (a-champignon, b-plante hôte)	13
Figure 5 : Souche de <i>Rhizobium sullae</i> en utilisant la microscopie électronique à balayage (a) à transmission (b) et l'apparition de la morphologie de la colonie sur un milieu solide (c)	14
Figure 6 : Structure des nodules de légumineuses	15
Figure 7 : Principaux types mycorhiziens représentés sur une coupe transversale de racine	17
Figure 8 : Structures caractéristiques des champignons mycorhiziens arbusculaires (VAM) Arbuscules (A) et Vésicules (V).	18
Figure 9 : Protocole de la détermination de la conductivité électrique.....	23
Figure10 : Protocole de détermination du pH du sol des 5 stations d'étude.....	23
Figure11 : Méthode de comptage directe des nodules sur les fragments racinaires de <i>Sulla flexuosa</i>	24
Figure12 : Disposition des coupes anatomiques des nodules de <i>S. flexuosa</i> prêtes à l'observation.....	25
Figure 13 : Classe de l'infection d'un fragment racinaire.....	26
Figure 14 : Estimation de l'abondance des arbuscules dans un fragment racinaire.....	27
Figure 15 : Protocole de détermination de l'abondance arbusculaire et l'infection dans un fragment racinaire.....	27
Figure 16 : Présence des endophytes chez <i>Sulla flexuosa</i>	29

Figure 17 :Distribution de l'intensité de nodulation des racines de <i>H. flexuosum</i> des populations de Assi Youcef, Tirmatine ,Tizi-Ouzou et Boghni au stade végétatif ,au stade floraison et au stade fructification.....	30
Figure 18 : Différentes formes des nodules	31
Figure 19 : Nodules chez <i>Hedysarum flexuosum</i> : a. observation des nodules à différents stades de formation sur les racines de différentes régions ; b. Coupe transversale d'un nodule de Sulla : (INF) zone infectée, (E) endoderme, (VT) trace vasculaire, (IC) cortex interne, (OC) cortex externe.	31
Figure 20 : Variation de la coloration des nodules de <i>S. flexuosa</i> au stade végétatif, floraison et fructification des plants de la population de Assi Youcef (a : blanc, b : rose foncé, c : rose claire, d : rouge, e : rouge, j : rouge, h : rose foncé, i : rouge)	34
Figure 21 : variation de la coloration des nodules de <i>S. flexuosa</i> au stade végétatif, floraison et fructification des plants de la population de Boghni (i : couleur rose foncé, g : rouge, k : rouge, L : rouge).....	35
Figure 22 : variation de la coloration des nodules de <i>S. flexuosa</i> au stade végétatif et fructification des plants de la population de Tizi-Ouzou(m :rouge,n :blanc,o :rose foncé,p :rose claire).....	36
Figure 23 : variation de la coloration des nodules de <i>S. flexuosa</i> au stade végétatif des plants de la population de Tirmatine (q : blanc r : rose claire, s : rouge, t : rose foncé)	37
Figure 24 :Aspect des différentes structures endomycorhiziennes observées chez <i>Sulla flexuosa</i> des cinq populations locales de la région de Tizi-Ouzou.....	38
Figure 25 : Distribution des taux d'infection endomycorhizienne dans les racines de <i>Sulla flexuosa</i> de la population de Boghni	41
Figure 26 : Distribution des taux d'infection endomycorhizienne dans les racines de <i>Sulla flexuosa</i> de la population de Tirmatine	42
Figure 27 : Distribution des taux d'infection endomycorhizienne dans les racines de <i>Sulla flexuosa</i> de la population d'Assi Youcef.....	42

Figure 28 : Distribution des taux d'infection endomycorhizienne dans les racines de *Sulla flexuosa* de la population de Tizi-Ouzou.....43

Figure 29 : Distribution des taux d'infection endomycorhizienne dans les racines de *Sulla flexuosa* de la population de Tigzirt.43

Liste des tableaux

Tableau 1 : Systématique de <i>Hedysarum flexuosum</i>	5
Tableau 2 : Evolution de la teneur en matière sèche des différentes parties morphologiques d' <i>Hedysarum flexuosum</i> au stade végétatif et floraison.....	9
Tableau 3 : Teneur d' <i>Hedysarum flexuosum</i> en différents acides aminés (en g /100g MS) aux stades bourgeonnement et floraison.	10
Tableau 4 : Teneur en matière grasse chez <i>Hedysarum flexuosum</i> au stade végétatif et floraison.....	11
Tableau 5 : Caractérisations géographiques et bioclimatiques des différentes stations d'études.	22
Tableau 6 : Analyse des paramètres pH eau et conductivité électrique des sols des cinq stations concernées par notre étude.....	28
Tableau 7 : Variation de la colonisation rhizobienne(Nodule) chez les différentes populations locales de <i>Sulla flexuosa</i> à travers les stade de croissance et de la wilaya de Tizi-ouzou.	29
Tableau 8 : Distribution des effectifs de nodules observés selon la classification de la coloration des coupes anatomiques des nodules des racines des populations de <i>Sulla flexuosa</i> de Assi Youcef, Boghni, Tirmithin et Tizi-Ouzou selon les stades de développement (la numérotation correspond à l'intensité de l'activité rhizobienne avec : 1 : absence d'activée ; 2, activité faible ; 3 : moyenne activité et 4 : forte activité).....	32
Tableau 9 :Quantification de la colonisation endomycorhizienne de <i>Sulla flexuosa</i> des cinq populations locales d'études selon les trois stades de croissance.	40

Liste des abréviations

an : Année

B : Bore

Cm : Centimètre

Cu : Cuivre

Fe : Fer

G : Grossissement

h : Heurs

Km : Kilomètre

m : Mètre

Min : Minutes

Mm : Millimètre

MS : Matière sèche

Nod : Nodulation

pH : Potentiel Hydrique

Zn : Zinc

INTRODUCTION

L'Algérie est caractérisée par une grande diversité de climat et de milieux. La variation de la température, des altitudes, de la pluviosité et des types de sol ont permis une grande diversité d'espèces fourragères.

Cette diversité se trouve en continuelle dégradation en rapport avec le changement des systèmes agraires, l'urbanisation, l'industrialisation, l'extension des populations humaines et la destruction des écosystèmes, la réduction des terres agricoles. Pour cela le recours aux ressources alternatives est nécessaire afin de remédier au déficit à un moindre coût.

Les légumineuses alimentaires constituent une composante essentielle pour la nutrition humaine et animale ainsi que pour le maintien des systèmes de production dans les zones arides et semi arides. Les légumineuses représentent une famille ayant une grande importance économique (ROCHESTER *et al*, 2001).

Là où se développent des légumineuses, les rhizobia du sol établissent une symbiose avec la légumineuse hôte (GILLER, 2001).

La symbiose légumineuse rhizobia est un processus indispensable à la plante pour acquérir l'azote sous forme réduite, mais aussi aux rhizobia pour obtenir les nutriments nécessaires à leur développement. Le végétal fournit des matières nutritives à la bactérie, celle-ci capte l'azote atmosphérique qui sera assimilé par la plante hôte (RAVEN *et al.*, 2000).

Grâce à cette symbiose une importante économie d'engrais azotés peut être réalisée. A titre d'exemple, au Brésil l'inoculation du soja (*Glycine max L.*) aux champs fournit jusqu'à 300 kg de N/ha, ce qui entraîne des économies d'engrais azotés estimés à 3 milliards de dollars (SANTOS *et al*, 2006). L'établissement de la symbiose entre le rhizobia et la plante légumineuses est un phénomène complexe. L'interaction symbiotique entre les bactéries rhizobia et les plantes de la famille des Légumineuses se traduit par la formation d'organes spécifiques, appelés nodules ou nodosités, où les bactéries sous leur forme différenciées, fixent et réduisent l'azote moléculaire en ammoniac (PERRY *et al*, 2004).

Les espèces du genre *Hedysarum* constituent d'excellente plante fourragère du fait de leurs teneurs élevés en protéines et en vitamines.

Hedysarum flexuosum appelée également *Sulla flexuosa* est une espèce qui présente une symbiose spécifique avec la bactérie du genre *Rhizobia* qui lui confère la capacité de fixer

l'azote atmosphérique et obtenir les nutriments essentiels au développement de la plante. La symbiose *Hedysarum*-Rhizobia est observée sur les racines lors de la formation d'un organe spécifique appelé les nodules au niveau desquels les bactéries sous leurs formes différenciées fixent et réduisent l'azote atmosphérique en azote ammoniac (Perry *et al*, 2004).

Sulla flexuosa est une espèce endémique et spontanée de l'Algérie et du Maroc. Elle est plus répandue sur la partie Est algérienne (Boussaid *et al*, 1995). En Algérie, bien que Kadi *et al* (2005) ont rapporté l'importance de la qualité nutritive et des valeurs fourragères équivalentes à celle de la luzerne, *Sulla flexuosa* ne reste pas moins sous utilisée et ses récoltes sont quasiment irrégulières et conditionnées par une production spontanée des champs abandonnés.

Bien que la qualité nutritive et fourragère de *Sulla flexuosa* aie suscité l'intérêt de plusieurs scientifiques, elle reste très peu documentée quant à son statut symbiotique qui a notre connaissance n'a jamais été abordée ou très peu étudiée notamment chez les populations locales Est-algérien.

Dans le cadre des recherches de l'équipe mycorhize de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques, nous nous sommes investies dans la contribution à l'étude du statut symbiotique de cinq populations d'*Hedysarum flexuosum* et à la quantification de la symbiose à différents stades de développement.

Notre travail a été scindé en trois parties :

- Une première partie bibliographique qui comporte une synthèse des connaissances sur l'espèce *Hedysarum flexuosum* et la symbiose Rhizobienne (nodule), et celle mycorhizienne.
- Une deuxième partie : la partie expérimentale comprenant les matériels et les différentes méthodes utilisées dans la réalisation de ce travail.
- Une troisième et dernière partie dans laquelle nous exposons les résultats obtenus et les discussions.

Nous terminons avec une conclusion générale.

1. Généralités sur les légumineuses :

1.1. Définition :

Les légumineuses, parfois appelées « légumes secs », sont des graines séchées provenant de plantes à gousses. Elles comprennent environ 750 genres et 20 000 espèces (Cronk *et al*, 2006). Elles représentent la deuxième famille la plus importante d'intérêt alimentaire après les Poacées (céréales).

1.2. Description des caractères diagnostiques et différentiels :

- Une gousse contenant des grains (la gousse étant le fruit issu de l'ovaire de la fleur).
- la majorité des membres de cette famille ont la capacité d'utiliser l'azote atmosphérique (N₂) pour produire ses propres composants protéiques. Cette capacité est permise par la symbiose avec des bactéries du sol fixateur de l'azote au sein d'organe spécialisés (les nodules) qui se développe sur les racines.
- Contrairement aux autres espèces cultivées, la culture des légumineuses n'a pas besoin d'apport de fertilisants azotés pour exprimer une croissance optimale.

1.3. Intérêt des légumineuses

1.3.1. Intérêt alimentaire

Les espèces de la famille des Fabacées sont à la base de l'alimentation humaine à l'échelle mondiale. En effet, elles permettent de lutter contre l'insécurité alimentaire par la richesse de leurs graines en protéines et leurs facilités à être cultivée ainsi que leurs résistances à la sécheresse par leurs systèmes racinaires fortement développés. En plus d'être économiques et polyvalentes, les légumineuses ont une excellente valeur nutritive. Elles sont :

- Riches en glucides 11 à 17g pour 100g présents sous forme d'amidon et combinés à des fibres et des protéines. Elles sont naturellement sans gluten.
- Elles constituent une alternative aux protéines animales par leurs richesses en protéines végétales (entre 20% et 40% sur les graines sèches), en glucides lents fibres, ainsi qu'en vitamines (B et C) et minéraux (fer, magnésium, potassium, calcium)
- Très riches en fibres alimentaires, ce qui contribue notamment à l'effet de satiété (sensation d'avoir suffisamment mangé) et qui est bénéfique pour le contrôle de la glycémie et la prévention des maladies cardiovasculaires.
- diminuent l'absorption des graisses et du cholestérol.
- ralentissent l'assimilation des glucides et empêchent la stagnation d'éléments indésirables dans les intestins.

- Équilibrent le transit et la flore intestinale : leurs fibres augmentent le volume des selles en cas de constipation et captent l'eau dans le tube digestif en cas de diarrhée, elles y nourrissent les bactéries amies et contribuent ainsi à la diversité et à la santé du microbiote (Motya, 2018).

1.3.2. Intérêt agronomique

Les légumineuses sont des dicotylédones formant une association symbiotique avec les bactéries *rhizobium*, ce qui leur permet de fixer l'azote atmosphérique dans les nodosités, situées au niveau des racines ou dans la partie aérienne. Cette capacité leur permet de s'adapter à tous les milieux, ce qui explique leur vaste répartition dans le monde. Ce sont souvent des espèces pionnières et amélioratrices, qui permettent d'enrichir le sol en azote pour favoriser la productivité des terres agricoles. Les légumineuses contribuent également à réduire l'utilisation d'engrais chimiques azotés.

1.4. Présentation de genre *Hedysarum* :

Le genre *Hedysarum* renferme des espèces annuelles ou pérennes, diploïdes ou tétraploïdes, autogames ou allogames (Baatout 1991 ; Boussaid et al. 1995), comprend deux groupes d'espèces :

- Un groupe asiatique et arctique (nombre chromosomique de base $n = 7$).
- Un groupe méditerranéen présentant un nombre chromosomique de base $n=8$ (Quezel et Santa 1962 ; Pottier-Alapetite 1979). Les peuplements sont caractérisés par leurs graines, qui se ressemblent naturellement, favorisent leur utilisation pour la protection des sols. Ils couvrent une large aire de répartition qui s'étend en Afrique du Nord de l'étage humide, au nord, à l'étage saharien supérieur, au sud (Trifi-Farah *et al.* 1989 ; Abdelguerfi-Berrekia *et al.* 1991 ; Boussaid *et al.* 1995).

Ce groupe méditerranéen compte 10 espèces : (Hannachi-Salhi *et al.*, 2002)

- Espèces diploïdes : *H. coronarium* L ; *H. carnosum* Desf. ;
H. spinosissimum L. deux sous-espèces subsp. *H. capitatum* Desf. Et subsp. *H. euspinosissimum* Briq ; *H. flexuosum* L. et *H. aculeolatum* Mun by [subsp. *micranthum* (Batt) Maire et subsp. *Mauritanicum* (Pomet) Maire].
- Espèces di-tétraploïdes : *H. pallidum* Desf. ; *H. naudinianum* Coss et *H. perralderianum* Coss.

- Espèces *H. humile* L. ainsi que *H. membranaceum* Coss et Bal ne sont pas définies du point de vue caryologie.

Hedysarum flexuosum Appartient au genre *Hédysarum* L. et communément appelé "Sulla", sainfoin d'Espagne ou d'Italie ou encore chèvrefeuille français, en Kabylie "thasula".

1.4.1. Systématique : Selon Quezel et Santa (1962) le Sainfoin d'Espagne est classé du point de vue systématique selon la classification suivante :

Tableau 1 : la systématique de *Hedysarum flexuosum* (Quezel et Santa, 1962).

Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Série	Caliciflores
Ordre	Rosales
Famille	Fabacées
Sous-famille	Papilionacées
Genre	<i>Hedysarum</i>
Espèce	<i>Hedysarum Flexuosum</i>

1.4.2. Caractéristiques morphologiques :

Hedysarum flexuosum L., est une espèce annuelle, souvent tétraploïde ($2n = 4x = 32$) est très polymorphe, préférentiellement diploïde ($2n = 16$) et allogame. Elle présente une morphologie proche des formes cultivées d'*H. Coronarium* (Sulla) (BOUSSAÏD *et al*, 1995). Elle est caractérisée par une pilosité plus importante et une plus grande robustesse des tiges qu'*H. coronarium*. Elle est caractérisée par des gousses généralement très flexueuses et des petites fleurs dont la carène est très arrondie dans sa partie dorsale (alors qu'elle forme un angle net chez les autres espèces).

- Les feuilles sont généralement alternes, composées pennées ou trifoliées, et stipulées. Les folioles sont douées de mouvements spontanés : elles s'ouvrent le jour et se referment la nuit (**figure 1**).

- Tiges : Elles sont ascendantes, cylindriques assez grosses, glabres et pleines. Les formes sauvages se distinguent par leur port prostré, par contre les formes domestiquées par un port érigé (Boussaid *et al.* 1995)
- La fleur est zygomorphe, pentamère, hermaphrodite, entomophile (les glandes nectarifères sont situées à la base des étamines), pourpres violacées sont de petite taille (8-12 mm) en grappes denses très allongées dont la carène est très arrondie dans sa partie dorsale (alors qu'elle forme un angle net chez les autres espèces) et fréquemment butinées par les abeilles (**figure 1**).
-



Figure 1 : Photographie des fleurs et des feuilles de *Sulla* (Schutz *et al.*, 2008 *in* Abdellaoui, 2014).

1.4.3. Les fleurs de *Sulla*

- L'inflorescence est en forme de glomérules (trèfles, anthyllis vulnéraire...) ou ombelliforme (lotus...) ou en forme de grappe plus ou moins allongées (Mélilots, glycine...).
- Le calice a des sépales soudés à 5 dents, avec parfois 2 lèvres (les genêts).
- La corolle avec un pétale supérieur (l'étendard) recouvre les 2 pétales latéraux (ailes), qui recouvrent eux-mêmes les deux pétales de la carène.
- L'androcée est composé de 10 étamines soudées entre elles par leur filet.

- Le gynécée 1 ovaire supère, 1 seul carpelle allongé.
- Le fruit est une gousse ou un légume (1-3 cm) est flexueux. Sec et déhiscent, la gousse peut contenir 1 seule graine (les trèfles), 2 graines (l'anthyllis) ou plusieurs graines. Elle peut être, longue ou courte, spiralée ou droite, renflée en vessie
- Les graines (2.5 x 25 mm) sont réniformes ou ovoïdes, elles sont luisantes, de couleur marron ou jaunâtre à radicule fortement saillante (Boussaïd et al. 1989).
- **La Formule florale est (5S) + (5P) + (9+1E) + (1C).**
- Le système racinaire de type pivotant, représenté par une racine principale pivotante et des racines secondaires bien développées, munies de nombreuses nodosités fixatrices d'azote atmosphérique (**figure 2**) (Lapeyronie, 1982).



Figure 2 : système racinaire de Sulla (Aklil, 2021)

1.4.4 Répartition géographique :

Les espèces du genre *Hedysarum* sont répandues dans le monde où elles poussent spontanément sur des sols variés et dans des conditions climatiques différentes présentant aussi une grande diversité.

Dans le bassin méditerranéen, l'aire de répartition de l'espèce est relativement limitée. Elle s'étend du sud de la péninsule Ibérique à l'Afrique du Nord (Killian, 1939 ; Boussaïd *et al.* 1995 ; Abdelguerfi-Berrakia *et al.* 1991). L'espèce est absente en Libye, Tunisie, Egypte et en Mauritanie (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). Au Maroc, l'espèce est représentée

par des populations de taille réduite couvrant 1 à 3 ha chacune, particulièrement dans les régions de Tanger, Tétouan et Asilah.

En Algérie, l'espèce est plus représentée. Elle est disponible au centre du pays notamment dans la région de Tizi-Ouzou où elle pousse spontanément et abonde sur les pentes septentrionales de l'Atlas mitidjien et manque sur les hauts plateaux. Elle se représente au Sud de l'Europe notamment dans le Sud de la France, les îles de Sardaigne et de Malte, Asie mineure, Sibérie, Amérique du Nord et dans les régions arctiques (Squartini *et al.* 2002 ; Issolah *et al.*, 2006).

1.4.5. Exigences écologiques

1.4.5.1. Exigences climatiques

Le sainfoin d'Espagne est une espèce qui se développe sous les étages caractérisés par une pluviométrie élevée (supérieure à 550 mm/an), à des altitudes moyennes (Jamais au-dessus de 600 m).

Le Sulla exige un climat subtropical. Il pousse bien pendant l'hiver, si celui-ci est doux ; dans la région méditerranéenne, il supporte également l'hiver moyennement rigoureux, le froid marqué est nuisible au Sulla, qui ne résiste généralement pas si les températures s'abaissent fréquemment et longtemps au-dessous de - 4 C° (Foury, 1954 in Belarbi, 1998).

1.4.5.2. Exigences édaphiques :

Hedysarum flexuosum se développe le plus souvent sur des sols de pente très prononcée, peu caillouteux, riches en limons, pauvres en sable, de texture très fine à fine, de pH compris entre 6,2 et 8,1, à conductivité très faible pauvres en potassium et en phosphore. Elle est plus rare sur les sols ayant une teneur de plus de 25% de calcaire total (Abdelguerfi-Berrekia *et al.* 1991)

1.4.6. Les compositions chimiques d'*Hedysarum flexuosum*:

1.4.6.1. *La matière sèche* : sa quantité étant en relation directe avec la morphologie de la plante évolue du stade végétatif jusqu'au stade floraison.

Tableau 2 : évolution de la teneur en matière sèche des différentes parties morphologiques d'*Hedysarum flexuosum* au stade végétatif et floraison. (Kadi *et al.*, 2019)

	Stade végétatif	Stade floraison
Plante entière	13, 88%	18, 18%
feuilles	13 ,55%	22 ,13%
Tige	8, 56%	17, 00%

La teneur de la matière sèche évolue de stade végétatif jusqu'au stade floraison dans les différents organes de la plante. La richesse du sainfoin d'Espagne présente des taux élevés en matière sèche dans la plante entière 18,18% au stade floraison et notamment au niveau des feuilles avec des taux record de 22,13%.

1.4.6.2. La matière minérale totale :

Les légumineuses sont généralement beaucoup plus riches en minéraux que les graminées.

Goumiri et Abdelguerfi (1989) rapportent une concentration en éléments minéraux dosés dans les plants des populations récoltées au stade végétatif d'une valeur de 17,39% concernant les différentes parties de cette légumineuse, bien plus élevées que celle rapporté par Zirmi-Zembri *et al* (2020), qui rapportent une teneur en matière minérale pour la plante entière qui varie entre 12, 48% au stade végétatif) et 14, 20% pendant le stade floraison.

1.4.6.3. Calcium et cendre insoluble :

Chez *Hedysarum flexuosum* la teneur en calcium est maximale au stade fin bourgeonnement qui représente un taux de 2% de matière sèche totale des plants.

La teneur en cendre insoluble des échantillons de la plante entière d'*Hedysarum flexuosum* varie de 12, 32 à 14 ,78% de Matière sèche.

1.4.6.4. La matière azotée :

La teneur en matière azoté totales augmente de stade végétatif jusqu'au stade floraison. Le taux de la matière azotée totale pour la plante entière varie de 16,4 à 22,5% MS d'après les résultats obtenu par Zirmi-Zembri *et al* (2020) qui est supérieure à la moyenne enregistré par Goumiri et Abdelguerfi (1989) qui est de 14,91%MS.

La teneur en matière azotée pour les feuilles est plus important (17,5%MS et 18%MS) que pour les tiges (12,77%MS et 12,45%MS) et ce de fait que les feuilles sont les organes les plus riches en protéines et autres substances nutritive.

1.4.6.5. Les acides aminés :

Les protéines d'*Hedysarum flexuosum* sont riches en lysine et pauvre en méthionine et cystine (Sauvant, 2004) ce qui est confirmé par leur valeur représentée dans le tableau suivant selon (Kadi *et al*, 2020).

Tableau 3 : Teneur d'*Hedysarum flexuosum* en différents acides aminés (en g /100g MS) aux stades bourgeonnement et floraison :

stade	Arginine	Cystine	Leucine	Lysine	Méthionine	Thréonine	Tyrosine
bourgeon	1,05	0,5	1,61	0,91	0,35	0,88	0,74
floraison	0,60	0,16	0,85	0,60	0,18	0,57	0,39

1.4.6.6. La matière grasse :

La concentration des matières grasses dans les légumineuses est toujours faible, soit, 3 à 5% MS dans une plante à maturité. On trouve des petites quantités d'acide gras saturés et proportion élevée d'acide gras non saturés (Lapeyronie, 1982). Chez *Hedysarum flexuosum*, la teneur en matière grasse est relativement très importante et enregistre une teneur plus importante au niveau des feuilles au stade floraison (**tableau 4**).

Tableau 4 : la teneur en matière grasse chez *Hedysarum flexuosum* au stade végétatif et floraison.

	Stade végétatif	Stade floraison
Plante entière	1,73	2,97
feuilles	3,6	4,19

1.4.6.7. Cellulose brute :

Selon l'étude de Zembri et Kadi (2020), les populations locales du sainfoin d'Espagne sont riches en cellulose brute avec un minimum pour la plante entière au stade végétatif de 15,5% et un maximum au stade floraison 19,87%.

1.4.7. Usages fourragères d'*Hedysarum flexuosum* :

L'introduction d'*Hedysarum flexuosum* dans le système de production algérienne peut permettre de pallier au déficit fourrager chronique (Abdelguerfi, 2007) et serait d'un grand

secours pour les éleveurs vu leurs teneurs élevées en protéines, vitamines et leurs capacités à fixer l'azote atmosphérique.

En effet, l'intégration de *Sulla flexuosa* dans l'alimentation des animaux a un impact positif sur la production de la viande et lait chez les ovins (Burke et al ,2002 ; Bonnano et al, 2007 ; Molle *et al*, 2009). De plus, elle permet une meilleure vitesse de croissance et indice de consommation grâce à sa teneur élevée en fibres et protéines (Kadi *et al* ,2012).

Sulla en vert est caractérisée par une bonne digestibilité de sa matière organique et leurs teneurs en paroi cellulosique et plus spécifiquement en lignine.

Sulla en pâturage représente chez les populations locales un pâturage hivernal et printanier de bonne valeur nutritive et est un pâturage naturel de grande valeur (Abdelguerfi-berrakia *et al*, 1991).

H. flexuosum devait être récoltée ou pâturée au stade bourgeonnement ou au plus tard début floraison (Kadi *et al* ,2012a)

1.4.8. Intérêt environnemental :

Hedysarum flexuosum participe à la valorisation des jachères et leurs enrichissements en azote organique. De plus, elle contribue à la protection des sols marneux et marno-calcaire en pente (Killian, 1939 ; Boussaid *et al*, 1995 ; Abdelguerfi-Berrakia *et al*, 1991). L'affouragement, est une méthode de lutte contre l'érosion et l'enrichissement de sol de la matière organique et l'azote et l'amélioration des propriétés physique de sol (Trifi et Farah, 1989 a ,1989 b) par son système racinaire profond et puissant. Cette méthode joue un rôle floristique dans l'amélioration de la fixation biologique et la fertilité organo-chimique de sol (Slim *et al*, 2008)

1. Interactions plantes-microorganismes

Le sol n'est pas seulement le support dans lequel les plantes s'enracinent et puisent les éléments nutritifs indispensables à leur développement. Il est surtout un milieu vivant qui héberge de très nombreux microorganismes (Procaryotes et Eucaryotes) qui se nourrissent par les composés photosynthétiques de la plante, mis à leur disposition (Claude, 2009 ; Aurélie, 2010).

De nombreuses interactions sont observées entre les plantes et les micro-organismes, ces interactions peuvent affecter positivement le développement par l'amélioration de la croissance des plantes et la résistance aux stress biotique et abiotiques (Aurélie, 2010 ; Djigal, 2003 ; Clémentine, 2013).

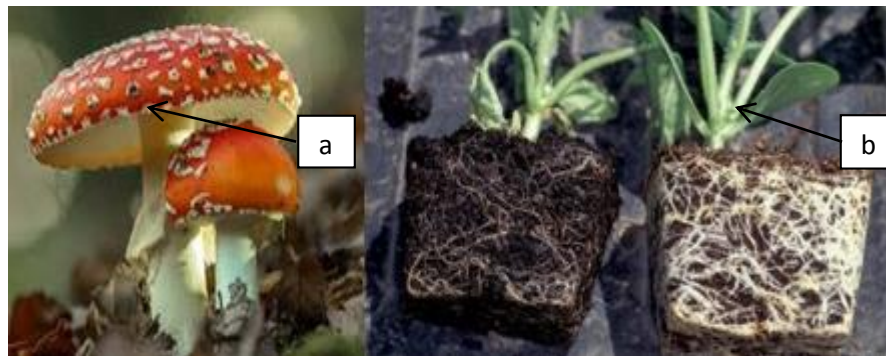


Figure 3 : Illustration de l'interaction plante-champignons (a-fructification du champignon, b-plante hôte) (Silk666 / wikimedia.org).

2. Symbiose rhizobium-légumineuses

La première description de la symbiose a été rapportée par Frank (1889). La symbiose est un terme signifiant vivre ensemble de manière durable et réciproquement profitable, entre deux organismes vivants. Elle permet l'enrichissement naturel du sol en azote et la réduction des apports d'engrais. Le mot Rhizobia prend ces origines de deux mots grecs Rhiza : root et Bios : vie et qui signifie celui qui donne la vie dans la racine. Elles sont des bactéries Gram négative (Sato *et al*, 2005).

La symbiose Rhizobium-légumineuses est responsable de la fixation d'environ 50% d'azote par an (Trichant *et al*, 1997).

3. la symbiose chez *Hedysarum flexuosum*

3.1. Définition des nodules

Les nodules : une petite excroissance comme une tumeur, une grosseur ainsi une hypertrophie racinaire, caulinaire ou foliaire liée à une symbiose bactérienne. En botanique : les

nodosités sont présentes sur les racines d'*Hedysarum flexuosum* sous l'action de bactéries *Rhizobium Sullea* fixatrice d'azote qui produisent de petits fragments d'ARN dérivé de l'ARN de transfert qui influencent l'expression des gènes de plante aidant à créer les nodules. C'est un organe d'échange métabolique entre les bactéries (Rhizobia) et la plante hôte (*Hedysarum flexuosum*).

3.2. La formation des nodules

Le processus de la formation des nodules s'appelle la nodulation. Elle est considérée comme la première caractéristique de l'association symbiotique qui est strictement contrôlée par des mécanismes d'autorégulation interne de la plante hôte (Lohar *et al*, 2009).

Dans l'interaction, la plante hôte (*Hedysarum flexuosum*) et le *Rhizobium sullea*, les composés phénoliques exsudés par la plante entraînent chez la bactérie la production de lipooligosaccharides spécifiques appelés les facteurs nod, ce sont des signaux moléculaires qui déclenchent la division des cellules corticales de la racine conduisant la formation d'un organe différencié : le nodule (Fatou, 2002).

A l'intérieur du nodule, les rhizobia se différencient en bacteroides qu'ils échangent avec la plante contre les produits de la photosynthèse (Rajaonarimamy, 2010).

Hedysarum flexuosum est l'une des légumineuses caractérisée par ce processus par une association entre le *Rhizobium Sullea*

Cette dernière appartenant au genre bactérien fixateur d'azote associée aux espèces du genre *Sulla*. En effet, Squartini *et al*, (2002) rapportent qu'elle est l'unique espèce de bactérie de la famille des Rhizobiales capable de noduler les espèces du genre *Hedysarum*.

Le couple « *Rhizobium Sullea* et *Hedysarum* » présente un haut degré de spécificité. Les Rhizobies nodulant le *Sulla* sont absents dans les sols où cette espèce ne se développe pas spontanément (Casella *et al*, 1984 ; Glatzle *et al*, 1986 ; Mozo *et al*, 1988).



Figure 4 : Souche de *Rhizobium sullea* en utilisant la microscopie électronique à balayage (a) à transmission (b) et l'apparition de la morphologie de la colonie sur un milieu solide (c) (Yates *et al*, septembre 2015).

3.3. Structure des nodules

Ils présentent une structure similaire à celle d'une tige (Svitoonooof ,2003), constituant d'un tissu périphérique qui assure les échanges avec le reste de la plante et la protection des tissu interne est formé de :

- Cortex externe : cellules parenchymateuses
- Cortex moyen
- Des tissus vasculaires constitue de phloème entoure par un endoderme péricycle.
- Cortex interne

En plus d'un tissu centrale parenchymateux : contient les cellules infectées par les rhizobia et cellules non infectées, c'est le siège de la fixation de l'azote (**figure 6**).

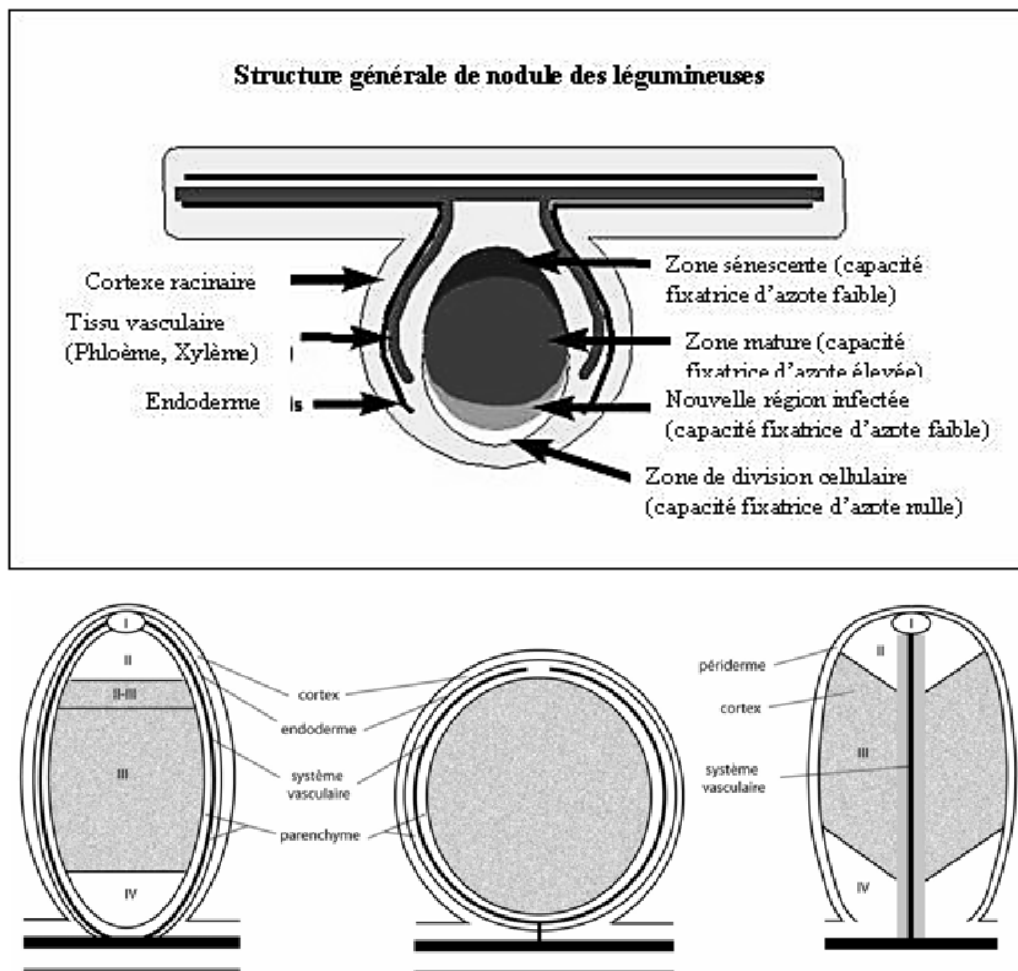


Figure 5 : structure des nodules de légumineuses (Fitouri, 2011).

3.4. Fixation de l'azote

Dans le système de production agricole, après l'eau, l'azote est l'élément nutritif qui limite le plus la croissance des végétaux. Il est un élément important qui se trouve sur terre, les sédiments et l'atmosphère mais là plus part de cette azotes est difficilement accessible pour la plante que par ces formes minérale (NO_3^-) ou d'ammonium NH_4 .

La fixation de l'azote est réalisé grâce à un organe qui se trouve au niveau des racines : les nodules, par la fixation biologique d'un complexe enzymatique nommé Nitrogénase qui catalyse la réduction de l'azote en ammoniac (Hopkins, 2003).

4. La symbiose mycorhizienne

La symbiose mycorhizienne caractérise la plupart des végétaux terrestres. Elle existe chez près de 90% des plantes. Le champignon entre en interaction très étroite avec le végétale, se développant simultanément à l'intérieur des racines de la plante hôte et dans le sol (Duhoux, 2004 ; Rajaonarimany, 2010 ; Soualmia, 2010).

La symbiose mycorhizienne est une association qui aboutit à la formation d'un véritable organe mixte formé de tissu de la plante hôte et celui du champignon mycorhizien : les mycorhizes (Smith et Read, 1997).

A l'œil nu, les mycorhizes s'observent sur la racine soit lisse soit avec des extensions en filaments blanchâtres jaunes pales ou blanc rosé au contact et à proximité des racines.

4.1. Définition des mycorhizes

Le terme mycorhize a été utilisé par Frank en 1877, un pathologiste forestier allemand qui l'observa pour la première fois sur les racines des arbres qui trouve sa racine dans le grec mukos : champignon, rhiza : racine (Abbas, 2014).

4.2. Les différents types des mycorhizes

Il existe deux classes de mycorhizes d'importance pour les sols agricoles : les ectomycorhizes et les endomycorhizes (**figure 7**).

4.2.1. Les ectomycorhizes :

Du grec ekto : à l'extérieur où les champignons se développent essentiellement autour de la racine, en formant un manchon mycélien (le manteau) à partir duquel se développent des hyphes qui s'insèrent entre les cellules corticales de la racine (réseau de Hartig) .Les champignons colonisent seulement les espaces intercellulaires du cortex racinaire et les hyphes ne franchissent jamais la barrière cellulaire (Dexhimer, 1997 ; Giri et al, 2005).

4.2.2. Les endomycorhizes

Du grec endon : à l'intérieur caractérisé par l'absence de manchon mycélien externe et la pénétration des hyphes fongiques dans les cellules corticales (Smith et Read ,2008), ne se cultivent pas et ne sont visible qu'après coloration. Elles sont les associations les plus répandu à l'échelle planétaire (Smith et Read, 1998 ; Giri *et al*, 2005). Les champignons pénètrent dans les cellules de l'hôte où se différencie des structures particulières qui permettent de distinguer différentes structures endomycorhiziennes : arbuscules, vésicules et pelotons.

Les champignons endomycorhiziens sont des espèces de la classe des Zygomycètes. Ils sont des espèces non spécifiques qui s'associent aux espèces forestières, agricoles et horticoles (Smith et Read, 2008). Elles représentent 14 familles, 29 genres et environs 230 espèces de champignons. Elle est une symbiose qui ne modifie aucunement la structure de la racine (Strullu, 1990).

Il existe trois types d'endomycorhizes selon (Smith et Read, 2008) :

1. Les endomycorhizes arbutoides des Ericacées
2. Les endomycorhizes orchidoïdes des Orchidées
3. Les endomycorhizes à arbuscules

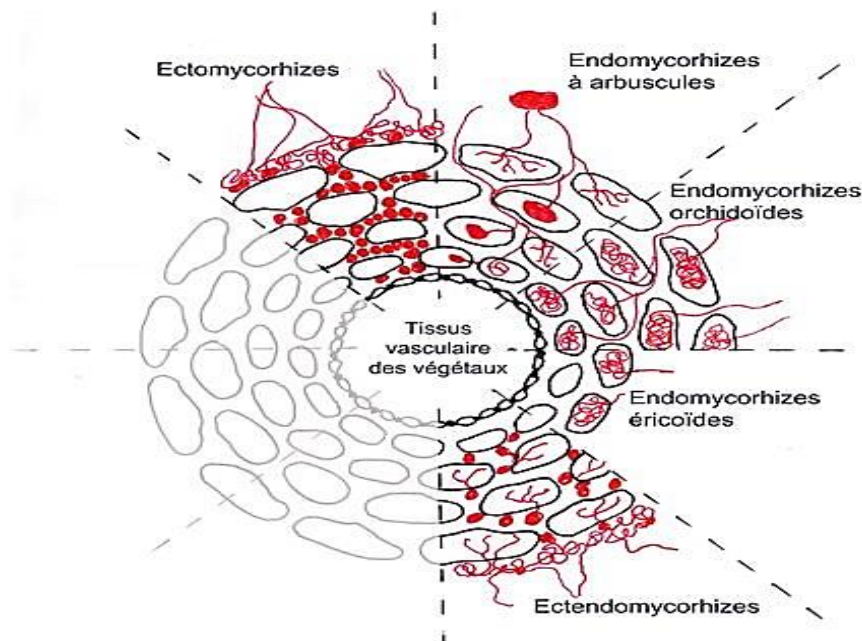


Figure 6 : principaux types mycorhiziens représentés sur une coupe transversale de racine (<http://www.osi-perception.org/Presentation-des-mycorhizes.html>).

4.2.3. Les endomycorhizes à arbuscules

Le type le plus répandu, concernent environ 80% de toutes les espèces végétales terrestres : les Fougères, les Lycopodes et les Hépatiques et la majorité des plantes à fleurs Monocotylédones et dicotylédones (Smith et Read 1998 ; Brundrett, 2002 ; Fortin et al, 2008).

4.3. Structures endomycorhiziennes**4.3.1. Arbuscule**

Est une structure microscopique unique que développent les champignons endomycorhiziens dans les cellules corticales des racines (Dexheimer, 1997). C'est une ramification latérale des hyphes fongiques dans les cellules du cortex racinaire où le champignon pénètre et croît à l'intérieur. La membrane de la cellule hôte s'invagine et enveloppe le champignon, ce nouveau compartiment fournit un contact direct entre le champignon et la plante. Le champignon pénètre de façon subtile sans trop perturber les structures cellulaires.

4.3.2. Vésicule

La vésicule est une structure de stockage à paroi fine, à contenu lipidique et apparaît généralement dans les espaces intercellulaires (Limam, 2016).

4.3.3. Les hyphes

Produit par le champignon mycorhizien à arbuscule, est un organe de propagation peut coloniser autre plante que la plante dont ils sont issus. Ont la capacité d'absorber l'eau et des éléments nutritifs tels que Cu, Zn, B, Fe et Mn qui sont important pour la croissance, la formation des nodules et le remplissage des graines.

Les hyphes extra matriciels constituant une nouvelle structure fonctionnelle qui se termine par des spores isolée ou regroupée en grappes à partir des hyphes extra racinaire

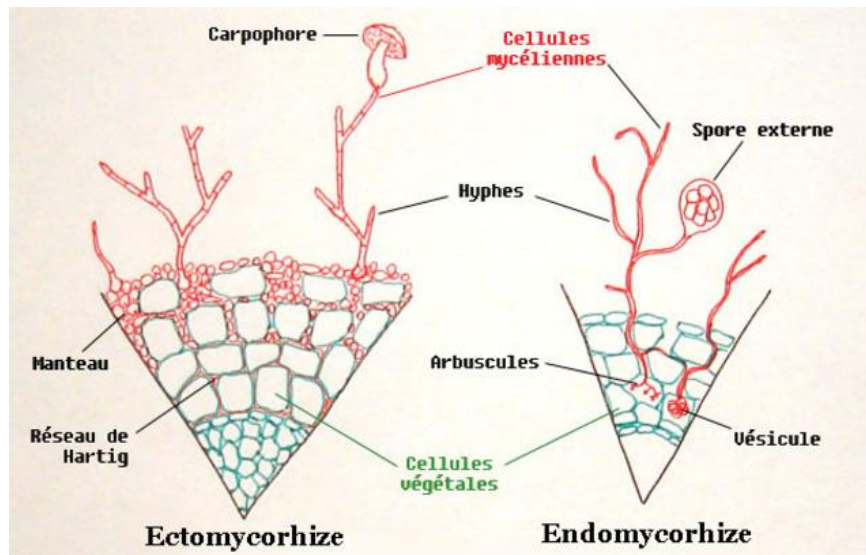


Figure7 : Structures caractéristiques des champignons mycorhiziens arbusculaires (VAM)

4.4. Rôles de mycorhizes

- Jouent un rôle bénéfique dans la fixation de l'azote atmosphérique favorisent l'infection des racines par des Rhizobia et la formation des nodules qui permettent à la plante d'accéder à l'azote (Laurence, 2014).
- Les champignons secrets des régulateurs de croissance qui accroissent le développement de système racinaire plus dense, plus ramifié aussi une action détoxifiante sur le sol dans l'environnement directe des racines.
- Absorption du phosphore et d'eau grâce au réseau d'hyphes du champignon qui colonisent le sol qui offrent une plus grande surface d'absorption avec le substrat.
- Les mycorhizes représentent une association très ancienne, et qui semblent à avoir joué un rôle déterminant au cours de l'évolution dans le passage des plantes de leur milieu aquatique originale vers la vie terrestre (Remy et al, 1994).
- Joue un rôle considérable dans le fonctionnement et la stabilité des écosystèmes naturels et agricoles, représentent la solution la plus indiquée pour les programmes de reforestation de reboisement et de réhabilitations des sols pauvres et dégradés.
- La protection contre les phytopathogènes, les plantes sont soumises à des agressions diverses provoquer par des bactéries nématodes, d'insectes et des champignons pathogènes mycorhizes ont des effets bio protecteur contre les différents phytopathogènes.

- Résistance à la sécheresse par la réduction de taux de transpiration par sa capacité à réguler leur niveau d'ABA (acide abscissique).
- Les mycorhizes fournissent l'énergie du soleil emmagasinée sous forme de carbone liquide a une vaste gamme de microbes de sol impliqués dans la nutrition des plantes et la suppression des maladies.
- Les mycorhizes présentent une meilleure conductivité.
- Joue un rôle dans le processus d'agrégation des particules de sol et stimulent l'activité microbienne améliorant par conséquent la circulation des gaz et la rétention de l'eau (Bendaira, 2016 ; Laurence ,2014 ; Hopkins, 2003).

5. La symbiose tripartite

En 1993, Ianson et Linderman ont découvert que les Fabacées établissaient des associations intimes avec les Mycorhizes et les *Rhizobiums*. Cette association est une véritable symbiose mutualiste tripartite.

Depuis des millions d'années, la symbiose tripartite joue un rôle considérable dans le fonctionnement des écosystèmes naturels et dans la nutrition phosphatée et azotée des plantes.

- Meilleure productivité : Les chercheurs ont découvert que la symbiose mycorhizienne assure l'apport de phosphore nécessaire au fonctionnement de la symbiose fixatrice d'azote et l'augmentation de l'absorption du phosphore par le champignon mycorhizien améliore également le fonctionnement de la nitrogénase, enzyme active dans la nodulation, permettant ainsi une fixation d'azote plus importante. La carence de phosphore dans les sols constituent le principal facteur limitant l'établissement de la symbiose fixatrice d'azote (Smith et Read, 1997).
- Vidal-Dominguez et al (1994) ont mis en évidence la présence d'hyphes et de spores de champignons endomycorhiziens dans des nodules de légumineuses. En contrepartie, l'amélioration de la fixation d'azote permettrait un meilleur développement du champignon via une meilleure croissance racinaire (Smith et Read, 1997).
- En général, cette association est très bénéfique pour les plantes : croissance meilleure pour celles-ci, augmentation des rendements, meilleure contrôle des maladies, facilite la nutrition azotée et phosphatée et une plus grande résistance à la sécheresse

1. Objectif du travail

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche de l'équipe mycorhizes de la faculté de science biologique et agronomique de l'UMMTO. Le but de cette contribution est la quantification de la symbiose endomycorhizienne et rhizobienne des plants *Hedysarum flexuosum* des populations locales de la région de la Kabylie (wilaya de Tizi-Ouzou) selon un gradient altitudinal et à travers les trois phases de développement à savoir les stades végétatifs, floraison et fructification. Pour cela, nous avons choisi les populations des stations : Tigzirt au niveau de l'Oued à 33m d'altitude représentant la limite inférieure de son aire biogéographique, les populations des stations Tizi-Ouzou, Tirmatine et Boghni considérées comme représentant l'optimum de son aire de répartition et enfin la population de la station d'Assi Youcef culminant à 600m d'altitude et marquant la limite supérieure de l'aire de répartition de *S. flexuosa* dans la wilaya de Tizi-Ouzou (**Tableau 5**)

2. la présentation des stations d'étude

Hedysarum flexuosum espèce qui accuse une régression inquiétante de son aire de répartition naturelle, en plus de son endémisme à la région Est méditerranéenne, elle est de se fait classée espèce à risque de disparition. La collecte de 5 plants par stade et par station a été réalisé soit un totale de 75 plants de *Sulla flexuosa* ont été observés. Un échantillonnage subjectif selon les caractères observés lors de la collecte à savoir absence / présence de fleur et présence de fruit a été réalisée du mois d'avril jusqu'à la fin de mois de juin selon les différents stades de développement de *S. flexuosa* :

Le stade végétatif : l'échantillonnage a été réalisé pendant le mois d'Avril. Nous avons collecté les 5 plants pour chaque station qui ne présente que des feuilles ou des bourgeons floraux fermés.

Le stade floraison qui correspond la période de fleurs. Nous avons réalisé la collecte de 5 à 7 plants pendant la période du mois de Mai.

Le stade fructification l'échantillonnage a été réalisé au début de l'apparition des gousses de fruit correspondant à la fin du mois de juin.

Tableau 5 : caractérisations géographiques et bioclimatiques des différentes stations d'études (selon Meddour, 2010 et la classification de Koppen-Geiger) (<https://www.planificateur.a-contresens.net>)

	Assi Youcef	Boghni	Tigzirt	Tirmitine	Tizi-Ouzou
altitude	600m	500m	33m	400m	663 m
superficie	26,28km	51,50km	41,68km	32,91km	3568km
Coordonnées géographiques	36°30'26''N 4°1'7''E	36°32'37''N 3°57'08''E	36°53'35''N 4°07'21''E	36°39'43''N 3°59'05''E	6°21'53''N 4°03'16''E
Précipitation selon la classification de Koppen-Geiger	720mm	720,1 mm	720,1mm	720mm	589,1mm a 1997 ; 840,2mm a 2012 Selon Meddour
T	18,5 C	34C°	18,5C°	17,4C°	12,6C°
M (°c)	27,9C°	31C°			24,6C°
M (température minimale)	10,5C	1C°			18,6C°
Climat classification de Koppen	Csa(Hot-summer Mediterranean climate)	Csa(Hot-summer Mediterranean climate)	Csa(Hot-summer Mediterranean climate)	Csa(Hot-summer Mediterranean climate)	Csa(Hot-summer Mediterranean climate)

3. Méthode d'analyse du sol :

3.1. Conductivité électrique (CE):

La CE correspond à l'aptitude d'une solution à laisser passer un courant électrique. Elle augmente avec la salinité de cette dernière. La salinité est la quantité des sels dans les

sols (Becker *et al*, 2004). Afin de déterminer la conductivité du sol des 5 stations d'étude, nous avons suivis le protocole :

Nous avons ajouté 50 ml H₂O distillée (rapport 1/5 terre/eau) à 10g de sol sèche pendant 3 jours soumis à une agitation de 5 à 10 min sur un agitateur sous l'effet des barreaux magnétiques. Après un repos de 2h la solution est prête à la lecture avec un conductimètre.



Figure 8 : protocole de la détermination de la conductivité électrique

3.2. pH eau

Le pH mesure le niveau d'acidité au d'alcalinité d'une solution. Il fournit une valeur sur une échelle de 0 à 14 (Boyle and Paul, 1988).

Une pesée de 20g de sol séché pendant 3 jours au quelle 50ml d'eau distillés sont ajouté et soumise à une agitation grossière de 5 à 6min puis laissez reposer pendant 1h. La lecture de la valeur est réalisée sur l'afficheur du pH-mètre de paillasse Hanna (**Figure 10**).

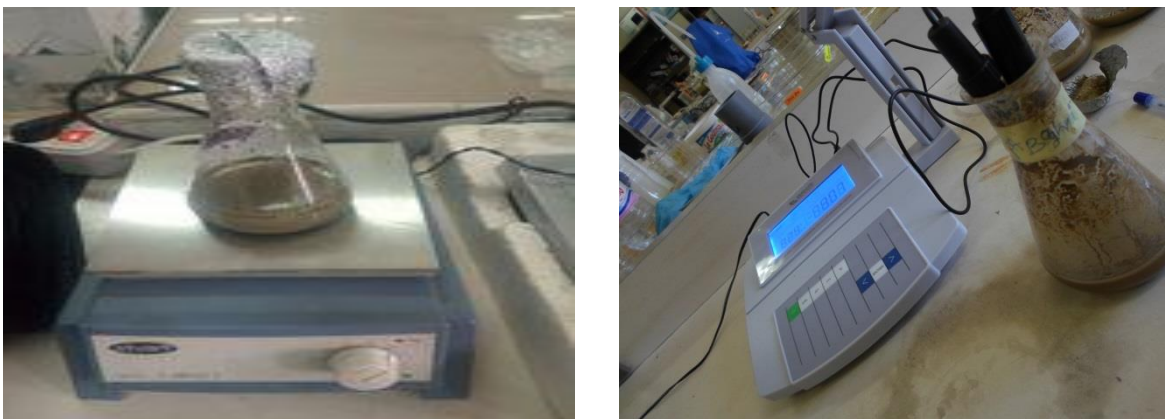


Figure9 : Protocole de détermination du pH du sol des 5 stations d'étude

4. Méthode d'observation de la symbiose

4.1. Symbiose rhizobienne :

Afin de caractériser la symbiose rhizobienne chez *H. flexuosum*, nous avons réalisé un comptage direct sur une longueur racinaire cumulée de 50 cm, pour cinq plants collectés au niveau des stations d'étude.

Les racines et les nodules préalablement comptés afin de déterminer l'intensité de la colonisation rhizobienne (**figure11**). Après rinçage délicat à l'eau de robinet, 5 nodules par population et par stade de développement ont été sujet à des coupes anatomiques afin de mettre en évidence l'efficacité de l'activité symbiotique de la nodosité (**Figure12**). La concentration de légghémoglobuline dans les nodules est un paramètre évoquant l'intensité de l'activité rhizobienne et d'échange entre les bactéries et la cellule végétale (Ott *et al*, 2005 ; Valverde *et al*, 2005). Afin, d'apprécier l'efficacité de la symbiose rhizobienne chez *Sulla flexuosa*, nous avons noté la coloration des nodules observés selon le code suivant :

Blanc : code 1 correspondant à l'absence d'activité rhizobienne

Rose claire : code 2 correspond à une activité faible de d'activité rhizobienne

Roze foncée : code 3 correspond à une activité moyenne d'activité rhizobienne

Rouge : code 4 correspond à une forte activité d'activité rhizobienne

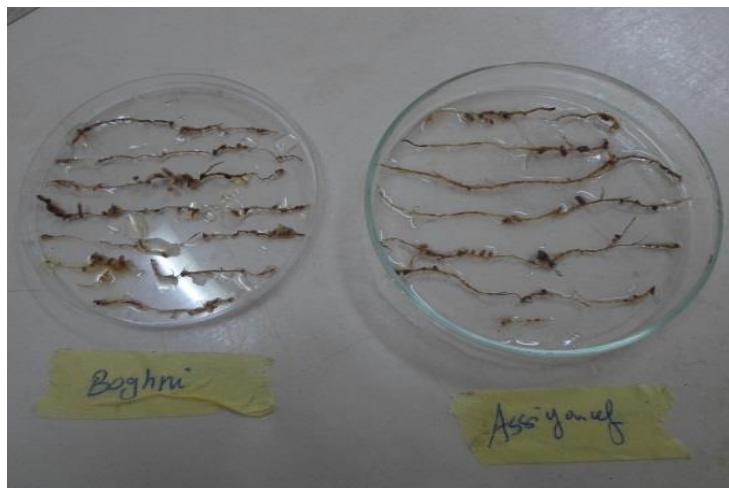


Figure10 : Méthode de comptage directe des nodules sur les fragments racinaires de *Sulla flexuosa*

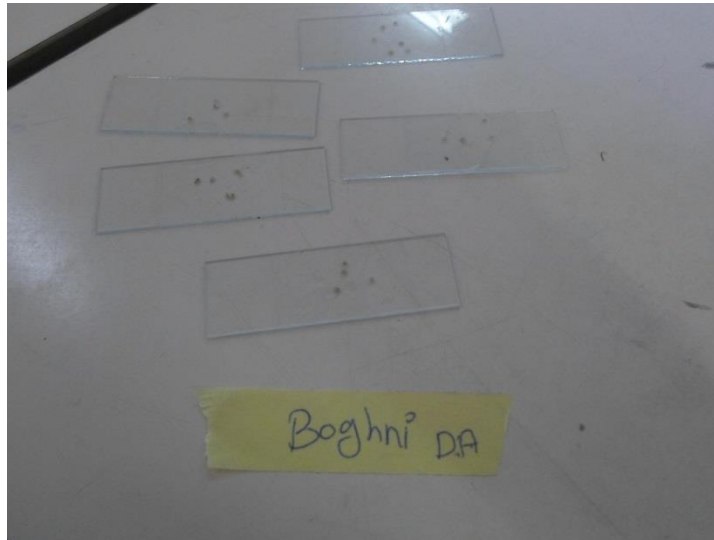


Figure 11 : Disposition des coupes anatomiques des nodules de *S. flexuosa* prêtes à l'observation

4.2. Symbiose endomycorhizienne

Une partie du système racinaire soit 50cm a été rincée et vidée selon le protocole de Phillips et Hayeman (1970) qui consiste à Mettre les racines dans la potasse pendant 1h45min. Rincées à l'eau distillée, les racines sont traitées à l'eau oxygénée pendant 5min, rincer à l'eau distillée une seconde fois, et baignées dans de l'acide lactique pendant 5min. Une coloration avec du bleu de trypan est réalisée et les racines sont disposées sur une plaque chauffante pendant 15min pour chauffage.

Une fois colorées, les racines sont découpées en fragments de 2cm. 5 fragments par lame sont disposés parallèlement les uns aux autres entre lame et lamelle dans une goutte de lactoglycerol.

Un total de cinquante fragments racinaires (2cm*50) pour chaque population et chaque stade de développement sont observé sous un microscope photonique au grossissement 100 puis 400 ($G \times 10$ et $G \times 40$). L'observation des lames a permis de déterminer la présence de structures endomycorhiziennes et de quantifier l'infection endomycorhizienne de *S. flexuosa*.

L'estimation de la colonisation endomycorhizienne est exprimée selon la méthode de Trouvelot *et al*, 1986 qui permet de calculer les paramètres de l'infection mycorhizienne et qui consiste en 4 niveaux d'appréciation :

4.2.1. La fréquence de mycorhization (F) : qui reflète le degré d'infection de système racinaire.

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

N : nombre de fragments observés

n_0 : nombre de fragments sans trace de mychorization

4.2.2. m : intensité de mychorization absolue qui exprime la portion de cortex colonisée par rapport à l'ensemble de système racinaire

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

L'intensité de mycorhization (M) : intensité de mychorization relative

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

n_5, n_4, n_3, n_2 et n_1 sont les nombres de fragments respectivement notes dans les cinq classes d'infection marquant l'importance de la mycorhization à savoir : 5=abondance Plus de 95% ,4= abondance de 50a 95%, 3= abondance 30 à 50% ,2= abondance de 1 à 30% et 1=abondance 1% du cortex (**Figure13**)

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

$$A\% = a \times M / 100$$

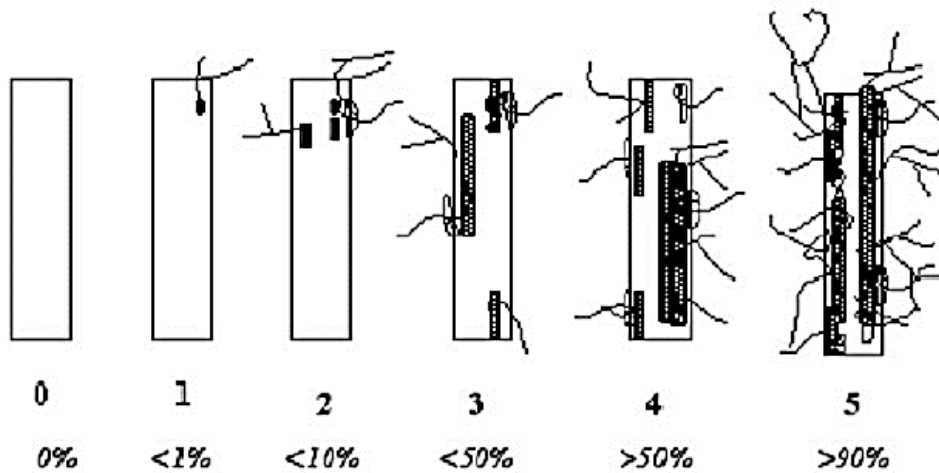


Figure 12 : classe de l'infection d'un fragment racinaire (Phillips et Hayeman, 1970)

4.2.4. La teneur en arbuscule (a) de la partie mycorhizée : $a\% = (100 m_{A3} + 50m_{A2} + 10m_{A1}) / 100$

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

$$m_{A1} = (95n_5 A_i + 70n_4 A_i + 30n_3 A_i + 5n_2 A_i + n_1 A_i) / N$$

$n_4 A_i, n_4 A_i, n_3 A_i, n_2 A_i, n_1 A_i$ sont respectivement les nombre de fragments notes $5A_i, 4A_i, 3A_i, 2A_i$ et $1A_i$

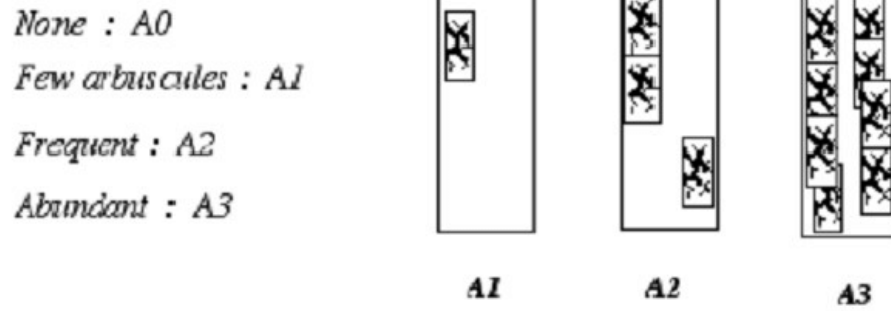


Figure 13: estimation de l'abondance des arbuscules dans un fragment racinaire

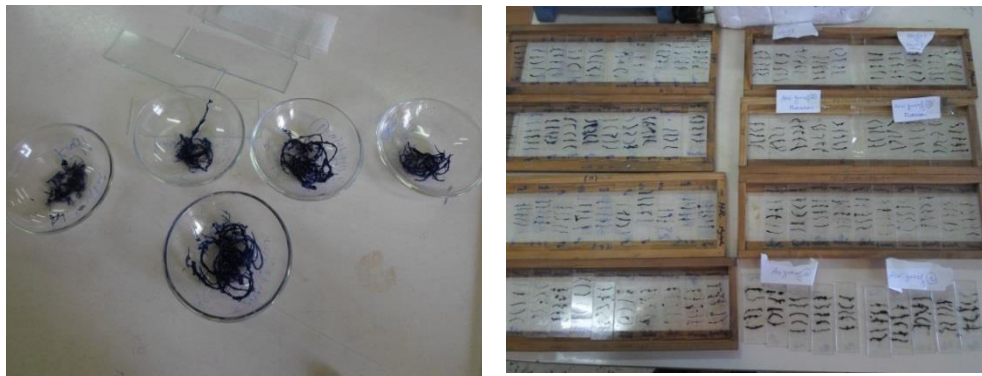


Figure 14 : protocole de détermination de l'abondance arbusculaire et l'infection dans un fragment racinaire

5. Traitement statistique :

Les moyennes et les écarts types ainsi que les teneurs sont calculés avec Excel de Microsoft office 2010.

1. Propriété de sols :

L'analyse des paramètres pH eau et conductivité électrique des sols des cinq stations concernées par notre étude a permis d'enregistrer un pH faiblement alcalin (le Clech, 2000) et conductivité électrique rapportés dans le (**tableau 6**)

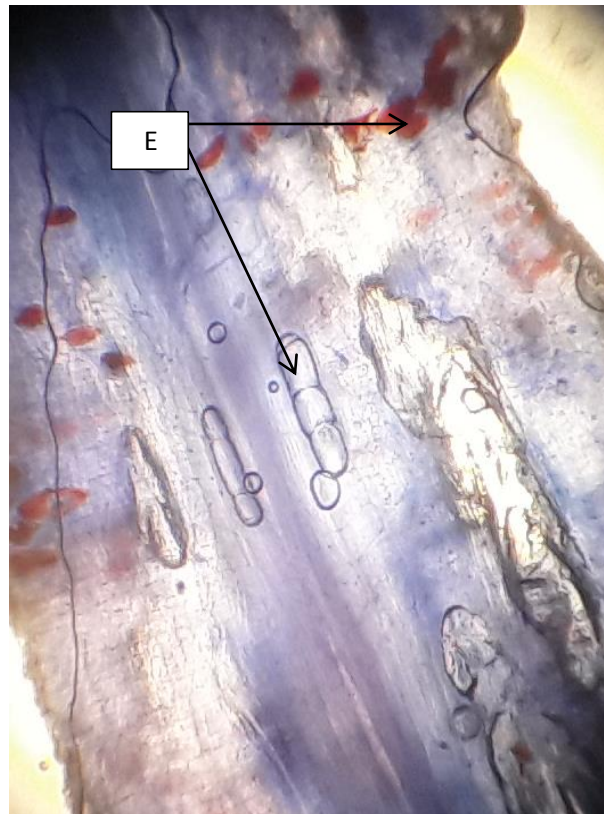
Station	Assi Youcef	Boghni	Tigzirt	Tirmitine	Tizi-Ouzou
pH	8,06	8,03	7,90	7,83	7,99
CE (ds/m)	0,30	0,30	0,62	0,61	0,27

L'analyse des sols collectés au niveau des stations d'étude a montré un pH faiblement alcalin selon la classification de Clech, (2000) (**annexe 2**). Il est évident que l'alcalinité est moins néfaste sur la survie des Rhizobium, selon Jordan (1984) la majorité de ces bactéries peuvent tolérer un pH allant jusqu'à 9,5. En effet, des pH identiques de 7,5 à 8,5 ont été rapporté par M'saouar *et al.* (2019) caractérisant le sol des populations de *S. flexuosa* populations spontanées des stations marocaines. Il est rapporté par Abdelguarfi (1998) que les espèces du genre *Sulla* exigent un pH du sol neutre à faiblement alcalin. Aussi il est rapporté par Daoud et Haltim, (1994) que les sols des zones arides sont généralement alcalins. D'après le résultat soutenu dans notre analyse de La conductivités des différentes stations d'étude entre 0,27 à 0,62ds/m nous permet de classer les sols de ces dernières parmi les sols non salés à peu salé selon la classification de le Clech, (2000) (**annexe 3**)

2. Statut symbiotique de *Sulla flexuosa*.

2.1. Symbiose rhizobium

L'observation de 500 fragments soit un total de 8m de racines de *S. flexuosa*, nous permis de mettre en évidence la présence d'une colonisation rhizobienne très appréciable chez toutes les populations locales et à tous les stades de développement. Nous avons également observé la présence d'endophytes dans plusieurs échantillons des différentes régions d'études (**figure 16**)



E : endophytes

Figure 15 : Présence des endophytes chez *Sulla flexuosa*

2.1.1. Nombre des nodules

Le comptage des nodules sur une longueur racinaire de 100cm chez les différentes populations d'études selon les trois stades de développement des plants de *Sulla flexuosa*, nous a permis d'avoir les résultats présentés dans le **tableau 7**

Tableau 7 : Variation de la colonisation rhizobienne(Nodule) chez les différentes populations locales de *Sulla flexuosa* à travers les stade de croissance et de la wilaya de Tiz-ouzou

station	Stade végétatif	Stade floraison	Stade fructification
Tizi-Ouzou	82 nodules	Absence d'échantillons	45 nodules
Tirmitine	114 nodules	Absence d'échantillons	Absence d'échantillons
AssiYoucef	65 nodules	33 nodules	71 nodules
Boghni	65 nodules	111.5 nodules	99 nodules
Tigzirt	Absence d'échantillons	26.5 nodules	Absence d'échantillons

A travers les résultats obtenus lors de nos observations , nous avons constaté que le nombre de nodules pour la population de Tizi Ouzou au stade végétatif est le plus élevé avec une valeur de 82 nodules par apport à l'effectif comptabilisé et réduit d'un peu moins de la moitié pour atteindre 45 nodules par unité de racine lors de la période de fructification.

La population de *S. flexuosa* d'Assi Youcef enregistré un nombre de 65 nodules lors du stade végétatif, accusé une baisse d'effectif atteignant 33 nodules lors de la période de floraison pour finalement qui augmenter à 71 nodules lors de la phase de fructification.

Pour Boghni une instabilité dans le nombre pour les trois stades végétatifs 65, après une augmentation 111,5 à la phase floraison suivi par une diminution à 99 au stade fructification.

Nous avons enregistré un nombre élevé de nodules chez la population de Sulla de la station de Tirmatine lors du stade végétatif avec 114 nodules /100cm de longueur de racine comparativement aux populations des stations de Tizi ouzou, d'Assi Youcef, Boghni qui ont enregistré des valeurs respectives de 82, 33, 65nodules /50cm.

Lors du stade de floraison, la population de Sulla de la station de Boghni a enregistré un effectif de 111,5nodules /50cm par rapport aux autres stations.

Selon l'intensité de colonisation rhizobienne du système racinaire lors du stade fructification, les populations Tizi ouzou et Assi Youcef ont été les populations qui présenté le moins de nombres de nodules par unité racinaire soit 45 et 71nodules /100cm la population de Boghni a enregistré l'intensité la plus élevées avec 99 nodules /100cm.

Cela signifie des changements dans l'activité rhizobienne entre les stations d'études et entre phases de développement de la population *d'Hedysarum flexuosum*. (**Figure 17**) (**Tableau 7**).

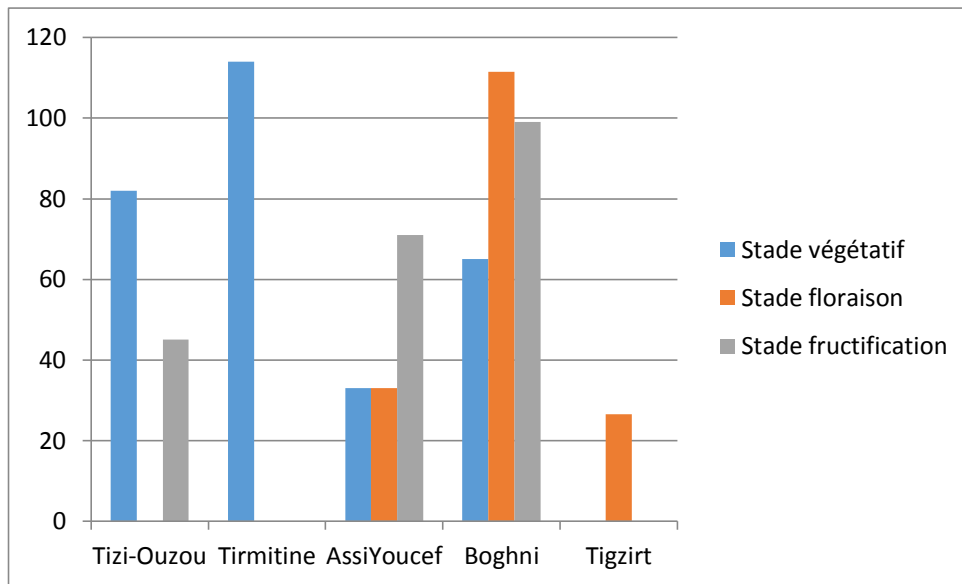
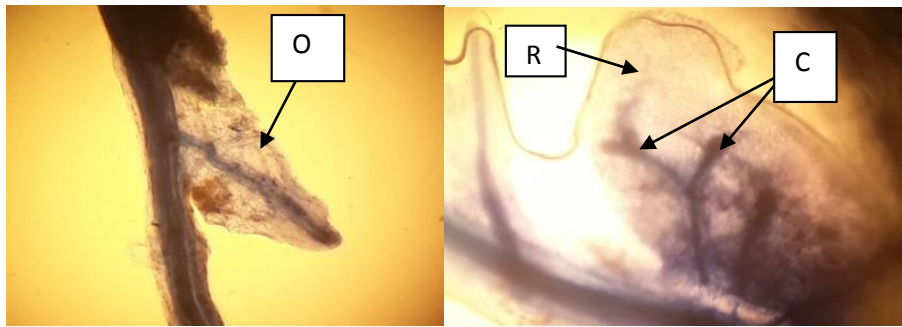


Figure 16 : distribution de l'intensité de nodulation des racines de *H. flexuosum* des populations de Assi Youcef, Tirmatine, Tizi-Ouzou et Boghni au stade végétatif, au stade floraison et au stade fructification

2.1.2. Aspect morpho-anatomique des nodules de rhizobia chez *S. flexuosa*.

L'observation des nodules sur les racines de *Sulla* nous a permis d'observer des formes différentes de nodules sur les racines. En effet, nous avons pu déterminer deux formes distinctes à savoir : la forme ronde et ovale (**Figure 18**).

Les coupes anatomiques réalisées sur les nodules ont permis d'observer une organisation structurale conforme à celle observées chez la majorité des nodules Rhizobiens formés chez les légumineuses. Nous avons distingué la partie du cortex composé de la partie interne et externe, de la zone d'infection trace des vaisseaux et de l'endoderme (**figure 19 a, b**).



C : cylindre centrale pour le contact des nodules avec les bactéries, R : forme ronde, O : forme ovale

Figure 17 : les différentes formes des nodules

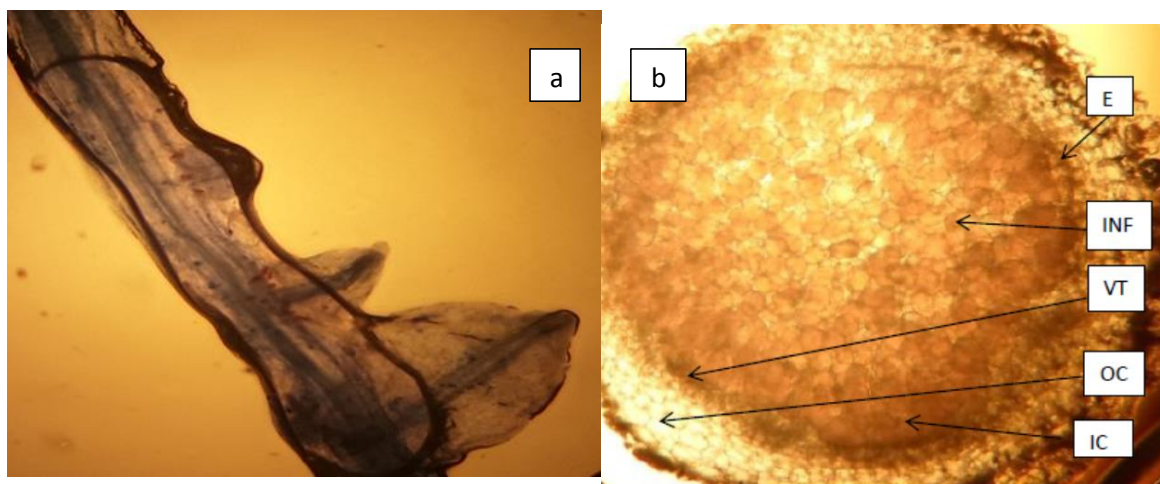


Figure 18 : Nodules chez *Hedysarum flexuosum* : a. observation des nodules à différents stades de formation sur les racines de différentes régions ; b. Coupe transversale d'un nodule de *Sulla* : (INF) zone infectée, (E) endoderme, (VT) trace vasculaire, (IC) cortex interne, (OC) cortex externe

2.1.3. Classification selon la coloration des nodules :

L'observation des nodules et leurs classifications en fonction de l'intensité de la coloration nous a permis d'observer les 4 catégories d'intensité de couleur selon le **tableau 8**. Nous avons été dans l'incapacité de faire des coupes pour les nodules de la population de Tizirt suite à la mauvaise conservation de ces derniers.

Tableau 8 : Distribution des effectifs de nodules observés selon la classification de la coloration des coupes anatomiques des nodules des racines des populations de *Sulla flexuosa* de Assi Youcef, Boghni, Tirmithin et Tizi-Ouzou selon les stades de développement (la

numérotation correspond à l'intensité de l'activité rhizobienne avec : 1 : absence d'activité ; 2, activité faible ; 3 : moyenne activité et 4 : forte activité)

	Assi Youcef				Boghni				Tirmitine				Tizi-Ouzou			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
stade végétative	1	1	1	2	0	4	0	1	1	2	1	1	2	0	0	3
stade floraison	0	0	0	5	0	0	0	5	-	-	-	-	-	-	-	-
stade fructification	0	0	1	4	0	0	0	5	-	-	-	-	0	0	0	5

Les résultats obtenus ont montré des différences de couleur des coupes des nodules pour le stade végétatif au niveau des différentes populations étudiées allant de la couleur blanche, rose claire, rose foncé et rouge (**figure 19,20,21,22**). Cela est dû à la différence dans l'activité rhizobienne selon le code réalisé en haut et cela signifie un taux de fixation d'azote bas et une activité rhizobienne moins importante.

Tenant compte de cette même classification, nous avons noté l'absence de nodule de couleur blanche et rose pour les stades floraison et fructification. En effet, la totalité des nodules observés avaient présenté une coloration intense à très intense de rose foncé (4) à rouge sang (5) au niveau de toutes les populations locales de *Sulla flexuosa* évoquant une efficacité et une intense activité symbiotique rhizobienne et un taux élevé de la fixation d'azote lors du stade floraison et fructification.

En effet, selon Bergersen (1982), les nodules effectifs sont des nodules capables de fixer l'azote. Ils contiennent de nombreux bactéroïdes et une pigmentation très développée. Ils présentent une coloration rose-rouge à la loupe : ils sont alors appelés de nodules fonctionnels (Somasegaram et Halliday, 1982). Les nodules inefficaces présentent une coloration blanche laiteuse à la loupe : la symbiose y est inefficace. Les bactéroïdes présents dans ces nodules ne sont pas aptes à la transformation de l'azote en ammonium.

Selon Somasegaram et Halliday (1982) qui ont démontré qu'une bonne nodulation ne signifie pas que la symbiose est efficace en termes de fixation d'azote atmosphérique. Ce n'est qu'une fois que les nodules sont matures et que le processus de fixation d'azote est fonctionnel et que

les nodules sont généralement de couleur rosée du fait de la présence de cette légghémoglobine que la nodosité est qualifiée d'efficente. En revanche, la présence de nodules blancs indique que la symbiose n'est pas fonctionnelle (Ott *et al*, 2005 ; Valverde *et al*, 2005).

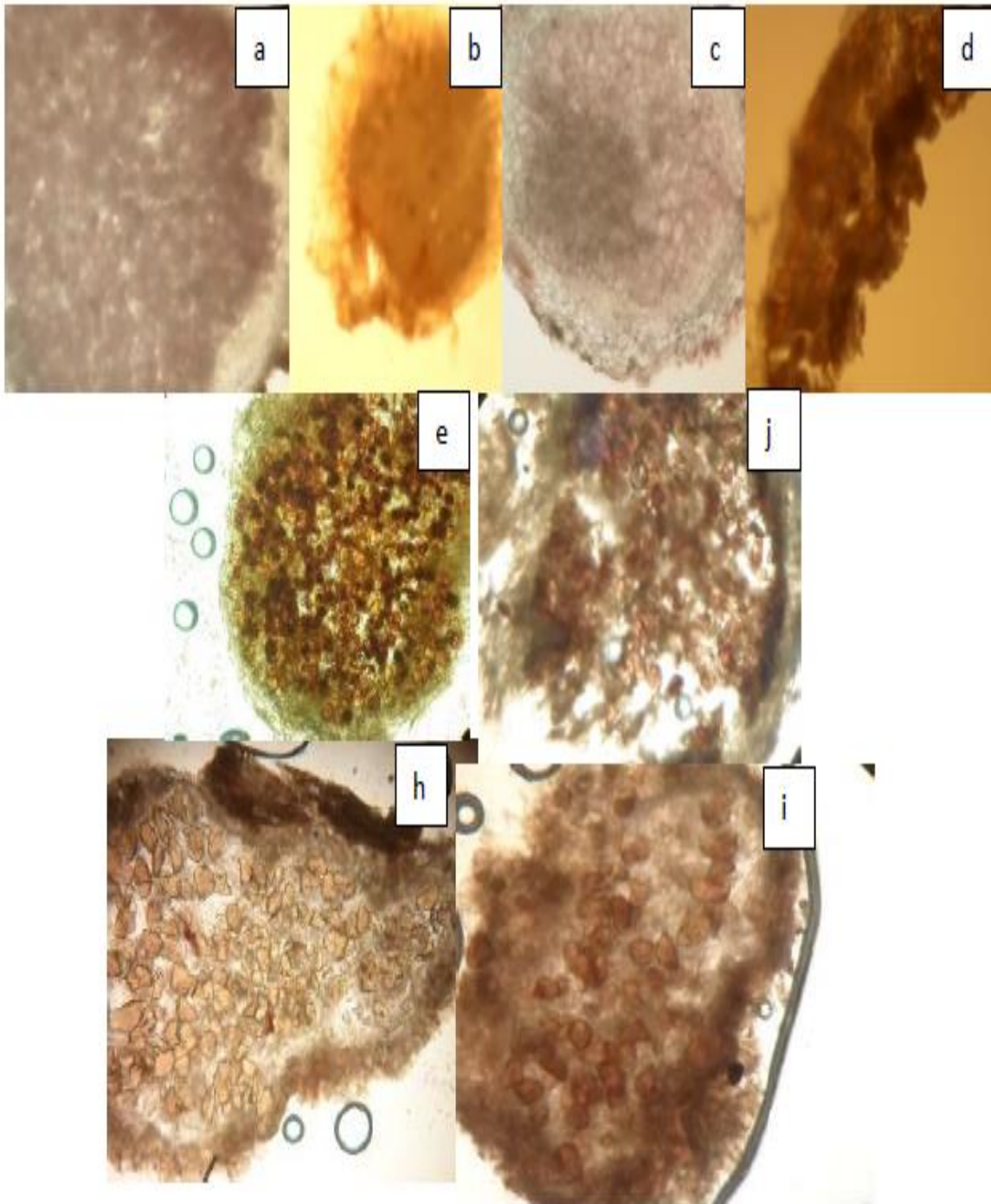


Figure 19 : variation de la coloration des nodules de *S.flexuosa* au stade végétatif, floraison et fructification des plants de la population de Assi Youcef (a :blanc,b :rose foncé,c :rose claire,d :rouge (stade feuillaison),e :rouge,j :rouge (stade floraison),h :rose foncé, i :rouge (stade fructication))

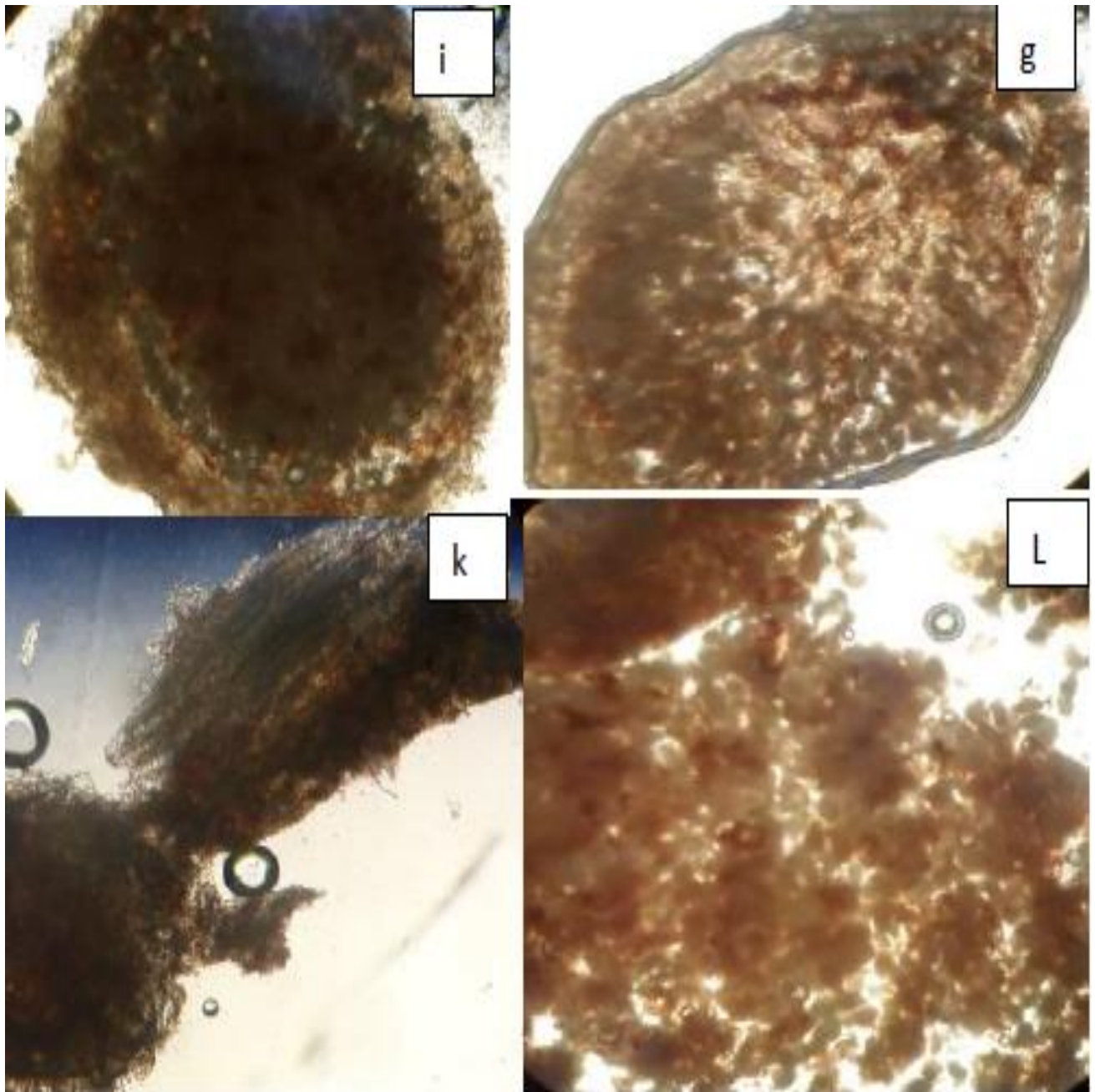


Figure 20 : variation de la coloration des nodules de *S.flexuosa* au stade végétatif, floraison et fructification des plants de la population de Boghni (i : couleur rose foncé(stade feuillaison), g : rouge(stade floraison), k : rouge, L : rouge(stade fructification))

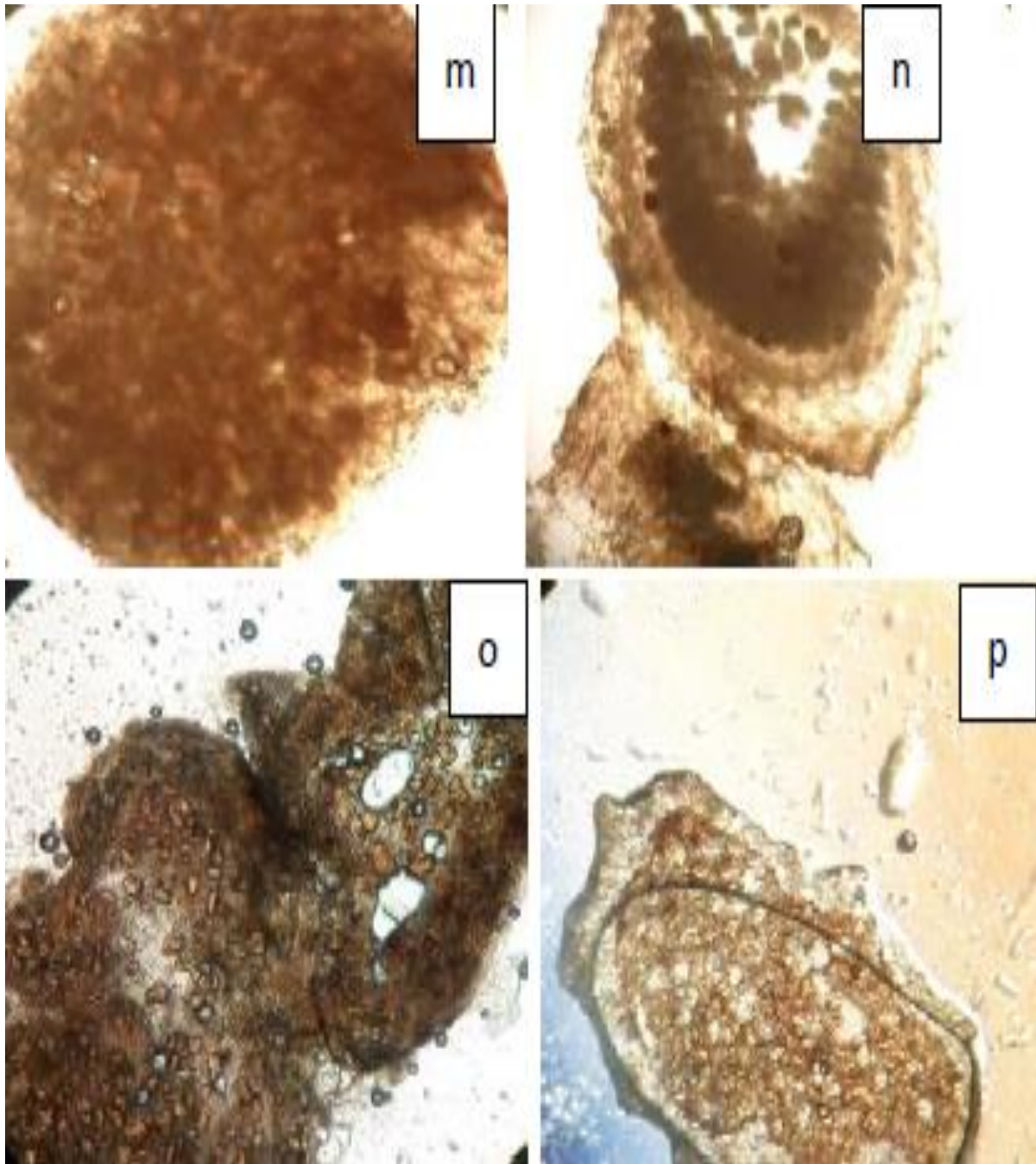


Figure 21: variation de la coloration des nodules de *S. flexuosa* au stade végétatif et fructification des plants de la population de Tizi-Ouzou (m :rouge(stade floraison),n :blanc(stade feuillaison),o :rose foncé(stade fructification),p :rose claire(stade feuillaison))

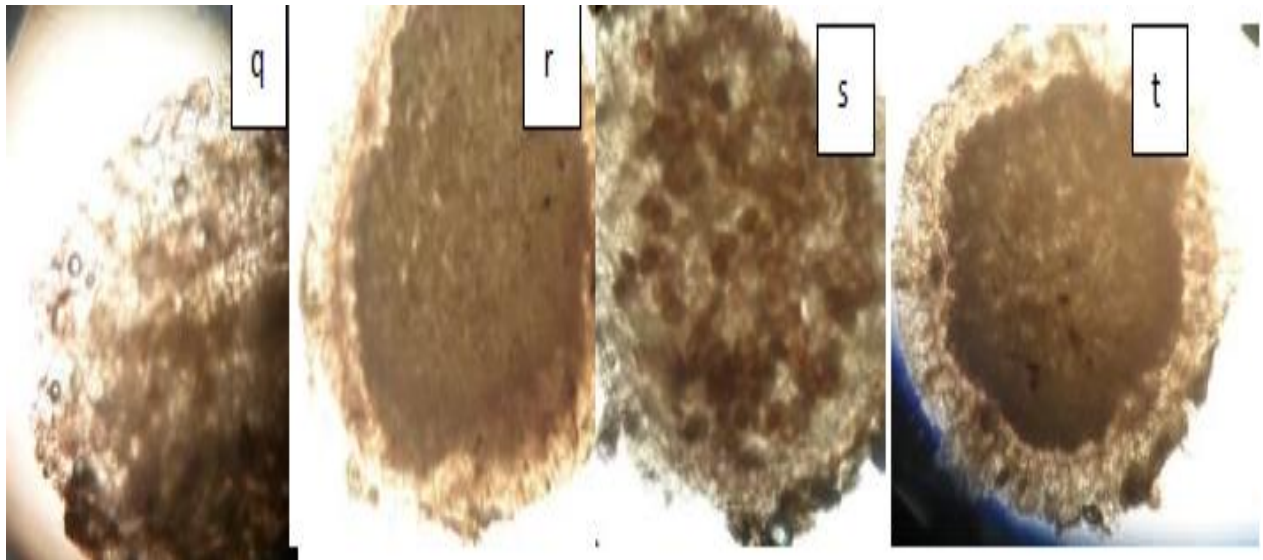
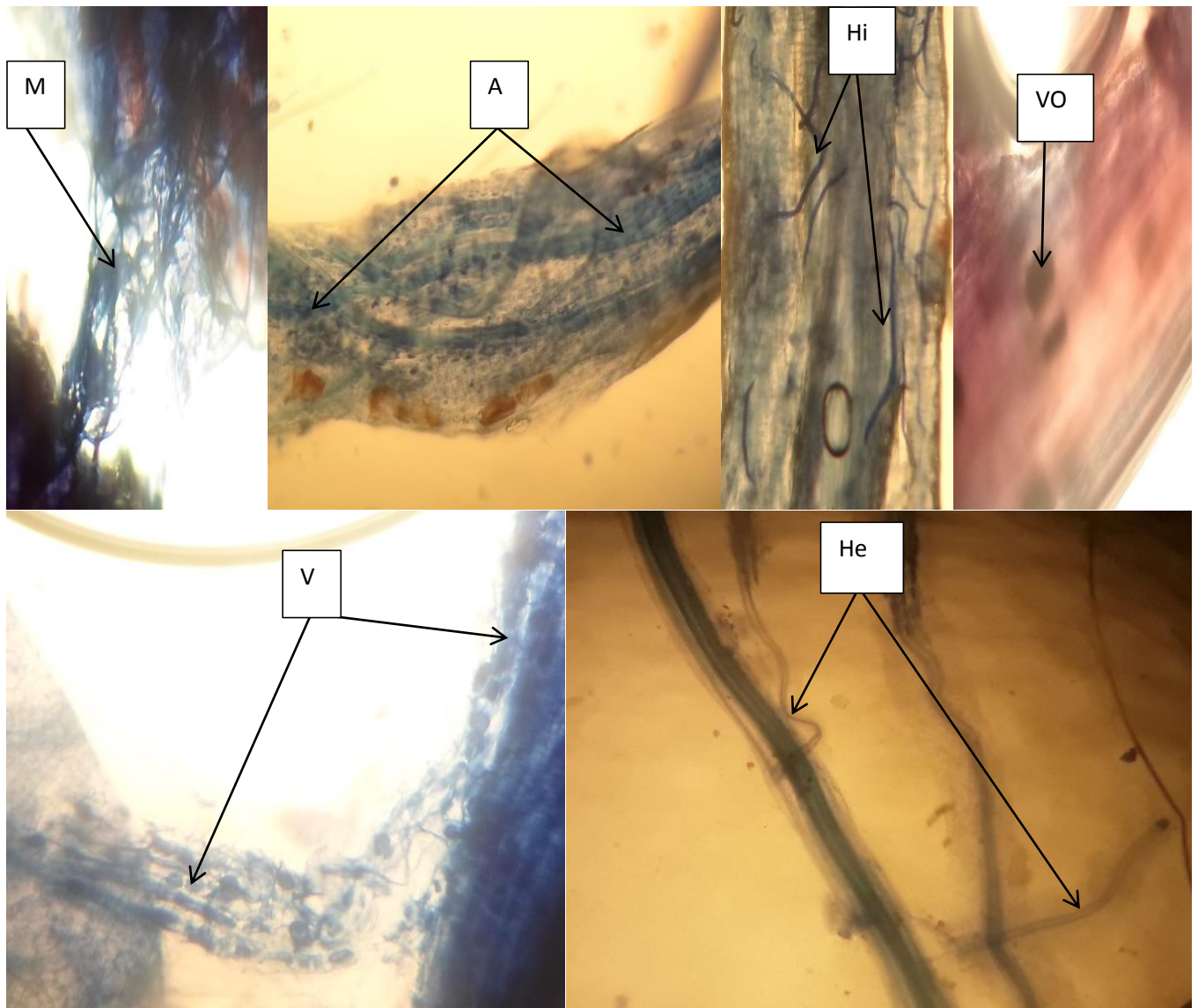


Figure 22 : variation de la coloration des nodules de *S.flexuosa* au stade végétatif des plants de la population de Tiritine (q : blanc, r : rose claire(stade feuillaison), s : rouge(stade floraison), t : rose foncé(stade fructification))

3. L'analyse de la symbiose mycorhizienne chez *Sulla flexuosa* :

L'observation au microscope d'une longueur de 8mde racines des plants des différentes populations *Hedydarum flexuosum* ont démontré et confirmé la coexistence de la symbiose endomycorhizienne et rhizobienne à tous les stades de développement des plants étudiés. Nous avons observé des structures spécifiques telles que les arbuscules, les vésicules, les hyphes intra et extra racinaire (**Figure 23**).



M : Mycélium ; A : Arbuscules (exemple de la teneur arbusculaire A3) ; Vo : vésicule Ob ovale ; Hi : Hyphe intra matriciel ; He : Hyphe extra matriciel

Figure 23:Aspect des différentes structures endomycorhiziennes observées chez *sulla flexuosa* des cinq populations locales de la région de Tizi-Ouzou .

3.1. Evaluation de l'infection endomycorhizienne :

L'observation de 100 cm de racine de 5 plants de *S. flexuosa* par modalités (stades et populations), nous a permis de comparer la colonisation endomycorhizienne par le calcul de quatre paramètres d'infection endomycorhizienne en utilisant les formules de calcul définies par (Trouvelot *et al* ,1986) entre les différents stades et populations étudiées dont les chiffres sont transcrits dans le **tableau 9**

Les paramètres calculés sont la fréquence de mycorhization l'intensité de la mycorhization absolue (m) et relative(M), la teneur en arbuscules de la partie racinaire (A) et de la partie mycorhizée(a)des racines des plants de *S. flexuosa* du système racinaire suivant le stade de croissance et présentés selon les stations.

3.1.1. La fréquence de mycorhization F : La quantification de la colonisation des racines des plants de *S. flexuosa* a différents stades et chez les populations de notre étude a permis de noter une différence d'infection du système racinaire suivant l'intensité qui reflète le degré d'infection de système racinaire.

3.1.2. L'intensité de mycorhizations absolue m et relative M :

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

M : intensité de mycorhization relative .

3.1.3. La teneur en arbuscules de la partie racinaire A et la partie mycorhizée a

Cette analyse nous a permis d'obtenir les résultats présentés dans le tableau et les histogrammes suivants :

Tableau 9 :Quantification de la colonisation endomycorhizienne de *Sulla flexuosa* des cinq populations locales d'études selon les trois stades de croissance.

station	Stade	F(%)	m (%)	M (%)	A(%)	a(%)
Assi Youcef	Végétatif	66	0,484	0,32	0,0016	0,512
	Floraison	51	1	0,02	0,000004	0,022
	Fructification	57	2,33	0,28	0,002	1,008
Boghni	Végétatif	74	8,081	5,98	1,93	32,292
	Floraison	64	4,35	1,5	0,11	7,5
	Fructification	74	5,45	2,62	0,76	29,34
Tizi-Ouzou	Végétatif	56	12,9	5,16	1,94	37,66
	Floraison	-	-	-	-	-
	Fructification	66	1,25	0,4	0,0032	0,8
Tigzirt	Végétatif	-	-	-	-	-
	Floraison	54	2	0,16	0,0002	0,128
	Fructification	-	-	-	-	-
Tirmitine	Végétatif	85	5,8	4,06	1,69	41,818
	Floraison	-	-	-	-	-
	Fructification	-	-	-	-	-

Chez les racines des plants de la station Boghni, nous avons observé une fréquence de mycorhization identique pour le stade végétatif et fructification de 74% cependant une baisse de la fréquence a été enregistrée lors du stade floraison 64%.

Les plants de la station d'Assi Youcef ont enregistré une évolution en dents de scie de la fréquence de mycorhization selon les stades : 66% au stade végétatif, 51% au stade floraison et une augmentation lors du stade fructification pour atteindre un taux de 57%.

Nous avons constaté une évolution progressive de l'intensité de mycorhization absolue au sein de trois phases de développement d'*Hedysarum flexuosum* au stade végétatif, floraison, fructification avec des valeurs respectives de 0,48% ; 11,25%.

Chez les racines de plan de la station d'Assi Youcef nous avons enregistré des valeurs proches de teneur en arbuscules pendant les trois stades végétatifs, floraison et fructification avec des valeurs respectives de 0,51 ; 0,02 et 1,008. (Figure 24)

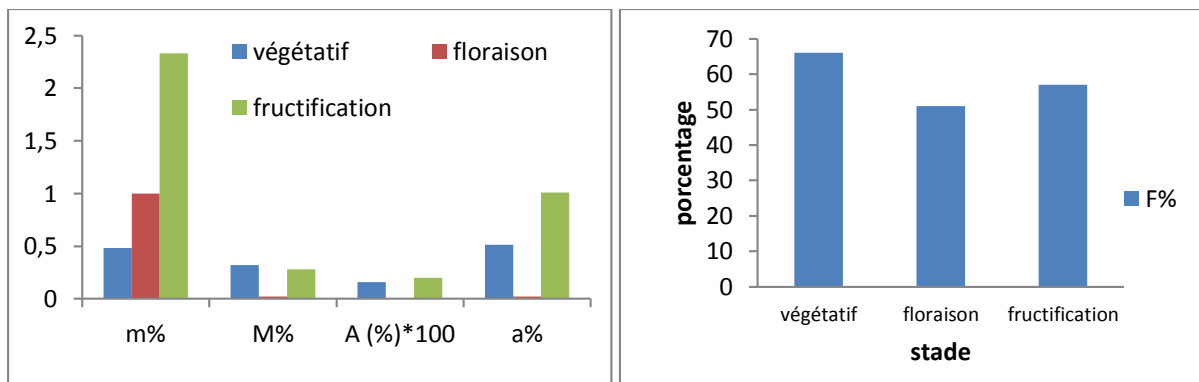


Figure 24: Distribution des taux d'infection endomycorhizienne dans les racines de *Sulla flexuosa* de la population d'Assi Youcef

Au stade végétatif Boghni a enregistré une valeur élevée de l'intensité mycorhizienne 5,98 suivis par une baisse lors du stade floraison pour accuser une augmentation lors du stade fructification (2,62%).

Nous avons constaté des taux élevés de la teneur arbusculaire à raison de 32,29% lors de la phase végétative qui a accusé une baisse jusqu'à 7,5% au stade floraison pour augmenter au stade de fructification et atteindre 29,34%. (Figure 25)

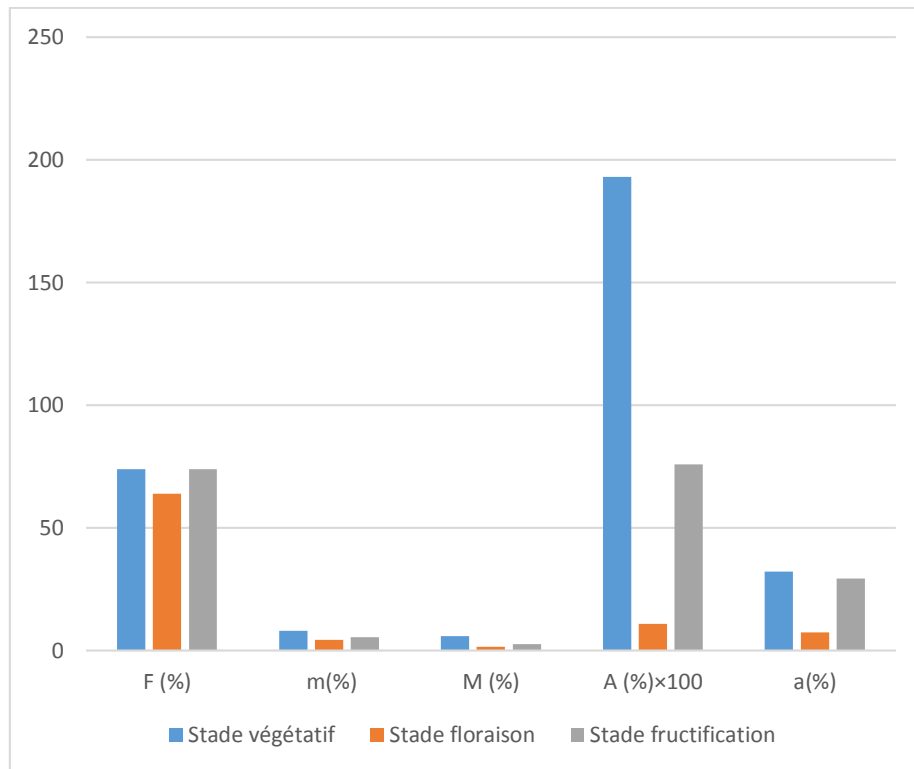


Figure 25: Distribution des taux d’infection endomycorhizienne dans les racines de *Sula flexuosa* de la population de Boghni

La fréquence de mycorhization des racines des plants de la population du *Sula* de la région de Tizi-Ouzou, a enregistré une progression allant de 56% au stade végétatif, pour atteindre 66% lors du stade floraison. Cependant, les paramètres intensité de mycorhization absolue, l’intensité relative et la teneur arbusculaire de mycorhization ont présenté une évolution inverse et attesté par une régression notamment de la teneur arbusculaire du stade végétatif au stade fructification. (Figure 26)

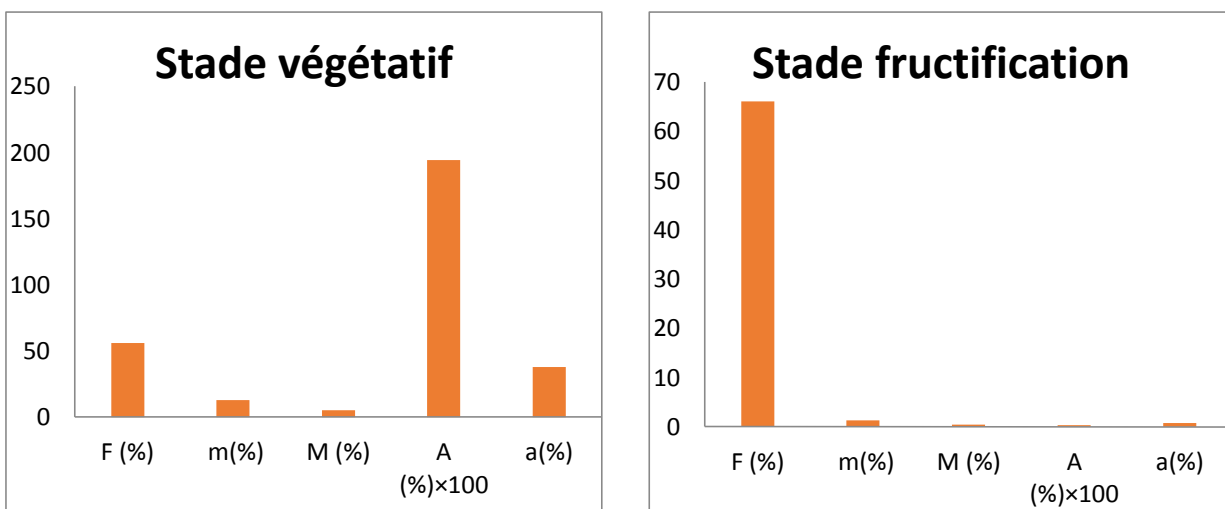


Figure 26 : Distribution des taux d'infection endomycorhizienne dans les racines de *Sulla flexuosa* de la population de Tizi-Ouzou.

Nous avons enregistré pour Tizirt des valeurs basses de la fréquence 54%, l'intensité de mycorhization 2% et la teneur en arbuscules à 0,128 par rapport aux autres stations d'études. (Figure 27)

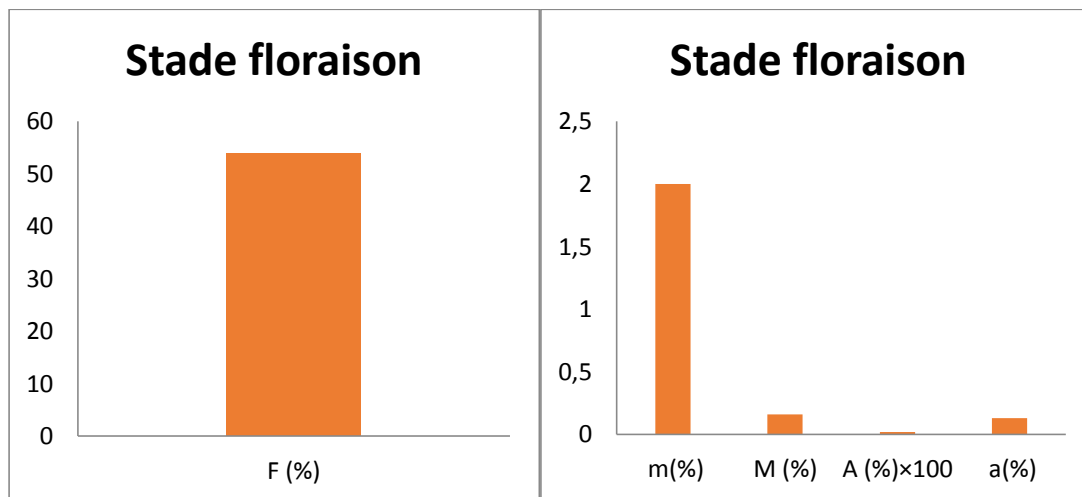


Figure 27: Distribution des taux d'infection endomycorhizienne dans les racines de *Sulla flexuosa* de la population de Tizirt

Nous avons enregistré pour Tirmatine une fréquence de mycorhization la plus élevée entre toutes les stations d'études 85%. Et une intensité de mycorhization élevée par rapport aux autres stations 5,8 et une teneur très élevée de 41,81 au stade végétatif. (Figure 28)

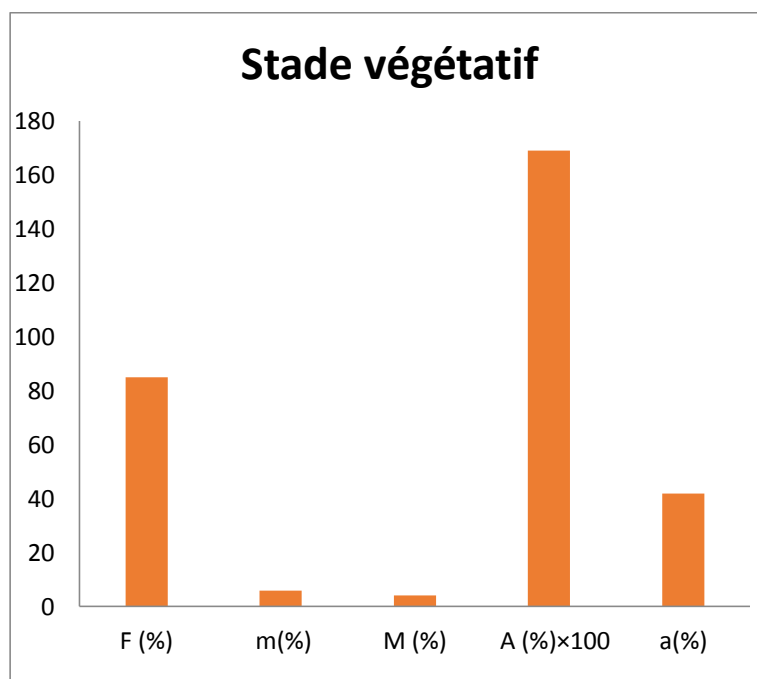


Figure 28: Distribution des taux d'infection endomycorhizienne dans les racines de *Sulla flexuosa* de la population de Tirmatine.

Notre étude a permis de noter que les paramètres de colonisation tels que la fréquence de mycorhization au niveau des racines des populations *d'Hedysarum flexuosum* est globalement au-dessus de la moyenne (50%) pour toutes les populations et pour tous les stades de croissances .

Lors de stade végétatif et fructification, les taux les plus importants ont été enregistrés chez la population Tirmatine (85%) suivie par la population de Boghni et (74% et 74%). Les populations d'Assi Youcef et de Tizi-Ouzou (sis Bastos) ont quant à elles enregistrées des taux de fréquences supérieur à la moyenne.

La période de floraison a été marquée par des taux légèrement moins importants que le premier et troisième stade avec des fréquences de 64% pour le *Sulla* de la station de Boghni, 54% pour celui de la population de Tizirt et 51% pour les plants de *Sulla* de la station d'Assi Youcef.

Bien que la fréquence endomycorhizienne enregistrée chez les populations de *Sulla* de la région de Tizi-Ouzou ai été supérieur à 50%. Cependant, elles restent inférieures aux chiffre rapportés dans l'étude de M'saouar *et al.* (2019) chez les populations de la même espèce du Maroc avec des taux de 91% Khandek lihoudi et 70% pour la population de Achakar Chez *Retamamonosperma* espèce de la famille, Hatimi *et al.* (2007) rapportent une colonisation de 43% plus faible que celle enregistrées chez *Sulla flexuosa* indiquant une forte pression des propagules du sol sur les racines *d'Hedysarum flexuosum*.

L'intensité de mycorhization des plants de populations *d'Hedysarum flexuosum* des populations étudiées diffère d'une population à une autre et d'un stade à un autre. L'intensité de mycorhization la plus élevée étant enregistré chez la population de Tizi-Ouzou sis Bastos avec un taux de 12,9% et celle de Boghni avec 8,081 % lors de la phase végétative et la plus faible a été enregistré chez la population d'Assi Youcef avec 0,484% lors de la même phase. M'saouar *et al.* (2019) rapportent des intensités de mycorhization plus faible chez les populations du Maroc avec 2,61 % pour la population de Achakar et 0,95% pour la population de pour la phase floraison a Khandek lihoudi

Notre étude a permis également de constater une teneur arbusculaire de la partie mycorhizée élevée dans les différentes populations de la région de Tizi-Ouzou pour les trois stades de croissance de *Sulla*. La plus élevée été enregistré à Tirmatine 41,818% suivie par les

populations de, Boghni 32,29% et Bastos 37,66% durant la phase végétative. L'A% a été la plus élevée chez la population de Boghni avec 29,34% durant la période de fructification. L'A% la plus faible a été enregistrée chez la population d'Assi Youcef lors des trois stades végétatifs, floraison et fructification avec des taux de 0,512%, 0,022 % et 1,008% et chez la population de Tizirt pour le stade floraison avec 0,128%. Les chiffres enregistrés chez les populations de Sulla des populations étudiées comparativement aux résultats rapportés par M'saouar *et al* (2019) chez les populations du Maroc Achakar 1,82%, Khendek lihoudi 0,02% attestent d'une meilleure mycorhization des populations algériennes.

Conclusion générale

Notre travail à réaliser pour objectif l'étude du statut symbiotique et sa quantification chez cinq populations d'*Hedysarum flexuosum* dans la région Tizi-Ouzou à travers les trois différents stades de développement.

- Nous avons, pour la première fois, mis en évidence la présence de *Sulla flexuosa* s'est révélé être très diversifié en partenaires symbiotiques, avec la présence de la symbiose rhizobienne, mycorhizienne et endophytique à tous les stades de développement et chez toutes les populations de l'espèce.
- La variation de la colonisation rhizobienne selon les stades. La présence d'un nombre plus élevé de nodules lors des périodes végétative et fructification pour toutes les populations comparativement au stade floraison.
- La présence des nodules de couleurs rose à rouge plus intense pour toutes les populations et notamment au stade floraison et fructification évoquant un meilleur échange lors de ces périodes.
- La colonisation endomycorhizienne enregistré a été pour toutes les populations supérieures à 50% et a atteint un taux de 85% chez la population de Tirmatine.
- *Sulla flexuosa* semble faire un échange plus important avec les symbiotes endomycorhiziens pendant le stade végétatif chez les populations étudiées évoquant un besoin plus important en éléments minéraux et en eau pour l'édification des tissus végétaux.

Notre étude est une contribution à l'étude préliminaire du statut symbiotique de cinq populations de *Sulla flexuosa* qu'il serait intéressant de compléter par la détermination des partenaires rhizobiens et mycorhiziens ainsi qu'endophytiques pour la production d'inoculum et de promouvoir la production de l'espèce dans nos systèmes agri culturaux

A

Abbas Y. (2014). Microorganismes de la rhizosphère des Tetracлинаies: un outil pour optimiser la régénération assistée du *Tetracлинаis articulata* Vahl. Master.

Abdelguerfi-Berrakia R., Abdelguerfi A., Bougana N., Guittonneau G.G. (1991). « Répartition des espèces spontanées du genre *Hedysarum* selon certains facteurs du milieu en Algérie » Fourrage 126, p187 -207p.

Abdelguerfi-Berrakia R., Abdelguerfi A., Bounaga N., Guittonneau G.G. (1988). Contribution à l'étude des espèces spontanées du genre *Hedysarum L.* en Algérie. Etude auto écologique. Ann. Inst. Nat. Agro. El-Harrach. 12 : P.191-219.

Abdellaoui Z. (2014). Contribution à l'étude de la germination et des premiers stades de développement de *Hedysarum sp.* Magister. Tizi-Ouzou : Université Mouloud Mammeri. 95p.

Alabouvette C. (2009). **Jardin**, environnement et santé « université de Bourgogne. Colloque, INRA, UMR1229p.

Allen O.N. Allen E.K. (1950). **Biochemical** and symbiotic properties of the Rhizobia. Bacterial. Rev. Vol 14, 273-330p.

Aurelie F. (2010). Diversité bactérienne des sols : accès aux populations à effectif minoritaires « the rare biosphere ». Science du vivant. Ecole Centrale de Lyon. France.

B

Baatout H. (1991). Le complexe d'espèces *Hedysarum spinosissimum L.* dans le bassin méditerranéen occidental : analyse de la structure génétique des populations, conséquences au niveau de la systématique des deux sous-espèces *Capitatum* et *Euspinosissimum* dans le genre *Hedysarum*. These d'état-Orsay, France, Université Paris-sud.

Becker A., Berges H., Krol E., Bruand C., Ruberg S., Capela D., Lauber E., Meilhoc E., Ampe F., Bruijn F.J., Fourment, J., Francez-Charlot A., Kahn D., Kuster H., Liebe C., Puhler A., Weidner S., Batut J. (2004). Global changes in gene expression in *Sinorhizobium meliloti* 1021 under microoxic and symbiotic conditions. Mol. Plant Microbe Interact. Vol 17, 292-303p. DOI : 10.1094/MPMI.2004.17.3.292

- Belarbi N. (1998).** Comportement et évaluation de quelques espèces fourragères dans la région de Sétif, thèse ING.INA Alger.144p.
- Bergersen F. J. (1982).** Root nodules of legumes: Structure and functions. *Root nodules of legumes: structure and functions*
- Ben Fadhel N., Afif M., Boussaid M. (2006)** structuration de la diversité génétique d'*Hedysarum flexuosum* en Algérie et au Maroc. Implications sur sa conservation. Laboratoire de biotechnologie végétale, Institut national des sciences appliquées et de technologie, BP676, 1080 Tunis cedex, Tunisie.Fourrages.186 :229-240p.
- Bendaira Z. (2016).** La voie de signalisation « Myc » : création d'une base de données du gène dmi3. Université des Frères Mentouri. Constantine. Algérie. 62p.
- Bonanno A., Digrigole A., Stringi L., Miceli Di., Giambalvo D., Tornambe G., Vargette D., Alicata M.L. (2007).** Intake and milk production of goats grazing *sulla* forage under different stocking rates. Italian.J. Anim.Sci6 (1s):605-60p.
- Boussaid M., Ben Fadhel N., Trifi-Farah N., Abdelkefi A., Marrakchi M. (1995).** Les espèces méditerranéennes du genre *Hedysarum* L. In : Ressources génétiques des plantes fourragères et à gazon. Ed: BRG/INRA France. 115-130p.
- Boussaid M., Ben Fadhel N., Trifi-Farah N., Abdelkef A., Marrakchi M. (1989).** Les ressources méditerranéennes de genre *Hedysarum*, Ed. INRA (Paris) .219p.
- Boyle M., Paul E.A. (1988).** Vesicular -arbuscular Mycorrhizal associations with barley on sewage -amended plots. *In* : **Abbas, Younes.**, 2014. Microorganismes de la rhizosphère des Tétracélinaires : un outil pour optimiser la régénération assistée du *Tetraclinis articulata* Vahl. These De Doctorat. Rabat : Université Mohammed V. 32-34p.
- Brundrett M.C. (2002).** Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. New Phytologiste :154: 275- 304 p.
- Burke J.L., Waghorn G.C., Brookes I.M. (2002).** An evaluation of *sulla* (*Hedysarum coronarium*) with pasture, white clover and Lucerne for lambs. Proc.New Zeal.Soc.Anim.prod.62:152-156p.

Casella S., Gault R.R., Reynolds K.C., Dyson J.R., Brockwell J. (1984). Nodulation studies on legume exotic to Australia: *Hedysarum coronarium*. FEMS Microbiol.lett.22 (1):37-45p.

Clementine L. (2013). Etude des interactions plantes-microbes et microbes-microbes au sein de la rhizosphère, sous un aspect court. Bénéfices, dans un contexte de variation environnementale. Sciences agricoles. Université de Bourgogne. France.

Cronq-Ojeda I., Pennington R.T. (2006). Legume comparative Genomics: progress in phylogenetic and phylogenomics. *Curr.Opin. Plant Biol.* **9**: 99-103p.

D

Daoud Y., Halitim A. (1994). Irrigation et salinisation au Sahara algérien. *Sécheresse*, **5**, 151-160p.

Dexheimer J. (1997). Etude structurale et fonctionnelle des interfaces entre le champignon et la plante-hôte. *Rev.For .Fr.* XLIX :43-56 p.

Djigal D. (2003). Interactions entre la communauté microbienne du sol (bactéries et champignons mycorrhiziens) et les nématodes bacterivores : effet sur la nutrition minérale et la croissance de différentes plantes. Diplôme de docteur de 3^{ème} cycle. Université CheikhantaDiop, Dakar. 68p.

Duckworth C. A., Guimond, S. E., Sindrewicz P., Hughes A. J., French N. S., Lian, L. Y., Yu L. G. (2015). Chemically modified, non-anticoagulant heparin derivatives are potent galectin-3 binding inhibitors and inhibit circulating galectin-3-promoted metastasis. *Oncotarget*, **6**(27), 23671p.

Duhoux E., Nicole M. (2004). Biologie végétale. Associations et interaction chez les plantes. Edition Dunod. Paris. France. 1, 20,70p.

FATOU N D., (2002). Utilisation des inocula de Rhizobium pour les cultures du haricot (*Phaseolus vulgaris*) au Sénégal. Thèse, université Chikh Anta Diop Dakar,3-20p.

F

Fitouri, S. D. (2011). Diversités phénotypique et moléculaire des microsymbiotes du Sula du nord (*Hédysarum Coronarium* L.) et sélection de souches rhizobiales efficaces (Doctoral dissertation).

Fontin J.A., Plenchette C., Piché Y. (2008). Les mycorhizes : les nouvelles révolutions verte, Edition Multimode, Canada.183p.

G

Giri B., Giang P.H., Kumari R., Prasad R., Sach Dev M., Garg A.P., Oelmuller R., Varma A. (2005). Mycorrhizosphere: strategies and Functions. In soil Biology, Volume 3 Microorganisms in soils :Roles in Genesis and fonctions .Edition Spriger-Verlag Berlin Heidelberg.213-252 P .

Glatzle A., Schulte-Batenbrook K.C., Brochwell J. (1986). symbiotic incompatibility between two forage species of *hedysarum* in Morocco, and their homologous rhizobia. FEMSMicrobiol. Let.37 (1) :39-43p.

Goumiri R., Abdelguerfi A., Longo-Hamouda F.Z. (1989). Contribution à l'étude des espèces spontanées du genre *Medicago* en Algérie. Analyses chimiques du fourrage au stade végétatif. Rev. Céréaliculture ,22 :25-27p.

Goumiri R., Abdelguerfi A. (1989). Contribution à l'étude des espèces spontanées de la tribu Hédysarées en Algérie : Analyses chimiques du fourrage au stade végétatif. Ann. Inst. Nat. Agron. El-Harrach, 13(2), 558-567p.

H

Hannachi-Sahi A., Combes D., Boatart H., Figier J., Marrakchi M., Boussaid M., Trifi-Farah N. (2002). Evaluation des ressources génétiques des espèces du genre *Hedysarum* dans le bassin méditerranéen plant Genetic Resources Newsletter. 130 :65-72p.

Hopkins W. G. (2003). *Physiologies végétale*.Ed : De Boeck Supérieur, Paris.532.

I

Isolah R., Benhizia H., Khalfallah N. (2006). Karyotype variation within some natural populations of *Sulla* (*Hedysarum coranarium*L,Fabaceae) in Algeria.Gene.Res-Cro-Evol.53(8)1653,1664p.

K

KADI S.A., ZIRMI-ZEMBRI N. (2016). Valeur nutritive des ressources fourragères utilisées en Algérie. 2- Les arbres et arbustes fourragers; Livestock Research for Rural Development. Vol. 28:146p. http://www.lrrd.org/lrrd28/8/v_anh28_146.html

Kadi S.A., Zirmi-Zembri N. (2020). chemical composition and nutritive value of *hedysarumflexuosum* L. according to morphological parts and phaenological stages.94p.

Kadi S.A., Belaidi-Gater.N., Oudai.H., Bannelier.C., Berchiche.M and Gidenne T. (2012 a). Nutritive value of fresh *Sulla(hedysarumflexuosum)* as a sole feed for growing rabbits.in proc.10th world Rabbit congress, September, Sharm el-Sheikh.Egypt,507-511 p.

Kadi S.A., (2012). Alimentation du lapin chair : valorisation des sources de fibre disponible en Algérie. Thèse de doctorat UMMTO. 143p.

Killian C. (1939) : « la biologie des sols argileux des environs d'Alger et la question de leurs plantes indicatrices. Essai de micro pédologie » Ann.Agro.93-120p.

L

Lapeyronie A. (1982). Les productions fourragères méditerranéennes G.P.M et La rose.245p.

Laurenc., Jochens-T. (2014). Les inoculant mycorrhiziens pour une agriculture Québécoise plus productive et moins dépendante aux engrais minéraux phosphate.M.Env.Université de Sherbrook, 26-30p.

Lohar D., Stiller J., Kam J., Stacey G., Gresshoff P.M., (2009). Ethylene insensitivity conferred by the Arabidopsis Etr.1-1 receptor gene alters the nodulation response of transgenic Lotus Japonicus.Annals of Botany.vol 104,277-285p. [PMC Free article] [pub Med].

M

M'saouar R., Bakkali M., Laglaoui A., Arakrak A. (2019). Evaluation of the mycorrhizal potential of *Hedysarum flexuosum* L. in relation with the soil chemical characteristics in the northwest of Morocco.

Molle G., Decandia M., Giovanetti V., Cabiddu A., Fois Na., Sitzia M. (2009).

Responses to condensed tannins of flowering *sulla* (*Hedysarum coronarium* L.) Grazed by dairy sheep. part1: effects on feeding behaviour, intake, diet digestibility and performance. *Lives.Sci.*,123(2):138-146p.

Mozo T., Cabrera E., Ruiz-Argueso T. (1988). Diversity of plasmid profiles and conservation of symbiotic nitrogen fixation genes in newly isolated rhizobium strains nodulating *sulla* (*hedysarum coronarium* L) *Appl. Environ. Microbiol.* 54 (5):1262-1267p.

O

Ott T., van Dongen J.T., Gunther C., Krusell L., Desbrosses G., Vigeolas H., Bock V., Czechowski T., Geigenberger P., Udvardi M.K. (2005). Symbiotic leghemoglobins are crucial for nitrogen fixation in legume root nodules but not for general plant growth and development. *Curr Biol.* 15: 531-535p.

P

Perry J., Jstalex J. T., Lor S., (2004). Microbiologie cours et questions de révision. Edition Dunod. Paris. France. 180-201 p.

Pottier-Alapetite G. (1979). Flore de la Tunisie, Angiospermes dicotylédones. Apétales - Dialypétales, I.O.R. éd., Tunis, Tunisie.

Q

Quezel P., Santa S., (1962). Nouvelle flore de l'Algérie ET des régions désertiques méridionales. 2 Vol. C.N.R.S Paris. 1170p. in Djerrah, F., Derrar, S., 2014. Composition chimique et rendement en matière verte des deux espèces : *Hedysarum Flexuosum* et *Hedysarum coronarium*. Mémoire d'ingénieur. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques. 86p.

R

Rajaonarimamy E. (2010). Influence de la diversité mycorhizienne sur la symbiose *dalbergia trichocarpa*-Rhizobia et sur la structure de la microflore tellurique. Mémoire pour l'obtention de diplôme d'étude approfondie en sciences de la vie.

Remy W., Taylor T.N., Hass H., Kerp H. (1994). Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91, 11841–11843p.

S

Sato Y., Monincova M., Chaloupkova R., Ontsubo Y., Minamisawa K., (2005). Two rhizobial strains, mesorhizobium loti MAFF303099 and Brady rhizobium Japoniaum USDA110, encode haloalkane dehalogenases with novel structures and substrate specificities. *Appl. Environ. Microb.* Vol71.4372-4379p. DOI10.1128/AEM.71.8.

Sauvant D. (2004). Principes généraux de l'alimentation animale. Polycop de cours, INAPG. 147p.

Schnieder A., Hyghe C. (2005). Agriculture.gouv. Fr/sites/minagri/files légumineuses-ouvrages-quaes—PDF.

Slim S., Ben Jeddi F., Belgith A., Zouaghi M. (2008). Revue de l'INAT.23 N°1 :199-206p.

Smith S.E. And Read D. (1998). Mycorrhizal symbiosis. Edition Elsevier, Third Edition, Great Britain. 787 p.

Smith S.E., Read D.J. (1997). Mycorrhizal symbiosis. 2ed Edition. Academic press; Harcourt Brace and Company Publishers. 605p.

Smith S. E., Read D. J., (2008). Mycorrhizal symbiosis. 3rd edition. Waltham, MA, USA, Academic Press.

Somasegaram P., Halliday J., (1982). Dilution of liquid Rhizobium culture to increase production capacity of inoculants plant. *Appl. Environ. Microbial.* 44- 330- 333p.

Souamia, A. (2010). Biodiversité et isolement des symbiotes mycorrhiziens et symbiote fixateurs d'azote d'*Alnus glutinosa* (L. Gaertn) et d'*Acacia Melanoxylon* (R) de la station du Lac Tonga (Nord-Est Algérien). Thèse de magister. University Badji Mokhtar, Annaba. Algeria. 125p.

Squartini A., Struffi P., Doung H., Selensko Pobell S., Tola E., Giacomini A., Vendramin E., Velazquez E., Mateos P.F., Martinez-Molina E., Dazzo F.B., Casella S., Nuti M.P.

(2002). *Rhizobium sullae* Snob. (Formerly *Rhizobium hedysani*) the root-nodule microsymbiont of *Hedysarum coronarium* L. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 52(4) : 1267-1276p.

Strullu D.G. (1990). Les mycorhizes des arbres et plantes cultivées. Québec. 28-49p.

Svitoonoff S. (2003). Implication d'une subtilase dans les étapes précoces des symbioses actinorhiziennes. Thèse Doctorat. Univ. Montpellier II. 67p.

T

Trichant T.C., Drevon J.J, Rigaut J. (1997). Fixation symbiotique de l'azote. In : Assimilation de l'azote chez les plantes : Aspects physiologique, biochimique et moléculaire. Ed : INRA, Paris. pp :133-147p.

Trifi-Farah N., Chatti W.S., Marrakchni M., Perses J. (1989) . « Déterminisme génétique chez *Hedysarum coronarium* L. », *Agronomie*. 9 :503-510p.

Trifi -Farah N., Chatti W.S., Marrakchni M., Perses J. (1989). Analyse de la variabilité morphologique et enzymatique des formes cultivées et spontanées de *Hedysarum coronarium* L. *Agronomie*. 9 :591-598p.

Trifi-Farah S., Marrakachni M., (2000). Genetic variability of *Hedysarum coronarium* L. Using molecular marks. *Cahier opt. Med.* 45. 85-89p.

V

Valverde A., Velázquez E., Fernández-Santos F., Vizcaíno N., Rivas R., Mateos P.F., Martínez-Molina E., Igual J.M. & Willems A. (2005). *Phyllobacterium trifolié* sp nov. nodulating *Trifolium* and *Lupinus* in Spanish soils. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55(5) : 1985-1989p.

Sites consultés et utilisés.

<https://www.terre-net.fr/observatoire-technique-culturelle/appros-phytosanitaire/article/premier-tech-vise-le-marche-agricole-216-111794.html>

<https://www.Diabet.qc.ca/fr/vivre-avec-le-diabete/alimentation/aliments-et-nutriments/les-legumineuses>.

[https://www.Futura-science.com/santé/definition/alimentation-légumineuses-2316/](https://www.Futura-science.com/santé/definition/alimentation-legumineuses-2316/)

Annexes

Annexe 1 :

1. le matériel utilisé :

1.1. Sur le terrain :

- La hache (pour le prélèvement)
- Des sachets
- Smart phone (pour prendre des photos)

1.2. Dans le laboratoire :

- Microscope photonique (pour l'observation des endomycorhizes)
- Une loupe (pour le comptage des nodules)
- Balance électrique (pour peser le sol)
- Agitateur (pour l'agitation de sol)
- Des Baroux magnétiques
- pH mètre (pour mesure le Ph)
- Conductimètre (pour mesure la conductivité)
- Porte lame
- Lames et lamelles
- Boites de pétri
- Une pince
- Une règle
- Un tamis (tamiser le sol)
- Des tubes à essais
- Une plaque chauffante
- Un marqueur
- Vernis (pour fixer les lames)
- Des ciseaux
- Des verres à montre
- Erlen Miller (figure
- Eprouvette (figure

1.3. Les produits chimiques :

- FPA (5% d'acide propionique+3% de formol+92% d'alcool à 70° pour la fixation des racines).

- La potasse (90 ml de l'eau distille +10mg de potasse pour vider les racines).
- Glycérine (un volume de l'eau distille +un volume de glycérol+ un volume d'acide lactique).
- L'eau oxygénée.
- L'acide lactique.
- Bleu de trépan (pour la coloration des racines).

Annexes 2 :

Potentiel hydrogènes pH représente l'acidité de sol, il est mesuré dans le rapport sol /solution 2 /5 (LE CLECHE, 2000)

$\leq 3,5$	3,4-4,2	4,2-5	5-6,5	6,5-7,5	7,5-8,5	$\geq 8,7$
Hyper acide	Très acide	acide	Faiblement acide	Neutre	basique	Très basique

Annexes 3 :

La salinité en fonction de la conductivité de l'extrait 1 /5 (LE CLECH, 2000)

CE (ds/m) à 25 C°	Degré de salinité
$\leq 0,6$	Sol non salé
$0,6 \leq CE \leq 2$	Peu salé
$2 \leq CE \leq 2,4$	salé
$2,4 \leq CE \leq 6$	Très salé
$CE \geq 6$	Extrêmement salé

Résumé :

L'objectif de notre travail est l'étude qualitative et quantitative du statut symbiotique de cinq populations au stade végétatif, floraison et fructification d'*Hedysarum flexuosum* de la wilaya de Tizi-Ouzou. Les racines des cinq plants des populations de Boghni, Assi Youcef, Tigzirt, Tirmatine et Tizi-Ouzou sont collectées entre le mois d'Avril et le mois de Juin de l'année 2021 entre 0 et 20cm de profondeur. Les racines sont transportées dans des sachets étiquetées et transposées à 4°C en attendant les observations macro et microscopiques. Les racines sont rincées et 100 cm de racines sont observées pour déterminer la colonisation et le dénombrement des nodules rhizobiens présent sur les racines des plants de chaque station. Des coupes transversales des nodules observées est qualifié par la présence de la leghémoglobine par la couleur rose des coupes selon les différents stade des plants. Une 100 de cm sont également observées après un processus de nettoyage selon le méthode de Phillips et Hayman (1970) afin d'observer l'endomycorhization ainsi que l'estimation de la colonisation endomycorhizienne avec les paramètres fréquence et intensité mycorhiziennes et intensité arbusculaire de la partie radiculaire et de la partie mycorhizée des racines. Les résultats obtenue montre la présence d'une colonisation rhizobienne très appréciable chez toutes les populations locales et à tous les stades de développement ainsi la présence des endophytes dans toutes les racines des régions d'études. De se fait, *Sulla flexuosa* est une espèce quadripartite, grâce à la présence des quatre partenaires : la plante hôte, Rhizobium, symbiose endomycorhizienne et les endophytes. Le nombre des nodules ont varié d'un stade à un autre et d'une population à une autre. L'effectif le plus élevé étant enregistré chez la population de Tirmatine avec 114 nodules pour la période végétative. Nous avons constaté la présence de nodule de couleur blanche, rose claire, rose foncé et rouge des le stade végétatif. Cependant, une abondance des nodules plus efficient de couleur rouge au stade floraison et fructification. Concernant la symbiose mycorhizienne de *Sulla* nous avons démontré la l'existence de la symbiose endomycorhizienne efficiente par la présence des différentes structures telles que les vésicules, les hyphes ainsi que les arbuscules plus abondant attestant de l'intensité d'échange entre les deux partenaires notamment pendant le stade végétatif. L'infection mycorhizienne de *Sulla flexuosa* est supérieure 50% pour toutes les populations d'études durant les trois phases de développement avec un taux de 85% enregistré chez la population de Tirmatine.

Mots clé : *Hedysarum flexuosum*, population, stade de développement, symbiose endomycorhizienne, Rhizobium, Tizi-Ouzou.

Abstract

The objective of our work is the qualitative and quantitative study of the symbiotic status of five populations at the vegetative, flowering and fruiting stages of hedysarum flexuosum in the wilaya of Tizi-Ouzou. The roots of five plants from the populations of Boghni, Assi Youcef, Tigzirt, Tirmatine and Tizi-Ouzou are collected between April and June of the year 2021 between 0 and 20cm depth. The roots are transported in labeled bags and transposed at 4°C while waiting for macro and microscopic observations. Roots are rinsed and 100 cm of roots are observed to determine colonization and rhizobial nodule counts on the roots of the plants at each station. Cross sections of the observed nodules are qualified by the presence of leghaemoglobin by the pink color of the sections according to the different stages of the plants. A 100 of cm are also observed after a cleaning process according to the method of Phillips and Hayman (1970) in order to observe the endomycorrhization as well as the estimation of the endomycorrhizal colonization with the parameters mycorrhizal frequency and intensity and arbuscular intensity of the radicular part and the mycorrhizal part of the roots. The results obtained show the presence of a very appreciable rhizobial colonization in all the local populations and at all the stages of development as well as the presence of endophytes in all the roots of the regions of study. Therefore, Sulla flexuosa is a quadripartite species, thanks to the presence of four partners: the host plant, Rhizobium, endomycorrhizal symbiosis and endophytes. The number of nodules varied from one stage to another and from one population to another. The highest number was recorded in the Tirmatine population with 114 nodules for the vegetative period. We noted the presence of nodules of white, light pink, dark pink and red color of the vegetative stage. However, an abundance of nodules more efficient of red color at the stage of flowering and fruiting. Concerning the mycorrhizal symbiosis of Sulla we have demonstrated the existence of efficient endomycorrhizal symbiosis by the presence of different structures such as vesicles, hyphae as well as the more abundant arbuscules attesting to the intensity of exchange between the two partners especially during the vegetative stage. The mycorrhizal infection of Sulla flexuosa is higher than 50% for all the study populations during the three development phases with a rate of 85% recorded in the Tirmatine population.

Key words: *Hedysarum flexuosum*, population, developmental stage, endomycorrhizal symbiosis, Rhizobium, Tizi-Ouzou.