

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la
Vie
Département de Biologie et Ecologie Végétale

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم: البيولوجيا و علم البيئة النباتية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : *Biotechnologie et Génomique Végétale*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Contribution à l'étude des mycorhizes de la
région de Constantine et méthodes de leurs
conservation.**

Présenté par : AIT ABDESSELAM Silia
LADRAA Hiba Housna

Le 19/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : Mme BOUSBA Ratiba (Professeur - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : Mr KELLOU Kamel (Maitre Assistant A- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : Mlle MOUELLEF Adraa (Maitre de conférence B- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire
2021 - 2022**



REMERCIEMENTS

Nous remercions, tout d'abord, Allah tout puissant, qui nous a éclairci le chemin du savoir et nous a donné la volonté, le courage et surtout la patience nécessaire d'effectuer ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à notre enseignante Madame BOUSBA Ratiba professeur à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université Frères Mentouri Constantine ; d'avoir accepté de diriger et d'orienter ce travail de recherche ; nous la remercions aussi pour son accueil ; son aide et ses conseils très précieux dans l'exploitation des résultats. Il est agréable d'exprimer notre pleine gratitude pour votre simplicité et votre générosité preuve de vos qualités humaines et scientifiques.

Nous remercions les membres de jury Monsieur KELLOU Kamel, maître assistant A à l'université Frères Mentouri Constantine et Madame MOUELLEF Adraa, maître de conférence B à l'université Frères Mentouri Constantine d'avoir accepté de présider et examiner cette étude.

Nos vifs remerciements s'adressent également aux membres du laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale (GBBV).

Nos remerciements s'adressent également à tous les enseignants du département de Biologie et Ecologie Végétale pour leurs aides et encouragements au cours de nos études.

Et pour finir nous tenons à remercier nos deux familles ainsi que tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

Avec la générosité et l'aide d'ALLAH Le majestueux qui m'a donné la patience, le courage et la santé, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

À celui qui ne cesse de se sacrifier pour moi, à ma fierté et mon bonheur, à mon très cher père Djamel. Merci pour ta patience, tes encouragements et tes orientations durant toutes mes années d'étude. Ce travail, et ce que je suis aujourd'hui sont le fruit de tous les efforts que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance. Que Dieu te donne une longue et joyeuse vie.

À celle qui m'a donné la tendresse, l'amour, le soutien et la confiance, à la source de mes efforts, à ma très chère maman Ould Kaki Menouba. Avec un énorme plaisir, et une immense joie, je dédie ce travail à toi maman pour ta permanente présence à mes côtés et ton soutien tout au long de ma vie. Que dieu, le tout puissant, te préserve et t'accorde le bonheur, la santé et une longue vie.

À mes chères sœurs Imen, Ismahane et mon petit frère Rafik, qui m'ont toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études.

Merci !

Silia

A mes chers parents « Mouhamed et EL HADEF ELOKKI Zahia » pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mon marie « MEGRAH Souheib » pour son encouragements permanents, et son soutien moral,

A ma chère sœur « Amina », tu n'as jamais cessé de me soutenir moralement et financièrement,

A mes chers frères « AbdErahman » « Merouan » « Mokhtar » « Wassim » pour leur appui et leur encouragement,

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible,

Merci d'être toujours là pour moi.

Hiba

Liste des abréviations

CMA : champignon mycorhizien à arbuscule.

ARN : Acide ribonucléique

AFM : Mycorhizes Formatrices d'Arbuscules

PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria.

PH : potentiel d'hydrogène

ADNr : ADN ribosomique

ATP : Adénosine triphosphate

MVA : Mycorhizes à Vésicules et à Arbuscules

µm : Micro mètre

VA : Vésicule et Arbuscule

VAM : Vesicular Arbuscular Mycorrhizae

Kcl : Chlorure de potassium

CE : conductivité électrique.

KOH : Potassium.

LSU : grande Sous Unité

SSU : sous-unités

N: Azote

P: Phosphore

S1 : Sol 1

S2 : Sol 2

Liste des figures

Titre des figures	page
Figure 01 : Les différents types d'associations mycorhiziennes (d'après Selosse et Le Tacon, 1998).	21
Figure 02 : Classification des CMA selon Schüßler et al. (2001) après corrections de Oehl et Sieverding (2004), Walker et Schüßler (2004), Sieverding et Oehl (2006), Spain et al. (2006), Walker et al. (2007a, b) et Palenzuela et al. (2008).	23
Figure 03 : Les différentes formes de spores AMF (https://invam.wvu.edu/methods/spores)	25
Figure 04 : Localisation des sites d'échantillonnage.	39
Figure 05 : Prélèvement des échantillons de soldans la région de Djebel El Ouahch	40
Figure 06 : Prélèvement des échantillons de sol dans la région de Chaabat Erssas	40
Figure 07 : Tamisage du sol	41
Figure 08 : Filtrage	42
Figure 09 : Mesure du Ph	44
Figure 10 : Mesure de la conductivité	45
Figure 11 : Etapes de détermination de la texture du sol	47
Figure (12) : Diversité de morphotypes de spores récoltées sur le tamis 250µm, issues du sol de la région de Djebel El Ouahche	49
Figure (13) : Diversité de morphotypes de spores récoltées sur le tamis 250µm, issues du sol de la région de Chaabat Erssas	49
Figure (14) : valeurs du PH en deux sites (Djebel El Ouahche et Chaabat Erssas)	51
Figure (15) : valeurs de la conductivité en deux sites (Djebel El Ouahche et Chaabat Erssas)	52
Figure (16) : valeurs de l'humidité en deux sites (Djebel El Ouahche et Chaabat Erssas)	52

Liste des tableaux

<i>Titre des tableaux</i>	<i>Page</i>
Tableau 01 : Principales structures et fonctions de l'AMF (Souza, 2015).	24
Tableau 02 : Les genres AMF et leurs formes de spores (Souza, 2015).	26
Tableau 03 : les avantages et bénéfices relatifs à l'adoption des mycorhizes en milieu agricole.	37
Tableau 04 : Echelle du pH des sols (GAUCHER, in SOLTSEK -1981).	44
Tableau 05 : Echelle de salinité du sol (USSSL-1954)	45
Tableau 06 : Echelle de la texture (SOLTSEK-1981).	46
Tableau 07 : Principales caractéristiques, couleur, forme des différents types des spores et leur identification.	50

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 11

Chapitre I : Etude Bibliographique

I. Diversité taxonomique des Champignons Mycorhiziens Arbusculaire	14
II. Le continuum sol-plantes-microorganismes	15
1- Le sol	15
2- La symbiose mycorhizienne	18
2.1- Généralité	18
2.2- Les composants de la symbiose mycorhizienne	18
2.3- Les principaux types des symbioses	19
➤ Les ectomycorhizes	19
➤ Les endomycorhizes	20
➤ Les ectendomycorhizes	20
2.4- Les mycorhizes à vésicules et arbuscules	21
2.4.1- Historique et systématique	21
2.4.2- Taxonomie actuelle	22
2.4.3- Principales structures et fonctions de l'AMF	24
2.4.4- Analyses sporales et description morpho-anatomique	25
III. Role des CMA	27
1. Biofertilisation	27
1.1- Transfert du phosphore	27
1.2- Transfert de l'azote	29
1.3- Transfert d'oligo-éléments du CMA à la plante	29
2. Amélioration du rendement et de la qualité des productions végétales	30
3. Bioprotection	30
3.1- Résistance au stress biotique	30

3.2- Résistance au stress abiotique	33
4. Biostabilisation du sol	35
5. Impact des données de la recherche sur les mycorhizes sur la prise de décision en agriculture	36

Chapitre II : Matériel et méthodes

I. Présentation de la zone d'étude	39
1.1- Localisation géographique.....	39
1.2- Prélèvement des échantillons de sol	39
1.3- Extraction des spores par tamisage humide.....	40
1.4- Dénombrement des spores	41
1.5- Détermination de l'abondance des spores.....	42
II. Analyses des paramètres physico-chimiques des sols.....	43
2.1- Mesure du pH (Kcl)	43
2.2- Conductivité électrique.....	44
2.3- Texture	46

Chapitre III : Résultats et discussion

1.-identification des spores.....	49
2- Analyses des paramètres physico-chimiques des sols.....	50
2.1 - Le PH.....	50
2.2 - Conductivité électrique.....	51
2.3 - Humidité	52

Chapitre IV : Méthodes de conservation des spores

❖ Formulations	59
❖ Biotechnologie et mycorhization contrôlée.....	59
❖ Critères déterminant le choix du type de formulation de l'inoculum fongique	62
❖ Les spores fongiques comme source d'inoculum mycorhizien.....	62
- Inoculum de type « spores » et effet sur la croissance de la plante hôte	62
❖ Cryoconservation des spores vésiculaires — mycorhiziens arbusculaires	63
❖ Direction future	65
Conclusion	68
Références bibliographiques	71
Résumé	74



Introduction

Introduction

La plupart des pays développés et en voie de développement optent pour la production, la consommation et l'importation d'aliments biologiques. Les pays en développement adoptent également l'agriculture biologique pour l'exportation et le profit. Au cours des dernières années, le public s'est sensibilisé aux répercussions négatives sur la diversité écologique, l'hygiène des aliments, l'environnement et l'économie en raison de l'agriculture moderne (Willer et al., 2020). Par conséquent, le concept de gestion agricole durable émerge, où une production agricole suffisante est possible sans aucun dommage écologique et sanitaire (Andres et Bhullar, 2016; Pretty et Bharucha, 2014).

L'agriculture biologique est une autre méthode biologique et agro-systématique qui maintient une production alimentaire sûre, économique et respectueuse de l'environnement. Le passage d'une agriculture conventionnelle à forte intensité d'intrants à une agriculture biologique ne devrait jamais équilibrer le rendement du jour au lendemain. Le fumier organique est traité et utilisé en présence et en fonction de divers microbes du sol. L'agriculture biologique avec des consortiums microbiens appropriés pour un environnement particulier, les conditions du sol et les cultures sont essentielles pour le remplacement du rendement au cours des années successives (Alori et Babalola, 2018; Santos et al., 2019); pour maintenir la fertilité du sol à long terme et une productivité alimentaire sûre et de grande qualité. (Bender et vander Heijden, 2015 ; Philippot et al, 2013).

L'application de champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) comme bioinoculation, pourrait être une solution de rechange efficace, faciliter les avantages majeurs à long terme pour la fertilité du sol, la nutrition des plantes et la protection, a une puissance prometteuse dans l'agriculture durable (Cavagnaro et coll., 2015; Thirkell et coll., 2017). Mycorrhiza est l'association mutualiste importante entre les deux royaumes, Plantae et Fungi.

La fertilité et la productivité des sols sont hautement liées à l'activité biologique du sol, d'autant plus que les fertilisants sont rarement utilisés par la plus grande partie des paysans (Onguene, 2000). Le développement des plantes dépend des interactions qu'elles entretiennent avec le milieu environnemental, notamment avec les microorganismes du sol. C'est le cas des mycorhizes qui sont des symbiotes des racines des plantes.

Ces champignons telluriques sont dits mycorhizogènes (Smith et Read, 1997). Ces champignons qui ont été classés récemment dans l'embranchement des Gloméromycètes (Schüssler et al., 2001) constituent une composante importante dans le fonctionnement et la diversité des écosystèmes terrestres par leur ubiquité et leur implication directe dans les processus essentiels se tenant à l'interface sol/ plante (Fitter, 1988 ; Smith et al., 1993, Varma,1998).

Parmi ces champignons symbiotiques, les champignons endomycorhiziens à arbuscules et vésicules constituent le groupe le plus couramment rencontré dont les effets bénéfiques sur la croissance et la tolérance aux stress (Barea et al. 1993 ; Bethlenfalvay et Lindermann, 1992 ; Smith et Read, 1997).

L'utilisation de ces champignons en agriculture durable est une réalité au niveau mondial. Cette approche nécessite la compréhension de la diversité et de la dynamique de ces champignons dans leur environnement naturel.

Le CMA peut également être utilisée comme agent de lutte biologique pour protéger les maladies des plantes hôtes contre les pathogènes du sol (Veresoglou et Rillig, 2012).

Dans ce contexte, Cette étude vise à isoler et identifier les spores des mycorhizes dans deux sites différents dans la région d'Algérie (Djebel El Ouahch et Chaabat Erssas) ainsi que leur méthodes de conservation.



CHAPITRE I

Etude Bibliographique

Pour développer une agriculture et restaurer ces écosystèmes de façon durable, il est impératif d'utiliser des techniques efficaces et respectueuses de l'environnement, en limitant ou en n'utilisant pas d'intrant chimique tel que le phosphore ou les pesticides. Une des solutions les plus prometteuses pour l'agriculture et la restauration écologique des milieux dégradés est l'utilisation des champignons mycorhiziens. En effet ces champignons ont prouvé leur efficacité dans des contextes agronomiques et écologiques en limitant les apports d'intrants chimiques (pesticides, N, P, K) et en conférant aux plantes une meilleure nutrition minérale et une tolérance aux stress biotiques et abiotiques du milieu. Parmi les associations plantes-champignons, la plus fréquente est la symbiose mycorhizienne à arbuscules : la majorité des espèces végétales sont associées, au niveau de leur racine, avec des champignons du groupe des Gloméromycètes.(Newsham et al.2009 ; Smith et Read 2008).

I. Diversité taxonomique des champignons mycorhiziens arbusculaires

Traditionnellement, la taxonomie du CMA a été fondée sur les caractéristiques morphologiques des spores produites dans les caractéristiques du sol, y compris la taille, la couleur et diverses couches de la paroi cellulaire. Cependant, les spores CMA ont des structures simples avec seulement quelques caractéristiques morphologiques. De plus, les spores prélevées dans le sol des champs ne sont pas dans leur état initial, et plusieurs espèces des CMA peuvent ne pas produire de spores dans des conditions contrôlées. Ces problèmes d'identification morphologique des CMA permettent de déterminer l'identité des espèces uniquement par des experts et ont entravé les études écologiques ainsi que la systématique des CMA. Le CMA a été placée dans six genres d'un ordre de Glomales (Zygomycota) en utilisant l'analyse phylogénétique et des caractéristiques morphologiques.

Cependant, l'analyse séquentielle de l'ARN ribosomique 18S a montré que toutes les espèces CMA sont incluses dans un clade monophylétique et séparées de tous les principaux groupes fongiques. De plus, elle était si diversifiée au sein du groupe que toutes les espèces CMA ont été placées dans un nouveau phylum, le Glomeromycota. Dans une étude récente, Krüger et al ont analysé des séquences de 136 espèces de CMA, dont 27 espèces non décrites, et ont suggéré que le nombre d'espèces décrites était certainement sous-estimé.

La région de l'ADNr des petites sous-unités (SSU) a été le plus largement utilisée pour l'analyse de la séquence phylogénétique pour la FMA, parce que la variation intraspécifique de l'ADNr de la région interne de l'espaceur transcrit, qui est généralement utilisée pour l'identification et le codage à barres des espèces fongiques, est trop élevée pour être utilisé pour distinguer les espèces dans AMF. Toutefois, l'utilisation des SSU de l'ADNr pourrait aussi sous-estimer la diversité réelle du gloméromycose. Ainsi, des informations provenant de séquences, telles que les grandes sous-unités (LSU) et les β -tubulines, seraient nécessaires pour mieux comprendre la diversité réelle des CMA.

Les études écologiques sur les CMA se sont également appuyées sur les spores recueillies dans le sol. Cependant, les données sur les spores recueillies dans le sol ne reflètent pas nécessairement la diversité réelle et les racines de colonisation CMA actives sur le plan fonctionnel. Par conséquent, l'identification des espèces CMA dans les racines des plantes est essentielle pour leur étude écologique.

Cependant, il n'est pas possible d'identifier les hyphes AMF au niveau des espèces dans les racines en utilisant des caractéristiques morphologiques. De plus, en raison de la complexité des systèmes racinaires, il n'est pas possible de distinguer les symbiotes actifs des CMA dans une plante individuelle des communautés de spores dans le sol. La mise au point d'amorces et de protocoles appropriés a permis d'identifier les CMA dans les racines des plantes. Des amorces PCR spécifiques ont été développées pour toutes les lignées CMA pour utilisation dans la PCR, et les séquences LSU ont été utilisées pour l'identification des CMA et pour la construction d'un système plus précis.

II-Le continuum sol – plante – microorganismes

1-Le sol

Le sol est considéré comme la couche superficielle de l'écorce terrestre située à l'interface entre la lithosphère et l'atmosphère. Il est la conséquence de la transformation de la roche mère enrichie par des apports organiques et caractérisée par la présence de vie. Il est un support et une ressource de base pour la plupart des activités humaines. À une échelle microscopique, le sol constitue un environnement où interagissent directement ou indirectement de nombreux microorganismes, entre eux mais aussi avec les composantes abiotiques du sol (matière organique, matrice minérale, etc.) et avec les racines des plantes

(Albino et Andrade, 2006). Il constitue ainsi un réacteur biologique très actif où se développent des réactions biochimiques abondantes et variées.

La production primaire des plantes, via le turnover de la matière organique sénescence et les rhizodépôts d'exsudats, constitue une des principales voies par lesquelles le C atmosphérique alimente le cycle du C dans le sol (Carpenter-Boggs et al., 2000 ; Six et al., 2006). De nombreux autres composés chimiques et certains xénobiotiques se retrouvent également dans les sols et les microorganismes sont fortement impliqués dans leur évolution (Corgié et al., 2004 ; Corgié et al., 2006). Ces mécanismes d'origine biotique et abiotique permettent un retour des éléments chimiques dans le pool de nutriments dissous dans la solution de sol qui sont alors mobilisables par la plante pour assurer ses besoins.

La structure des communautés microbiennes associées aux racines des plantes est fortement dépendante de la quantité et de la qualité des exsudats racinaires. La composition de ces exsudats racinaires est principalement déterminée par les caractéristiques du couvert végétal en présence : composition spécifique, âge de la formation, etc. (Grayston et Campbell, 1996 ; Coleman et al. 2000 ; Gransee et Wittenmayer, 2000) et des conditions environnementales (Grayston et Campbell, 1996). L'exsudation racinaire représente la diffusion passive de solutés racinaires vers la solution du sol. Ces exsudats sont constitués majoritairement de sucres, d'acides carboxyliques et d'acides aminés et sont plus particulièrement présents en abondance au niveau des extrémités racinaires (Jones, 1998).

La rhizosphère a été définie par Hiltner (1904) comme le volume de sol évoluant sous influence des racines et caractérisé par une intense activité microbienne résultant de la diffusion ou de l'exsudation de composés organiques au niveau racinaire (Curl et Truelove, 1986 ; Grayston et al. , 1997). Cet effet rhizosphère est un processus dynamique résultant d'interactions entre la plante hôte, le sol, les microorganismes telluriques et différentes caractéristiques du milieu (climat, pratiques culturales, ...) attribuant à ce compartiment rhizosphérique des caractéristiques physico-chimiques et biologiques particulières (Yang et Crowley, 2000 ; Wieland et al. 2001).

Les interactions entre la plante hôte et les microorganismes peuvent être soit facilitatrices, soit antagonistes pour un indicateur donné (ex. : croissance de la plante)

(Souchie et al. 2006 ; Stinson et al., 2006). Ces deux catégories d'interactions se manifestent également entre les microorganismes telluriques (Duponnois et Plenchette, 2003 ; Duponnois, 2006).

Parmi les groupes fonctionnels composant la microflore tellurique, certains jouent un rôle majeur dans l'amélioration de la croissance et de la survie des plantes en augmentant notamment la biodisponibilité d'éléments minéraux qui constitue fréquemment la principale contrainte au bon développement du végétal. Dans cette perspective, de nombreux microorganismes telluriques ont été considérés comme des biofertilisants potentiels dans le cadre d'une agriculture durable à faible apport d'intrants (Rodriguez et Fraga, 1999 ; Johansson et al., 2004 ; Matiru et Dakora, 2004 ; Douds et al., 2005 ; Gentili et Jumpponen, 2006). Il s'agit notamment des champignons mycorhiziens qui améliorent la nutrition hydrique et minérale (Duponnois et al., 2005 ; Lambers et al., 2008) et la protection phytosanitaire (Leyval et Joner, 2001 ; Joner et Leyval, 2003) des plantes ; des bactéries fixatrices d'azote qui sont capables de piéger l'azote atmosphérique et de le rendre accessible aux plantes (Samba et al., 2002 ; Matiru et Dakora, 2004).

Des processus de mobilisation d'éléments nutritifs à partir de formes complexes de phosphates organiques et inorganiques ont également été mis en évidence chez ces microorganismes (Chabot et al., 1996 ; Alikhani et al., 2006). De nombreuses autres bactéries (notamment les bactéries des genres *Pseudomonas*, *Bacillus*,...) peuvent également solubiliser ces phosphates (Harris et al., 2006 ; Souchie et al., 2006) et/ou produire des hormones de croissance, des antibiotiques, etc. (Hamdan et al., 1991 ; Gentili et Jumpponen, 2006). Pour cet effet positif sur la croissance des plantes, ces bactéries sont nommées Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR).

En revanche, il existe des microorganismes phytopathogènes dans le sol et susceptibles de réduire fortement la survie et le développement des végétaux (Miller et al., 1997 ; Nyvall, 1999).

2. La symbiose mycorhizienne

2.1- Généralité

Une symbiose désigne une association d'organismes vivants dont chacun des partenaires bénéficie afin de mieux survivre, se nourrir et se reproduire.

Les mycorhizes sont des unions durables basées sur des échanges réciproques de métabolites entre les racines des végétaux et certains champignons présents dans le sol. Le nouvel organe mixte est formé de tissus de la plante hôte et du champignon mycorhizien (ou symbiote fongique) et chaque partenaire optimise son développement grâce à cette symbiose.

Ces champignons sont présents dans la majorité des écosystèmes terrestres (on les qualifie d'ubiquistes) et les racines de plus de 80 % des espèces de plantes vasculaires présentent (ou sont susceptibles de présenter) des symbioses mycorhiziennes. La présence de mycorhizes est donc un phénomène général chez les plantes. Le potentiel mycorhizien des sols est constitué par un ensemble de propagules fongiques qui sont soit des spores, soit des hyphes, soit des fragments de racines mycorhizées.

Les CMA, champignons microscopiques du sol, colonisent simultanément les racines et leur rhizosphère en s'y propageant sur plusieurs centimètres sous forme de filaments ramifiés. Ce réseau filamenteux, greffé aux racines permet à la plante d'accéder à une plus grande quantité d'eau et de minéraux du sol nécessaires à sa nutrition. En échange, la plante fournit aux champignons les sucres, acides aminés et vitamines essentiels à sa croissance (Harley et Smith, 1983). Mieux nourrie, une plante mycorhizée croît davantage, fructifie abondamment et surtout acquiert une meilleure résistance aux stress environnementaux tels que la sécheresse, le froid et les pathogènes racinaires (Sylvia et Williams, 1992).

2.2-Les composantes de la symbiose mycorhizienne

Les mycorhizes résultent d'une union durable basée sur des échanges réciproques entre les racines des végétaux et certains champignons du sol. Elles constituent des composantes essentielles dans la relation sol-plantes-microorganismes. En effet, certaines espèces végétales ne peuvent croître normalement sans s'associer à un partenaire fongique (Janos, 1980 ; Gobat et al., 2003). La diversité végétale est entre 220 000 et 420 000 espèces de plantes terrestres (Scotland et al. 2003). D'après l'examen de plus de 10 000 espèces, en majorité des

angiospermes, des structures mycorhiziennes ont été observées chez 86 % d'entre elles (Brundrett, 2009; Tedersoo et al. 2010).

Le nouvel organe mixte résulte de l'association intime de la plante hôte et du champignon mycorhizien et chaque partenaire optimise son développement grâce à cette symbiose. Les racines de plus de 80 % des espèces de plantes vasculaires présentent ou sont susceptibles de présenter des structures mycorhiziennes au sein de leur système racinaire. La présence de mycorhizes est donc un phénomène général chez les plantes à l'exception de quelques familles comme les Brassicaceae, les Caryophyllaceae, les Cyperaceae, les Juncaceae, les Chenopodiaceae et les Amaranthaceae qui présentent très peu d'associations (Strullu, 1991 ; Norman et al. 1995). Leur impact est primordial dans tout ou partie du cycle de la plante, surtout, mais non exclusivement, pour la nutrition. Le champignon profite des ressources carbonées synthétisées par la plante via la photosynthèse et qui sont indispensables à son métabolisme et à sa fructification.

En retour, les hyphes fongiques améliorent la nutrition hydrique et minérale de la plante hôte grâce à l'augmentation du volume de sol prospecté et à la production de divers enzymes extracellulaires (protéinases, phosphatases, etc.) susceptibles de mobiliser des éléments nutritifs à partir de composés complexes du sol (Manjunath et al. 1989 ; Leyval et Berthelin, 1993 ; Gobat et al. 2003).

2.3-Les principaux types de symbioses

D'après la morphologie de l'organe résultant de l'association plante - symbiote fongique, différents types de mycorhizes sont distingués (**Figure 01**). Les mycorhizes à arbuscules, les mycorhizes orchidoïdes et les ectomycorhizes sont les plus fréquentes et les plus étudiées. Les mycorhizes à arbuscules sont les plus primitives et les plus répandues dans les écosystèmes naturels et cultivés (Tedersoo et al. 2010). Les mycorhizes à arbuscules seraient à l'origine des autres types de symbiose mycorhizienne et coïncideraient avec celle des végétaux terrestres il y a 450 millions d'années (Wang et Qiu, 2006).

➤ **Les Ectomycorhizes :** (du grec *ektos* : 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). Ce type d'association est principalement représenté chez les

essences forestières des régions tempérées, méditerranéennes et boréales, mais il a été également décrit chez quelques espèces tropicales de la famille des Dipterocarpaceae, Euphorbiaceae, Cesalpiniaceae, Myrtaceae et Fagaceae). Les partenaires fongiques appartiennent aux Basidiomycètes (Boletus, Russula, Laccaria...), mais aussi aux Ascomycètes (Tuber, Elaphomyces...).

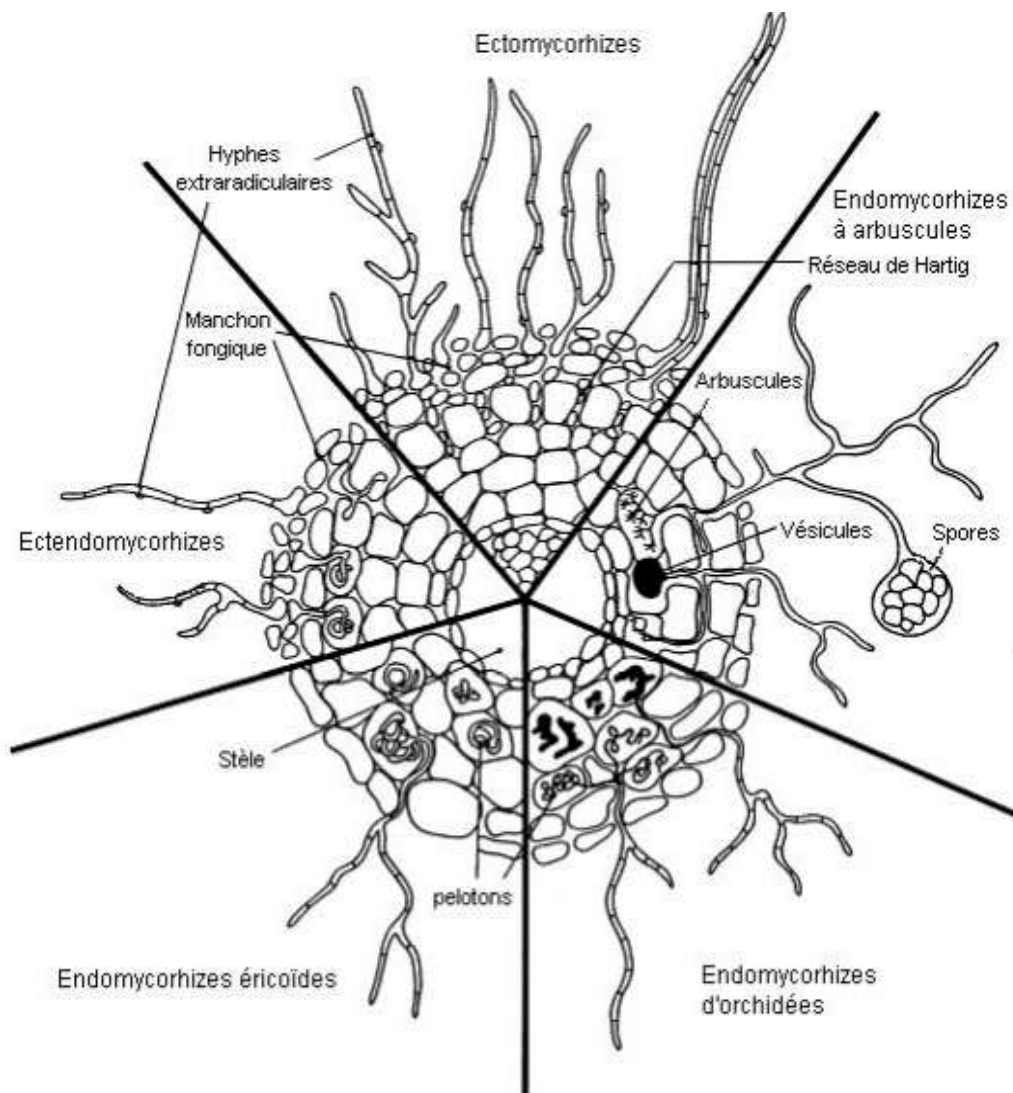


Figure 1 : Les différents types d'associations mycorhiziennes (d'après Selosse et Le Tacon, 1998).

➤ **Les Endomycorhizes** : (du grec endon : à l'intérieur) sont caractérisées par l'absence de manchon mycélien externe et par la pénétration des hyphes fongiques dans les cellules corticales. On rencontre :

- **Les Endomycorhizes des Orchidées :** formées par des Basidiomycètes et les endomycorhizes des Ericacées associées aux Ascomycètes (les Pezizaceae). Dans ces deux cas, le mycélium forme des pelotons à l'intérieur des cellules du parenchyme cortical.
 - **Les Endomycorhizes des Cristacées :** où les pénétrations endocellulaires ont une forme coralloïde. Les champignons symbiotiques impliqués appartiennent aux Ascomycètes hypogés (les Terfeziaceae).
 - **Les mycorhizes à vésicules et arbuscules :** formées par des champignons inférieurs et qui concernent environ 80 % des espèces végétales (Barea et Honrubia, 1993). Ces associations doivent leur nom aux structures fongiques résultant des hyphes intracellulaires qui se ramifient intensément à l'intérieur des cellules du cortex racinaire pour former des structures appelées arbuscules. Ces hyphes peuvent former des vésicules (Bonfante-Fasolo, 1984).
- **Les Ectendomycorhizes :** caractérisées à la fois par la présence du manteau mycélien et le développement d'hyphes inter et intracellulaires. Elles se rencontrent chez les Arbutacées, les Monotropacées et sont formées par des Basidiomycètes (Cortinarius, Boletus...) (Mikola, 1948).

2.4- Les Mycorhizes à vésicules et arbuscules

2.4.1- Historique et systématique

La plus ancienne notion d'endomycorhizes remonte à 1849 (Boullard, 1990), malgré que Morton et al. (1995) suggèrent qu'elles sont apparues il y a 250 millions d'années. Frank eut, dès 1887, le mérite de distinguer les ectomycorhizes et les endomycorhizes (Boullard, 1990).

En 1974, Gerdmann et Trappe ont pu résumer la diversité de ces champignons endomycorhiziens en évoquant une première classification basée essentiellement sur la similarité des phénotypes de leurs spores. Ainsi, 5 genres ont été définis : Endogone, Glomus, Sclerosystis, Acaulospora et Gigaspora. Ensuite, les mêmes auteurs ont révisé la famille des Endogonacées. 44 espèces au sein de 7 genres ont été caractérisées. Parmi elles, beaucoup de taxons ont été redéfinis, 2 genres (Acaulospora, Gigaspora) et 12 nouvelles espèces ont été décrits. Ames et Schneider (1979) mettaient en évidence le nouveau genre Entrophospora dans la famille des Endogonaceae, avec Entrophospora infrequens, espèce qui existait avant

dans le genre *Glomus* sous le nom de *Glomus infrequens* (Hall, 1977). Walker et Sanders (1986) ont séparé entre deux genres, *Gigaspora* et *Scutellospora*. En 1987, Schenck et Perez comptaient plus de 150 espèces décrites. Morton et Benny (1990) ont ensuite subdivisé l'ordre des Glomales en deux sous-ordres : les Glomineae et les Gigasporineae. Ces derniers comportent trois familles et six genres séparés selon des critères morphologiques comme par exemples :

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

Redecker et al. (2000) ont utilisé à la fois les données morphologiques et moléculaires et ont transféré *Sclerocystis coremioides* dans le genre *Glomus*, éliminant ainsi le genre *Sclerocystis*. Se basant sur les données morphologiques, moléculaires et biochimiques, Morton et Redecker (2001) ont décrit deux autres familles : Archaeosporaceae et Paraglomaceae. La première famille renferme le genre *Archaeospora*, avec trois espèces et la seconde le genre *Paraglomus* avec aussi deux espèces.

2.4.2- Taxonomie actuelle

La systématique des champignons mycorhiziens à arbuscules reposait essentiellement sur des critères morphologiques des spores (Morton et Benny, 1990), mais cette classification restait limitée puisqu'elle ne permettait pas de décrire finement cette diversité fongique (Giovanetti et Gianinazzi-Pearson, 1994). L'impossibilité de multiplier ces symbiotes fongiques en l'absence de leur partenaire végétal représente une difficulté supplémentaire pour établir une classification fiable de ces champignons.

Grâce à l'avènement de techniques de biologie moléculaire, la classification des champignons mycorhiziens a été significativement revue. Ces symbiotes fongiques sont actuellement classés dans le phylum des Glomeromycota (Schüßler et al ; 2001) avec quatre ordres, dix familles et approximativement 200 espèces décrites (Raab et Redecker, 2006) (figure2).

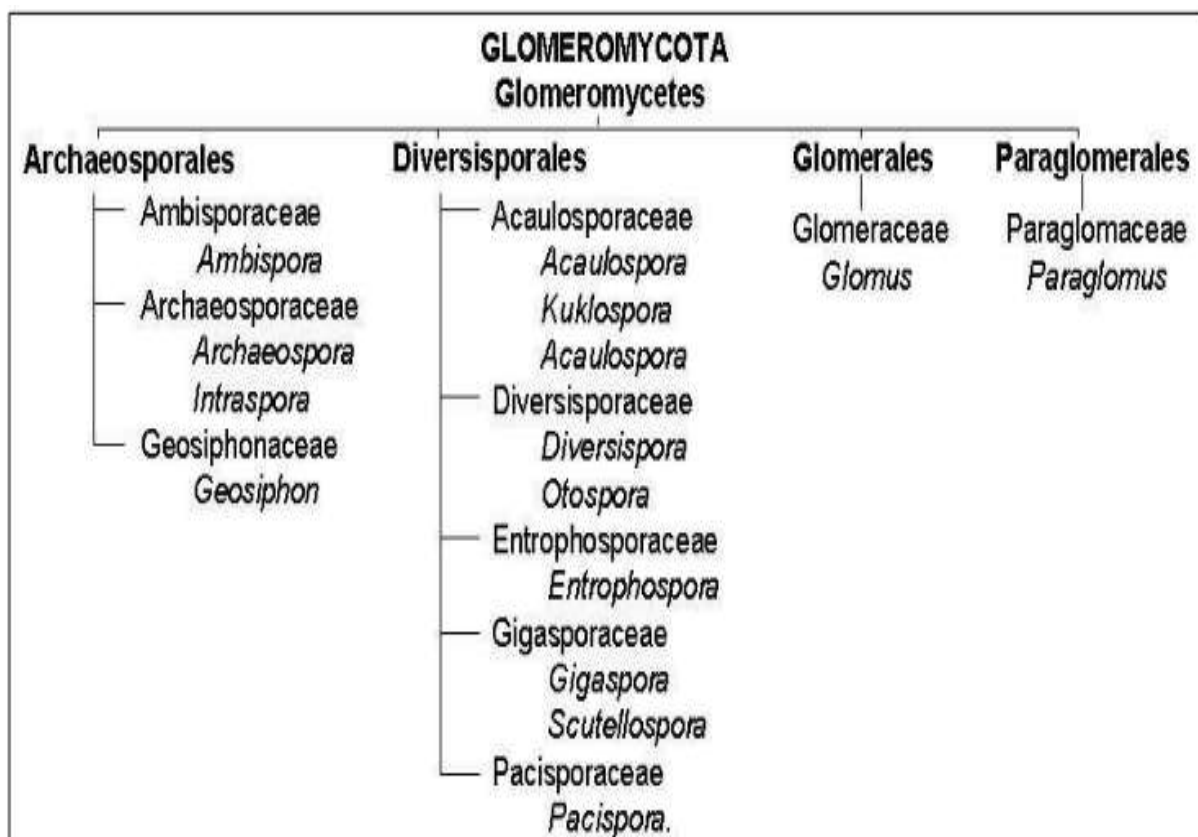


Figure 2: Classification des CMA selon Schüßler et al. (2001) après corrections de Oehl et Sieverding (2004), Walker et Schüßler (2004), Sieverding et Oehl (2006), Spain et Al. (2006) Walker et al. (2007a, b) et Palenzuela et al. (2008).

2.4.3- Principales structures et fonctions de l'AMF

Le tableau ci-dessus montre des différentes structures et fonctions des champignons mycorrhiziens arbusculaires :

Tableau 1 : Principales structures et fonctions de l'AMF (Souza, 2015).

Structure	Fonction
Arbuscules (intracellulaires)	(1) Interaction avec la plante hôte
	(2) Régulation biochimique et échanges de carbone, d'énergie et de nutriments.
	(3) Les structures varient en fonction des ordres existants (Archaeosporales, Diversisporales, Glomerales et Paraglomerales)
Vésicules (intraradiculaires) a	(1) Stockage de composés lipidiques riches en énergie pendant le développement des mycorhizes.
	(2) Responsable du maintien et de la croissance du champignon après l'arrêt de la fonction métabolique des racines.
Cellules auxiliaires (extraradiculaires) b	(1) Cellules fragiles responsables du stockage des lipides.
	(2) Les macromolécules fournissent le carbone nécessaire à la formation des spores lors de la sporulation.
Hyphe (intraradiculaire)	Établir les "unités d'infection" dans les racines de la plante hôte.
Hyphe (extraradiculaire)	(1) Responsable de l'absorption des nutriments et de l'eau de la rhizosphère.
	(2) Fournit de nouveaux points d'entrée le long de la racine de la plante hôte.
	(3) Responsable de la production de nouvelles spores.
Spores	(1) Structures de survie et de résistance.
	(2) Responsable de la dispersion et de l'établissement des AMF.
	(3) Valeur taxonomique pour l'identification des espèces d'AMF.
Parois de spores	(1) Importantes pour la croissance, la survie et la dispersion des spores dans le sol.
	(2) Les couches extérieures sont responsables des interactions avec d'autres microorganismes.
Murs germinatifs	Directement impliqués dans les événements de germination.
Structures germinatives	Fournit la base structurelle permettant au tube germinatif de se développer et de traverser les parois des spores.

2.4.4- Analyses sporales et description morpho-anatomique

Selon Morton et al. (1995) et Sturmer et Bellei (1991), les spores sont parmi les moyens disponibles pour mesurer la richesse et la diversité des CMA dans un sol. Les communautés de ces champignons présentes dans un sol peuvent être estimées en terme de nombre d'espèces présentes et d'abondance de chacune d'elles dans la communauté. L'estimation de l'abondance peut être faite par l'observation directe du nombre de spores présent dans le sol (Gerdemann et Nicolson, 1963 ; Brundrett et al. 1994). Par contre, leur identification est le plus souvent difficile à cause des faibles variations morphotypiques. Les spécialistes utilisent plusieurs critères qui permettent de distinguer au moins les genres. Selon Brundrett et al. (1994), ces critères sont :

- **Le développement de la spore** : c'est un critère essentiel pour définir le genre chez les glomales (Morton, 1988). Les espèces des genres *Scutellospora* et *Gigaspora* ont des spores qui se développent à partir d'un bulbe de l'hyphe suspenseur, par contre les espèces du genre *Glomus* se forment à partir d'un hyphe étroit tandis que les espèces d'*Acaulospora* et *Entrophospora* ont des spores qui deviennent sessiles après leur détachement du saccule sporifère.
- **La forme de la spore** : la majorité des spores des CMA ont une forme globuleuse mais chez certaines espèces on peut avoir une forme ovoïde, allongée ou amorphe.. La forme et le mode de formation des spores d'AMF sont illustrés dans la **figure 3** et **tableau 2**



Figure 03 : Les différentes formes de spores AMF (<https://invam.wvu.edu/methods/spores>)

Tableau 2: Les genres AMF et leurs formes de spores (Souza, 2015).

Genres	Spore	
	Mode de formation	Forme
Acaulospora	Individuellement	Acaulosporoïde
Ambispora	Individuellement	Acaulosporoïde/glomoïde
Archaeospora	Individuellement	Acaulosporoïde/glomoïde
Diversispora	Individuellement	glomoïde
Entrophospora	Individuellement	Entrophosporoïde ; Péridium présent
Funneliformis	Individuellement	Radial-glomoïde
Geosiphon	Individuellement	glomoïde
Gigaspora	Individuellement	Gigasporoïde
Glomus	Individuellement, en petits Groupes ou sporocarpes	Glomoïde ; Peridium présent
Claroideoglomus	Individuellement, ou en petits groupes	Glomoïde ; Peridium présent
Otopora	Individuellement	glomoïde
Pacispora	Individuellement	glomoïde
Paraglomus	Individuellement ou en petits ou grands groupes	glomoïde
Racocetra	Individuellement ou en petits ou grands groupes	Gigasporoïde
Redeckera	Individuellement	glomoïde
Rhizophagus	Individuellement ou en petits ou grands groupes	glomoïde
Scutellospora	Individuellement	Gigasporoïde
Sclerocystis	Sporocarpes	Radial-glomoïde avec péridium

- **La taille de la spore** : ce critère est peu utilisé du fait de l'existence d'une grande variabilité dans la taille des spores. Mais dans certains cas, il peut aider à distinguer entre les espèces.
- **L'arrangement des spores** : les spores des CMA peuvent être produites isolées ou en sporocarpes dans le sol.
- **La couleur de la spore** : la couleur de la spore peut être utilisée pour distinguer et séparer entre les morphotypes. La couleur peut varier du rouge au jaune ou au rouge pourpre.
- **L'ornementation** : les spores peuvent avoir des ornements en surface comme les fosses et les épines. Ces critères sont retrouvés chez les spores des genres *Scutellospora* et *Acaulospora*.
- **La paroi sporale** : les spores peuvent avoir aussi une ou plusieurs couches sporales qui varient dans leur épaisseur, structure et leur apparence. *Acaulospora*, *Entrophospora* et *Scutellospora* par exemple ont une structure sporale complexe avec une couche externe très épaisse.
- **Le contenu de la spore** : les spores contiennent des lipides et autres composés qui varient selon la couleur et peuvent être arrangés en granules ou en gouttellettes. Ceci peut renseigner sur le type de spore à un âge donné.
- **La germination de la spore** : ce mécanisme peut être utilisé pour distinguer les spores des CMA, particulièrement les espèces du genre *Scutellospora* qui ont des boucliers de germination avec des replis complexes sur leur paroi externe.

III-Le role des CMA

1-Biofertilisation

Le rôle majeur des CMA est l'amélioration des nutriments hydrique et minérale de la plante grâce à des transferts de l'eau et des éléments minéraux, en particulier le phosphore et l'azote, du CMA vers la plante hôte. Il en résulte une amélioration de la croissance des plantes mycorhizées. En effet, l'élongation des hyphes extra-racinaires augmente la surface de contact entre les minéraux du sol et la racine. De plus, ils peuvent explorer des zones non accessibles pour les plantes non mycorhizées pour y prélever l'eau et les nutriments et les transférer à la plante hôte.

1.1-Transfert du phosphore

La plupart des sols contiennent de grandes quantités de phosphore organique ou inorganique estimées entre 200 et 3000 mg/kg de sol. La majeure partie du phosphore est le

plus souvent sous forme d'orthophosphate inorganique adsorbé aux autres constituants cationiques du sol pour former des complexes CaPO_4 avec le calcium, à pH élevé, et des complexes FePO_4 ou AlPO_4 avec le fer ou l'aluminium, à pH faible, ainsi que sous forme de molécules organiques comme la lecitine.

De plus, contrairement à de nombreux autres nutriments minéraux, le phosphore est très peu mobile dans les sols. Sous l'action du prélèvement racinaire, il se crée rapidement des zones d'appauvrissement autour des racines. Une faible proportion (généralement inférieure à 1 %) est immédiatement disponible pour les plantes, qui ont des difficultés à acquérir cet élément alors que leurs besoins sont grands. En effet, le phosphore est un élément indispensable à la vie de la plante. Ce composé entre dans la synthèse de nombreuses molécules telles que l'ATP, les nucléotides monophosphate, les phospholipides, certaines enzymes et co-enzymes. Le phosphore est également stocké dans les vacuoles sous forme d'inositolhexa-phosphates (phytates) qui sont d'excellents chélateurs des cations tels que le Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Fe^{2+} et Zn^{2+} . La formation et l'hydrolyse de liaisons pyrophosphates est un mécanisme central dans la régulation de l'énergie cellulaire.

Ainsi, les plantes ont élaboré diverses stratégies augmentant leur capacité d'absorption du phosphore ou sa disponibilité dans les sols. La première consiste en l'augmentation de l'interface racine/sol afin d'accéder à une plus grande quantité de phosphore directement disponible. La deuxième stratégie consiste pour la plante à libérer le phosphore des complexes formés avec les cations en sécrétant des molécules comme le malate ou le citrate qui entrent en compétition avec le phosphore ou encore des phosphatases capables de minéraliser le phosphore des composés organiques. À côté de ces deux stratégies permettant à la plante de prélever directement le phosphore du sol, la méthode de prélèvement du phosphore la plus commune consiste en la voie dite « mycorhizienne », via le mycélium extra-racinaire du CMA.

Pour accéder aux pools de phosphore du sol inaccessibles aux plantes, les CMA seraient capables d'hydrolyser le phosphore organique en phosphore inorganique pour le rendre disponible dans le sol à la plante ou encore le transférer directement à la plante hôte, en échange des glucides provenant de la plante et transférés vers le CMA à travers l'interface mycorhizienne. D'ailleurs, les cellules végétales contenant des structures mycorhiziennes contiennent une quantité de phosphore supérieure aux autres cellules racinaires. Le prélèvement du phosphore par le mycélium extraracinaire se fait contre un gradient de concentration. Le processus d'absorption étant énergivore, le

phosphore entre dans le cytoplasme via des symports Pi/H^+ de haute affinité. Trois transporteurs du phosphore ont été identifiés chez les CMA, GvPT, GiPT et GmosPT chez *Glomus versiforme*, *Glomus intraradices* et *Glomus mosseae* respectivement.

1.2- Transfert de l'azote

Comme le phosphore, l'azote est un composant vital pour le CMA et la plante. Il entre dans la formation des phospholipides, des coenzymes et des acides aminés. L'azote est présent sous deux formes dans le sol: organique et minérale (nitrites, nitrates et ions ammonium). Le mycélium du CMA est capable de prélever l'azote sous forme d'ions ammonium (NH_4^+), sous forme de nitrates (NO_3) et sous forme d'acides aminés, avec une nette préférence pour les ions NH_4^+ . Il peut également accélérer la dégradation de la matière organique afin d'en augmenter la biodisponibilité pour les plantes. L'acquisition de l'azote nécessite l'activité de transporteurs localisés au niveau de l'interface sol/hyphes extraracinaires du CMA. Deux gènes codant pour des transporteurs de l'azote ont été identifiés chez les CMA, GintAMT1 et GintAMT2 codant pour des transporteurs de haute-affinité aux ions NH_4^+ chez *Glomus intraradices*.

1.3 Transfert d'oligo-éléments du CMA à la plante

Il est également connu que le CMA permet une meilleure absorption d'oligo-éléments peu mobiles dans les sols, tels que le cuivre, le zinc, le fer, le manganèse et le cobalt. A titre d'exemple, il a été détecté deux fois plus de zinc, fer et manganèse et trois fois plus de cuivre dans des plants d'arachides mycorhizés par *Glomus fasciculatum* par rapport à des plantes non mycorhizés. Ces oligo-éléments jouent des rôles dans des activités enzymatiques impliquées dans la photosynthèse, la respiration oxydative, la protection contre les radicaux libres ou encore la biosynthèse des lipides.

Plusieurs études ont montré que l'inoculation mycorhizienne améliore la nutrition en zinc et en cuivre chez le pois chiche, le soja, le trèfle et la luzerne. Cependant, lorsque certains de ces éléments sont présents en fortes quantités et possèdent de ce fait un caractère toxique, la mycorhization peut jouer un rôle de protection de la plante, par une forte rétention de ces éléments.

2- Amélioration du rendement et de la qualité des productions végétales

Plusieurs études rapportent que les CMA augmenteraient jusqu'à deux fois la productivité des plantes dans les prairies. A titre d'exemple, l'apport d'inoculum mycorhizien en plein champ a amélioré la croissance de plusieurs espèces de fabacées fourragères. Cette meilleure qualité du fourrage pourrait s'expliquer par l'amélioration de la nutrition minérale. En effet, l'augmentation de l'absorption du phosphate est l'un des mécanismes par lequel les CMA peuvent améliorer la productivité des plantes. Les CMA contribuent à hauteur de 90% dans l'absorption du phosphate par les plantes.

En 1996, Ibijbijen et al. ont obtenu une augmentation significative des rendements, de l'absorption du phosphore et de l'azote chez trois variétés de féverole suite à l'inoculation avec des CMA.

Des données récentes suggèrent que la mycorhization a non seulement un effet positif sur les différents paramètres de croissance et les rendements des plantes, mais peut aussi affecter la qualité des productions végétales. Il a été montré que l'inoculation mycorhizienne par différents CMA, augmente la concentration des huiles essentielles chez différentes plantes aromatiques telles que l'origan (*Origanum vulgare*), le basilic (*Ocimum basilicum L.*), la menthe (*Mentha arvensis*), le coriandre (*Coriandrum sativum L.*). Chez d'autres plantes comme la luzerne (*Medicago sativa L.*) et (*Medicago truncatula*), le trèfle (*Trifolium pratense*), le soja (*Glycine max L.*), des augmentations des niveaux de flavonoïdes ont été observées après mycorhization.

De plus, il a été rapporté que les CMA pourraient augmenter la diversité des plantes de 30% dans les prairies européennes en favorisant l'établissement des jeunes plantules et en améliorant la capacité compétitive de certaines espèces par rapport aux espèces dominantes.

3- Bioprotection

3. 1- Résistance aux stress biotiques

L'utilisation intensive et systématique de pesticides pose des problèmes environnementaux (pollution des nappes phréatiques et pollution aérienne, présence de résidus dans les sols et les végétaux) et de santé humaine aussi bien pour l'utilisateur des pesticides que pour le consommateur. Le développement d'une agriculture durable

exige l'usage de méthodes de protection des plantes alternatives respectueuses de l'homme et de l'environnement.

La lutte biologique, basée sur l'utilisation des organismes naturels antagonistes des agents phytopathogènes, pourrait constituer une solution prometteuse. Une des stratégies preventives consiste à stimuler les défenses naturelles des plantes par mycorhization. En effet, il est reconnu que les dommages causés par certains parasites (champignons, bactéries ou nématodes) peuvent être atténués chez les plantes mycorhizées.

Les CMA semblent réduire l'incidence et/ou la sévérité des effets délétères causés par certains champignons phytopathogènes racinaires tels que *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Phytophthora*, *Pythium* et *Aphanomyces*, certaines bactéries telle que *Xanthomona scampestris* et certains nématodes tel que *Meloidogyne incognita* et *Pratylenchus penetrans*. De plus, la protection conférée serait non seulement locale mais également systémique. Cela a été démontré chez la tomate et l'orge colonisée par *Glomus mosseae* contre *Phytophthora parasitica* et *Gaeumannomyces graminis* et par *Glomus versiforme* contre *Ralstonia solanacearum*.

Cette protection apportée par la colonisation mycorhizienne résulterait d'une combinaison de cinq principaux mécanismes d'action :

- ❖ La stimulation de la croissance de la plante par une meilleure nutrition, une meilleure santé végétale et la compensation par la symbiose des dommages causés par l'agent phytopathogène.
- ❖ La compétition directe ou indirecte entre les CMA et les organismes phytopathogènes, liées à la disponibilité des nutriments, notamment des photosynthétats, et des sites d'infection sur la racine.
- ❖ La transformation morphologique et architecturale de la racine, ce qui peut altérer la dynamique infectieuse du pathogène, bien que la preuve d'une corrélation ne soit pas mise en évidence à ce jour. La déposition de callose et de pectines et l'activation de la voie des phénylpropanoïdes résultant en l'accumulation de lignine chez les plantes mycorhizées seraient impliquées dans la protection de la plante. De plus, les CMA induisent la formation des racines latérales plus épaisses.
- ❖ La modification de la microflore et de l'augmentation du taux de matière organique dans les sols. Ces changements peuvent mener à la stimulation de la production de

Composés par la microflore avec une activité antagoniste contre certains pathogènes racinaires. Il a été montré, par exemple, que des souches de *Pseudomonas fluorescens* rhizosphériques, produisent plus de 2,4-diacétylphloroglucinol, antibiotique conférant une protection chez les plantes contre *Gaeumannomyces graminis*, dans un sol contenant *Glomus intraradices*.

- ❖ L'induction ou la suppression de certains mécanismes de défense des plantes, notamment les mécanismes enzymatiques. En effet, la protection par mycorhization contre les parasites racinaires a été associée à l'accumulation de phénols, d'espèces réactives de l'oxygène, de phytoalexines et l'induction de l'activité d'isoformes spécifiques d'enzymes hydrolytiques comme les chitinases et les B-1,3-glucanases dans les racines mycorhizées. La protection conférée par l'association mycorhizienne à la plante contre *Meloidogyne incognita* a été associée à l'expression d'un gène codant pour une chitinase, VCH3, exprimée dans tout le système racinaire. Enfin, l'accumulation de protéines de défense, notamment des protéines PR (pour « Pathogenesis Related ») et l'implication des voies de signalisation de l'acide jasmonique, de l'éthylène et de l'acide salicylique, connus pour jouer un rôle majeur dans la régulation des mécanismes de défense des plantes, semblent être à l'origine de ces processus de protection. Contrairement aux maladies racinaires, peu de travaux ont été menés sur la protection conférée par les CMA contre les maladies foliaires et les résultats sont moins concluants et contradictoires.

Une meilleure tolérance contre les champignons responsables de l'oidium (*Blumeria* sp et *Bremialactuceae*), de la rouille (*Uromyces*) et de la pourriture grise (*Botrytis cinerea*) a été décrite chez des plantes mycorhizées. Un retard dans la progression de la maladie provoqué par *Phytophthora infestans* a également été observé sur des plants de pomme de terre colonisés par un inoculum mycorhizien commercial.

Une résistance plus importante a été également observée contre les agents pathogènes nécrotrophes tels que *Alternaria solani* chez des plantes mycorhizées. Cet effet est, toutefois, controversé chez les champignons hémibiotrophes tel que *Colletotrichum orbiculare*. Lee et al. ont observé une diminution de l'anthracnose sur les feuilles de plantes de concombre colonisés par *Glomus intraradices*, alors qu'aucun effet n'a été observé sur les plantes de concombre mycorhizés par *Glomus mosseae*.

Cependant, si l'induction des réactions de défense au niveau du système racinaire des plantes mycorhizées a été clairement mise en évidence depuis longtemps, ces mécanismes n'ont été signalés que récemment dans les feuilles des plants mycorhizés. Jung et al. ont démontré que la résistance systémique induite conférée par *Glomus mosseae* contre *Botrytis cinerea* au niveau des feuilles de tomate est associée à une induction d'un gène de référence (Pin II), codant pour un inhibiteur de protéase, dans les plantes mycorhizées. Ces résultats indiquent que la résistance induite par les mycorhizes contre *Botrytis cinerea* pourrait être associée à une induction de la voie de signalisation de l'acide jasmonique (priming). Dans une étude récente, Gallou et al. ont révélé par RTqPCR, l'induction de l'expression de deux gènes codant pour des PR-protéines (PR1 et PR2) au niveau des feuilles de plants de pomme de terre mycorhizés, cultivés in vitro, peu de temps après leur infection par *Phytophthora infestans* suggérant une résistance systémique induite grâce à la mycorhization par *Glomus* sp.

3.2 - Résistance aux stress abiotiques

Une meilleure croissance des plantes mycorhizées a été observée dans des conditions de sécheresse, de salinité et sur des milieux pollués par les éléments traces métalliques, les radio-éléments, les fongicides, et les polluants organiques persistants suggérant un effet protecteur de la mycorhization contre les stress abiotiques. La tolérance des plantes mycorhizées à ces différents stress abiotiques serait attribuée à un ensemble de processus physiologiques dont, une meilleure nutrition minérale et hydrique conduisant à un meilleur développement de la plante.

Le mycelium pouvant explorer un volume de sol beaucoup plus important que les racines et ayant accès à un réservoir hydrique plus important, peut ainsi aider au maintien de l'équilibre hydrique et minéral de la plante. D'autre part, il a été démontré que la colonisation mycorhizienne améliore la croissance des plantes sous l'effet de la sécheresse par exemple, indirectement en affectant le taux de rétention d'eau dans le sol grâce à l'effet de la glomaline. Il a également été rapporté que la protection des plantes par la mycorhization contre le stress salin résulterait d'une augmentation et/ou d'une meilleure sélection dans le prélèvement des nutriments, de l'accumulation de composés osmorégulateurs, d'une importante conductance stomatique, d'une augmentation de l'activité photosynthétique ou encore d'une limitation de la déshydratation des feuilles.

La colonisation mycorhizienne induit également l'augmentation de la conductivité hydraulique de la plante hôte et une meilleure régulation des niveaux de l'acide abscissique et par conséquent un meilleur taux de transpiration. L'accumulation de K^+ par les plantes mycorhizées aide, également, au maintien d'un ratio K/Na élevé, prevenant ainsi la perturbation de nombreux processus enzymatiques et l'inhibition de la synthèse protéique en condition

De stress salin. De plus, une accumulation plus élevée de proline (molécule d'ajustement osmotique), de bétaine et de glucides solubles a été décrite chez les plantes mycorhizées. Ces molécules sont connues pour protéger les structures subcellulaires, pour maintenir les activités enzymatiques et limiter les dommages oxydatifs induits par les radicaux libres en condition de stress.

Quant à la survie des plantes mycorhizées par des CMA dans des milieux pollués, une plus faible accumulation des polluants dans ces plantes ou une diminution de leur transport des racines vers les parties aériennes peuvent être à l'origine de cet effet protecteur. Il a été démontré que les éléments tracés métalliques, par exemple, étaient séquestrés dans les vacuoles et les parois fongiques, préservant ainsi les tissus végétaux. Une accumulation des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les hyphes et les spores des CMA a été également observée par Verdin et al. Par ailleurs, Janouskova et al. ont démontré que les CMA étaient capables de réduire les effets indésirables des éléments tracés métalliques tel que le cadmium sur la croissance des plantes par un processus de phytostabilisation. La glomaline serait, une fois de plus, impliquée dans ce processus puisqu'elle peut se lier aux métaux lourds. Ainsi, les CMA protégeraient les plantes en accumulant et en rendant moins bio disponibles les métaux.

Au niveau moléculaire, le rôle joué par les CMA consisterait en une régulation de l'expression de certains gènes chez la plante hôte impliqués dans la tolérance aux éléments traces métalliques et/ou dans la detoxification comme par exemple l'expression des gènes *hgsh2* et *cht* (codant respectivement pour une homologation synthétase et une chitinase), les gènes *LeMT2* (codant pour une métallothionéine), les gènes *LeNramp1* et *LeNramp3* (codant pour des transporteurs de métaux). La régulation de certains gènes fongiques relatifs aux stress (protéine 'Heatshock', métallothionéine, glutathion-S-transférase) détectés chez les CMA pourrait également permettre la protection des deux partenaires de la symbiose mycorhizienne contre la toxicité des polluants.

D'une façon générale, il a été suggéré que la symbiose mycorhizienne à arbuscules diminuerait les effets de divers stress abiotiques (salinité, sécheresse, pollution ...) chez les plantes en atténuant le stress oxydant par induction des systèmes antioxydants enzymatiques (super oxyde dismutase, ascorbate-peroxydase, guaicol-peroxydase, catalase) et non enzymatiques(ascorbate et glutathion). Ces système santi-oxydants permettent l'élimination des espèces réactives de l'oxygène générés en condition de stress et par conséquent, la protection des lipides membranaires et de l'ADN contre les dommages oxydatifs.

En effet, il a été montré que les productions de malondialdéhyde et de 8-hydroxy-2'-desoxyguanosine, biomarqueurs de peroxydation lipidique et de genotoxicité respectivement, sont plus faibles dans les racines mycorhizées cultivées en présence d'hydrocarbures aromatiques polycycliques et de fongicides. Au niveau moléculaire, la régulation de l'expression du gène *Gint SOD1*, codant pour une CuZn SOD (super oxyde dismutase) chez *Glomus intraradices*, serait impliquée dans la détoxification des espèces réactives de l'oxygène générées sous l'effet du fongicide fenpropimorphe.

Par ailleurs, il a été montré que la contribution des CMA pour augmenter, par exemple, la tolérance à la sécheresse de la plante hôte passe par la modulation d'un groupe de protéines fongiques, codées par le gène *Gi14-3-3*, régulant les voies de signalisation des protéines impliquées dans la réponse de la plante et un groupe de protéines chaperons, codées par le gène *GiBiP*, facilitant la maturation de protéines(sécrétées lors du stress hydrique) impliquées dans le mécanisme de réponse osmotique .

4-Biostabilisation du sol

Les CMA ont un effet bénéfique sur la structure du sol. Les hyphes des CMA, présents en quantité importante dans les sols, possèdent la propriété d'agir sur la macroaggrégation des constituants du sol et donc sur sa stabilité. En effet, ces hyphes produisent une glycoprotéine extracellulaire, la glomaline, à laquelle des microaggrégats (d'un diamètre inférieur à 250 µm) s'attachent pour former des macroaggrégats stables (supérieur à 250 µm) . Cette stabilité du sol permet de lutter contre l'érosion, la perte de nutriments et de la matière organique par lixiviation, entraînant ainsi une augmentation de la pénétration de l'air et de l'eau dans le sol et une hausse dans la productivité.

5-Impact des données de la recherche sur les mycorhizes sur la prise de décision en agriculture

Le principal but visé par la recherche concertée sur la biodiversité des CMA est de contribuer à l'adaptation de la biotechnologie des mycorhizes dans les milieux agricoles afin de graduellement intégrer cette technologie aux pratiques agricoles conventionnelles. Ainsi, à moyen terme, on pourra travailler à rétablir des sols et prolonger sinon assurer leur pérennité.

Il a été démontré qu'une gestion appropriée des mycorhizes en agriculture permet une réduction substantielle de l'apport d'intrants chimiques réduisant ainsi le degré de pollution des eaux de surface, les travaux d'entretien et d'exploitation, le coût de production tout en maintenant les rendements à leur meilleur. Le maintien et le développement d'une banque de souches de haute qualité vise à soutenir et accélérer l'implantation des mycorhizes comme agents biofertilisants dans les activités agricoles et contribuer ainsi au développement d'un environnement sain et durable.

L'existence de grillr de références pour optimiser le couplage des partenaires fongiques et végétaux permettra de démontrer, preuves à l'appui, les avantages de la mycorhization sur la qualité des sols, la production des cultures, les rendements végétaux sans oublier la valeur ajoutée aux aliments et la réduction de l'usage de pesticides et de fertilisants.

Présenté ci-dessous sous forme de diagramme, les avantages et bénéfices relatifs à l'adoption des mycorhizes en milieu agricole permettent de mieux visualiser toute l'ampleur du phénomène au niveau végétal et par ricochet l'impact de son adoption à long terme sur la qualité de vie.

Tableau (03) : les avantages et bénéfices relatifs à l'adoption des mycorhizes en milieu Agricole.

DOMAINE	AVANTAGES	BENEFICES
Physiologie végétale	Amélioration de la nutrition	Réduction d'apport de fertilisants au sol (15 -25 % et +).
	Tolérance aux stress hydriques	Culture de sols arides ou impropres à l'agriculture.
	Résistance aux basses températures	Diversité de culture en zones inhospitalière
Morphologie végétale	Transformation de l'architecture racinaire	Adaptation aux stress, résistance accrue à l'érosion, fixation des sols.
		Production améliorée pour certaines plantes racine
Communauté végétale	Diversité su sous-sol en micro-organismes	Rétablissement de la microflore des sols,
		Assainissement de la qualité des sols, qualité des composts
	Survie des partenaires	Amélioration des rendements
		Meilleure acclimatation à la transplantation
		Diversité du parterre végétale
Agriculture	Production végétale	Augmentation de la biomasse
	Résistance aux stress	Sécheresse
		Froid
		Pollution
	Résistance envers les pathogènes	Protection des cultures
Diminution de l'usage de pesticides		



***Chapitre II : Matériel et
méthodes***

I-Présentation de la zone d'étude

1.1 - Localisation géographique

L'étude des spores des CMA a été menée dans deux sites de la wilaya de Constantine, dont l'une est située dans la région de Djebel El Ouahch et l'autre dans la région de Chaabat Arsas (**Figure 03**).

Les essais ont été réalisés au niveau du laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale (GBBV), équipe de Biotechnologie et Amélioration des Plantes (BAP), Chaabet Arsas, Université Frères Mentouri, Constantine.

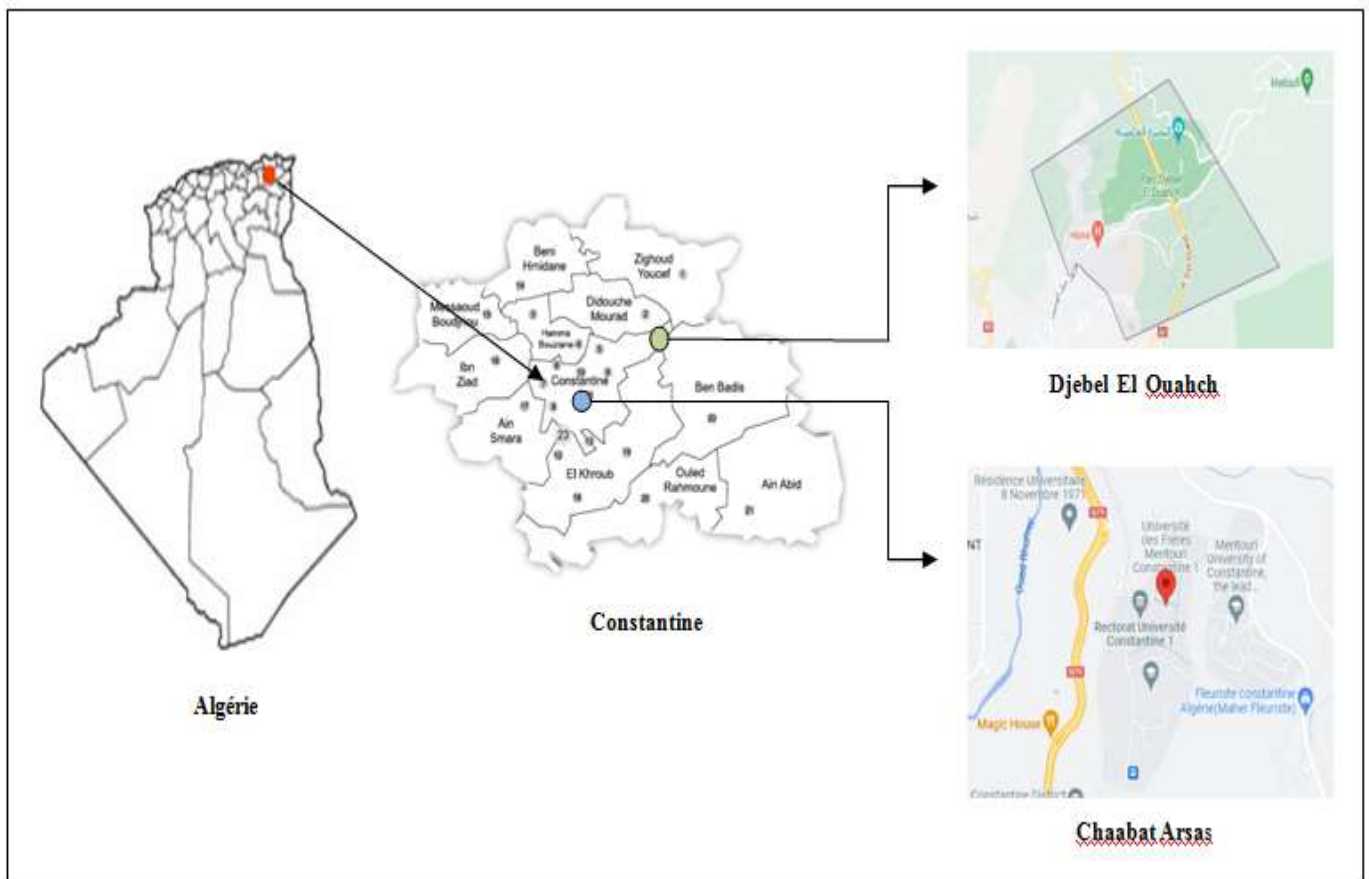


Figure (04) : Localisation des sites d'échantillonnage.

1.2- Prélèvement des échantillons de sol

Les prélèvements ont été effectués dans les deux sites d'études (**Figures 4,5**), les échantillons récupérés ont été collectés d'une profondeur de 30 cm de la rhizosphère. Les échantillons de sols ont été tamisés (maille 2 mm), homogénéisés, séchés à l'air et à l'ombre et ont été mis dans des sacs en plastiques, conservés à l'air libre jusqu'à leur caractérisation. Ils ont été utilisés pour :

1. L'isolement et identification des spores CMA
2. L'analyse des paramètres physico-chimiques du sol.



Figure (05) : Prélèvement des échantillons de sol dans la région de Djebel El Ouahch



Figure (06) : Prélèvement des échantillons de sol dans la région de Chaabat Ersas

1.3- Extraction des spores par tamisage humide

Les sols prélevés sont apportés au laboratoire. En vue de mettre en évidence les spores présentes dans chaque échantillon de sol, la méthode de tamisage humide de Gerdemann et Nicolson (1963) a été utilisée. Elle s'effectue directement sur les échantillons de sol prélevés sur le terrain.

Une quantité de 100 g de chaque échantillon de sol est mise dans 1000 ml d'eau distillée. Le mélange est agité longuement pour l'homogénéisation, puis laissé au repos pendant 1 mn (**Figure 6**). Ensuite, il est passé à travers une série de tamis de maille (710 μm , 250 μm , 100 μm et 80 μm) disposés respectivement l'un au-dessus selon la taille croissante de l'ouverture des mailles (**Figure 07**).

Les suspensions des 4 derniers tamis sont transférées chacune, dans un bécher. Le contenu de chaque bécher est observé, à la loupe binoculaire, par prélèvements successifs de petites quantités. Ces aliquotes prélevés sont renversés sur du papier mouchoir placé dans une boîte de Pétri puis, observés à l'aide d'une loupe binoculaire.

Les spores prélevées à l'aide d'une pince, sont mises dans des tubes à vis contenant de l'eau distillée stérile et conservées dans un réfrigérateur. Dans chaque tube sont mises

Uniquement les spores prélevées à un point. Cette extraction et énumération directe est répétée 3 fois avec la même quantité de sol (100 g) pour chaque point échantillonné. Le nombre total de spores obtenues par cette méthode est désigné par Mi.



Figure (07) : Tamisage du sol



Figure (08) : Filtration

1.4- Dénombrement des spores

On a prélevé 1 à 5 ml de la suspension de spores obtenue et on les a déposés dans une boîte de Pétri dont le fond est tapissé de papier filtre quadrillé, puis on a observé sous un microscope binoculaire au grossissement (x40) (les spores noires, celles qui flottent en surface ne sont pas comptables, car elles sont peu viables). À l'aide d'une pince fine, les spores ont été séparées par type (forme et couleur) et déposées dans différentes boîtes de Pétri. Chaque type de spores a été marqué et compté à l'aide du (Manual for the Identification of vesicular-arbuscular (VA) Mycorrhizal Fungi). Certaines espèces ont été également caractérisées par la bibliographie et la littérature taxonomique publiée, les sites Web.INVAM.(<http://invam.caf.wvu.edu/fungi/taxnomy/speciesID>), et BEG (<http://www.kent.ac.uk/bio/beg/>).

1.5- Détermination de l'abondance des spores

La présence des spores est la méthode usuelle d'estimation de la présence des espèces de Champignons endomycorhizogènes à arbuscules. Les communautés de ces champignons présentes dans un sol peuvent être estimées en termes de nombre d'espèces présentes et d'abondance de chacune d'elles dans la communauté. L'estimation de l'abondance peut être faite par l'observation directe du nombre de spores présentes dans le sol (Gerdemann et Nicolson, 1963 ; Brundrett et al. 1994).

La densité de spores (nombre moyen) se définit comme étant le nombre de spores dans 100 g de sol sec.

II-Analyses des paramètres physico-chimiques des sols

Dans chaque site d'étude, 10 échantillons de sol ont été collectés et analysés au laboratoire. Les paramètres physico-chimiques évalués sont :

- la granulométrie, déterminée par tamisage humide (Afnor, 1990).
- le pH, mesuré à l'aide d'un pH-mètre après saturation des sols
- la conductivité été mesurés sur une suspension de sol par un appareil de mesure de conductivité électrique numérique.
- L'humidité.

a) Analyse chimique

2.1- Mesure du pH (Kcl)

Le pH fait partie d'une des plus importantes caractéristiques physico-chimiques des sols, car la spéciation, et donc la mobilité et la biodisponibilité des éléments traces métalliques sont liées à sa valeur. Pour ce paramètre nous avons effectués les étapes suivantes :

- ✓ Tamiser des échantillons de sol avec un tamis de 2mm de diamètre.
- ✓ Peser 5g de sol dans un pilulier à agitation et ajouter 25 ml d'une solution Kcl (0,2N).
- ✓ Agiter avec agitateur pendant deux heures de temps à température proche de 20°C.
- ✓ Laisser reposer la solution 24 heures.
- ✓ Mesurer le pH (Kcl) au moyen d'un pH mètre

Le pH Kcl donne une idée exacte de la quantité d'ions H fixés **Tableau (04)**

Tableau (04) : Echelle du pH des sols (GAUCHER, in SOLTSER -1981).

pH	Désignation des sols
3 – 4,5	Extrêmement acide
4,5 – 5	Très fortement acide
5 – 5,5	Très acide
5,5 – 6	Acide
6 – 6,75	Faiblement acide
6,75 – 7,25	Neutre
7,25 – 8,5	Alcalin
> 8,5	Tés alcalin

**Figure (09) :** Mesure du PH

2.2 - Conductivité électrique

La conductivité électrique permet de déterminer le degré de la salinité du sol (**Tableau 05**). Nous procédons les étapes suivantes :

- ✓ Tamiser des échantillons de sol avec un tamis de 2mm de diamètre.
- ✓ Peser 5g de sol dans un pilulier à agitation et ajouter 25 ml d'eau distillée.
- ✓ Agiter avec agitateur pendant deux heures de temps à température proche de 20°C.

- ✓ Laisser reposer la solution 24 heures.
- ✓ Mesurer la conductivité au moyen d'un conductimètre.

Tableau (05) : Echelle de salinité du sol (USSS-1954).

Conductivité électrique (MS/cm)	salinité
0 – 0,6	Non salé
0,6 – 1,4	Peu salé
1,4 – 2,4	Salé
2,4 - 6	Très salé



Figure (10) : Mesure de la conductivité

b) Analyse granulométrique

L'analyse granulométrique du sol ou encore appelée analyse mécanique, ou analyse physique consiste à classer les éléments du sol d'après leur grosseur et à déterminer le pourcentage de chaque fraction (sable, limon, argile). L'analyse granulométrique a pour but de définir la texture d'un sol, c'est à dire le pourcentage de ces divers constituants, et par là d'expliquer les propriétés physiques de ce sol : son comportement vis à vis de l'eau, de l'air et des racines et d'évaluer sa stabilité structurale c'est-à-dire la solidité de l'état de la structure du sol et sa résistance aux agents de dégradation.

1.3 - Texture : selon l'échelle de SOLTSER, 1981.

Pour déterminer la texture du sol, nous avons utilisé la méthode par saturation qui consiste à mesurer le pourcentage d'humidité du sol (H %) et le comparer à une échelle qui détermine la texture lui correspondant.

Nous avons tout d'abord pris 5g du sol et nous l'avons imbibé d'eau, goutte à goutte tout en mélangeant jusqu'au point où la pâte devienne luisante et glisse doucement lorsqu'on incline le récipient. Ensuite, nous avons suivi les étapes suivantes :

- ✓ Peser une capsule vide (P_0).
- ✓ Prendre une petite quantité de pâte (sol mouillé), la mettre dans la capsule puis repeser (P_1).
- ✓ Mettre à l'étuve à 105 °C pendant 24 heures.
- ✓ Peser une troisième fois la capsule à la sortie de l'étuve (P_2).
- ✓ Pour calculer le pourcentage d'humidité on utilise la formule suivante :

$$H \% = (P_0 - P_2) - P_1 \times 100 / P_1$$
- ✓ Enfin en comparer **H%** au **tableau (06)** pour déterminer la texture.

Tableau (06) : Echelle de la texture (SOLTSER-1981).

Pourcentage d'humidité	Texture
< 12	Sableuse
12-24	Sableu-limoneuse
24-37.5	Limono sableuse
37.5-45	Limono argileuse
45-75	Argilo limoneuse
> 75	Argileuse

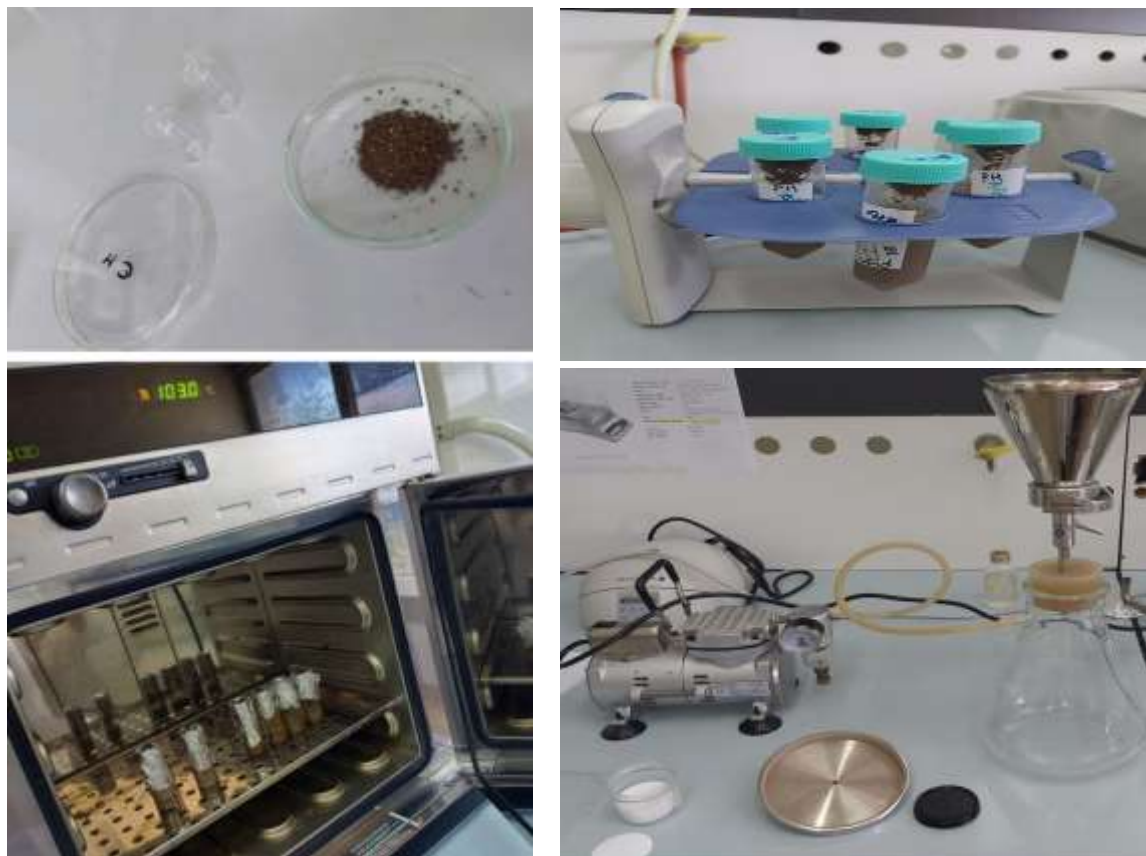


Figure (11) : Etapes de détermination de la texture du sol

A decorative border resembling a scroll, with a vertical strip on the left and a horizontal strip at the top, both with rounded ends and a slight shadow effect.

Chapitre III : Résultats et discussion

1-Identification des spores

L'observation microscopique des sols prélevés des deux sites **S1** et **S2** (Djebel El Ouahche et Chaabat Erssas),montre la présence des spores CMA dans le sol des deux sites; 2 spores Globuleuses dans la régions de Djebel Ouahech de Genre *Glomus* sp ,de couleur Marron (A) et Marron foncé (B) (Figure 11) et 3 spores Globuleuses dans la régions de Chabat ersas, , *Acaulospora* de couleur orange (C) *Glomus* sp de couleur Maron foncé (D) et *scutelospora* SP de couleur Jaune pale (E) (**Fig 12,13 ; tab 07**).

- Site 01 :

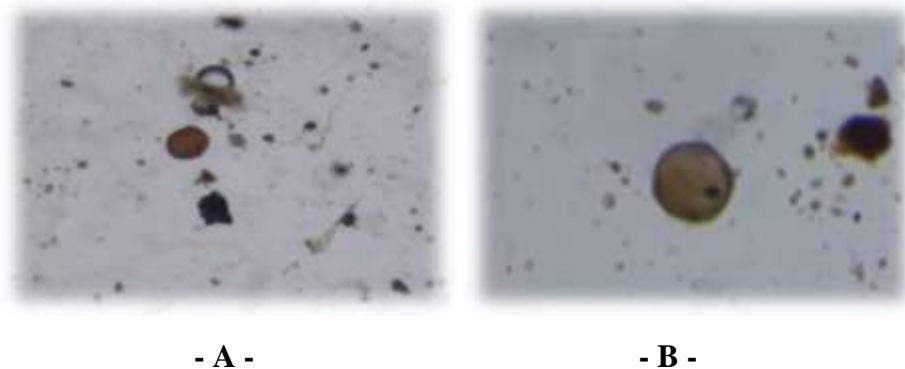


Figure (12): Diversité de morphotypes de spores récoltées sur le tamis 250 μ m, issues du sol de la région de Djebel El Ouahche

- Site 02 :

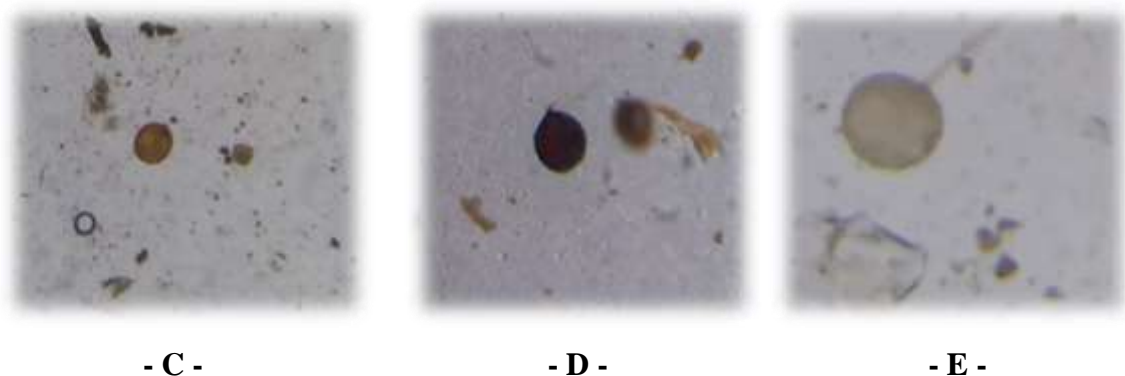


Figure (13): Diversité de morphotypes de spores récoltées sur le tamis 250 μ m, issues du sol de la région de Chaabat Erssas

Tableau (07) : Principales caractéristiques, couleur, forme des différents types des spores et leur Identification.

Morphotype	couleur	Forme	Identification	Site
- A -	Marron foncé	Globuleuse	<i>Glomus</i> sp	Djebel El Ouahche
- B -	Marron	Globuleuse	<i>Glomus</i> sp	Djebel El Ouahche
- C -	Orange	Globuleuse	<i>Acaulospora</i> sp	Chaabat Erssas
- D -	Marron foncé	Globuleuse	<i>Glomus</i> sp	Chaabat Erssas
- E -	Jaune pale	Globuleuse	<i>Scutellospora</i> sp	Chaabat Erssas

Détermination de l'abondance des spores

La densité de spores (nombre moyen) se définit comme étant le nombre de spores dans 100 g de sol sec.

S1: Djebel El Ouahche: 2/100

S2: Chaabat Erssas: 3/100

2 -Analyses des paramètres physico-chimiques des sols

Les propriétés physicochimiques sont parmi les principaux facteurs influençant l'installation des plantes dans un écosystème. Puisque les plantes tirent du sol les éléments essentiels à leur développement principalement le phosphore (P), l'azote (N) et le potassium (K).

2.1 – Le PH

Le pH est un élément clé de la composition chimique du sol et détermine la disponibilité des éléments nutritifs pour les plantes et les microorganismes du sol (Doucet, 2006; Borah et al., 2010).

Les résultats obtenus de ce paramètre, montrent que les valeurs du PH varient entre 6,7 et 6,8 (**Figure 14**). Ces valeurs du PH ce différent dans les deux sites (S1 :Djebel El Ouahche) et (S2 : Chaabat Erssas).

En **site 01** : Le PH est neutre. Il est conforme aux normes Algérienne agriculture.6,75 <PH< 7,25 . Tandis qu'en **site 02** Le PH est faiblement acide. Selon les normes du tableau N°6 6<PH<6,75

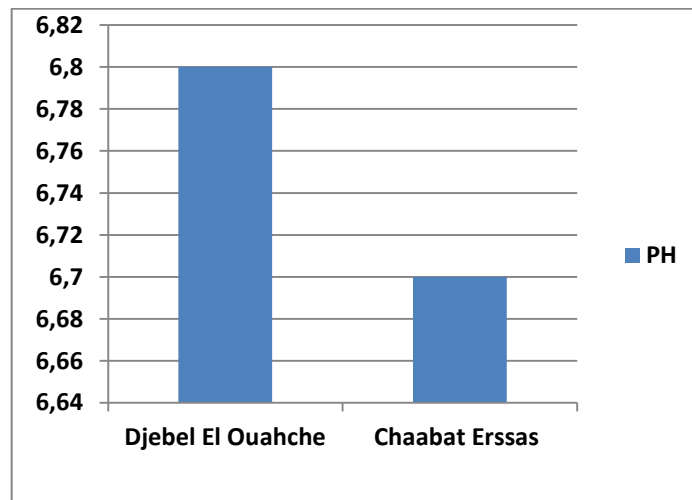


Figure (14) : Valeurs du PH en deux sites (Djebel El Ouahche et Chaabat Erssas)

2.2 – Conductivité

Nos résultats (**Figure 15**) montrent que le sol des deux sites est non salé, et que les valeurs de la conductivité varient entre 0,4 (MS/cm) en Chaabat Erssas et 0,6 observé à Djebel El Ouahche, ces deux valeurs sont conformes aux normes Algériennes d'irrigation ($0 < \text{Conductivité} < 0,6$).

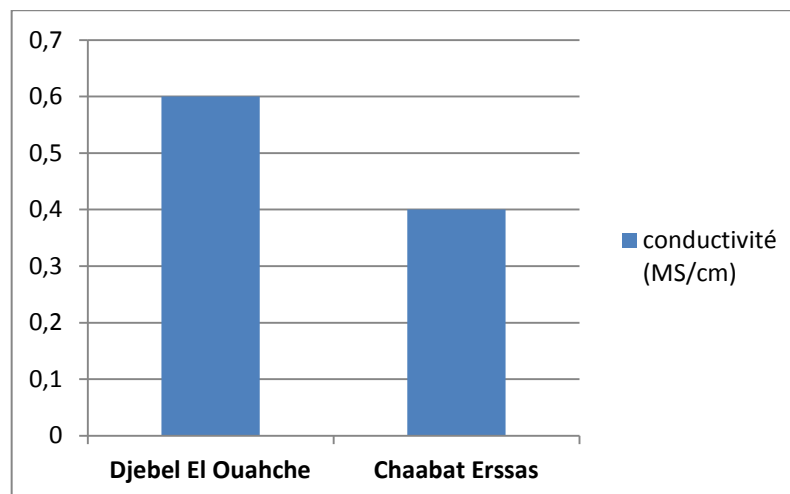


Figure (15) : valeurs de la conductivité en deux sites (Djebel El Ouahche et Chaabat Erssas)

2.3 – Humidité

Les résultats des caractéristiques physico-chimiques granulométrie (argiles, sables et limons) des sites étudiés montrent un sol argileux.

Nous remarquons que les valeurs de l'humidité sont presque identiques (**figure 16**) ; varient entre 84,15 et 81,61 %, respectivement à Djebel El Ouahche et Chaabat Erssas .ce qui montre que la texture du sol des deux sites est argileuse (**H% > 75 pour la texture argileuse**) .

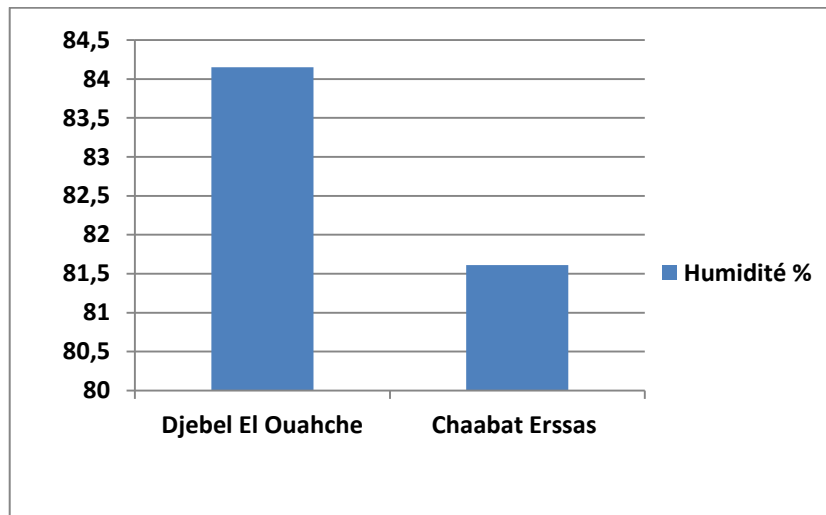


Figure (16): valeurs de l'humidité en deux sites (Djebel El Ouahche et Chaabat Erssas)

Discussion

La symbiose Mycorhizienne Arbusculaire se réfère à la plus grande association mutualiste entre 90% des plantes terrestres et aquatiques examinées dans le monde et les champignons biotrophiques obligatoires appartenant à l'ordre des Glomeromycota (Schüßler, 2001; Smith et Read, 2008). Ces champignons, appelés les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) représentent un groupe abondant et fonctionnellement important de microorganismes du sol, qui forment des associations symbiotiques avec leurs hôtes (Jefwa et al. 2010). Ils jouent un rôle très important dans la biologie et la chimie du sol (Smith et Read, 2008).

Les mycorhizes représentent un atout pour l'agriculture, de par leurs associations (Nadeem et al. 2014; Zhang et al. 2017) avec leurs hôtes. Les hôtes bénéficient plus souvent d'un accès accru aux nutriments, l'amélioration de la croissance et le rendement (Pozo et al. 2010; Maiti, 2011). En outre, ils fournissent une meilleure protection contre un certain nombre

de ravageurs et de maladies par une induction de la résistance locale et systémique (Amel et al. 2010; Bücking et Kafle, 2015) et l'expression des gènes végétaux liés à la résistance ou des effets nématocides directs (Elsen et al. 2008).

L'objectif principal de cette étude a été d'isoler et identifier les spores des champignons mycorhizes arbusculaires dans deux sites différents dans la région d'Algérie (Djebel El Ouahch et Chaabat Erssas) ainsi que leurs méthodes de conservation.

- Essai d'identification des CMA isolés

Traditionnellement, la taxonomie de l'AMF était fondée sur les caractéristiques morphologiques des spores produites dans les caractéristiques du sol, y compris la taille, la couleur et diverses couches de la paroi cellulaire. Cependant, les spores AMF ont des structures simples avec seulement quelques caractéristiques morphologiques. De plus, les spores prélevées dans le sol des champs ne sont pas dans leur état initial et plusieurs espèces d'AMF peuvent ne pas produire de spores dans des conditions contrôlées. Ces problèmes d'identification morphologique de l'AMF permettent de déterminer l'identité des espèces uniquement par des experts et ont entravé les études écologiques ainsi que la systématique de l'AMF.

La méthode de tamisage humide nous a permis d'isoler les spores des champignons endomycorhiziens présentes dans le sol des champs afin de les décrire à l'aide des observations microscopiques, en les comparant sur les sites INVAM et BEG et des clefs de détermination des champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) se basant sur la couleur, la forme .

L'observation des spores des CMA sous la loupe binoculaire à fort grossissement a révélé la présence de morphotypes des spores dans le sol des deux sites; 2 spores Globuleuses dans la régions de Djebel Ouahech de Genre *Glomus* sp de couleur Marron (A) et Marron foncé (B)(Figure 11) et 3 spores Globuleuses dans la régions de Chaabat Erssas,, *Acaulospora* sp de couleur orange (C) *Glomus* sp de couleur Marron foncé (D) et *scutelospora* sp de couleur Jaune pale (E) (**Figure 12**).

En fonction de la couleur des spores, la variabilité observée indique qu'il pourrait exister une diversité taxonomique de Gloméromycètes dans la zone de Chaabat Erssas. Car

les types de spores observés ne sont pas les mêmes. La dispersion des types de spores dans toute la zone d'étude n'est pas homogène. De façon générale, les espèces de CMA ont des cycles de vie très différents et l'abondance relative de chacune d'elles à chaque étape du cycle (spores, hyphes, racines colonisées) peut changer selon le moment où a lieu l'échantillonnage (Brundett et al., 1994). cela reste à confirmer par des analyses taxonomiques plus poussées par la biologie moléculaire (Zézé et al., 1996 ; Helgalson et al., 1999 ; Husband et al., 2002).

- **Le Genre *Glomus***

Les *Glomus* sont des champignons endomycorhiziens les plus fréquents des Glomeromycota (Shwarzott et al., 2001), présente une grande diversification et une large répartition dans beaucoup d'habitats dans la nature (Schenk et Pérez, 1987), se distinguant par des spores pouvant être de couleur Marron, Marron foncé, jaune marron, blanche, crème pâle. La couleur dépend du contenu. Elles peuvent être globuleuse, ayant un diamètre entre 40-140 µm et constituées de trois couches, L1, L2, L3 (Fortin et al., 2002).

Ce genre de champignon se reproduit de manière asexuée, les spores sont produites à la fin de l'hyphes. Ces spores germent dans le sol et produisent des filaments de 2 à 30 mm de longueur qui se propagent dans l'exoderme racinaire et le parenchyme cortical sans jamais atteindre l'endoderme, c'est ainsi qu'il y a lieu la formation de structures intraracinaires (les arbuscules et les vésicules).

Les composés carbonés de la spore sont mobilisés et contribuent à l'édification d'un tube germinatif coenocytique. La croissance du tube germinatif est stimulée par des facteurs variés et se développe intensément par ramifications successives qui pénètrent dans les racines.

Toutes les espèces appartenant au genre *Glomus* (environ 90 espèces), vivent en symbiose avec les plantes, parmi elles les *Glomus* sp (Brundrett, 2002).

- **Le Genre *Acaulospora* sp**

Très rare, ce genre de spores est formé individuellement dans le sol et présente une grande taille allant de 302 à 414 µm avec une forme globuleuse ou sub-globuleuse. Les spores de couleur marron foncée présentent une grande consistance interne qui ne laisse apparaître qu'une paroi épaisse et cassable et permet de les différencier de celles du

genre *Enterophospora* qui présentent une paroi extérieure fine et claire (Schenck et Pérez, 1987).

Elles ont un aspect luisant du fait de la présence de corps globulaires hyalins et sont reliées latéralement à des saccules sporifères en position terminale. Elles ne présentent pas d'hyphe d'attachement. Elles sont sessiles dès leur formation d'où le nom du genre *Acaulospora* (*Acaulo* : sans queue, et *spora* : spore).

Ces spores sont formées seules dans le sol ou parfois observées dans la matière morte.

La paroi des spores est composée de cinq parois, de 8.5-10.0 μm d'épaisseur. La paroi externe 1 stratifié, olive pâle, 4-6/ μm d'épaisseur. Surface du mur 1 dénoyauté (chaque fosse 1-2 μm de largeur). Parois 2 et 3 membraneuses, hyaline, >0,5/ μm et 0,5 μm d'épaisseur, respectivement. Paroi 4 flexible, hyaline, 2-3/ μm d'épaisseur. Paroi interne 5 membraneuse, hyaline, >0,5/ μm d'épaisseur et devenant rouge dans le réactif de Melzer.

• Le Genre *Scutellospora* sp

Spores formées seules dans le sol (pas de sporocarpes), sphériques à globeuses et ellipsoïdes, hyalines, 130-250 x 170-260/ μm . Une paroi de spores composite composée de cinq parois, de 11-12/ μm d'épaisseur.

Paroi externe 1 hyaline, stratifiée 5-9/ μm d'épaisseur avec une surface lisse. Parois 2 et 3 hyalines, membraneux, chacun jusqu'à 1/ μm d'épaisseur; parfois 3 est plus épais que 2.

Paroi 4 hyalin, flexible, de 3,5-5,0/ μm d'épaisseur. Le mur intérieur 5, hyalin, membraneux, > 0,5/ μm d'épaisseur. La paroi extérieure 1 et la paroi intérieure 5 deviennent rouge-violet et rouge dans le réactif de Melzer, respectivement. Cellule bulbeuse de l'hyphe sous-jacente 36-48/ μm de large; le watt 1-2/ μm d'épaisseur, brun-jaune pâle.

- Analyses des paramètres physico-chimiques des sols

L'analyse physico-chimique des sols des champs des deux zones d'abord ont montré un pH proche de la neutralité, ce paramètre est considéré comme l'un des principaux indicateurs du sol. Le pH peut être influencé par le climat, la végétation et les faibles précipitations et fluctue entre baisse, hausse et stabilité dans les milieux arides et semi-arides (Smith et al., 2000 ; Wezel et al., 2000 ; Li et al., 2007).

Selon Klironomos et al. (1993) le pH pourrait être un régulateur de la sporulation des champignons mycorhiziens arbusculaires. Ceci a été déjà observé par Mosse (1973) qui a remarqué que les spores du genre *Glomus* des champignons mycorhiziens apparaissent généralement dans les sols à pH neutre ou alcalin.

Le sol est de type argileux. En raison de sa richesse en minéraux, le sol argileux est très fertile et permet de cultiver de nombreuses plantes.

Les résultats de la conductivité électrique indiquant l'absence de la salinité dans le sol.

La diversité morphotypique des CMA dépend de la qualité du sol et la capacité des spores à s'adapter. Leur activité symbiotique est variable en fonction de la spécificité fonctionnelle de chaque souche qui peut être spécialisée à une fonction donnée ou être Généraliste (Ngonkeu et al, 2013).

A decorative border resembling a scroll, with a vertical strip on the left and rounded corners on the right, framing the chapter title.

Chapitre IV

Méthodes de conservation des spores

Les champignons mycorhiziens arbusculaires (MA) sont des biotrophes obligatoires qui, après la colonisation des racines, présentent des avantages largement acceptés pour un large éventail d'espèces hôtes-plantes. Les champignons colonisent le cortex radiculaire dans une association mutualiste, résultant en un transfert bidirectionnel du carbone de la plante au champignon et des minéraux, en particulier le phosphore, du champignon à la plante.

La production de masse de champignons MA sans contaminants est restée un goulot d'étranglement pour l'application dans l'agriculture pendant des décennies. Cependant, depuis les premiers travaux de Mosse et Hepper (1975), et le développement subséquent par Strullu et Romand (1986, 1987) et Bécard et Fortin (1988), le système de culture monoxénique est devenu un outil précieux pour produire des champignons AM sans contaminants, permettant la réalisation de production à l'échelle dans des conditions strictement contrôlées. Bécard et Fortin (1988) ont mis au point une technique efficace de culture des champignons MA en association avec des racines hôtes transformées sur un milieu de croissance synthétique. Un certain nombre d'espèces de champignons MA ont été cultivées avec succès sur des organes racinaires et sont utilisées pour mener des recherches fondamentales novatrices (Fortin et al. 2002).

La culture monoxénique présente plusieurs avantages par rapport aux systèmes conventionnels de culture en pot en ce qui concerne la production d'inoculum. Cette technique offre des propagules pures, stériles, en vrac, sans contaminants, jusqu'à présent impossibles à réaliser en utilisant des modes conventionnels de culture en pot, des techniques aéroponiques ou hydroponiques. En outre, cette technique a un avantage sur d'autres modes conventionnels de production de masse, où une augmentation de plusieurs fois de la production de spores / propagules est atteinte en moins de temps et d'espace.

La technologie comprend l'extraction de propagules viables potentielles des sols, la stérilisation en surface et l'optimisation des conditions de croissance pour la germination dans des conditions aseptiques. Ceci est suivi par l'association des propagules avec une racine d'hôte excisée appropriée pour la production de propagules et récupération. Les propagules produites en masse sont ensuite formulées sous une forme utilisable et stockées avant application à la plante cible. Cela résume le long trajet entre le système pédologique et la propagation en laboratoire, et l'application subséquente aux plantes terrestres ou en pot, permettant l'exploitation pratique de leur potentiel.

Des études antérieures ont comparé le système de culture monoxénique avec des techniques conventionnelles de production à grande échelle et ont prouvé son efficacité (Verma et Adholeya 1996; Douuds et al. 2000). La faisabilité de la commercialisation de l'inoculum mycorhizien dépend souvent de la facilité et de l'économie de la production de masse et de la formulation de grandes quantités de propagules mycorhiziennes viables, stables et très efficaces.

❖ Formulations

Les technologies de formulation tiennent compte en grande partie des effets environnementaux négatifs possibles et des facteurs qui peuvent rendre l'inoculum inefficace. La formulation est essentiellement un mélange de propagules microbiennes avec une gamme de porteurs ou d'adjuvants, pour produire un matériau qui peut être efficacement livré à l'application cible. Plusieurs formulations d'inoculum mycorhiziens ont été proposées.

Au niveau du laboratoire de recherche, des perles de verre ont été utilisées (Redecker et al. 1995), ainsi que de l'argile expansée (Plenchette et al. 1983) dans le secteur commercial. Ces formulations ont l'avantage de permettre le piégeage naturel des spores et des racines mycorhiziennes pendant la phase de croissance, dans des conditions de serre. Les perles ont une texture poreuse avec de nombreux espaces d'air dans lesquels les propagules mycorhiziennes peuvent s'établir. Le mélange de l'inoculum séché à l'air avec des vecteurs inertes comme le sable, la vermiculite et le rite du sol a également été documenté (Millner et Kitt, 1992). L'inoculum mycorhizien est disponible sous forme d'inoculum en poudre, de comprimés/pastilles ou de granules, de billes de gel et de boules.

❖ Biotechnologie et mycorhization contrôlée

La surexploitation des ressources forestières résultant d'activités industrielles (industrie papetière, etc.) ou de pratiques assurant les besoins des populations locales (ex : bois de chauffe, bois d'œuvre, etc.) a abouti à une déforestation significative au cours de ces dernières décennies dans les régions tropicales et méditerranéennes (Piéri, 1991). Une des conséquences de cette paupérisation du couvert forestier est l'accélération de la dégradation des sols et des processus de désertification qui en découlent et qui entraînent une perte ou une réduction des propriétés physico-chimiques et biologiques des sols (Requena et al. 2001). Cette dégradation de

la strate épigée contribue significativement au renforcement des processus d'érosion hydrique et éolienne aboutissant à une baisse de la fertilité tellurique et à des dysfonctionnements dans le fonctionnement biologique des sols (Garcia et al. 1997).

Parmi les composantes microbiennes particulièrement sensibles à ces dégradations environnementales figurent les champignons mycorhiziens dont la diversité et l'abondance dans le sol diminuent fortement dans de telles conditions (Duponnois et al. 2001 ; AzconAguilar et al., 2003). Ce constat est d'autant plus pertinent que l'établissement de la symbiose mycorhizienne mobilise et facilite le transfert d'éléments nutritifs (N, P) vers la plante, améliore l'aggrégation des sols érodés et enfin entraîne une meilleure résistance des plantes aux déficits hydriques (Smith et Read, 1997).

Les champignons mycorhiziens sont présents dans pratiquement tous les écosystèmes terrestres et sont considérés comme des éléments clés dans les processus biologiques régissant le fonctionnement des principaux cycles biogéochimiques terrestres et l'évolution spatiotemporelle du couvert végétal (van der Heijden et al. 1998 ; Requena et al. 2001 ; Schreiner et al. 2003). Deux types principaux d'associations mycorhiziennes sont distingués : les mycorhizes à arbuscules (MA) et les ectomycorhizes (ECM).

La symbiose mycorhizienne à arbuscules est majoritairement présente dans le règne végétal et intéresse les ptéridophytes, les gymnospermes et les angiospermes (Read et al., 2000). Ces symbiotes fongiques sont associés à environ 80-90 % des plantes terrestres dans les écosystèmes et agrosystèmes (Brundrett, 2002). Les ectomycorhizes sont observées au niveau des racines d'arbres, arbustes et parfois d'herbacées pérennes (ex : *Helianthemum* spp.) et résultent de l'association d'Homobasidiomycètes avec environ 20 familles de plantes (Smith et Read, 1997). Ces espèces végétales contractent des relations symbiotiques avec une grande diversité de champignons ectomycorhiziens évaluée entre 4 000 et 6 000 espèces, principalement des Basidiomycètes et Ascomycètes (Allen et al. 1995 ; Valentine et al. 2004).

La distribution des champignons ectomycorhiziens n'est pas uniforme au niveau spatial et temporel en termes d'abondance et de diversité. Cette répartition hétérogène au sein de l'écosystème est un facteur important à prendre en compte dans les opérations de reboisement, plus particulièrement lorsque la végétation présentant un statut ectotrophe s'est raréfiée (Marx,

1991) ou lorsque le potentiel ectomycorhizien des sols a subi de profondes dégradations à la suite d'événements d'origine naturelle (Terwilliger et Pastor, 1999) ou anthropique (Jones et al., 2003). La carence en structures ectomycorhiziennes au sein des racines des arbres est la cause principale des dysfonctionnements observés dans l'évolution spatio-temporelle des écosystèmes forestiers tant au niveau de la structure et de la productivité du couvert végétal que de sa capacité de résilience envers divers stress environnementaux.

De nombreuses études ont montré que des champignons ectomycorhiziens spécifiques sont capables d'améliorer la croissance juvénile de certaines espèces forestières et d'atténuer les effets de la crise de transplantation (Castellano et Molina, 1989 ; Kropp et Langlois, 1990 ; Marx et al. 1991 ; Castellano, 1996 ; Roldan et al. 1996 ; Garbaye et Churin, 1997 ; Duponnois et al., 2005, 2007).

Comme il est estimé que la symbiose mycorhizienne est présente chez 95 % des espèces végétales au sein d'un couvert végétal non ou peu perturbé et que ce pourcentage sera uniquement de 1 % dans le cas d'écosystèmes perturbés, le potentiel mycorhizien des sols doit être rétabli afin de valoriser l'effet « symbiose » pour améliorer la croissance de la plante hôte et ainsi optimiser la performance d'opérations de reboisement. Une des voies d'action pour atteindre cet objectif est d'inoculer en masse au substrat de culture des propagules mycorhiziennes afin d'assurer le transfert en milieu naturel de plants « outillés » (en termes d'intensité de colonisation des racines par le symbiote fongique) pour supporter la crise de transplantation et présenter une croissance optimale dans des sols carencés en éléments nutritifs.

Cependant, l'effet positif sur la croissance de la plante de l'association mycorhizienne est fonction du ou des symbiotes fongiques inoculés et de la plante hôte (Guelh et al. 1990 ; Bâ et al, 2002 ; Duponnois et Plenchette, 2003). Cette variabilité dans la réponse de la plante à l'inoculation mycorhizienne dépend de plusieurs facteurs comme le degré de compatibilité entre les deux composantes de la symbiose (plante/symbiote fongique), la dépendance mycorhizienne de la plante hôte, l'efficacité du champignon en termes d'effet sur la croissance de la plante en rapport avec les caractéristiques biotiques et abiotiques du milieu (Garbaye, 1988).

Afin d'augmenter la performance des programmes de reboisement, il est nécessaire que les pépinières forestières produisent des plants mycorhizés par des souches fongiques performantes et adaptées aux conditions écologiques rencontrées au niveau du site de plantation. En fonction de ces paramètres pris en considération, différentes méthodes d'inoculation

contrôlée sont susceptibles d'être identifiées afin d'optimiser l'effet fongique sur la croissance de la plante hôte.

❖ Critères déterminant le choix du type de formulation de l'inoculum fongique

Les critères principaux permettant d'identifier le type d'inoculum fongique à utiliser peuvent être résumés de la façon suivante :

- le degré de l'impact de la souche fongique sélectionnée sur la croissance et l'état sanitaire des espèces forestières utilisées dans les projets de plantation.

- la capacité des propagules fongiques à conserver leur viabilité après différents temps de conservation et maintenir ainsi leur efficacité sur la croissance de la plante au moment de l'inoculation du substrat.

- le coût de la production et de la formulation de l'inoculum fongique qui doit être compatible avec les capacités socio-économiques des utilisateurs potentiels.

❖ Les spores fongiques comme source d'inoculum mycorhizien

Les spores collectées à partir de fructifications peuvent être utilisées comme inoculum naturel mycorhizien. Cette pratique a été largement développée dans les pépinières forestières

(Castellano, 1994). Cependant, l'inoculation basée sur l'introduction des spores dans le substrat de culture est particulièrement dépendante du symbiote fongique et est limitée à certains champignons tels que *Pisolithus* et *Scleroderma*.

- Inoculum de type « spores » et effet sur la croissance de la plante hôte

Il existe différentes formulations d'inocula fongiques de type « spores ». Quelle que soit la formulation finale de l'inoculum, la première étape du processus repose sur la collecte de carpophores soigneusement identifiés et conservés dans des sacs en papier. Ces carpophores sont

ensuite brossés afin d'éliminer les éléments indésirables (fragments de racines, traces de sol, etc.) puis mis à incuber dans l'obscurité à 35 °C environ. Le matériel ainsi séché est broyé dans des sacs en plastique puis tamisé à 200-500 µm. Ce produit séché est ensuite mélangé à différents types de substrat inerte pour aboutir aux formulations suivantes :

– La poudre de spores est mélangée à un sable fin préalablement stérilisé (140 °C, 20 min) au ratio de 1 pour 100 (m/m). Les supports culturaux sont ensuite remplis par le substrat de culture amendé par l'inoculum fongique ou l'inoculum fongique est placé dans le trou de plantation du jeune semis.

– La poudre de spores est incluse dans un support inerte (ex : argile) pour obtenir des granules qui seront placés dans le trou de plantation de la jeune plantule (de la Cruz et al. 1990). Turjaman et al. (2005) ont évalué l'effet de différents champignons ectomycorhiziens sur la croissance de plusieurs espèces de diptérocarpacées dans une expérience réalisée en conditions contrôlées. Des carpophores prélevés en milieu naturel ont été broyés manuellement dans des sacs en plastique afin de minimiser la perte de spores et d'éventuelles contaminations entre les souches fongiques testées (de la Cruz et al. 1990). Les carpophores broyés ont ensuite été mélangés à une argile pour former des granules au ratio de 1 pour 100 (m/m). L'inoculation a été réalisée 10 jours après la germination des graines. Un trou a été matérialisé dans chaque pot pour y introduire l'inoculum fongique (0,4 g) à environ 1 cm en dessous de la surface du sol à proximité de la racine.

– Un autre processus d'inoculation, basé sur l'utilisation de spores ectomycorhiziennes, repose sur l'enrobage des graines par un mélange de spores et d'un agent collant comme l'argile (Marx et al. 1984).

Les effets positifs sur la croissance de la plante résultant de l'inoculation ectomycorhizienne dans des conditions de pépinières forestières, ont été fréquemment publiés. Toutefois, cette technique souffre de limites qui sont résumées de la façon suivante :

– difficultés de collecter de grandes quantités de carpophores pour certaines espèces fongiques.

– efficacité limitée de ce type d'inoculum fongique due à la germination lente des spores ou la faible viabilité des spores.

Malgré ces quelques critiques, ce processus d'inoculation est facile à mettre en œuvre et reste une technique efficace pour le transport et la conservation des spores pour certains champignons ectomycorhiziens tels que *Pisolithus* or *Scleroderma*.

❖ Cryoconservation des spores mycorhiziens arbusculaires vésiculaires

La méthode la plus couramment utilisée pour maintenir les champignons mycorhiziens vésiculaires arbusculaires (AV) est la culture continue dans un pot de sol avec un hôte végétal. Cette méthode exige du travail, du temps et de l'espace et peut ne pas conserver la variabilité génétique des champignons prélevés sur le terrain. Par conséquent, une méthode de stockage à long terme de l'inoculum de culture en pot est essentielle.

Les spores de champignons mycorhiziens de l'AV sont généralement entreposées à 4-5 °C dans un sol de culture en pot séché (Siqueira et coll., 1985). Des cultures de *Glomus fasciculatum* ont été entreposées avec succès pendant quatre ans dans un sol sec à 3-5 °C (Ferguson et Woodhead, 1982). Il y a toutefois des exceptions à l'applicabilité de l'entreposage frais et sec. Mugnier et Mosse (1987) ont stocké des sporocarpes de *Glomus mosseae* pendant 4 ans à 4 °C sur des solutions salines saturées qui maintiennent une humidité relative élevée.

Les spores ont mieux résisté au stockage dans le sable ou le sol humide que sec (Daft, Spencer et Thomas, 1987). Les tentatives de conservation de ces champignons dans l'azote liquide n'ont pas été La lyophilisation à un seul stade n'a été efficace que chez les espèces à spores à paroi épaisse (D'alpe, 1987). Il a été démontré que la congélation lente du sol de culture en pot, du sol + kaolinite ou kaolinite jusqu'à -40 °C, suivie d'une congélation rapide jusqu'à -196 °C, préserve l'infectivité des champignons mycorhiziens AV dans les morceaux de racines colonisées, mais les solutions cryoprotectrices étaient inefficaces (Tommerup et Bett, 1985). Tommerup (1988) a réussi à conserver les spores et les hyphes de champignons mycorhiziens AV par séchage et stockage sous vide. Tommerup (1988) déclare toutefois que "la cryoconservation peut être le choix ultime dans les méthodes (mais) il y a peu d'études visant à développer cette procédure de routine pour les champignons AV.

Cette étude a été menée pour quantifier la perte de germinabilité des spores fongiques mycorhiziennes AV lorsqu'elles sont entreposées dans le sol à 5 °C. De plus, nous avons exploré l'utilisation de cryoprotecteurs pour permettre l'entreposage des spores à — 60 à — 70 °C, et avons élaboré un document d'application générale, méthode simple et efficace de congélation des spores dans le sol de culture en pot.

Directions futures

Lorsque l'on considère les symbioses mycorhiziennes dans le contexte des défis mondiaux actuels (changement environnemental, conservation des écosystèmes, agriculture durable, développement de plantes pour les besoins futurs et sécurité alimentaire), nous reconnaissons que les champignons mycorhiziens peuvent être cruciaux dans bon nombre de ces domaines : les champignons mycorhiziens mobilisent P et N, et sont un important puits de C dans le sol, ayant donc un impact important sur le cycle de ces éléments 92 .

En tant que biofertilisants, ils peuvent contrecarrer les excès de fertilisation et ainsi favoriser une agriculture durable. La sélection de nouvelles variétés de cultures donnant des rendements sur des sols pauvres et dans des conditions de faible fertilisation doit donc considérer de nouveaux aspects, tels que leur réactivité aux champignons mycorhiziens, qui n'a jamais été consciemment prise en compte lors de la domestication des plantes. 93 ni lors de l'élevage moderne. Enfin, la qualité et la sécurité alimentaires sont étroitement liées à la nécessité de nourrir une population mondiale en croissance constante sous la menace du changement climatique ; dans ce cadre, décrypter la contribution des champignons mycorhiziens à la qualité nutritionnelle des organes végétaux comestibles devient une priorité.

Si les promesses de la recherche mycorhizienne sont faciles à cataloguer, de nombreuses contraintes liées à la biologie des champignons mycorhiziens limitent encore leur réalisation. L'identification des molécules de signalisation libérées par les champignons AM et EM est une première nécessité. Bien que le facteur Myc potentiel des AM soit actuellement à l'étude 34, sur la base de similitudes potentielles avec le facteur Nod, la production de molécules similaires n'a pas émergé des génomes des champignons EM ; il existe plutôt des preuves de la présence de petites protéines sécrétées. Une fois cette information est disponible, de nouveaux traitements agricoles et forestiers peuvent être envisagés, tandis que la recherche des récepteurs correspondants chez les plantes va commencer. Un autre domaine prometteur est l'étude des

Microbes associés aux champignons mycorhiziens et de leur rôle en tant que troisième composante de la symbiose. Une fois que ces questions biologiques de base auront des réponses, nous serons prêts à exploiter la communauté fongique mycorhizienne cachée dans le sol mais qui profite tranquillement aux plantes et aux humains.



Conclusion

Les nouvelles fonctions des champignons mycorhiziens arbusculaires (AMF) en tant qu'agent biologique pour l'amélioration de la croissance et de la santé des plantes et l'aide à l'établissement précoce des semis sur les sites de reboisement dégradés sont reconnues. La plupart des espèces d'arbres sont colonisées par des champignons mycorhiziens, mais l'exploitation de ces avantages potentiels de l'AMF n'a pas encore été largement adoptée et elles ne sont pas encore utilisées dans le cadre de la gestion sylvicole standard en Algérie. Cela peut être lié à la disponibilité limitée de l'inoculum d'AMF et au manque de données démontrant un avantage de l'application à grande échelle de l'inoculum d'AMF sur le terrain.

L'objectif de cette étude était d'identifier les spores des champignons endomycorhiziens à Constantine, plus précisément à la région de Djebel El Ouahch et Chaabat Erssas, de plus, une analyse physico-chimique à savoir le PH, la conductivité et l'humidité du sol.

Lors de ce travail, l'observation des spores des CMA sous la loupe binoculaire à fort grossissement a révélé la présence de morphotypes des spores (selon les caractères morphologiques tels que la couleur, la forme) dans le sol des deux sites ; 2 spores Globuleuses dans la régions de Djebel Ouahch de Genre *Glomus* sp, de couleur Marron et Marron foncé et 3 spores Globuleuses dans la régions de Chaabat Erssas, *Acaulospora* sp de couleur orange, *Glomus* sp de couleur Marron foncé et *scutelospora* sp de couleur Jaune pale.

Les résultats d'analyse granulométrique des sols étudiés ont montré que les échantillons de sol des deux sites ont une structure Agrileuse. En raison de sa richesse en minéraux, le sol argileux est très fertile et permet de cultiver de nombreuses plantes. Dans l'ensemble les sols ont un pH proche de la neutralité, ce paramètre est considéré comme l'un des principaux indicateurs du sol.

Les résultats de la conductivité électrique indiquent l'absence de la salinité dans le sol.

Notre étude nous a permis d'apporter notre contribution à la connaissance des champignons mycorhiziens, leur diversité ainsi que leurs rôles. Toutes les pratiques agricoles ont été conçues et sont appliquées comme si les mycorhizes n'existaient pas. Pourtant elles sont omniprésentes et jouent des rôles fondamentaux dans tous les aspects de la vie des plantes. Donc Il faut repenser la presque totalité des pratiques agricoles à la lumière du rôle des mycorhizes.



**Références
Bibliographique**

A. Zeze, B. Ouattara, C. Y. Brou, D. Van Tuinen, H. Diallo-Attah et A. Sangare .2007.Distribution et abondance de spores de champignons endomycorhizogènes à arbuscules dans différents types de forêts de la Téné en côte d'Ivoire. *Agronomie Africaine* 19 (2) : 103,105,106 p.

A. Zeze, B. Ouattara, C. Y. Brou, D. Van Tuinen, H. Diallo-Attah et A. Sangare.2007.Distribution et abondance de spores de champignons endomycorhizogènes à arbuscules dans différents types de forêts de la Téné en côte d'Ivoire. *Agronomie Africaine* 19 (2) : 109.

Abbas Younes .2014.Microorganismes de la rhizosphère des Tétracélinées : un outil pour optimiser la régénération assistée du *Tetracelis articulata* Vahl Master. Thèse de doctorat. Université Mohammed V Rabat. 29-30, 61-62 p.

Anissa Lounes-Hadj Sahraoui.2013.La Mycorhize à arbuscules : quels bénéfices pour l'homme et son environnement dans un contexte de développement durable? *Rev. Sci. Technol*, Synthèse 26: 06 -12 p.

Brundrett M.C., 2002. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants, *New Phytologist* (volume 154), issue 2, 275-304 p.

C. S. A. Ballot, G. Mawussi, W. Atakpama, M. Moita-Nassy, T. M. Yangakola, I. Zinga, Silla S, Kpérkouma W, G. Dercon, Komlan B. et Koffi A. 2016.Caractérisation physico-chimique des sols en vue de l'amélioration de la productivité du Manioc (*Manihot Esculenta* Crantz) dans la région de Damara au centre-sud de Centrafrique. *Agronomie Africaine* 28 (1) : 9 – 23.17 p

David D. Douds, JR. and N. C. Schenck.1990.Cryopreservation of spores of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 115, 667-674. 667 p.

Debashis Kuila, Somdatta, SOMDATTA Ghosh.2022.Aspect, problems and utilization of Arbuscular Mycorrhizal (AM) application as bio-fertilizer in sustainable agriculture. *Current Research in Microbial Science*, 3: 100107.1,2 p.

Derkaoui Nouria. (2018). Evaluation du potentiel mycorrhizogène sous acacia saligna introduite pour la revégétalisation de la sablière de terga. Thèse de doctorat .Université Oran 1.53 P.

Duponnois R, Sanon A, Hafidi M, Ndoye I, Bâ A. M.2013.Généralités sur la symbiose mycorrhizienne.22-28 p.

Duponnois R.1,Bâ A. M.2, Galiana A.3, Baudoin E.1, Sanguin H.3, Lebrun M.1, Prin Y.3.2013.Biotechnologie et mycorhization contrôlée en milieu tropical.263-268 p.

Eun-Hwa Lee, Ju-Kyeong Eo, Kang-Hyeon Ka et Ahn-Heum Eom.2013.Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and their roles in ecosystems. 41(3): 121-125.122 p.

Gnamkoulamba et al, J. Appl. Biosci. 2018. Prévalence et diversité des spores des champignons mycorrhizes arbusculaires en culture de riz sous les différents systèmes de culture de riz au Togo. Journal of Applied Biosciences 126: 12659 p.

J. André Fortin .2011.Les mycorrhizes: la nouvelle révolution verte 1 ère partie.

Abe,J.I.P., Masuhara, G., & Katsuya, K. (1994). Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in coastal plant communities. Spore formation of Glomus sp. predominantes under a patch of Elymus mollis. Mycoscience, 35: 233-238. 236 p.

Paola Bonfante et Andréa Genre.2010.Mécanismes sous-jacents aux interactions plantes-Champignons bénéfiques dans la symbiose mycorrhizienne.9 p.

Souza, T. (2015). Handbook of arbuscular mycorrhizal fungi. Cham: Springer, 153P.

Thomas CROSSAY.(2018).Caractérisation taxonomique des champignons mycorrhiziens à arbuscules natifs des sols ultramafiques de Nouvelle-Calédonie ; analyse de leur synergie permettant l'adaptation des plantes à ces milieux extrêmes. Thèse de doctorat. Université de la Nouvelle-Calédonie.

Référence

Yadi setiadi.2002.Mycorrhizal inoculum production technique for land rehabilitation.Jurnal Manajemen Hutan Tropika Vol. VIII No. 1 : 51-64. 51p.

Yolande dalpé.biodiversité des champignons mycorhiziens.6-7 p.

Année universitaire : 2021-2022	Présenté par : AIT ABDESSELAM Silia LADRAA Hiba Housna
Intitulé : Contribution à l'étude des mycorhizes de la région de Constantine et méthodes de leur conservation.	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et Génomique végétale	
<p>Résumé</p> <p>L'utilisation de fertilisants chimiques au niveau mondial a augmenté de façon alarmante. Il y a encore un demi-siècle, les agriculteurs appliquaient (1012g) de fertilisant chimique par hectare. Aujourd'hui, ce volume a été multiplié par huit dont ces derniers sont reconnus comme polluant onéreux et destructeurs de l'environnement et des ressources naturelles. Pour cela il faut trouver des alternatives aux fertilisants chimiques, tout en garantissant des volumes de production rentables tels que les biofertilisants qui sont basés sur des interactions biologiques bénéfiques et des processus naturels: parmi ces interactions, les microorganismes symbiotes du sol, comme les mycorhizes qui jouent un rôle important sur la fertilité des sols . Notre étude apporté sur l'identification des spores des mycorhizes CMA, de deux sites (Djebel El Ouahch et Chaabat Erssas), les paramètres suivants ont été évalué : l'observation des spores ainsi que l'analyse physico-chimique du sol tel que le : pH , conductivité et l' humidité.</p> <p>L'observation des spores des CMA sous la loupe binoculaire à fort grossissement a révélé la présence de morphotypes des spores dans le sol des deux sites; 2 spores Globuleuses dans la régions de Djebel Ouahch de Genre <i>Glomus</i> sp,de couleur Marron (A) et Marron foncé (B)(Figure 11) et 3 spores Globuleuses dans la régions de Chaabat Erssas,, <i>Acaulospora</i> sp de couleur orange (C) <i>Glomus</i> sp de couleur Marron foncé (D) et <i>scutelospora</i> sp de couleur Jaune pale (E) .</p> <p>L'analyse physico-chimique des sols des champs des deux zones d'abord ont montré un sol de type argileux. Dans l'ensemble les sols ont un pH proche de la neutralité, ce paramètre est considéré comme l'un des principaux indicateurs du sol, les résultats de la conductivité électrique indiquant l'absence de la salinité dans le sol.</p> <p>L'étude de cette symbiose mycorhizienne est donc un point essentiel pour la production végétale car elle montre l'intérêt et la diversité des mycorhizes.</p> <p>Afin d'atteindre cet objectif, d'autres voies de recherche sont nécessaires et mérites d'être exploités à l'avenir :</p> <ul style="list-style-type: none"> - La mise au point du processus de production d'incolum mycorhizien. - Isoler et faire des analyses moléculaires des ADN fongiques pour l'identification des - espèces de champignons performantes. - Isoler et faire des analyses biomoléculaires (PCR/RFLP, séquençage) des ADN fongique (morphotypes et carpophores endomycorhiziens et les spores des champignons mycorhiziens arbusculaires) pour l'identification des espèces de champignons MVA performantes. 	
Mots-clefs : Spores, CMA, biofertilisants. MVA,	
Laboratoires de recherche : Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies Végétale (Université Frères Mentouri, Constantine 1).	
Encadreur : Mme. BOUSBA Ratiba. (Professeur- Université Frères Mentouri, Constantine 1). Examineur 1 : Mr KELLOU K. (Maitre Assistant A - Université Frères Mentouri, Constantine 1). Examineur 2 : Mlle MOUELLEF Adraa(Maitre de conférence B- Université Frères Mentouri,Constantine 1).	

