

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 البليدة 1

Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologies et Agroécologie

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master 2 en :

(Option) : Biotechnologie Microbienne

Thème

Contribution à l'étude des effets des mycorhizes sur
certains microorganismes isolés du sol

Soutenu par :

Benaouda Maroua

Et

Debab Manel

Devant le Jury :

MM. AMMAD F.

MCA

U.S.D. Blida1

Président(e)

MM. YALA A.

MAA

U.S.D. Blida1

Examineur(rice)

MM. BELMESKINE H.

MCA

U.S.D. Blida1

Promotrice

Le 25 /07/2022

Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier DIEU, le tout puissant de nous avoir accordé santé et courage pour accomplir ce travail.

Nous tenons à remercier notre promotrice Dr. Belmeskine Hayet, Maitre de conférences A à la faculté SNV-Université Blida 1, de nous avoir choisies pour faire ce travail et de nous encadrer, et d'avoir corrigé notre travail, ainsi que pour sa patience et son encouragement à finir ce travail et son orientation.

On tient à exprimer nos remerciements et gratitude aux membres de jury, Dr. Yala Ania, Maitre de conférences B à la faculté SNV-Université Blida 1, d'avoir accepté d'évaluer et d'examiner notre travail et Dr. Ammad Fayza, Maitre de conférences A à la faculté SNV-Université Blida 1, d'avoir accepté d'évaluer notre travail et de nous faire l'honneur de présider le jury.

Un grand merci pour l'ingénieur de notre laboratoire Mme Salma, pour Mme Taffifet Lamia et Mme Mohamed Mahmoud Fadhila pour leur aide dans notre travail.

On remercie nos enseignants, de nous avoir guidés durant toutes ces années, en particulier Pr Krimi.Z, Mme, Toua.D, Pr Benchaabane, Mme Ait saadi. N, Mme Ammad.F, Mme Benkortby et MmeTaffifat.L.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci à tous.

DEDICACES

Je dédie ce travail premièrement à ma mère Allah yerhamha qui veillait avec moi les nuits depuis mon plus

Jeune âge et me soutenait avec toutes ses forces, ma mère qui était mon refuge quand j'étais Faible.

A mon père qui a toujours été mon soutien et ma force, mon père ma consolation et ma fierté,

Mon père qui s'est efforcé de réaliser mon rêve, me voici aujourd'hui.

A mon frère, qui était comme mon deuxième père, Abderrazak, mon frère Imed et Mes chères sœurs, Nadhira et Assia et tante Samia et mes grandes mères

Et je n'oublierai pas mon amie et mon binôme Manel, qui a enduré avec moi les épreuves de Ce travail et partagé nos joies, nos tristesses et nos pleurs.

Et tous ceux qui ont participé à la réalisation de ce travail de près ou de loin,

Mes chères Cousines Baya, Lamia, Ihcene.

Amies Meriem, Amel, Amira, Youssra, Maria, Nadia et toute ma famille.

Et tous mes sincères remerciements à la personne qui m'a apporté le soutien moral, à mon fiancé Karim.

Et je souhaite que Dieu protège tous ceux qui me sont chers, et me les garde toujours près de moi

Merci à tous

B.MAROUA

DEDICACES

*Je dédie ce travail premièrement à ma mère qui veillait avec moi les nuits
depuis mon plus*

*Jeune âge et me soutenait avec toutes ses forces, ma mère qui était mon
refuge quand j'étais Faible.*

*A mon père qui a toujours été mon soutien et ma force, mon père ma
consolation et ma fierté,*

Mon père qui s'est efforcé de réaliser mon rêve, me voici aujourd'hui.

*A mon tonton, qui était comme mon deuxième père, Redha Boudjakdi, et ma
tata Fouzia.,*

Tonton Mahfoud Madji et tata Hassina,

A mes défunts frères Hamza, et Zoheir Boudjakji

*Et je n'oublierai pas mon amie et mon binome Meroua, qui a enduré avec
moi les épreuves de*

Ce travail et partagé nos joies, nos tristesses et nos pleurs.

*Et tous ceux qui ont participé à la réalisation de ce travail de près ou de loin,
mes chères Amies Soumia, Imane, et toute ma famille.*

*Et je souhaite que Dieu protège tous ceux qui me sont chers, et me les garde
toujours près de moi*

Merci à tous

D.MANEL

الفطريات الفطرية- البكتيريا

تم تنفيذ الخبرات لتقييم تأثير الفطريات على بعض الكائنات الحية الدقيقة المعزولة في التربة (البكتيريا التي تيلوريك بشكل خلال موسم 2022 (*Phaseolus vulgaris*) أكثر دقة) التي تم تنفيذها على الحدائق في السوق: الفاصوليا الخضراء ، قسم التكنولوجيا الحيوية ، من أجل تسليط الضوء ؛ الفائدة من PFE أجريت اختبارات مقارنة خاضعة للرقابة في مختبر على البكتيريا CMAs البكتيريا على تطور ونمو نباتات الفاصوليا. وكذلك التأثير التنافسي ل-CMA-المجمع ، التيلوريك. التربة المختارة هي المحطة التجريبية لعلوم أعضاء هيئة التدريس لدينا للطبيعة و الحياة، قسم الزراعة غنية على التربة المعقمة CMAs جدا في الكائنات الحية الدقيقة. ثم تم تعقيم هذه التربة، من أجل تقييم فعالية أفضل ، وبالتالي فإن نمو النباتات أسرع ؛ ويرجع ذلك CMAs وكشفت النتائج أنه في وجود البكتيريا الهادئة ، فإن نشاط على البكتيريا هو التأثير التنافسي على CMA إلى التأثير التآزري بين البكتيريا والفطر. وقد لوحظ التأثير الثاني من العناصر الغذائية التي تفرزها الإفرازات الجذرية للنبات ، لاحظنا انخفاضاً في السلالات البكتيرية ، CMAs تم اختيار البكتيريا فقط التي من المحتمل أن تعزز نمو النبات بواسطة و 24 بعد التلقيح CMAs أي 38 سلالة قبل تلقيح

CMA-bacteria ، الكائنات الحية الدقيقة ، البكتيريا التيلوريك ، مجمع mycorrhizae: الكلمة الرئيسية ، التآزر، الفطر، المنافسة الغذائية، الفاصوليا الخضراء، الجذر

Résumé :

Mycorhize-bactéries

Des expériences ont été menées pour évaluer l'effet des mycorhizes sur certains microorganismes isolés du sol (plus précisément des bactéries telluriques) réalisées sur culture maraichère : haricot vert (*Phaseolus vulgaris*) durant la saison de 2022.

Des essais comparatifs contrôlés, ont été effectués au niveau du laboratoire de PFE, département de biotechnologie, afin de mettre en évidence ; le bénéfice du complexe, CMA-bactéries sur l'évolution et la croissance des plantes du haricot. Ainsi que l'effet compétitif des CMA sur bactéries tellurique. Le sol choisi est celui de la station expérimentale de notre faculté science de la nature et de la vie, département d'agronomie. Très riche en microorganismes. Ce sol a été ensuite stérilisé, afin d'évaluer l'efficacité des CMA sur un sol stérile.

Les résultats ont révélés qu'en présence de bactéries telluriques, l'activité des CMA est meilleure, et donc la croissance des plantes est plus rapide ; ceci est dû à l'effet synergique entre bactérie et champignon. Un deuxième effet des CMA sur les bactéries a été observé

c'est l'effet compétitif sur les nutriments secrétés par les exsudats racinaire de la plante. Seules les bactéries susceptibles de favoriser la croissance de la plante ont été sélectionnées par les CMA, nous avons noté une diminution des souches bactérienne soit 38 souches avant l'inoculation des CMA et 24 après l'inoculation.

Mot clé : Mycorhizes, microorganisme, bactérie tellurique, complexe CMA-bactérie, Synergique, champignons, compétition nutritif, haricot vert, racine

Abstract:

Mycorrhizae-bacteria

Experiments were carried out to evaluate the effect of mycorrhizae on certain microorganisms isolated from the soil (more precisely, telluric bacteria) carried out on the market garden crop: green bean (*Phaseolus vulgaris*) during the 2022 season.

Controlled comparative trials were carried out in the PFE laboratory, Department of Biotechnology, in order to demonstrate the benefit of the AMF-bacteria complex on the evolution and growth of bean plants. As well as the competitive effect of AMF on telluric bacteria. The soil chosen is that of the experimental station of our Faculty of Natural and Life

Sciences, Department of Agronomy. This soil is very rich in microorganisms and was then sterilized in order to evaluate the effectiveness of AMF on a sterile soil.

The results revealed that in the presence of soil bacteria, the activity of the AMF is better, and therefore the growth of the plants is faster; this is due to the synergistic effect between bacteria and fungi. A second effect of AMF on bacteria has been observed to be the competitive effect on nutrients secreted by the plant root exudates. Only those bacteria likely to favour plant growth were selected by the AMF. We noted a decrease in the number of bacterial strains, 38 strains before inoculation with AMF and 24 after inoculation.

Key word : mycorrhizae, microorganism, telluric bacteria, green bean, AMF-bacteria complex, synergique, fungi, competition nutritive, root.

Listes des acronymes et abréviations

| | |
|-------------|--|
| CMA | Champignons mycorhizienne Arbusculaire |
| AM | Arbusculaire mycorhize |
| PPA | Pre pénétration apparatus |
| PGPM | Plants growth promoting microorganisme |
| PSF | Phosphate solubilizing fungi |
| RVD | Rosette virus disease |
| FAO | Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture |
| KOH | l'hydroxyde de potassium |
| ADN | Acide désoxyribonucléique |
| UV | Ultra-violet |

Tables des matières

| | |
|--|---|
| Résumé | |
| Remerciement | |
| Dédicace | |
| Liste des abréviations | |
| Liste des figures | |
| Liste des tableaux | |
| Introduction générale..... | 1 |
| Chapitre 1 : Revue bibliographique | |
| I.1. Généralité sur les symbioses mycorhiziennes..... | 4 |
| I.2. Les différents types de mycorhizes..... | 4 |
| I.2.1. Les ectomycorhizes..... | 5 |
| I.2.2. Les endomycorhizes..... | 6 |
| I.2.3 Les mycorhizes ectotrophes..... | 6 |
| I.2.4. Les mycorhizes orchioïde..... | 7 |
| I.2.5 Les mycorhizes arbusculaires..... | 7 |
| I.2.6. Les mycorhizes éricoïdes..... | 7 |
| I.2.7. Les mycorhizes arbutoïdes..... | 7 |
| I.3. La symbiose endomycorhizienne à arbuscules..... | 7 |
| I.3.1. Description et caractéristiques des Champignons Mycorhiziens à Arbuscules (CMA)..... | 8 |
| I.3.2. Structure des champignons mycorhiziens à arbuscule..... | 8 |

| | |
|---|----|
| I.3.3. Classification classique des CMA..... | 9 |
| I.3.4. Développement de la symbiose mycorhizienne à arbuscules..... | 10 |
| I.4. Mécanisme d'action..... | 12 |
| I.4.1. Croissance et nutrition..... | 12 |
| I.4.2. Les interactions mycorhizes-microflore rhizosphérique..... | 13 |
| I.4.3. Effet des mycorhizes sur les agents phytopathogènes..... | 14 |
| I.5. Description de la plante..... | 15 |
| I.5.1. Classification botanique des Haricots..... | 16 |
| I.5.2. Cycle du développement des Haricots..... | 17 |
| I.5.3. Production mondiale des Haricots..... | 18 |
| I.5.4. Les variétés les plus cultivés en Algérie..... | 18 |

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

| | |
|--|----|
| II.1. Matériel..... | 20 |
| II.1.1. Matériel non biologique..... | 20 |
| II.1.2. Matériel biologique..... | 20 |
| II.2. Méthodes..... | 21 |
| II.2.1. Mise en place de l'expérience..... | 21 |
| II.2.2. Préparation des sols..... | 21 |
| II.2.3. Désinfection et pré-germination des graines de Haricot (Jalila)..... | 21 |
| II.3. le dispositif expérimental de l'essai..... | 22 |
| II.4. Plantation des plantules de haricot (Jalila)..... | 22 |
| II.5. La collecte des données..... | 23 |
| II.5.1. Mesure des paramètres de croissance des plants de haricot..... | 23 |
| II.5.2. La vérification de la présence des CMA..... | 24 |
| II.6. Isolement des bactéries à partir du sol..... | 25 |
| II.7. Purification des souches..... | 26 |
| II.8. Conservation des souches..... | 26 |
| II.9. Identification des souches isolées..... | 27 |
| II.9.1 .Examen macroscopique..... | 27 |
| II.9. 2.Examen microscopique..... | 27 |

Chapitre 3 : Résultats et discussions

| | |
|---|----|
| III.1 Test de vérification de la présence des CMA..... | 32 |
| III.2. Impact des mycorhizes sur les paramètres de croissance des haricots..... | 32 |
| III.2.1 Effet de la mycorhization sur le développement de la tige..... | 33 |
| III.2.2. Les feuilles..... | 34 |
| III.2.3. Les racines..... | 35 |
| III.3. Pré-identification des souches bactérienne | 38 |
| III.4 Discussion..... | 42 |
| Conclusion générale | 46 |
| Référence bibliographique | |
| Annexes | |

Liste des figures

Chapitre I :

| | |
|--|----|
| Figure I.1 : Les principaux types de mycorhize représentés sur une coupe transversale de racine..... | 5 |
| Figure I.2 : Illustration de structures de colonisation de la racine d'une plante ectomycorhizienne (A) et ectomycorhizienne à arbuscule (B)..... | 6 |
| Figure I.3 : Structures caractéristiques des champignons mycorhiziens arbusculaires. (a) arbuscules intercellulaires (b) vésicule intradurculaires (c) hyphes intradurculaires (d) hyphes extradurculaires..... | 9 |
| Figure I.4 : Classification de CMA..... | 10 |
| Figure I.5 : Schéma et prise de vue au microscope électronique à transmission d'une cellule corticale de plante abritant un arbuscule de champignon..... | 11 |
| Figure I.6 : Schéma des différentes phases de colonisation des MA..... | 12 |
| Figure I.7 : Actions des hyphes extra-radicalaires des champignons mycorhizogène sur l'apport en eau et nutriments à la plante..... | 13 |
| Figure I.8 : Description de la plante du Haricot..... | 16 |
| Figure I.9 : Le cycle du développement du Haricot..... | 18 |

Chapitre II :

| | |
|---|----|
| Figure II.1 : Zone d'échantillonnage (A) (Google Maps), (B) : photo originale..... | 20 |
| Figure II.2 : Les différentes étapes de la préparation des graines (Photos originaux)..... | 22 |

| | |
|---|-----------|
| Figure II.3 : Repiquage des plantules de haricot (Jadida) dans des pots(photo originaux) | 23 |
| Figure II.4 : Témoin de CMA (photo originale)..... | 23 |
| Figure II.5 : Les étapes de coloration des racines (photos originaux)..... | 25 |
| Figure II.6 : Préparation des dilutions (Photos originaux)..... | 25 |
| Figure II.7 : Codification des boites et selection des colonies a purifiées (Photo originale). | 26 |
| Figure II.8 : des souches bactériennes pures (photos originaux)..... | 26 |
| Figure II.9 : Conservation des souches bacéteriennes purs (Photos originaux)..... | 27 |
| Figure II.10 : Clé d'identification des bactéries..... | 28 |
| Figure II.11 : La coloration de Gram des souches bactériennes (photos originaux)..... | 28 |
| Figure II.12 : Des souches bactériennes fluorescentes (photos originaux)..... | 29 |

Chapitre III :

| | |
|---|-----------|
| Figure III.1 : Vu sous microscope présence de CMA (photo original)..... | 32 |
| Figure III.2 : Croissance des plantes mycorhizées et non mychorizées..... | 33 |
| Figure III.3 : Effet de la mycorhization sur la hauteur de la tige..... | 33 |
| Figure III.4 : Effet de la mycorhization sur le poids de la partie aérienne de la plante de haricot..... | 34 |
| Figure III.5 : Effet de la mycorhization sur le nombre de feuilles..... | 34 |
| Figure III.6 : Effet de la mycorhization sur le poids frais des feuilles..... | 35 |
| Figure III.7 : Effet de la mycorhization sur la longueur des racines..... | 35 |
| Figure III.8 : Effet de la mycorhization sur la largeur des racines..... | 36 |
| Figure III.9 : Effet de la mycorhization sur le poids des racines..... | 36 |

Liste des tableaux

Chapitre II :

| | |
|--|-----------|
| Tableau II.1 : Quelques caractères de la variété étudiée..... | 21 |
|--|-----------|

Chapitre III :

| | |
|--|-----------|
| Tableau III.1 : Récapitulatif des résultats des colonies identifiées dans les isolats des sols..... | 38 |
|--|-----------|

| | |
|---|-----------|
| Tableau III.2 : Récapitulatif des résultats des colonies identifiées dans les isolats des sols mycorhizés..... | 40 |
|---|-----------|



Introduction Générale

La production agricole connaît une augmentation constante en raison de l'accroissement de la population. Les engrais inorganiques sont utilisés pour favoriser la croissance des plantes. L'utilisation d'engrais inorganiques augmente de jour en jour, ce qui est très coûteux et constitue une cause importante de pollution environnementale. Nous devons trouver des stratégies pour améliorer notre productivité agricole en utilisant une approche respectueuse de l'environnement. Les champignons mycorhiziens forment une association symbiotique avec la majorité des plantes et fournissent aux plantes des nutriments essentiels, en particulier du phosphore, ce qui réduit le besoin d'engrais inorganiques.

Les mycorhizes (du grec myco : champignon et rhiza ; racine) est une relation symbiotique entre les champignons et les racines des plantes par laquelle ils s'échangent des matières.

D'une part la mycorhize satisfait les besoins du partenaire fongique en composés carbonés synthétisés par la plante hôte photosynthétique, et d'autre part elle permet à la plante hôte de bénéficier d'une meilleure nutrition minérale grâce au réseau d'hyphe extraradiculaire qui s'étend bien au-delà de la zone du sol explorée par les racines (Smith et Read, 1997).

La plus part des espèces végétales ne peuvent croître normalement sans leur symbiote fongique dont elles sont fortement dépendantes (Janos, 1980 ; Hetrick, 1984 ; Brundrett, 1991 ; Gobat et al, 2003).

Ces mycorhizes entreprennent également des relations avec les composants de la microflore du sol. Elles peuvent être des relations d'origine synergique favorisant ainsi la croissance de la plante mycorhizée, ou bien antagoniste dans le cas de présence de parasites, elle peut prévenir ou bien contrôler la sévérité d'une infection (Linderman, 1992).

Parmi les plantes mycorhizables nous retrouvons l'haricot vert (*Phaseolus vulgaris*) originaire du Pérou, il à été introduit en Europe par les espagnols autour du 16 siècle ensuite dans le monde entier par les commerçants espagnols et portugais. Actuellement les plus grands commerciaux des haricots verts frais comprennent : les Etats-Unis, France,

Mexique, et la Turquie (FAO 2017), digestibles, faibles en calories et riches en vitamines ce sont les vertus réelles des haricots verts.

En Algérie, l'haricot occupe une part importante parmi les aliments les plus consommables la surface totale réservée à sa culture uniquement pour l'année 2016 est de l'ordre de 4061 ha avec une production totale de 139587,13 de tonnes calculée sur la base d'un rendement moyen de 343.73 qx/ha (FAO stat 2016).

L'objectif principal de cette étude est de démontrer l'effet synergique de la biotechnologie mycorhizienne et certains microorganismes isolés du sol (à noter les bactéries tellurique) sur la croissance des plantes.

Chapitre I :
Revue
Bibliographique

I.1. Généralité sur les symbioses mycorhiziennes :

Le mot symbiose fut utilisé pour la première fois par l'allemand **Frank (1877)** pour qualifier la coexistence d'organismes différents. Les symbioses mutualistes, où les partenaires coexistent activement d'un point de vue physiologique, écologique et reproductif (**Harley, 1989**) furent pendant longtemps jugées peu importantes dans les processus écologiques (**Lambers et al, 2009**).

Il est actuellement admis que la symbiose mycorhizienne est une association à bénéfice réciproque entre une racine de plante et un champignon. Dès le 19^{ème} siècle, les mycorhizes ont fait l'objet de descriptions et d'études de distribution de part le globe. La presque totalité des plantes vertes terrestres vivent en symbiose mycorhizienne. Seuls des membres de quelques familles en sont quelques fois dépourvus, par exemple, les crucifères et les chénopodiacées (**Fortin et al, 2008**).

I.2. Les différents types de mycorhizes :

D'après la morphologie de l'organe résultant de l'association plante-symbiote fongique, différents types de mycorhizes sont distingués. Appelées ectomycorhizes, encomycorhizes ou ectoendomycorhizes. Selon **Bonfante et Genre (2010)**, les types les plus répandus dans le monde seraient les ectomycorhizes et les endomycorhizes.

La classification des mycorhizes, est basée sur le type de champignon associé, selon la reproduction sexuée, c'est-à-dire zygomycète de l'ordre des glomales, comme les ascomycètes ou basidiomycètes.

Il est bien connu que les différents types d mycorhizes possèdent des capacités différentes leur permettant d'accéder aux formes organiques et inorganiques des nutriments du sol (**Lambers et al., 2008 ; Smith et Read, 2008**)

Les champignons mycorhiziens vivent généralement dans le cortex des racines des plantes, à la surface de la racine ou autour des cellules épidermiques de la racine (**Van der Heijden et al., 2015**). Ils développent également des hyphes à partir des racines dans le sol, où ils fournissent les nutriments limitant la croissance des plantes, en particulier les nitrates et les phosphates.

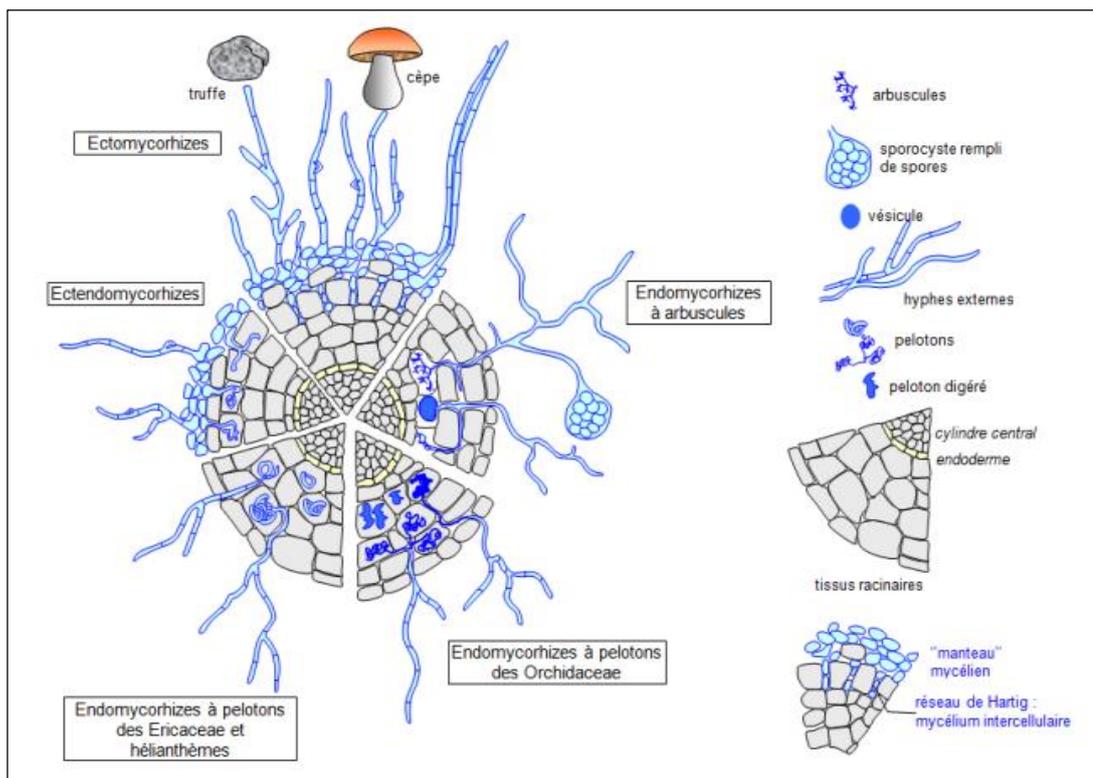


Figure I.1 : Les principaux types de mycorhize représentés sur une coupe transversale de racine (Le Tacon, 1985).

- Selon la localisation des champignons mycorhiziennes :

I.2.1. Les ectomycorhizes :

(Du grec *ektos* : à l'extérieur) où les champignons se développent essentiellement autour de la racine, en formant un manchon mycélien à partir duquel se développent des hyphes qui s'insèrent entre les cellules corticales de la racine (réseau de Hartig). A partir de cet ancrage, le mycélium peut se développer et envahir le sol adjacent (Fortin *et al.*, 2008) (Fig I.1 et I.2).

Ce type d'association est principalement représenté chez les essences forestières de 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*). La majorité des champignons formant les ectomycorhizes sont des Ascomycètes et des Basidiomycètes (Davet, 1996).

Ces champignons supérieurs se trouvent dans le sous-bois car, sauf exception, ils ne forment des mycorhizes qu'avec les plantes ligneuses, arbres ou arbustes. Beaucoup de ces champignons produisent des carpophores sur les tapis forestiers.

La symbiose mycorhizienne concerne que 5% des espèces végétales mais elle a été très étudiée, car ces espèces constituent la majorité des ligneux à intérêt économique.

I.2.2. Les endomycorhizes :

(Du grec endon : à l'intérieur) sont caractérisées par l'absence de manchon mycélien et par la pénétration des hyphes fongiques dans les cellules corticales ; ces champignons ne sont pas spécifiques et sont normalement associés aux plantes comme les plantes forestières agricoles et horticoles.

Ces symbiotes à colonisation intracellulaire corticale, forment des arbuscules, des vésicules ou des hyphes, ne se cultivent pas et ne sont pas visibles qu'après coloration.

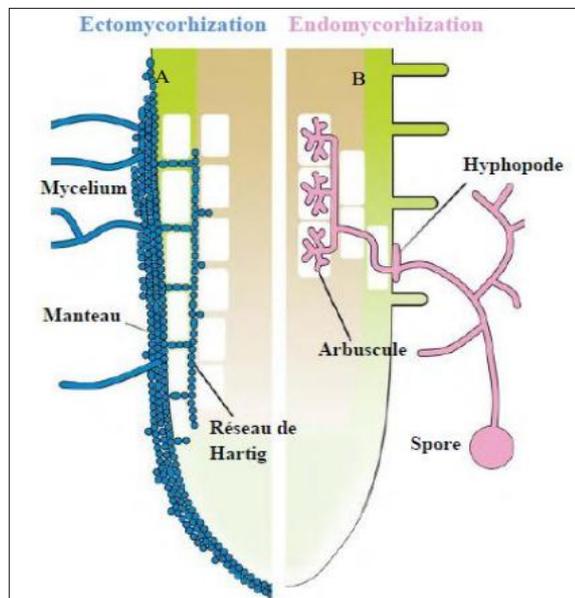


Figure I.2 : Illustration de structures de colonisation de la racine d'une plante ectomycorhizienne (A) et ectomycorhizienne à arbuscule (B) selon **Bonfante et Genre (2010)**.

I.2.3 Les mycorhizes ectotrophes :

C'est un type alimentaire de relation symbiotique dans laquelle les champignons forment une gaine pseudo-parenchymateuse autour de la racine et envoient des branches vers l'intérieur et l'extérieur du sol.

- **Selon la plante hôte :**

I.2.4. Les mycorhizes orchioïde :

Ce type de symbiose mycorhizienne est nommée orchioïde du fait qu'il est parfaitement circonscrit aux plantes monocotylédones de la famille des orchidacées, communément appelées orchidées. C'est le type de relation symbiotique dans laquelle les hyphes mycéliens pénètrent dans les cellules racinaires et forment des petits amas appelés « pelontons ».

I.2.5 Les mycorhizes arbusculaires :

Il s'agit du type de mycorhize dans lequel le champignon symbiote pénètre dans la cellule corticale de la racine de la plante vasculaire et produit des arbuscules vésiculeux et des hyphes dans le cortex racinaire. La symbiose mycorhizienne à arbuscules (AM) se produit entre les champignons du glomycota (**Schussler *et al.*, 2001**) et la majorité des plantes terrestres.

I.2.6. Les mycorhizes éricoïdes :

Les membres de la famille végétale des éricacées et plusieurs types de champignons mycorhiziens forment une relation mutualiste appelée mycorhize éricoïde ces mycorhizes sont caractérisées par des enroulements fongiques dans les cellules épidermiques des racines à poils fins des éricacées. La membrane cellulaire de la plante reste intacte et les filaments au-dessus de l'enroulement d'hyphes servent à augmenter la surface disponible pour l'échange de nutriments.

I.2.7. Les mycorhizes arbustoïdes :

Les hyphes des mycorhizes arbustoïdes pénètrent dans les cellules corticales externes et les remplissent de spires la principale caractéristique de cette relation symbiotique est la gaine du manteau, le réseau de Hartig et les spires intracellulaires. Les plantes des genres *Arctostaphylos* et *Arbutus* s'associent à des champignons mycorhiziens arbustoïdes. Les espèces de champignons qui forment une association ectomycorhizienne sont également des basidiomycètes.

I.3. La symbiose endomycorhizienne à arbuscules :

La symbiose endomycorhizienne à arbuscule (MA) est une association entre des glomérromycètes et des plantes terrestres (**Smith et Read, 2008 ; Lenoir *et al.*, 2016**). Les champignons mycorhiziens à arbuscule (CMA) sont des biotrophes obligatoires, formant des symbioses avec environ 90 des plantes vasculaires terrestres (**Young, 2015 ; Hanlon *et al.*, 2016**), nécessitant donc la présence d'un hôte pour compléter leur cycle vivant (**Ruissen, 2013 ; Andrea *et al.*, 2014**). Dans les sols pauvres en éléments nutritifs et dans des conditions de sécheresse de nombreuses plantes doivent obligatoirement être associées aux champignons mycorhiziens à arbuscules pour survivre (**Gemma *et al.*, 2002**).

I.3.1. Description et caractéristiques des Champignons Mycorhiziens à Arbuscules (CMA) :

Les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) sont des composantes importantes des écosystèmes terrestres (**Liu et Chen, 2007**). Les CMA sont représentés par diverses espèces, selon des estimations, il pourrait y avoir 1 250 espèces de CMA dans le monde (**Borstler *et al.*, 2006**).

Le champignon mycorhizien à arbuscule forme plusieurs structures à l'intérieur des racines (**Fig I.2**), principalement des arbuscules, des vésicules des spores et des hyphes non spécialisés. On utilise le terme propagule pour les désigner puisque toutes ces structures servent à propager l'espèce (**Fortin *et al.*, 2008**).

Chez ce type de mycorhize, le champignon ne cherche pas à envelopper les cellules de l'hôte, comme chez les ectomycorhizes, mais y pénètre de façon subtile sans trop en perturber les structures. A partir de ce point d'ancrage dans la racine, le champignon mycorhizien à arbuscule développe dans le sol une phase dite extra radriculaire, qui s'étend en un réseau mycélien et envahit le sol adjacent, dans toutes les directions (**Fortin *et al.*, 2008**).

I.3.2. Structure des champignons mycorhiziens à arbuscule :

a. Spore :

La spore sert d'organe de stockage et de propagation des CMA. Elle germe et donne naissance à des filaments mycéliens. Lorsque les hyphes entrent en contact avec une jeune racine, ils forment un appressorium, entre et se propage rapidement, il se différencie à l'intérieur des racines en arbuscules et dans certains cas en vésicules.

b. Arbuscule :

L'arbuscule est l'unité au niveau de laquelle se produisent les échanges entre l'hôte et le champignon. C'est une ramification latérale des hyphes fongiques dans les cellules du cortex racinaire où le champignon pénètre et croît à l'intérieur. La membrane de la cellule hôte s'invagine et enveloppe le champignon, ce nouveau compartiment fournit un contact direct entre le champignon et la plante (**Fig I.3**).

c. Vésicule :

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

d. Hyphe extraradiculaire :

L'hyphe extraradiculaire produit par le champignon mycorhizien à arbuscule est un des organes de propagation et peut coloniser une plante autre que la plante dont ils sont issus (**Fig I.3**).

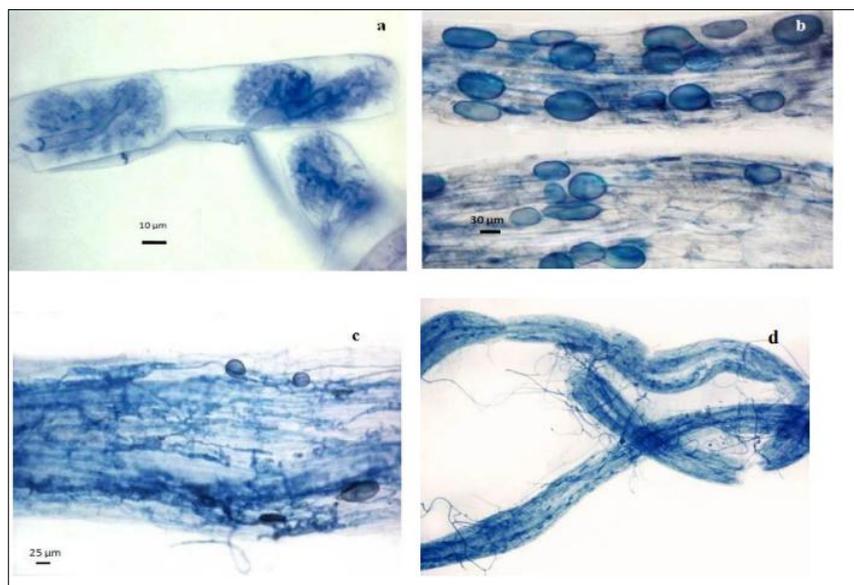


Figure I.3 : Structures caractéristiques des champignons mycorhiziens arbusculaires. (a) arbuscules intercellulaires (b) vésicule intraradiculaires (c) hyphes intraradiculaires (d) hyphes extraradiculaires.

I.3.3. Classification classique des CMA :

Les CMA appartiennent au phylum des Glomeromycota, ce dernier est constitué d'une seule classe, celle des Gloméromycètes qui est subdivisée en quatre ordres, dix familles et treize genres (**Fig I.4**). Cette classification, basée sur celles de **Schubler et al.**,

(2001), a été modifiée par des nombreux auteurs (Walker et Schubler, 2004 ; Palenzuela *et al.*, 2008).

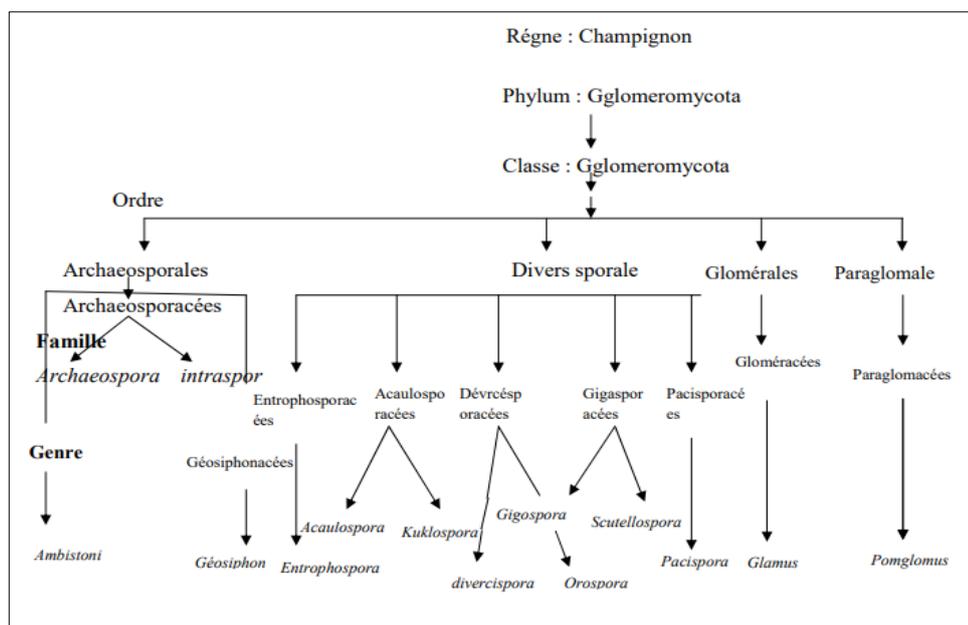


Figure I.4 : Classification de CMA selon Schubler *et al.*, (2001) modifiée par Walker et Schubler, 2004 ; Palenzuela *et al.*, (2008)

I.3.4. Développement de la symbiose mycorhizienne à arbuscules :

Le cycle de développement des CMA peut être divisé en 03 grandes phases :

a. Phase asymbiotique :

La phase dite asymbiotique est une phase sans contact ni échange de signaux entre les deux partenaire (Requena *et al.*, 2007 ; Smith et Read, 2008).

Lorsque les conditions de température et d'hygrométrie sont favorables, les spores qui constituent les formes de conservation du champignon, peuvent germer spontanément en absence d'une plante hôte et produire un tube germinatif et quelques ramifications primaires. Les spores des CMA économisent leurs ressources énergétiques pour conserver leur potentiel de croissance et leur capacité à survivre (Becard *et al.*, 2004).

Au cours de cette phase asymbiotique, le champignon vit principalement sur ses réserves de triacylglycéride.

b. Phase pré-symbiotique :

Cette phase est caractérisée par une prolifération cellulaire accrue et une utilisation des réserves principalement lipidiques du champignon (Bécard *et al.*, 2004). Les champignons

secrètent eux aussi des signaux diffusibles. Parmi ces molécules sécrétées par le champignon, les Myc-LCO qui ont été mis en évidence comme jouant un rôle dans la préparation de la plante à la colonisation par le champignon (**Maillet *et al.*, 2011**).

c. Phase symbiotique :

Au cours de cette phase, le champignon forme un hyphopode (appréssorium) au contact de l'épiderme. Dans la cellule épidermique située sous l'hyphopode, un appareil de pré-pénétration (Pre Penetration Apparatus ou PPA) constitué essentiellement par des microtubules, des filaments d'actines et du réticulum endoplasmique, est mis en place dans la cellule rhizodermique ciblée par le champignon. La PPA est un pont apoplasmique endocellulaire à travers lequel le champignon va se développer pour traverser les différentes couches cellulaires jusqu'aux cellules corticales (**Genre *et al.*, 2005 ; 2008**).

Le champignon pénètre dans les cellules corticales sans en traverser la membrane plasmique et forme des structures hyper-ramifiées appelées arbuscules (**Oldroyd, 2013**). Le développement de l'arbuscule se déroule dans un compartiment résultant de l'invagination de la membrane hôte appelée membrane périarbusculaire ou symbiosome (**Parniske, 2000**).

La durée de vie d'un arbuscule est contrôlée par la cellule végétale selon des mécanismes mal connus. Ils atteignent une taille maximale dans la cellule puis rentrent en sénescence et le champignon peut être complètement éliminé de la cellule végétale qui revient à son état initial (**Javot *et al.*, 2007**). Une cellule peut ainsi accueillir plusieurs arbuscules successifs.

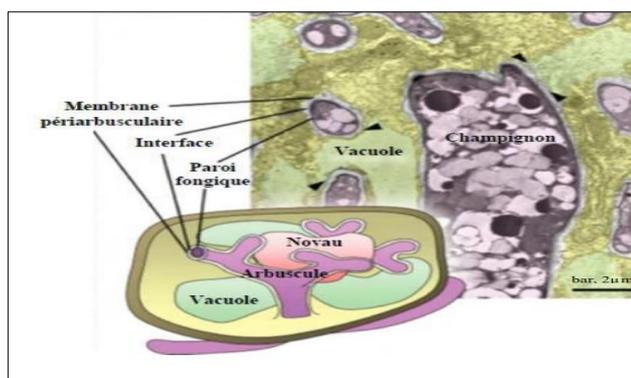


Figure I.5 : Schéma et prise de vue au microscope électronique à transmission d'une cellule corticale de plante abritant un arbuscule de champignon selon **Bonfante et Genre (2010)**.

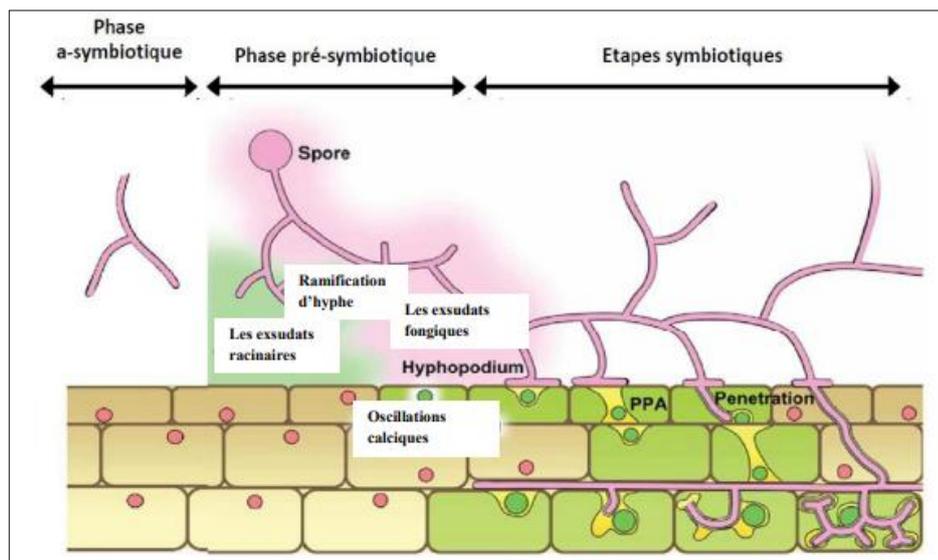


Figure I.6 : Schéma des différentes phases de colonisation des MA, selon **Bonfante et Genre (2010)**.

I.4. Mécanisme d'action :

Plusieurs des mécanismes d'action répertoriés jusqu'à maintenant agissent de manière indirecte sur les affections parasitaires. Ils concernent l'amélioration de la nutrition de la plante, la transformation de la morphologie végétale, la modification de la microflore et de la composition des sols. D'autres actions plus directes impliquent la stimulation des mécanismes de défense par la plante et la compétition entre mycorhizes et parasites pour l'espace, les sites d'infection et les éléments nutritifs (**Singh et al., 2000**).

I.4.1. Croissance et nutrition :

Connaissant le fonctionnement général des mycorhizes, l'augmentation de la croissance et de la santé générale des plantes colonisées se traduit par une vigueur accrue qui leur permet de mieux tolérer les stress environnementaux dont ceux causés par diverses maladies. Cette réduction de la susceptibilité aux infections n'est généralement efficace que lorsqu'une symbiose fonctionnelle s'établit préalablement à l'attaque du parasite car, dans la majorité des cas, ces derniers, une fois en contact avec leur hôte, envahissent nettement plus rapidement les tissus végétaux que les champignons mycorhiziens (**Azcon-Aguilar et Barea, 1996**) (**Fig I.7**)

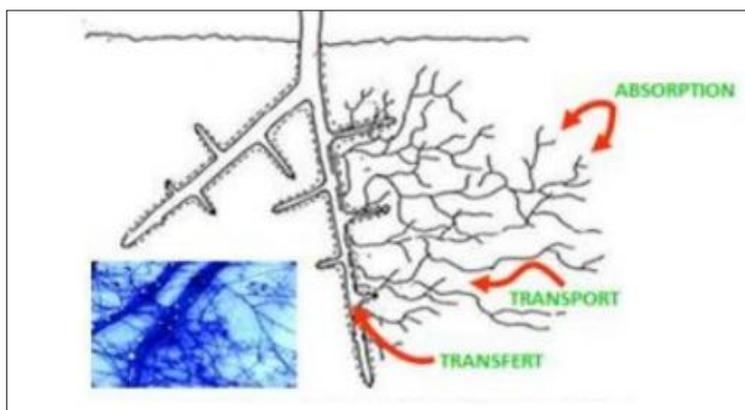


Figure I.7 : Actions des hyphes extra-radicalaires des champignons mycorhizogène sur l'apport en eau et nutriments à la plante (Azcon-Aguilar et Barea, 1996).

I.4.2. Les interactions mycorhizes-microflore rhizosphérique :

Selon De Oliveira et Garbaje (1989), toutes les interactions microbiennes dans le sol sont importantes car elles créent autour des mycorhizes une ambiance spéciale qui est fondamentale pour la stabilité de la symbiose et la survie du champignon mycorhizien.

a. Interactions pendant la phase pré-symbiotique :

Pendant la phase pré-symbiotique, les champignons mycorhiziens n'interagissent pas activement avec les micro-organismes du sol puisque leur croissance saprophytique est soutenue principalement par les réserves lipidiques des spores. Cependant, un effet positif de certains micro-organismes sur la germination des champignons mycorhiziens a été rapporté (Reddy et Satyanarayana, 2006).

La germination des spores est stimulée par la présence, dans la rhizosphère, de *Pseudomonas*, *Corynebacterium* et *Trichoderma*. En plus de l'effet stimulateur sur la germination des spores, la plupart des micro-organismes testés stimulent la croissance mycélienne et la formation des mycorhizes (Duponnois *et al.*, 2008 ; Tarkka et Frey-Klett, 2008).

b. Interactions pendant la phase post-symbiotique :

Etant donné le biotrophisme obligatoire des champignons mycorhiziens, la plupart des interactions entre ce groupe de champignons et les micro-organismes telluriques se déroulent dans la phase symbiotique. De nombreux exemples et résultats expérimentaux confirment l'importance de ces interactions qui peuvent être synergiques ou antagonistes (Giri *et al.*, 2005).

En général, les interactions entre les champignons mycorhiziens et les microorganismes de la rhizosphère sont considérées comme :

- Des interactions avec les PGPM: Plant Growth Promoting Microorganisms;
- Des interactions avec les rhizobactéries fixatrices d'azote symbiotique ;
- Des interactions avec les PSB: Phosphate Solubilizing Bacteria et les PSF: Phosphate Solubilizing Fungi ;
- Des interactions avec les micro-organismes phytopathogènes.

I.4.3. Effet des mycorhizes sur les agents phytopathogènes :

a. Sur les virus :

Par le biais de techniques d'immunofluorescence, il a été démontré que les virus se concentrent de préférence dans les cellules colonisées par les arbuscules, sites d'activité métabolique élevée. Le virus y bénéficie des échanges intensifs de minéraux, des hydrates de carbone et d'acides nucléiques entre la plante et ses symbiotes mycorhiziens (**Dalpe, 2005**).

Cependant, **Zachée et al. (2008)** ont démontré que la symbiose mycorhizienne d'*Arachis hypogaea* L. (légumineuse qui se développe dans les régions tropicales et subtropicales) a augmenté la résistance de cette plante au RVD (Rosette Virus Disease) et a amélioré sa physiologie.

b. Sur les bactéries :

Des études menées sur les interactions mycorhizes-bactéries ont révélé que la mycorhization réduit significativement les dommages causés par *Pseudomonas solanacearum*, *P. springue*, *Agrobacterium rhizogenes*, *Erwinia carotovora* et Phytoplasma (**Lingua et al. 2002 ; Ming-Qin et al.2004 ; Akhtar et Siddiqui, 2008**).

c. Sur les champignons :

On estime environ 10000 espèces de champignons phytopathogènes connues dans le monde (dispersées dans le sol, l'air (spores) et sur la surface des plantes). Les Co-inoculations des mycorhizes avec les champignons phytopathogènes négatifs sont observées dans certains cas. Les phytopathologies d'origine fongique sont difficiles à contrôler à cause des parasites qui sont capables de survivre pendant une longue période en absence de leurs plantes-hôtes (**Akhtar et Siddiqui. 2008**).

I.5. Description de la plante :

Le haricot commun *Phaseolus vulgaris* L. est une plante annuelle appartenant à l'ordre des Fabales et à la famille des Fabacées dont les feuilles sont trifoliées. Le système racinaire est constitué d'une racine principale et de nombreuses racines latérales qui se tiennent horizontales sur 10 cm de long. L'état structural du sol influence la profondeur d'enracinement de la plante (de 30 cm en conditions défavorables à 1 m dans d'excellentes conditions) et aussi son alimentation hydrique, déterminante pour la croissance de la plante. Une bonne implantation racinaire permet d'éviter des problèmes de flétrissement de la plante en cas de fortes chaleurs. Sur celles-ci se développent des nodosités formées par des bactéries du genre *Rhizobium*. Ces bactéries fixent l'azote de l'air en puisant l'énergie nécessaire dans les sucres que la plante leurs fournit. Cet azote est restitué à la plante sous forme de composés azotés assimilables (**Renard et al., 2007**)

Les tiges grimpantes sont peu ramifiées et s'enroulent autour de leur support dans le sens inverse des aiguilles d'une montre (tiges volubiles). Elles peuvent atteindre deux à trois mètres de haut. Les types nains sont plus ramifiés, prenant un port buissonnant ou dressé, de 40 à 60 cm de haut. Ils se prêtent mieux à la mécanisation des cultures.

Les feuilles de haricot sont attachées à la tige en différents points qu'on appelle des nœuds. Elles sont disposées une par une à chaque nœud ; on dit qu'elles sont alternes. La feuille du haricot est composée chaque partie est une foliole. Chaque feuille s'attache au nœud de la tige par une queue ou pétiole dont la base élargie est la gaine Des deux côtés de la gaine, on voit deux petites lames vertes ou stipules Les feuilles ainsi que les tiges sont vertes parce qu'elles renferment une substance verte, la chlorophylle

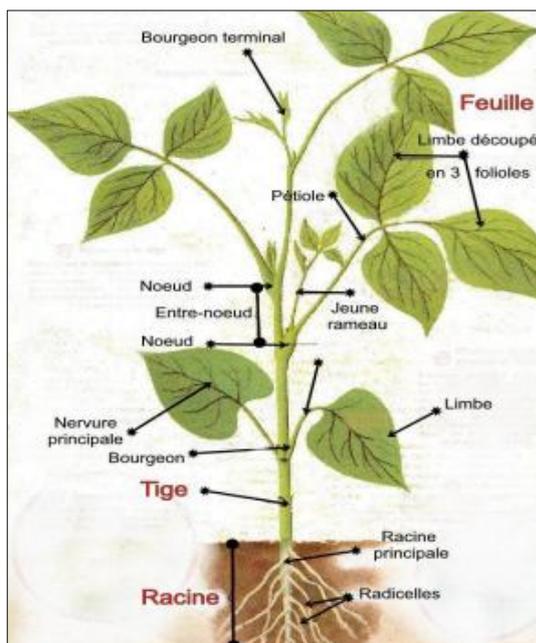


Figure I.8 : Description de la plante du Haricot

Les fleurs sont groupées en grappes déterminées (racèmes) de 4 à 10 fleurs, naissant à l'aisselle des feuilles. Ce sont des fleurs hermaphrodites, zygomorphes.

Les fruits sont des gousses déhiscentes, appelées également « cosses », de forme et de longueur variable. En particulier leur section peut être cylindrique, ovale ou aplatie (haricots plats). Chaque gousse contient 4 à 8 graines de taille, forme et couleur variable. La forme la plus commune est dite « réniforme », typique des haricots, mais on peut rencontrer des grains plus sphériques.

Les graines sont plus ou moins grosses, les plus grosses ayant été sélectionnées dans les variétés à écosser. La couleur des graines va du blanc au noir en passant par le rouge et les couleurs panachées. Les graines peuvent garder leur faculté germinative de 3 à 5 ans. La germination des haricots est dite « épigée ». Tandis que la racine s'enfonce dans le sol, la croissance de l'hypocotyle entraîne les cotylédons qui se déploient hors du sol. De ce fait la plante apprécie les sols légers qui favorisent une bonne levée.

I.5.1. Classification botanique des Haricots :

Le Haricot commun est une plante de la famille des Fabaceae, il a été reconnu pour la première fois sous le nom *Smilax hortensis*, qu'est due aux botanistes Tragus et Fuchs en 1542.

En 1753 Linné a proposé le nom binominale *Phaseolus vulgaris* pour désigner cette espèce et il a classé d'autres Haricots moins bien connus à l'époque dans le genre *Phaseolus*.

❖ Classification du Haricot :

- Règne Plantae ;
- Sous-règne Tracheobionta. ;
- Division Magnoliophyta ;
- Classe Magnoliopsida ;
- Sous-classe Rosidae ;
- Ordre Fabales ;
- Famille Fabaceae ;
- Genre Phaseolus.

I.5.2. Cycle du développement des Haricots :

Commence avec la formation d'un zygote principal et d'un zygote accessoire suite à la double fécondation du sac embryonnaire, ce dernier est renfermé dans l'ovule. Lui-même protégé par le pistil de la fleur le zygote accessoire formera un tissu nourricier l'albumen, tandis que le zygote principal est à l'origine d'une nouvelle plante. Le zygote principal subit des nombreuses mitoses forme un embryon, qui comporte deux cotylédons lobes foliacés gorgés des réserves. L'embryon mature est protégé dans la graine mûre en dormance à l'intérieur d'un fruit « gousse ».

Quand les conditions sont favorables et la dormance levée, la graine retourne à la vie active et germe la radicule perce le tégument et s'enfonce dans la terre, la tigelle grandit vers le ciel soulevant les cotylédons au-dessus du sol vers la lumière, la plantule devient autotrophe et grandit jusqu'à atteindre le stade adulte auquel elle fleurit, la plante adulte présente un appareil végétatif partagé entre un appareil racinaire souterrain et un appareil caulinaire développé en milieu aérien (Meyer *et al.*, 2008).

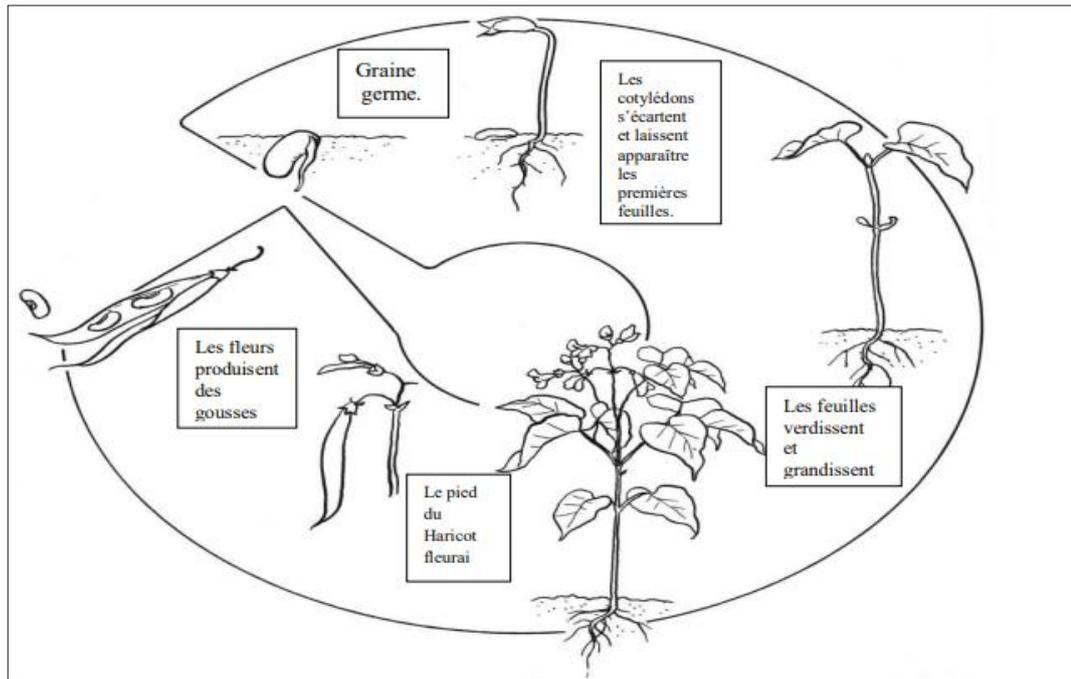


Figure I.9 : Le cycle du développement du Haricot.

I.5.3. Production mondiale des Haricots :

Entre 1961 et 2017, la production totale de haricots a doublé passant de 14,4 à 28,6 millions de tonnes, progressant assez régulièrement au taux de 1,5 % par an.

Pour les haricots secs, la production mondiale est estimée à 19,6 millions de tonnes en 2017 (source : FAO). La surface totale consacrée à cette production représentait un peu plus de 26 millions d'hectares pour un rendement moyen de 7,4 quintaux par hectare. Les quatre premiers pays, États-Unis, France, Mexique et la Turquie représentent 44 % du total de la production mondiale.

I.5.4. Les variétés les plus cultivés en Algérie :

- Haricot nain mange tout : Contender, Djedida, Molière ;
- Haricot nain à écosser Coco de Prague, Pactole... ;
- Haricot à rames mange tout : Sidi Fredj, Blanc de juillet ;
- Haricot à rames à écosser : Coco blanc, Coco de Prague.



Chapitre II :

Matériels et

Méthodes

II.1. Matériel :

II.1.1. Matériel non biologique :

Le matériel non biologique représenté par, la verrerie, l'appareillage et les milieux de culture est consigné en annexe 1 et 2.

II.1.2. Matériel biologique :

a. Le sol :

Le sol utilisé pour l'isolement de quelques bactéries telluriques a été prélevé en mai 2022 à partir de 03 zones au niveau de la station expérimentale de la faculté des sciences de la nature et de la vie, de l'université Saad Dahlab Blida 1 (**Fig II.1**). Un échantillonnage de sol d'environ 700 g à 1 Kg a été effectué à partir de la couche sous-jacente (rhizoplan) à une profondeur de 25 à 30 cm, après avoir écarté la couche superficielle du sol, les échantillons ont été prélevés dans trois endroits, en appliquant la méthode de quadripage décrite par (**Pauwels *et al.*, 1992**) avec un intervalle de trois mètres entre chaque unité d'échantillonnage. Ces derniers sont ensuite mélangés afin d'obtenir un échantillon de sol représentatif.

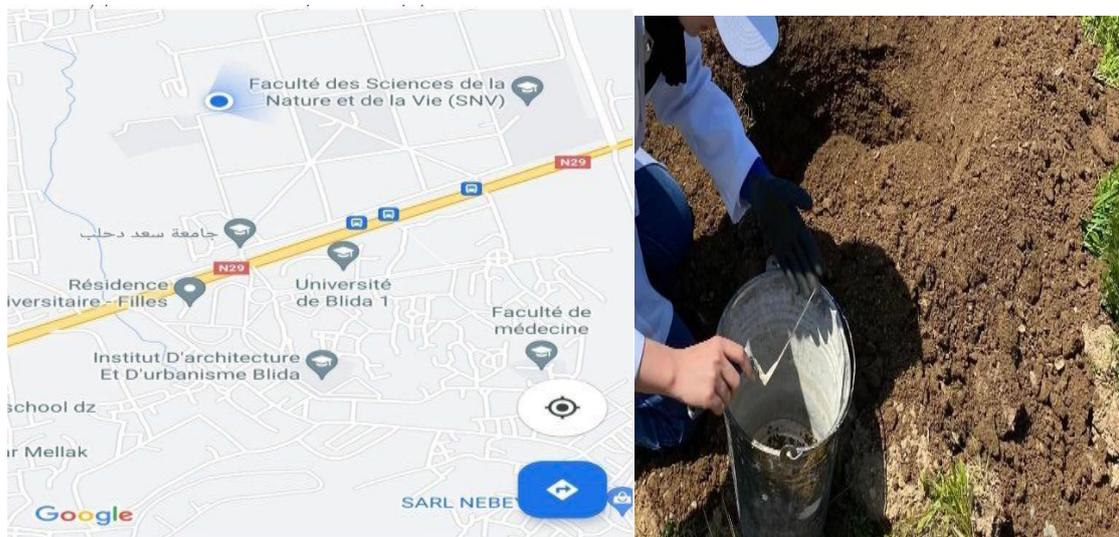


Figure II.1 : Zone d'échantillonnage (A) (Google Maps), (B) : photo originale. Mai 2022.

b. Matériel végétal :

Nous avons utilisé la variété de Haricot : Jalila, elle nous a été procurée par des distributeurs de semences, leur caractères sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau II.1: Quelques caractères de la variété étudiée.

| | |
|-------------------------|--------------------|
| Variété | Jalila |
| No, de lot | 1187392 |
| Germination/ pureté min | 85 / 99 |
| Date de récolte | 2018 |
| Emballage | 5 Kg |
| Traitement | BioStim Protection |
| Origine | Etats Unis |

c. Matériel fongique :

L'inoculum à base de champignon mycorhizien arbusculaires utilisé dans ce travail provient du sol algérien sous forme d'engrais biologique (souche de collection du laboratoire de Mme BELMESKINE).

II.2. Méthodes :

II.2.1. Mise en place de l'expérience :

Notre travail qui porte sur l'isolement des bactéries telluriques, provenant de deux isolats (sol mycorhizé, et non mycorhizé) afin de connaître l'effet des mycorhizes sur certains microorganismes isolés su sol a été réalisée au niveau du laboratoire de projet de fin d'études (PFE) du département de biotechnologie, de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Saad Dahlab Blida 1 sur une période d'un mois allant de juin jusqu'à juillet.

II.2.2. Préparation des sols :

Chaque échantillon de sol a été séché à l'ombre à température ambiante, homogénéisé, tamisé avec un tamis de 2 mm puis répartis dans des sachets en papier. Une partie d'échantillon de sol a été stérilisé dans un four é 180° C deux fois pendant 2 heure de temps, à 24 h d'intervalle et l'autre partie a été gardé à l'état brut.

II.2.3. Désinfection et pré-germination des graines de Haricot (Jalila) :

Les graines de haricot sans défauts physique visuels ont été sélectionnées. Celles-ci ont été désinfectées superficiellement par trempage dans l'eau d'javel (12°) à 1 % pendant cinq (05) minutes, puis rincées abondement a l'eau distillée stérile afin d'éliminer les traces de l'eau d'javel. Après séchage, les graines étaient mises aseptiquement dans des

boites de Pétri stériles contenant des papiers filtre imbibés d'eau distillée stérile, à raison de 07 graines réparties uniformément sur toute la surface de la boîte. La germination des graines étaient assurée par incubation de ces boîtes dans une étuve réglée à 20°C pendant 5 à 7 jours (**Fig II.2**). Une fois pré-germées, les graines étaient repiquées dans des pots de deux différents sols (Stérilisé et non stérilisé)



Figure II.2 : Les différentes étapes de la préparation des graines (Photos originaux).

II.3. Le dispositif expérimental de l'essai :

Le dispositif expérimental de l'essai est composé de 04 traitement et en 04 répétition donc 32 pots d'essai :

- ✓ NSNM : sol non stérilisé non mycorhizé
- ✓ SNM : sol stérilisé et non mycorhizé
- ✓ NSM : sol non stérilisé avec mycorhize
- ✓ SM : sol stérilisé avec mycorhize

II.4. Plantation des plantules de haricot (Jalila) :

Les plantules ont été cette fois ci, repiqués dans des pots contenant 1 Kg de sol, stérilisé pour ce qui est de SNM et SM, et non stérilisé pour ce qui est de NSNM et NSM.

(**Fig II. 3**)



Figure II.3 : Repiquage des plantules de haricot (Jadida) dans des pots (photo originaux).

❖ Inoculation des CMA dans le sol :

L'inoculation des CMA a été faite juste avant le repiquage et chaque plantule de NSM et SM a reçu 20 g d'inoculum de CMA formulé comme engrais biologique à distance de 5cm sous-sol (Fig II.4)



Figure II.4 : Témoignage de CMA (photo originale)

II.5. La collecte des données :

A partir d'une semaine après le repiquage des plantules du Haricot dans des pots de 1 Kg du sol (01/06/2022). Elles ont été mesurées en cm.

II.5.1. Mesure des paramètres de croissance des plants de haricot :

Les parties aérienne et racinaire des plantes de chaque pot ont été prélevées afin d'évaluer l'effet de chaque isolat fongique. Différents paramètres de croissance ont été

mesurés : la taille, le nombre des feuilles et folioles. Ces mesures ont été effectuées sur une plante de haricot par pot et quatre pots par condition (témoin sain négatif (sol non stérilisé), témoin sain négatif (sol stérilisé), témoin sain positif (sol non stérilisé), témoin sain positif (sol stérilisé)).

1. La taille a été mesurée à partir du collet jusqu'à l'apex de la dernière feuille du brin principal. Ainsi que, on mesurant la longueur des racines et des feuilles.
2. Le nombre des feuilles et folioles.
3. Les poids frais des parties aérienne et racinaire de chaque plante ont été pesés. Le pourcentage de matière frais pour la parte aérienne et le système racinaire a été illustré dans des diagrammes.
4. Absence des fruits (pour manque de temps).

II.5.2. La vérification de la présence des CMA :

A la fin de l'expérimentation qui a durée 50j, un prélèvement aléatoire d'environ 1 g des racines fines de chacun des traitements modalité (NSM, SM) ayant reçu les souches de CMA a été fait. Ces racines ont été colorées au laboratoire de PFE département de biotechnologie à l'université de Saad Dahlab Blida.

❖ Mise en évidence de la colonisation mycorhizienne :

Pour la détection de la colonisation des racines par les CMA, un traitement et une coloration préalable des racines sont nécessaire. Pour cela, la méthode de **Phillips et Haymann (1970)** est utilisée avec une légère modification. Les racines sont d'abord lavées sous l'eau du robinet pour éliminer les débris et les particules du sol, ces racines sont coupées en morceaux, de 1cm de long, placées dans un bain de potasse (KOH) (10%) et chauffée à une température de 90 °C durant 30 mn pour vider les cellules, rincées dans l'eau distillée stérile trois (03) fois successives afin d'éliminer toute trace de KOH, et placées dans une solution de bleu trypan à 0,05% pendant 30 mn à une température de 90 °C.



Figure II.5 : Les étapes de coloration des racines (photos originaux).

Les fragments des racines d'environ 1 cm de longueur prélevés de chaque échantillon coloré ont été disposés parallèlement entre lame et lamelle. La mycorhization s'observe à l'examen au microscope photonique ($\times 40$) par une coloration bleu foncé des structures fongiques dans les racines.

II.6. Isolement des bactéries à partir du sol :

❖ Sol non mycorhizes :

1. Préparation des dilutions :

A l'aide d'une micropipette de 1000 μl une série de dilution décimale (10^{-1} à 10^{-10}) a été préparée pour l'échantillon du sol (avant l'inoculation des CMA). 10g du sol a été introduit dans 90 ml d'eau distillée stérile. La dilution de 10^{-1} est ainsi obtenue et soumise à une agitation continue pendant 10 minutes. Par la suite une série de dilution décimale a été réaliser jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-10} (**Fig II.6**).



Figure II.6 : Préparation des dilutions (Photos originaux).

2. Mise en culture :

- 100 μl de chaque dilution ont été prélevé puis étalés sur le milieu LB (**Luria-Bertani**) (**annexe1**). Chaque dilution est ensemencée à l'aide des billes stérile. Les boîtes de

Pétri portante les indications nécessaires (dilution, la date, le code) ont été incubées à 30°C pendant 24 à 48h.

- Après incubation, les colonies d'aspects différents, ont fait l'objet d'une purification sur le milieu LB et King B (King *et al.*, 1954) (Annexe1), une fois purifiées, afin d'effectuer le test de fluorescence sous UV (365nm) puis désignée par un numéro de code (Fig II.7)

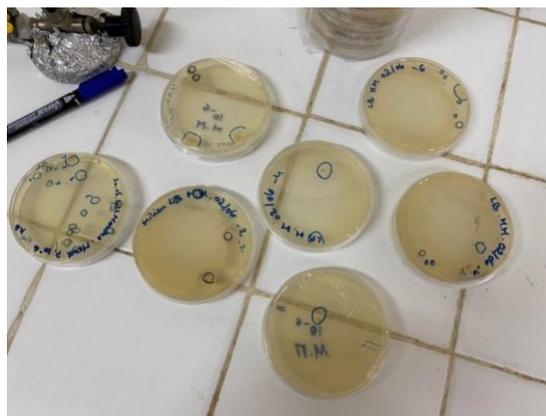


Figure II.7 : Codification des boites et selection des colnies a purifiées (Photo originale).

II.7. Purification des souches :

La pureté des souches bactériennes a été vérifiée sur le milieu LB (Annexe1) en réalisant plusieurs repiquages successifs jusqu'à l'obtention des souches pures.

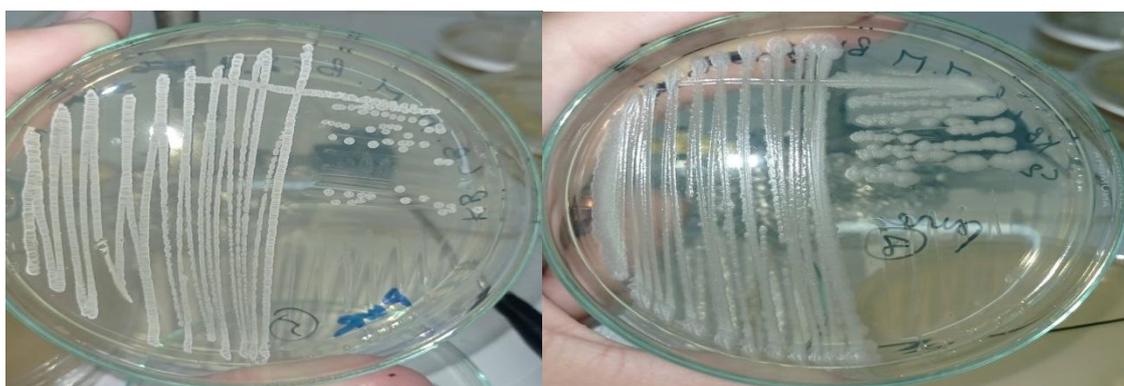


Figure II.8 : Souches bactériennes pures (photos originaux).

II.8. Conservation des souches :

Les souches bactériennes pures ont été conservées dans un milieu LB en tubes incliné à -4°C.



Figure II.9 : Conservation des souches bactériennes purs (Photos originaux).

II.9. Identification des souches isolées :

❖ Examen macro et microscopique :

II.9. 1. Examen macroscopique :

L'examen macroscopique consiste à étudier à l'œil nu l'aspect, la taille, l'odeur la forme et la couleur des colonies.

II.9. 2.Examen microscopique :

L'observation microscopique permet d'étudier l'aspect morphologique de la cellule microbienne, donc examiner les bactéries à l'état frais (examen entre lame et lamelle des bactéries vivante) et après coloration de Gram (**annexe3**).

❖ Caractérisation physiologiques et biochimique :

Pour étudier nos souches nous avons utilisé la clé d'identification des bactéries d'après Hart et Shears, 1991 (**Fig II.10**)

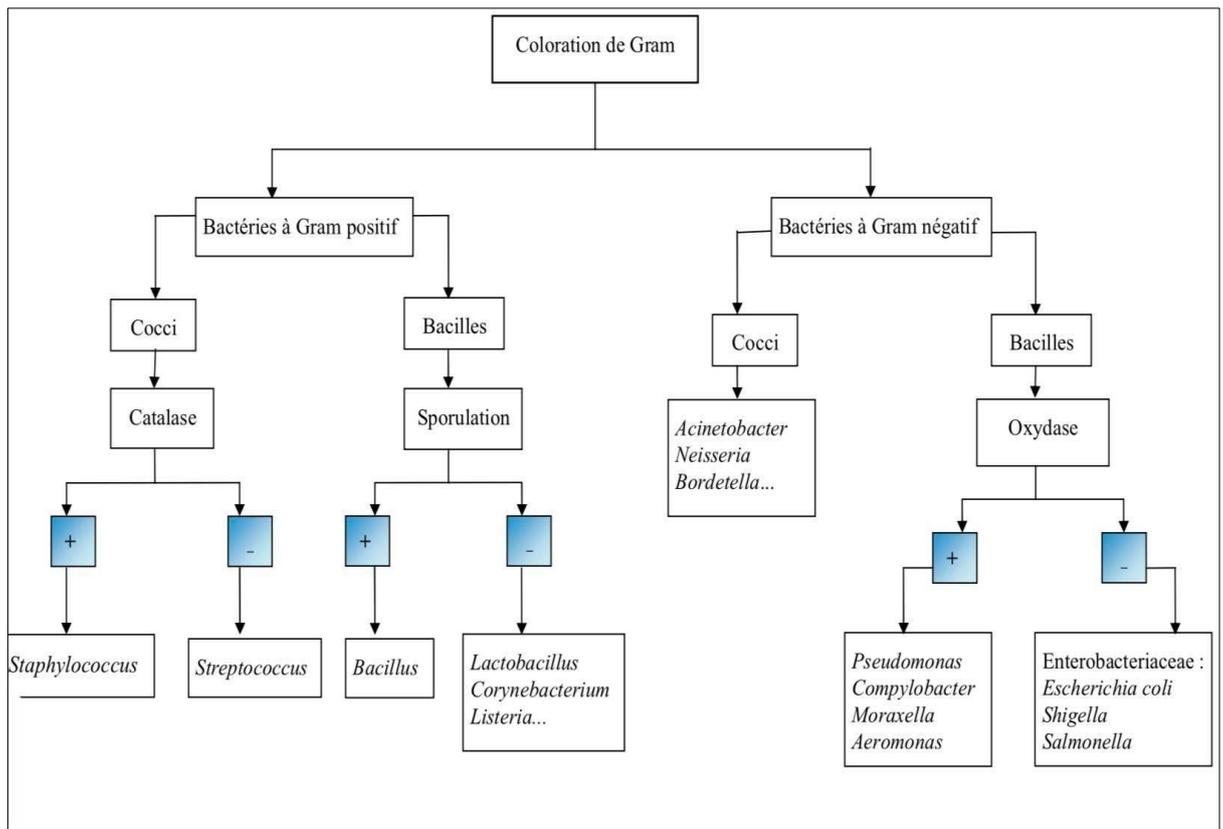


Figure II.10 : Clé d'identification des bactéries (d'après Hart et Shears, 1991).

1. Coloration de Gram :

Nous avons établi la coloration de gram (**Annexe 3**) de quelques souches bactériennes.

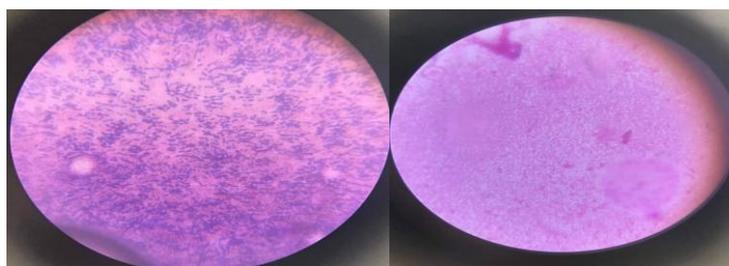


Figure II.11 : La coloration de Gram des souches bactériennes (photos originaux).

2. Test à la potasse 'KOH' :

Le test de l'hydroxyde de potassium 'KOH' peut être utilisé comme test de confirmation pour la coloration de Gram. La formation d'une chaîne (ADN) dans 3% de KOH indique que l'isolat est un organisme Gram négatif (Les parois cellulaires à Gram

négatif sont décomposées par 3% de KOH et libèrent à leur tour un matériau chromosomique viscoïde qui fait que la suspension devient épaisse et filandreuse.)

- ✓ Une goutte de 3% KOH sur une lame microscopique.
- ✓ Transférer une quantité généreuse de bactéries (cultivées pendant 24- 48h) à la goutte de KOH Remuer soigneusement.
- ✓ La solution de bactéries à Gram négatif sera visqueuse et formera une chaîne mucoïde dans les 30 secondes.

3. Test de fluorescence :

La production du pigment fluorescent a été recherchée sur le milieu King B (**King et al., 1954**) (**Annexe 01**). Après incubation de 24 à 96 heures à 26°C, le développement du pigment fluorescent a été révélé sous UV (350-400nm), ou à l'œil nu dans le cas d'intensité élevée en comparaison avec un témoin non ensemencé.

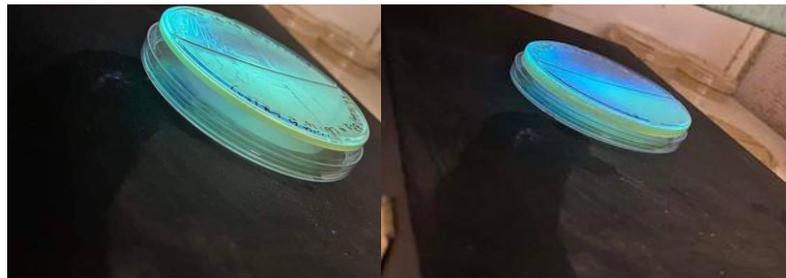


Figure II.12 : Des souches bactériennes fluorescentes (photos originaux).

4. Test d'oxydase :

La recherche de l'oxydase présente un intérêt taxonomique en ce qui concerne les bactéries à la coloration de Gram négative.

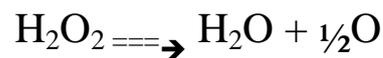
Le test de l'oxydase consiste à mettre en évidence la capacité que possède la bactérie à oxydés un réactif incolore (NN-diméthyle – paraphylène diamine) en un dérivé rose violacé.

Le test est réalisé par mise en contact d'une crème bactérienne jeune de 24h avec un disque d'oxydase, la réponse indique la présence de cytochrome oxydase se manifeste par l'apparition d'une coloration violette après 10 secondes. La réponse est positive tardive lorsqu'elle apparaît en retard (10 à 60 secondes) au-delà de 60 secondes la réponse est négative (**Hilberand et al., 1988**).

5. Recherche de la catalase :

La recherche de la catalase présente un intérêt taxonomique en ce qui concerne les bactéries à la coloration de Gram positif.

Le test consiste à mettre des bactéries en quantité suffisante en contact avec le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 . Les bactéries qui possèdent la catalase, dégradent le peroxyde d'hydrogène en oxygène et dioxygène, visible par la formation des bulles d'air.



❖ Sol mycorhizé :

Après inoculation des CMA les mêmes étapes ont été réalisées que celle du sol non mycorhizé afin d'isoler, purifier et identifier les souches bactériennes.



Chapitre III :

Résultats et

discussion

III.1 Test de vérification de la présence des CMA :

Les racines observées après coloration ont montré la présence des champignons mycorhiziens arbusculaires. Plusieurs formes (mycélium extra-racinaire et intra-racinaire, arbuscules) ont été observées, ce qui prouve la présence des CMA.



Figure III.1 : Vue sous microscope présence de CMA (photo original).

III.2. Impact des mycorhizes sur les paramètres de croissance des haricots :

Les résultats obtenus de la culture des haricots *Phaseolus vulgaris* L. dans des sols traités et non par les mycorhizes, montrent une différence de croissance entre les plantes de haricot mycorhizées et les témoins non mycorhizés (**Fig III.2**). En effet, il a été noté une rapidité de croissance et meilleurs paramètres agronomiques chez les plantes dans des sols ayant subi un traitement par les mycorhizes.

Les différents traitements du sol effectués :

- SNM : Stérile Non Mychorizé ;
- SM : Stérile Mychorizé ;
- NSNM : Non Stérile Non Mychorizé ;
- NSM : Non Stérile Mychorizé.

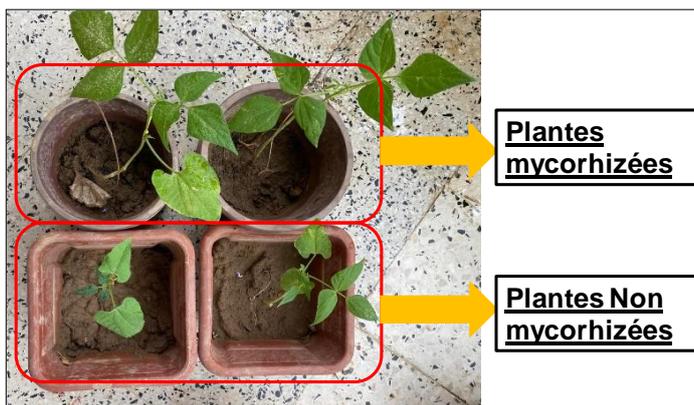


Figure III.2 : Croissance des plantes mycorhizées et non mycorhizées.

III.2.1 Effet de la mycorhization sur le développement de la tige :

a. Hauteur de la tige :

Tel qu'illustré dans (**Fig III.3**), il ressort que la hauteur des tiges des plants dont les sols, stériles et non stériles ayant subi une biofertilisation par les mycorhizes, est plus importante comparée aux sols non traités.

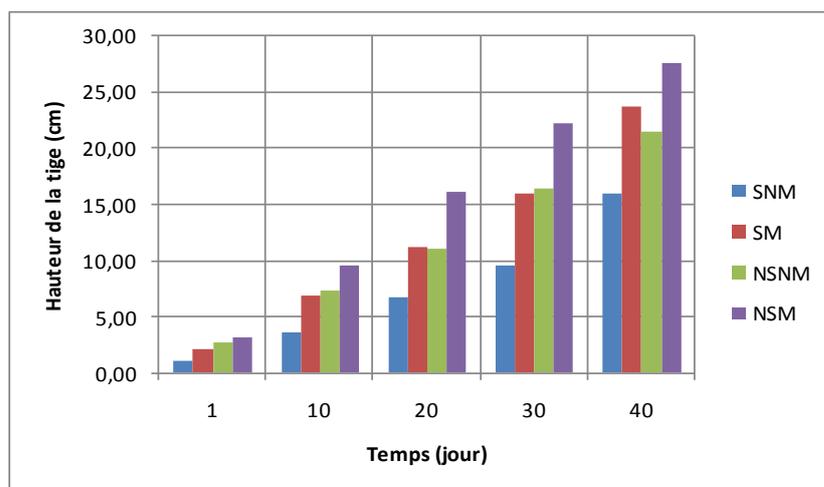


Figure III.3 : Effet de la mycorhization sur la hauteur de la tige.

b. Poids de la partie aérienne :

La **Figure III.4** représente la variation du poids de la partie aérienne (tige + feuilles) de tous les plants, en fonction des différents traitements du sol. On remarque également les meilleurs poids pour les sols (stériles : SM et non stériles : NSM) mycorhizés.

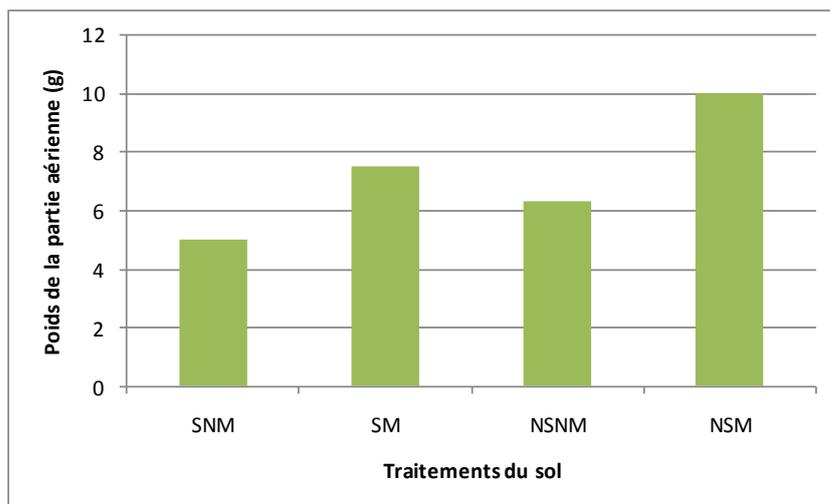


Figure III.4 : Effet de la mycorrhization sur le poids de la partie aérienne de la plante de haricot.

III.2.2. Les feuilles :

a. Nombre des feuilles :

Le nombre de feuilles a été également évalué dans cette étude comparative La **Fig. III.5**. On remarque que le nombre de feuilles le plus important est repéré dans les plans du sol naturel mycorhizé.

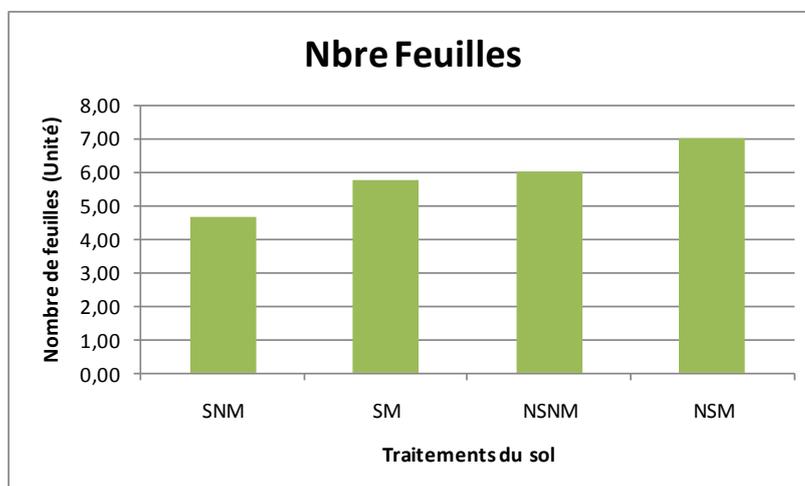


Figure III.5 : Effet de la mycorrhization sur le nombre de feuilles.

b. Poids des feuilles :

La **Figure III.6** révèle l'impact de la mycorrhization sur le poids frais des feuilles qui est considéré comme paramètre végétatif important à estimer dans la croissance des plantes. On note aussi les meilleurs poids pour les sols (SM et NSM).

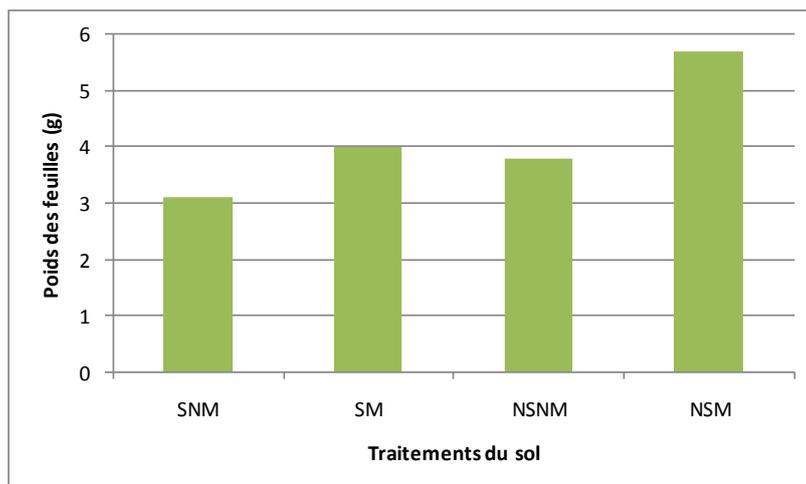


Figure III.6 : Effet de la mycorrhization sur le poids frais des feuilles.

III.2.3. Les racines :

Il était important d'étudier l'effet de la mycorrhization sur la longueur des racines (**Fig III.7**), largeur des racines (**Fig III.8**) et le poids des racines (**Fig III.9**). En effet, les résultats ont démontré une ramification importante des racines, en longueur et largeur, des plants mycorhizes, ce qui permettra à la plante d'aller chercher les substances nutritives plus loin dans la rhizosphère.

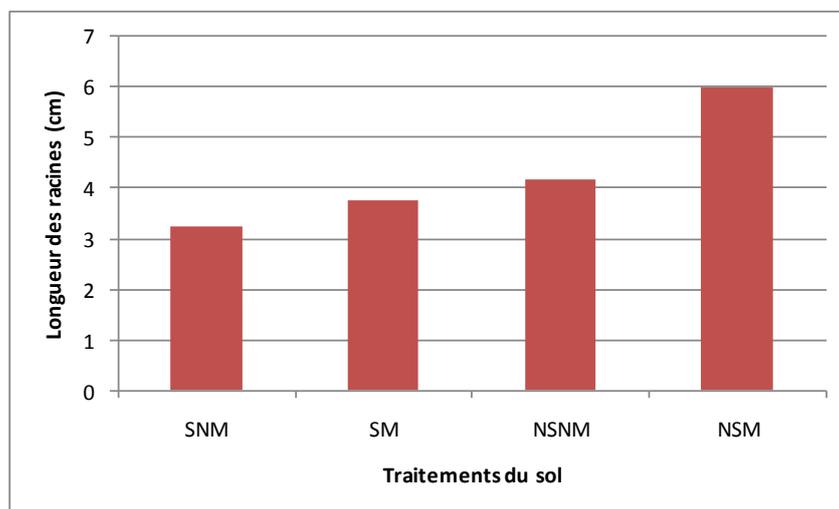


Figure III.7 : Effet de la mycorrhization sur la longueur des racines

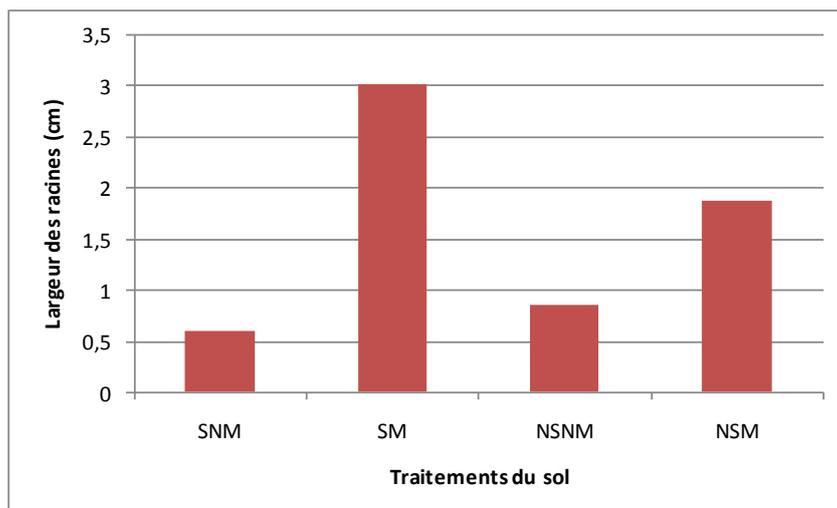


Figure III.8 : Effet de la mycorrhization sur la largeur des racines

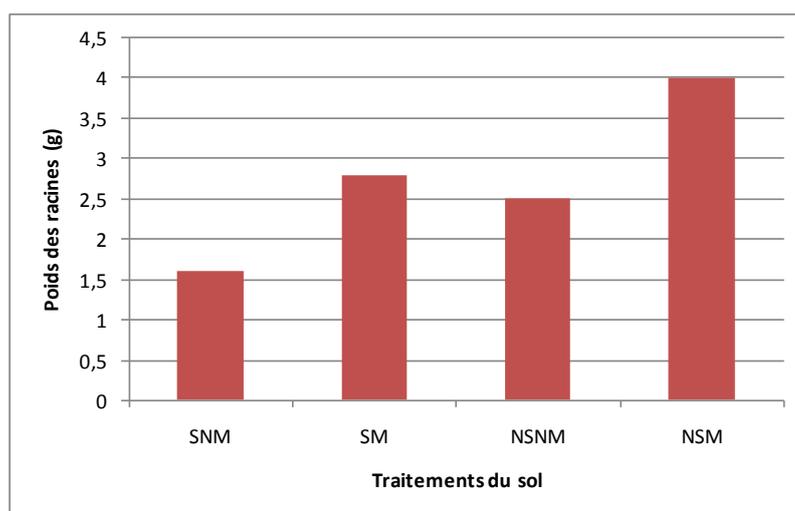


Figure III.9 : Effet de la mycorrhization sur le poids des racines.

○ **Interprétation :**

Les résultats des mesures des paramètres de croissance des plantes de haricot (la hauteur de la tige, la longueur, largeur et poids des racines, longueur des feuilles, le nombre et le poids des feuilles, nombre des folioles, le poids frais de la partie aérienne) sont représentés dans les diagrammes précédent.

Les résultats montrent que la mycorrhization stimule la croissance des plantules de haricot (Jalila) inoculées par rapport au témoin non inoculé, son effet se manifeste par :

- L'augmentation des paramètres de croissance des plantes mycorhizées par apport au témoin non inoculées.
- L'importance du chevelu racinaire chez les plantes inoculées.

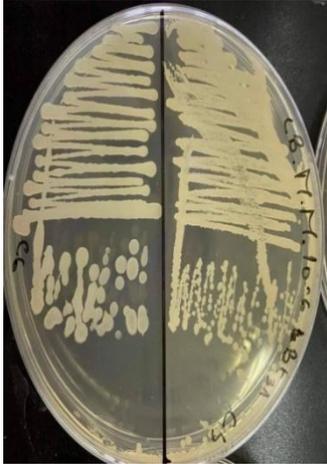
Les plantules inoculées par les CMA ont une longueur de racine plus importante qui atteint (7.5,6 et 5) cm contrairement au non mycorhizées qui atteint (4, 3.8, 3.3) cm par ailleurs, la longueur des tiges et des feuilles des même traitement représentés (28.5, 27.5) cm et (24, 22.5) cm pour NSNM, SNM (20, 19) cm et (16, 15) cm respectivement. De plus nous avons constaté que les feuilles des plantes mycorhizées très large et un stade de 11 à 9 feuilles pour chaque plante cas de NSM (sol non stérilisé) et un nombre de nombre de folioles de (6, 5). A un mois de croissance les poids frais des plantes inoculées étaient plus grands que celui des témoins non inoculés. On note (10, 7.5) g pour les parties aérienne de NSM et SM, (4, 2.8) g pour le poids racinaire quant à NSNM et SNM (4, 2.8) g pour le poids aérien et (2.5, 1.6) g poids racinaire.

Les CMA sont connus pour leur rôle qui est important dans les écosystèmes car ils participent à la décomposition et à la minéralisation de la matière végétale organique. Ils mobilisent et transportent les éléments nutritifs tels que l'azote et le potassium présent dans le sol vers la plante par le biais du mycélium extra-radical, qui explore le sol et fournit une grande surface pour l'absorption d'eau et d'éléments nutritifs. Ce qui augmente potentiellement la croissance des plantes mycorhizables à savoir les haricots.

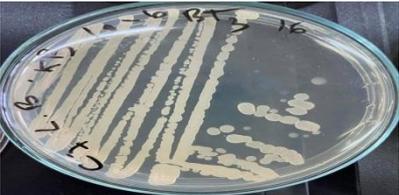
III.3.pré-Identification des souches bactériennes :

Les résultats des bactéries obtenus sont classés dans des tableaux avec les tests suivant : caractérisation macroscopique, coloration de gram, test catalase, test oxydase et test de fluorescences ci-dessous :

Tableau III.1 : Récapitulatif des résultats des colonies identifiées dans les isolats des sols.

| Souche sur milieux LB | Caractère macroscopique sur milieu de culture LB | Gram | Test catalase | Test oxydase | Fluorescent Sur king B |
|---|--|----------|---------------|--------------|------------------------|
|  | Colonie créme, rugueuses, de taille petite avec contour régulière. | Négative | // | Négative | Fluorescent |
|  | Colonie blanche rugueuses, de taille moyenne avec un contour régulière | Négative | // | Négative | Fluorescent |
| | Colonie blanche rugueuses, de taille grosse, lisse, muqueuse et bombé avec contour régulière | Positif | Négative | // | Non Fluorescent |
|  | Colonie blanche et transparente régulière de petite taille avec contour Blanc | Positif | Positif | // | Non Fluorescent |

Chapitre III : Résultats et discussion

| | | | | | |
|---|---|-----------------|-----------------|-----------------|----------------------------|
|  | <p>Colonie blanche de taille grosse, lisse avec contour irrégulière</p> | <p>Négative</p> | <p>//</p> | <p>Négative</p> | <p>Fluorescent</p> |
|  | <p>Colonie blanche, de taille grosse, lisse avec contour blanc régulière</p> | <p>Positif</p> | <p>Négative</p> | <p>//</p> | <p>Non Fluorescent</p> |
|  | <p>C1/Colonie jaunâtre, de taille punctiforme rugueuse avec contour régulière</p> | <p>Positif</p> | <p>Négative</p> | <p>//</p> | <p>Fluorescent</p> |
|  | <p>Colonie jaunâtre, de petite taille, rugueuse avec contour irrégulière</p> | <p>Négative</p> | | <p>Positif</p> | <p>Non Fluorescent</p> |
|  | <p>Colonie blanche de taille grosse, rugueuse avec contour irrégulière transparente</p> | <p>Positif</p> | <p>Positif</p> | | <p>Non Fluorescent</p> |

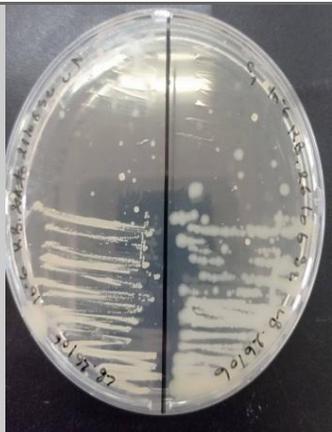
| | | | | | |
|--|---|---------|----------|----|-----------------|
| | Colonie blanche, bombé, de taille moyenne avec contour irrégulier | Positif | Négative | // | Non Fluorescent |
|--|---|---------|----------|----|-----------------|

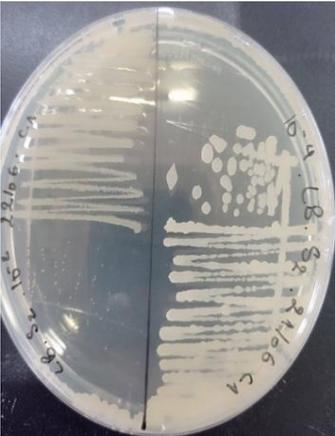
○ **Interprétation :**

Le résultat obtenu montre que le sol provenant de la station d'étude de notre faculté est très riche en communauté bactériennes, seules les souches les plus fréquentes ont été sélectionnées dont 38 souches on note 24 profils à gram + et 14 a gram –

Les caractéristiques macroscopiques des colonies sélectionnées sur les milieux (LB) et, ainsi que les résultats des tests biochimiques sont regroupés dans le tableau :

Tableau III.2 : Récapitulatif des résultats des colonies identifiées dans les isolats des sols mycorhizé.

| Souche | Caractères macroscopiques sur milieu LB | Gram | Test catalase | Fluorescent |
|---|---|---------|---------------|-----------------|
|  | Colonie blanche bombé rugueuse, de petite taille avec contour régulière | Positif | Négative | Non Fluorescent |
| | Colonie blanche de taille moyenne, lisse avec contour régulière | Positif | Négative | Non Fluorescent |
|  | Colonie blanche de petite taille, rugueuse avec contour régulière | Positif | Positif | Fluorescent |

| | | | | |
|---|--|---------|----------|-----------------|
|  | 1/Colonie blanche punctiforme, lisse avec contour régulière | Positif | Négative | Non Fluorescent |
| | Colonie blanche à transparente, bombé avec contour régulière blanc | Positif | Négative | Non Fluorescent |

○ **Interprétation :**

Nous avons constaté qu'après inoculation des CMA, la population bactérienne a diminué on note 24 souches dont 14 profils à gram + et 10 à gram –

Les caractéristiques macroscopiques des colonies sélectionnées sur les milieux (LB) et (King B), ainsi que les résultats des tests biochimiques sont regroupés dans le tableau

En effet, les CMA ont affectés la diversité microbienne cela est due à leur pression sélectives sur certains agents microbien susceptibles de favoriser la croissance de la plante créant ainsi un complexe trophique associant la plante hôte, les symbiotes fongiques et certaines composantes de la microflore tellurique.

❖ **Effets de la synergie CMA-microorganisme (bactéries) sur le développement des plantules de haricot :**

Les résultats obtenus ont révélé que la combinaison entre l'inoculation des CMA et la présence des micro-organismes dans le sol a eu des effets sur les paramètres de croissance des plantes de haricot (Jalila) inoculées dans un sol brut (non stérile) NSM, qui s'est manifesté par une croissance vigoureuse est un système racinaire plus développé. De cet essai il en sort que la meilleure croissance obtenue après inoculation par les CMA dans un sol non stérile, suivi par les plantes inoculées par les CMA (dans un sol stérile) SM, ensuite par les plantes non inoculées et un sol non stérile NSNM, et enfin les plantes non inoculées dans un sol stérile SNM.

Les résultats révèlent que les traitements des plantules de haricot par les CMA dans un sol riche en microorganisme ont eu un effet synergique pour le développement et la

croissance des plantules. On constate également, que le traitement des CMA seuls a eu un effet inférieur qu'en synergie.

III.4 Discussion :

L'inoculation des CMA dans les plantes de haricots a donné un effet positif sur les paramètres de croissance, en améliorant considérablement la hauteur de la tige, longueur des racines et poids des racines, poids frais aérien. Donc nos résultats se rapprochent des résultats suivants :

Selon différentes études d'inoculation de CMA sur des cultures au Pérou, l'efficacité et l'impact positif sur l'amélioration de la productivité ont été démontrés, preuve d'un effet positif de l'inoculation mycorhizien du champignon, sur la production des plants de *Pinus radiata*, ou des plantes inoculées ont montré des tiges, une plus grande taille et d'un plus grand diamètre que celles des plantes témoins.

Aussi selon le journal scientifique européen publié en mai 2021, une étude scientifique a été réalisée afin de démontrer l'effet de l'inoculation des CMA sur trois variétés de Voandzou. Il ressort qu'après inoculation des trois variétés les paramètres de croissance ont considérablement augmentés.

❖ Etude dans d'autres pays :

L'inoculation avec les champignons MA a été testée sur des plantes indigènes d'Amérique (*Amelanchier denticulata* et *Eysenhardtia polystachya* ('Baton sucre')) cultivées dans des sols pauvres du Mexique. Même avec des pourcentages relativement faibles de mycorhization, des améliorations significatives ont été obtenues dans la croissance initiale en diamètre et en hauteur, ce qui confère des avantages très importants.

Du même, un effet bénéfique (plus grand poids observé au début de l'acclimatation de bananiers d'Urabá en Colombie suite à l'inoculation avec des champignons MA, qui a permis de coloniser les racines en développement, obtenant ainsi des bénéfices pour la plante dès le début de sa croissance.

✚ L'objectif principal de cette étude est de démontrer l'effet des CMA sur quelques microorganismes isolés du sol, plus précisément sur la communauté bactérienne du sol.

L'inoculation des CMA, dans le sol a affecté quantitativement la diversité bactérienne de la plante. Donc nos résultats se rapprochent à celui démontrés par (**Van der Heijden et al., 1998 ; Kilronomos et al., 2000 ; O'connor et al., 2002**).

Par ailleurs selon **Linderman et al., 1991** les mycorhizes forment une relation symbiotique avec les racines des plantes et modifient considérablement la morphologie et physiologie de la plante. Entre autres changement physiologique, l'exsudation racinaire est altérée qualitativement, et donc la composition microbienne de la rhizosphère change. Ce qui coïncide avec nos résultats.

Du même **Ranskov et al., 1999** ont décrit une compétition pour les nutriments entre les différents protagonistes de la rhizosphère. D'où la diminution de la population bactérienne.

Une étude similaire a été réalisée par **Barea et al., 2002** qui démontent que les bactéries de la rhizosphère concurrencent fortement avec les symbiotes fongique.

Une autre étude été réaliser en **2002** par **Johnson et al**, qui démontre que 10 à 20 % du carbone fixé au niveau du sol végétal sont transféré aux symbiotes fongiques.

Duponois et al., en 2007 ont parlé de pression sélective des mycorhizes sur les communautés microbiennes grâce à des composés chimique. En effet les hyphes mycorhiziens exsudent des composés chimiques qui ont un effet sélectif sur les communautés microbiennes de la rhizosphère et du sol. Ces compartiments microbiens sont communément appelés « mycorhizosphère »

Il a été démontré que les mycorhizes on a effet sélectif sur cératines microorganismes susceptibles de favoriser la croissance de la plante, généralement ce sont des bactéries symbiotique et libre fixatrices d'azote, les bactéries solubilisant les nutriments, ou bien agents de lutte biologique fongique et bactériens, et autres champignons. Parmi ces bactéries nous retrouvons les bactéries dites PGPM (Plant Growth Promoting Microorganismes) (**Ramos et al., 2003 ; Roseti, 2005 ; Lingua et al., 2008**). Elles favorisent la formation des mycorhizes mettant en jeu la production d'hormones ; vitamines ; acides aminés, acides organiques, et enzymes ; **Gabaye (1994)**.

Dans notre présent travail, nous avons essayé de contribuer à l'étude de l'effet des mycorhizes sur certains microorganismes (plus précisément sur les bactéries telluriques), en utilisant comme partenaire végétal le Haricot vert (*Phaseolus vulgaris*).

Les résultats obtenus ont montré une réponse positive, à l'interaction mycorhizes-bactéries sur les différents traitements, et paramètres étudiés.

Une diminution de la population bactérienne, après inoculation de CMA.

La hauteur des plantes, la longueur de la racine principale et le poids frais des parties aériennes, ont également donné une réponse positive après inoculation de CMA, sur le sol normal ainsi que dans le sol stérile. Cependant, nous remarquons que la croissance des plantes, et le rendement des plantes dans un sol stérile, ne peuvent rivaliser avec les plantes mycorhizées dans un sol brut.

Conclusion Générale

Dans notre présent travail, nous avons essayé de contribuer à l'étude de l'effet des Mycorhizes sur certains microorganismes (plus précisément sur les bactéries telluriques), en utilisant comme partenaire végétal le Haricot vert (*Phaseolus vulgaris*)

Les résultats obtenus ont montré une réponse positive, à l'interaction mycorhizes-bactéries sur les différents traitements, et paramètres étudiés.

Une diminution de la population bactérienne, après inoculation de CMA.

La hauteur des plantes, la longueur de la racine principale et le poids frais des parties aériennes, ont également donné une réponse positive après inoculation de CMA, sur le sol normal ainsi que dans le sol stérile. Cependant, nous remarquons que la croissance des

plantes, et le rendement des plantes dans un sol stérile, ne peuvent rivaliser avec les plantes

mycorhizées dans un sol brut.

A partir des résultats obtenus, nous constatons que le complexe mycorhize-bactéries a eu effet positif sur la croissance des plantes de haricot.

Nous remarquons également que l'inoculation des CMA (dans un sol non stérile) a affecté quantitativement la microflore bactérienne. Car les mycorhizes effectuent une pression

sélective sur les micro-organismes susceptible de favoriser la croissance des plantes.

Ces bactéries spécifiques à la croissance des plantes, sont plus communément appelées les PGPM, elles incluent les PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobactéria), et les PGPF

(Plant Growth Promoting Fungi) qui s'associent aussi à la symbiose mycorhizienne.

On trouve également un groupe particulier des PGPR, ce sont les MHB, (Mycorrhiza Helper Bactéria) ce sont des bactéries capable de promouvoir le développement des mycorhizes. Elles appartiennent à différents groupes taxonomique : les bactéries du genre

Pseudomonas, *Bacillus*, *Paenibacillus* ; *Serratiamarcescens*, et *Rhizobium* sont les plus fréquentes chez des endomycorhizes.

Il est souhaitable de poursuivre les travaux concernant la compréhension de ces mécanismes d'action, et d'identifier les souches bactériennes intervenant dans cette action et

aussi de réaliser un engrais biologique, « Bactomycor » un complexe de mycorhizes et de

bactéries bénéfiques qui favorisent la croissance des plantes telles que les haricots verts.



Références

Bibliographiques

Akhtar M. S., Siddiqui Z. Aug 2008a. Arbuscular mycorrhizal fungi as potential bioprotectants against plant pathogens. *In: Eds. Siddiqui Z.A. et al., Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany. pp : 61-97.*

Azcon-Aguilar, C. et J.M. Barea. 1996. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens — an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza* 6: 457–464.

Barea Jm, Azcon R, Azcon-Aguillar C (2002). Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality *Antonie Van Leeuwenhoek* 81, 343-351.

Bécard G, Roux C, Séjalon-Delmas N, Puech V, Roy S (2004). Modulateurs de développement des champignons mycorrhiziens à arbuscules, et applications FR2865897.

Bonfante P, Genre A (2010). Mechanisms underlying beneficial plant-fungus interactions in mycorrhizal symbiosis *Nature communications*, 1(4), 48.

Borstler B, Renker C, Kahmen A, Buscot F (2006), Species composition of arbuscular mycorrhizal fungi in two mountain meadows with differing management types and levels of plant biodiversity. *Biol Fertil Soils* 42:286–298.

Daplé Y., 2005. Les mycorhizes : un outil de protection des plantes mais non une panacée. *Phytoprotection*, 86(1) : 53-59.

Davet P., 1996. Vie microbienne du sol et production végétale. Eds. INRA, Versailles, France. 385p.

De Oliveira V.L., Gabaye J., 1989. Les microorganismes auxiliaires à l'établissement des symbioses ectomycorhiziennes. *Eur. J. For. Path.*, 19 : 54-64.

Duponois R, Planchette C, Prin Y, Ducouso M, Kisa M, Ba AM, Galiana A (2007). Use of mycorrhizal inoculation to improve reforestation process with Australian Acacia in Sahelian ecozones *Ecol Eng* 29 : 105-112.

Frey-Klet. 2008 ; Gabaye, 1994.

Fortin J.A , Planchette C, Piche Y (2008). Les mycorhizes la nouvelle révolution verte, édition Multi Mondes.

Fortin J.A (2013), les mycorhizes en agriculture et horticulture : le model canadien, revue jardins de france de la société nationale d'horticulture de France et de ses sociétés adhérentes, numéro 622, pp14-15.

Gemma JN, Koske RE, Habte M (2002). Mycorrhizal dependency of some endemic and endangered Hawaiian plant species. *Am J Bot* 89: 337-345.

Genre A, Chabaud M, Timmers ACJ, Bonfante P, Barker DG (2005). Arbuscular Mycorrhizal Fungi Elicit a Novel Intracellular Apparatus in *Medicago truncatula* Root Epidermal Cells before Infection *The Plant Cell* 17: 3489-3499.

Genre A, Chabaud M, Faccio A, Barker DG, Bonfante P (2008). Prepenetration apparatus assembly precedes and predicts the colonization patterns of arbuscular

mycorrhizal fungi within the root cortex of both *Medicago truncatula* and *Daucus carota*
The Plant cell 20:1407-20.

Giri B., Giang P.H., Kumari R., Prasad R., Satchev M., Garg A. P., Olemüller R., Varama A., 2005a. Mycorrhizosphere : strategies and functions. *In* : Eds. Buscot F., Varama A. :Microorganisms in Soils : Roles in Genesis and Functions. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany.pp :213-252.

Hanlon LM, Lynette KA, Kennedy DM (2016). Coastal Mycology and Invasive Species : Boundray Conditions for Arbuscular Mycorrhizal (AM). *Fungi in Incipient Sand Dunes Journal of Coastal Research*, 75 (sp1) : 283-287.

Harley JL (1989), The significance of mycorrhiza. *Mycological Recherch* 92: 129-139

Javot H, Pumplin N, Harrison MJ (2007), Phosphate in the arbuscular mycorrhizal symbiosis : transport properties and regulatory roles *Plant, Cell and Environment* 30, 310-322.

Lambers H, Raven dA, Shaver G, Smith SE (2008). Plant nutrient acquisition strategies change with soil age *Trends Ecol Evol* 23: 95-103.

Lenoir I, Joël F., Lounés-Hadj Sahraoui A (2016). Arbuscular mycorrhizal fungal reponses to abiotic stresses : A review.

Lingua G., D'Agostino G., Massa N., Antosiano M., Berta G., 2002. Mycorrhizia induced differential response to a yellow disease in tomato. *Mycorrhizia*, 12 : 191-198.

Liu RJ, Chen YL (2007), Mycorrhizology. Science Press, Beijing (in Chinese). Smith SE, Read DJ (1997) Mycorrhizal symbiosis, 2nd edn. Academic, London.

Maillet F, Poinsot V, Andre O, Puech-Pages V, Haouy A, Gueunier M, Cromer L, Giraudet D, Formey D, Niebel A (2011). Fungal lipochitooligosaccharide symbiotic singals in arbuscular mycorrhiza *Nature* 469: 58-63

Meyer S., Reeb C., Bosdeveix R., 2008 : Botanique Biologie et physiologie végétales. 2^{ème} edition. Malonie. P : 49-51.

Ming-Quin G., Yu C., Feng-Zhen W., 2004. Resistance of the AMF fungus *Eucalyptus* seedlings against *Pseudomonas solanacearum*. *Forest Res.*, 17 : 441-446.

O'connor PJ, Smith SE, Smith FA (2002). Arbuscular mycorrhizas influence plant diversity and community structure in a semiarid herbland *New Phytologist*, 154 : 209-2118.

Oldroyd GED (2013), speak, friend, and enter : signalling systems that promote beneficial symbiotic associations in plants *Nature Reviews Microbiollogy* 11 : 252-263.

Palenzuela J., Ferrol N., Boller T., Azcon-Aguillar C., Oehl F., 2008. *Otospora bareai*, a new fungal species in the Glomeromucetes from a dolomitic shrub land in Sierra de Baza National Park (Granada, Spain). *Mycologia*, 100 : 296-305.

Parniske M (2000), Intercellular accommodation of microbes by plants ; a common developmental program for symbiosis and disease ? *Current Opinion in Plant Biology*, 3(4) : 320-328.

Pauwels, J., et al 1992. Manuel de Laboratoire de Pédologie. Méthodes d'analyses de sols et de plantes ; Equipement et Gestion des Stocks de verreries et de Produits chimiques. Publications Agricoles Nr.28.AG.C.A, Bruxelles, Belgium, 180 P.

Ramos, E., Price, M., Rohrbaugh, M., Lai, Z.C. (2003). Identifying functional cis-acting regulatory modules of the yan gene in *Drosophila melanogaster*. *Dev. Genes Evol.* 213(2): 83--89.

Rossetti, L. and Giraffa, G. (2005). Rapid Identification of Dairy Lactic Acid Bacteria by M13-Generated, RAPD-PCR Fingerprint Databases. *Journal of Microbiological Methods*, 63, 135-144.

Reddy M. S., Satyanarayana T., 2006. Interactions between ectomycorrhizal fungi and rhizospheric microbes. *In* : Eds. Mukerji K.G., Manoharachy C., Singh J. Microbial activity in the rhizosphere. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany. pp : 245-263.

Renard S., Goffork J.P., Frankinet. (2007) : Optimisation de l'efficience de l'azote dans les rotations intégrant les cultures de légumes industriels en Hesbaye. Les dossiers de la recherche agricoles

Requena N, serrano E, Ocon A, Breuninger M (2007). Plant signals and fungal perceiving during arbuscular mycorrhiza establishment *Phytochemistry* 68 : 33-40.

Ruissen T(2013). Arbuscular mycorrhizal fungi and their ecological roles; a review with a Norwegian perspective.

Schüßler A, Schwarzott D, Walker C (2001), A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. *Myc. Res.* 105: 1413-1421.

Singh, R., A. Adholeyaet K.G. Mukerji. 2000. Mycorrhiza incontrol of soil-borne pathogens. Pages 173-196 in K. G. Mukerji, B.P. Chamolaet J. Singh (éds.), Mycorrhizal biology. Kluwer Academic/ Pelenum Publishers, New York.

Smith SE, Read DJ (2008). Mycorrhizal symbiosis Third edition Academic Press, San Diego, California, USA.

Van der Heijden MGA, Streitwolf-Engel R, Riedl R, Siegrist S, Neudecker A, Ineichen K, Boller T,Wiemken A, Sanders IR (2006).The mycorrhizal contribution to plant productivity, plant nutrition and soil structure In experimental grassland *New Phytologist*, 172:739-752.

Van der Heijden MGA, Martin FM, Selosse MA, Sanders IR (2015). Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future *New Phytologist* 205:1 406-1423

Walker C, Schüßler A (2004). Nomenclatural classifications of new taxa in *Glomeromycota* *Mycol Res*, 108 : 981-982.

Young JPW (2015), Genome diversity in arbuscular mycorrhizal fungi. *Current Opinion in Plant Biology*, 26, 113-119.

Zachée A., Bekolo N.B., Dooh N., Yalen M., Godswill NN., 2008. Effect of mycorrhizal inoculum and urea fertilizer on diseases development and yield of groundnut crops (*Arachis hypogaea L.*). Afr. J. Biotechnol., 7(16) : 2823-2827.



Annexes

Annexe 01**1. Milieu de culture :**

Le milieu est stérilisé à l'autoclave pendant 20 minutes, à une température a environ 120°C. Ces ingrédients pour 1 litre d'eau distillées.

Il est ensuite placé à une température ambiante afin de refroidir pour le manipuler plus facilement et surtout afin d'éviter la condensation sur les couvercles des boites de Pétri.

Milieu LB (Luria-Bertani. 1950)

Peptone..... 10 g

Extrait de levure..... 5 g

Nacl..... 10 g

Milieu King B (KB) (King *et al.*, 1954)

Peptone.....20 g

Glycérol..... 15 ml

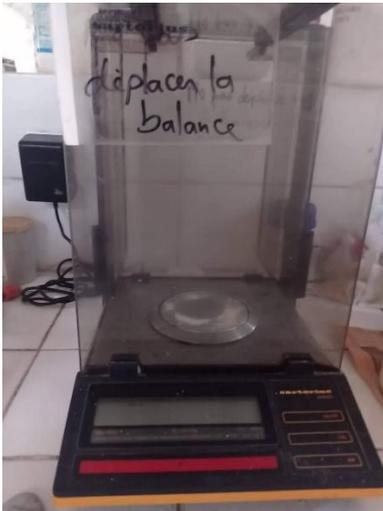
K2 Hpo4..... 1.5 g

MgSo4.....1.5 g

Agar.....20 g

Annexe 02

Matériel non biologique (appareillages et verreries) :



Balance a pesé



Vortex (agitateur)



Tubes a essais



Etuve



Autoclave



Billes de verre stériles (a gauche)

Micropipette (à droite)



Lampe à UV



Four Pasteur



Pipeteur

Annexe 3

Coloration de gram :

1. Inonder le frottis séché à l'air et fixé à la chaleur pendant 1 minute avec le réactif de coloration au cristal violet. Veuillez noter que la qualité du frottis (concentration cellulaire trop lourde ou trop légère) affectera les résultats de la coloration.
2. Laver la lame dans un jet doux et indirect d'eau du robinet pendant 2 secondes.
3. Inondation avec le mordant : iode ou lugol. Attendez 1 minute.
4. Laver la lame dans un jet doux et indirect d'eau du robinet pendant 2 secondes.
5. Inondation la lame avec agent décolorant. Attendre 15 secondes ou ajouter goutte à goutte pour faire sortir l'agent de décoloration.
6. Inondation la lame avec contre-colorant, 'safranine'. Patienter 30 secondes à 1 minute.
7. Laver la lame dans un jet d'eau douce et indirecte de l'eau du robinet jusqu'à ce qu'aucune couleur n'apparaisse dans l'effluent, puis sécher avec du papier absorbant.
8. Observez les résultats de la procédure de coloration sous immersion dans l'huile. Examiner au microscope, objectif x100.