

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB BLIDA-1
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES
Spécialité : Biodiversité et physiologie végétale
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

THEME

**Statut mycorhizien de deux espèces de Lamiacées :
Rosmarinus officinalis et *Salvia officinalis***

Présenter par :

Soutenu publiquement le 13/09/2022

AOUJ Imen

RABIA Chaima

Devant le jury composé de :

Mr Rouibi A.	Pr	USDB1	Présidente
Mme Amedjkouh H.	MCB	USDB1	Examinatrice
Mme. Faidi H.	MAA	USDB1	Promoteur

Promotion 2021/2022

Remerciement

Tout d'abord louange à ALLAH le donateur suprême et le bienfaiteur glorifié le tout puissant clément et miséricordieux qui nous a guidée sur le droit chemin tout au long de ce humble travail et nous inspirées les bons pas et les justes réflexes, qui nous a donnés la volonté, la patience, le courage et la force d'aller jusqu'au bout du rêve et d'accomplir ce modeste travail sans sa miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.

*Mes remerciements les plus sincères s'adressent en premier lieu à notre encadreur **Mme. FAIDI M.A.** d'avoir fait l'honneur de diriger ce travail, pour sa confiance, son soutien, sa disponibilité et ses précieux conseils. Veuillez trouver dans ce mémoire un hommage vivant à votre haute personnalité et l'expression de notre profonde gratitude.*

*Nous remercions vivement **les membres du jury***

***Mr. Rouibi A** pour avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire. Trouvez ici l'assurance de notre profond de notre gratitude et l'expression de nos sentiments les plus respectueux.*

***Mme.Amedjkouh H** d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail, soyez assuré de mon profond respect et de notre reconnaissance.*

*Nous adressons, aussi, nos sincères remerciements à notre Chef d'option **Mme. Chérif** pour la confiance et l'aide qu'il nous a accordé.*

Un grand merci à tous les enseignants que nous avons rencontrés durant notre parcours Universitaire.

Merci toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la concrétisation de ce Memoir.

Dédicaces

Avec l'aide de dieu le tout puissant clément et miséricordieux, j'ai pu accomplir ce travail que je dédie :

Aux bijoux de ma vie mes parents

Maman, source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifice. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études. Tu m'as aidé à concrétiser mon rêve sans ne jamais manquer de rien.

Papa, de tous les pères, tu es le meilleur. J'ai toujours bénéficié de ta protection, ton affection et ta générosité. Que ce modeste travail, qui n'est que le couronnement de tes sacrifices, soit un témoignage de toute mon estime et de ma reconnaissance. En ce jour, j'espère réaliser l'un de tes rêves. Aucune dédicace ne saurait exprimer mes respects, ma reconnaissance.

À me chère soeur Ikram , mes chers frères Latif et Anis et Walid

Puisse Dieu vous garde, éclaire votre route et vous aide à réaliser à votre tour vos vœux les plus chers.

À la joie de ma vie Amine

Pour ton encouragement durant mon parcours sur tout dans ces dernière 1ans, ton immense charge positive que tu m'as donnée pour poursuivre mon travail. Merci d'être là à mes cotées, je te souhaite une longue vie pleine de bonheur.

À mes amis et à tous ceux qui m'ont soutenu tout au long de mon cursus

Aux patients leucémiques, pour leur patience et leur combat quotidien contre la maladie. On leur souhaite que le soleil de la guérison se lève un jour.

Imen

Dédicaces

À ma chère mère

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne serais point te remercier comme il se doit, Ton affection me couvre, Ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles

À mon cher Père

*Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager
Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection*

A mon cher frère

A mon chère grand père Foudil Bey Abdelkader

A ma chère grand-mère

A mon cher oncle Dr.Bellounes Karim

Pour ces conseils précieux tous au long de ma mémoire

A Dr.Hamissi Fatiha

A mon cher binôme Aoudj Imen

Pour son entente et sa sympathie

A toute ma famille

Chaima

Résumé

L'étude a été entreprise dans le but d'établir le statut mycorhizien de deux espèces de plantes appartenant à la famille des lamiacées *Rosmarinus officinalis* et *Salvia officinalis*.

Les examens microscopiques des racines des deux espèces traitées par la technique de Phillips et Hayman ont révélé la présence des structures caractéristiques des mycorhizes arbusculaires (hyphes coenocytiques, arbuscules, vésicules et spores) indiquant le caractère mycotrophique des deux plantes.

L'estimation des paramètres de la colonisation par les champignons mycorhize à arbuscule en adoptant la méthode de Trouvelot et *al.* indique que les deux espèces sont fortement mycorhizées, la fréquence de mycorhization (F%) était de 80% pour *S. officinalis* et de 78,89% pour *R. officinalis*. Le cortex racinaire de *R. officinalis* est plus fortement colonisé (M%=50,60%) par les champignons mycorhize à arbusculaire que celui de *S. officinalis* (M%=38,80%). De faibles valeurs de la teneur en arbuscules ont été enregistrés aussi bien pour *R. officinalis* (A%=9,26%) que pour *S. officinalis* (A%=6,16%).

Mots clés : *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, lamiacées, mycorhizes arbusculaires,

Abstract

The study was undertaken with the aim of establishing the mycorrhizal status of two species of plants belonging to the lamiaceae family *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis*.

Microscopic examinations of the roots of the two species treated by the technique of Phillips and Hayman revealed the presence of structures characteristic of arbuscular mycorrhizae (coenocytic hyphae, arbuscules, vesicles and spores) indicating the mycotrophic nature of the two plants.

The estimation of the parameters of colonization by arbuscula mycorrhizal fungi by adopting the method of Trouvelot et al. indicates that the two species are strongly mycorrhizal, the frequency of mycorrhization (F%) was 80% for *S. officinalis* and 78.89% for *R. officinalis*. The root cortex of *R. officinalis* is more strongly colonized (M%=50.60%) by arbuscula mycorrhizal fungi than that of *S. officinalis* (M%=38.80%). Low values of arbuscule content were recorded for both *R. officinalis* (A%=9.26%) and *S. officinalis* (A%=6.16%).

Keywords: *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, lamiaceae, arbuscular mycorrhizae,

ملخص

أجريت الدراسة بهدف تحديد الحالة الفطرية لنوعين من النباتات المريمية و اكليل الجبل تنتمي إلى عائلة

شفويات

كشفت الفحوصات الميكروسكوبية لجذور النوعين المعالجين بتقنية فليب و هيمنان عن وجود تراكيب مميزة الفطريات الشجيرية (خيوط خلوية ، حويصلات ، حويصلات وجراثيم) تشير إلى الطبيعة الفطرية للنباتين.

تقدير معالم (الفطريات الفطرية الجذعية من خلال اعتماد طريقة تغوغل يشير الى نوعين من الفطريات الاستعمار بواسطة

الجذعية ، وتواتر الفطريات (F%) كان 80% لـ المريمية و 78.89% لأكليل الجبل.

% يتم استعمار قشرة M%= 50.60 بقوة اكبر بواسطة الفطريات الفطرية الجذعية (من قشرة اكليل الجبل
(M %= 38.80%) الجذر للمريمية

% سجلت قيم منخفضة لمحتوى الشجر لكل من المريمية (A %= 9.26) و اكليل الجبل (A %= 6.16) .

الكلمات المفتاحية: اكليل الجبل ، المريمية ، عائلة شفويات ، فطريات جذرية الشجرية

Glossaire

ARBUSCULE = Structure typique de la symbiose des champignons mycorhiziens à arbuscules qui se développe dans les cellules pénétrées par le mycélium du champignon et au niveau de laquelle ont lieu les échanges entre la plante et le champignon. Cette structure doit son nom à sa forme qui rappelle celle d'un arbuste.

MYCORHIZE = (du grec '*mukês*' pour champignon et '*rhiza*' pour racine) Association symbiotique d'un champignon avec les racines d'une plante.

SPORE = organe de stockage et de propagation des CMA. Elle germe et donne naissance à des filaments mycéliens .

SYMBIOSE = Relation entre deux organismes hétérospécifiques (espèces différentes) qui se traduit par des effets bénéfiques aussi bien pour l'un que pour l'autre.

VESICULE = structure de stockage à paroi fine, à contenu lipidique qui apparaît généralement dans les espaces intercellulaires.

Liste des Figures

Figure 1 : Principaux types de mycorhizes représentés sur une coupe transversale de la racine.....	3
Figure 2 : Cycle de vie des CMA.....	10
Figure 3: Classification des champignons mycorhiziens à arbuscules.....	8
Figure 4 : Morphologie de la tige de <i>Salvia officinalis</i>	13
Figure 5 : Feuilles de <i>Salvia officinalis</i>	13
Figure 6 : Fleurs de <i>Salvia officinalis</i>	14
Figure 7 : Répartition géographique du genre <i>Salvia</i> dans le monde.....	16
Figure 8 : La plante de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> Source	17
Figure 9 : Feuille de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> Source.....	18
Figure 10 : La fleur de <i>Rosmarinus officinalis L</i> Source.....	19
Figure 11 : Aspect morphologique de <i>Rosmarinus officinalis</i> et <i>Salvia officinalis</i>	21
Figure 12 : Racines nettoyées et découpées.....	22
Figure 13 : Mise en évidence de la colonisation mycorhizienne à arbuscules.....	23
Figure 12 : Montage des fragments racinaires entre lames et lamelles.....	24
Figure 13 : Echelle d'intensité de colonisation du cortex racinaire (d'après Trouvelot et al.,1986).....	25
Figure 14 : Echelle d'évaluation de la présence des arbuscules (d'après Trouvelot et al.,1986).....	26
Figure 15 : Racine non mycorhizée (a) et racine mycorhizée (b) observées chez <i>R. officinalis</i> , (cc : cylindre central , pc : parenchyme cortical).....	27
Figure 16 : Racine non mycorhizée (a) et racine fortement colonisée (b) observées chez <i>S. officinalis</i> , (cc : cylindre central , pc : parenchyme cortical).....	27
Figure 17 : Les hyphes intra-radiculaires.....	28
Figure 18 : Hyphes cœnocytiqes extra (he) et intra-racinaires (hi) observés chez <i>S. officinalis</i>	29
Figure 19 : Vue d'ensemble (a) et détail (b) des arbuscules observés chez <i>R. officinalis</i> . (a : arbuscule, hi : hyphe intercellulaire, v : vésicule).....	30
Figure 20 : Vues d'ensemble (a et b) et détail (c) des arbuscules observés chez <i>S. officinalis</i> (a : arbuscule, hi : hyphe intercellulaire, v : vésicule).....	31

Figure 21 : Vésicules observées chez <u>R. officinalis</u> . (hi : hyphe intercellulaire, v : vésicule).....	32
Figure 22: Vésicules observées chez <u>S. officinalis</u> . (hi : hyphe intercellulaire, v : vésicule).....	33
Figure 23 : Spores observées chez <u>R. officinalis</u> . (s : spore, hi : hyphe intercellulaire, v : vésicule).....	34
Figure 24 : Paramètres de la colonisation mycorhizienne chez <u>R. officinalis</u> et <u>R.</u> <u>officinalis</u>	35

Sommaire

Introduction.....	1
Chapitre I : Rappel bibliographique	
1. Symbiose mycorhizienne.....	2
1.1. Généralités.....	2
1.2. Types de mycorhizes.....	2
1.2.1. Ectomycorhizes.....	2
1.2.2. Endomycorhizes.....	3
1.2.3. Ectendomycorhizes.....	4
1.3. Rôles des mycorhizes.....	4
1.3.1. Absorption de l'eau et des éléments nutritifs.....	4
1.3.2. Agrégation des sols.....	4
1.3.3. Protection contre les organismes pathogènes	5
1.4. Mycorhizes à arbuscules (MA)	5
1.4.1. Généralités.....	5
1.4.2. Structures des MA.....	6
1.5. Taxonomie des CMA.....	7
1.6. Cycle de vie des CMA.....	9
1.6.1. Phase asymbiotique.....	10
1.6.2. Phase pré-symbiotique.....	11
1.6.3. Phase symbiotique.....	11
2. Plantes étudiées.....	11
2.1. <i>Salvia officinalis</i>	11
2.1.1. Historique.....	11
2.1.2. Caractéristiques morphologiques.....	12
2.1.3. Classification.....	15
2.1.4. Nomenclature.....	15

2.1.5. Répartition géographique.....	15
2.2. <i>Rosmarinus officinalis</i>	16
2.2.1. Historique.....	16
2.2.2. Caractéristiques morphologiques.....	17
2.2.3. Classification.....	19
2.2.4. Répartition géographique.....	20

Chapitre2 : Matériels et Méthodes

1. Matériel.....	21
2. Méthodes.....	22
2.1. Mise en évidence de la colonisation mycorhizienne à arbuscules.....	22
2.1.1. Éclaircissement.....	22
2.1.2. Coloration.....	23
2.1.3. Montage et observation.....	24
2.2. Estimation de la colonisation mycorhizienne à arbuscules.....	24

CHAPITRE 3: Résultats et Discussion

Résultats.....	25
Discussion.....	32
Conclusion.....	35
Référence.....	36
ANNEXE.....	41

Introduction

Les microorganismes vivant en symbioses avec les racines des plantes jouent un rôle majeur dans la nutrition de ces dernières. Parmi les microorganismes symbiotiques, les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) s'associent avec plus de 80 % des plantes terrestres (Smith & Read, 2008), en particulier, les espèces de la famille de Lamiacées l'une des plus répandues dans le règne végétal (Naghbi et al., 2005).

La région méditerranéenne d'une manière générale et l'Algérie en particulier, avec son climat doux et ensoleillé est particulièrement favorable à la culture des plantes aromatiques et médicinales, en particulier, les espèces de la famille des Lamiacées. Elles possèdent une place économique importante en raison de leurs utilisations médicinales, culinaires et cosmétiques. Les principaux métabolites secondaires décrits dans cette famille sont les terpènes, les composés phénoliques, les flavonoïdes (Kulišić et al., 2006).

Les CMA sont considérés comme des acteurs clés des services écosystémiques. Grâce à leur réseau mycélien, ils améliorent l'absorption de l'eau et des éléments minéraux chez la plante (Labidi et al., 2012). Ils jouent un rôle très important dans la bioremédiation des sols, la protection contre les pathogènes (**Gianinazzi-Pearson, 1982**). De plus, des travaux (Toussaint 2007; Toussaint et al., 2007; Zubek et al., 2010) ont montré que l'inoculation mycorhizienne favorise, non seulement, la croissance des plantes médicinales mais améliore également la productivité et la quantité des composés phytochimiques.

Ainsi l'objectif de notre étude était d'établir le statut mycorhizien de deux espèces de plantes aromatiques et médicinales appartenant à la famille des lamiacées, *Rosmarinus officinalis* et *Salvia officinalis*.

Chapitre I : Rappel bibliographique

2. Symbiose mycorhizienne

2.1. Généralités

La notion de mycorhizes (du grec : *mukes*= *champignon*, *rhiza*= *racine*) a été citée pour la première fois par Frank en 1885 (**Boullard, 1968**), comme étant une association entre les champignons et les racines des plantes. **Gerdemann (1970)** a défini les mycorhizes comme une structure fonctionnelle entre les champignons symbiotiques du sol et les organes absorbants des plantes (racines, rhizomes et thalles) (**Redeckeret al., 2000**).

En réalité, ces associations impliquées dans l'absorption des éléments minéraux du sol sont très fréquentes et se retrouvent non seulement dans les racines de près de 90% des plantes à fleurs, mais également dans les organes souterrains de nombreuses bryophytes et ptéridophyte. Ces associations symbiotiques sont généralement mutualistes, c'est-à-dire qu'elles impliquent le transfert de nutriments (P, K etc.) en échange de carbone organique.

2.2. Types de mycorhizes

D'après la morphologie, on distingue différents types de mycorhizes (figure 1) :

2.2.1. Ectomycorhizes (e)

(du grec *ektos* : à l'extérieur) chez lesquelles les champignons se développent essentiellement autour de la racine, en formant un manchon mycélien (manteau) de ce dernier part un réseau d'hyphes qui se développe entre les cellules corticales de la racine (réseau de Hartig) sans jamais entrer à l'intérieur de ces dernières. Ce type d'association est représenté surtout chez les essences forestières des régions tempérées et de la forêt boréale, mais il a été décrit aussi chez quelques espèces tropicales de la famille des Dipterocarpaceae, Euphorbiaceae, Cesalpiniaceae, Myrtaceae et Fagaceae. Les champignons ectomycorhiziens appartiennent surtout aux Basidiomycètes (Bolets, Russules, Laccaire, etc) mais aussi aux Ascomycètes (Tuber, Elaphomyces, etc) (Redhead, 1980).

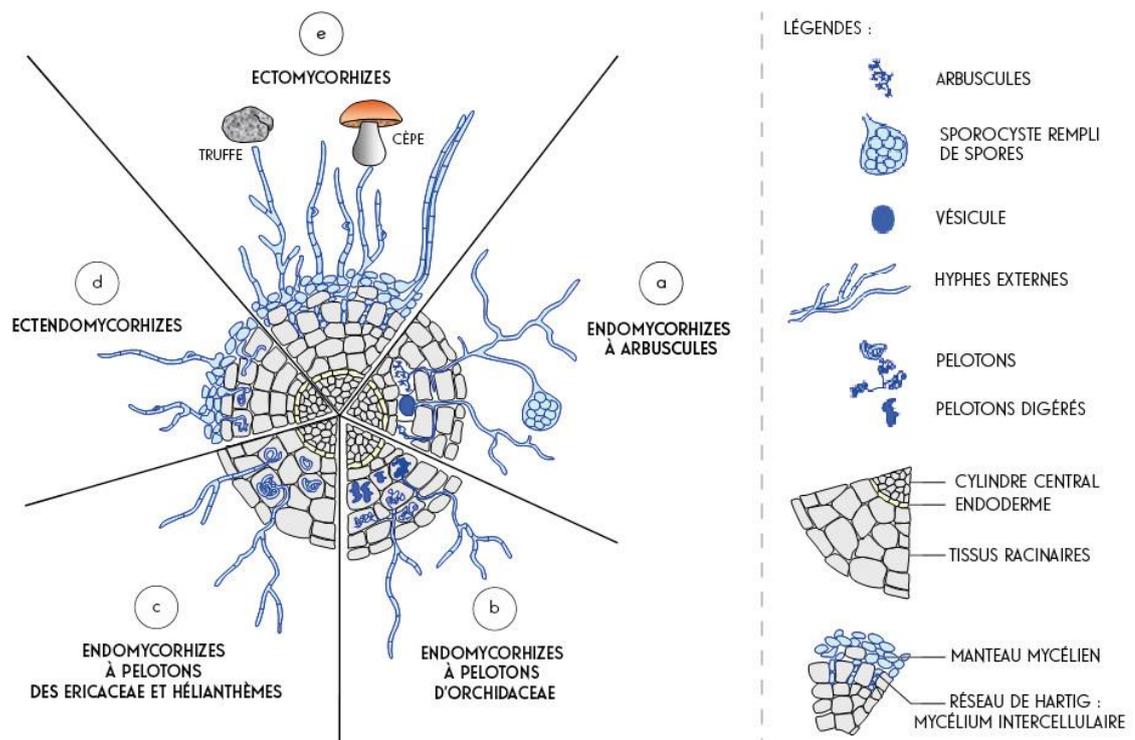


Figure 1 : Principaux types de mycorhizes représentés sur une coupe transversale de la racine (d'après LeTacon, 1985).

2.2.2. Endomycorhizes (b)

(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. Trois types sont rencontrés :

- **Endomycorhizes des Orchidées et des Ericacées (c)**

Formées respectivement par des Basidiomycètes et des Ascomycètes de la famille des Pezizaceae ; dans ces deux cas, le mycélium forme des pelotons à l'intérieur des cellules du parenchyme cortical.

- **Endomycorhizes des Cistacées**

Où les pénétrations endocellulaires prennent une forme coralloïde ; les champignons symbiotiques responsables appartiennent aux ascomycètes hypogés, de la famille des Terfeziaceae.

- **Endomycorhizes à arbuscules (a)**

Formées par des champignons inférieurs et qui concernent environ 90 % 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 donnant des branchements appelés arbuscules. Les mêmes hyphes ou d'autres intercellulaires peuvent former des vésicules (**Bofante-Fasola, 1984**).

2.2.3. Ectendomycorhizes (d)

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, etc*) (**Mikola, 1988**).

2.3. Rôles des mycorhizes

2.3.1. Absorption de l'eau et des éléments nutritifs

L'absorption de l'eau et des éléments nutritifs constitue la toute première fonction attribuée aux mycorhizes, notamment l'absorption des éléments peu mobile du sol, comme le phosphore, qui est un des éléments nutritifs les plus importants pour la croissance des plante car il intervient dans de nombreux processus métaboliques : biosynthèse des membranes, photosynthèse, respiration et régulation des enzymes, c'est aussi l'élément dont la concentration dans la plante est la plus fortement augmentée par la symbiose endomycorhizienne. Cette efficacité accrue dans l'absorption de l'eau et des éléments nutritifs vient d'abord de L'augmentation de la surface de contact entre le mycélium fongique et la solution du sol (**Smith et Read, 1997 ; Bolan, 1991**).

2.3.2. Agrégation des sols

Le mycélium a la propriété d'excréter une glycoprotéine, la glomaline. Les Champignons mycorhizienne qui sont très abondants dans certains sols peuvent en produire des quantités importantes, dont plusieurs études ont montré le rôle dans la stabilité structurale du sol. La glomaline agit comme une colle qui assemble les particules les plus fines du sol pour en faire des agrégats dont on connait le rôle fondamental pour la fertilité des sols, en retenant l'eau et les éléments minéraux et en favorisant les échanges gazeux et l'aération (**Fortin et al, 2008**).

2.3.3. Protection contre les organismes pathogènes

En nature, les plantes sont continuellement soumises à des agressions de la part des bactéries, de champignons, de nématodes, d'insectes et de maladies fongiques. Il a été prouvé

expérimentalement que les plantes inoculées avec des champignons mycorhizienne à arbuscules sont plus résistantes aux attaques de champignons pathogènes et l'exposition à des toxines du sol (**Fritter, 1991 ; Moser et Haselwandter, 1983 ; Schtiepp et al, 1987**). Ces champignons mycorhizien peuvent intervenir de deux façons et à deux endroits pour protéger contre les champignons pathogènes la rhizosphère et dans les tissus racinaires. À l'échelle de la rhizosphère et surtout de la mycorhize sphère, l'espace entourant immédiatement le mycorhize, les micro-organismes sont confrontés à la compétition et à l'antagonisme, ce qui a pour effet d'établir une flore microbienne diversifiée et équilibrée. Dans cet environnement, les propagules des champignons pathogènes ne parviennent pas à proliférer et leur nombre reste toujours relativement faible. Le second mécanisme permettant aux plantes mycorhizées de mieux résister aux maladies est lié à des modifications des activités physiologiques dans la racine. Les plantes agressées par un agent pathogène réagissent en produisant des substances antibiotiques contres ces organismes (**Fortin et al., 2008**)

2.4. Mycorhizes à arbuscules (MA)

2.4.1. Généralités

Les mycorhizes à arbuscules (MA) représentent le type mycorhizien le plus répandu dans la flore actuelle (**Smith et Read, 1997**). Elles ont d'abord été reconnues et décrites en tant que mycorhizes endotrophiques ou mycorhizes vésiculaires-arbusculaires. Le terme vésiculaire a finalement été abandonné car il est devenu clair que certains taxa ne forment pas de vésicules. Le terme arbusculaire, retenu pour désigner ce type de mycorhizes, réfère aux structures situées à l'intérieur des cellules corticales des racines appelées arbuscules (arbres nains). La grande majorité des plantes terrestres sont capables de former des mycorhizes arbusculaires (**Brundrett, 2009**).

Les CMA sont associés avec les racines de plus de 80% des espèces végétales. Cela inclut les Angiospermes, Gymnospermes, Sporophytes et Ptéridophytes (Smith & Read, 2008). Cependant, certaines familles comme la *Brassicaceae*, *Chenopodiaceae*, *Caryophyllaceae*, sont généralement très peu ou pas colonisées par les CMA (**Bothe, 2012**).

2.4.2. Structures des MA

Le champignon mycorhizien à arbuscule forme plusieurs structures à l'intérieur des racines , principalement des arbuscules, des vésicules des spores et des hyphes (**Tommerup, 1984**). Le

terme propagule est utilisé pour les désigner puisque toutes ces structures servent à propager l'espèce (Fortin *et al.*, 2008).

- **Arbuscule**

L'arbuscule est l'unité au niveau de laquelle se produisent les échanges entre la plante 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. Les arbuscules ont une durée de vie limitée estimée en moyenne à 8 jours, ils entrent ensuite en sénescence et sont complètement éliminés de la cellule végétale qui retrouve son état initial (Javot *et al.*, 2007)

- **Vésicule**

La vésicule est une structure de stockage, c'est un renflement globuleux formé par le champignon symbiotique généralement dans les espaces intercellulaires et parfois à l'intérieur de certaines cellules du cortex racinaire (Garbaye, 2013).

- **Spore**

La spore sert d'organe de stockage et de propagation des CMA. Elle est produite à l'extrémité d'un hyphe sporogène ou suspenseur (structure reliant la spore aux hyphes du mycélium) dont la morphologie est utilisée pour identifier certains genres de CMA, à l'intérieur des racines ou dans le sol (Schenk et Perez, 1990).

2.5. Taxonomie des CMA :

La première classification des CMA a été établie pour la première fois par Taxter (1922) puis elle a été modifiée par de nombreux mycorhizologistes (Morton et Benny, 1990 ; Almada et Schenck, 1990 ; Walker et Trappe, 1993 ; Redecker *et al.*, 2000 ; Morton et Redecker, 2001 ; Schubler *et al.*, 2001).

Les concepts utilisés dans la systématique des champignons mycorhiziens à arbuscules ont été principalement basés sur l'ontogenèse des spores et les caractéristiques morphologiques de la paroi des spores (Ruissen, 2013). Ces caractéristiques morphologiques et anatomiques jouent un rôle très important dans l'identification, la description et la classification de nouvelles espèces de CMA. Cependant les caractères morphologiques variables, le mode de vie biotrophe obligatoire et l'absence de reproduction sexuée des CMA rend difficile l'identification des espèces (Redecker et Raab 2006).

Actuellement, et grâce à l’outil de biologie moléculaire, les analyses moléculaires permettent d’affiner la classification des CMA (**Schüßler et al., 2011**). Le phylum est divisé en trois classes: Archaeosporomycetes, Glomeromycetes, et Paraglomeromycetes, avec cinq ordres: Glomerales, Diversisporales, Gigasporales, Archaeosporales, et Paraglomerales. Quinze familles, avec 38 genres et environ 270 espèces, sont connues à ce jour (**Castillo et al., 2013**).

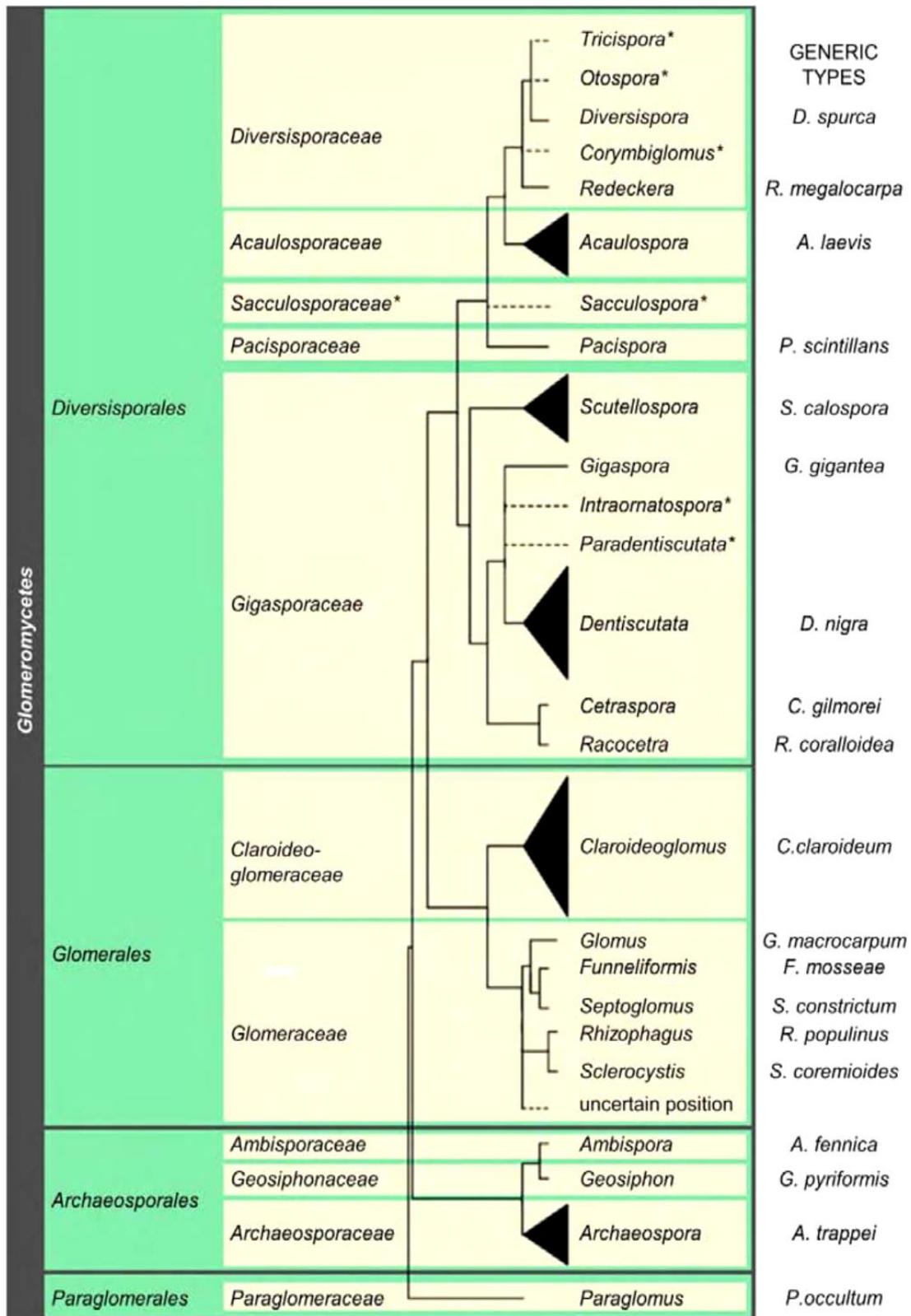


Figure 3: Classification des champignons mycorhiziens à arbuscules (Redecker et al., 2013).

2.6. Cycle de vie des CMA

Les CMA sont des biotrophes obligatoires, car ils sont hétérotrophes pour le carbone et sont incapables de compléter leur cycle de vie de manière asymbiotique. L'établissement de la symbiose mycorhizienne à arbuscules débute par le contact entre une racine compatible avec les hyphes germinatives produites par les propagules du CMA (spores asexuées ou racines déjà mycorhizées). Le cycle de développement des CMA se divise en cinq stades (Bonfante, 1984). (Figure2).

Stade 1 : germination des spores et émergence d'un mycélium primaire, ou promycélium ;

Stade 2 : contact racinaire et développement d'un appressorium ;

Stade 3 : pénétration de CMA dans la racine et mise en place de la forme intraracinaire du champignon ; le mycélium pénètre à l'intérieur du système racinaire, se renfle en vésicules et forme des arbuscules ;

Stade 4 : le mycorhize ainsi formé produit un réseau extraracinaire le long duquel sont différenciées de nouvelles spores ;

Stade 5 : après leur maturation, ces spores seront à l'origine du promycélium de départ (Stade1).

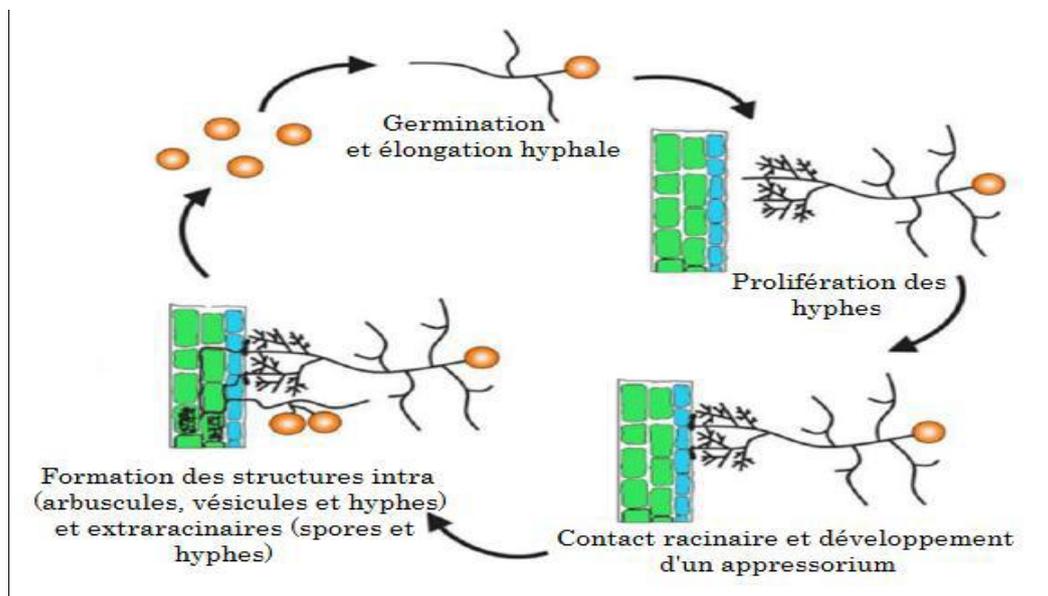


Figure 2 : Cycle de vie des CMA (Akiyama, 2007).

Les CMA produisent un grand nombre de spores rondes à parois épaisses, d'un diamètre de 50 à 280µm contiennent environ 2000 noyaux par spore, stockant de grandes quantités d'éléments carbonés, principalement sous forme de lipides de réserve (**Sancholle et al., 2001**). La colonisation des racines par ces champignons suit une série des trois phases.

2.6.1. Phase asymbiotique

Germination de la spore et ramification de l'hyphe germinative les spores peuvent germer spontanément et produire un hyphe germinatif et quelques ramifications primaires sans stimulus exogène (**Siquiera et al., 1985**). Lorsqu'aucun partenaire végétal est à proximité, les hyphes germinatifs se cloisonnent et le cytoplasme se rétracte dans la spore (**Requena et al., 2007**). Les spores des CMA sont capables de germer ou d'entrer à nouveau en dormance de nombreuses fois, si des signaux racinaires ne sont pas perçus (**Koske, 1981**).

2.6.2. Phase pré-symbiotique

Le dialogue entre la plante et le champignon mycorhizogène Avant le premier contact physique, les deux partenaires de la symbiose émettent des signaux dans le sol, qui leur permettent d'être informés de leur présence respective. Un certain nombre de gènes impliqués dans l'établissement de la symbiose seront alors activés (**Bonfante et al., 1980**).

2.6.3. Phase symbiotique

Colonisation des racines de l'hôte Les champignons forment une structure renflée au contact de l'épiderme appelée hyphopode. Les cellules végétales réorganisent leur cytosquelette et forment un système membranaire de pré-pénétration, qui va permettre au champignon d'entrer et d'atteindre la zone corticale de la racine pour y développer des structures hyper-ramifiées appelées arbuscules, lieu d'échanges entre les partenaires (**Genre et al., 2005**).

3. Plantes étudiées

2.1. *Salvia officinalis*

3.1.1. Généralité

La sauge (*Salvia officinalis*) est une espèce végétale appartenant à la famille des *Lamiaceae*. C'est une famille cosmopolite d'arbres contenant environ 31 genres et 2700 espèces. En Algérie, 30 espèces végétales sont répertoriées dans diverses régions et classées selon leurs caractéristiques morphologiques. Les plantes de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle et en préparation culinaire (**Longaray et al., 2007, Maksinovic et al., 2007**).

Originnaire des pourtours de la méditerranée, la Sauge est intimement liée à la région judéo-chrétienne. Dans la bible, c'est en effet cette plante qui sauva marie et son enfant jésus des bourreaux d'Hérode qui sacrifiaient les nouveau nés (**Rober et Rombi ,2007**).

La Sauge est une panacée. Son nom est déjà une sorte de diplôme d'efficacité puisque *Salvia* vient du verbe latin *salvare* qui signifie « **sauver** » ; mais elle a aussi à son actif le plus beau palmarès de citations à l'ordre de la santé qu'on puisse imaginer.

Elle est connue à l'époque des pharaons, la Sauge a traversé les siècles et les continents aussi bien comme aliment que médicament.

Pour les romains, elle est « **l'herbe sacrée** » qui se récolte avec un cérémonial spécial, sans l'intervention d'outils de fer (or, il est prouvé maintenant que les sels de fer sont une substance incompatible avec la Sauge).

La Sauge est utilisée depuis longtemps, pour ses vertus médicinales. Chez les grecs, elle était déjà connue, pour ses propriétés digestives et anti-infectieuses.

Dans les traditions amérindiennes, lors de la cérémonie de la fumée, on la brûle pour chasser les mauvais esprits, les mauvais sentiments. Elle est enfin indispensable au folklore provençal, ou la tradition veut qu'elle soit récoltée au petit matin de la Saint-Jean.

La Sauge reconnue par les chinois, ces derniers n'hésitaient pas à échanger leurs feuilles de thé les plus précieuses contre des feuilles de Sauge.

Au XVI^{ème} siècle, le botaniste Jacob Tabernae-Montanus raconte que les femmes Egyptiennes avaient l'habitude de boire du jus de *Sauge* pour accroître leur fertilité.

Au, XVIII^{ème} siècle, on roulait les feuilles de Sauge comme des cigarettes. Tous les asthmatiques se mettaient à fumer de la Sauge dès l'apparition du premier pollen printanier. La plante était associée avec l'immortalité et la longévité. Certains groupes d'amérindiens mélangeaient la Sauge avec la graisse d'ours pour guérir les problèmes de peau. Elle à également été utilisée pour traiter les verrues (**Leclerc, 1983**).

3.1.2. Caractéristiques morphologiques

Salvia officinalis est un arbuste vivace de 30 à 60 cm de hauteur, à tiges ligneuses formant des rameaux quadrangulaires dressés et velus, aux feuilles ovales et allongées, gris verdâtre en raison d'une pubescence cotonneuse sur la face inférieure. Cette plante se caractérise par une

odeur aromatique et de petites fleurs bleu violettes qui s'épanouissent en Juin ou Juillet (Benkherara et *al.*, 2011).

- **Feuille**

Feuilles assez grandes, épaisses, vert-blanchâtres, et opposées. Cette herbe est utilisée depuis des siècles pour ses vertus digestives, antispasmodiques et laxatives (Rombi et Robert, 2007).

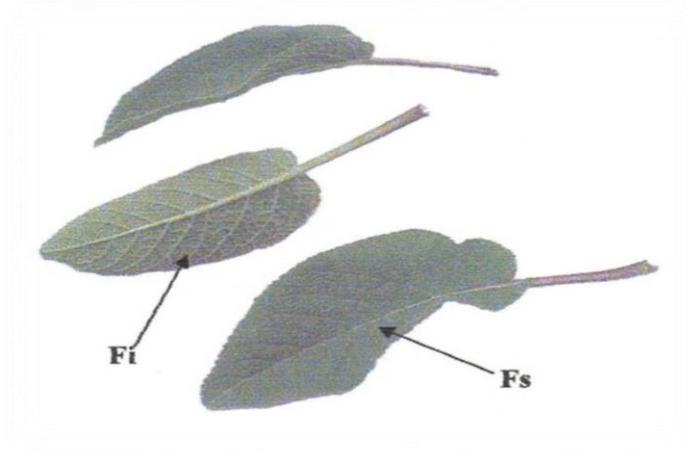


Figure 5 : Feuilles de *Salvia officinalis* (Teuscher et *al.*, 2005).

(**Fi** : Face inférieure, **Fs** : Face supérieure)

- **Fleur**

Elle est d'environ 2cm de long, à corolle bien violet nettement bilabée à pédoncules courts, tubuleuse groupées par trois, en faux verticilles (Bruneton, 1993). Elles sont zygomorphes, leur calice est pubescent, persistant et ponctue de glandes sécrétrices, en forme de clochettes ovales de 1 à 14cm de long. Il comprend 5 sépales soudées à la base, leur corolle bilabée comprend 5 pétales soudées, de couleur violet clair, les bractées sont ovales (Teuscher et *al.*, 2005).



Figure 6 : Fleurs de *Salvia officinalis*. (Boudjima,2014)

• **Fruit**

Est un tetrakène lisse persistant au fond du calice, de couleur brun foncé à noir, chaque akène de forme globuleuse, à 2 mm de diamètre (Brunton ,1993).

La graine est exalbaminée (Botinreau, 2010). Selon Beloued (2001), la floraison s'étend entre mars et mai et selon Cabaret (1986) elle s'étendrait de mai à juillet, avril pour les climats les plus doux, cependant ne fleurit pas sous les climats trop frais .

3.1.3. Classification

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Salvia*

Espèce : *Salvia officinalis* L., 1753

3.1.4. Nomenclature

Plusieurs appellations ont été données à *Salvia officinalis*. En français elle s'appelle la sauge. Selon Ibn El Beytar, les andalous la nomment "essalma". En Espagne, elle est appelée "salbia" par les botanistes. Les Algériens lui confèrent l'expression "souek ennebi" comme synonyme de Salème et la nomment aussi mayramia. (Longarayet *al.*, 2007, Maksinovic et *al.*, 2007).

3.1.5. Répartition géographique

La sauge officinale est originaire du pourtour du bassin méditerranéen. Elle pousse dans les zones tempérées ; son habitat type se situe dans les pelouses basophiles méso-méditerranéennes, méso-xérophiles. Aire de répartition : introduite d'Asie occidentale (Alloun, 2013).

Les espèces du genre *Salvia* représentent un groupe d'espèces cosmopolites, qui montrent une gamme remarquable de variation (Pistelli, 2006). Ce genre est distribué dans trois régions principales dans le monde: 530 espèces à l'Amérique centrale et latine, 250 espèces en Asie centrale et en régions méditerranéennes, 30 en Afrique du Sud et 90 espèces en Asie de l'Est (fig. 2) (Walker *et al.*, 2004).

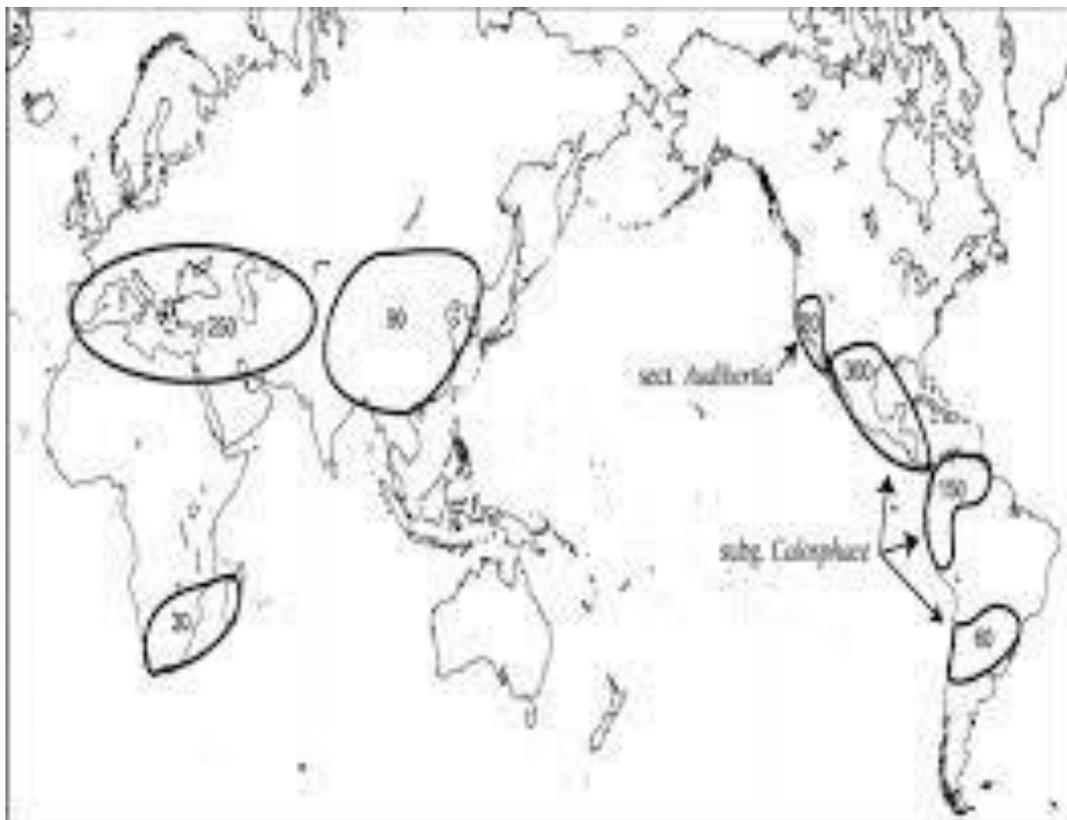


Figure 7 : Répartition géographique du genre *Salvia* dans le monde (Walker *et al.*, 2004).

3.2. *Rosmarinus officinalis*

3.2.1. Historique

Rosmarinus officinalis (romarin) est un arbuste aromatique appartient à la famille des lamiacées (labiées) qui est connus depuis l'oligocène. C'est l'une des familles les plus répandues dans le bassin méditerranéen et spécialement en Algérie. Elle comprend plus de 3300 espèces et environ 200 genres (Bruneton, 1993). Il doit son nom au latin *ros*, rosée et *marinus*, marin. En effet, d'après la légende, le romarin est une plante que l'on retrouvera seulement dans les régions où s'étend la rosée venant de la mer, au petit jour. Dans d'autres régions, on le surnomme "la Rose de mer" en latin *Rosa marina* qui a donné son nom au genre (Escuder,2007).

Le romarin est un symbole des fêtes, funéraires, il était abondamment utilisé pour confectionner des couronnes. Tout d'abord destinées à parer les jeunes épouses lors de la cérémonie, ces feuilles ont par la suite orné les têtes des étudiants en Grèce, car le romarin était reconnu pour avoir une action stimulante sur les fonctions mentales (Bellakhdar, 2006).

3.2.2. Caractéristiques morphologiques

Rosmarinus officinalis est un arbuste ou sous-arbrisseau qui pousse en touffes ; très odorant (Beloued, 2009) (fig8).



Figure 8 : La plante de Romarin (Makhloufi, 2009)

- **Feuille**

Les feuilles sont étroitement lancéolées linéaires, faibles et coriaces, les fleurs d'un bleu pale, maculées intérieurement de violet sont disposées en courtes grappes denses s'épanouissent presque tout au long de l'année (**Gonzalez-Trujano et al., 2007 ; Atik Bekkara et al., 2007**).



Figure 9 : Feuille de *Rosmarinus officinalis* L. (**Bousbia, 2011**)

- **Fleur**

Les fleurs sont des pentamères, en général Hermaphrodites. Le calice est plus ou moins bilabié persistant et la corolle bilabée, longuement tubuleuse, parfois à 4-5 lobes subégaux ou à une seule lèvre inférieure trilobée, la supérieure est bilobée. L'androcée est formé de 4 étamines, la cinquième étant très réduite, parfois 2 étamines et 2 staminodes. Le Gynécée forme 2 carpelles biovulés subdivisés chacun par une fausse cloison en 2 logettes uniovulées (Madadori ,1982).le style bifide gymno basique est le fruit constitué par 3 akènes plus ou moins soudées par leur face inter.



Figure 10 : La fleur de *Rosmarinus officinalis* L(Bousbia, 2011)

• **Tige**

Arbuste ou sous arbrisseau, rameau de 0.5 à 2 mètres cette tige est tortueuse, anguleuse et fragile. L'écorce est linéaire à cyme axillaire plus ou moins simulant des épis (Sanon, 1992).

3.2.3. Classification

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Rosmarinus*.

Espèce : *Rosmarinus officinalis* (Gaussen et al.,1982).

3.2.4. Répartition géographique :

Rosmarinus officinalis est indigène à la Méditerranée où il pousse sauvage, il peut notamment être trouvé près du littoral méditerranéen en Espagne, au Portugal, au Maroc et en Tunisie où il peut atteindre 6 pieds de haut. - Le romarin prospère mieux dans les régions chaudes et ensoleillées près des plages, ce qui fait du littoral méditerranéen un lieu de croissance parfait, *R. officinalis* a reçu son nom commun d'où il peut être trouvé en abondance, près de la mer (**González-Trujano et al., 2007**), Le romarin à être trouvé dans une herboristerie italienne, vers 1500 (**Foley, 1974**).

Chapitre II : Matériels et Méthodes

Des travaux ont montré que l'inoculation mycorhizienne favorise, non seulement, la croissance des plantes médicinales mais améliore également la productivité et la quantité des composés phytochimiques.

Cette recherche bibliographique a pour objectif de :

- ✓ Etablir le **statut mycorhizien** de deux espèces de plantes aromatiques et médicinales appartenant à la famille des lamiacées :
 - *Rosmarinus officinalis*
 - *Salvia officinalis*.

1. Matériel

Deux espèces de Lamiacées ont fait l'objet de notre étude, il s'agit du romarin *Rosmarinus officinalis* et de la sauge *Salvia officinalis*. L'échantillonnage a été réalisé sur des individus cultivés dans les jardins de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Saad Dahlab Blida1.



Rosmarinus officinalis



Salvia officinalis

Figure 11 : Aspect morphologique de *Rosmarinus officinalis* et *Salvia officinalis*.

Pour chaque espèce végétale, trois individus sont choisis au hasard, autour du pied de chaque plante sélectionnée des prélèvements de racines ont été effectués. Seules les racines fines sont prélevées car elles sont plus susceptibles d'être mycorhizées et plus facilement observables au microscope.

Pour chaque individu, les racines récoltées sont bien lavées à l'eau pour éliminer toutes les particules de sol et sont découpées en fragments d'environ 1,5 à 2cm de longueur. Les fragments racinaires ainsi obtenus sont réservés dans des boites de petri soigneusement étiquetées.



Figure 12 : Racines nettoyées et découpées

2. Méthodes

2.1. Mise en évidence de la colonisation mycorhizienne à arbuscules

Les CMA ne provoquent pas des changements morphologiques évidents aux racines cependant, ils produisent des structures caractéristiques (arbuscules et vésicules) dans les racines. Leur mise en évidence est réalisée grâce à une adaptation de la technique de **Philips et Hayman (1970)**.

Cette technique nécessite trois étapes : l'éclaircissement des racines, la coloration des CMA et en fin, l'observation au microscope photonique.

2.1.1. Éclaircissement

Les fragments racinaires sont d'abord mis dans une solution de potasse (KOH) à 10% à l'étuve à 90°C afin de décolorer les tissus en vidant les cellules de leur contenu et de ne laisser que les parois cellulosiques facilitant ainsi l'observation des structures des champignons endomycorhiziens à l'intérieur des racines. Cette étape a nécessité 60 mn pour

Salvia officinalis et 90 mn pour *Rosmarinus officinalis*. Les fragments racinaires sont ensuite abondamment rincés à l'eau de robinet et trempés dans un bain d'acide lactique à 10% pendant 5mn pour neutraliser le KOH restant.

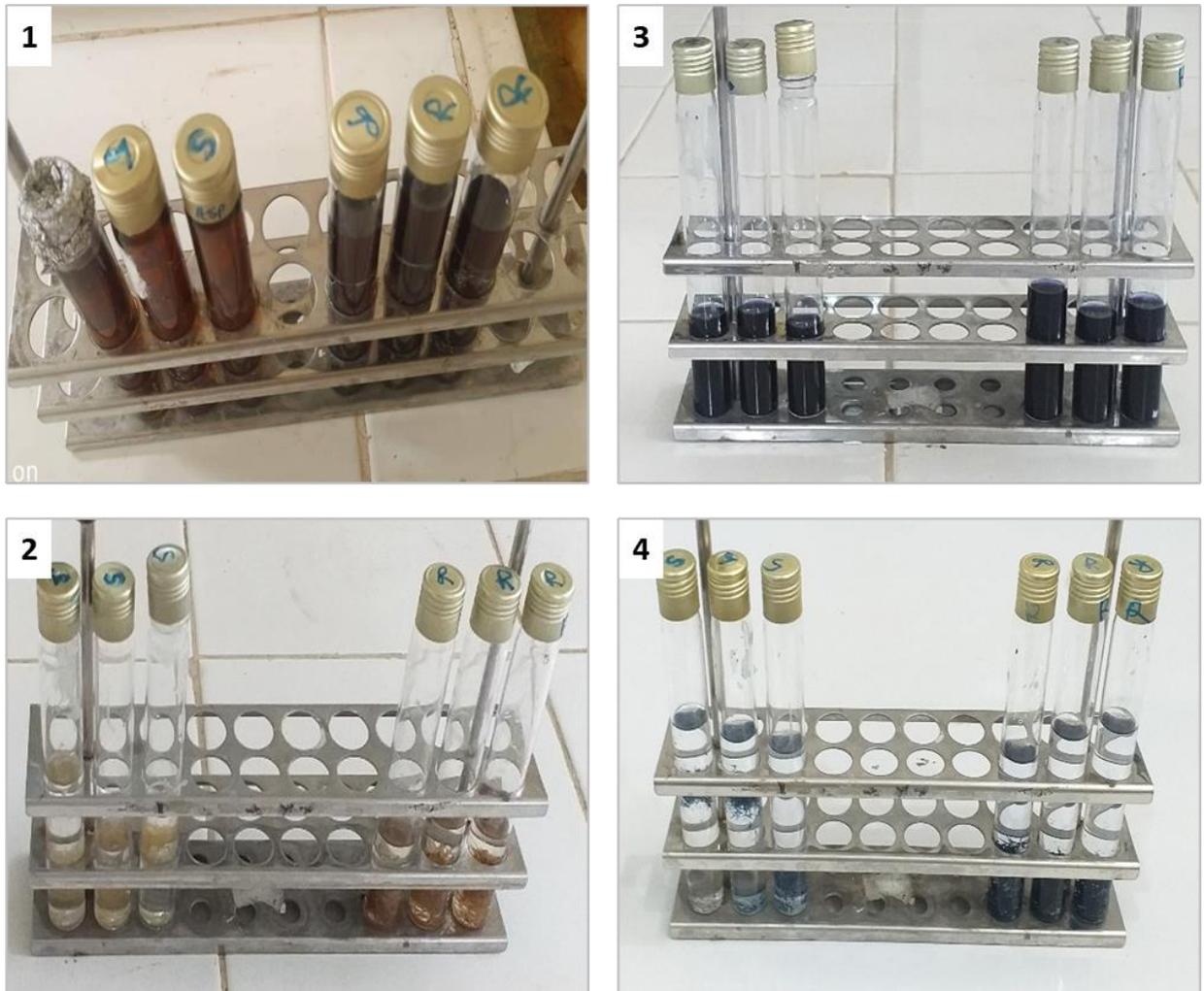


Figure 13 : Mise en évidence de la colonisation mycorhizienne à arbuscules.

- 1 : Eclaircissement dans KOH à 10%,
- 2 : Neutralisation du KOH restant avec l'acide lactique à 10%,
- 3 : Coloration avec le bleu Trypan à 0.05%,
- 4 : Conservation dans un mélange glycérol-acide lactique-eau

2.1.2. Coloration

Les racines ainsi éclaircies, sont ensuite colorées dans une solution de bleu trypan à 0,05% (Annex) pendant 20 minutes à 90°C puis rincés avec l'eau de robinet afin d'éliminer l'excès de colorant. Les racines colorées sont conservées dans un mélange glycérol-acide lactique-eau (1/1/2) (v/v/v).

2.1.3. Montage et observation

Les fragments racinaires sont montés entre lames et lamelles. La mycorhization s'observe à l'examen au microscope photonique par une coloration bleu foncé des structures fongiques dans les racines.

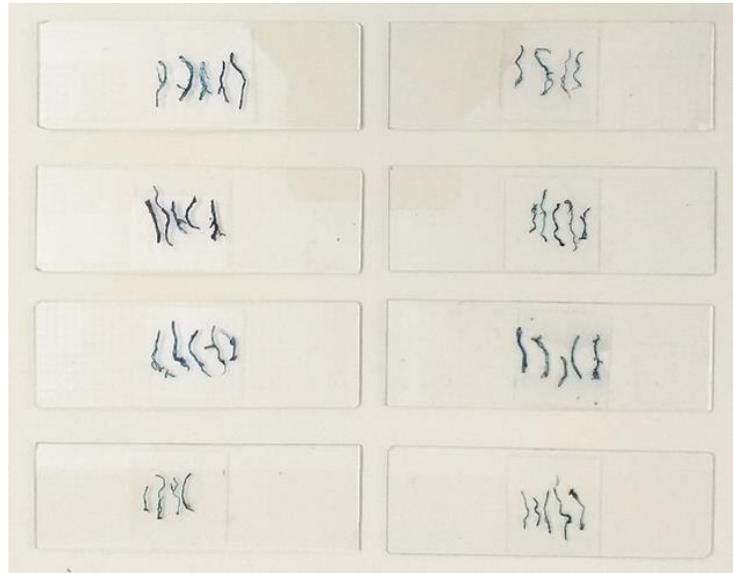


Figure 12 : Montage des fragments racinaires entre lames et lamelles

2.2. Estimation de la colonisation mycorhizienne à arbuscules

Le taux de la colonisation mycorhizienne a été estimé selon la méthode de **Trouvelot et al, (1986)**. 30 fragments racinaires colorés par la technique de **Philips et Hayman (1970)**, sont disposés parallèlement entre lames et lamelles, dans une goutte de glycérol. Cela permet de les annoter selon un barème de classe et d'estimer ainsi le degré de la colonisation mycorhizienne de chaque fragment au moyen de six classes notées de 0 à 5 (fig. 13) et la richesse arbusculaire par quatre classes notées A0, A1, A2 et A3 (fig.14).

Cette méthode calcule trois paramètres de la colonisation mycorhizienne à arbuscule :

- **F %** : Fréquence de la colonisation mycorhizienne (% du nombre de fragments racinaires mycorhizés), elle reflète l'importance des points de pénétration de la colonisation du système racinaire.

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

Où : N = nombre de fragments observés

n_0 = nombre des fragments non mycorhizés

- **M %** : Intensité de la colonisation du cortex racinaire (proportion du cortex colonisé estimée par rapport au système racinaire entier et exprimée en %), elle reflète l'importance de la colonisation du système racinaire.

M % : intensité de mycorhization relative

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

n_5 = nombre de fragments notés 5, n_4 = nombre de fragments notés 4, n_3 = nombre de fragments notés 3, n_2 = nombre de fragments notés 2

- **A %** : Teneur arbusculaire de la colonisation ramenée au système racinaire entier (proportion du système racinaire renfermant des arbuscules, exprimée en %).

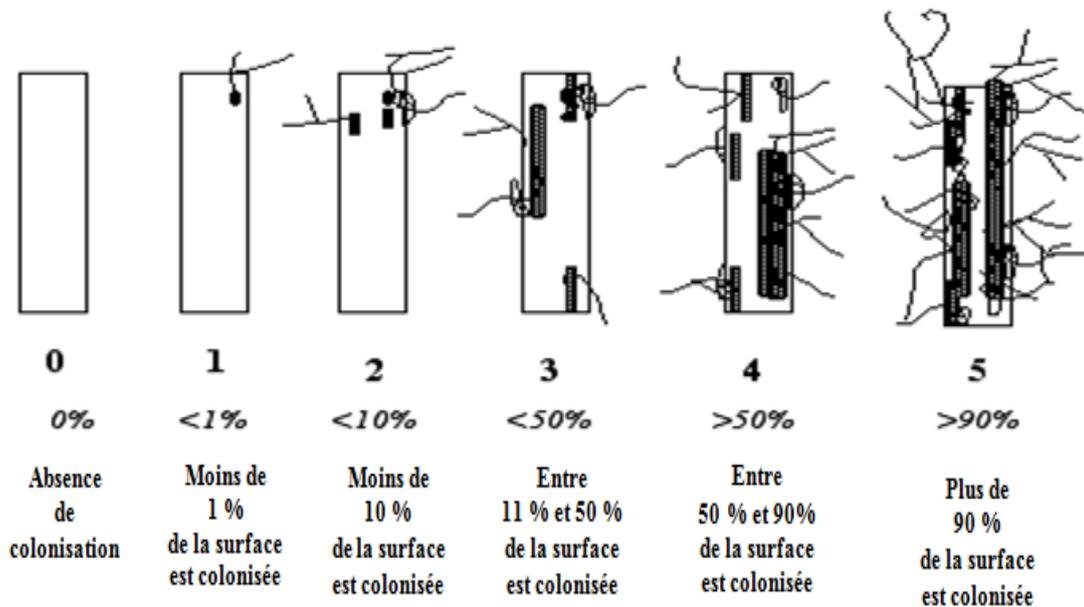


Figure 13 : Echelle d'intensité de colonisation du cortex racinaire (d'après Trouvelot et al., 1986).

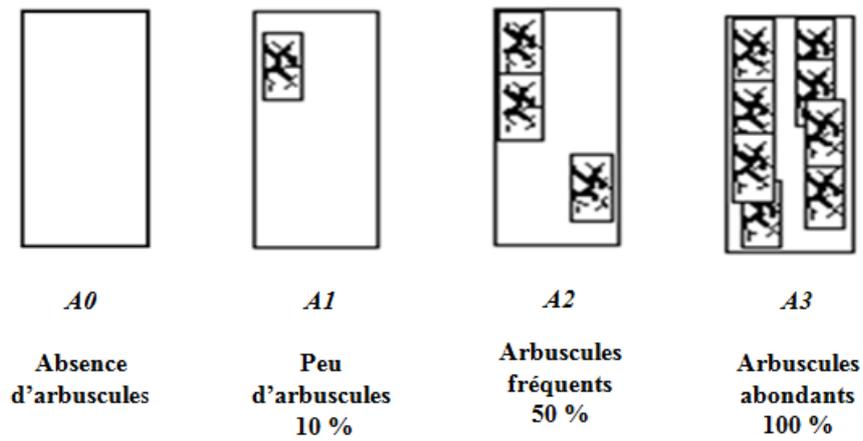


Figure 14 : Echelle d'évaluation de la présence des arbuscules (d'après Trouvelot et *al.*, 1986).

Le calcul de ces paramètres a été réalisé par l'utilisation du programme informatique MYCOCALC, disponible sur le site Internet <http://www2.dijon.inra.fr/mychintec/>

Chapitre III : Résultats et discussion

1. STATUT MYCORHIZIEN DES DEUX ESPECES

L'examen microscopique des fragments racinaires traités selon la méthode de Phillips et Hayman (1970) et colorés au bleu Trypan révèlent la présence de différentes structures caractéristiques des CMA chez les deux espèces végétales prospectées. La colonisation mycorhizienne est donc de type arbusculaire (fig.15 et 16).

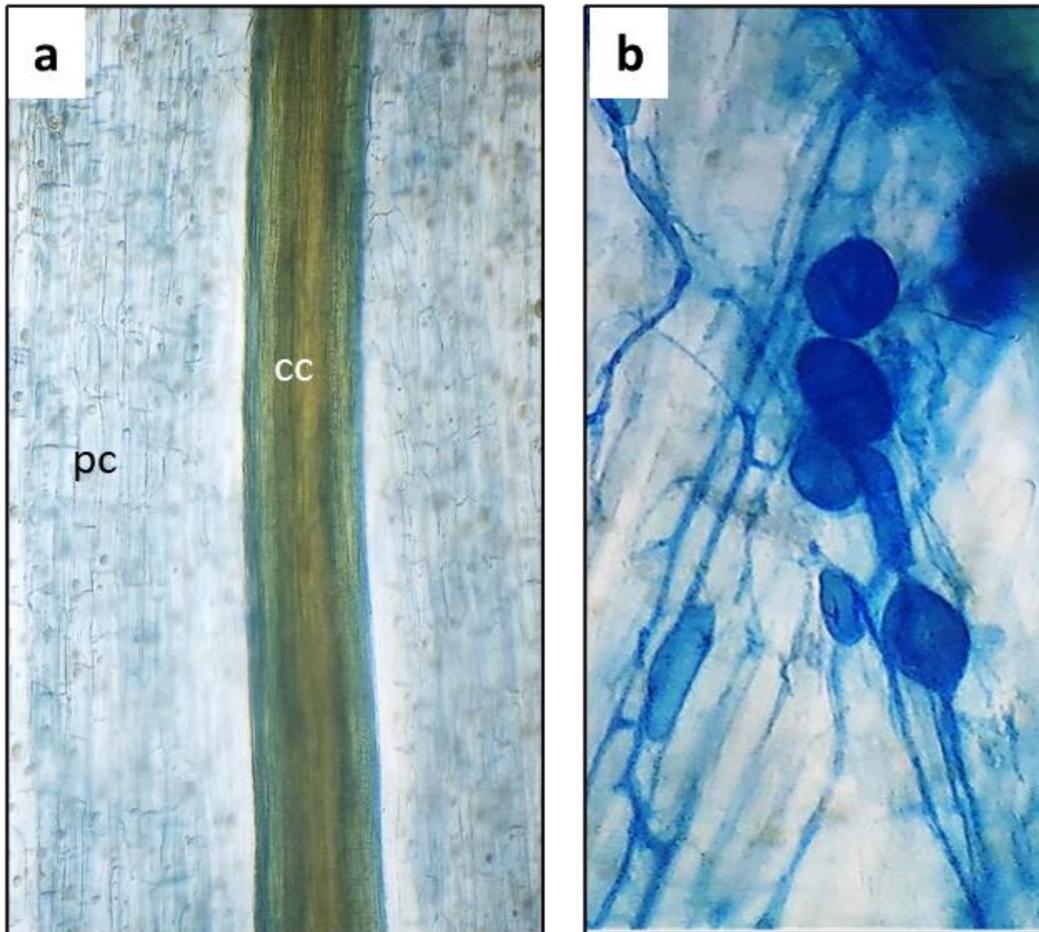


Figure 15 : Racine non mycorhizée (a) et racine mycorhizée (b) observées chez *R. officinalis*,

(cc : cylindre central , pc : parenchyme cortical)

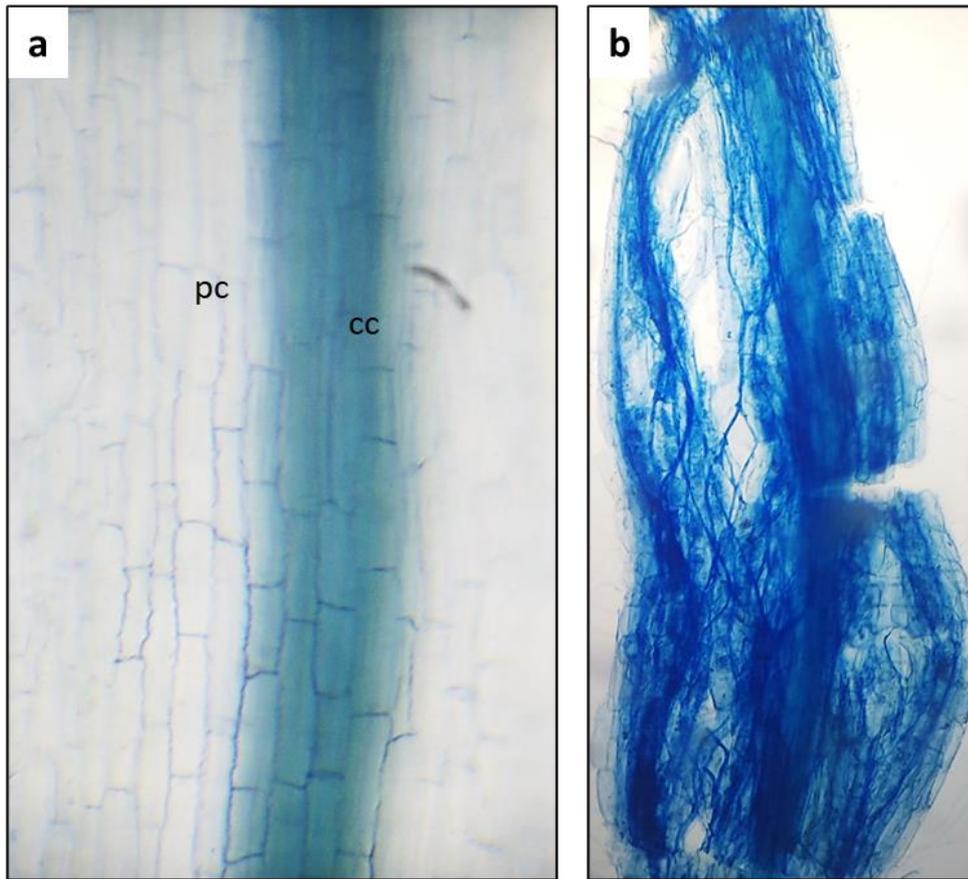


Figure 16 : Racine non mycorhizée (a) et racine fortement colonisée (b) observées chez *S. officinalis*,

(cc : cylindre central , pc : parenchyme cortical)

Les différentes structures que nous avons observées sont : les hyphes cœnocytiques extra et intra-racinaires, les arbuscules, les vésicules et les spores.

1.1.Hyphes cœnocytiques extra et intra-racinaires

Les hyphes extra-radiculaires développés à l'extérieur de la racine sont épais et fortement colorés au bleu de Trypan, ils présentent le diamètre le plus important (fig. 17a). Les hyphes intra-radiculaires (fig. 17) sont plus fines, ils peuvent être intercellulaires ou intracellulaires.

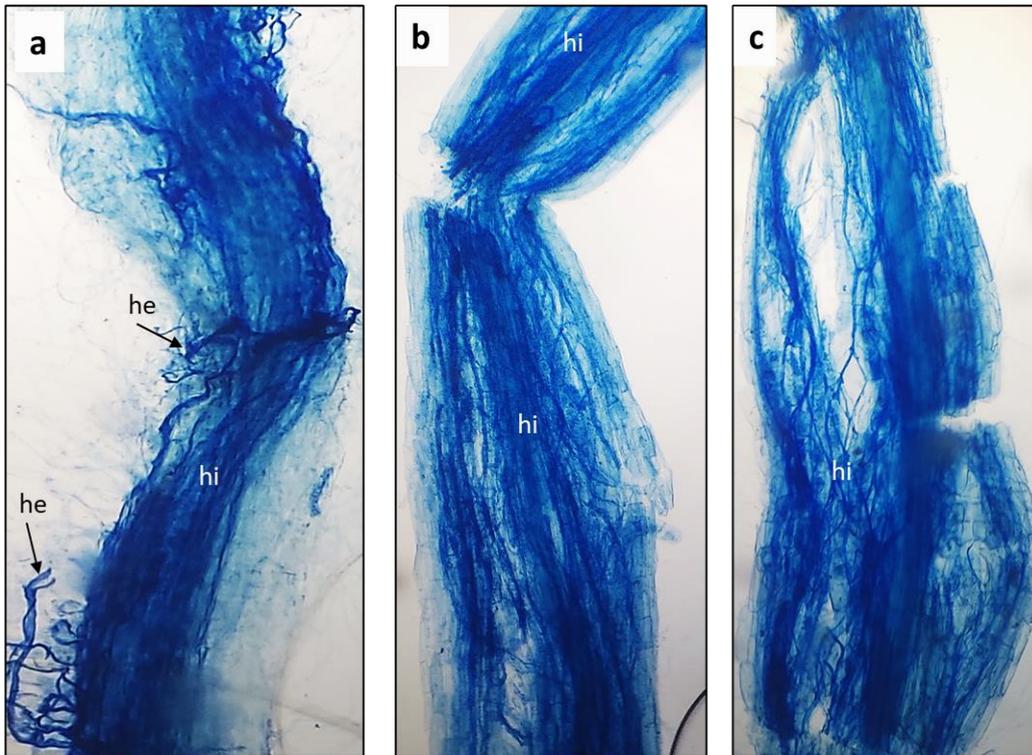


Figure 18 : Hyphes cœnocytiqes extra (he) et intra-racinares (hi) observés chez *S. officinalis*,

1.2. Arbuscules

Les hyphes intercellulaires pénètrent les cellules du cortex interne et se ramifient pour former des structures rappelant des petits arbres, les arbuscules intracellulaires, composés d'un tronc gonflé appelé le tronc arbusculaire et de ramifications de plus en plus fines (fig.19 et 20). Ils ont été rarement observés dans les racines des deux plantes étudiées.

Cela est dû au fait que nos prélèvements de racines des deux plantes ont été effectués au mois de juin, période de sénescence des mycorhizes et la présence des arbuscules est un signe d'une colonisation en phase active ils sont considérés comme des sites d'échanges nutritionnels bidirectionnels entre le champignon et la plante **hôte** (Gianinazzi et al. 1983).

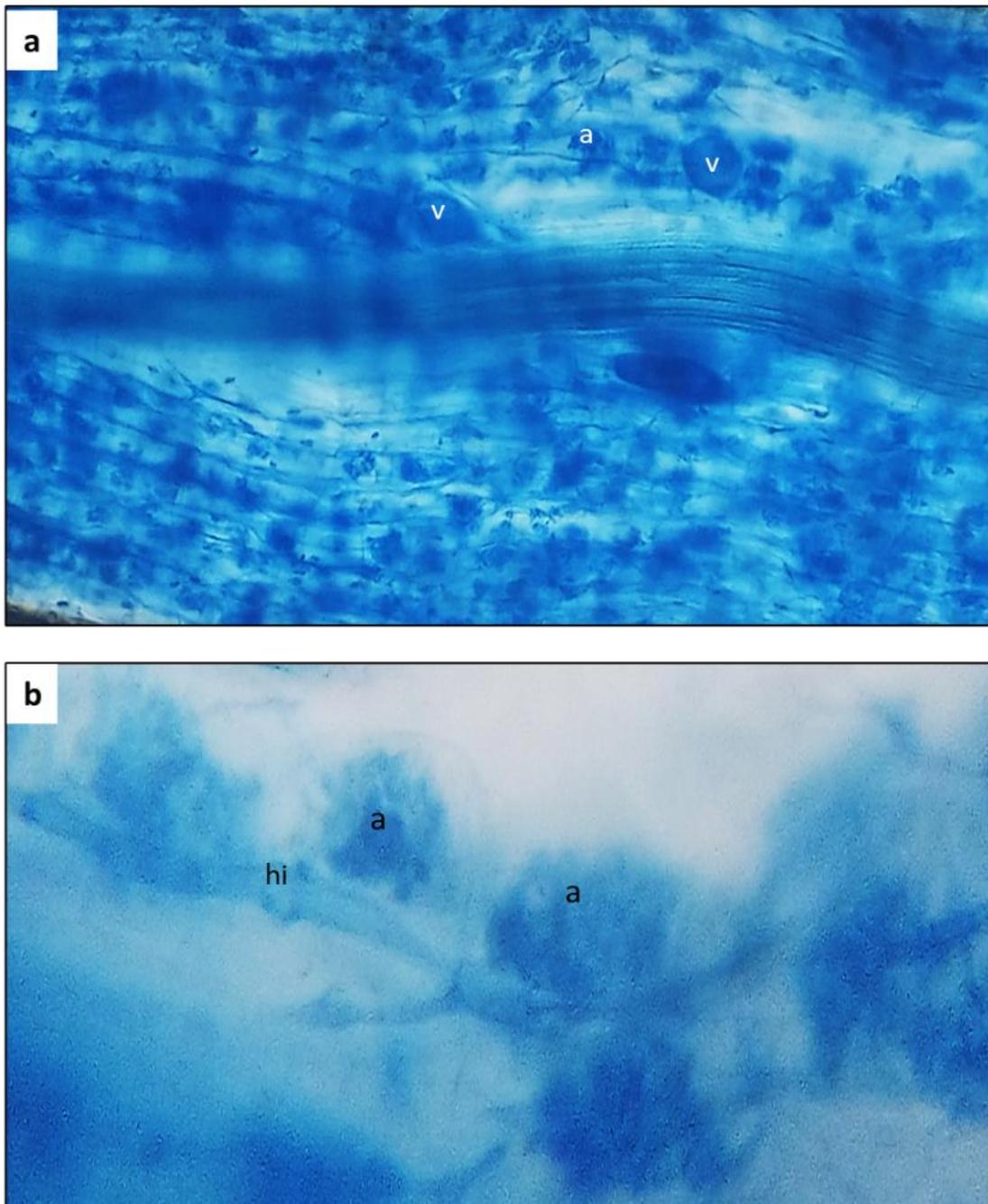


Figure 19 : Vue d'ensemble (a) et détail (b) des arbuscules observés chez *r. officinalis*.
(a : arbuscule, hi : hyphe intercellulaire, v : vésicule)

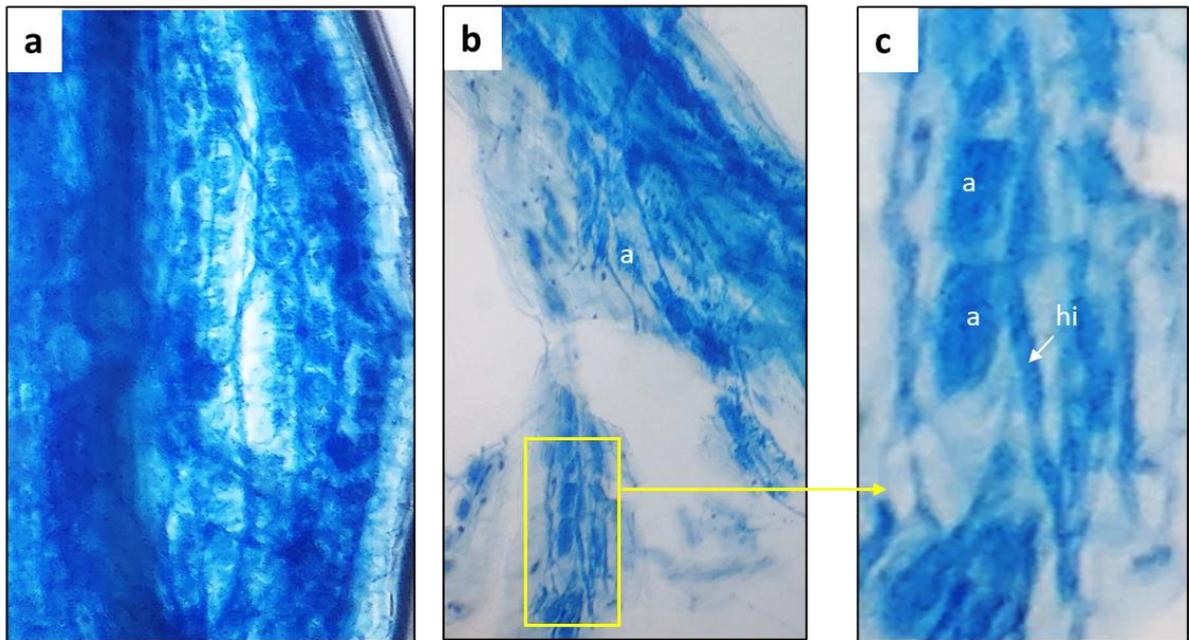


Figure 20 : Vues d'ensemble (a et b) et détail (c) des arbuscules observés chez *S. officinalis*.

(a : arbuscule, hi : hyphe intercellulaire, v : vésicule)

1.3. Vésicules

Certains hyphes se dilatent à leurs extrémités pour former d'énormes ampoules ou vésicules. Chez *R. officinalis*, elles sont observées en nombre important, de différentes formes (de sphérique à ovale ou allongées) et de différentes tailles (fig. 21). Elles sont surtout intercellulaires mais peuvent aussi se former à l'intérieur des cellules. Par contre, chez *S. officinalis*, les vésicules étaient rarement observées (fig. 22). Pour cela, nous suggérons que la majorité des espèces de CMA ayant formé des mycorhizes avec cette espèce appartiennent à l'ordre des Gigasporales.

En effet, la présence des vésicules est un signe d'une colonisation ancienne (sénescence) et la majorité des CMA forment des vésicules qui sont des structures de stockage, riches en lipides de réserve. Ces structures peuvent devenir des propagules capables de coloniser une autre plante. Elles sont absentes chez certains CMA tels que les Gigasporales (**Biermann et Linderman, 1983**).

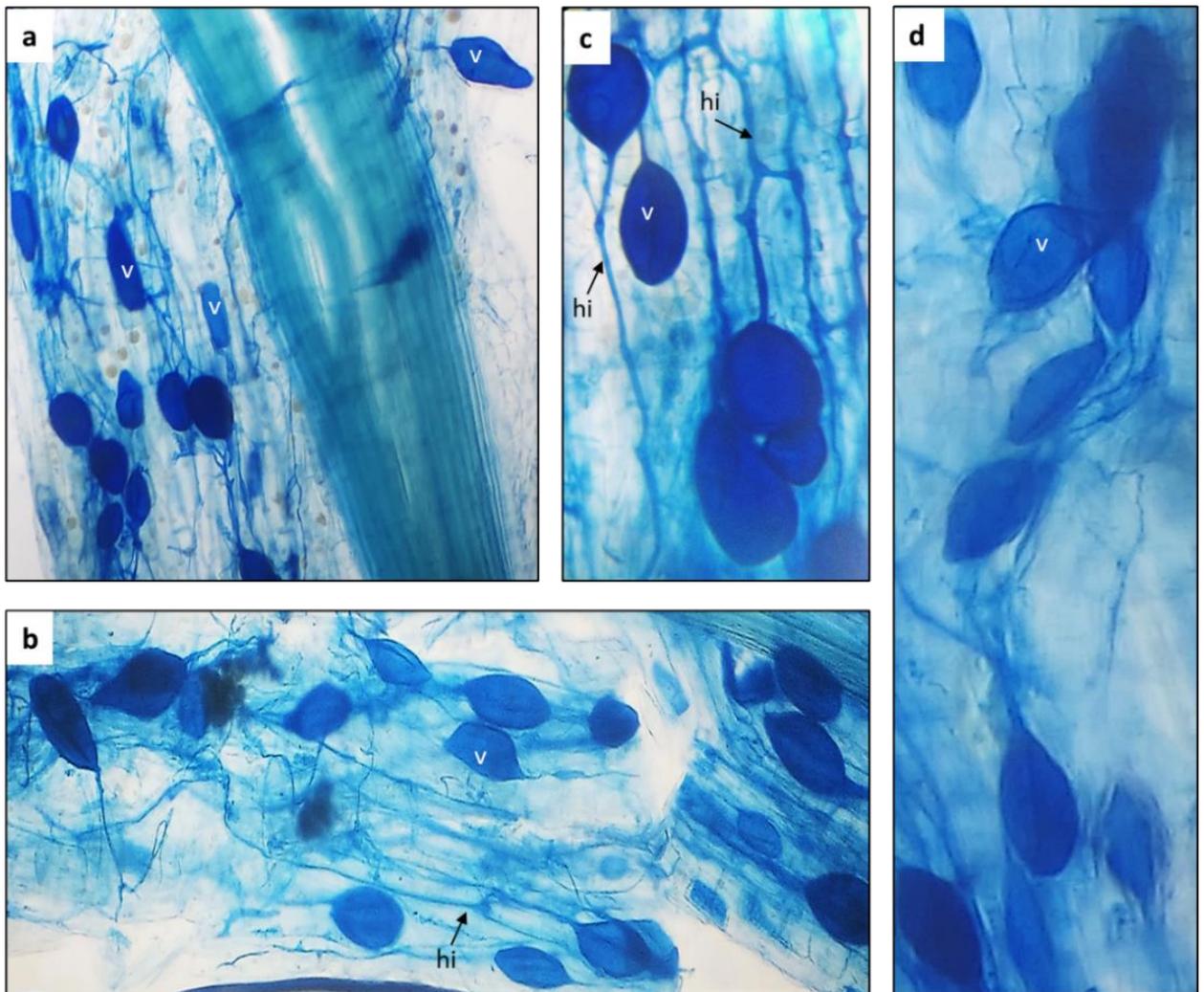


Figure 21 : Vésicules observées chez *R. officinalis*.
(hi : hyphe intercellulaire, v : vésicule)

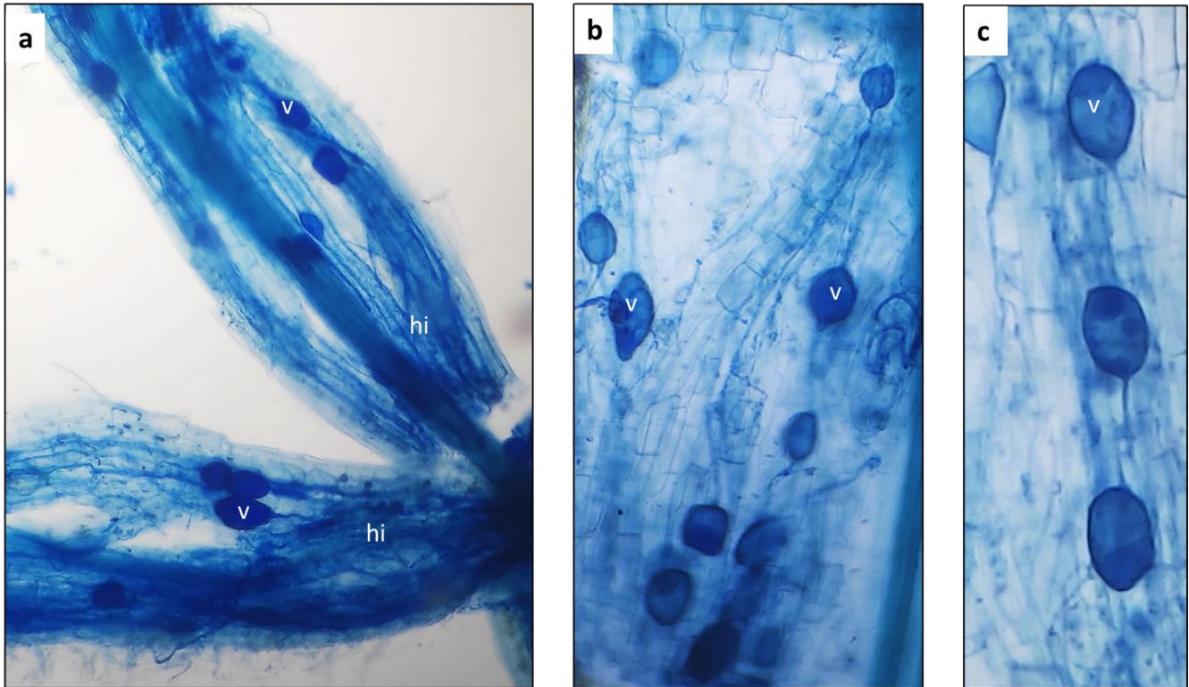


Figure 22: Vésicules observées chez *S. officinalis*.

(hi : hyphe intercellulaire, v : vésicule)

1.4. Spores

Sont des organes de stockage et de propagation, elles constituent l'organe de reproduction et de dissémination des CMA, Elles ont été observées uniquement chez *R. officinalis* (fig. 22), dans les racines, elles sont de petite taille et de forme globulaire ou sphérique. Concernant *S. officinalis*, elles se forment probablement à l'extérieure des racines dans le sol.

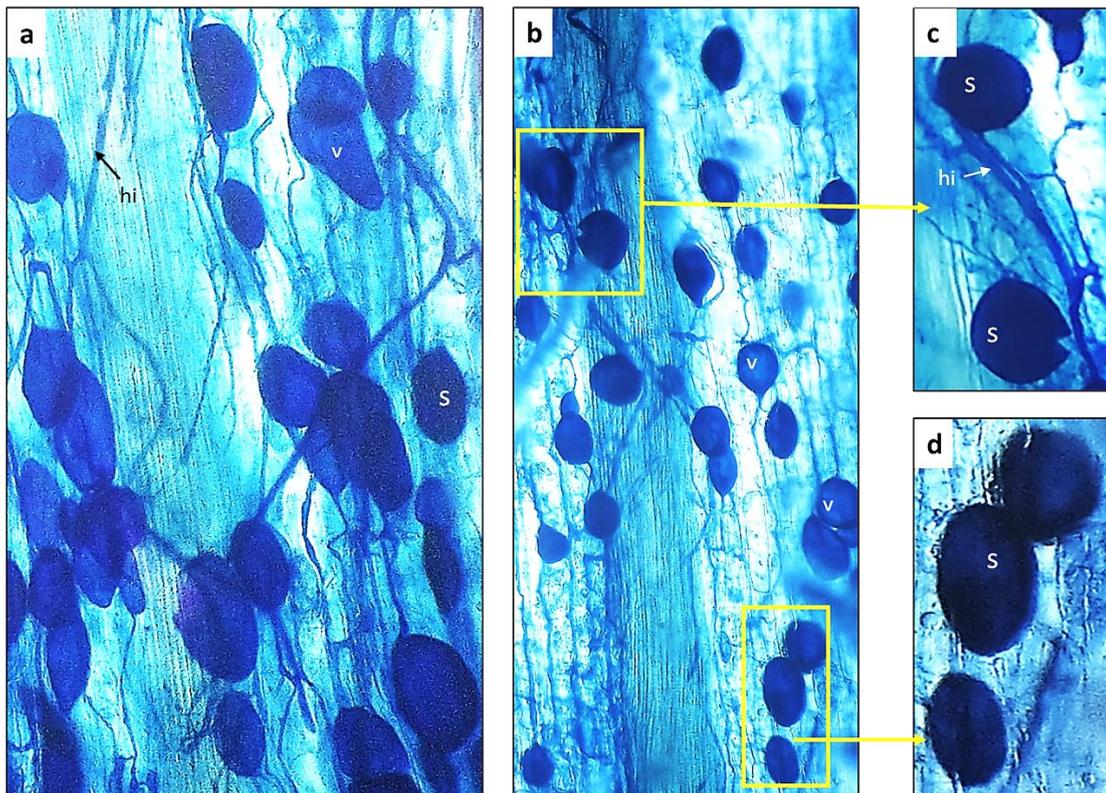


Figure 23 : Spores observées chez *R. officinalis*.

(s : spore, hi : hyphe intercellulaire, v : vésicule)

2. Estimation de la colonisation mycorhizienne

Les résultats du calcul des paramètres de la colonisation mycorhizienne arbusculaire selon la méthode de Trouvelot (1986) sont représentés dans la figure 24.

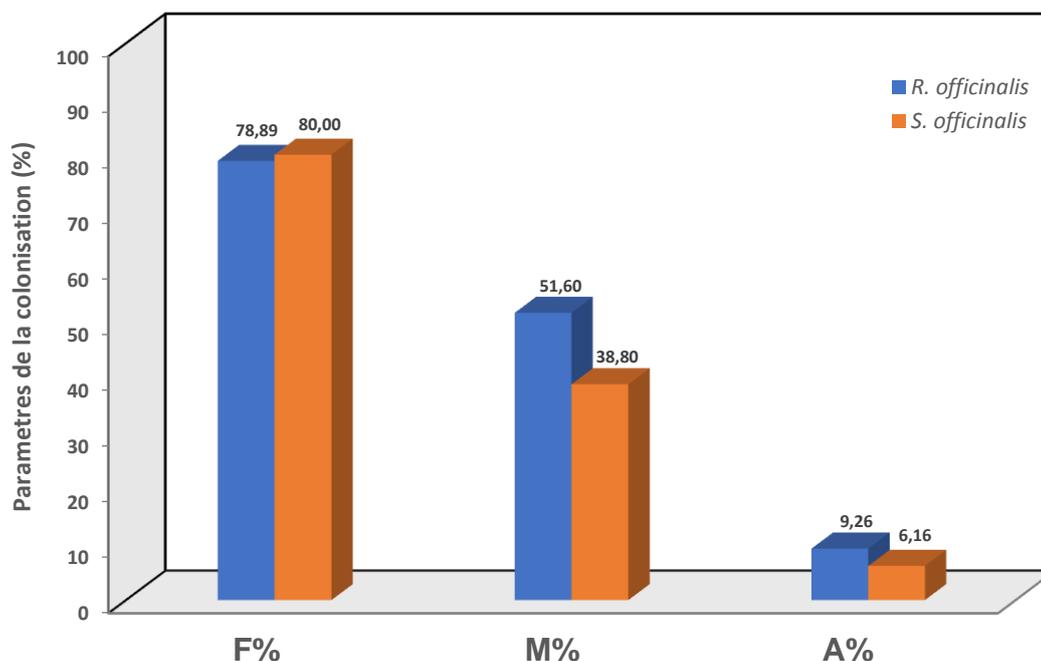


Figure 24 : Paramètres de la colonisation mycorhizienne des de *R. officinalis* et *S. officinalis*.

(F% : Fréquence de mycorhization, M% : Intensité de mycorhization, A% : Teneur arbusculaire)

- **Fréquence de mycorhization (F%)**

Ce paramètre reflète l'importance des points de pénétration de la colonisation du système racinaire. Les valeurs de F% (fig. 24) montrent que les deux espèces de lamiacées sont fortement mycorhizées. En effet, le pourcentage du nombre de fragments racinaires mycorhizés était de 80% pour *S. officinalis* et de 78,89% pour *R. officinalis*. L'analyse de la variance (ANOVA) au seuil 5% révèlent une différence non significative de la fréquence de mycorhization (F%) ente les deux espèces.

- **Intensité de mycorhization (M%)**

Ce paramètre représente la proportion du cortex colonisé estimée par rapport au système racinaire entier (en %), il reflète l'importance de la colonisation du système racinaire. Les résultats (fig. 24) montrent que le cortex du système racinaire de *R. officinalis* est plus fortement colonisé (M%=50,60%) par les CMA que celui de *S. officinalis* (M%=38,80%). En effet, l'analyse de la variance (ANOVA) au seuil 5% révèle une différence significative de M% ($P < 0,05$) entre les deux espèces.

- **Teneur arbusculaire A%**

Ce paramètre représente l'abondance en arbuscules dans le système racinaire. De faibles valeurs de A% ont été enregistrés (fig.24) aussi bien pour *R. officinalis* (9,26%) que pour *S. officinalis* (6,16%). L'analyse de la variance (ANOVA) au seuil 5% n'a révélée aucune différence significative entre les deux espèces.

Cette faible teneur en arbuscules est dû à la période de prélèvement des racines qui correspond période de sénescence des mycorhizes.

Conclusion

Notre étude a porté sur l'évaluation du statut mycorhizien de deux espèces de plantes médicinales et aromatiques appartenant à la famille des lamiacées, *Rosmarinus officinalis* et *Salvia officinalis*.

La présence de champignons mycorhiziens est détectée dans les racines des deux espèces étudiées. La mycorhization est naturellement établie, les mycorhizes sont de type arbusculaire. Les différentes structures mise en évidence sont : des hyphes cœnocytiques extra et intra-racinaires, de rares arbuscules, des vésicules et des spores intraracinaires. La présence de vésicules et de spores est signe d'une colonisation ancienne (sénescence).

Les deux espèces sont fortement mycorhizées. Le cortex racinaire de *R. officinalis* est plus fortement colonisé par les CMA comparé à celui de *S. officinalis*. La teneur en arbuscules est faible pour les deux espèces.

Afin de compléter et de poursuivre ce travail, des perspectives peuvent être envisagées comme l'isolement des spores de CMA associées à la rhizosphère des deux espèces suivies de leur identification basée sur des critères morphologiques et moléculaires.

***Références
bibliographiques***

1. **Almanza R.P. & al., (2000).** Metodologías básicas para el trabajo con Micorriza Arbuscular y Hongos formadores de Micorriza Arbuscular. Cochabamba.
2. **Almeida R. T., Schenck N. C., 1990.** A revision of the genus *Sclerocystis* (Glomaceae, Glomales). *Mycologia*, 82: 703-714.
3. **Akiyama, K., 2007.** Chemical identification and functional analysis of apocarotenoids involved in the development of arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Bioscience Biotech. Biochem.*, 71(6): 1405-1414.
4. **Atik bekkara F., Bousmaha L., Taleb bendiab S. A., Boti J. B., Casanova J. 2007.** Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*. 7: 6-11.
5. **Brundrett M.C., 2009.** Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding global diversity of hostplants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant Soil*, 320:37-77.
6. **Alloun K.2013-** Composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de l'aneth (*Anethum graveolens* L.), de la sauge (*Salvia officinalis* L.) et de la rue des montagnes (*Ruta montana* L.) Thèse de doctorat.
7. **Bonfante-Fasolo P., Grippioli R., 1980.** Données actuelles sur la cytologie des mycorhizes. In: Les mycorhizes, partie intégrante de la plante: biologie et perspectives d'utilisation. Coll. I.N.R.A., Dijon, France, 13 : 25-36
8. **Bonfante-Fasolo P., 1984.** Anatomy and morphology of VA mycorrhizae. En: Powell CL, Bagyaraj DJ (eds) VA mycorrhiza, CRC Press, Boca Raton, pp. 5-33.
9. **Barea J.M. y Honrubia M., 1993.** Micorrizas y revegetación. *Ecosistemas*, 4: 46-47.
10. **Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed., Lavoisier, TEC et DOC., Paris 1ère édition, 440 p.
11. **Bruneton J. 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier TEC et DOC 1ème édition, Paris.
12. **Bellakhdar J. 1997.** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ibis Press (Ed). Paris, 764p.
13. **Brundrett M., Bougler N., Dell B., Grove T. & Malajczuk N. (2009).** Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra, Australia, 344 pp.
14. **Benkherara S., 2011.** Revue des sciences et de la technologie. Ed. Université Badji Mokhtar- Annaba, N°2 : 72-78.

15. **Cabaret J., (1986)** : « 167 plantes pour soigner les animaux, phytothérapie vétérinaire, point vétérinaire ».1eme Ed., Paris, 209 p.
16. **Escuder O. 2007.** Plantes médicinales mode d'emploi. Paris : Ulmer, 255p.
17. **Fitter AH (1991).** Implication for functioning under natural conditions. *Experientia* 47(1991) 350-35.
18. **Fortin J.A., Plenchette C., Piché Y., 2008.** Les mycorhizes. La nouvelle révolution verte. MultiMonde Quae. (Eds.), Québec, 131 p.
19. **Gaussen, H., Leroy, J.F., et Ozenda, P. (1982).** Précis de botanique, végétaux supérieurs.vol.2. Paris: 2ème ed. Masson.
20. **Genre A., Chabaud M., Timmers T., Bonfante P., Barker D.G., 2005.** Arbuscular mycorrhizal fungi elicit a novel intracellular apparatus in *Medicago truncatula* root epidermal cells before infection. *Plant Cell.*, 17:3489–3499.
21. **González-Trujano M. E., Peña E.I., Martínez A. L., Moreno J., Guevara-Fefer P., Déciga-Campos M. 2007.** Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J. Ethnopharmacol.* 111: 476–82.
22. **Honrubia M., Morte A. and Díaz G., 2002.** Dinamismo del componente fúngico micorrízico y su incidencia en la regeneración del bosque mediterráneo. In: Charco, J. (coord.), La regeneración natural del bosque mediterráneo en la península Ibérica: evaluación de problemas y propuesta de soluciones. ARBA-MMA (eds.), ISBN 84-922095-5-0 : 87-113.
23. **Koske R. E., 1981.** *Gigaspora gigantea*: observations on spore germination of a VA-mycorrhizal fungus. *Mycologia*, 73:288–300.
24. **Kulisic T., Radonic A., Milos M, 2006,** Antioxidant properties of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) essential oils. *Italian J. Food Sci*, 17(3), 1-10p
25. **Leclerc H., 1983.** Précis de phytothérapie (thérapeutique pour les plantes françaises). 5ème Ed., Masson, Paris, 180 p.
26. **Le Tacon F., 1985.** Les Mycorhizes : une coopération entre plantes et champignons. La recherche n°166, pp. 624–632.
27. **Longaray D A.P., Ivete T.M.P., Liane A., Luciana A.S., et Sergio E. (2007).**
28. **Mikola P., 1988.** Ectendomycorrhiza of conifers. *Silvia fennica* 22: 19-27.

29. **Moser M, Haselwandter K (1983)**, Ecophysiology of mycorrhizal symbiosis, in: Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, vol. 12, pp. 392-421. Eds O. L. Lange. P. S. Nobel, C. B. Osmond and H. Ziegler. Springer, Berlin-Heidelberg-NewYork.
30. **Morton J.B., Benny G.L., 1990**. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygonycetes): A New order, Glomales, Two New busorders, Glomineae and Gigasporineae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon*, 37: 471-491.
31. **Morton J. B., Redecker D. 2001**. Two families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera Archaeospora and Paraglomus, based on concordant molecular and morphological characters. *Mycologia* 93: 181–195
32. **Maksimovic M., Danijela V., Mladen M., Marija E.S., Sabaheta A., et Sonja S.Y. (2007)**. Effet of the environmental condition on essential oil profile in two dinaric Salvia species Salvia brachyd on vandas and Salvia officinalis L. *Biochemical Systematics and Ecology*. 35, 473-478.
33. **Makhloufi A., 2009-** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Mémoire doctorat. Université Aboubaker Belkaid Bechar, 136p.
34. **Naghbi F., Mosaddegh M., Mohammadi M.S., Ghorbani A. 2005**. Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology-*Iranian journal of pharmaceutical research*, vol. 2 : pp. 63-79.
35. **Pistelli L. 2006 -** Photochemicals from lamiaceae: from nutraceuticals to Hallucinogens. International symposium The La biatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilization, Sanremo, Italy: 22-25 February 2006.
36. **Redhead J.F., 1980**. Mycorrhiza in natural tropical forest. In: Tropical Mycorrhiza Research, Mikola P. (ed.), Clarendon press, Oxford, pp. 127-142.
37. **Redecker D., Morton J.B., Bruns T.D., 2000**. Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales). *Mol. Phyloge. Evol.*, 14(2): 276-284
38. **Redecker D, Raab P, 2006**. Phylogeny of the Glomeromycota (arbuscular mycorrhizal fungi): recent developments and new gene markers. *Mycologia*, 98: 885-895.
39. **Rombi M., Robert D., 2007**. « 120 plantes médicinales ». Ed., Alpem 09, avenue Albert II Mc- 98000 MONACO, 225-227.

40. **Redecker D, Schüßler A, Stockinger H, Stürmer SL, Morton JB, Walker C (2013)** An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycorrhiza* 23: 515-531
41. **Ruissen T (2013)**. Arbuscular mycorrhizal fungi and their ecological roles : a review With a Norwegian perspective .With a Norwegian perspective .
42. **Siqueira J.O., Sylvia D.M., Gibson J., Hubbell D.H., 1985**. Spores, germination, and germ tubes of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. *Can. J. Microbiol.* 31:965–971.
43. **Schtiapp H, Dehn B, Sticher H (1987)**, Interaktionen zwischen VA-Mykorrhiza und Schwermetallbelastungen. *Angew. Bot.* 61 85-96
44. **Schenck, N.C., Pérez, Y., 1990**. Manual for the identification of VA mycorrhizal (VAM) fungi. Univ. of Florida Press, Florida, USA, pp. 241.
45. **Sanon.E., 1992**-Arbre et arbrisseaux en Algérie O.P.U. Ben Aknoun.Algerie N°686 Alger.121p.
46. **Smith SE, Read DJ (1997)**, Mycorrhizal symbiosis. Second edition. Academic Press; Harcourt Brace and Company Publishers, 605p.
47. **Sancholle M., Dalpé Y., Grandmougin-Ferjani A., 2001**. Lipids of Mycorrhizae. In: Hock (ed) *The Mycota. IX. Fungal associations*. Springer, Berlin Heidelberg, New York, pp. 63–93.
48. **Schüßler A., Schwarzott D., Walker C., 2001**. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycol. Res.* 105:1413–1421.
49. **Schüßler A., Wolf E., 2011**. Geosiphonpyriformis– a Glomeromycotan Soil Fungus Forming. Endosymbiosis with Cyanobacteria. In: *In Vitro Culture of Mycorrhizas*. eds. Declerck S., Strullu D.-G., Fortin A. *Soil Biology*, 4: 271-289.
50. **Taxter R., 1922**. A revision of Ondogonaceae. *Proc. Am. Acad. Arts Sci.*, 57: 291-351.
51. **Teuscher E., Anton R. et Lobtein A., (2005)** : « Plantes aromatiques épices aromates, condiments et huiles essentielles. Ed., Lavoisier, Paris, 444 p.
52. **Tommerup I.C., 1984**. Spore dormancy in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 81:37– 45.
53. **Toussaint J.P., 2007**. Investigating physiological changes in the aerial parts of AM plants: what do we know and where should we be heading? *Mycorrhiza* 17, 349–353.

54. **Toussaint J.P., Smith F.A., Smith S.E., 2007.** Arbuscular mycorrhizal fungi can induce the production of phytochemicals in sweet basil irrespective of phosphorus nutrition. *Mycorrhiza* 17, 291–297.
55. **ValterJacinto,2015**
<http://www.prota4u.org/protav8.asp?h=M4&p=Rosmarinus+officinalis+L.>
56. **Walker C., 1985.** Endogone lactiflua forming ectomycorrhizas with Pinus contorta. *Trans.Br. Mycol.Soc.*, 84: 353-355.
57. **Walker C., Sanders F. E. 1986.** Taxonomic concepts in the Endogonaceae: III. The separation of Scutellospora gen. nov. from Gigaspora Gerd. & Trappe. *Mycotaxon*, 27 :169-182.
58. **Walker C., Trappe J. M., 1993.** Names and epithets in the Glomales and Endogonales. *Mycol. Res.*, 97 : 339–344.
59. **Walker, J. B., Kenneth, J., Treutlein, J., & Wink, M. 2004** - Salvia (lamiaceae) is not monophyletic: Implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of Salvia and tribe Mentheae. *American Journal of Botany*, 91 (7), pp. 1115–1125.
60. **Zubek S., Stojakowska A., Anielska T., Turnau K., 2010.** Arbuscular mycorrhizal fungi alter thymol derivative contents of *Inula ensifolia* L. *Mycorrhiza* 20, 497–504.

Annexes

ANNEXE
ANALYSE DE VARIANCE

F%

<i>Groupes</i>	<i>Nombre d'échantillons</i>	<i>Somme</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Variance</i>
F%	3	236,66667	78,88889	48,1481852
F%	3	240	80	0

Analyse de variance

<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>	<i>Valeur critique pour F</i>
Entre Groupes	1,85184815	1	1,85184815	0,07692286	0,795255283	7,708647422
A l'intérieur des groupes	96,2963704	4	24,0740926			
Total	98,1482185	5				

M%

<i>Groupes</i>	<i>Nombre d'échantillons</i>	<i>Somme</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Variance</i>
M%	3	154,79997	51,59999	7,70773589
M%	3	116,40001	38,8000033	46,4533333

Analyse de variance

<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>	<i>Valeur critique pour F</i>
Entre Groupes	245,759488	1	245,759488	9,07513428	0,039453304	7,708647422
A l'intérieur des groupes	108,322138	4	27,0805346			
Total	354,081626	5				

A%

<i>Groupes</i>	<i>Nombre d'échantillons</i>	<i>Somme</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Variance</i>
A%	3	27,78333	9,26111	38,6039612
A%	3	18,466667	6,15555567	1,02370359

Analyse de variance

<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>	<i>Valeur critique pour F</i>
Entre Groupes	14,4667016	1	14,4667016	0,73013142	0,440996853	7,708647422
A l'intérieur des groupes	79,2553296	4	19,8138324			
Total	93,7220312	5				