

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de Biotechnologies

THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES

Spécialité : Amélioration des productions végétales

**ETUDE DE LA SYMBIOSE ARBUSCULAIRE CHEZ DEUX
ESPECES DE TAMARIX : *Tamarix articulata* VAHLL ET *Tamarix
gallica* L. ET DES MICROORGANISMES AUXILIAIRES.**

Par

Mme Karima BENCHERIF Epse TRODI

Devant le jury composé de :

M. BENCHABANE	Professeur, U. de Blida1	Président
A. KAMELI	Professeur, E N S de Kouba	Examineur
H. ABDELKRIM	Professeur, E N S Alger	Examineur
A. BOUTEKRABT	Professeur, U de Blida1.	Directeur de Thèse
A.LOUNES-HADJ SAHRAOUI	Professeur, ULCO. France	Directrice de Thèse

Blida, Décembre 2016

RÉSUMÉ

L'utilisation des arbustes steppiques tels que *Tamarix articulata* et *Tamarix gallica* en symbiose avec les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) pourrait constituer une alternative potentielle aux arbres forestiers pour restaurer les écosystèmes dégradés des zones arides et semi-arides. Le principal objectif de cette thèse a consisté en l'étude de l'effet des variations saisonnières et de la salinité sur la mycorhization arbusculaire chez ces deux espèces d'arbustes halophytes. Ce travail a été conduit sur dix sites des régions steppiques algériennes caractérisées par des degrés de salinité variant de 0.5 à 9.9 ds m⁻¹. L'inventaire des CMA présents dans la rhizosphère naturelle de ces deux espèces et la détermination des taux de mycorhization nous ont permis de montrer que la biodiversité des espèces de CMA associée à *T. articulata* et à *T. gallica* ainsi que leur mycorhization varient en fonction de la phénologie de ces plantes et des paramètres écologiques. Onze espèces de CMA ont été isolées et identifiées avec une dominance des espèces *Funneliformis geosporum*, *Funneliformis mosseae* et *Claroideoglosum constrictum*. Ces espèces sont communes à tous les sites, tandis qu'une association entre les espèces *Rhizophagus diaphanus*, *Gigaspora gigantea*, est observée dans les sites modérément salins KB et HB, suggérant une influence des caractéristiques pédo-agronomiques des sols sur la distribution des espèces de CMA. La variation saisonnière influe également sur l'abondance des espèces de CMA. Par ailleurs, l'isolement des bactéries endophytes des deux espèces de Tamarix a permis de détecter la présence de quatre espèces de *Pseudomonas* et sept espèces de *Bacillus*, avec une absence totale des *Bacillus* dans les sols salins. La quantification des biomarqueurs lipidiques spécifiques de la biomasse microbienne du sol a montré une capacité du microbiome associé à la rhizosphère de *T. articulata* à s'adapter aux stress salins naturels qui se manifeste par la persistance des CMA, des champignons saprotrophes et des bactéries du sol. Le pouvoir mycotrophe de l'espèce *T. articulata* est supérieur à celui de l'espèce *T. gallica* quels que soient la saison et le site étudié. En outre, une dépendance mycorhizienne deux fois plus importante a été observée chez *T. articulata* en comparaison avec *T. gallica*. L'inoculation de boutures de *T. articulata* avec deux inoculum autochtones et un inoculum commercial a mis en évidence la meilleure efficacité du co-inoculum (CMA et *Pseudomonas fluorescens* autochtones) en termes de colonisation, de croissance et de nutrition minérale par comparaison à l'inoculum autochtone et à l'inoculum commercial, tous deux à base de CMA uniquement. En effet, un taux de mycorhization dix-sept fois plus important par comparaison au témoin non-inoculé a été obtenu. Une amélioration significative de la biomasse concomitante à des teneurs de phosphore et d'azote plus importantes dans les feuilles de *T. articulata* ont été mesurées. L'ensemble de nos résultats sont en faveur de l'application de l'inoculation mycorhizienne dans la restauration et la revégétalisation des sols salins des zones arides et semi-arides et soulignent l'importance de privilégier les inoculum autochtones à base de CMA en association avec leurs bactéries auxiliaires.

Mots clés : *Tamarix articulata*, *Tamarix gallica*, sols salins, champignons mycorhiziens à arbuscules, biodiversité, inoculation mycorhizienne, steppes.

ABSTRACT:

The use of steppe shrubs such as *Tamarix articulata* and *Tamarix gallica* in symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) could be a potential alternative to forest trees to restore degraded ecosystems in arid and semi-arid areas. The main objective of this thesis consisted at studying the effects of seasonal variations and salinity on arbuscular mycorrhiza in the both halophyte shrub species. This work was carried out on ten Algerian steppe sites with soil salinity level ranging from 0.54 to 9.93 ds.m⁻¹. The inventory of AMF species present in the rhizosphere of these Tamarix species and mycorrhizal rate determination showed that AMF biodiversity associated with the rhizosphere of *T. articulata* and *T. gallica* and their mycorrhizal statute varied according to the host plant phenology and the ecological parameters. Eleven species were isolated, mainly dominated by *Funneliformis geosporum*, *Funneliformis mosseae* and *Claroideoglobus constrictum*. Whereas these species are common to all studied sites, *Rhizophagus diaphanus* and *Gigaspora gigantea* were associated with moderately saline sites KB and HB, suggesting the influence of soil characteristics on AMF distribution. Seasonal variation also influences the abundance of AMF species. Furthermore, the isolation of endophytic bacteria of both Tamarix species showed the presence of four *Pseudomonas* species and seven *Bacillus* species, with a total absence of *Bacillus* in saline soils. Microbial biomass evaluation, performed using specific lipid biomarkers, pointed out the persistence of AMF, saprotrophic and bacterial communities, indicating the adaptation of the microbiom associated to *T. articulata* rhizosphere to saline soils. In addition, *T. articulata* roots were colonized much more abundantly than *T. gallica* ones independently from studied sites and season variations. This finding indicates that *T. articulata* establishes more easily mycorrhizal symbioses in disturbed soils. Moreover, *T. articulata* mycorrhizal dependency reached twice the one found for *T. gallica*. Finally, inoculation of *T. articulata* with two native inoculums and commercial one highlighted the efficiency of native co-inoculation (AMF plus *Pseudomonas fluorescens*) in terms of AMF root colonization, growth and mineral nutrition as compared to the native inoculum and commercial inoculum, containing only AMF. Indeed, mycorrhizal rate was seventeen fold higher with co-inoculum as compared to non-inoculated control. Furthermore, a significant improvement of plant biomass concomitantly with increased in phosphorus and nitrogen *T. articulata* leaves contents were obtained. Taken together, our findings underlined the interest of mycorrhizal inoculation application as a biotechnological tool in revegetation of saline soils in arid and semi-arid areas and the importance of approving native inoculum based on AMF alone or combined with their auxiliary bacteria.

Keywords : *Tamarix articulata*, *Tamarix gallica*, saline soil, arbuscular mycorrhizal fungi, biodiversity, AMF inoculation, steppes.

المخلص

ان استخدام الشجيرات السهبية مثل الاثل و الطرفة المتعايشة مع الفطور الجذرية يمكن ان يكون بديلا للاشجار الغابية لاستعادة النظم الايكولوجية المتدهورة في المناطق الجافة و شبه الجافة. الهدف الرئيسي لهذا البحث يتمثل في دراسة اثار التغيرات الموسمية و ملوحة التربة على التعايش الميكوريزي لهذين النوعين من الشجيرات الملحية. اجري هذا العمل على عشرة مواقع من المناطق السهبية الجزائرية التي تتميز بدرجات ملوحة تتراوح بين 0.5 و 9.9 ds m⁻¹.

عملية جرد انواع الفطور الجذرية الموجودة في الريزوزوسفير الطبيعي للاثل و الطرفة مع تحديد معدلات الميكوريز في الجذور سمحوا لنا باظهار ان التنوع البيولوجي لانواع الفطور الجذرية المرتبطة بنباتي الاثل و الطرفة بالاضافة الى درجة تعايشهم يختلفون تبعا لفيزيولوجية هذه النباتات و المعايير الايكولوجية. احد عشر نوعا من الفطور الجذرية تم عزلها و التعرف عليها مع ملاحظة هيمنة الانواع

Funneliformis mosseae, Funneliformis geosporum, Claroideoglossum constrictum

في جميع المواقع المدروسة. بينما تم ملاحظة ارتباط بين النوعين *Rhizophagus diaphanus* و *Gigaspora gigantea*

في الموقعين المعتدلي والملوحة HB و KB. مما يدل على تأثير عوامل التربة على توزيع انواع الفطور الجذرية .

و علاوة على ذلك كشف و عزل البكتيريا الداخلية لنباتي الطرفة و الاثل مكن من الكشف عن وجود اربعة انواع من صنف

Pseudomonas و سبعة انواع من صنف *Bacillus* مع غياب تام لصنف *Bacillus* في المواقع شديدة الملوحة.

اظهر تقدير المؤشرات الدهنية الخاصة بالكتلة الحيوية للتربة قدرة الكائنات الحية الدقيقة المرتبطة بنبات الاثل على التأقلم مع ملوحة التربة المتمثلة في استمرار الجذور الفطرية , الفطور المتعايشة و بكتيريا التربة. لوحظ ان معدل استعمار الجذر من قبل الجذور الفطرية في جميع المواقع خلال الفصول الاربعة المدروسة اكبر لدى نبات الاثل مقارنة مع نبات الطرفة. من جهة اخرى تما الاستنتاج ان معدل الاعتماد على الفطور الجذرية لدى نبات الاثل ضعف معدل الاعتماد لدى نبات الطرفة.

عماية تلقح نبيتات الاثل بنوعين من اللقاح المنتج محليا و لقاح اخر اصطناعي سمحت باظهار فعالية اللقاح الطبيعي

المتكون من خليط الجذور الفطرية المحلية و البكتيريا الداخلية من نوع *Pseudomonas fluorescens*

و ذلك من حيث الاستعمار الجذري , نمو النبات و التغذية المعدنية مقارنة مع اللقاح الاصطناعي و اللقاح الطبيعي المتكونين فقط من الجذور الفطرية. بالفعل معدل استعمار الجذور لدى نبيتات الاثل الملقحة بالخليط المحلي كان 17 مرة اكثر من النبيتات الغير ملقحة. بالاضافة الى ذلك تحسن ملحوظ في نمو النبيتات مع ارتفاع في تركيز الاملاح المعدنية الفوسفور و الازوت تم تسجيله.

جميع النتائج المتحصل عليها تدعم تطبيق التلقيح بالجذور الفطرية من اجل اعادة تهيئة الاراضي الجافة و شبه الجافة المعرضة للاملاح مع التاكيد على اهمية استعمال اللقاح المنتج محليا المرتبط بالبكتيريا.

الكلمات المفتوحة: الطرفة, الاثل, التربة الملحية, الفطور الجذرية, التنوع البيولوجي, التلقيح الميكوريزي, السهوب.

REMERCIEMENTS

Gloire à « *ALLAH* » le tout puissant et le miséricordieux qui a exaucé mes rêves et m'a donné force et patience pour accomplir le présent travail.

Les travaux réalisés dans le cadre de cette thèse de doctorat en sciences se sont déroulés à plusieurs endroits. Tout d'abord à l'Université de Blida comme organisme de rattachement et à l'Université de Djelfa comme organisme de fonction, puis au sein du Centre de recherches de l'est sur les céréales et oléagineux (CRECO) (Ottawa-Canada) comme organisme d'accueil pour un stage de courte durée (un mois en 2013) et enfin à l'Unité de Chimie Environnementale et Interaction sur le Vivant (UCEIV) dans l'équipe Interaction Plantes-Champignons et Remédiation (IPCR) à l'Université du Littoral Côte d'Opale (ULCO) comme organisme d'accueil pour deux stages de courte durée (le premier de un mois en 2012 et le second de un mois en 2013/2014) et une bourse (PFE) financée par le ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique algérien pour une durée de 18 mois (du 01 octobre 2014).

Par ces quelques lignes, je tiens à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin au bon déroulement de cette thèse, en espérant n'avoir oublié personne...

Je commence par un grand remerciement à mon directeur de thèse, le Professeur Ammar BOUTEKRABT, Université de Blida, d'avoir assuré la direction et l'encadrement de mes travaux de thèse. Merci pour votre gentillesse, vos précieux conseils que ce soit sur le plan scientifique, administratif ou humain, avant et tout au long de la réalisation de cette thèse.

Je tiens à remercier également ma directrice de thèse, le Professeur Anissa LOUNÈS-HADJ SAHRAOUI de l'ULCO, d'abord de m'avoir accueillie au sein de l'UCEIV et de m'avoir permis d'avancer pleinement dans mes travaux de thèse. Merci pour votre gentillesse, votre patience et vos précieux conseils. J'ai appris énormément de choses avec vous tant sur le plan scientifique que sur le plan humain. Merci beaucoup Anissa, c'est un très grand plaisir de travailler avec vous.

Je tiens à remercier spécialement Dr. Yolande DALPE, responsable du laboratoire de mycologie au sein du CRECO, ministère d'agriculture d'agroalimentaire du Canada, qui était toujours à l'écoute, prête à répondre à toutes mes questions sans hésitation et à

m'orienter vers les démarches correctes pour le bon accomplissement de ce travail de thèse. Merci Yolande, j'apprécie énormément le travail avec vous.

Je remercie également le président du jury Mr BENCHABANE Messaoud, d'avoir accepté de présider et d'examiner le présent travail.

Mes remerciements vont également aux Professeurs KAMELI Abdelkrim (ENS Kouba) et HACENE Abdelkrim (ENSA El Harrach) d'avoir accepté malgré leurs nombreuses tâches de juger et d'examiner ce travail.

Je souhaite également remercier l'équipe IPCR de l'UCEIV sans exception et plus particulièrement Corinne et Sandrine pour la bonne ambiance au laboratoire.

Un grand merci à l'Institut national de la recherche forestière à Djelfa, spécialement Mr. SAAD Nemla, pour son aide sur le terrain et Mr. DJOUKLAFI Adel, pour les analyses statistiques. Sans oublier bien sûr mes anciens enseignants et mes amis actuellement Mr Ahmed BRAGUE et Mme Nadia BRAGUE -BOURAGBA pour tout ce que je ne pourrais jamais énumérer. Vous êtes mes grands frères et sœurs.

Un grand merci à mes amis Hassina, Sabrina, Mohamed et Dalila, pour leur présence dans le meilleur et dans le pire avec mes sincères vœux de réussite. Merci également à mes nouveaux amis qui ont été présent ces deux dernières années, Hacène pour son soutien, son amabilité, sa présence à tout moment. Merci Hacène avec tous mes meilleurs vœux de succès dans ta vie professionnelle et personnelle, Ghalia et Sonia pour leur aide et leur soutien, avec plein de bonnes choses sur tous les plans. Sans oublier Imad, Alice, Ingrid et Djafeen.

Je ne saurai oublier de remercier essentiellement ma chère mère qui m'a encouragée à continuer mes études, et qui a toujours été présente avec ses prières ; mon cher père qui a toujours cru en moi, qui me soutient et m'encourage à aller vers l'avant. Papa tes conseils m'ont beaucoup servis dans ma vie et dans les choix que je fais. Mes chers parents, je ne vous remercierai jamais assez. Un grand merci à mes sœurs Hanane et Lina et mes frères Abdelhakim et Adnane pour le soutien moral et quelque fois matériel, sans lesquels cette thèse n'aurait pu voir le jour.

Un grand merci à ma belle-mère pour les grands efforts qu'elle a fait afin d'accepter l'idée de mes études, merci pour tout ce que vous avez fait.

Et enfin, un grand- grand merci aux personnes qui ont le plus souffert avec moi durant la réalisation de cette thèse.

À mes chers enfants : Fakher-Eddine, Salsabil et Soror qui, sans vos encouragements, je n'aurai jamais pu continuer. A mon cher mari, un grand merci pour ta patience, tes encouragements c'est toi qui dis toujours « *à deux on est plus fort !* ».

Finalement....

Je dédie ce travail à la mémoire de ma grand-mère Fadhila qui a toujours apprécié les études.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ.....	1
ABSTRACT:.....	2
الملخص	3
REMERCIEMENTS	4
TABLE DES MATIÈRES	7
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX.....	9
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	13
CHAPITRE 1 REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	19
I.1 Le Tamarix	20
I. 1.1. Généralités.....	21
I. 1.2. <i>Tamarix articulata</i> Vahl, <i>Tamarix aphylla</i> (L) Karst. <i>Tamarix orientalis</i> . Forsk.	25
I.1.3. <i>Tamarix gallica</i> L.....	29
I. 2 La Symbiose Mycorhizienne Arbusculaire	34
II. A. Les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA)	35
2.1. Historique.....	35
2.2. Taxonomie des champignons mycorhiziens à arbuscules	35
2.3. Le cycle de développement des CMA	38
2.3.1. La phase a-symbiotique	40
2.3.2. La phase pré-symbiotique.....	40
2.3.3. La phase symbiotique.....	41
2.4. Bénéfices de la symbiose mycorhizienne à arbuscules.....	42
2.4.2. Bénéfices pour la plante.....	43
2.4.2.2. Résistance aux stress.....	47
II.B. Les CMA et la microflore du sol.....	60
II.C. Estimation de la biomasse microbienne grâce aux marqueurs lipidiques.....	62
CHAPITRE 2 MATÉRIELS ET MÉTHODES	66
II.1. Sites d'étude	67
2.1.1. Description de la région d'étude.....	68
II.2. Matériel végétal et fongique	73
II.3. Méthodes	77
2.3.1. Facteur pédologique	78

2.3.2. Étude des champignons arbusculaires et des bactéries associées chez <i>Tamarix gallica</i> L et <i>Tamarix articulata</i> Vahl dans les milieux steppiques.....	78
2.3.3. Étude des bactéries endophytes	85
2.3.4. Quantification de la biomasse microbienne du sol par les marqueurs lipidiques .	87
Mycorhization contrôlée.....	92
2.4.3. Transplantation après mycorhization contrôlée.....	99
CHAPITRE 3 RESULTATS ET DISCUSSIONS	102
III.1.Diversité des champignons mycorhiziens arbusculaires et des bactéries endophytes associés à la rhizosphère du Tamarix	103
3.1.2. Caractérisation pédologique des sols des sites d'étude	105
3.1.3. Etude de la variation saisonnière des CMA dans la rhizosphère de <i>T. articulata</i> et de <i>T. gallica</i>	107
3.1.4. Diversité des bactéries endophytes : <i>Pseudomonas</i> et <i>Bacillus</i> chez <i>T. articulata</i> et <i>T. gallica</i>	124
3.1.5. Discussion	128
III. 2. Impact de la salinité des sols sur les champignons mycorhiziens arbusculaires et la biomasse des microorganismes dans la rhizosphère de <i>T. articulata</i>	135
3.2.1. Objectif	136
3.2.2. Diversité en CMA et colonisation racinaire.....	136
3.2.3. Salinité des sols et biomasse microbienne	138
3.2.5. Discussion	143
3.3.1. Objectif	149
3.3.2. Évaluation de l' inoculum autochtone local et potentiel mycorhizogène	150
3.3.4. Apport de l'inoculation sur la colonisation de <i>T. articulata</i>	154
3.3.4.2. Apport de l'inoculation sur l'abondance et la biodiversité des CMA dans la rhizosphère des <i>T. articulata</i>	157
3.3.5. Apport de l'inoculation sur la croissance des plants de <i>T. articulata</i>	159
3.3.6. Transplantation de <i>T. articulata</i> sur sol naturel.....	165
3.3.7. Discussion.....	167
CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES	172
APPENDICES.....	177
REFERENCES	209

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1.1 : Caractéristiques botaniques de la famille des Tamaricacées	21
Figure 1.1.2 : Feuilles des Tamarix	22
Figure 1.1.3. Inflorescences chez les Tamarix	22
Figure 1.1.4. Graines des <i>Tamarix</i> en chatons	22
Figure 1.1.5. Le double système racinaire latéral et pivotant chez les jeunes pousses de <i>Tamarix sp</i>	23
Figure 1.1.6 : La couronne racinaire chez le Tamarix sp. Après détérrement pour la transplantation	24
Figure 1.1.7. : La structure d'une glande sécrétrice de sels chez le <i>Tamarix sp</i>	24
Figure 1. 1.8 : Tamarix naturel et planté	26
Figure 1.1.9 : Rameaux et feuilles des <i>T. articulata</i>	27
Figure 1. 1.10 : Fleurs du <i>T. articulata</i>	27
Figure 1.1.11 : Les groupements naturels de <i>T. articulata</i> dans le Sahara algérien	28
Figure1.1.12 : Plantations de <i>Tamarix articulata</i> dans le cordon dunaire	29
Figure 1. 1.13 : Fleurs et rameaux de <i>Tamarix gallica</i>	30
Figure : 1.1.14. Feuilles et graines du <i>T. gallica</i>	30
Figure1.1.15 : <i>Tamarix gallica</i> L dans les lits d'oueds El- Arab (Khanchla)	33
Figure 1.1.16 : Plantation de <i>Tamarix gallica</i> (El-Mesrane)	32
Figure 1.2.1 : Classification phylogénétique des Glomeromycota	37
Figure 1.2.2 : Critères de différenciation des spores chez les Glomales	38
Figure 1.2.3 : Cycle de développement du champignon mycorhizien arbusculaire	39
Figure 1.2.4 : Schéma des différentes étapes de colonisation des CMA	41
Figure 1.2.5 : Structures internes des CMA	42
Figure 1.2.6 : Schéma récapitulant les principaux processus d'échanges de nutriments entre l'hôte et le champignon arbusculaire	44
Figure 1.2.7 : Voie générique chez les plantes en réponse au stress	50
Figure 1.2.8 : Le fonctionnement complexe des CMA dans l'amélioration du stress salin chez les plantes	53
Figure 1.2.9 : Voie de biosynthèse de la proline	57
Figure 1.2.10 : Structure de canaux ioniques végétales nucléotides cycliques-dépendants (CNGC)	60

Figure 1.2.11 : Représentation schématiques des interactions plantes- microorganismes dans le sol	61
Figure 2.1. 1 : Localisation des sites d'étude	69
Figure 2.3.1 : Échantillonnage du sol et des racines de <i>T. gallica</i> dans la région de Mesaâd	81
Figure 2.3.2 : Étapes de l'extraction des spores par tamisage humide	82
Figure 2.3.3. Etapes de coloration des racines	83
Figure 2.3.4 : Test d'identification des <i>Pseudomonas</i> : Galerie API NE20	87
Figure 2.3.5: Isolement des bactéries sur milieu King B	87
Figure 2.3.6 : Préparation des microserres pour la mycorhization contrôlée N°1	93
Figure 2.3.7 : Dosage du phosphore par colorimétrie à base de molybdate d'ammonium.	96
Figure 2.3. 8 : Principe de la méthode <i>KJELDAHL</i>	97
Figure 2.3.9 : Les étapes de la méthode de minéralisation (la méthode Kjeldahl).	98
Figure. 3.1.1 : Espèces de CMA représentatives de la richesse des rhizosphères des <i>T. articulata</i> et <i>T. gallica</i>	108
Figure 3.1.2 : Dendrogramme de similarité de SORENSON pour tous les sites durant les 4 saisons	115
Figure 3.1.3: Ordination de l'ensemble des sites pour l'ensemble des espèces de CMA durant l'automne selon les axes 1 et 2.	117
Figure 3.1.4. Ordination de l'ensemble des sites pour l'ensemble des espèces de CMA durant le printemps selon les axes 1 et 2	118
Figure 3.1.5. Ordination de l'ensemble des sites pour l'ensemble des espèces de CMA durant l'été.	119
Figure 3.1.6. Ordination de l'ensemble des sites pour l'ensemble des espèces de CMA durant l'hiver selon les axes 1 et 2.	120
Figure. 3.1.7 : Les structures des CMA observées dans les racines colorées des <i>T. articulata</i> et <i>T. gallica</i>	121
Figure 3.1.8 : Variation du taux de mycorhization entre les sites et les saisons étudiés	123
Figure 3.1.9 : Richesse bactérienne en <i>Pseudomonas</i> et <i>Bacillus</i> chez les deux espèces de Tamarix	127
Figure : 3.2.1. Les différentes espèces de CMA isolées de la rhizosphère de <i>T. articulata</i> des quatre sites étudiés/ 100g de sol	137

Figure 3.2.2 : Pourcentages de colonisation racinaire par les CMA dans les racines de <i>T. articulata</i> des sites étudiés	138
Figure 3.2.3: Effet de la salinité des sols sur la concentration des marqueurs lipidiques	140
Figure 3.2.4 : Effet de la salinité des sols sur la quantité d'ergosterol des sols dans les 4 sites étudiés	141
Figure 3.2.5: Effet de la salinité des sols sur la biomasse bactérienne dans les 4 sites étudiés.	142
Figure 3.3.1 : Évaluation de la richesse de l'inoculum local et du potentiel mycorhizogène des sols étudiés.	152
Figure 3.3.2 : Taux de colonisation racinaire de <i>T. articulata</i> à deux stades de développement des plantules	156
Figure. 3.3.3 : Biomasse aérienne et racinaire des plants de <i>T. articulata</i> après 24 semaines de culture	160
Figure.3.3.4 : Croissance des Plants de <i>T. articulata</i> après 16 semaines de culture	161
Figure 3.3.5. Teneur en phosphore et en azote des feuilles de <i>T. articulata</i>	164
Figure 3.3.6. Biomasse aérienne des plants de <i>T. articulata</i> après 10 semaines de transplantation.	166
Figure 3.3.7. Taux de mycorhization total des plants de <i>T. articulata</i> après 10 semaines de transplantation	166
Tableau 1.2.1 : Exemples d'espèces de CMA osmo-régulateurs	52
Tableau 1.2.2 : Résumé des études traitant l'impact du stress salin sur les stades de développement des CMA	55
Tableau 1.2.3 : Résumé des études des différents effets de la symbiose CMA sur l'expression des gènes aquaporine sous stress salin	59
Tableau 2.1.1 : Description des dix sites étudiés (Premier classement par ordre alphabétique des noms des sites)	71
Tableau 2.1.2. Périodes sèches et périodes humides selon la classification de BAGNOULS et GAUSSON	72
Tableau 2.2.1 : Taux de recouvrement aux sols des 10 sites étudiés	75
Tableau 2.2.2 : Matériel végétal utilisé	75
Tableau 2.3.1: Protocoles des analyses pédologiques réalisées	79
Tableau 2.3.2. La microflore tellurique et les acides gras correspondants	88

Tableau 2.3.3. Tableau récapitulatif des ions cibles pour les acides gras analysés	91
Tableau 3.1.1 : Tableau récapitulatif des analyses pédologiques	106
Tableau 3.1.2 : Variation de la richesse spécifique (S) des CMA dans les dix sites durant les 4 saisons d'études.	111
Tableau 3.1.3 : Variation de l'équitabilité (E) des CMA dans les dix sites d'étude durant les 4 saisons	112
Tableau 3.1.4 : Variation de l'indice de Shannon (H') des CMA dans les dix sites d'étude durant les 4 saisons	113
Tableau 3.1.5 : Récapitulatif des mesures de diversité des espèces de CMA récoltées dans les sites d'étude durant les 4 saisons.	114
Tableau 3.1.6. Effet des variables indépendantes espèces végétale, sol, saison, et leur interaction sur la colonisation racinaire par les CMA	124
Tableau 3.1.7 : Corrélation entre la salinité des sols, le pH du sol et les paramètres de mycorhization des deux espèces de Tamarix	124
Tableau 3.1.8 : Les bactéries endophytes des genres Bacillus et Pseudomonas identifiées dans les différents sites étudiés chez les <i>T. articulata</i> et <i>T. gallica</i>	126
Tableau. 3.1.9. Corrélation entre les taux de mycorhization des deux espèces de Tamarix et les espèces de Bacillus et de Pseudomonas isolées	128
Tableau 3.2.1 : Corrélation entre la salinité des sols et les différents paramètres de la symbiose arbusculaire	143
Tableau 3.3.1 : Évaluation du piégeage des spores en fonction de la salinité des sols	151
Tableau 3.3.2 : Dépendance mycorhizienne chez <i>T. articulata</i> et <i>T. gallica</i>	153
Tableau 3.3.3 : Espèces de CMA isolées après 24 semaines de culture	158
Tableau 3.3.4 : Analyse statistiques sur les paramètres étudiés	165

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les espaces naturels et les territoires des régions arides et semi-arides méditerranéens sont des lieux présentant de fortes contraintes écologiques dont la dégradation des sols [1]. Un phénomène ancien qui s'est aggravé dans les dernières décennies, sous l'effet de facteurs naturels (précipitations, vent, ruissellement...) et d'actions anthropiques néfastes (surpâturage, surexploitation des ressources forestières, irrigation mal conduite, urbanisation...) [2]. Ces caractéristiques constituent un handicap majeur pour le développement durable et harmonieux de ces espaces [1]. Toute dégradation du sol (par imperméabilisation, érosion, tassement, ou salinisation) affecte négativement la biodiversité et la fertilité des sols [2]. Cette situation est défavorable à la formation des racines et à la croissance des plantes et retarde considérablement l'établissement d'une couverture végétale [1]. Dans les régions arides et semi-arides, les sols, d'une manière générale, présentent souvent des croûtes calcaires ou gypseuses et sont la plupart du temps, salés et sujets à une salinisation secondaire [2]. La salinité des sols représente un sérieux problème dans ces zones. Près de 15 millions d'hectares sont affectés par la salinité dans le Maghreb (Afrique du nord) et le Moyen-Orient [3], dont environ 1/6 sont occupés par des chotts et des sebkhas (dépressions salées, épisodiquement inondées) colonisés par des halophytes [4].

L'Algérie, comme la majorité des pays du bassin méditerranéen subit depuis plusieurs décennies de graves problèmes de désertification [1]. Cette situation n'est pas récente, elle est l'héritage d'une histoire mouvementée, surtout entre 1880 et 1920 [5] durant laquelle 4.5 million d'hectares de surfaces forestières naturelles ont été détruites. Ce mouvement qui a continué jusqu'à nos jours a fragilisé à la fois les sols de versants que ceux des hauts plateaux en plus des zones steppiques [4] ; [5]. Plus de 7 millions d'hectares de la surface totale sont directement menacés par la désertification et près de 600.000 hectares de terres en zones steppiques algériennes sont en voie de totale désertification [6].

En Algérie, il n'est recensé aucune étude cartographique fiable et précise permettant de délimiter les zones touchées par la salinité des terres et la quantification de la teneur des sels dans le sol. Néanmoins, il existe quelques données fragmentaires qui donnent une idée générale sur le phénomène de salinisation et de dégradation des terres. Le phénomène de salinisation touche 3.2 million d'hectares à des degrés de sévérité variable. Une bonne partie se trouve localisée dans les régions steppiques où le processus de

salinisation est plus marqué du fait des températures élevées durant presque toute l'année, du manque d'exutoire et d'absence de drainage efficient [7].

Ces sols sont de moins en moins utilisables [3], réduisant ainsi les surfaces des sols agro-écologiques et accélérant le phénomène de dégradation des sols [5]. La reconstitution d'une couverture végétale adaptée aux milieux traités est une opération indispensable à la mise en place d'un système naturel apte à se développer avec une stabilité à long terme. Par ailleurs, le choix des espèces végétales efficaces contre les différents stress abiotiques des milieux steppiques est l'une des contraintes majeures dans les projets de plantation et constitue une étape primordiale pour la réussite de leur revégétalisation [4]. La réintroduction de plantes autochtones, associée à une bonne gestion des communautés de symbiotes microbiens constituent un outil biotechnologique efficace pour la restitution des écosystèmes dégradés [8] ; [9] ; [10]. Dans ce contexte, des programmes de lutte contre la désertification ont été mis en place, en particulier, dans les pays menacés par l'avancée du désert [2]. En Algérie, depuis 1962, cet aspect occupe l'une des priorités environnementales de l'État [11].

Dans le cas des sols salés ou halomorphes, les espèces végétales choisies doivent avoir un rôle dans l'équilibre de l'écosystème. Elles doivent assurer la protection des habitats, la prévention de l'érosion des sols, en plus de la constitution d'abris et d'aliments pour un large éventail d'espèces faunistiques [1] ; [5].

Les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) figurent parmi les microorganismes symbiotiques qui interagissent activement dans le maintien de l'équilibre rhizosphérique des plantes. Ils sont omniprésents dans la plus part des sols naturels et dégradés [12] ; [13]. Les CMA procurent de nombreux avantages à la plante-hôte. Ils assurent une meilleure croissance grâce à une nutrition hydrique et minérale améliorées, ainsi qu'à une bonne tolérance aux stress biotiques et abiotiques [12], [14]. Plusieurs études ont montré que les CMA assurent un rôle important dans la réussite des projets de plantation [12] ; [15] ; [16] ; [17]. L'inoculation des plantes avec les CMA est un procédé utilisé afin d'assurer une stabilisation et une revégétalisation des zones menacées d'érosion et de glissements. Leur utilisation pendant la phase initiale du développement de la végétation, accélère la formation des agrégats du sol et donc l'acquisition de sa stabilité [14]. Ce sont à la fois, le réseau mycélien ramifié et la glomaline, une glycoprotéine

excrétée par les CMA dans le sol qui sont à l'origine de la bio-stabilisation du sol [12] ; [14]. De plus, les champignons mycorhiziens favorisent la croissance et l'établissement des plantes ainsi que la succession végétale évitant des travaux d'entretien [12].

Tout comme les plantes, les champignons symbiotiques sont à choisir en veillant à n'utiliser que des espèces bien adaptées aux sols et aux plantes en question [12] ; [14]. En effet, chaque espèce végétale s'associe préférentiellement aux champignons qui lui sont le plus favorables en termes de stimulation de croissance [18]. Il a été prouvé que les sols naturels comportent une flore mycorhizienne généralement abondante et diversifiée, de sorte que les plantes qui s'y installent forment rapidement et aisément des mycorhizes avec une ou plusieurs espèces de champignons [14]. Plusieurs études visent à exploiter cette richesse naturelle en propagules et à l'appliquer dans les différents projets de plantation des zones dégradées, notamment les zones salées [7].

Les espèces de la famille des Tamaricacées sont parmi les espèces les plus souvent choisies dans les projets de plantation et de fixation des dunes [1], du fait de leurs caractères xéro-halophytes [19] ; [20]. Cependant, elles sont limitées dans l'espace à cause du mode de plantation par bouturage sur des sols non adaptés [11].

Le *Tamarix ramosissima* est l'espèce la plus étudiée en matière de symbiose arbusculaire. En Algérie, *Tamarix articulata* Vahl et *Tamarix gallica* L figurent parmi les espèces utilisées dans les programmes de lutte contre la désertification [1]. Cependant très peu de travaux traitent de la symbiose mycorhizienne chez ces deux espèces dans ces milieux. La symbiose arbusculaire chez *T. articulata* a été étudiée en Irak par CHAUDHRY et al., [21]. Ils ont décrit une richesse spécifique ainsi que des taux de mycorhization variés et assez importants. En revanche, très peu de travaux traitent de la symbiose mycorhizienne chez *Tamarix gallica* d'une manière générale et chez *T. articulata* dans les zones arides et semi-arides. C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail de thèse qui vise à étudier la symbiose arbusculaire chez les deux espèces de Tamarix : *T. articulata* et *T. gallica*.

C'est ainsi que 10 sites d'étude de la région steppique algérienne sont choisis sur la base de leurs étages bioclimatiques et paramètres pédologiques différents, notamment les degrés de salinité variés. Ces sites ont pour point commun la présence des deux espèces de Tamarix, qu'elles soient à l'état naturel ou planté.

Compte tenu du manque de travaux sur la symbiose mycorhizienne chez *T. articulata* et *T. gallica* dans les écosystèmes algériens, le premier objectif de la présente thèse consiste à déterminer la biodiversité, l'abondance et la distribution à travers les saisons des CMA associés à la rhizosphère des deux espèces de Tamarix dans les dix sites sélectionnés. La fréquence et la variation de la colonisation racinaire entre les deux espèces de Tamarix a également été évaluée en fonction des saisons.

Parallèlement à cela, l'importance des bactéries auxiliaires a été examinée en estimant la fréquence de deux genres bactériens endophytes (*Bacillus* et *Pseudomonas*). Et ce afin de déterminer les interactions bénéfiques favorisant l'installation et le fonctionnement de la symbiose mycorhizienne arbusculaire chez les deux espèces de Tamarix étudiées.

Étant donné que l'une des caractéristiques majeure de sols des zones arides et semi-arides est leur degré de salinité, le deuxième objectif de cette thèse vise à évaluer l'effet de la salinité naturelle des sols sur les CMA et la biomasse microbienne dans la rhizosphère de *T. articulata*.

Enfin, le dernier objectif de cette thèse consiste à comparer l'efficacité de différents inoculum sur l'installation et la croissance de *T. articulata* sur des sols avec différents degrés de salinité. Ainsi, deux inoculum autochtones produits à base de souches de CMA seules ou de CMA plus une bactérie endophyte (*Pseudomonas*) isolées des sites d'études, et un autre commercial (Inoculum plus) ont été testés.

L'organisation de la présente thèse et l'articulation des différents chapitres qui la composent se feront comme suit :

Après une introduction générale rappelant le contexte général, la problématique et les objectifs de cette thèse, le premier chapitre expose une revue bibliographique présentant les espèces de *Tamarix* étudiées et la symbiose mycorhizienne, les bactéries auxiliaires et leurs rôles dans cette symbiose ainsi que la quantification de la biomasse microbienne du sol grâce aux marqueurs lipidiques.

Le deuxième chapitre de cette thèse décrit les sites d'études, le matériel biologique et les méthodologies expérimentales utilisées lors de ce travail.

Le troisième chapitre présente les résultats obtenus et leurs discussions sous forme de trois parties :

- Partie 1 : Impact des sols et des saisons sur les champignons mycorhiziens arbusculaire associés à la rhizosphère de *Tamarix* dans les steppes arides et semi-arides algériennes.
- Partie 2 : Impact de la salinité du sol sur la biodiversité des champignons mycorhiziens arbusculaires et sur la biomasse de la microflore associée à la rhizosphère de *Tamarix articulata* Vahl dans les zones arides et semi-arides algériennes
- Partie 3 : Efficacité de la co-inoculation avec des champignons mycorhiziens native et *Pseudomonas fluorescens* sur la croissance des arbustes de *Tamarix* dans des sols salins algériens.

Enfin, ce manuscrit se termine par une conclusion générale mettant en relation les principaux résultats obtenus dans les différentes expériences et débouche sur les perspectives envisagées pour la poursuite de ce travail.

- La liste des références bibliographiques évoquées dans les différents chapitres figurent à la fin du manuscrit.
- Les publications issues de ce travail ainsi que les communications auxquelles j'ai participé durant mes années de thèse seront présentées en annexe.

CHAPITRE 1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Le Tamarix

1.1. Généralités

Le nom *Tamarix* dérive du nom d'une rivière en Espagne appelée Tamaris, à la frontière des Pyrénées, où les espèces de *Tamarix* colonisent ses proximités [22]. Le genre *Tamarix* se présente sous forme d'arbres ou arbustes avec des rameaux à feuilles réduites squamiformes aciculaires ou annulaires [23]. Les inflorescences sont en grappes denses réunies, en général, au sommet des tiges (Figure 1.1). Les fleurs sont en grappes serrées formant des panicules terminales. Elles sont de couleurs différentes selon les espèces (Figures 1.2 et 1.3).

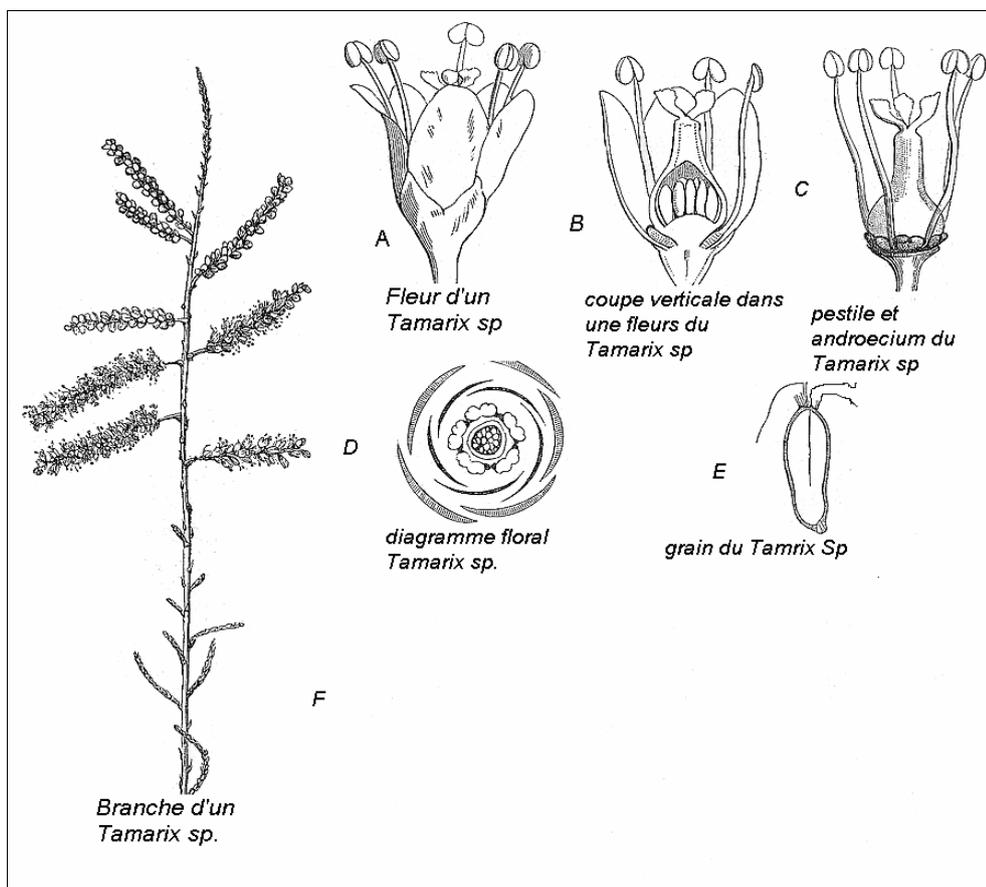


Figure 1.1.1 : Caractéristiques botaniques de la famille des Tamaricacées [23]

Les *Tamarix* présentent deux formes de croissance :

- * Une forme normale qui leur donne l'aspect d'un arbre ordinaire avec une tige principale quand ils se développent dans des milieux ordinaires : c'est le cas du *Tamarix articulata* ;
- * Une seconde forme se caractérise par une ramification abondante quand les pieds se trouvent dans un milieu soumis à des conditions de stress ou dans le cas d'accumulation de sédiments alluviaux [12] : C'est le cas du *Tamarix gallica* L.



Figure 1.1.2 : Feuilles des Tamarix. - a : Feuilles articulées chez *Tamarix articulata* (Original ; Djelfa ,2013) ; b: Feuilles et rameaux chez *Tamarix gallica* (Original; Laghouat, 2013).



Figure 1.1.3 : Inflorescences chez les Tamarix. a. Inflorescences chez *T. gallica* . b. Inflorescences chez *T. articulata*. (Original : Bougezoul, 2013).



Figure 1.1.4 : Graines des Tamarix sous forme de chatons (Original, Laghouat, 2013)

- Les graines de *Tamarix* sont caractérisées par l'absence de dormance [12], mais avec une durée de vie très courte [23]. Les graines produites en été ne vivent que 45

jours dans les conditions idéales du milieu. Dans des conditions défavorables (soleil, sécheresse), cette période ne dépasse pas les 24 jours (Figure 1.4) [13]. En revanche, les graines produites en début d’hiver peuvent vivre 130 jours dans les meilleures conditions [12].

- Les *Tamarix* possèdent un système racinaire puissant et adapté à l’acquisition de l’eau aussi bien dans les nappes phréatique profondes [13] ou dans les eaux superficielles [12]. Son développement et sa profondeur sont gérés par les conditions environnementales [24] (Figure. 1.5). Le système racinaire des *Tamarix* est tellement développé que la racine principale peut atteindre des profondeurs de 5.3 m dans les sols manquant d’humidité [25] (Figure 1.6).

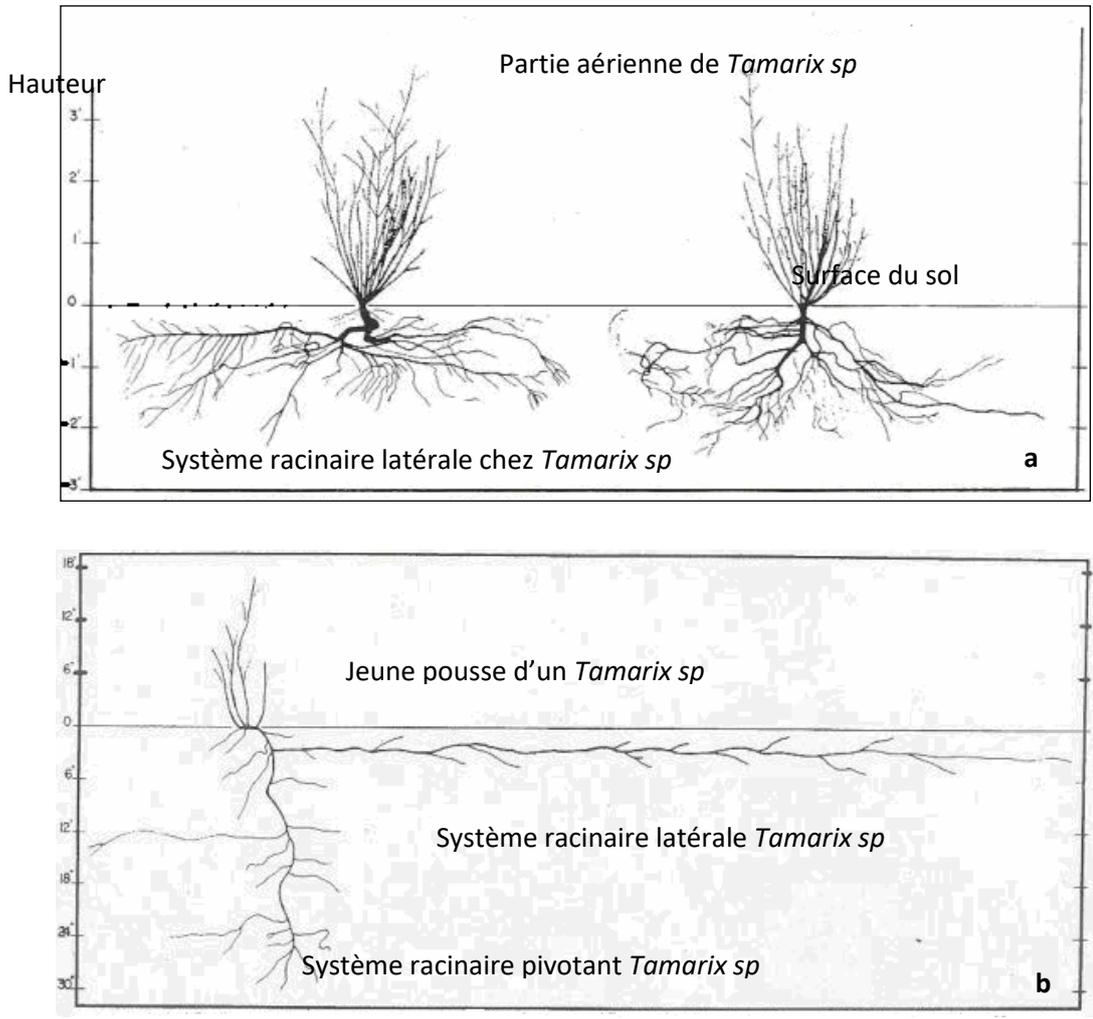


Figure 1.1.5 : Le double système racinaire latéral et pivotant chez les jeunes pousses de *Tamarix sp.* MCDANIEL et RETZ [12].



Figure 1.1.6 : La couronne racinaire chez *Tamarix sp.* Après déterrement pour la transplantation (MCDANINL et RENZ [12]).

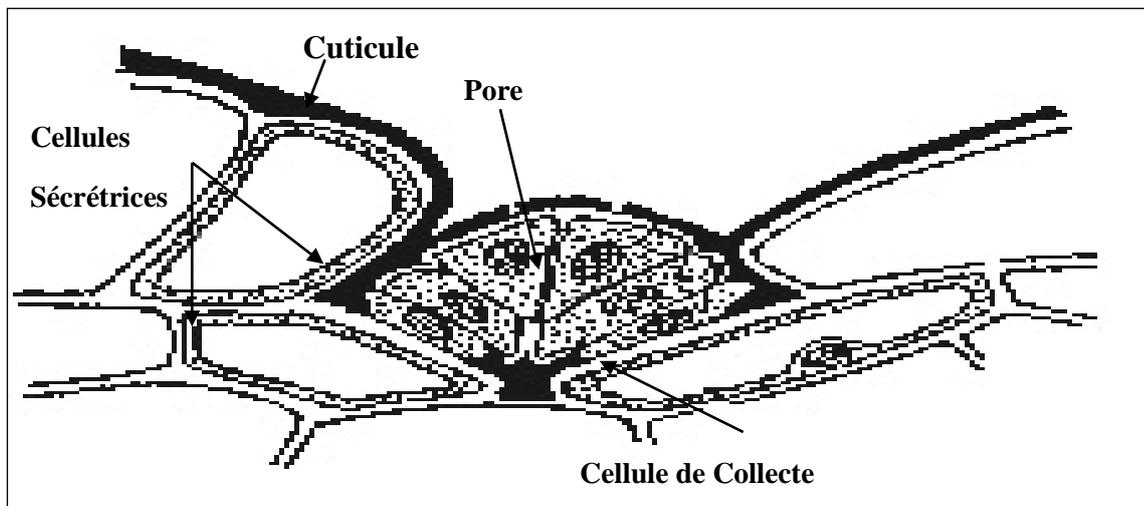


Figure 1.1.7 : La structure des osmorégulateurs chez les *Tamarix sp.* KHABTANE [26].

Les *Tamarix* possèdent des osmo-régulateurs spécifiques qui agissent en milieux salins [27] ; [28] (Figure 1.7). Ils ont la capacité d'absorber les composés chimiques du sol et de les déposer à la surface [29]. Cette capacité leur permet d'opérer des changements abiotiques dans les sols, tels que le taux de salinité et la conductivité électrique [26], [30], le pH du sol [28], l'augmentation du phosphore [31], [29], [30], le taux de nitrogène [29],

[31], [32], la teneur en calcium [33], en plus de changements occasionnés dans les taux de potassium [30].

- L'écologie des *Tamarix* peut être résumée comme suit :
 - Habitat : Les *Tamarix* sont des phréatophytes facultatifs qui se développent de façon optimale en présence d'eaux souterraines. Ils peuvent survivre dans des secteurs arides en l'absence d'humidité extérieure. Le *Tamarix* peut se développer à des altitudes variant de 0 à 2100 m, mais préfère les sols salins en dessous de 500 m [33].
 - Sol : A l'état naturel, le *Tamarix* préfère surtout, les zones alluviales. Il occupe typiquement les sites à texture mélangée : sable et limon ou limon/argile/sable. Il peut également se développer dans des sols à texture homogène : sableuse ou limoneuse [13].
 - Salinité : Le *Tamarix* n'est pas un halophyte obligatoire, il peut tolérer de grandes variations de concentrations d'éléments minéraux dans les différents types de sol. Il se développe dans les sols ayant en moyenne 600 mg/l de sel. Il peut survivre dans des concentrations de sels excédant les 50 mg/l [34].
 - pH : Par rapport à d'autres arbustes, le *Tamarix* a une légère préférence pour des conditions alcalines (pH = 7.5) [13].
 - Acquisition de l'eau : Dans les conditions extrêmes de sécheresse, le *Tamarix* peut vivre en tant que xérophyte [35]. Il régule son système d'évapotranspiration en fonction de la profondeur de la nappe phréatique : plus l'eau est profonde plus l'évapotranspiration est réduite [36]. Les stomates ne s'ouvrent que pendant les heures les plus fraîches et les plus humides du jour. Ceci leur permet d'acquérir du CO₂ proportionné sans perdre beaucoup d'eau.

1.2. *Tamarix articulata* Vahl, *Tamarix aphylla* (L) Karst. *Tamarix orientalis*. Forsk.

Tamarix articulata est connu depuis longtemps. Il est cité dans le Coran sacré sous le nom d'Athel (Surat Saba, verset 16). « *Ils se détournèrent et nous lâchâmes alors sur eux les eaux torrentueuses du barrage et changeâmes leurs deux vergers en deux vergers aux fruits amères, avec des athl (tamaris) et quelques rares sidr (cèdre ou jujubier épineux)* » (Sourate Saba, verset 16). Il est aussi cité dans la Bible (Genèse XXI, 33 ; 1

Samuel XXXI, 13) [22] ; [37] ; [38]. Selon HEPPEL [39], Abraham planta un *Tamaris* (*ishil*) à Bersabée (Jordanie) et y invoqua le nom de Yahvé. Ce qui évoque la trace de rituels plus anciens liés à des cultes d'arbres sacrés [40]; [26].

Arbre de taille moyenne avec une hauteur de 4 à 12 m et un diamètre de 60-80 cm [41] (Figure 1.8.a), avec un tronc robuste [42] ; [43]. Il se développe plus rapidement que toute autre espèce dans les étages arides [13]. *T. articulata* est la seule espèce du genre qui présente des feuilles en revêtement [12].

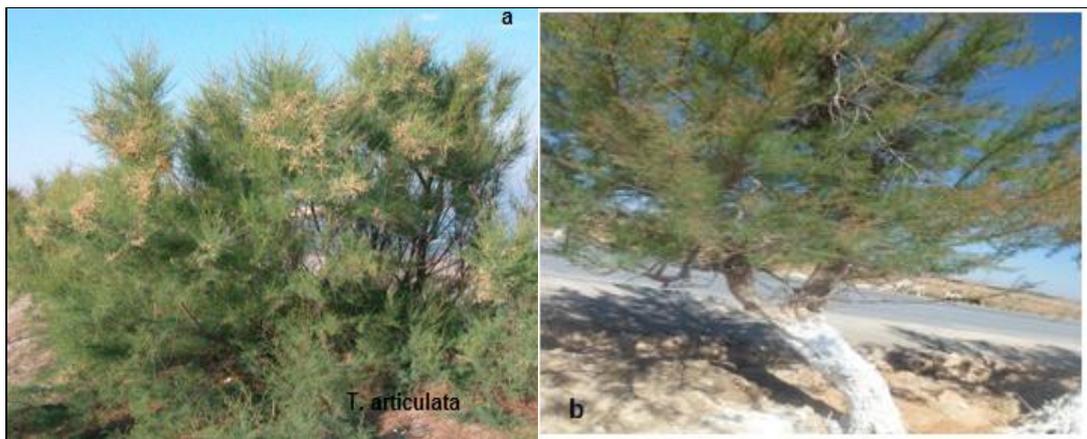


Figure 1.1.8: Tamarix naturel et planté. **a** : *Tamarix articulata* issue de régénération naturelle à Hassi-Bahbah (Original, 2013) ; **b** : *Tamarix articulata* planté à Ain Oussera (Original, 2013).

T. articulata se caractérise par des rameaux lui donnant un aspect articulé dépourvu de feuilles [23] ou à feuillage plumeux [44], chatons grêles au sommet de jeunes tiges. Les fleurs blanchâtres sont composées de plusieurs pétales disposés en rond. Le pistil sort du calice qui devient par la suite une capsule oblongue et membraneuse. Elle s'ouvre en deux parties renfermant les graines. Les étamines sont au nombre de 5 insérées entre les cornes du disque [42] ; [43] (Figure 1.8.b).

- Distribution géographique du *Tamarix* : L'espèce est recensée en Afrique (Maroc, Algérie, Tunisie, Lybie, Egypte, Sénégal, Soudan, Abyssinie, Erythrée, Somalie et Kenya) et au Moyen-Orient (Israël, Jordanie, Arabie-Saoudite, Yémen, Iraq, Kuwait et Iran). *Tamarix articulata* se retrouve également au Pakistan, en Inde et en Afghanistan [45].

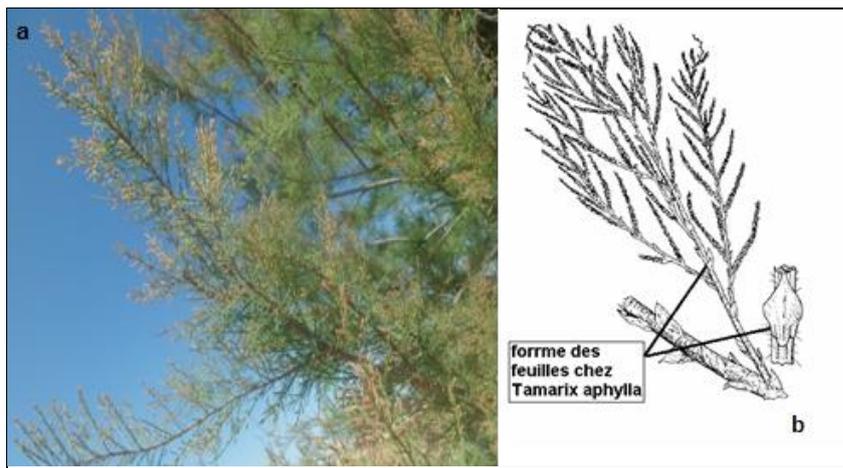


Figure 1.1.9 : Rameaux avec feuilles de *T. articulata*. **a.** *T. articulata* à Kasr-El-Boukhari (Original, 2013) ; -**b :** forme des feuilles. OZENDA[23].

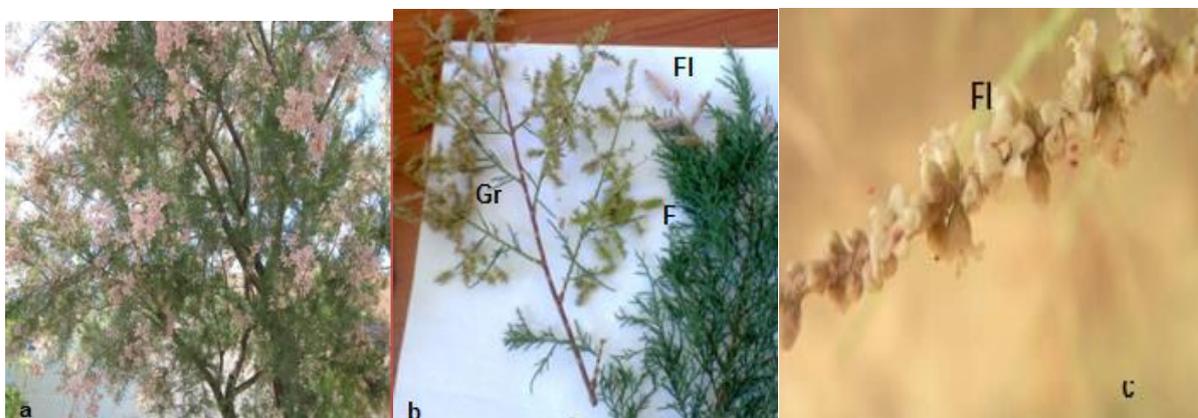


Figure 1.1.10: - **a :** *Tamarix articulata* en floraison (Mai, Djelfa) 2013(Original ,2013). - **b :** Fleurs, feuilles et graine de *Tamarix articulata* (Djelfa, 2013) ; - **c :** Fleurs des *Tamarix articulata* KHABTANE [26]. F : feuilles ; Fl : Fleurs, Gr : graines.

- *Tamarix articulata* en Algérie

Ce fut QUEZEL et SANTA [42], les premiers qui ont recensé la présence des espèces du genre *Tamarix* dans le Sahara méridional. Les *Tamarix* sont plus rares et ne sont guère représentés que par les deux espèces précédentes [43].

- Les groupements naturels de *Tamarix articulata* se trouvent principalement dans le Sahara. Le groupement à *T. articulata* fut identifié au sein de 2 types d'habitats : vallées sablonneuses des grands oueds sahariens (Guir, Zousfana) et bordures des dépressions de Dayet Tiour (Taghit) et d'Oglat Ed-Daira (Naâma) [46]. L'aire de répartition du groupement est sous la dépendance de conditions édaphiques

précises : nappe phréatique profonde, salinité plus ou moins élevée et une texture sablo-limoneuse (présence d'alluvions épaisses conservant une humidité constante) [23].

Différentes espèces de *Tamarix* se développent également sous ces habitats en une structure bi-strate : une strate arborée (*Tamarix articulata*) et une strate arbustive (*Tamarix pauciovulata* et *Tamarix speciosa*). Ce qui forme un peuplement disjoint (Figure 1.11), où les individus du *T. articulata* sont isolés au sommet de buttes alluviales hautes de 1 à 3 m constituées par des sédiments limoneux.

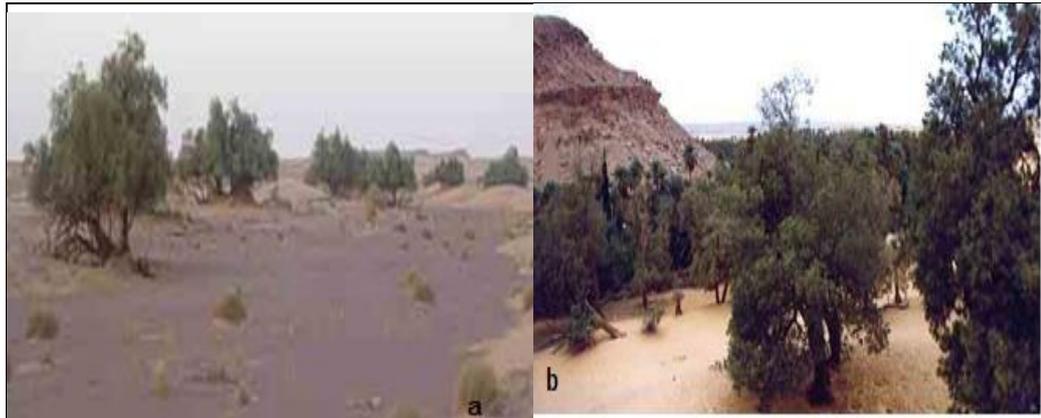


Figure 1.1.11 : Les groupements naturels de *T. articulata* dans le Sahara algérien [46].-**a** : Peuplement épars de *Tamarix articulata* dans le lit majeur de l'Oued Zousfana au Sud de Taghit ; -**b** : Forêt galerie de *Tamarix articulata* Vahl, en concurrence avec la palmeraie de Taghit dans l'Oued Zousfana [46].

- Plantations de *T. articulata* en Algérie :

L'introduction de *Tamarix articulata* dans des projets de plantations ont vu le jour durant la période coloniale en 1948 avec l'installation des voies ferrées dans les zones steppiques [11]. Par la suite, d'autres projets de fixation des sols testés par l'INRF en zones instables, particulièrement dans le cordon dunaire du Zahrez El-Gharbi (El-Mesrane et Bou Saada) (Figure 1.12) ont été assez concluantes de l'efficacité de cette espèce [1].



Figure 1.1.12 : Plantations de *Tamarix articulata* dans le cordon dunaire (Original, 2012).

- Utilisations du *Tamarix articulata* :

La première utilisation et la plus ancienne du *Tamarix articulata* était la production de galle utilisée pour le tannage des peaux de mouton et de chèvre. En médecine traditionnelle, les *Tamarix* sont utilisés pour leurs propriétés thérapeutiques et toutes les parties étaient utilisées pour leurs propriétés astringentes. Les fleurs sont appliquées en cataplasme sur les abcès cutanés et les plaies. Les galles, riches en tanins (50-55%), en infusion ou décoction sont anti-diarrhéiques. Ils sont utilisés pour soulager les douleurs dentaires.

1.3. Tamarix gallica L.

Plusieurs synonymes sont donnés à l'espèce *Tamarix gallica* : Le Tamaris ou "Tamarix commun", Tamaris" ou "Tamarix de France". Aux pays bas, il est connu sous le nom de "France tamarisk", et en Pologne, sous le nom de "maryszek francusk" [47]. En arabe académique, le *Tamarix gallica* est connu sous le terme *Athal tahtah*. En Corse, il est dit : *Tamarius* et en Basque c'est le *Malizka* [48]. En Algérie, il est connu par des noms différents selon les régions, mais les plus utilisés sont : «*Tarfa*» ou «*Tarfaïa* ».

Morphologiquement, le *Tamarix gallica* se caractérise par sa petite taille qui est de 3 à 6 m. Les rameaux très flexibles sont de 2 sortes : les uns très allongés, persistants et les autres s'épaississant [49] de couleur rougeâtre. Les *T. gallica* se caractérisent par des feuilles ovales lancéolées, des fleurs rosâtres qui apparaissent simultanément aux feuilles (en épi).

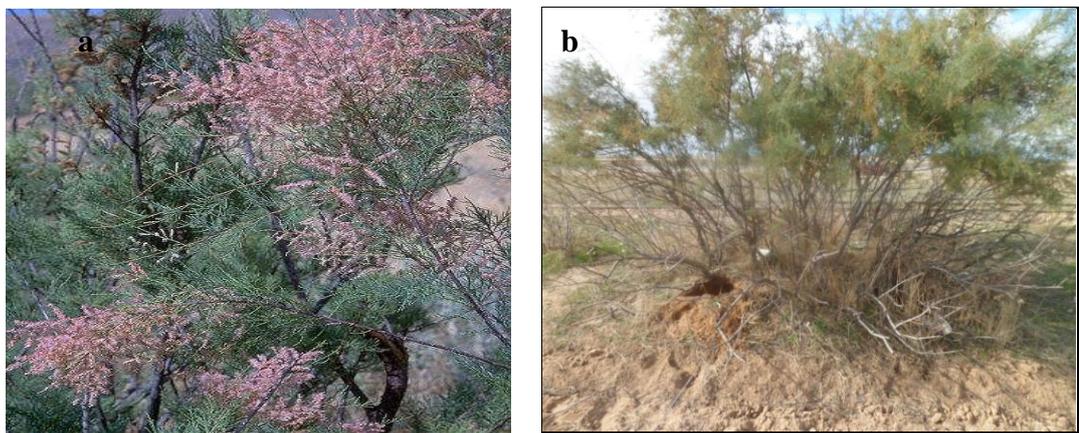


Figure 1.1.13 : Fleurs et rameaux de *Tamarix gallica*. **a.** Feuilles, rameaux et fleurs du *Tamarix gallica*, feuilles imbriquées, fleurs en chattons de couleur rose, rameaux brunâtres (Mai, Zaafrane) (Original, 2011). **b.** Jeune Plant de *T. gallica* à Hassi Bahbah issu de régénération naturelle (Original, 2013).



Figure : 1.1.14. Feuilles et graines de *T. gallica*. **a :** Structure des feuilles et graines chez les *Tamarix gallica* [29]. **b :** Inflorescences chez *Tamarix gallica* à Bougezoul (2013).

Fruit en capsule ovale-pyramidale, insensiblement atténuée de la base au sommet. Les graines ont un aspect plumeux et cotonneux les inflorescences en racème de 3-5 mm de large seulement [49] (Figure 1.14). La floraison débute en mars et dure jusqu'en mois de mai [50]. Dans certaines régions, elle peut durer jusqu'au mois d'août, voir début septembre [23].

- Distribution géographique du *Tamarix gallica*:

Le *Tamarix gallica* se trouve comme arbre d'ornement en Europe notamment sur les côtes de l'Atlantique et de la Manche, dans les Basses-Pyrénées, dans la région de la Seine-inférieure, en Angleterre méridionale, en Espagne occidentale et au Portugal [51].

- Le *Tamarix gallica* en Algérie

Contrairement à *T. aticulata*, le *Tamarix gallica* ne présente pas de groupement distinct. Il fut recensé au Hoggar par Quezel en (1954), où il forme de très beaux peuplements dans les vallées où l'eau se trouve à de très faibles profondeurs [52].



Figure 1.1.15 : *Tamarix gallica* L dans les lits d'oueds El- Arab (Khanchla) [26].

Le *Tamarix gallica* abonde le long des ruisseaux et des oueds, sur les berges des rivières de sable humide à forte teneur en sel. Il se caractérise par de longues racines pivotantes qui pénètrent dans les nappes profondes. Le *Tamaris* français tolère un large éventail de conditions hydriques sous des précipitations allant de 600 mm / an à 100

mm/an dans le Sahara [49]. Cette espèce se trouve également aux bords des routes et des voies ferrées, zones sujettes à des inondations saisonnières. Les plantes matures peuvent résister à de longues périodes d'inondation (70 - 90 jours, et même à plus de 500 jours) ainsi qu'à des conditions montagnardes en plus de leur résistance aux déserts arides etc. [12].

- Plantations de *Tamarix gallica* en Algérie:

De même que pour *T. articulata*, le *T. gallica* fut introduit dans les régions intérieures de l'Algérie durant la période coloniale [11]. Dans la lutte biologique contre l'ensablement, *T. gallica* donne des résultats intéressants, d'un point de vue écologique et économique. L'évolution phytoécologique des dunes fixées tout d'abord par *T. gallica* avant leur mise en défens atteste d'une remontée biologique tout en favorisant, par une protection et un ombrage conséquent, l'installation de la strate herbacée [52].



Figure 1.1.16 : Plantation de *Tamarix gallica*, projet de fixation des dunes d'El-Mesrane (Originale, 2012).

1.4. La symbiose mycorhizienne chez les *Tamarix* :

En 1983, BETHLENFALVAY et *al.*, [53] ont enregistré une faible dépendance mycorhizienne chez *T. pentandra* dans le désert Californien. Ils précisent l'existence de *Funneliformis (Glomus) mosseae* et d'une espèce de glomoid non-identifiée qu'ils ont

édité en tant que *Glomus* sp A. De leur côté, MEJSTRIK et CUDLIN [54] expliquent dans leur travaux sur la symbiose mycorhizienne dans la région de Ain Oussera que les *Tamarix* sp étaient colonisés par des champignons mycorhiziens arbusculaires avec une absence totale des ectomycorhizes. Ils précisent également de faibles taux de colonisation racinaire.

De plus BEAUCHAMP et al., [55] ainsi que MEINHARDT et GEHRING [56] et TANIGUCHI et al., [57] expliquent que les racines des *Tamarix ramosissima* récoltées en plein champs ou sous serres sont la plupart du temps faiblement colonisées, que ce soit par des ectomycorhizes ou par des champignons arbusculaires. BEAUCHAMP et al., [55] ont également observé que l'inoculation des plants de *T. ramosissima* n'entraîne généralement pas une amélioration de la croissance. ZHAOYOUNG et al., [29] suggèrent que la richesse spécifique en spores de champignon mycorhiziens arbusculaires, est plus faible sous les cultures de *Tamarix* que dans la rhizosphère des plantes adjacentes. Toutefois, des études ont démontré que la présence des CMA dans les racines des plantes voisines des *Tamarix* étaient bénéfiques à leur croissance [55] ; [56].

Par ailleurs, dans leurs travaux sur la symbiose mycorhizienne arbusculaire chez *Tamarix articulata*, CHAUDHRY et al, [21] indiquent une richesse spécifique en CMA et des taux de colonisation variant entre 46 et 72%. Cependant, il est à noter que la symbiose mycorhizienne chez *Tamarix gallica* et *Tamarix articulata* est très peu documentée.

I.2. La Symbiose Mycorhizienne Arbusculaire

I.2. A. Les champignons mycorhizien arbusculaires (CMA)

I. 2.1. Historique

Une grande partie des plantes terrestres sont capables d'établir, au niveau de leurs racines, une relation symbiotique avec un champignon mycorhizien formant ainsi une association appelée : *Mycorhize* du grec «myco» pour champignon et «rhize» pour racines). C'est d'ailleurs, dans la seconde moitié du XIX^{ème} siècle que l'évidence d'une alliance entre les racines des plantes et des champignons a été mise en évidence par FRANCK en 1885 [58]. Il existe différentes manières au symbiote fongique de s'associer aux racines des plante-hôtes, ce qui conduit à l'apparition de structures mycorhiziennes différentes. Ainsi en se basant sur des critères morphologiques et écologiques, PEYRONEL et *al.*, [59] ont défini trois grands groupes de mycorhizes : Les ectomycorhizes - Les endomycorhizes - Les ectendomycorhizes.

La symbiose mycorhizienne à arbuscules est la symbiose la plus ancienne et la plus répandue sur la terre [60]. En effet, plus de 80% des plantes terrestres vivent en étroite collaboration avec les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) [14]. L'étude des fossiles a montré que les associations mycorhiziennes à arbuscules ont joué un rôle fondamental dans la colonisation de la surface terrestre par les plantes supérieures [61] ; [62], il y a de cela plus de 460 millions d'années [16]. Ils forment ainsi des associations avec la majorité des plantes vasculaires [63]. De leur côté, les symbiotes fongiques ne peuvent compléter leur cycle vital sans la présence de plantes, ce sont des "*champignons biotrophes obligatoires*" [64].

I. 2.2. Taxonomie des champignons mycorhiziens à arbuscules

Les CMA ont toujours posé de gros problèmes taxonomiques, principalement en raison de la difficulté d'extraire leurs spores du sol et de les maintenir en vie [65]. Les champignons responsables de la symbiose mycorhizienne arbusculaire appartiennent au

phylum des Gloméromycota [66] qui se caractérise par des hyphes non cloisonnées (une structure cœnocytaire) et une reproduction asexuée avec la formation de mycorhizes vésiculo-arbusculaires [67]. Aujourd'hui, trois classes constituent le phylum : Archaeosporomycetes, Glomeromycetes, et les Paraglomeromycetes, avec cinq ordres : Archaeosporales, Diversisporales, Gigasporales, Glomerales et Paraglomerales, 14 familles, 29 genres et approximativement : 230 espèces [68] ; [69] ; [70] ; [71] ; [72] (Figure 2.1).

Les glomeromycètes représentent une grande diversité morphologique notamment au niveau des spores, qui est utilisée comme critère de classification (Figure 2.2) :

- Développement de la spore, sa forme, sa taille, sa couleur, les ornements sur la paroi, en plus de la paroi elle-même et sa réaction à la coloration.
- Le contenu des spores, la poursuite de la germination, l'épaisseur de l'hyphes suspenseur et les structures extérieures associées aux hyphes.
- Il est possible de différencier les espèces des CMA selon leur mode de colonisation racinaire, principalement chez les espèces du genre *Glomus* [65].

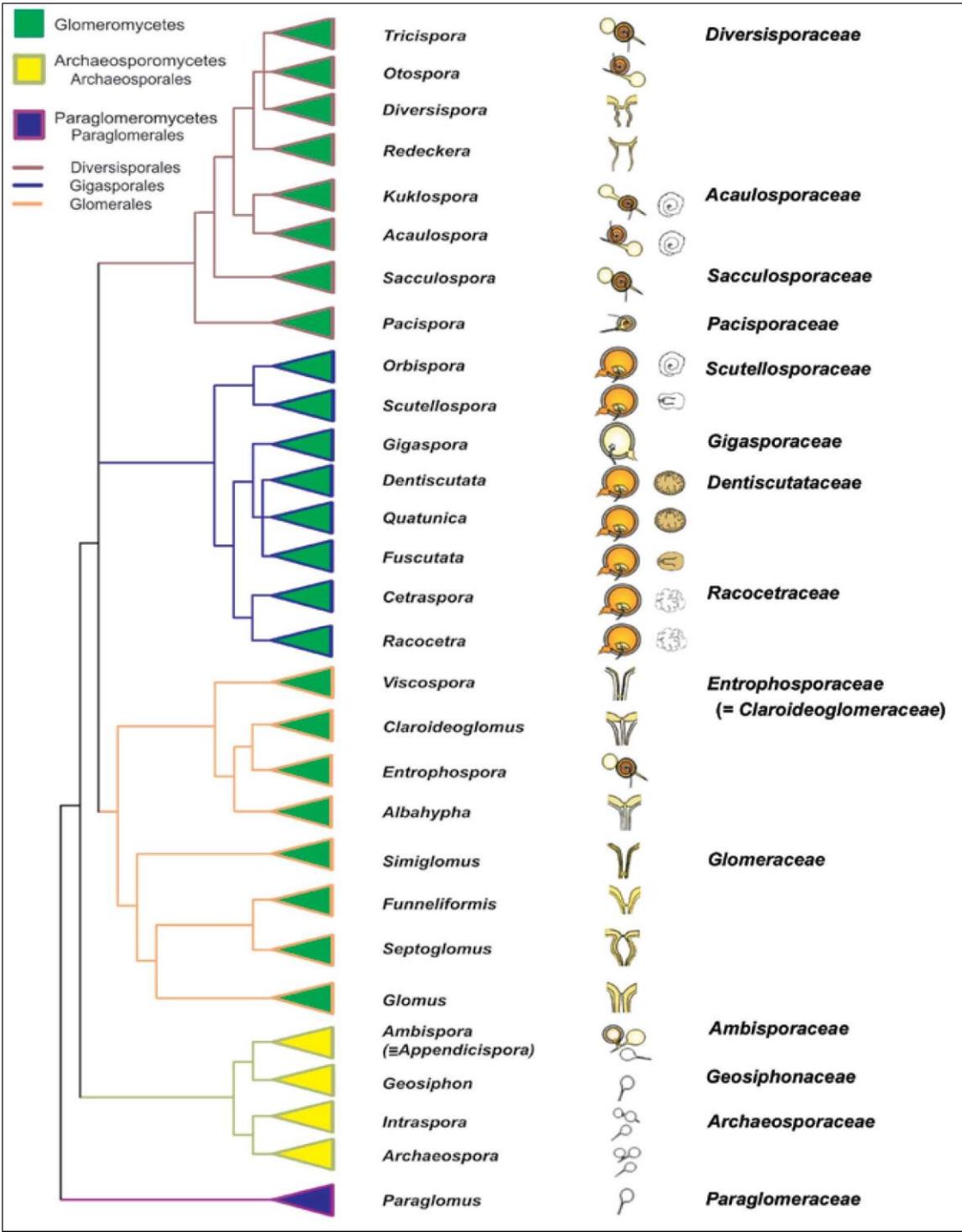


Figure 1. 2.1 : Classification phylogénétique des Glomeromycota basée sur les analyses moléculaires SSU, ITS régions LSU de l'ARNr et du gène β -tubuline) et les caractéristiques morphologiques (Paroi sporale, hyphes suspenseurs, germination, et les structures germinatives). Adapté selon OEHL [70] ; [73]. Les figures au centre des colonnes représentent la formation des spores et la germination de chaque genre.

Cependant, la biodiversité des CMA est probablement sous-estimée [84] puisque la taxonomie actuelle se base sur les critères morphologiques alors que les techniques émergentes permettent d'obtenir des séquences de racines, de sol, ou directement des spores isolées, donnant accès à des espèces non-sporogènes ou difficilement détectables [73]. De ce fait, 204 groupes phylogénétiques de CMA ont été trouvés augmentant le nombre de taxons virtuels des glomeromycètes à 341 [73]. Des études moléculaires basées sur la structure de l'ADN se multiplient. Le génome entier de l'espèce *Rhizophagus irregularis*, l'espèce référence des Glomeromycètes a été récemment séquencé [16].

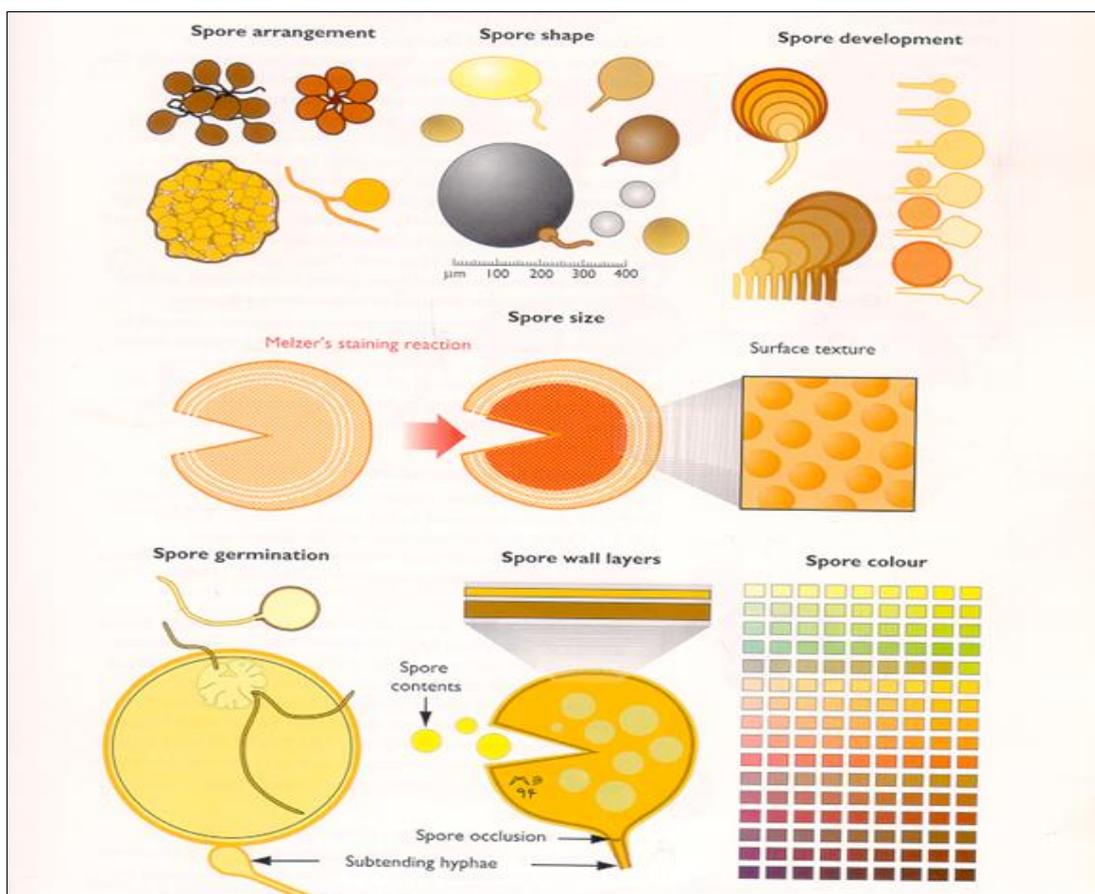


Figure 1.2.2 : Critères de différenciation des spores chez les Glomales établis par BRUNDRETT et *al.*, [74].

I. 2.3. Le cycle de développement des CMA

Les CMA sont des biotrophes obligatoires. Ils dépendent entièrement d'un hôte végétal pour leur nutrition carbonée afin d'accomplir leur cycle de développement [15]. L'établissement de l'association mycorhizienne débute souvent par la germination d'une

spore [75], ou de vésicules [76]. D'une manière générale, les spores des CMA sont capables de germer spontanément [14] ; [75]. Ensuite, selon la présence ou l'absence de racines hôtes à proximité, la spore réagit différemment [77]. En cas d'absence de racines hôtes, la progression du tube germinatif cesse après environ quinze jours [78] ; [79]. Tant que les conditions physiques et physiologiques seront satisfaisantes, la spore pourra de nouveau germer et va tenter d'établir à nouveau une symbiose avec un nouvel hôte.

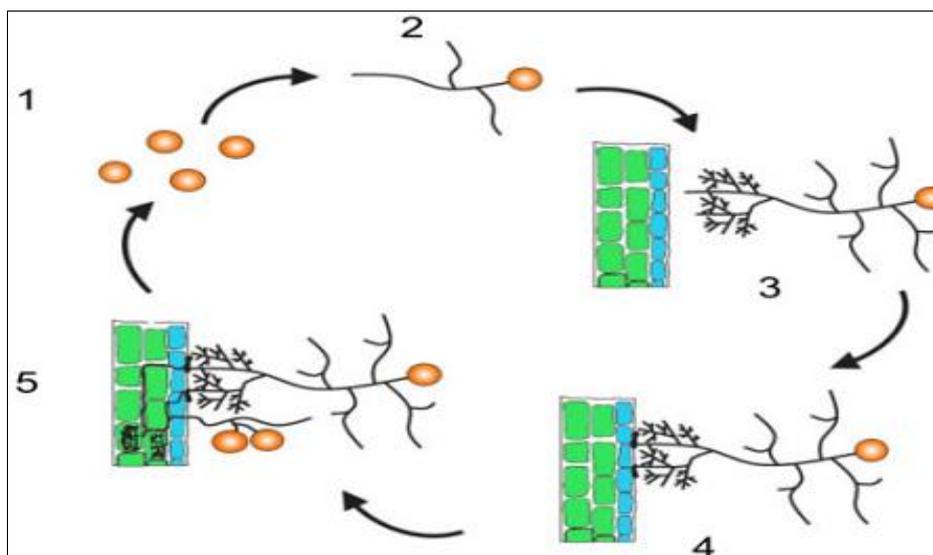


Figure 1.2.3 : Cycle de développement du champignon mycorhizien arbusculaire. AKIYAMA, [80].

En présence d'un hôte végétal, le champignon peut réaliser un cycle complet de colonisation subdivisé en cinq stades :

- Stade 1 : Germination de la spore et formation d'un mycélium primaire : le pro-mycélium ;
- Stade 2 : Contact avec la racine et formation d'un appressorium ;
- Stade 3 : Pénétration du champignon dans la racine et formation de mycélium secondaire, et de structures intracellulaires : les arbuscules et les vésicules intercellulaires selon les espèces ;
- Stade 4 : Expansion d'un réseau mycélien extra-racinaire et différenciation de spores ;
- Stade 5 : Dissémination du champignon mycorhizien arbusculaire [77].

L'établissement de la symbiose peut être divisé en trois phases primordiales (Figure 2.4) durant lesquelles les deux partenaires entreprennent une série d'échanges de signaux coordonnés et de changements morphologiques, permettant l'entrée du CMA à l'intérieur des racines.

1.2.3.1. La phase a-symbiotique

Elle correspond à la germination de la spore à partir d'un état quiescent [81] ; [82] et à la formation d'un hyphes germinatif et quelques ramifications primaires sans stimulus exogène. Si aucun signal racinaire ne se manifeste dans les 2 à 4 semaines de croissance, le développement du champignon est arrêté et la spore entre à nouveau en dormance [83] tout en conservant ses réserves énergétiques [84].

1.2.3.2. La phase pré-symbiotique

La phase pré-symbiotique commence lorsque le partenaire fongique a perçu la présence de son hôte grâce aux exsudats racinaires excrétés dans le sol [79]. Ces molécules induites sont de nature lipophile, dénommé : « *branching factors* », identifiée comme étant des « *Strigolactones* » : le «*5-deoxy-strigol*» [75] ; [85] ; [86]. Depuis quelques années, ces molécules commencent à être considérées comme des nouvelles hormones végétales, jouant un rôle important dans la physiologie des plantes, incluant le développement des bourgeons et des racines [85]. Ces molécules induisent l'augmentation du métabolisme fongique, l'élongation et la ramification hyphale [75] ; [76], en plus de l'absorption du phosphore et de l'hyperpolarisation de la membrane plasmique fongique [75] ; [80] ; [85]. En effet, ces « *branching factors* » activent le métabolisme énergétique du champignon, la multiplication de ses mitochondries et sa prolifération cellulaire [86]. En même temps la perception par la plante des « *myc factors* ». Il semble que *myc factor* est un mélange de lipo-chito-oligosaccharides (LCO) sulfatés et non sulfatés [87] produites par les CMA et qui engendre l'activation de la voie de transduction du signal SYM menant à la régulation des gènes propres à l'installation de la symbiose, l'accumulation d'amidon dans la racine en plus du développement de nouvelles racines latérales [88].

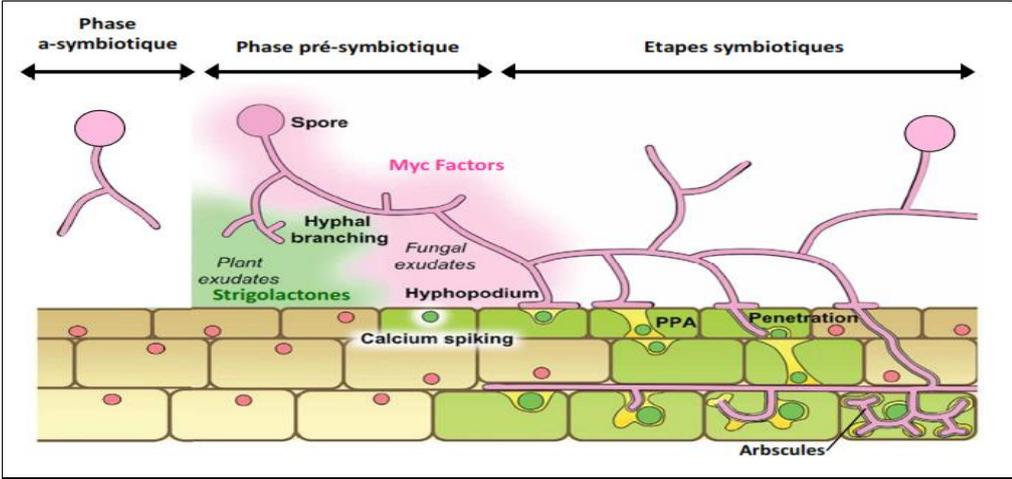


Figure 1.2.4 : Schéma des différentes étapes de colonisation des CMA. Bonfante et Genre [82].

1.2.3.3. La phase symbiotique

Suite au contact avec le partenaire végétal, le champignon mycorhizien forme une structure renflée appelée : «hyphopode » à sa surface [82]. La formation de cet hyphopode est contrôlée à la fois par les facteurs environnementaux et par le génome du végétal [14] ; Elle peut être, négativement, contrôlée par la plante en présence de fortes teneurs en phosphate [89], ou positivement contrôlée, si les conditions sont favorables, avec le développement d'un appareil de pré-pénétration : « *prepenetration apparatus* » (PPA) [82]. Ce dernier, va permettre au champignon d'entrer dans la racine et d'atteindre la zone corticale de la racine pour y développer des structures d'échanges hyper-ramifiées « *arbuscules* » [90] ; [88]. La membrane plasmique reste intègre et s'invagine autour de l'arbuscule, résultant de la formation d'un nouveau compartiment apoplastique appelé « *arbuscular interface compartment* » [91]. C'est le site principal d'échange entre le champignon et la plante [92]. Les arbuscules ont une durée de vie courte. Ils dégénèrent après 7 à 10 jours [88] ; [93] ; [94]. Après la formation des arbuscules, certaines espèces de CMA forment dans la racine des organes de réserve appelées vésicules (Figure 2.5). Elles sont de forme ovale et se développent généralement entre les cellules du cortex racinaire. Ces dernières accumulent des lipides de réserve et s'entourent de fines couches pariétales dans les racines âgées. Elles continuent à se développer quand les arbuscules dégénèrent. La fonction de ces vésicules n'est pas connue, mais l'accumulation de réserves en carbone sous forme de lipides suggère fortement un rôle de conservation et de dissémination du champignon après la mort de la racine [14] ; [16] ; [95].

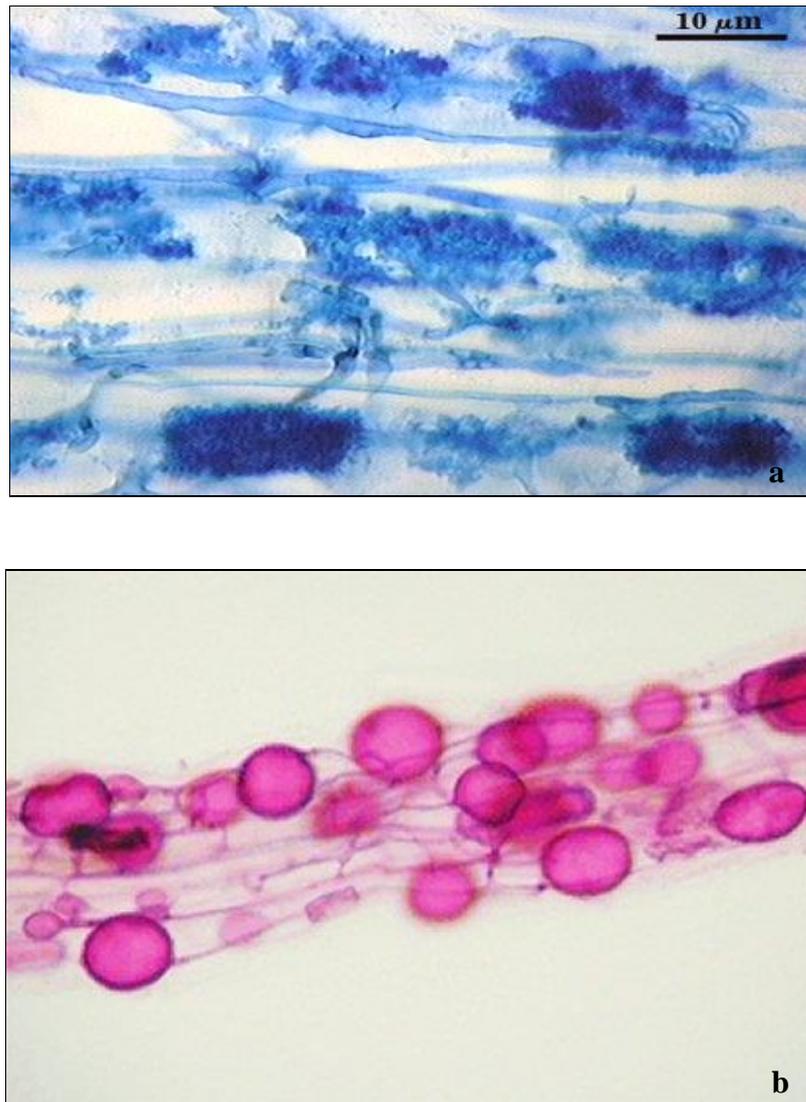


Figure 1.2.5 : Structures internes des CMA. a. Arbuscules. b. Vésicules intraracinaires observées dans les racines de *poireaux* (GINCO, 2013) [96]

Par la suite, le champignon peut finir son cycle de développement et former une nouvelle génération de spores en établissant un réseau extraracinaire de mycélium, formé d'hyphes exploratrices et d'hyphes BAS « *Branched Absorbing Structures* » à proximité desquelles vont se développer des spores qui représentent dans ce cas les structures végétatives) permettant la dissémination du champignon [97].

1.2.4. Bénéfices de la symbiose mycorhizienne à arbuscules

L'interaction mycorhizienne se caractérise par un transfert bidirectionnel de nutriments. En échange du carbone fourni par la plante, les CMA améliorent l'absorption

des éléments minéraux, l'absorption de l'eau, les activités hormonales, l'agrégation des sols, la protection contre les organismes pathogènes et la résistance aux stress environnementaux [60].

1.2.4.1. Bénéfices pour le CMA

Grâce au transfert bidirectionnel, les CMA perçoivent des éléments carbonés issus de la photosynthèse de la plante hôte. Cette part de photosynthétats au champignon est non négligeable puisqu'elle peut atteindre jusqu'à 20% du carbone fixé lors de la photosynthèse [98]. Celui-ci est transporté jusqu'aux racines sous forme de saccharose et de monosaccharides comme le glucose, le fructose et le mannose [99] (Figure 2.6). Avant son transport à travers la membrane plasmique végétale, le saccharose doit être clivé par une invertase d'origine végétale induisant la production de glucose et de fructose [100]. Les hexoses seraient ensuite transportés vers le champignon passivement à partir de l'apoplasme via des transporteurs fongiques spécifiques. Un premier transporteur fongique spécifique "MST1" « *Monosaccharide transporter 1* » fût identifié chez *Geosyphon pyriformis* est localisé sur la membrane plasmique et permettrait de transporter les hexoses sous forme de glucose et de mannose [99], [101], [102]. Ce mécanisme de transfert du carbone est régulé de façon complexe au niveau de l'interface entre les deux organismes [16]. HELBERT et *al.*, [102] ont montré que le gène fongique *GiSUC1* possède une forte similarité avec la séquence du transporteur de saccharose alors que celui-ci n'est généralement pas considéré comme étant prélevé par les CMA [103]. Par ailleurs, un gène "MST2", hautement exprimé durant la symbiose est à peine détecté durant les autres phases du cycle de développement du CMA chez *Rhizophagus irregularis*, pourrait être impliqué dans le développement de glucides d'origine végétale [102]. Ce gène s'exprime également dans les hyphes intercellulaires, indiquant que ces structures sont également le siège de prélèvement des glucides [102]. Le carbone obtenu est ensuite stocké chez les CMA sous forme de tréhalose [16].

1.2.4.2. Bénéfices pour la plante

1.2.4.2.1 Bénéfices trophiques

Le principal rôle des CMA est l'amélioration des nutriments hydrique et minérale de la plante. Le phosphore [83], [104] ; [105], et l'azote [104] en plus d'autres cations essentiels tels que le zinc, le cuivre, le manganèse et le fer [106] sont prélevés du sol par les structures extra-racinaires fongiques et transportés jusqu'aux racines de la plante. Il en résulte une amélioration de la croissance des plantes mycorhizées [104] ; [107]. En effet, l'élongation des hyphes extra-racinaires augmente la surface de contact entre les minéraux du sol et la racine puisque les hyphes peuvent atteindre une longueur de 81 à 111 m/cm³ de sol [108] ce qui leur permet d'explorer des zones non accessibles aux plantes.

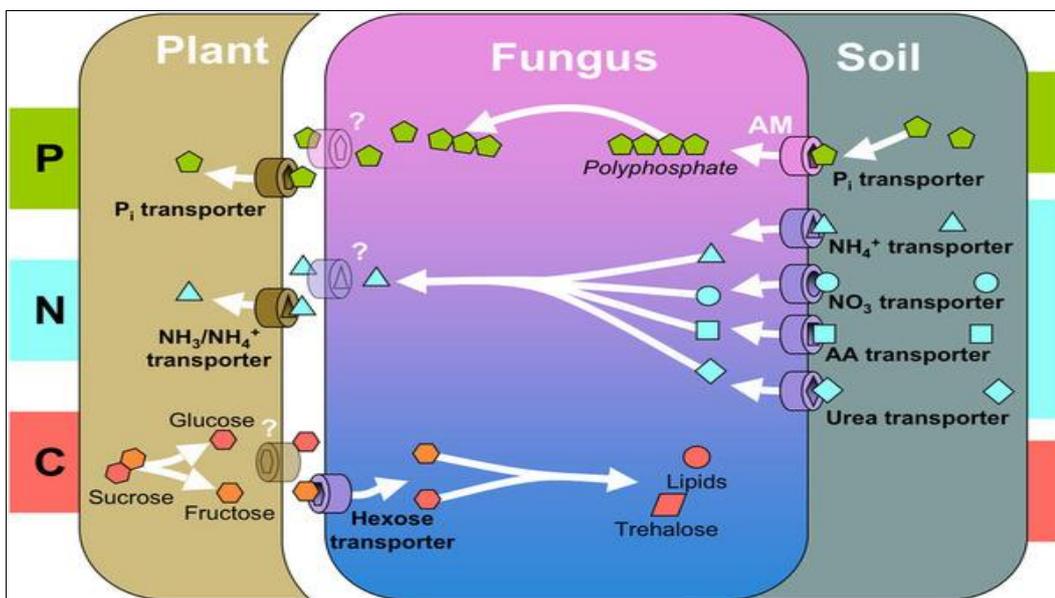


Figure 1.2.6 : Schéma récapitulatif des principaux processus d'échanges de nutriments entre l'hôte et le champignon arbusculaire. Bonfante et Genre [82]. [Phosphore P), azote N) et carbone C)] dans l'ensemble des symbioses mycorhiziennes. Les interfaces entre les trois compartiments sol, champignon et racine sont représentés. Le P inorganique (P_i) et les formes d'N organique ou inorganique, telles que le NH₄⁺, NO₃⁻ et les acides aminés AA), sont prélevés dans le sol par des transporteurs spécialisés localisés dans le mycélium extra-racinaire. NH₃/NH₄⁺ et P_i après hydrolyse des groupements poly-phosphate chez les CMA) sont importés au niveau de l'interface symbiotique des arbuscules chez les CMA vers les cellules végétales grâce à des transporteurs spécifiques. Les transporteurs d'hexoses importent le carbone de la plante jusqu'au champignon.

a. La nutrition hydrique

La résistance des plantes à la sécheresse est l'un des rôles majeurs des CMA [109]. Cette adaptation aux faibles potentiels hydriques est due à l'accumulation dans les cellules

des hyphes fongiques de substances solubles qui abaissent la pression osmotique (*osmoprotectants*) du potentiel hydrique interne, facilitant ainsi la pénétration de l'eau. MEDDEICH *et al.*, [110] ; [111] ; [112] ont montré que les plantes de *Trifolium alexandrinum* (Trèfle) et de *Phoenix dactylifera* (Palmier dattier) inoculées par *Glomus mosseae* pour le trèfle et par *Glomus monosporus* et *Glomus clarum* pour le palmier dattier ont montré une teneur en eau significativement supérieure à celle du témoin non mycorhizé. L'acquisition de l'eau chez les CMA se fait par une simple diffusion à travers la membrane plasmique tout en impliquant l'aquaporine rendant cette diffusion plus efficace [113] ; [114].

b. Le phosphore

L'amélioration de la nutrition phosphate est considérée comme l'avantage principal apporté par la symbiose mycorhizienne à arbuscules [115]. En effet le phosphore est un élément indispensable à la vie de la plante. Il entre dans la synthèse de nombreuses molécules telles que l'adénosine triphosphate (ATP), les nucléotides, les phospholipides et certaines enzymes et co-enzymes [116]. Le phosphore est principalement prélevé sous forme d'ortho-phosphate en concentration le plus souvent suffisante (10 μ M). Les phosphates chargés négativement, sont complexés aux argiles et aux acides humiques et sont donc très peu mobiles dans un sol. Et par conséquent, une zone de carence en phosphate se crée autour de la racine, nécessitant l'intervention des CMA.

Les CMA possèdent des phosphatases alcalines qui vont cliver des substrats présents dans le sol et rendre le phosphate accessible [106] ; [117]. L'importation en elle-même est effectuée par des transporteurs fortement exprimés dans les hyphes extra-racinaires [118] ; [119] ; [120]. Le phosphate est ensuite converti en polyphosphates (entre trois et des milliers de molécules de phosphates) qui est transporté vers les hyphes intra-racinaires. Le polyphosphate est alors hydrolysé, afin d'être transporté dans la plante, via notamment des transporteurs spécifiques [121] de la famille '*Phl1*' [114].

Trois transporteurs différents ont été identifiés chez trois espèces de *Glomus* : '*GvPT*' (*Glomus versiforme*), '*GiPT*' (*Glomus intraradices*) et '*GmosPT*' (*Glomus mosseae*) [118] ; [119] ; [120]. Ils ne sont présents qu'au niveau des hyphes extra-racinaires, excepté '*GmosPT*' qui s'exprime également dans les hyphes intra-racinaires.

D'autre part, il existe une corrélation négative entre la concentration de phosphate dans le sol et le niveau de colonisation mycorhizienne des racines de la plantes. Le phosphore en excès agirait notamment en diminuant la formation des hyphopodes via un signal encore non identifié [89]. Lorsque le transporteur de phosphate végétale spécifique de la symbiose est muté, la colonisation est fortement diminuée [94] ; [123]. Et inversement, quand le transport de carbone alloué au symbiote est diminué, le champignon va accumuler le phosphate [124].

c. L'azote

Parallèlement au phosphore, l'azote est un élément indispensable à la plante ; Il entre dans la formation des phospholipides, des co-enzymes et des acides aminés. Il existe dans le sol sous deux formes : minérale et organique (nitrites, nitrates et ions d'ammonium). Le mycélium du CMA est capable de prélever l'azote sous forme d'ammonium (NH_4^+) [125], de nitrates (NO_3^-) [125] ; [126] et d'acides aminés [127], avec une nette préférence pour les ions NH_4^+ [128]. L'acquisition de l'azote nécessite l'activité de transporteurs localisés au niveau de l'interface sol/hyphes extra-racinaires du CMA. Récemment, deux gènes codant pour des transporteurs d'azote ont été identifiés chez les CMA '*Gint AMT1*' et '*Gint AMT2*' codant pour des transporteurs de haute -affinité aux ions NH_4^+ chez *Rhizophagus intraradices* DAOM197198 [128] ; [129]. Le '*GintAMT1*' est impliqué dans l'acquisition de l'azote à partir du milieu environnant tandis que le '*GintAMT2*' serait impliqué dans la récupération des ions NH_4^+ pour les besoins des CMA en azote [129]. Deux autres transporteurs putatifs de nitrate ont été identifiés, le premier s'exprime dans tous les structures intra-racinaires, tandis que le second est exprimé dans tous les compartiments fongiques [130] ; [131]. Une fois prélevé, l'azote est transporté jusqu'aux hyphes intra-racinaires sous forme d'arginine, acide aminé prédominant dans les hyphes extra-racinaires [132]. L'arginine, qui sera par la suite hydrolysé donne de l'urée et de l'Ornithine [130] qui seront hydrolysés par le cycle de l'urée afin de transférer l'azote à la plante [131].

d. Les oligo-éléments

Les oligo-éléments sont impliqués dans de nombreuses activités enzymatiques intervenant dans la photosynthèse, la respiration oxydative, la protection contre les

radicaux libres ou encore la biosynthèse des lipides [133]. Ces éléments sont principalement le cuivre, le zinc, le manganèse et le fer [134] qui sont comme le phosphore peu mobiles dans le sol. L'intervention des CMA se manifeste par une meilleure exploration du sol par les hyphes extra-racinaires. VINAYAK et BAGYARAJ [135] ont observé une mobilisation plus importante de phosphore, zinc et du cuivre chez des plantes mycorhizées de '*Citrange troyer*' (porte-greffe d'agrumes), par rapport aux mêmes plantes non mycorhizées.

1.2.4.2.2. Résistance aux stress

De nombreux travaux ont mis en évidence l'effet protecteur des CMA contre divers stress biotiques et abiotiques. Une atténuation des dommages causés par les agents phytopathogènes (champignons oomycètes, bactéries ou nématodes) a été démontrée chez les racines des plantes mycorhizées par rapport aux plantes non-mycorhizées [14] ; [16]. Ce potentiel des CMA comme agents de lutte biologique a été répertorié chez des dizaines d'espèces cultivées en association avec plusieurs glomérromycètes [110] ; [114] ; [136] ; [137].

L'effet protecteur contre divers stress abiotiques, telles que la sécheresse, la salinité et la pollution ont également été mis en évidence par plusieurs travaux [18] ; [22] ; [107] ; [109] ; [111] ; [112]. Ces effets positifs se manifestent sur les plans cellulaire, physiologique, nutritionnel et physique des plantes [138], ce qui améliore à la fois la photosynthèse et accroît le développement de la plante [138] ; [139]. Sur le plan hormonal, les travaux d'ALLEN et *al.*, [140] ont montré que les CMA augmentent la sécrétion des hormones végétales (principalement la cytokinine) dans les feuilles et les racines ce qui aboutit à l'augmentation de l'absorption du phosphore du sol et la résistance à la sécheresse [141].

a. Le rôle des CMA dans les zones arides et semi-arides

Ces zones du globe sont connues pour leurs nombreux stress abiotiques, tels que : la sécheresse, les températures extrêmes et la salinité. Face à ces aléas, il a été démontré que la symbiose arbusculaire augmente la résistance des plantes au stress hydrique [142];

[143], stimule leur croissance [144], améliore le taux de survie des plantes [145] et participe à l'amélioration de la structure du sol [146].

D'après BEARDEN et PETERSEN [147], le mécanisme impliqué dans la stabilisation des agrégats est basé sur la fixation des particules du sol par les hyphes et les racines et sur l'exsudation des polysaccharides. En effet, le réseau mycélien extraracinaires des CMA colonise le sol à une concentration de 50g d'hyphes/g d'agrégats stables [76], sécrétant en abondance une glycoprotéine : « *la glomaline* » [16], dont plusieurs études ont montré le rôle dans l'amélioration de la stabilité structurale du sol [148]. La glomaline est hydrophobe et thermotolérante, ce qui la rend plus lentement biodégradable par les microorganismes du sol et lorsqu'elle se lie aux particules d'argiles auxquelles elle confère une forte cohésion, elle est encore plus récalcitrante à la décomposition biologique, assurant ainsi une forte stabilité structurale des sols [16]. Cette propriété est utilisée principalement dans la fixation des dunes [149] ; [150].

- Effet de la salinité des sols sur les plantes

La salinité des sols est l'un des problèmes majeurs des zones arides et semi-arides [3] ; [18]. Dans ces conditions pédologiques l'utilisation des inoculum à base de CMA permet une meilleure installation et croissance des plantes mycorhizées par rapport aux non-mycorhizées [151] ; [152] ; [153] ; [154]. Toutefois, les dispositifs mis en place par les CMA sont à élucider [155] ; [156]. La présence de fortes teneurs en sels NaCl (NaCO_3^- , NaSO_4^{-2}) ou en sels de magnésium dans les sols des milieux arides et semi-arides, peut être à l'origine d'un stress à la fois ionique et hydrique. Ce qui influence directement les processus majeurs de développement des végétaux : la photosynthèse, la respiration, la synthèse des protéines, la synthèse d'énergie et le métabolisme lipidique [157] ; [158]. En plus de la perturbation de la structure des enzymes, des acides nucléiques et de la membrane plasmique [129] ; [151] ; [159] ; [160].

Physiologiquement, l'impact néfaste de la salinité se traduit par la conjonction d'un effet indirect sur le potentiel hydrique se traduisant par une réduction de la disponibilité de l'eau pour la plante [151] et également par la toxicité et les perturbations de la nutrition minérale induites par l'excès des ions Na^+ et Cl^- [18] ; [158] ; [161] ; [162] ; [163].

En présence de stress salin, les plantes ont tendance à sélectionner certains ions. Cette sélectivité est généralement liée aux mécanismes d'exclusion des ions Na^+ . Une forte sélectivité K^+/Na^+ a été démontrée au niveau du plasmalemme du cortex racinaire et dans le xylème des plantes les plus tolérantes au NaCl [151] ; [164] ; [165]. Le maintien de ce rapport K^+/Na^+ élevé constitue un mécanisme aidant au bon déroulement des processus métaboliques de la plante [18] ; [151] ; [153] ; [157] ; [158] ; [159] ; [166]. Le signal de contrainte extracellulaire est perçu en premier par la membrane réceptrice, puis une signalisation vaste et complexe est activée au niveau intracellulaire. Les signaux activés sont le résultat de l'expression de multiples gènes sensibles au stress [151] (Figure 2.8). Le signal de tension est d'abord perçu au niveau de la membrane par un récepteur spécifique, entraînant ainsi la génération de molécules de signalisation secondaires, tels que Ca^{+2} , les phosphates d'inositol, l'oxygène réactif (ROS) et de l'acide abscissique (ABA). Le signal de stress est alors traduit à l'intérieur du noyau dont les produits « *gènes de tolérances* » conduisent finalement à l'adaptation des plantes au stress signalé. Les gènes précoces sont induites dans les minutes de la perception du stress, incitant les facteurs de transcription à activer l'expression de gènes retardés : ‘‘*RD*’’ (*Responsive dehydration*), ‘‘*KIN*’’ (*cold induced*), ‘‘*COR*’’ (*Cold responsive*). Ces gènes sont soit directement impliqués dans la protection cellulaire contre le stress (par exemple, la fin de l'embryogénèse par la production abondante de protéines : des protéines antigél, des antioxydants et des enzymes de détoxification) ou indirectement par l'induction des facteurs de transcription et les enzymes du métabolisme du phosphatidylinositol [151] ; [167].

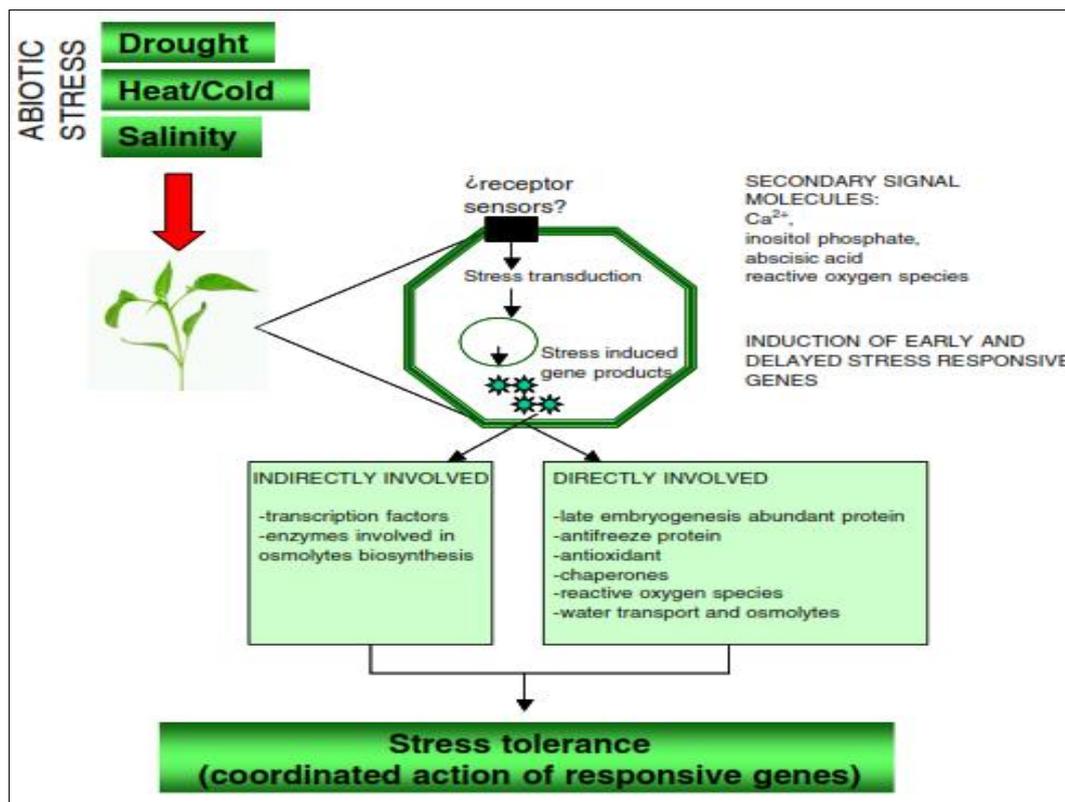


Figure 1.2.7. Voie générique chez les plantes en réponse au stress PORCEL *et al.*, [151]. Le signal de stress extracellulaire est perçu par le premier récepteur de la membrane, puis active une cascade de signaux intracellulaire complexe. Les résultats des signaux sont l'expression de gènes multiples sensibles au stress, dont les produits peuvent fournir directement ou indirectement, la tolérance au stress. Dans l'ensemble, la réaction de stress peut être une action coordonnée de nombreux gènes.

b. Les CMA et la salinité des sols

La salinité n’affecte pas, négativement, que les plantes hôtes, les CMA sont également touchés. Ce stress affecte, directement, le processus de colonisation racinaire, la germination des spores et la croissance hyphale ; [104] ; [151] ; [165] ; [168] ; [169]. La salinité réduit la germination des spores et la croissance des hyphes. Ainsi le nombre total des spores régresse exponentiellement suite à l’augmentation de la concentration totale en salinité [157] ; [170]. En revanche, une grande partie des écotypes naturels des CMA croit en présence de 10% de NaCl, ce qui les classe parmi les groupes osmo-tolérants « *Osmotolerant fungi* » [171] ; [172]. Ces espèces appartiennent en majorité au genre *Glomus* [165] ; [173] ; [174]. Le tableau 2.1 représente les principales espèces de CMA isolées à partir de sols à forte teneur en salinité.

D'autre part, la colonisation racinaire en milieu salin a fait l'objet de plusieurs études [151] ; [157] ; [160] ; [162] ; [163] ; [165] ; [175]. Certaines montrent une diminution des pourcentages de colonisation racinaire suite à l'augmentation de la salinité des sols [157] ; [160] ; [161]. Tandis que d'autre suggèrent que la salinité des sols favorise la sporulation des CMA [176] ; [177] et que la colonisation racinaire est accrue dans les sols naturellement salés [160] ; [178]. De plus BOWEN [179] montre que les premières phases de développement des CMA se déroulent normalement, à savoir la phase a-symbiotique et la phase pré-symbiotique. C'est beaucoup plus la phase symbiotique qui est affectée par la salinité [157]. Cela est principalement dû aux modifications physiologiques de la plante [151] ; [165]. Le tableau 2.2 résume les stades de développement affectés par la salinité de quelques espèces de CMA.

Tableau 1.2.1 : Exemples d'espèces de CMA Osmo-tolérantes. Toutes les espèces sont citées selon la classification récente.

Ordre (Nombre des espèces)	Principales espèces	Références
Glomerales	<i>Funneliformis geosporum</i>	[180] (2001)
Glomerales	<i>Funneliformis geosporum</i>	[181] (2003)
Glomerales (19), Archeosporales (1), Pacisporaceae (1)	<i>Funneliformis geosporum</i>	[182] (2009)
	<i>Funneliformis geosporum</i>	
Glomerales (15), Diversisporales (2)	<i>Funneliformis caledonium</i> <i>Rhizophagus irregularis</i>	[183] (2009)
Glomerales (22)	<i>Rhizophagus irregularis</i> <i>Rhizophagus fasciculatus</i>	[184] (2014)
Glomerales (16), Diversisporales (5), Gigasporales (3), Archeosporales (3), pacisporaceae (2), Paraglomerales (1)	<i>Caloideoglopus constrictum</i> <i>Paraglopus occulatum</i>	[163] (2013)
	<i>Funneliformis caledonium</i>	[163] (2013)
Glomerales (7), Diversisporales (1)	<i>Funneliformis mosseae</i> <i>Glomus proliferum</i>	

c. Réponses des plantes mycorhizées au stress salin

Les CMA en interagissant avec leurs plantes-hôtes leur permettent de mettre en œuvre des mécanismes de tolérance [185]. La figure 2.9 illustre les mécanismes impliqués chez les plantes mycorhizées dans la résistance à la salinité des sols.

Les CMA améliorent la tolérance au sel des plantes en début de leur croissance [157], [186] en produisant plus d'hormones de croissance. Et ce afin d'améliorer les conditions rhizosphériques et les conditions du sol [187]. Les CMA modifient toutes les propriétés physiologiques et biochimiques de l'hôte [18]. Ceci peut se manifester par :

- Une augmentation et/ou une meilleure sélection dans le prélèvement des nutriments [151],
- Une accumulation de composés osmorégulateurs [104],
- Une importante conductance stomatique [158],
- Une meilleure transpiration [187],
- Une augmentation de l'activité photosynthétique ou encore une limitation de la déshydratation des feuilles [151] ; [188].

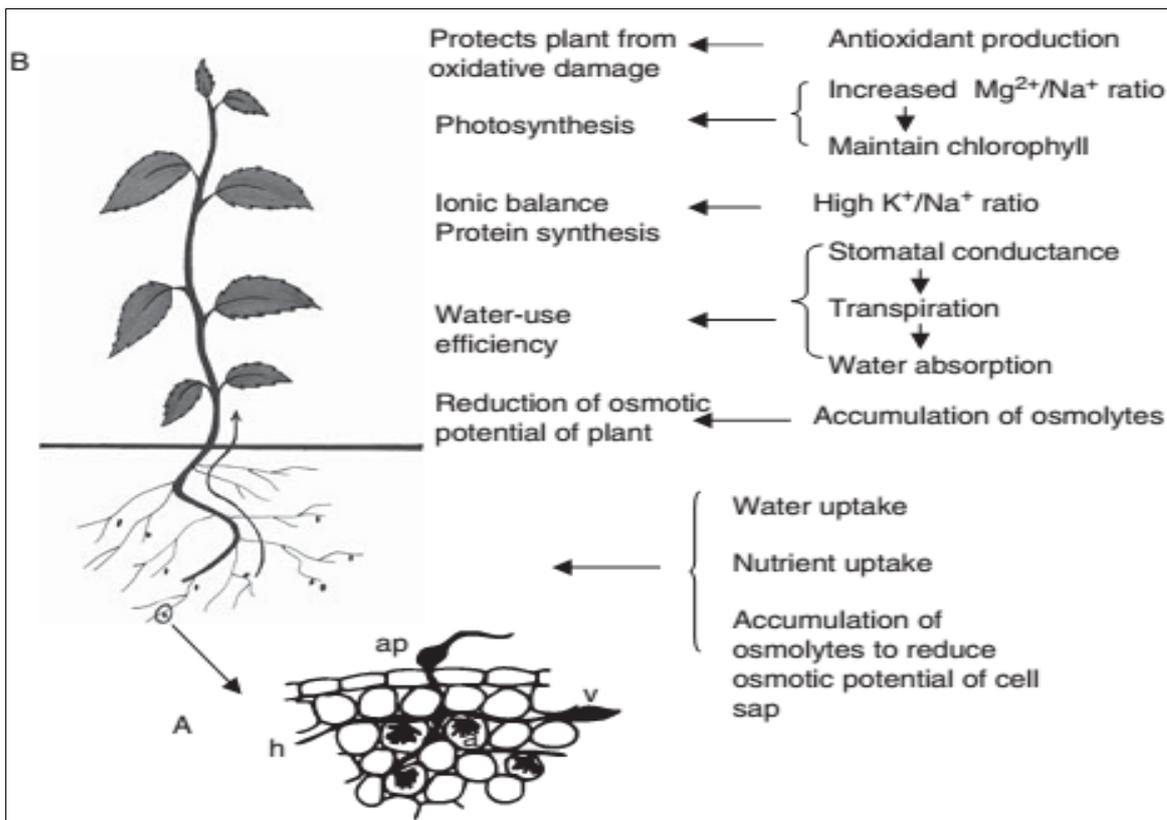


Figure 1.2.8 : Le fonctionnement complexe des CMA dans l'amélioration du stress salin chez les plantes [160]. Le champignon forme un appressorium (ap) sur la surface de la racine et pénètre dans le cortex de la racine en étendant ses hyphes (h). Formulation d'arbuscules (a) et des vésicules (v) dans le cortex. La salinité prive les plantes des exigences de base de l'eau et des nutriments, provoquant un déficit hydrique et une diminution du potentiel osmotique accompagnée d'une baisse des éléments nutritifs aboutissant à des plantes faibles et improductives. Les CMA accroissent l'absorption de l'eau et des nutriments: une diminution du potentiel osmotique est contrecarrée par l'augmentation et l'accumulation de osmolytes, la photosynthèse et la production d'antioxydants pour piéger les (ROS) est plus efficace chez les plantes sous stress salin en présence des CMA.

c.1. Modification des propriétés biochimiques

- Régulation des ions potassium (K^+) et sodium (Na^+)

Il a récemment été suggéré que les CMA jouent un rôle important grâce à la membrane mycélienne, dans la sélection des ions K^+ et Ca^{+2} , en atténuant le stress salin dans la plante par une prés-sélection des éléments nutritifs et une prévention des ions toxiques tels que Na^+ [123]. D'un autre côté, il a été suggéré que la membrane péri-

arbusculaire sert de barrière sélective à tous les ions [189]. Dans ce cas, cette double sélection (par la membrane mycélienne et la membrane péri-arbusculaire) agit pour réduire l'acquisition de Na^+ et augmenter ainsi la teneur en K^+ chez les plantes mycorhizées [19]. Par ailleurs, le maintien d'un ratio K^+/Na^+ élevé, rend de nombreux processus enzymatiques plus ou moins stables [151] ; [169] ; [190]. En effet, le K^+ active une gamme d'enzymes et joue un rôle important dans les mouvements stomatiques. Des concentrations élevées en K^+ sont requises dans la synthèse des protéines et dans les liaisons entre l'ARN_t et le ribosome [160] ; [191].

- Prolines et autres osmolytes

Dans le cas du stress salin, la plante a tendance à accumuler des composés tels que la proline, la bétaine et des glucides (glucose et saccharose) afin de pallier l'effet négatif de la salinité et de maintenir la balance osmotique à son niveau de stabilité [151].

La proline joue un rôle dans le métabolisme primaire en tant que constituant des protéines. En outre, elle représente l'un des solutés compatibles le plus fréquemment accumulé en réponse à des contraintes environnementales variées. Elle joue un rôle important dans la tolérance des plantes au stress salin [192]. En effet, plusieurs études ont enregistré une teneur plus faible en proline chez les plantes mycorhizées par rapport aux plantes non mycorhizées à différents niveaux de salinité. Cette accumulation a pallié les symptômes de stress chez les plantes mycorhizées [162] ; [191] ; [193].

La bétaine a pour rôle de stabiliser les structures et les activités des enzymes et des complexes de protéines et maintien l'intégrité des membranes cellulaires contre les effets néfastes de la salinité excessive [151]. Dans ces cas, le rôle des CMA se manifeste par l'augmentation de la teneur en bétaine [194].

Tableau 1.2.2 : Tableau récapitulatif de l'impact du stress salin sur les stades de développement des CMA

Type de stress	AMF testés	Type de culture testée	Étapes de développement des CMA affectées par le stress Salin					Références
			Germination des spores	Germination et élongation hyphale	Colonization racinaire	Élongation des hyphales extra-racinaire	Sporulation	
Stress salin	<i>Rhizophagus irregularis</i>	In vitro	Aucune germination	Aucune germination	Aucune germination	Élongation positive	Sporulation positive	ESTRADA et al., [163] ; JOHROMI et al., [162].
	<i>Funneliformis mosseae</i> , <i>Rhizophagus irregularis</i> , <i>Glomus versiforme</i> , <i>Rhizophagus fasciculatus</i> , <i>Acaulospora laevis</i> , <i>Archeospora trapei</i> , <i>Gigaspora decipiens</i> , <i>Scutellospora calospora</i>	En pots	Germination positive	Aucune germination	Germination positive	Élongation positive	Sporulation positive	JUNIPER et ABBOTT, [165]. KOHLENER et al., [195]; SHENG et al., [196]. ; FAN et al., [197]; AROCA et al., [191].

- Teneur en acide abscissique ABA)

Cette phytohormone, joue un rôle important dans le développement et la croissance de la plante. Les CMA peuvent modifier le niveau de l'ABA chez les plantes atténuant les signes de stress chez la plante dans les milieux salins [160] ; [198] ; [199] ; [200].

- Système antioxydant

La salinité provoque un stress oxydatif chez les plantes. Il se manifeste par une augmentation de la concentration cellulaire en espèces réactives d'oxygènes (ROS) [201]; en plus d'un accroissement des produits de la peroxydation lipidique [202] et d'une modification des activités des enzymes anti-oxydantes[203]. Pour contrer l'effet du stress salin, les CMA interviennent en stimulant les systèmes anti-oxydants [204] ; [205] ; [206] ; [207] dont les enzymes anti-oxydantes telles que la « *superoxyde dismutase* », et les « *peroxydases* » [204] ; [205]. Ces enzymes permettent la dégradation des espèces réactives à l'oxygène (ROS) et par conséquent, limitent l'induction de dommages membranaires [206] ; [207] ; [208].

c.2. Aspect physiologique

Le stress salin inhibe la capacité photosynthétique chez les plantes et conduit à un déséquilibre hydrique [151]. Plusieurs études montrent que les CMA empêchent la déshydratation des feuilles causée par la salinité [188] ; [209]. La colonisation par les CMA conduit à une augmentation de la conductivité hydrique des racines de la plante hôte [210] ; [211]. Les plantes mycorhizées ont la capacité de fixer plus de CO₂, ce qui aboutit à une croissance améliorée [212]. D'un autre côté, des changements de la transpiration peuvent se manifester chez les plantes mycorhizées [213]. Ces changements sont corrélés avec des changements du ratio acide abscissique (ABA)/Cytokinine [151]. En effet, l'ABA inhibe l'ouverture des stomates lors des stress [214]. De ce fait, l'intervention des CMA se manifeste dans l'élévation de la concentration endogène en ABA chez les plantes stressées et en contrepartie la division cellulaire est réduite.

c.3. Les changements moléculaires

Le bénéfice de la symbiose arbusculaire ne se manifeste pas uniquement sur la croissance et le potentiel hydrique de la plante. Un effet bénéfique sur l'expression de gènes intervenant en réponse au stress salin a été enregistré [151].

- Expression du gène *1-pyrroline-5-carboxylate synthétase (P5CS)*

La proline agit comme stabilisateur de protéines et de complexes macromoléculaires, piègeur de radicaux libres et régulateur du potentiel redox cellulaire [192]. YOSHIBA et al., [215] démontrent que dans le cas de stress environnementaux, l'accumulation de proline chez les plantes, en prenant *Arabidopsis* comme modèle, suit obligatoirement la transcription induite par le gène "P5CS". Ce gène intervient grâce au fonctionnement des deux enzymes : « *γ-glutamyl-kinase* » et « *glutamic-γ-semi-aldehydégénase* » (Figure 2.9) [151]. Le gène "P5CS" code pour des protéines multifonctionnelles induites impérativement par les stress salins et hydriques [216] et déclenche obligatoirement la biosynthèse de proline chez les plantes [217].

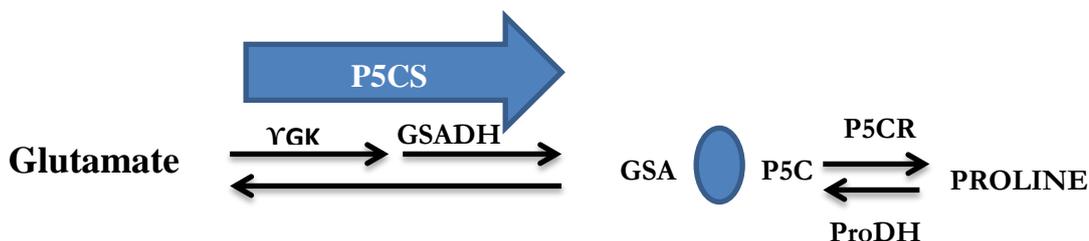


Figure 1.2.9 : Voie de biosynthèse de la proline. *GSA* glutamic- γ - semi-aldehyde, *P5CS* Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate, *P5CS* Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthétase, *P5CR* P5C réductase, *γGK* γ -glutamylkynase, *GSADH* glutamyl- γ -semi-aldehydedehydrogenase, *P5CDH* P5C dehydrogenase, *proDH* proline dehydrogenase PORCEL et al., [151].

- Aquaporine

Le potentiel hydrique négatif dans les sols salés oblige les plantes à acquérir une quantité suffisante d'eau [215]. Ce processus implique l'aquaporine [216]. Cette dernière (chaîne protéique) est divisée en 4 groupes en se basant sur l'homogénéité entre leurs séquences. Les quatre groupes sont connus comme : « les protéines intrinsèques de la

membrane plasmique » : ‘‘PIPs’’ ; les « tonoplastes protéiques intrinsèques » : ‘‘TIPs’’ ; les « protéines des nodosités intrinsèques fixatrices d'azote » : ‘‘NIPs’’ et les « protéines intrinsèques petites et basiques » : ‘‘SIPs’’ [151] ; [218]. Chez les plantes modèles : l'arabette sauvage, le maïs et le riz, plus de 30 différents gènes d'aquaporine sont recensés [151] ; [219]. Par ailleurs, chaque groupe d'aquaporine est différent dans sa capacité de transporter l'eau et les petits solutés neutres et dans sa localisation subcellulaire [220].

L'analyse de l'expression des gènes d'aquaporine a révélé des résultats contrastés [151]. AROCA *et al.*, [213] ont observé une plus forte expression de trois gènes PIP chez *Beta vulgaris* sous stress salin, en particulier chez les plantes mycorhizées. En revanche, JOHROMI *et al.*, [162] ont enregistré qu'en présence de stress salin les gènes PIP1 et PIP2 sont inhibé par la mycorhization chez *Lactuca sativa*, tandis que chez des plants mycorrhizés sous stress salin, l'expression du gène LsPIP2 est maintenue. Un effet différentiel de la symbiose arbusculaire sur les isoformes d'aquaporine sous les conditions de salinité a également été décrite par OUZIAD *et al.*, [221].

Les travaux de JAHROMI *et al.*, [162] , d'AROCA *et al.*, [213] et D'OUZIAD *et al.*, [219] mettent en évidence la régulation complexe de gènes aquaporine en réponse à la symbiose arbusculaire et au stress salin (Tableau 2.3).

Comme il a été expliqué précédemment, les plantes inoculés avec les CMA montrent une augmentation significative de K^+ avec une réduction en Na^+ , accompagnée d'une accumulation du ratio K^+/Na^+ dans leurs tissus. Il a récemment été montré que l'augmentation du ratio K^+/Na^+ , est corrélée avec l'expression des gènes impliqués dans l'explosion de Na^+ et l'acquisition de K^+ . Ces gènes sont nommé : ‘‘ZmAKT2’’, ‘‘ZmSOS1’’ et ‘‘ZmSKOR’’. Le gène ‘‘ZmAKT2’’ code pour l'expression de K^+ dans le phloème [222]. Le gène ‘‘ZmSOS1’’ joue un double rôle dans la plante. Il code pour la restriction de l'absorption des ions Na^+ par les racines parallèlement au contrôle de leur transport par le xylème [223]. Le gène ‘‘ZmSKOR’’ code la régulation du transport de K^+ par le xylème vers les feuilles [19] ; [222].

Tableau 1.2.3 : Comparaison entre l’expression des gènes d’Aquaporine : PIP1, TIP et PIP2 sous stress salin dans différentes études

	Effet de la salinité	Références
Effet de la mycorrhization sur les gènes d’expression d’aquaporines	Pour le PIP1 diminution	Ouziad et al., [221]
	Pour le TIP diminution	
	Pour le PIP2 aucun changement	
	Pour le PIP1 augmentation	Johromi et al., [162]
	Pour le PIP2 aucun changement	
	Pour le PvPIP1.1 augmentation	
	Pour le PvPIP1.2 aucun changement	Aroca et al., [213]
	Pour le PvPIP 1.3 augmentation	
	Pour le PvPIP2.1 augmentation	

ESTRADA et al., [222] ont évalué l’expression de ces gènes dans les racines du maïs sous stress salin. Ces auteurs ont observé une régulation de l’expression des gènes *ZmAKT2* et *ZmSKOR* exposé à 100mM NaCl. Cette régulation contribue à la rétention de K^+ dans les tissus végétales et à l’accroissement du ratio K^+/Na^+ .

Par ailleurs, les membres du groupe des gènes des canaux de nucléotides cycliques « *Cyclic nuclutodic gate ion channels* » ‘‘*CNGC*’’ (Figure 2.10) jouent un rôle important dans la survie et l’adaptation des plantes aux stress et dans la régulation des différentes voies de développement et de fonctionnement physiologique [151]. En effet, les gènes ‘‘*AtCNGC 19*’’ et ‘‘*AtCNGC20*’’ codent pour l’activation des canaux transporteur des ions Ca^{2+} et K^+ dans les feuilles [224]. Ils sont hautement régulés en réponse aux concentrations élevées en salinité [151] et interviennent dans l’accroissement du ratio K^+/Na^+ dans les tissus végétaux [223] ; [224].

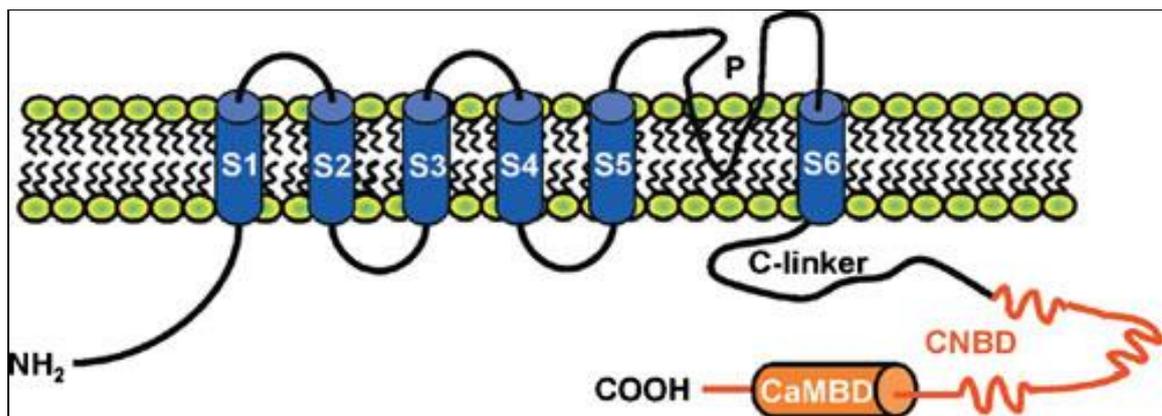


Figure 1.2.10 : Structure de canaux ioniques végétales nucléotides cycliques-dépendants (CNGC) [151]. CNGCs se composent de six canaux transmembranaires (S) et une région de pores (P) entre le cinquième et sixième canal. L'extrémité C-terminale possède une liaison C-linker suivie par le nucléotide cyclique (CNBD) avec un chevauchement obligatoire avec la calmoduline (CaMBD).

I.2.B. Les CMA et la microflore du sol

Les champignons mycorhiziens interagissent avec un large éventail d'autres micro-organismes dans la rhizosphère aussi bien à l'extérieur qu'à l'intérieur des racines (bactéries endophytes) [81] ; [225]. Les bactéries dites «endophytes», constituent le maillon principal d'une association tripartite : Plante/CMA/micro-organismes [226]. Ces interactions peuvent être stimulatrices ou inhibitrices de l'interaction CMA/Plante. Certaines d'entre elles peuvent entrer en compétition avec les CMA, tandis que d'autres peuvent être mutualistes [226]. L'installation de la symbiose arbusculaire semble modifier quantitativement et qualitativement les populations microbiennes de la mycorhizosphère [227] ; [228] (Figure 2.12).

Par ailleurs, les CMA peuvent accueillir des bactéries au sein de leurs cytoplasmes. Des structures intracellulaires très semblables à des bactéries *Bacteria-Like Organisms* (BLOs) ont été décrites dans les années 1970 [229]. Depuis, plusieurs travaux ont révélé leur présence dans nombre d'isolats issus de sols agricoles [226]. Leur nature procaryotique, plus précisément bactérienne, a ensuite été confirmée par BIANCIOTTO et al., [230]. La fonction de ces endobactéries des CMA reste encore à déterminer [231]. Il semblerait que plusieurs BLOs aient été associées au *Burkholderia* et cette dernière se

retrouverait préférentiellement dans les spores des Gigasporaceae [229]. Les CMA interagissent avec les micro-organismes du sol et les introduisent dans la mycorrhizosphère, affectant par conséquent les propriétés et la qualité du sol [226]. Inversement, certains micro-organismes du sol sont connus pour affecter la formation et le fonctionnement des CMA [229]. Ils peuvent soit entraver ou être bénéfique à la symbiose avec les CMA [232]. D'autre part, les bactéries nuisibles de la rhizosphère [233] et les champignons parasites [232] interagissent avec le développement des CMA, tandis que de nombreux micro-organismes peuvent stimuler la formation et / ou le fonctionnement des CMA [227], [233].

D'un autre côté, les interactions microbiennes dans la mycorrhizosphère peuvent impliquer une variété de bactéries et de champignons avec des capacités fonctionnelles spécifiques qui peuvent influencer la croissance des plantes [234]. Dans le cas de cette double inoculation CMA/rhizobactéries, il est supposé que chaque élément de la symbiose contribue afin d'assurer une croissance accrue des plantes hôtes, comme l'augmentation de l'azote ou du phosphate soluble [226].

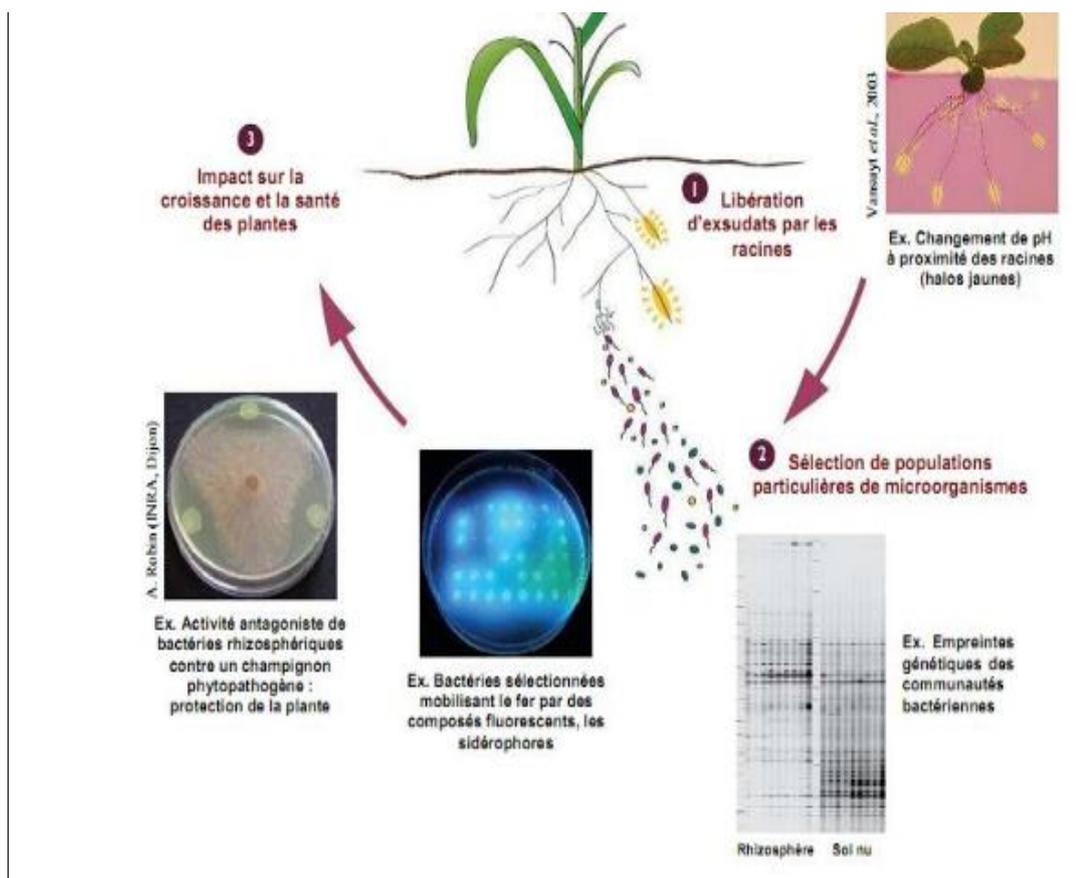


Figure 1.2.11 : Représentation schématique des interactions plante-microorganismes dans le sol. LEMANCEAU et al., [235].

En plus de leurs effets sur les plantes, les bactéries symbiotiques peuvent améliorer et accroître la germination des spores des CMA [225] ; [226] ; [236]. Et vice versa, la croissance des bactéries est améliorée suite à la présence des CMA [226] ; [237]. Les principaux genres bactériens responsables de cette association sont *Pseudomonas*, *Burkholderia* et *Bacillus* [238]. Il a également été montré que certaines espèces bactériennes sont indispensables pour l'installation de la symbiose endomycorhizienne [239]. Par exemple, l'association de *Pseudomonas putida* avec des endomycorhizes indigènes est constatée pour le bon développement des plantes hôtes [240]. D'un autre côté, le degré d'intimité de l'interaction CMA/Bactérie dépend non seulement de l'espèce bactérienne impliquée, mais également de la présence d'exsudats sécrétés par les partenaires et de la composition de la paroi fongique [81] ; [229]. En plus de l'état de vitalité des hyphes [239] ; [240], ces associations symbiotiques complexes très importantes dans l'écologie des plantes sont encore mal connues [228].

I.2.C. Estimation de la biomasse microbienne grâce aux marqueurs lipidiques

Les champignons arbusculaires existent à l'intérieur des racines (mycéliums intraracinaires, arbuscules et vésicules) et à l'extérieur des racines (mycéliums extraracinaires) [241]. C'est généralement grâce à la microscopie que la quantité des CMA dans les racines est évaluée [242]. Il est difficile de quantifier les mycéliums extraracinaires en ayant recours à la microscopie, notamment sur des sols naturels [241]. Une quantification adéquate des mycéliums est essentielle pour une bonne compréhension du fonctionnement de la symbiose arbusculaire. Ce processus est entravé par des méthodes d'analyse imprécises, laborieuses et partiellement inadéquates [243]. Des constituants chimiques tels que la chitine [244], l'ergostérol [245], et les acides gras [246] sont utilisés pour quantifier les champignons dans les sols [247]. Parmi ces techniques, seules les acides gras permettent d'évaluer la biomasse des différents microorganismes coexistant dans le même sol, en se basant sur l'existence de différents profils lipidiques chez les champignons [247]. Afin de différencier les CMA des champignons saprotrophes des techniques de quantifications sont développées en se basant sur leur caractéristiques biochimiques [248] ; [249]. En effet, les CMA sont particulièrement riches en lipides par rapport aux autres champignons [249]. Ce sont des champignons «oléagineux» [252] [253]. Ces lipides sont

contenus dans les structures des CMA, à savoir, les hyphes, les vésicules et les spores [249].

L'une de ces caractéristiques biochimiques spécifiques aux CMA est l'abondance des acides gras du types C16:1 ω 5 simultanément, dans les membranes fongique, sous forme de phospholipides (AGPL) et dans les organes de réserves (vésicules et spores) sous forme de lipides neutres (AGLN) [243].

I.2.C.1. Les phospholipides (AGPL)

Les phospholipides sont des constituants membranaires essentiels de toutes les cellules vivantes [250]. La différence entre les structures des communautés microbiennes peut être détectée en analysant les phospholipides (AGPL) dans le sol [248]. BÅATH [251], explique que l'utilisation des phospholipides tant qu'indicateur de richesse microbienne dans les environnements naturels devient de plus en plus populaire. Les champignons et les bactéries des sols peuvent être analysés en comparant les AGPL spécifiques à chaque groupe. Les AGPLC16:1 ω 5 sont utilisés pour quantifier les CMA. Les AGPL i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, a17:0, cy17:0, C18:1 ω 7, et le cy19:0 sont les principaux marqueurs lipidiques évalué pour quantifier la biomasse bactérienne dans le sol et l'AGPL C18:2 ω 6,9 est utilisé pour estimer les champignons saprotrophes [246] ; [252].

Selon les espèces de champignons mycorhiziens arbusculaires, les AGPL représentent entre 2 et 23% des lipides totaux [253]. En effet, le pourcentage des phospholipides dans les spores non germé est de 9.7%, tandis qu'il atteint 25% chez *Glomus intrardices* [254].

L'AGPLC16:1 ω 5 est un marqueur lipidique spécifique existant dans la membrane des CMA, il est utilisé dans la quantification du mycélium des CMA dans les racines [251] et dans le sol [243]. OLSSON et *al.*, [248] expliquent que 58% des constituants des vésicules des CMA sont des lipides, 24% sont des phospholipides et 43% est constituée du AGPLC16:1 ω 5.

VESTBERG et *al.*, [249] expliquent que la longueur hyphale des mycélium des CMA dans le sol est souvent corrélée avec la teneur en AGPLC16:1 ω 5. En quantifiant la teneur en AGPL C16:1 ω 5 dans le sol et dans les racines, il est possible de comparer les

biomasses des hyphes extra-racinaire et les hyphes intra-racinaire [241] ; [249]. Les travaux de BARIN et *al.*, [255] sur trois types de plantes : l'oignon, la luzerne et la salicorne avec différents niveaux de salinité naturelle ont enregistré une variation des AGPLC16:1 ω 5 en fonction de la plante hôte et indépendamment de la salinité des sols.

Le marqueur lipidique AGPL C 18: 2 ω 6, 9 est un constituant de tous les eucaryotes. Cependant il ne peut pas être utilisé comme indicateur de champignons en présence de racines dans le sol [251]).

I.2.C.2. Les lipides neutres (AGLN)

Les lipides neutres (LN) sont considérés comme des produits de réserves spécifiques aux CMA. Ils sont essentiellement présent dans les spores et les vésicules [248].

Le lipide neutre LN C16:1 ω 5 est considéré comme un marqueur spécifique des CMA. Il est reporté que le nombre de spores des CMA isolées du sol est souvent corrélé avec la quantité en LN C16:1 ω 5 [256]).

LARSON et *al.*, [247] ont observé une augmentation de la quantité de AGNLC16 :1 ω 5 dans le sol après inoculation avec *G. intraradices*. Ceci peut être attribué à la sporulation des CMA. De leur côté Olsson et *al.*, [256] ont enregistré une corrélation positive entre le nombre des spores de *G. caledonius* et la teneur en LN C16 :1 ω 5 dans le sol. Par ailleurs, BARIN et *al.*, [255] expliquent que la quantité du marqueur LN C16 :1 ω 5 varie en fonction des paramètres pédologiques et en fonction de la plante hôte. Ils ont également souligné une corrélation négative de la salinité des sols sur la teneur du sol et des racines en LN C16:1 ω 5.

Le ratio entre les phospholipides et les lipides neutres est suggéré comme indicateur du statut nutritionnel et physiologique des CMA. Pour les CMA, le rapport AGLN/AGPL pour l'acide gras C16:1 ω 5 est souvent utilisé dans ce contexte dans le but d'indiquer la répartition du carbone par rapport aux produits de réserves [251]. Le ratio AGLN/AGPL C16:1 ω 5 est souvent élevé chez les CMA. Il varie entre 1 et 200. Tandis que chez les bactéries il est toujours inférieur à 1 [249]. OLSSON et *al.*, [256] ont enregistré une corrélation positive entre le rapport AGLN/AGPL C16:1 ω 5 et le taux de colonisation racinaire. Ce qui est attribué selon les mêmes auteurs, à une répartition proportionnelle du carbone de la part du champignon sous des conditions favorables à la colonisation

racinaire. ALIASGHARZAD *et al.*, [257] ; et BARIN *et al.*, [255] ont utilisé le rapport AGLN/AGPL C16:1 ω 5 pour différencier les CMA des bactéries. Ce rapport suit généralement le nombre de spores et la quantité d u marqueur LNC16:1 ω 5 dans le sol [249].

I.2.C.3. L'ergostérol

Il représente le stérol majeur chez les champignons. C'est un des principaux constituants lipidiques de la membrane fongique [258]. Il est présent chez la plus part des champignons à l'exception des CMA et de certain zygomycètes [252]. Il est généralement utilisé comme bio-indicateurs des champignons saprotrophes et ectomycorhiziens [259]. La teneur en ergostérol dans le sol est positivement corrélée avec la quantité de matière organique [260], [252]. WICHERN *et al.*, [260] ont observé des effet positifs de la matière organique sur la quantité d'ergostérol dans le sol. En effet après une année de culture de Cotton sur des sols sableux salins, une augmentation de la quantité d'ergostérol dans le sol parallèlement à une augmentation du taux de matière organique sont enregistrés [252].

Une corrélation positive entre la teneur en ergostérol dans le sol et la teneur en AGPL C18: 2 ω 6,9 est enregistrée, confirmant l'aptitude des deux marqueurs à quantifier le même type de champignon [246] ; [259] ; [260].

CHAPITRE 2

MATÉRIELS ET MÉTHODES

II.1. Sites d'étude

2.1.1. Description de la région d'étude

La région steppique algérienne, région dans laquelle s'effectue notre présent travail, est considérée comme une formation basse. Elle s'étend entre l'Atlas Tellien au Nord et l'Atlas Saharien au Sud, couvrant une superficie globale de 20 millions d'hectares. La steppe forme ainsi un ruban de 1 000 Km de long, sur une largeur de 300 Km à l'ouest et au centre et de 150 Km à l'est. La steppe représente la limite du Sahara septentrional. Les frontières de la zone steppique s'appuient sur les critères pluviométriques entre 100 et 400 mm de pluviométrie moyenne annuelle. En se basant sur la classification effectuée par KHELIL [261] des zones steppiques, les zones sélectionnées pour la présente étude font partie de la région centre et de la région steppique présaharienne.

- La région centre (ou la région steppique)

La région centre se situe entre les isohyètes 200 et 300 mm, et comprend les hautes plaines steppiques algéro-oranaises, les hautes plaines de Hassi Bahbah, M'sila, le Nord de la wilaya de Laghouat et d'El Bayadh.

- La région steppique présaharienne

Elle est située entre les isohyètes 100 et 200 mm. Cette région est dominée par des parcours de type saharien et des vallées alluviales. Elle comprend : le piémont sud de l'Atlas saharien, la cuvette du Hodna, le plateau saharien du sud des wilayas de Djelfa et de Laghouat.

Dans notre étude, nous avons choisi dix sites le long d'un axe nord sud (Figure 3.1), de la région de Kasr-El-Boukhari au nord à la région de Laghouat au sud en passant par des biotopes représentatifs de milieux écologiques spécifiques, incluant une salinité variable des sols, des textures sableuses, limoneuses et argileuses avec un pH variable entre l'acide et l'alcalin. Malgré leurs points de divergences écologiques, ces différents sites présentent un point commun qui est la présence de deux espèces de *Tamarix* étudiées lors de cette thèse. Les principales caractéristiques écologiques de ces sites sont présentées dans le tableau 3.1.

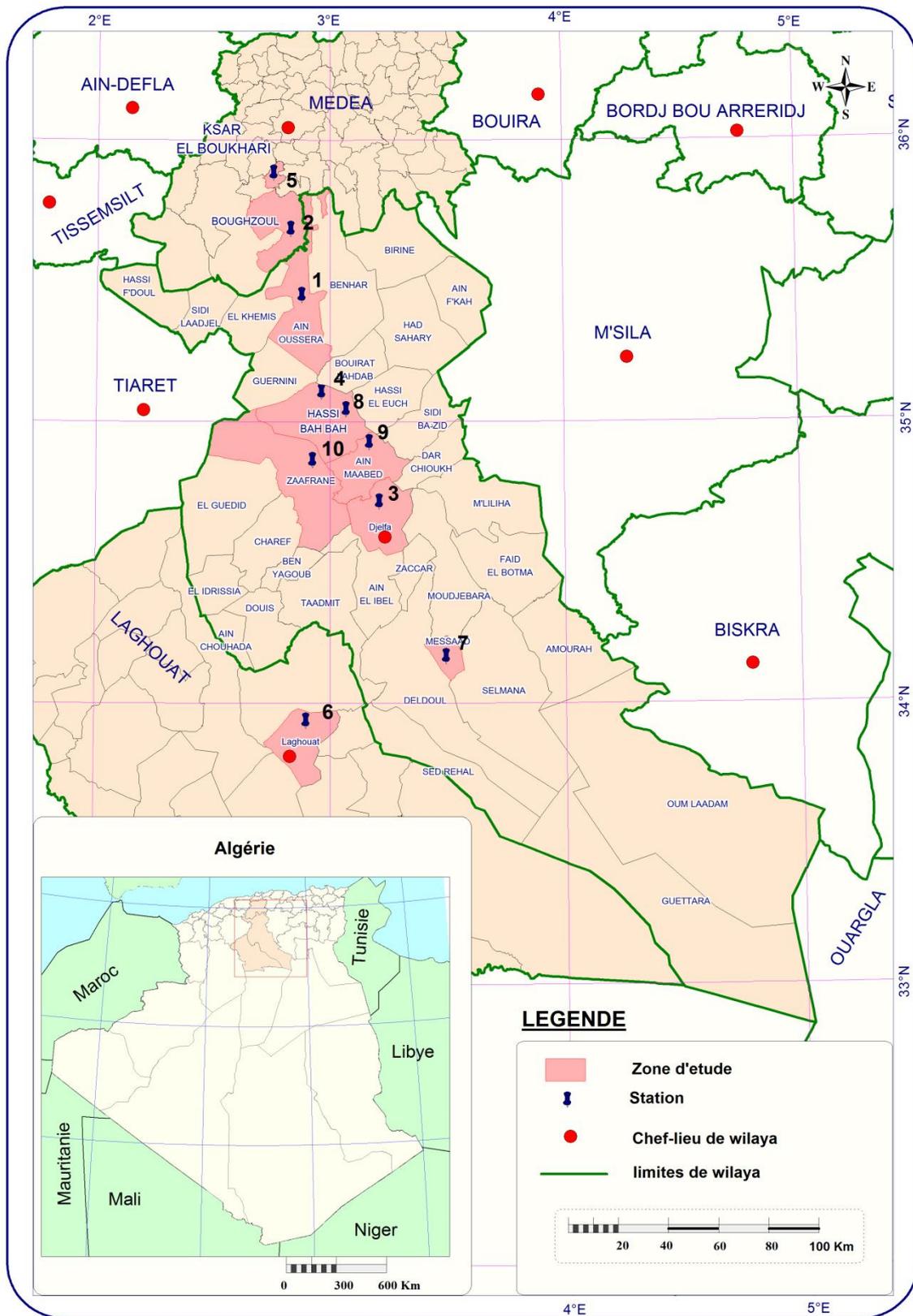


Figure 2.1.1 : Localisation des sites d'étude (2013) (Conception. Mr. Harfouche .BH).

2.1.2. Synthèse climatique : précipitation et température

Il est difficile d'intégrer dans une synthèse climatique tous les éléments du climat. Nous nous contentons, en général, de considérer les combinaisons les plus significatives, en utilisant les valeurs mensuelles de précipitations et de températures [262]. La synthèse climatique des sites d'études s'est effectuée en dressant le diagramme ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN [263] et le climagramme pluvio-thermique d'EMBERGER [264] sur une période d'étude de 30 ans. Les résultats des éléments étudiés figurent dans les tableaux 3.1 et 3.2.

Tableau 2.1.1 : Description des dix sites étudiés (Premier classement par ordre alphabétique des noms des sites), M : Température maximum (°C), m : Température minimum (°C), P : pluviométrie moyenne annuelle (mm), Q₃ : le quotient pluviothermique d'Emberger [265].

Sites	Nom du site	Espèces végétales	M (°C)	m (°C)	P (mm/an)	Altitude (m)	coordonnées	Q ₃	Étage Bioclimatique
AO	Ain Oussera	<i>Tamarix articulata</i> Vahl	34.00	0.81	217.65	694	35°25'07''N 2°54'20'' E	21.99	Aride supérieur à hiver chaud
Bg	Boughzoul	<i>Tamarix articulata</i> Vahl & <i>Tamarix gallica</i> L	34.5	0.86	172.5	635	35°42'03''N 2°50'17'' E	21.43	Aride supérieur à hiver chaud
DU	Djelfa	<i>Tamarix articulata</i> Vahl	34.11	0.69	319.23	1131	34°40'00''N 3°15'00'' E	43.46	Semi-aride à hiver froid
HB	Hassi bahbah	<i>Tamarix articulata</i> Vahl & <i>Tamarix gallica</i> L	34.1	0.78	209.9	841	35°57'08''N 2°52'18'' E	20.62	Semi-aride inférieur à hiver froid
KB	Kasr El Boukhari	<i>Tamarix articulata</i> Vahl & <i>Tamarix gallica</i> L	35.00	0.86	438	608	32°55'08''N 2°30'32'' E	16.28	Semi-aride supérieur à hiver froid
LG	Laghouat	<i>Tamarix articulata</i> Vahl & <i>Tamarix gallica</i> L	39.6	2.10	320.12	750	34°10'00''N 3°34'60'' E	25.05	Semi-aride supérieure à hiver frais
MRS	El- mesrane	<i>Tamarix articulata</i> Vahl & <i>Tamarix gallica</i> L	36.21	1.59	165.4	830	35°04'33''N 3°01'37'' E	25.79	Aride moyen à hiver frais
MES	Messaad	<i>Tamarix articulata</i> Vahl & <i>Tamarix gallica</i> L	34.32	0.79	245.23	768	34°20'09''N 3°47'02'' E	25.63	Aride à hiver frais
RS	Rocher de sel	<i>Tamarix articulata</i> Vahl & <i>Tamarix gallica</i> L	35.5	1.2	279	1083	34°23'04''N 3°52'17'' E	27.9	Semi-aride supérieur à hiver froid
Z	Zaafrane	<i>Tamarix articulata</i> Vahl & <i>Tamarix gallica</i> L	36.3	1.8	245.23	852	34°52'40''N 2°50'41'' E	24.37	Semi-aride inférieur à hivers frais

Tableau 2.1.2. Périodes sèches et périodes humides selon la classification de BAGNOULS et GAUSSON [276] : AO : Ain Oussera ; BG : Boughzoul ; DU : Djelfa ; HB : Hassi Bahbah ; KB : Kasr-El-Boukhari ; LG : Laghouat ; MES : Messaad ; MRS : Mesrane ; RS : Rocher de sel ; Z : Zaafrane.

Sites d'étude	Période sèche (nombre de mois)	Période humide (nombre de mois)
AO	Mi-mars à la mi-Novembre (8)	Décembre à mi-Mars (4)
BG	Mi-mars à mi- novembre (8)	Mi-Novembre à la mi-Mars (4)
DU	Mi-avril à la mi-septembre (5)	Mi-septembre à la mi-Avril (5)
HB	Mi-mars à la mi-octobre (7)	Mi-octobre à la mi-Mars (5)
KB	Mai à septembre (4)	Septembre à Mai (8)
LG	Février à Décembre (10)	Décembre à Février (2)
MES	Février à Décembre (10)	Décembre à Février (2)
MRS	Mi-Mars à la mi- Octobre (7)	Mi-October à la mi-mars (5)
RS	Mi-avril à la mi-Septembre (5)	Mi-septembre à la mi-Mai (7)
Z	Mi-février à la mi-octobre (8)	Mi-octobre à la mi-Février (4)

Les périodes sont définis sur une durée de 30 ans incluant la période d'étude (1983- 2013).

2.2. Matériel végétal et fongique

2.2.1. Peuplements végétaux naturels

Dans notre présente étude, nous nous sommes intéressés à la symbiose mycorhizienne arbusculaires chez deux espèces végétales steppiques : *Tamarix articulata* et *T. gallica*.

Le *Tamarix articulata*, présente une espèce introduite, qui s'est bien adaptée à ce milieu [264]. Son adaptation fait qu'elle pousse naturellement dans le sol par répartition des graines. L'espèce *Tamarix articulata* a été plantée dans les quatre sites : Ain Oussera (AO), Djelfa (DU) et El-Mesrane (MRS) ; et à Hassi Bahbah (HB) qui est le site de la première introduction de l'espèce dans la région en 1952. De même que *T. articulata*, le *Tamarix gallica*, est une espèce introduite plus récemment que la précédente et qui de son côté se propage naturellement dans les différents milieux steppiques [11].

2.2.2. Le recouvrement végétal des espèces étudiées

D'une manière générale, le recouvrement est une estimation de la surface occupée par la projection au sol des différentes strates sur une superficie de 100 m². Le recouvrement total est de 100% pour toutes les strates confondues y compris les surfaces non recouvertes par la végétation. Nous avons choisi des sites où les espèces étudiées représentent le recouvrement le plus important possible. Dans quelques sites comme le rocher de sel le recouvrement est de 55% alors que dans les sites de Hassi Bahbah (HB), Zaafrane (Z) et El-Mesrane (MRS) le recouvrement atteint les 90% (Tableau.3.3).

Tableau 2.2.1 : Taux de recouvrement des *T. articulata* et *T. gallica* dans les 10 sites étudiés. AO : Ain Oussera ; BG : Boughzoul ; DU : Djelfa ; HB : Hassi Bahbah ; KB : Kasr-El-Boukhari ; LG : Laghouat ; MES : Messaad ; MRS : Mesrane ; RS : Rocher de sel ; Z : Zaafrane. Pl : planté ; nat : naturelle.

Sites	AO	BG	DJ	HB	KB	LG	MES	MRS	RS	Z
<i>T. articulata</i>	Pl	Nat	pl	nat	nat	nat	nat	pl	nat	nat
Hauteur (m)	8-15	6-10	8-15	8-15	8-15	8-12	8-15	8-10	6-8	6-12
Recouvrement (%)	55	80	80	85	90	85	90	90	60	65
<i>T. gallica</i>	Absente	Nat	pl	pl	nat	nat	nat	pl	nat	nat
Hauteur (m)	-	6-8	5-7	6-8	4-8	4-8	6-8	6-8	4-6	4-8
Recouvrement (%)	0	55	60	55	80	80	85	85	55	60

En plus des peuplements naturels des *T. articulata* et *T. gallica* inventoriés sur leurs milieux naturels, le matériel végétal utilisé au cours des différentes expériences conduites est composé de deux espèces de Tamarix en plus du Trèfle et de la luzerne (Tableau 3.4).

Tableau 2.2.2 : Matériel végétal utilisé

Espèces végétales	Trèfle	Luzerne	<i>T. articulata</i>	<i>T. gallica</i>
Nom scientifique	<i>Trifolium repens</i> L.	<i>Medicago sativa</i> L.	<i>Tamarix articulata</i> Vahl.	<i>Tamarix gallica</i> L.
Ordre	Fabales	Fabales	Caryophyllales	Caryophyllales
Classe	Fabaceae	Fabaceae	Magnoliopsida	Magnoliopsida
Famille	Fabaceae	Fabaceae	Tamaricaceae	Tamaricaceae

2.2.3. Matériel fongique :

Le matériel fongique est représenté par la souche du champignon mycorhizien arbusculaire *Rhizophagus irregularis* (DAOM 197198) (Myke Pro, Premier Tech, Canada) et un inoculum commercial à base d'un mélange de 6 espèces de CMA à savoir : *Rhizophagus intraradices* BEG140, *Funneliformis mosseae* BEG95, *Glomus*

etunicatum BEG92, *Funneliformis claroideum* BEG96, *Glomus microaggregatum* BEG56, *Funneliformis geosporum* BEG199, dépourvu de bio-additives, produit par la compagnie Symbivit ; Inoculum plus (France).

En plus d'un inoculum local produit à partir de la multiplication des souches naturelles des sites d'étude.

2.2.4. Le substrat

Le substrat utilisé dans la réalisation de ces travaux de recherches provient des sites d'études choisis préalablement et décrits précédemment dans le tableau 3.1, en plus des substrats stériles à base de terreau et de sables. Le terreau est utilisé à raison de 100% dans la première expérience de mycorhization contrôlée et le sable stérile à 50% dans la deuxième expérience de mycorhization contrôlée. .

2.3 Méthodes

2.3.1. Facteur pédologique

L'étude de la biodiversité des microorganismes du sol doit être complétée par les analyses physico-chimiques du sol. Les différents procédés adoptés dans l'étude des paramètres pédologiques sont présentés dans le tableau 3.5.

2.3.2. Étude des champignons arbusculaires et des bactéries associées chez *Tamarix gallica* L et *Tamarix articulata* Vahl dans les milieux steppiques

2.3.2.1. La biodiversité naturelle des CMA

2.3.2.1.1. Échantillonnage

La qualité de l'échantillon et le soin apporté à son prélèvement sont des conditions essentielles à la richesse des informations récoltées [16]. Dans le présent travail, nous avons choisi le type d'échantillonnage systématique. Le premier pied de *Tamarix* est choisi au hasard et les quatre autres sont séparés, approximativement de 20 m de façon à couvrir une superficie de 100 m². Cette superficie est adoptée dans l'étude des végétaux des régions steppiques par DJEBAILI [265]. Les prélèvements sont réalisés sur une profondeur de 25 à 50 cm [266] dans la rhizosphère des plantes hôtes (Figure 3.2).

2.3.2.1.2. Extraction des spores

Nous avons utilisé la technique du tamisage humide [267]. L'extraction consiste à prendre 10 g de sol séché, qui vont être tamisé à travers une série de tamis : 250, 125, et 40 µm [267]. Le contenu de chaque tamis est récupéré avec de l'eau distillée et mis séparément dans des béchers. Le liquide obtenu est filtré sur papier filtre. Le papier filtre est passé sous la loupe binoculaire (X 40, 60, 100) afin de récupérer les spores (figure 3.3). L'abondance des spores dans le sol est exprimée en nombre de spores par 100g de terre [16].

Tableau 2.3.1: Protocoles des analyses pédologiques réalisées :

Analyses Physico-chimiques	Protocoles adoptés
Granulométrie	Par le procédé de sédimentation, à l'aide des tamis et un densimètre, nous avons déterminé le pourcentage de différentes particules, ainsi que la texture de nos échantillons à l'aide du triangle de texture. Les particules sont classées selon les normes internationales de 5 fractions constituant la terre fine (particules) de diamètre < à 2mm. argile : 0,002mm-limon fin : 0,002-0,02mm-limon grossier : 0,02-0,05mm –sable fin : 0,05-0,2mm-sable grossier : 0,2-2mm.
pH eau + Conductivité électrique	5g de sol+25ml d'eau distillée dans un bêcher. Bien mélangé et laisser pendant 1h. La mesure du pH se fait par le pH-mètre et la conductivité électrique par conductivimètre.
Humidité	20g de sol dans du papier aluminium à l'étuve à une température de 90°C pendant 24 heures. Puis calcul de la différence de poids.
La matière organique	La détermination de la matière organique, est effectué par la méthode WALKLEY-BLACK modifiée selon CEEAEQ (2003) : le carbone organique est oxydé par du bichromate de potassium en milieu sulfurique. Le calcul du pourcentage de carbone organique se fait par le titrage direct de bichromate de potassium avec la solution de Mohr (sulfate double d'ammonium et de fer). $C\% = (n - n') \times 0,165 \times X$. Où n la quantité de sel de Mohr versée ; n' : la quantité de sel de Mohr correspondant à l'échantillon. 0,165 (Coefficient de correction ANNE). MO% = C% X 1,724.

<p>Calcaire total</p>	<p>Le dosage se fait par le calcimètre BERNARD : Le dioxyde de carbone (CO₂) est dégagé par l'acide chlorhydrique (HCl). Le volume de gaz est mesuré avec une correction obtenue par un dosage de carbonate de calcium pur.</p> <p>% Calcaire Total = PV*100/ pv.</p> <p>Où : P: Poids de CaCO₃ pur en g (gramme). V: Volume de CO₂ produit par le CaCO₃ pur. p: Poids de l'échantillon. v : Volume de CO₂ dégagé par l'échantillon.</p>
<p>Calcaire actif</p>	<p>Le principe se base sur le dosage par l'oxalate : 5g de terre + 250 ml d'oxalate (0.2 N) --- bouteille d'agitation pendant 1 Heure.</p> <p>(N-n) quantité d'oxalate précipité qui correspond à la quantité de calcaire actif pour la partie échantillon.</p> <p>1mol de KMnO₄ réduit 5/2 moles d'Oxalates et donc correspond à 5/2 moles de CaCO₃ actif selon la réaction :</p> $2\text{KMnO}_4 + 5 (\text{NH}_4)\text{C}_2\text{O}_4 + 8\text{H}_2\text{SO}_4 \longrightarrow 2\text{MNSO}_4 + \text{K}_2\text{SO}_4 + 5((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4) + 10\text{CO}_2 + 8\text{H}_2$ <p>1ml de KMnO₄ (0.2 N) \longrightarrow 0.01 g de Ca actif</p> <p>Pour la prise d'essai : La quantité CaCO₃ actif en g est : (N-n) x 0.01 x (250/25)/10</p> <p>Pour 100g on aura (N-n) 0.01x 200. D'où : %CaCO₃ actif = (N-n) x 2.</p>



Figure 2.3.1 : Échantillonnage du sol et des racines de *T. gallica* dans la région de Mesaâd (Original, 2013).

2.3.2.1.3 Détermination des taux de mycorhization

Les racines collectées ont été colorées au bleu Trypan ou à la fuchsine acide (selon la disponibilité du colorant) : 0.05g/l pour le bleu Trypan ou 0.04g/l pour la fuchsine acide dans un mélange eau/glycérol/acide lactique (V : V : V) pendant 2 heures à 90°C [269] ou 45 secondes au micro-onde (puissance 10) [269]. Après avoir été éclaircies dans une solution de KOH 25% pendant 1 heure à 90°C [270] ou 20 secondes au micro-onde (puissance 10) [270]. À cause du fort taux de pigmentation des racines des *Tamarix* étudiées, un premier passage des racines dans l'H₂O₂ (30%) est requis. Les fragments de racines sont conservés dans une solution de glycérol/acide lactique/eau (1/1/1) à l'obscurité à 4°C. 15000 fragments racinaires provenant de 50 arbres de *T. articulata* et 13500 fragments de *T. gallica* provenant de 45 arbres sont montés entre lames et lamelles et observés au microscope optique (x100). Les structures fongiques observées à l'endroit de l'intersection de l'axe de l'objectif et le fragment racinaire sont quantifiées [242].

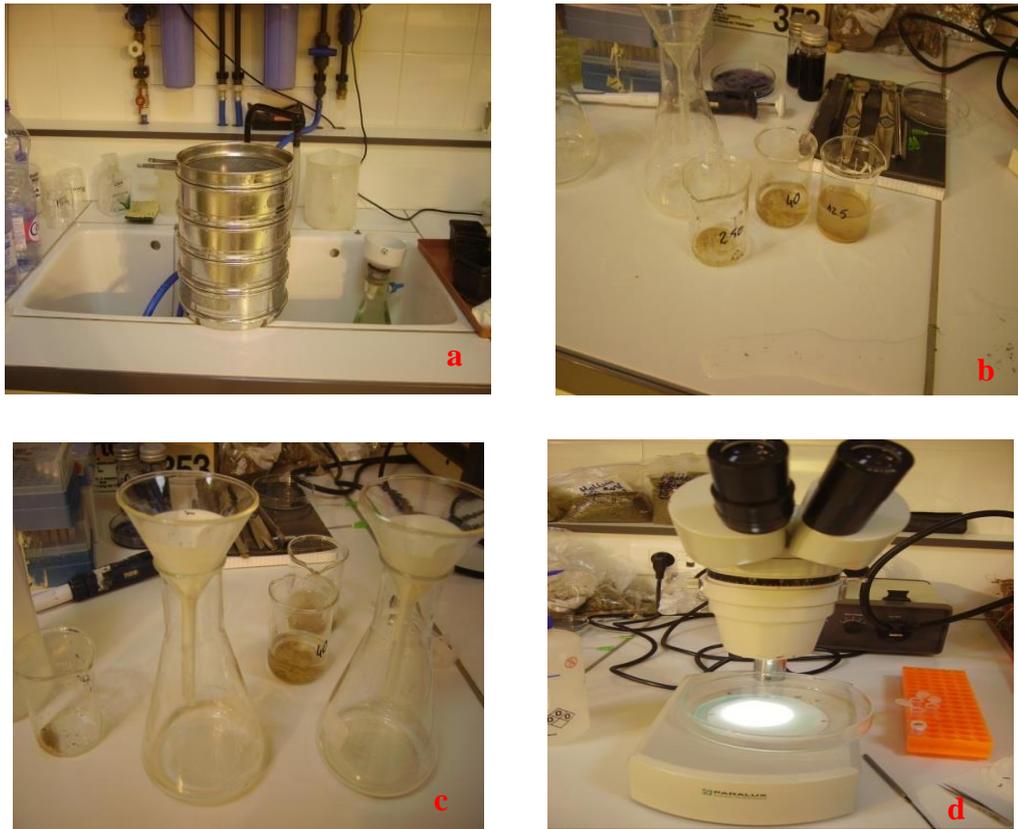
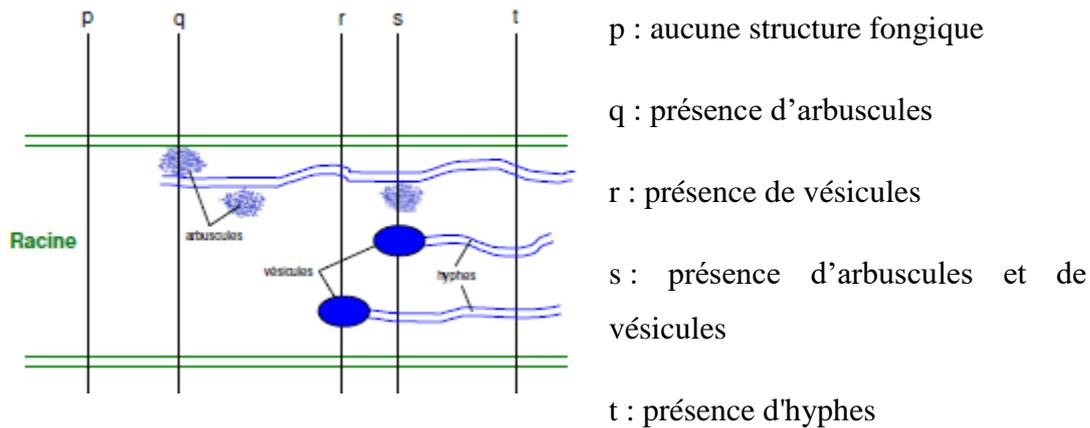


Figure 2.3.2 : Étapes de l'extraction des spores par tamisage humide (Gerdmann et Nicolson [267] ; **a** : Passage à travers les tamis de différents diamètres (250, 150 et 40 μ m) ; **b** : récupération du retenu par tamis ; **c** : filtration sur papier filtre ; **d** : observation sous loupe binoculaire. (Original, Calais, 2012).

Trois lectures aléatoires par fragment racinaire ont été réalisées (soit 45 lectures au total pour chaque lame observée). Ce qui correspond à un total de 45000 lectures pour *T. articulata* et 40500 lectures pour *T. gallica*. Le pourcentage de colonisation total = (nombre d'intersections observées – nombre d'intersections sans structure fongique) x 100 / nombre d'intersections observées.



G : nombre d'intersections.

Les taux de mycorhization totale, arbusculaire et vésiculaires ont été déterminés grâce aux équations suivantes :

Taux Total (H)

$$H = 100 (G-P)/G$$

Taux d'arbuscules (A)

$$A = 100 (q+s)/G$$

Taux de vésicules (V)

$$V = 100 (r+s)/G$$

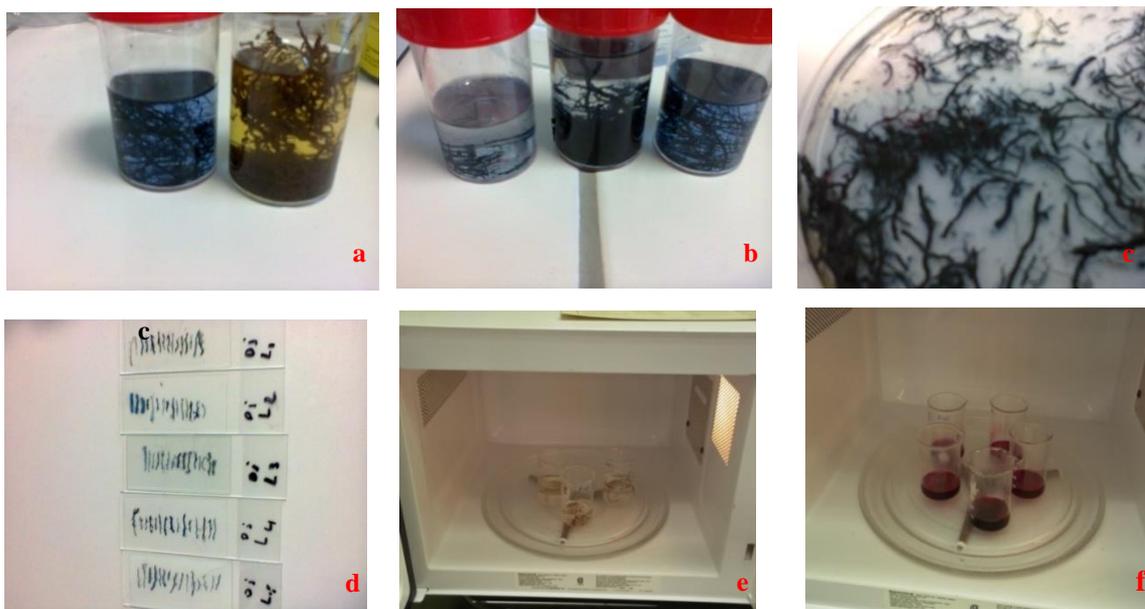


Figure 2.3.3. Etapes de coloration des racines. **a.** Racines de *T. articulata* à droite : avant coloration et à gauche après coloration. **b.** Racines colorées au Bleu trypan et conservées dans la solution Glycerol-acide lactique-eau. **c.** Choix des racines adéquates pour l'observation microscopique. **d.** Montage des lames pour observation : 15 fragments/lame et 5 lames/échantillon. **e.** éclaircissement des racines au micro-onde (x10 pendant 25 sc). **f.** coloration des racines au micro-onde (x10 pendant 45 sc).

2.3.2.4. Étude du potentiel mycorhizogène

Afin de déterminer le potentiel mycorhizogène des sols étudiés, la technique de PORTER [271] est adoptée. Le trèfle blanc est cultivé sur le sol des 10 sites d'étude selon un gradient de cinq dilutions de sols pour chaque site et pour chacune des cinq dilutions. Trois répétitions sont prises en considération par dilution.

- **Première dilution** : Dilution 10^{-1} : 30 g de sol non stérilisé + 270 g de sol stérilisé = 300g.

- **Deuxième dilution** : Dilution 10^{-2} : 30g de sol 1 (10^{-1}) + 270g de sol stérilisé.

- **Troisième dilution** : Dilution 10^{-3} : 30g de sol 2 (10^{-2}) + 270g de sol stérilisé = 300g.

- **Quatrième dilution** : Dilution 10^{-4} : 30g de sol 3 (10^{-3}) + 270 g de sol stérilisé = 300g.

- **Cinquième dilution** : Dilution 10^{-5} : 30g de sol 4 (10^{-4}) + 270 g de sol stérilisé = 300g.

À la fin de la culture, le système racinaire est observé en entier. Le nombre de répétitions positives existant dans chaque dilution est noté. P1 est le nombre de répétitions positives dans la dernière dilution où nous avons un grand nombre de résultats positifs (P1 peut être 5, 4, 3, 2 ou 1). Nous rapportons nos valeurs sur la table de COCHRAN, et nous obtenons une valeur qu'on doit multiplier par 1/la dilution de P2 (la valeur $1/10^{-2}$ dans l'exemple). Cette quantité correspond au MPN pour 30 g de sol que nous avons utilisé au départ. On calcule après pour 1000g de sol. Le sol est considéré comme étant riche quand le nombre de propagules dépasse 5000 propagules/kg [270]; [271].

2.3.2.1.5. Production d'inoculum autochtone

Nous avons procédé au piégeage des spores dans les sols d'origine des sites étudiées, selon la méthode décrite par FORTIN et *al.*, [60] modifiée. Les échantillons de sols prélevés des sites d'étude ont été mélangés avec un substrat inerte comme suit : Volume de sol + 1 volume de tourbe stérile. 300 g du mélange sont mis dans chaque pot (X5 répliques). Environ 15 graines de *Medicago sativa* (Luzerne) sont plantés dans chaque pot et ce dans des conditions de luminosité et d'hygrométrie semi-contrôlées (16 h de

photopériode et 20°C). Les graines sont stérilisées préalablement dans l'éthanol (90°) pendant 5 secondes. Après 4 mois de culture, les pots sont placés sous serre. L'arrosage se fait à l'eau courante 2 fois / semaine à raison de 50 ml/pot. Afin de préserver l'inoculum, chaque 4 mois de cultures, les parties aériennes sont coupées et les racines sont mélangées aux sols et des nouvelles graines sont plantées. Ceci permet une meilleure croissance hyphale et une meilleure sporulation. À la fin de la phase de multiplication, l'inoculum obtenu est sous forme de mélange de racines mycorhizées (contenant des arbuscules, des vésicules et des hyphes intra-racinaires), d'hyphes extra-racinaires et de spores dans un substrat inerte (sable). La richesse de l'inoculum est évaluée par l'abondance des spores (extraction des spores par tamisage humide [267] et par l'évaluation du taux de mycorhization des racines de luzerne [249] dans 100g de sol.

2.3.3. Étude des bactéries endophytes

La distribution qualitative des populations bactériennes endophytes dans les racines des deux espèces de *Tamarix* étudiées a été entreprise afin de déterminer les interactions bénéfiques favorisant l'installation et le fonctionnement de la symbiose mycorhizienne arbusculaire chez les deux espèces végétales étudiées.

Les racines sont bien lavées à l'eau courante, stérilisées par la suite dans une solution de H₂O₂ (10%) pendant 5 min et dans une solution de MgSO₄ (5%) pendant 10 à 15 min selon la technique de MCINROY et KLOPPER [272] modifiée. Les racines sont, par la suite, écrasées dans un mortier stérile. Le suc racinaire libéré est mis en culture pour enrichissement dans un milieu à base de glucose, peptone et levure à pH= 6.8 pendant 48 h. Toutes les souches bactériennes obtenues sont cultivées pour purification sur milieu LPGA [273]. Le Test Gram est appliqué afin de séparer les bactéries Gram négatives des Gram positives.

Les bactéries Gram négatives sont mises en culture sur milieu King B [274] dans le but d'effectuer par la suite le test de fluorescence à 365 nm. Une fois le test de fluorescence effectué, les souches bactériennes sont cultivées sur le milieu cétrimide. C'est la première étape d'isolement des espèces du genre *Pseudomonas* afin de détecter la Pyocyanine [275]. Tandis que la gélose nutritive est choisie pour la sélection des espèces du genre *Bacillus*. Les galeries API E20 sont utilisées pour l'identification des *Pseudomonas* (Figure 3.6), alors que les tests biochimiques sont utilisés pour déterminer

les espèces du genre *Bacillus* en s'appuyant sur le manuel de classification et de systématique des Bactéries [276].

Les principales testes biochimiques utilisés sont :

- Analyses des caractéristiques morphologiques (couleur, forme et la taille des colonies à 24h et à une semaine de culture) ; les caractéristiques superficielles et la pigmentation, les caractéristiques des parois cellulaires (coloration de Gram).
- Test de mobilité.
- Test d'aérobiose et d'anaérobiose.
- Test de fluorescence.
- Test de sporulation.
 - L'utilisation de sources de carbone et d'azote : utilisation du sucre, et recherche de la lécithinase, utilisation du mannitol.
- Tests catalase/oxydase.
 - Les tests fermentation, Hydrolyse de l'amidon, production de gaz à partir du glucose.
 - Production d'indole et hydrolyse de la gélatine,
- Test RS (transformation du saccharose en substance réductrices).
- Test de température extrême de culture : culture à 35°C.
- Le test Désoxycholate.
- hypersensibilité sur feuille de tabac [272] ; [276].

Les souches bactériennes fluorescentes sont repiquées dans des tubes avec le milieu King B additionné de glycérol (25%), et après croissance à 28°C, elles sont conservées à (-20°C). Des repiquages sont effectués tous les 6 mois. Les souches de *Bacillus* identifiées sont conservées selon le même principe que les précédentes sur un milieu GN.



Figure 2.3.4 : Test d'identification des *Pseudomonas* : Galerie API NE20.

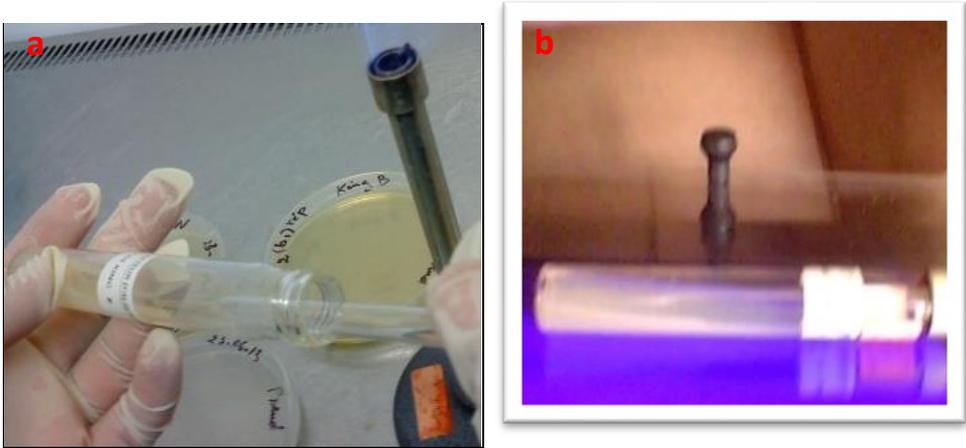


Figure 2.3.5: Isolement des bactéries sur milieu King B (a). Test de Fluorescence à 365 nm sous rayons ultraviolet (b).

2.3.4. Quantification de la biomasse microbienne du sol par les marqueurs lipidiques

2.3.4.1. Quantification de la biomasse des CMA et de la microflore tellurique
(FROSTEGARD et al., [277])

Les marqueurs lipidiques sont utilisés pour la détection et la quantification de la microflore tellurique. Parmi ces marqueurs, l'acide gras associé aux phospholipides (AGPL) et aux lipides neutres (AGLN) C16:1 ω 5 sont utilisés comme marqueurs des CMA. Le rapport AGLN/AGPL C16:1 ω 5 est utilisé pour différencier les CMA des bactéries. Le marqueur lipidique AGLN C18 : 2 ω 6,9 est quantifié comme indicateur des champignons saprotrophes et ectomycorhiziens. Les AGPL : i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, a17:0 sont utilisé

pour quantifier les bactéries gram positive et les AGPL cy17:0, C18 :1 ω 7 et cy19:0 permettent de quantifier la biomasse des bactéries Gram négative (Tableau 3.6).

Tableau 2.3.2 : Récapitulatif des marqueurs lipidiques et de la microflore tellurique correspondante.

Microflore tellurique	Marqueurs lipidiques quantifiés (AGPL)
Bactéries Gram+	i15:0
	a15:0
	i16:0
	i17:0
	a17:0
Bactéries Gram-	cy 17:0
	C18:1 ω 7
	cy19:0
CMA	C16:1 ω 5
Champignons saprotrophes et ectomycorhiziens	C18:2 ω 6, 9

- Extraction des acides gras du sol

Trois grammes de sol lyophilisé pendant 48h sont mises dans des tubes à essai de 25 ml, auxquels on ajoute 10 ml de la solution d'extraction Bligh et Dyer (B&D). La solution Bligh et Dyer se compose de : 250 ml de chloroforme + 500 ml de méthanol + 200 ml de tampon citrate. Ce mélange est bien vortexé et laissé au repos pendant 2 heures à température ambiante. Les échantillons sont, par la suite, centrifugés à 3000 rpm pendant 10 minutes. Le surnageant est transféré dans un grand tube à essai en verre de 50 ml.

Le sol restant est rincé avec 5 ml de B&D, vortexé pendant 15 secondes et centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes. Le surnageant obtenu est rajouté au premier, auxquels 4 ml de chloroforme et 4 ml de tampon citrate sont additionnés. Les échantillons sont laissés toute la nuit à température ambiante. Le lendemain, la phase inférieure contenant les lipides est transférée dans un tube à essai de 15 ml et évaporée à 40 °C sous azote.

- Fractionnement des lipides neutres (LN) et des phospholipides (PL)

Cette étape débute par le conditionnement des colonnes de silice SPE (cartouches d'extraction en phase solide : *solide phase extraction*) avec 2*3 ml d'Hexane et 3 ml de chloroforme. La matière sèche de chaque échantillon est dissoute dans 3*1ml de chloroforme avant d'être mise dans la colonne SPE. Les différentes classes de lipides sont séparées comme suit :

- Les LN avec 5 ml de chloroforme ;
- Les glycolipides avec 10 ml d'acétone ;
- Les PL avec 5 ml de méthanol.

Chaque catégorie de lipide est récupérée dans un tube. Les glycolipides sont jetés. Les LN et PL récupérés sont évaporés sous azote à 40°C.

- La trans-estérification

L'acide nonadécanoïque méthylé C19 :0, est utilisé comme standard interne pour les AGLN et les AGPL à 0.25µg/µl/ échantillon - soit 5 µg - . Une évaporation sous azote est effectuée. Les échantillons secs sont dissouts dans 1 ml de Toluène/Méthanol (v : v) auxquels 1 ml de KOH (0.2 M) préparé dans du méthanol le jour même est ajouté. Les échantillons sont ensuite incubés à 37°C dans un bain-marie pendant 15 minutes. Après refroidissement pendant 20 minutes, 2 ml d'Hexane/Chloroforme (4:1), 0.3 ml d'acide acétique (1M) et 2 ml d'eau ultra-pure sont ajoutés à chaque échantillon. Le mélange est vortexé avant d'être centrifugé à 3000 rpm pendant 5 minutes.

Deux phases sont obtenues, la phase supérieure de chaque échantillon est transférée dans un tube à essai en utilisant une pipette Pasteur/échantillon (afin d'éviter toute contamination) avant d'être évaporée sous azote.

- Passage en GC-MS

Les échantillons secs sont dilués dans 100 µl d'Hexane et repris dans des capillaires afin de les analyser par chromatographie en phase gazeuse avec une spectrophotométrie de masse (GC-MS).

La GC-MS «SHIMADZU 2010 Plus system » équipée d'un injecteur automatique «AOC-20i » et couplée à la spectrométrie de masse« *SHIMADZU QP 2010 Ultra* ».

La séparation des acides gras est exécutée sur une colonne capillaire « *Zebron Phenomenex ZB-Wax* » composé de 100% polyéthylèneglycol (longueur 10 m, diamètre interne 0.1 mm, épaisseur de la phase 0.1 mm). L'injection en GC est réalisée en mode SPLIT (ratio 200) sous un débit de gaz vecteur (Hélium) à vitesse linéaire de 37 cm/s. La température initiale du four est de 175°C ; elle augmente progressivement à 275°C avec une vitesse de 25°C/min. La durée d'analyse est de 4.5 min par échantillon pour un volume d'injection de 0.5 µl. La détection en masse est réalisée par impact électronique (70 eV ; 250°C pour la source ionique et 280°C pour la ligne de transfert) en modes SCAN (de 50 à 400 m/z et à 20000 Hz) et SIM (Single Ion Monitoring) afin de détecter chaque pic pendant 20 s.

La température de la flamme FID (Flame Ionisation Detector) est de 300°C. Le débit du dihydrogène est de 40 ml/min alors que le débit de l'air est de 400 ml/min. L'analyse des échantillons est comparée à l'analyse d'un standard commercial : «*Bacterial Acide Methyl Ester CP Mix* in methyl caproate (**BAME**) analytic standard– SUPELCO (10 mg/ml de la concentration totale)» contenant les acides gras d'intérêt. Les spectres obtenus sont comparés à la librairie *NIST11s* afin de déterminer la nature de chaque molécule. Chaque acide gras est quantifié par comparaison au standard interne (*C19 :0 méthylé*) au moyen du détecteur FID. Les ions cibles de chaque marqueur ainsi que les deux ions de référence et le temps de rétention sont indiqués dans le tableau 3.7.

- Quantification de l'ergostérol

La quantification de l'ergostérol permet d'estimer la biomasse des champignons saprotrophes et ectomycorhiziens présents dans le sol. Le dosage se fait à partir d'une prise d'essai de quatre grammes de sol lyophilisé préalablement pendant 48 h. À chaque échantillon, 5ml de méthanol sont ajoutés. Le mélange obtenu est vortexé pendant 60 sc et laissé au repos toute la nuit à température ambiante et à l'abri de la lumière. Le lendemain, l'extraction de l'ergostérol est faite sur un bloc chauffant à 70°C pendant 90 minutes à l'obscurité. Les échantillons refroidis sont ensuite centrifugés pendant 5 minutes à 3000 rpm. La phase liquide récupérée est transférée vers un premier tube de 15 ml, auquel nous ajoutons 1 ml d'eau distillée et 2 ml de cyclohexane. Le mélange est vortexé pendant 20

secondes et centrifugé pendant 5 minutes à 3000 rpm. La phase supérieure est transférée dans un deuxième tube (15 ml). À chaque échantillon, 1.5 ml de cyclohexane sont ajoutés. Les échantillons sont bien vortexés avant de les centrifuger à nouveau. La phase supérieure est également récupérée et ajoutée à la première phase avant d'être évaporée sous azote. Les échantillons sont par la suite récupérés avec 100 µl d'Hexane et analysés par GC-MS.

Tableau 2.3.3 : Tableau récapitulatif des ions cibles pour les acides gras analysés

Acide Gras	m/z ion cible	m/z ion référence1	m/z ion référence2	Temps de rétention (min)
i15:0	256	74	199	1.828
a15:0	256	74	199	1.851
i16:0	270	74	227	2.116
C16:1ω5	268	74	199	2.19
i17:0	284	74	199	2.43
a17:0	284	74	199	2.456
cy17:0	250	74	208	2.498
C18:2ω6,9	294	74	268	2.754
C18:1ω7	296	74	264	2.795
cy19:0	310	278	74	3.143
C19:0 (standard interne)	312	74	199	3.185
ergostérol	396	363	253	6.069

La séparation des molécules d'Ergostérol est réalisée par la même GC-MS que les acides gras «*SHIMADZU 2010 Plus system*» équipée d'une colonne capillaire «*Zebtron Phenomenex ZB-5MS*» composé de 5% phényl-arylène et 95% diméthyl-polysiloxane (longueur 10 m, diamètre interne 0.1 mm, épaisseur de la phase 0.1 mm). L'injection en GC est réalisée en mode SPLIT (ratio 20) sous un débit de gaz vecteur (Hélium) à vitesse linéaire de 70 cm/s. La température initiale du four est de 80°C ; elle augmente progressivement à 220°C avec une vitesse de 60°C/min puis avec une vitesse de 20°C/min pour atteindre 300°C où elle est maintenue pendant 1.5 min. La durée d'analyse est 7.83 min par échantillon pour un volume d'injection de 0.5 µl. La détection en masse est réalisée par impact électronique (70 eV ; 250°C pour la source ionique et 300°C pour la ligne de transfert) en modes SCAN (de 50 à m/z 500 à 20000 Hz) et SIM (*Single Ion Monitoring*) afin de détecter le pic d'ergostérol pendant 0.3 s. La température de la flamme FID (Flame Ionisation Detector) est de 320°C. Le débit du dihydrogène est de 40 ml/min

alors que le débit de l'air est de 400 ml/min. L'analyse des échantillons est comparée à l'analyse d'un standard commercial « Fluka Chemica (pure à 98% et de qualité HPLC) ». Les spectres obtenus sont comparés à la librairie NIST11s afin de déterminer l'ergostérol et de le quantifier. L'ion cible, les deux ions de références et le temps de rétention sont indiqués dans le tableau 3.7.

2.3.5. Mycorhization contrôlée

2.3.5.1. Mycorhization contrôlée de *T. gallica* et *T. articulata* avec *Rhizophagus irregularis* DAOM (197198)

L'espèce *Rhizophagus irregularis* est utilisée dans cette expérience pour inoculer les deux espèces végétales étudiées dans du terreau stérilisé. Le terreau utilisé est de type 1/3 composé d'un mélange de : tourbe brune, de compost d'écorce de résineux et fibres de bois. Cette expérience a pour but principal de calculer l'indice de dépendance mycorhizienne des deux espèces végétales étudiées définies selon HETRICK [278].

2.3.5.2. Mycorhization contrôlée du *T. articulata* : inoculum autochtone/inoculum commercial

La deuxième expérience de mycorhization contrôlée est conduite avec trois différents traitements d'inoculation et trois niveaux de salinité de sols. Les sols proviennent des dix sites décrits précédemment dans le tableau (3.1) et sont classés selon leur taux de salinité en : sols non salins (0.034 - 0.29 g.l⁻¹), sols modérément salins (1.05 - 1.71 g.l⁻¹) et sols salins (3.25 - 5.75 g.l⁻¹).

Trois types d'inoculum sont utilisés :

1. Un inoculum commercial constitué d'un mélange de 6 espèces de Glomermycètes (*Rhizophagus intraradices* BEG140, *Funneliformis mosseae* BEG95, *Glomus etunicatum* BEG92, *Funneliformis claroideum* BEG96, *Glomus microaggregatum* BEG56, *Funneliformis geosporum* BEG199, dépourvu de bio-additifs, connu sous le nom commercial : 'inoculum plus pro' et fabriqué par Symbivit France.
2. Un inoculum mycorhizien seul à base du piégeage des spores des sols naturels avec la luzerne, il contient en moyenne 40 spores/g et 0.68g/g de racines colonisées.

3. Un bio-inoculum composé d'un mélange de l'inoculum mycorhizien autochtone combiné avec 30ml d'une suspension bactérienne de *Pseudomonas fluorescens* (3.3×10^8 cellule ml^{-1}) diluée dans du MgSO_4 (0.01M).

L'expérience est conduite dans des micro-serres individuelles (Figure 3.7).

Les substrats utilisés proviennent des 10 sites naturels additionnés à raison de 5% de sables stérilisé par autoclavage à 120°C et 1 bar pendant 30 min.

Les boutures de *T. articulata* sont prélevées d'un arbre adulte présentant tous les signes de vigueur et de bonne santé. Ils sont stratifiés à 4°C pendant 15 jours. Après la stratification, les boutures sont plantées dans les pots en respectant la coupe de rafraichissement de la partie supérieure. Le couvercle est déposé sur chaque pot afin de confectionner la micro-serre et placée dans le laboratoire à des conditions de température et d'humidité semi-contrôlées.



Figure 2.3.6 : Préparation des microserres pour la mycorhization contrôlée avec la souche commercial *R. irregularis* des deux espèces de Tamarix étudiées. Du gravier est mis à la base des micro-serres pour faciliter l'aération et évite l'asphyxie des racines. Du terreau stérilisé par autoclavage est utilisé comme substrat de base aux cultures des deux espèces de Tamarix.

2.3.5.2.1. Les traitements effectués

- Plants témoins 50g d'inoculum stérilisé.
- Plants avec l'inoculum commercial à raison de 50g/pot.
- Plants avec l'inoculum mycorhizien seul à raison de 50g/.

➤ Plants avec le bio-inoculum (inoculum autochtone+ *Pseudomonas fluorescens* endophytes autochtone), Les bactéries endophytes *Pseudomonas fluorescens* sont précédemment isolées des racines de Tamarix et identifiées selon la méthode de FAGAS et MULLARD [274]. La concentration de la suspension bactérienne est de $3.3 \cdot 10^8$ cellule ml^{-1} . 50 g d'inoculum autochtone et 30ml de la suspension sont ajouté à chaque pot. La méthode d'inoculation proposée par AKRAM [279] est adoptée.

Le même substrat est utilisé pour les quatre traitements. Il est composé d'un mélange de substrat naturel des 10 sites et de sable stérilisé à raison de (1:1). Cinq réplicas sont retenus pour chaque traitement d'inoculation de même que pour le témoin. L'arrosage est effectué deux fois par semaine.

2.3.5.2.2. . Évaluation des paramètres de croissance des plants

➤ Détermination de la biomasse sèche aérienne et racinaire

Après 24 semaines de culture, les parties aériennes et les parties souterraines sont prélevé, séchées à 70°C pendant 72h jusqu'à la stabilisation du poids. Trois replicats sont utilisé pour chaque traitement.

➤ Détermination de la teneur des feuilles en Azote et en phosphore

L'extraction des minéraux (Azote et phosphore) de la partie aérienne des plants est effectuée à partir de la matière sèche des feuilles broyées.

a. Dosage du phosphore des feuilles et du sol

Selon la méthode de TAUSKY et SHORR [280]. Le phosphore est dosé par Colorimétrie. La minéralisation est la première étape réalisée, en utilisant l'acide chlorhydrique (HCl) (1N) afin de dissoudre toute la matière organique : 0.5g de chacune des poudres, mélangées avec 25ml d'HCl dans le broyeur. La solution obtenue est centrifugée pendant 3 min à 3000 tours/min, suivie d'une filtration du surnageant. Après filtration, à chaque échantillon une dose de 2 ml du réactif sulfomolybdique et 2 ml d'eau

distillée sont ajoutées avant le passage par spectrophotométrie (figure 3.11). Une gamme d'étalon est préparée à base de KH_2PO_4 dans les mêmes conditions expérimentales des échantillons dosés.

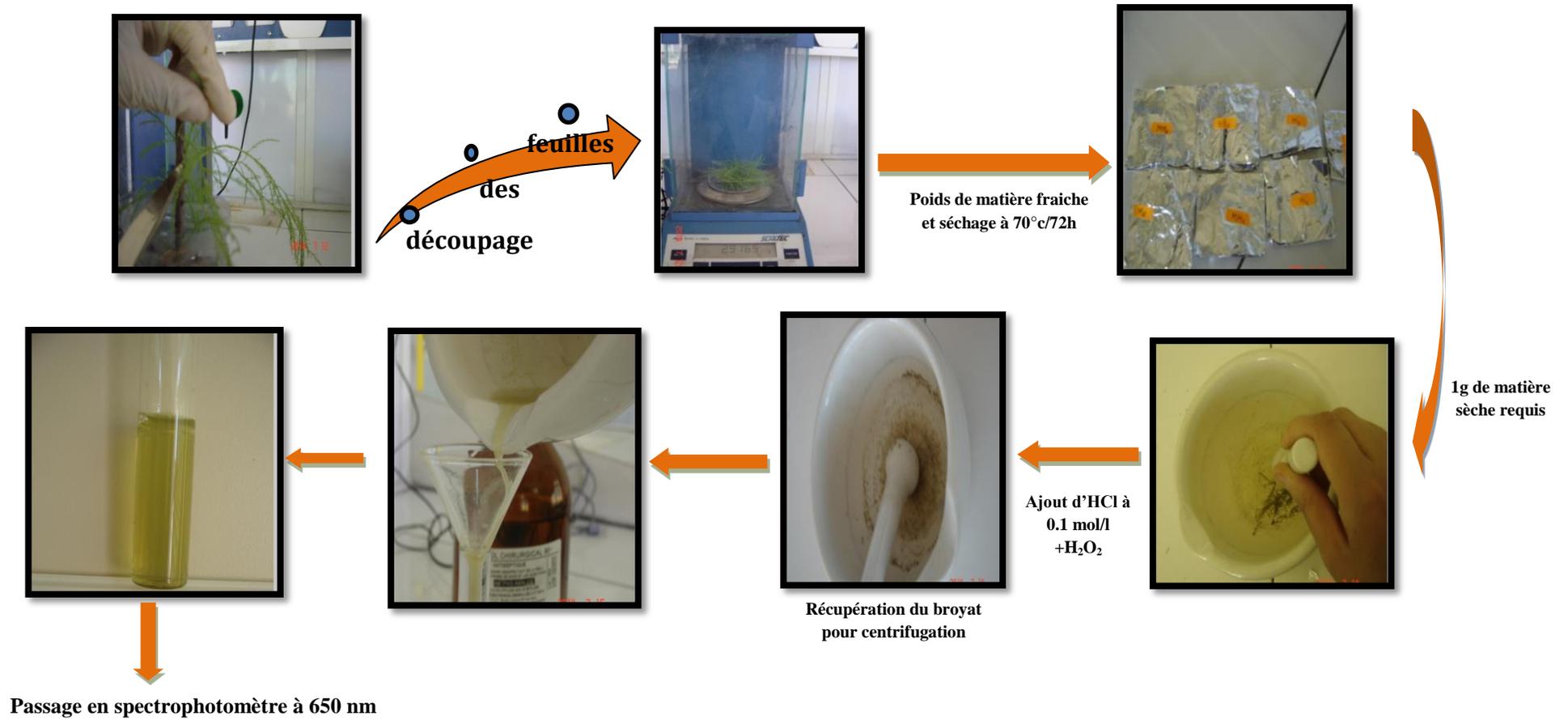


Figure 2.3.7 : Dosage du phosphore par colorimétrie selon TAUSKY et SHORR [280].

b. Dosage de l'azote organique par la Méthode *KJELDAHL*:

La méthode Kjeldahl décrite par RINAUDO [282] est adoptée pour le dosage d'azote dans les feuilles de *T. articulata*. Un minimum de 75 mg de poudre végétale est requis (correspond à une dose >2.5% d'azote dosé par l'acide sulfurique 0.1N). Cette méthode consiste à transformer la matière organique azotée en sel d'ammonium (NH_4^+) (minéralisation). Cette dégradation se fait à l'aide d'un catalyseur (du sulfate de cuivre et du sulfate de potassium), de l'acide sulfurique à haute température (421 °C). la distillation qui constitue la deuxième étape, consiste à transformer l'ammonium sous sa forme volatile : l'ammoniac, elle se réalise par l'addition de la soude. La quantité de soude utilisé doit être élevée afin de changer le pH (d'acide en basique). Les vapeurs d'ammoniac (NH_3) sont condensées au contact d'un réfrigérant et recueillies dans une solution avec deux colorant : le rouge de méthyle et le bleu de bromothymol, en plus de l'acide borique. L'acide borique va retenir l'ammoniac sous sa forme acide. La troisième étape est le titrage de l'ammoniaque par une solution titrée d'acide chlorhydrique ou d'acide sulfurique. On titre la solution jusqu'à équivalence par le virage de l'indicateur coloré, le rouge de méthyle (couleur rose rouge). La méthode est résumée sur le schéma de la figure 3.9. Les étapes de réalisation sont résumées sur la figure 3.10.

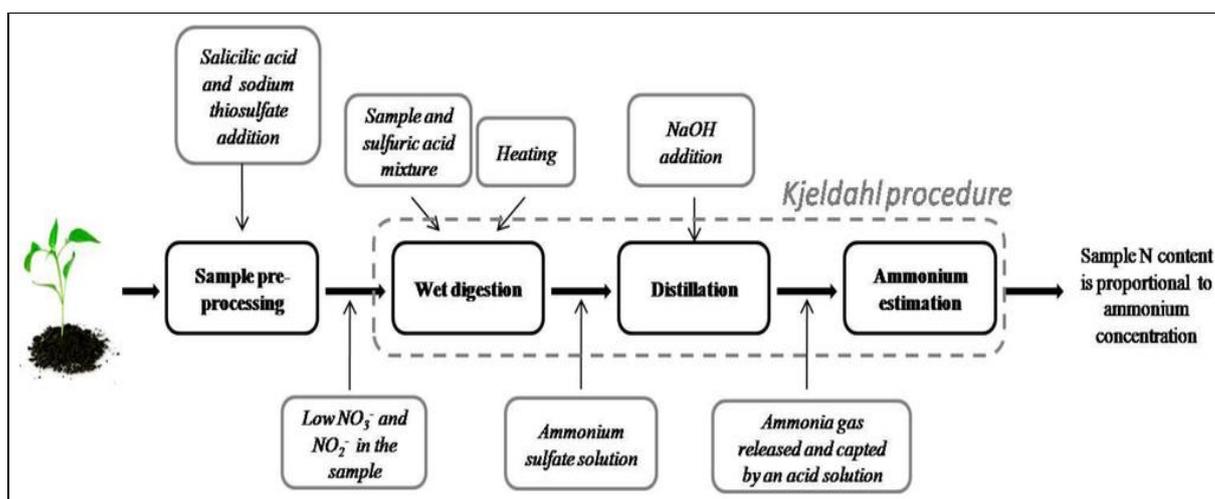


Figure 2.3.8 : Principe de la méthode *KJELDAHL*.



Ajouter 7 gouttes de sulfate de cuivre et 20 ml H_2SO_4 concentré dans chaque tube à digestion



Placer les tubes dans le support.



Récupération des vapeurs sur les tubes.

Minéralisation



Distillation



Titration

Figure 2.3.9 : Les étapes de la méthode de minéralisation (Méthode Kjeldahl).

2.3.6. Transplantation après mycorhization contrôlée

De chaque gradient de salinité et de traitement, nous avons transplanté les plants de *T. articulata* sur un sol brun calci-magnésique xérique, avec une existence de sable et de gypse en plus d'une croûte calcaire (provenant de la région de Moudjbara- W. Djelfa). Les *Tamarix* sont absents dans cette région. Des pots avec une capacité de 10 L sont utilisés pour la transplantation. Cette expérimentation a pour objectif de déterminer la combinaison sol/inoculum qui donnera les meilleurs résultats de production de *T. articulata* en pépinière avant la transplantation. L'expérimentation a été conduite pendant 10 semaines. Les plants de *T. articulata* et *T. gallica* inoculés avec le *R. irregularis* sont transplantés directement sur le sol de la même région.

2.3.7. Analyses statistiques

Les premières analyses représentent une étude écologique des CMA échantillonnés en fonction des sites et des saisons. L'écologie des communautés ou synécologie est un des domaines de recherche les plus vastes de l'écologie, faisant appel à des données de multiples origines, à la conjonction de la biogéographie, de la génétique des populations, de la dynamique des populations et de la systématique [262]. Son principal objectif est d'expliquer la variété et l'abondance des organismes vivants dans l'espace et dans le temps [283]. Elle regroupe un certain nombre d'indices écologiques : la richesse spécifique, l'équitabilité et les indices de biodiversité.

La richesse spécifique (S) est représentée par le nombre total d'espèces recensé par unité de surface. Cet indice peut être utilisé pour analyser la structure taxonomique du peuplement.

L'indice de diversité de Shannon (H') permet de quantifier globalement la biodiversité en espèces étudiées dans un site donné. Il est évalué selon de la formule :

$$H' = - \sum ((N_i / N) * \log (N_i / N)).$$

N_i : nombre d'individus d'une espèce donnée, i allant de 1 à S (nombre total d'espèces).

N : nombre total d'individus.

H' est minimal (= 0) si tous les individus du peuplement appartiennent à une seule et même espèce. H' est également minimal si, dans un peuplement chaque espèce est représentée par un seul individu. L'indice est maximal quand tous les individus sont répartis d'une façon égale sur toutes les espèces [263] ; [282].

L'équitabilité (E) désigne la répartition du nombre d'individus par espèce dans un environnement donné. Elle est calculée selon l'équation :

$$E = H' / \log_2 S.$$

L'équitabilité varie de 0 à 1. Une valeur de 1 indique que tous les individus de la population sont répartis équitablement. Par contre, une valeur de zéro reflète l'existence d'espèces rares qui ont une distribution disproportionnée [283].

Le calcul de la moyenne des indices nous permet de situer chaque site par rapport à la moyenne générale. Ceci nous renseigne sur la variation générale de l'indice par rapport aux sites.

L'analyse des correspondances détendancées « Detrended correspondence Analysis » (DCA) MINCHIN [284] est une technique basée sur l'ordination des données en moyennes réciproques. Elle emploie les données des échantillons et des espèces simultanément selon un graphe d'axes factoriels indépendants, dans un plan où l'ensemble des relevés et des espèces est représenté par des points. Les espèces sont alors placées dans le plan de telle manière qu'elles arrivent à caractériser chaque site qui leur est associé en fonction de la distance entre les espèces et les sites et par rapport au centre du plan. Les noms des espèces et des stations sont représentés par des abréviations sur le graphe. Cette méthode tient compte des effectifs de chaque espèce échantillonnée dans les différents sites et met en évidence les facteurs qui déterminent la distribution spatiale des espèces. Elle est exécutée avec le programme PC-ORD [262] ; [282].

L'indice de similarité de Sorensen mesure la similitude en espèces entre deux sites selon la formule :

$$B = (2C) / (S1 + S2)$$

C : nombre d'espèces communes entre deux sites

S1 : représente le nombre d'espèce pour le site 1.

S2 : représente le nombre d'espèce pour le site 2.

L'indice tend vers zéro quand il n'existe aucune espèce commune entre les deux habitats. Il est de 1 quand toutes les espèces rencontrées dans le premier site existent dans le deuxième site.

Analyse de la variance ANOVA permet d'évaluer une variable dépendante quantitative au travers d'une/ou d'une combinaison de variables qualitatives. Dans notre cas, l'analyse de la variance est utilisé afin d'évaluer l'effet individuel des paramètres abiotiques ainsi que leur effet combiné sur le taux de mycorhization racinaire chez les deux espèces de *Tamarix* étudiées. La même analyse est utilisée afin d'évaluer l'effet des traitements d'inoculation employés et de la salinité du sol sur les paramètres de croissance des plantules de *T. articulata* avec le test Tukey à $p < 0.05$.

Le coefficient de corrélation de Pearson est une mesure de similarité des variables : plus les variables sont similaires, plus le coefficient de corrélation est élevé. Il est calculé afin d'évaluer l'effet d'un paramètre quantitatif sur les paramètres qualitatifs. Nous l'avons utilisé afin de déterminer les corrélations possibles entre les facteurs relatifs à la symbiose mycorhizienne dans les différentes expérimentations réalisées.

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.1. Diversité des champignons mycorhiziens arbusculaires et des bactéries endophytes associés à la rhizosphère du Tamarix

3.1.1. Objectif

Les communautés microbiennes des milieux naturelles jouent des rôles très importants dans le développement des plantes, dans leur résistance aux différents stress abiotiques en plus de leur rôle dans la stabilité structurale des sols [12] ; [285]. La colonisation des plantes par les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) varie en fonction des espèces végétales, des espèces fongiques, de la communauté bactérienne environnante ainsi que du sol et de la physiologie de la plante [12]. Des études récentes ont montré que *T. articulata* est naturellement associée aux CMA [286]. BEAUCHAMP et al., [55] ont trouvé que *T. ramosissima* est une espèce très peu mycorhizée. Ces divergences expliquent que le statut mycorhizien des Tamarix varie en fonction des conditions environnementales et de l'espèce végétale étudiée [21].

En Algérie, la revégétalisation des sols dégradés en utilisant des arbustes tels que les Tamarix prend de l'ampleur [11]. Cependant, avant d'étendre les plantations des espèces de Tamarix à travers les différentes zones steppiques arides et semi-arides, il serait intéressant d'évaluer le statut mycotrophe naturel des espèces de Tamarix présentes dans ces zones. C'est pourquoi, cette partie a pour objectif d'évaluer la diversité des CMA dans la rhizosphère de *T. articulata* et de *T. gallica* chez des espèces naturelles et plantées sur un total de dix sites différents des milieux arides et semi-arides des steppes algériennes. Les effets de la variation saisonnière et des paramètres du sol sur la biodiversité des CMA, de leur abondance, ainsi que sur la colonisation racinaire sont étudiés. En outre, la communauté bactérienne endophyte des racines des deux espèces de Tamarix est examinée, les interactions bénéfiques bactéries/CMA étant importantes dans l'installation et le fonctionnement de la symbiose mycorhizienne arbusculaire chez les plantes.

3.1.2. Caractérisation pédologique des sols des sites d'étude

Les résultats des analyses pédologiques effectuées sur les sols des 10 sites étudiés figurent dans le tableau 4.1. Globalement les sols des sites étudiés présentent des pH alcalins variant entre **7.5** à **9.5**. Le site du rocher de sel (RS) enregistre un sol acide, avec un pH de **5.95**. Les résultats de la salinité des sols divisent les sites étudiés en trois groupes :

- Les sols non salins avec une conductivité électrique variant de **0.5** à **0.62** ds.m⁻¹ correspondant aux sites : Messaad (MES), El-Mesrane (MRS) et Ain Oussera (AO).
- Les sols modérément salins avec une conductivité électrique variant de **1.82** à **2.95** ds m⁻¹ correspondant aux sites : Laghouat (LG), Djelfa (DU), Hassi Bahbah (HB) et Kasr-El Boukhari (KB).
- Les sites salins avec une conductivité électrique variant de **4.15** à **9.93** ds m⁻¹ correspondant aux sites Bougezoul (BG), Rocher de sel (RS) et Zaafrane (Z).

Une faible teneur en Na est enregistrée dans le site Zaafrane (Z) due à la nature sulfurique de la salinité du sol. La teneur en phosphore assimilable est faible dans la totalité des sites étudiés. Elle varie entre **0.1 mg g⁻¹** dans le site Zaafrane (Z) et **0.42 mg g⁻¹** dans le site Boughzoul (BG). Le carbone organique est variable entre les sites. Il est le plus élevé dans le site Djelfa (DU) avec **13.56 mg g⁻¹** et le plus faible dans le site Ain Oussera (AO) avec **0.35 mg g⁻¹**. Les sites Boughzoul (BG), Djelfa (DU), El-Mesrane (MRS) et Zaafrane (Z) enregistrent un taux de calcaire total assez élevé. Il est de **9.8%** dans le site Zaafrane (Z) et **13.83** dans le site El-Mesrane (MRS), en passant par des taux de **12.62** et **12.37%** respectivement dans les sites Boughzoul (BG) et Djelfa (DU). La texture du sol varie de la **texture limono-sablo-argileuse** à la texture **sableuse** en passant par les textures: **sablo-limono-argileuse**, **limono-argileuse** et **sablo-limoneuse**.

Tableau 3.1.1 : Tableau récapitulatif des analyses pédologiques. MESS : Messaad, MRS : El-Mesrane, AO : Ain-Oussera, LG : Laghouat, HB : Hassi

Bahbah, KB : Kasr-el-Boukhari, DU : Djelfa, BG : Bouguezoul, RS : Rocher de sel, Z : Zaafrane.

Sites/Parameters	AO	BG	DU	HB	KB	LG	MES	MRS	RS	Z
pH _{Water}	8.14	7.48	7.54	7.78	7.77	7.99	7.89	7.85	5.95	9.5
CE (ds.m ⁻¹)	0.62	4.15	2.95	2.13	2.43	1.82	0.54	0.8	8.5	9.93
Salinité (g.l ⁻¹)	0.03	3.24	1.72	1.23	1.42	1.05	0.04	0.29	4.94	5.75
P assimilable (mg.g ⁻¹)	0.13	0.22	0.11	0.44	0.95	0.14	0.13	0.37	0.027	0.10
Humidité (%)	1.6	4.94	8.01	10.17	11.06	4.22	2.75	10.18	13.85	23.8
N (mg.g ⁻¹)	0.18	0.42	0.23	0.231	0.25	0.203	0.19	0.26	0.2	0.1
C (mg.g ⁻¹)	0.35	0.83	13.56	0.51	1.8	0.77	0.5	0.19	0.89	3.18
C/N	19.44	19.76	33.76	22.17	32.4	37.93	2.63	34.23	44.5	31.8
Mg (meq/100g)	-	38.4	4.1	0.66	5.2	3.2	-	1.32	3.1	15.2
K (mg.g ⁻¹)	100.0	30.01	400.0	100.0	446.0	100.0	100.0	250.0	0.12	0.14
Na (meq/100g)	-	11	1.35	0.12	1.43	0.98	-	1.39	22	2.1
MO (%)	0.60	1.43	1.34	0.87	3.14	1.32	0.862	0.32	1.53	0.54
Calcaire total (%)	3.04	12.62	12.37	4.24	7.06	5.29	4.97	13.83	7.46	9.8
Calcaireactif (%)	-	6.25	6.15	-	-	-	-	6.6	-	5.5
Argile (%)	14.5	9.5	12	6.5	8.02	34.07	6.5	25.01	2.90	13.5
Limon (%)	22.41	19.99	33.35	4.58	20.31	49.47	15.01	13.55	75.67	25.1
Sable (%)	63.08	70.5	50.24	88.91	71.69	16.03	78.5	61.45	21.90	61.1
Texture		Limono-sableuse	Limono-sablo-argileuse	Sableuse	Limono-sableuse	Limono-argileuse	Limono-sableuse	Sablo-limono-argileuse	Limono-sableuse	Sablo-limoneuse

Les données sont représentées par les moyennes. Les moyennes sont obtenues à partir de 4 replicats par site (n=4x10). - : non détecté. CE : conductivité électrique, P assimilable : phosphore assimilable.

3.1.3. Etude de la variation saisonnière des CMA dans la rhizosphère de *T. articulata* et de *T. gallica*

3.1.3.1. Identification des CMA autochtones dans la rhizosphère de *T. articulata* et de *T. gallica*

L'étude des caractéristiques morphologiques des spores extraites à partir des sols des sites échantillonnés, a permis de distinguer 11 espèces dont 7 identifiées comme *Claroideoglomus* (*Septoglomus*) *constrictum*, *Funneliformis mosseae*, *Funneliformis gesoporum*, *Funneliformis coronatum*, *Rhizophagus fasciculatus*, *Glomus diaphanum* (*Rhizophagus diaphanus*), *Gigaspora gigantea* et 4 espèces de Glomoides caractérisées mais non identifiées (Figure 4.1).

3.1.3.1.1. Description des principales espèces identifiées

a. *Claroideoglomus* (*Septoglomus*) *constrictum*

L'espèce la plus répandue dans tous les sites et durant toutes les saisons est identifiée comme *Claroideoglomus* (*Septoglomus*) *constrictum*, une espèce appartenant à l'ordre des Glomerales, sous-ordre des Glomineae et famille des Claroideoglomeraceae, genre *Claroideoglomus* (*Septoglomus*). *C. constrictum* est une espèce qui se caractérise par une forme sphérique et une couleur allant du roux au brun foncé (Figure 4. 1.h). Le diamètre des spores varie de 100 à 160 μm . Les observations microscopiques ont révélé la présence de deux parois : une paroi externe hyaline, mucilagineuse ayant une épaisseur de 1-1.5 μm et une paroi interne laminée avec 5 - 12 μm d'épaisseur. L'hyphe suspenseur présente un étranglement à sa base, ce qui est considéré comme une caractéristique morphologique propre à l'espèce.

b. *Funneliformis mosseae*

Cette espèce appartient à la même famille que la précédente, elle se caractérise par sa forme globuleuse à ovoïde, de couleur jaune à jaune brunâtre. Le diamètre de la spore varie entre 200 et 350 μm . Elle se caractérise par la présence de deux parois : une externe hyaline à 1 μm d'épaisseur et une interne laminée jaune pâle à dorée, 2-5 μm d'épaisseur. L'hyphe suspenseur adopte une forme en entonnoir, ce qui est considéré comme une caractéristique morphologique propre à l'espèce (Figure 4.1.e).

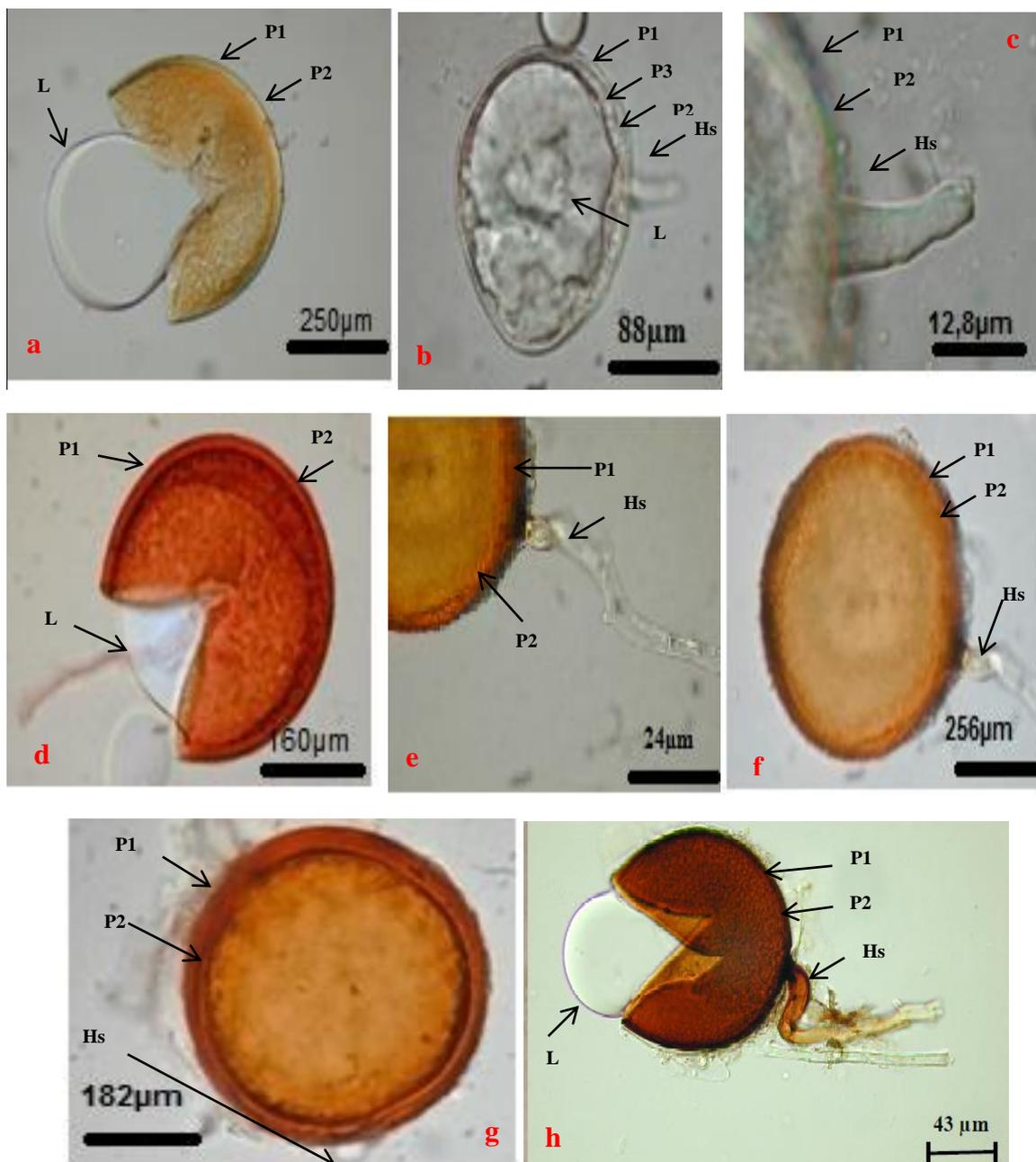


Figure 3.1.1 : Espèces de CMA représentatives de la richesse des rhizosphères de *T. articulata* et *T. gallica*. **a.** *Gigaspora gigantea*, **b.** *Rhizophagus diaphanus*. **c.** hyphe suspenseur en entonnoir d'une spore de *F. mosseae*, **d, e, f, g.** spores de *F. geosporum* dans les sites : DU, e and f site BG, g: site KB. **h:** *S. constrictum* chez *T. gallica* dans le site Z. P1: paroi externe mucilagineuse; P2: paroi interne laminée. Hs: hyphe suspenseur avec le rétrécissement caractéristique de l'espèce. L : masse lipidique.

c. *Funneliformis geosporum*

Espèce appartenant également à la famille des Glomeraceae, elle se caractérise par sa forme globuleuse à sub-globuleuse, rarement ellipsoïde. Le diamètre de la spore varie de 110 à 290 μm . Elle se caractérise par la présence de trois parois ; une externe mucilagineuse rugueuse, évanescente avec une épaisseur de 1.5 μm , une paroi médiane laminée et lisse avec 4.0-7.5 μm d'épaisseur et une paroi interne flexible hyaline, 1-1.5 μm d'épaisseur souvent difficile à distinguer chez les jeunes spores (Figure 4.1. d, e, f, g).

d. *Glomus diaphanum* (*Rhizophagus diaphanus*)

Espèce de la famille des Glomeraceae aux spores de forme globuleuse à sub-globuleuse, de couleur hyaline à blanche ; avec un diamètre allant de 60 à 120 μm possédant trois parois : une paroi externe mucilagineuse à 0.5 μm d'épaisseur (figure 4.1.b), une paroi médiane laminée hyaline de 3.2 à 6.4 μm d'épaisseur et une paroi interne semi flexible, hyaline entre 0.5 et 1.6 μm d'épaisseur, occasionnellement elle peut atteindre 3 μm . Cette espèce fût détectée seulement dans le site KB (Kasr El Boukhari) .

e. *Gigaspora gigantea*

Espèce du sub-ordre des Gigasporineae, famille des Gigasporaceae ; *Gigaspora gigantea* se caractérise par une forme globuleuse à sub-globuleuse avec un diamètre variant de 250 à 300 μm de diamètre (Figure 4.1.a). Ces spores sont formées de deux parois : une paroi externe hyaline de 3.4-5.0 μm d'épaisseur généralement accolée à la paroi interne. Cette dernière est de couleur jaune verdâtre, fortement laminée de 6.0-14.7 μm de diamètre. *Gi. gigantea* a été recensée par plusieurs auteurs dans des sites dunaires de la Baltic [287] ;[288] ;[289] ; [290] et des dunes de l'Atlantique de l'Amérique du nord du Québec jusqu'en Virginie [291]. Dans notre étude, cette espèce est récoltée uniquement dans le site sableux HB (Hassi-Bahbah).

3.1.3.2. Étude synécologique

L'étude synécologique (écologique) établie dans le présent travail s'est focalisée sur l'organisation et la répartition des peuplements de CMA échantillonnés dans la rhizosphère de *T. articulata* et de *T. gallica* et d'une analyse numérique en fonction de deux facteurs : les saisons et les dix sites échantillonnés représentant des caractéristiques écologiques différentes (Tableau 3.1).

3.1.3.2.1. Organisation des peuplements de CMA étudiés (Annexe 1 : article1)

Le calcul de l'indice de biodiversité de Shannon, d'équitabilité et de la richesse spécifique nous ont renseignés sur une présence globale de 11 espèces de CMA recensées en automne, hiver et printemps et de 10 espèces en été.

a. La richesse spécifique

La richesse spécifique des espèces de CMA varie de 2 à 6. En fonction des saisons, elle est la plus faible en hiver tandis que la valeur la plus élevée (6) est enregistrée durant les 4 saisons (Tableau 4.2). En fonction des sites, c'est le site Z qui représente la valeur la plus faible (2) tandis que les sites LG, KB et BG enregistrent la valeur la plus élevée (6). En fonction de la salinité des sols, la richesse spécifique varie entre 3 et 5 pour les sites non-salés. Elle est de 4 à 6 dans les sites modérément salins et entre 2 et 6 dans les sites salins.

Tableau 3.1.2 : Variation de la richesse spécifique (S) des CMA dans les dix sites durant les 4 saisons d'études.

Sites		Richesse spécifique (S)			
		Automne	Hiver	Printemps	Été
Non salés	Mesaad	5	4	5	5
	El-Mesrane.	4	4	3	4
	Ain Ousera	5	5	4	5
Modérément salés	Laghouat	6	6	6	6
	Hassi Bahbah	5	5	5	5
	Kasr-el-Boukhari	6	5	6	6
	Djelfa	4	4	4	4
Salés	Boughzoul	5	5	6	6
	Rochet de Sel	4	4	4	4
	Zaafrane	3	2	3	3

b. Diversité et équitabilité des CMA

- Équitabilité

En fonction des saisons, la valeur d'équitabilité la plus faible est enregistrée en automne (0.69), alors que la valeur la plus élevée est observée en hiver et en été (0.99) (Tableau 4.3). En fonction des sites, la valeur d'équitabilité la plus élevée est de 0.99 dans les sites MES, DU et Z alors qu'elle est faible dans le site HB (0.69). L'équitabilité varie entre les sites indépendamment du taux de salinité du sol (Tableau 4.3). Elle varie entre 0.81 et 0.99 dans les sites non-salins, entre 0.69 et 0.99 dans les sites modérément salins et entre 0.79 et 0.99 dans les sites salins.

Tableau 3.1.3 : Variation de l'équitabilité (E) des CMA dans les dix sites d'étude durant les 4 saisons.

Sites		Equitabilité (E)			
		Automne	Hiver	Printemps	Été
Non salés	Mesaad	0.96	0.99	0.88	0.83
	El-Mesrane.	0.83	0.66	0.83	0.81
	Ain Ousera	0.88	0.88	0.92	0.79
Modérément salés	Laghout	0.93	0.82	0.95	0.98
	Hassi Bahbah	0.69	0.77	0.80	0.85
	Kasr-el-Boukhari	0.76	0.93	0.95	0.90
	Djelfa	0.90	0.94	0.99	0.99
	Boughzoul	0.79	0.73	0.73	0.72
Salés	Rochet de Sel	0.91	0.89	0.93	0.8
	Zaafrane	0.93	0.99	0.93	0.89

- **Indice de biodiversité de Shannon (H')**

L'indice de biodiversité de Shannon varie selon les saisons et les sites étudiés. En fonction des saisons, la valeur la plus faible est de 0.68 enregistrée en hiver, tandis que la valeur la plus élevée est de 1.71 au printemps (Tableau 4.4). En fonction des sites, la valeur la plus faible est enregistrée dans le site Z (0.68), alors que la valeur la plus élevée est observée dans les deux sites LG et KB (1.71). En fonction de la salinité des sols, les sites non-salins enregistrent des indices de biodiversité variant entre 0.92 et 1.54. Des valeurs variant entre 0.98 et 1.71 sont observées pour les sites modérément salins. Tandis que pour les sites salins, l'indice de biodiversité varie entre 0.68 et 1.31.

Tableau 3.1.4 : Variation de l'indice de Shannon (H') des CMA dans les dix sites d'étude durant les 4 saisons. Les chiffres en gras indiquent les sites qui représentent l'indice le plus élevé.

Sites		Indice de biodiversité de Shannon (H')			
		Automne	Hiver	Printemps	Été
Non salé	Mesaad	1.54	1.38	1.42	1.34
	El-Mesrane.	1.15	0.92	0.92	1.12
	Ain Ousera	1.41	1.42	1.27	1.27
Modérément salé	Laghout	1.66	1.48	1.71	0.98
	Hassi Bahbah	1.11	1.24	1.29	1.37
	Kasr-el-Boukhari	1.35	1.50	1.71	1.61
	Djelfa	1.24	1.30	1.37	1.38
Salé	Boughzoul	1.28	1.18	1.31	1.29
	Rochet de Sel	1.26	1.23	1.29	1.10
	Zaafrane	1.01	0.68	1.02	0.98

3.1.3.2.2. Analyse numérique des CMA échantillonnés durant les 4 saisons

Le récapitulatif de l'indice de biodiversité, de la richesse spécifique et de l'équitabilité des espèces de CMA récoltées durant les quatre saisons en fonction des dix sites étudiées est représenté sur le tableau 4.5. La richesse spécifique (S) varie entre **3** et **6**. Elle est faible dans le site salin Z (3) et élevée dans les sites : non-salin MES, modérément salin LG et KB ainsi que dans le site salin BG. D'un autre côté, l'équitabilité (E) varie en fonction des sites : elle varie entre **0.72** dans le site BG et **0.98** dans les sites DU et LG. L'indice de biodiversité de Shannon (H') varie entre **0.99** dans le site salin Z et **1.75** dans le site modérément salin LG. La salinité des sols affecte la richesse spécifique et l'indice de biodiversité. En effet, les valeurs les plus faibles des deux indices sont enregistrées dans le site salin Z (Tableau 4.5).

Tableau 3.1.5 : Récapitulatif des mesures de diversité des espèces de CMA récoltées dans les sites d'étude durant les 4 saisons. S : Richesse spécifique. E : Equitabilité. H' : indice de biodiversité de Shannon. D : indice de biodiversité de Simpson.

Sites	S	E	H'	
Non salé	Mesaad	6	0.84	1.52
	El-Mesrane.	5	0.78	1.25
	Ain Ousera	5	0.85	1.37
Modérément salé	Laghouat	6	0.98	1.75
	Hassi Bahbah	5	0.77	1.25
	Kasr-el-Boukhari	6	0.90	1.61
	Djelfa	4	0.98	1.36
	Boughzoul	6	0.72	1.29
Salé	Rochet de Sel	5	0.88	1.41
	Zaafrane	3	0.90	0.99

1.1.3.2.3. Étude de la similitude entre les sites en espèces de CMA

La similarité entre les sites en nombre d'espèces de CMA a été évaluée par l'indice de similarité de Sorenson. Les résultats sont représentés dans les dendrogrammes de la figure 4.2.

L'étude de la similitude globale entre les sites pour toute l'année échantillonnée divise les sites étudiés en deux classes à 38% et 87% de similitude indépendamment de la salinité des sols. La première classe se divise en deux groupes à 63% et 95% de similitude avec un pourcentage de similarité de 98% entre les sites MRS et Z. Dans la première classe une similitude de 100% entre les sites AO et HB est observée (Figure 4.2.a).

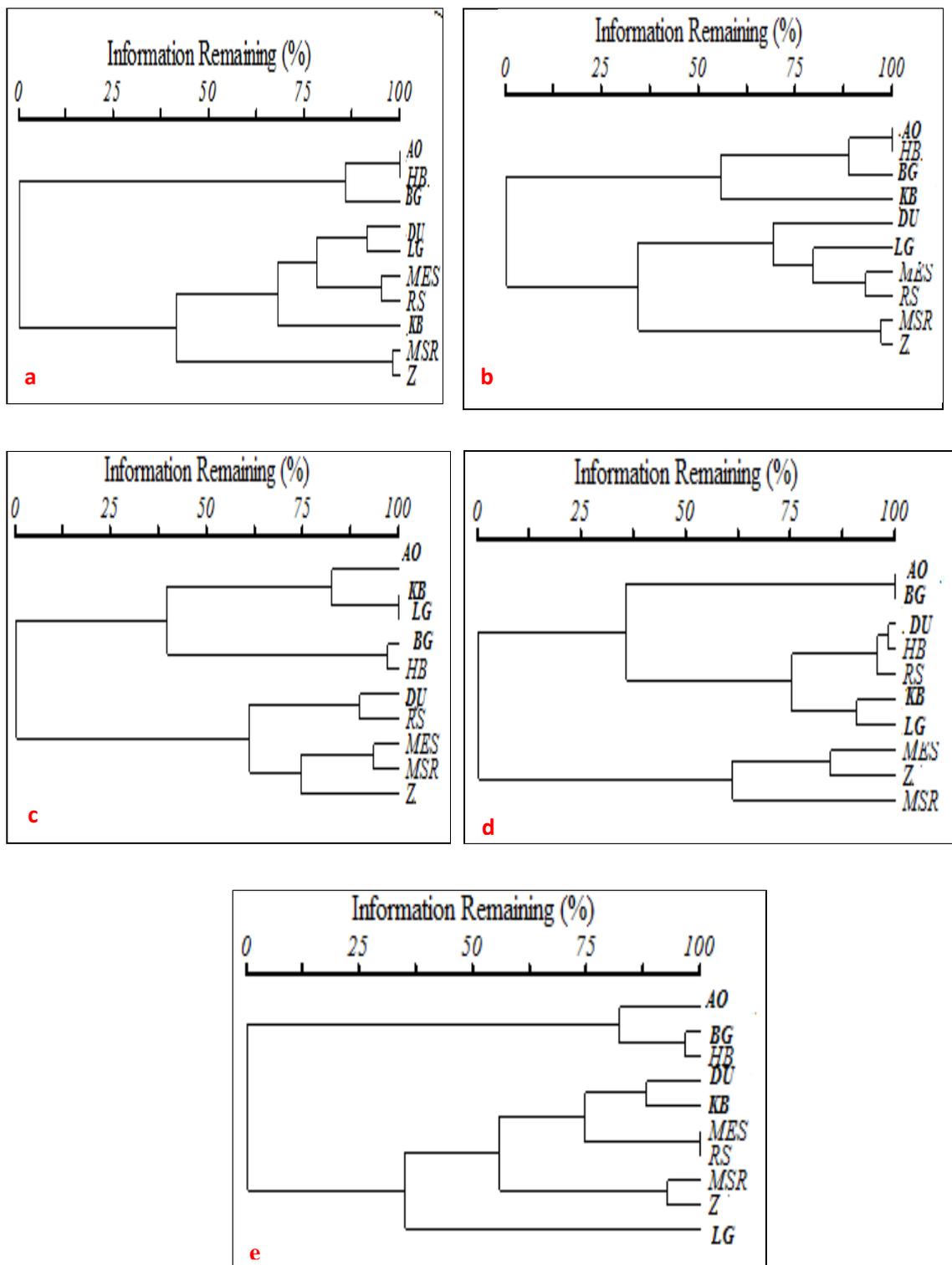


Figure 3.1.2. Dendrogramme de similarité de SORENSON pour tous les sites durant les 4 saisons. (a), en automne (b), au printemps (c), en été (d) et en hiver (e). MES : Messaad. MRS : El-Mesrane. AO : Ain-Oussera. LG : Laghouat. HB : Hassi Bahbah. KB : Kasr-el-Boukhari. DU : Djelfa. BG : Bougezoul. RS : Rocher de sel. Z : Zaafrane.

L'étude de la similitude entre les sites en automne divise les sites en deux classes à 55% et 38% de similitude. Une similitude de 100% entre les sites HB et AO est enregistrée. Les sites de la deuxième classe présentent des similitudes variables de 60% à 97% indépendamment du taux de salinité des sols (Figure 4.2.b).

Durant le printemps, deux classes sont observées à 38% et 63% de similitude avec deux groupes chacune. Une similitude de 100% entre les sites KB et LG est enregistrée dans le premier groupe de la première classe. Dans la deuxième classe, trois groupes sont formés. Le site salin RS est similaire à 95% avec le site modérément salin DU. Tandis que le site salin Z s'isole à 75% de similitude des deux sites non-salin MES et MRS (Figure 4.3. c).

L'étude de la similitude entre les sites en été révèle l'existence de deux classes à 30% et 55% de similitude. Une similitude de 100% est enregistrée entre les sites AO et BG dans la première classe, avec une variation de similitude entre 75% et 98% entre les autres sites. Le site salin Z est regroupé avec les sites non salin MES et MRS dans la deuxième classe.

En hiver, deux classes sont observée à une similitude de 80% et 35%. Dans la première classe le site BG est regroupé avec les sites HB et AO qui sont similaires à 98%. Dans la deuxième classe le pourcentage de similitude varie entre 80% entre les sites KB et DU et 100% entre les sites MES et RS. Les sites Z et MES sont similaire à 90% (Figure 4.3. e).

1.1.3.2.4. Analyse des correspondances détendancées (DCA) :

Afin de comparer l'influence des paramètres pédologiques des sites et des saisons sur la répartition des CMA nous avons eu recours à l'analyse DCA (*Detrended correspondence Analysis*) en utilisant le programme DECORANA du PC-ORD 5.0. Pour ces analyses nous avons pris en considération toutes les espèces de CMA avec le nombre total par espèce. Les espèces et les sites sont représentés en fonction des axes 1 et 2 qui reflètent le climat et les paramètres pédologiques.

La répartition des espèces et des sites en automne par rapport aux axes 1 et 2 regroupent les espèces de CMA et les sites en 4 groupes différents (Figure 4.3). Les

espèces *R. diaphanus*, *Gi. gigantea*, *G. sp2* et *G. sp4* sont enregistrées chacune respectivement dans les sites KB, HB, RS et MRS. Tandis que les autres espèces sont communes aux sites échantillonnés.

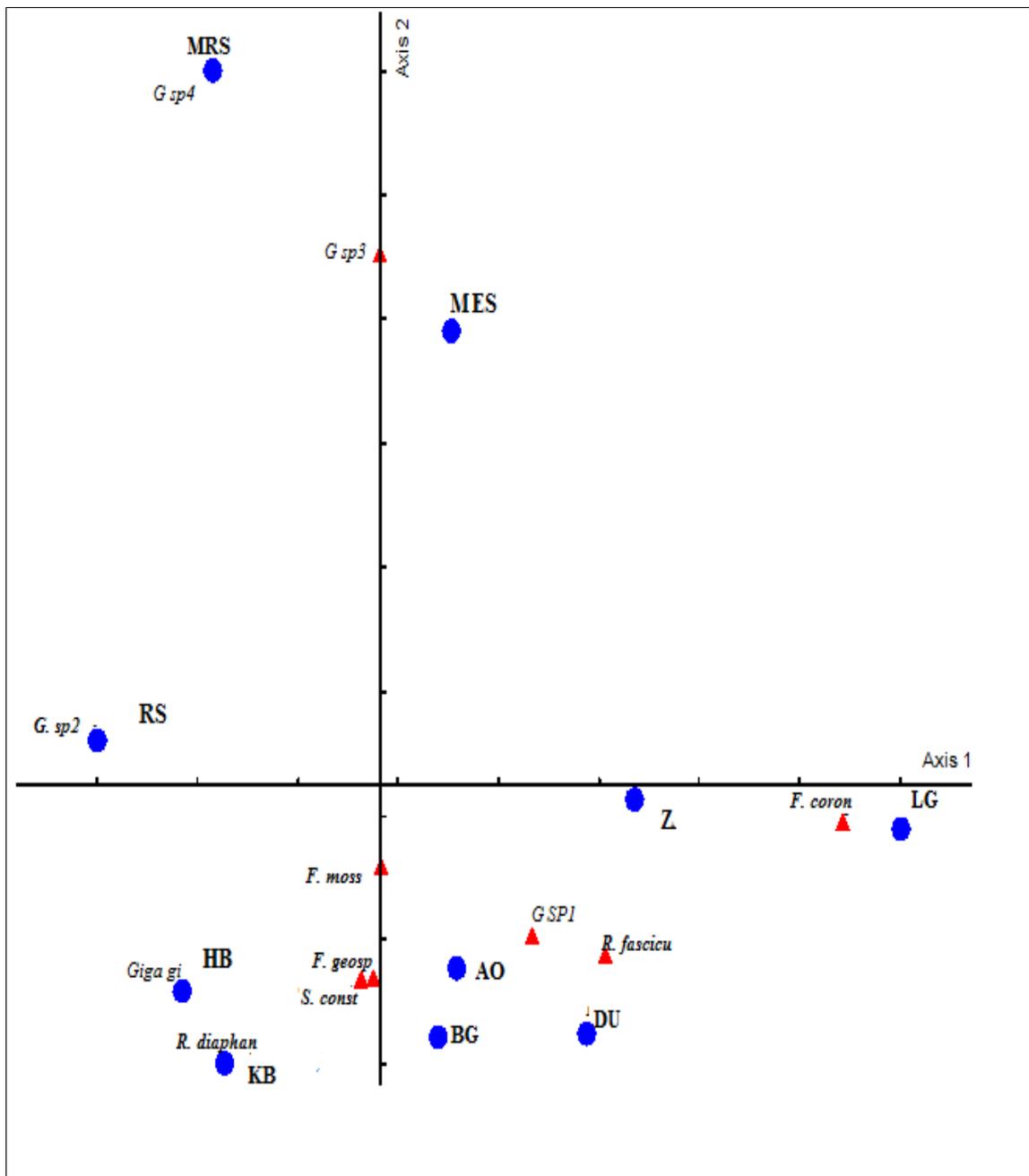


Figure 3.1.3. Ordination de l'ensemble des sites pour l'ensemble des espèces de CMA durant l'automne selon les axes 1 et 2. Analyse DCA avec PC-Ord 5.0. Les données sont représentées à partir des moyennes \pm écart type. Les moyennes sont calculées à partir de 5 répliques pour chaque site. Seules les espèces bien séparées du zéro sont prises en considération. MES : Messaad. MRS : El-Mesrane. AO : Ain-Oussera. LG : Laghouat. HB : Hassi Bahbah. KB : Kasr-el-Boukhari. DU : Djelfa. BG : Bouguezoul. RS : Rocher de sel. Z : Zaafrane. Les axes 1 et 2 reflètent les paramètres abiotiques.

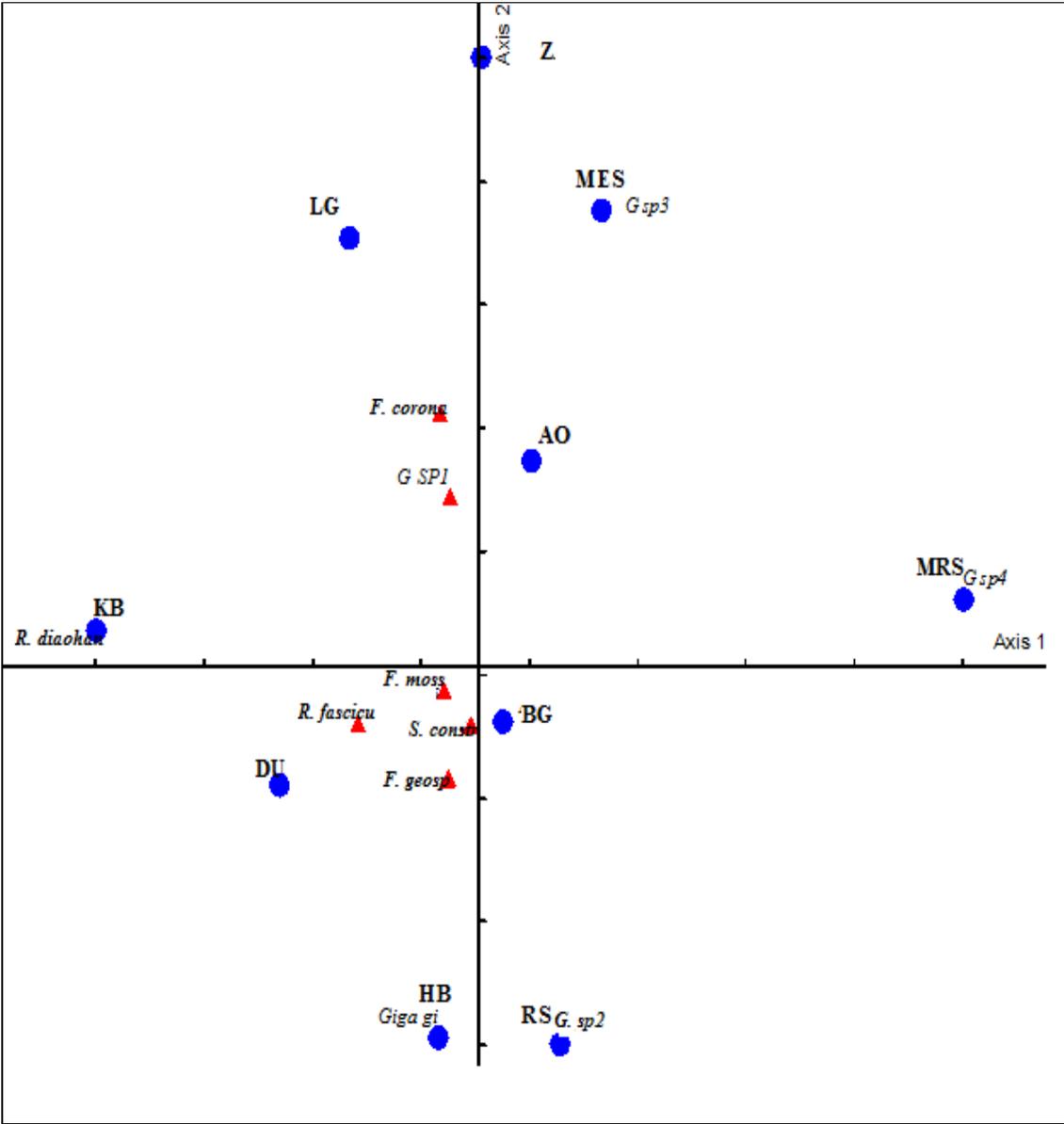


Figure 3.1.4. Ordination de l’ensemble des sites pour l’ensemble des espèces de CMA durant le printemps selon les axes 1 et 2. Analyse DCA avec PC-Ord 5.0. Les données sont représentées à partir des moyennes \pm écart type. Les moyennes sont calculées à partir de 5 répliques pour chaque site. Seules les espèces bien séparées du zéro sont prises en considération. MES : Messaad. MRS : El-Mesrane. AO : Ain-Oussera. LG : Laghouat. HB : Hassi Bahbah. KB : Kasr-el-Boukhari. DU : Djelfa. BG : Bougezoul. RS : Rocher de sel. Z : Zaafrane. Les axes 1 et 2 reflètent les paramètres abiotiques.

Durant le printemps, une association entre les sites HB, RS, MES et KB est enregistré respectivement avec les espèces *Gi. gigantea*, *G. sp2*, *G. sp4* et *R. diaphanus*. Les espèces de CMA restantes sont communes aux sites (Figure 4.4).

La disposition des sites et des espèces de CMA échantillonnées en été sont représentées dans la figure (4.5). Quatre groupes sont observés. Dans le premier groupe, l'espèce *R. diaphanus* est associée au site KB. Les espèces *G. sp2* et *G. sp 4* sont toujours associées aux sites RS et MRS à la différence des autres saisons, l'espèce *Gi. gigantea* n'est pas associée au site HB.

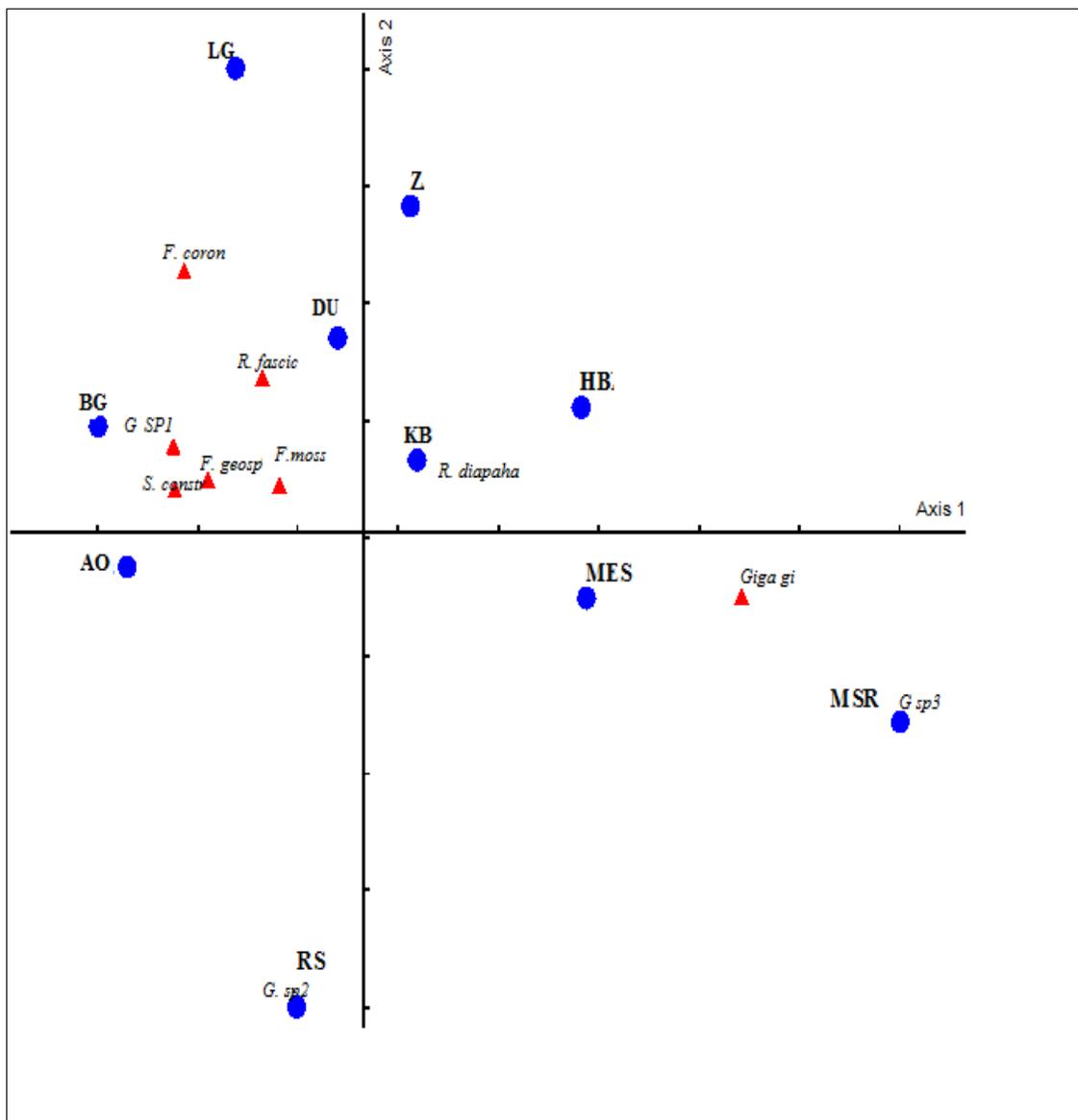


Figure 3.1.5. Ordination de l'ensemble des sites pour l'ensemble des espèces de CMA durant l'été selon les axes 1 et 2. Analyse DCA avec PC-Ord 5.0. Les données sont représentées à partir des moyennes ± écart type. Les moyennes sont calculées à partir de 5 répliquas pour chaque site. Seules les espèces bien séparées du zéro sont prises en considération. MES : Messaad. MRS : El-Mesrane. AO : Ain-Oussera. LG : Laghouat. HB : Hassi Bahbah. KB : Kasr-el-Boukhari. DU : Djelfa. BG : Bougezoul. RS : Rocher de sel. Z : Zaafrane. Les axes 1 et 2 reflètent les paramètres abiotiques.

La répartition des espèces de CMA isolées par rapport aux sites étudiés au cours de l'hiver est représentée dans le graphe de la figure 4.6. Au cours de cette saison une association entre le site LG et l'espèce *F. coronatum* est enregistrée. En plus de l'association de l'espèce *G. sp4* au site MRS, l'espèce *G. sp3* est également associée à ce site en hiver. Identiquement aux autres saisons, les espèces *G. gigantea* et *R. diaphanus* sont associées respectivement aux sites HB et KB. Les espèces de CMA restantes sont communes aux sites échantillonnés.

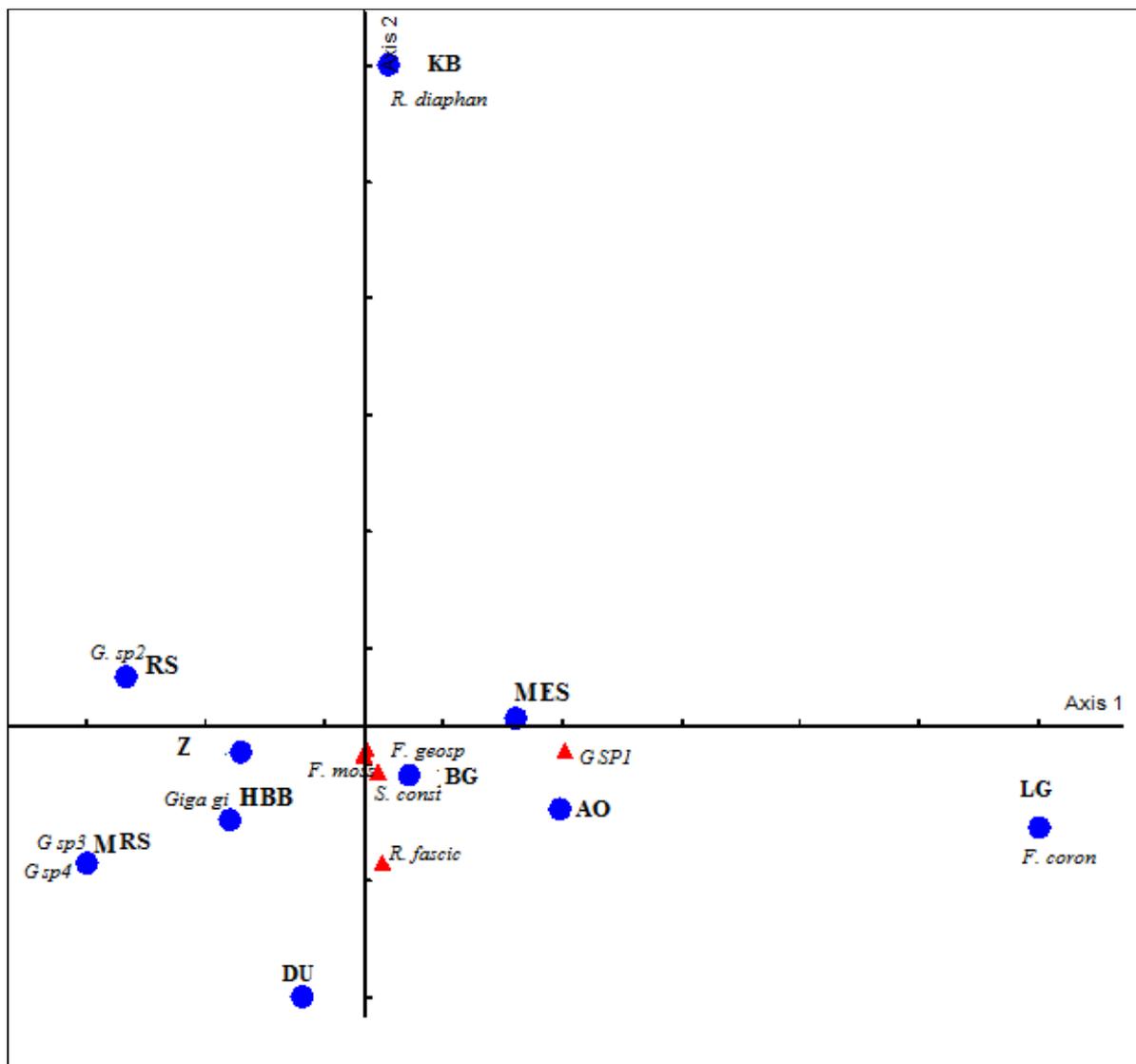


Figure 3.1.6. Ordination de l'ensemble des sites pour l'ensemble des espèces de CMA durant l'hiver selon les axes 1 et 2. Analyse DCA avec PC-Ord 5.0. Les données sont représentées à partir des moyennes \pm écart type. Les moyennes sont calculées à partir de 5 répliques pour chaque site. Seules les espèces bien séparées du zéro sont prises en considération. MES : Messaad. MRS : El-Mesrane. AO : Ain-Oussera. LG : Laghouat. HB : Hassi Bahbah. KB : Kasr-el-Boukhari. DU : Djelfa. BG : Bouguezoul. RS : Rocher de sel. Z : Zaafrane. Les axes 1 et 2 reflètent les paramètres abiotiques.

3.1.3.3. Colonisation racinaire de *T. articulata* et de *T. gallica*

Les taux de colonisation racinaire de *T. articulata* et de *T. gallica* varient selon les saisons dans les sites étudiés. Des vésicules intra-racinaires ont été observées chez les deux espèces avec une différence de taille et de morphologie. Les vésicules étaient grandes, ovoïdes et regroupées dans les racines de *T. articulata*; tandis qu'elles étaient petites et dispersées dans les racines de *T. gallica*. Les arbuscules étaient rares dans les deux espèces étudiées. Les hyphes intraracinaires sont plus nombreuses chez *T. articulata* que chez *T. gallica* (Figure. 4.7).

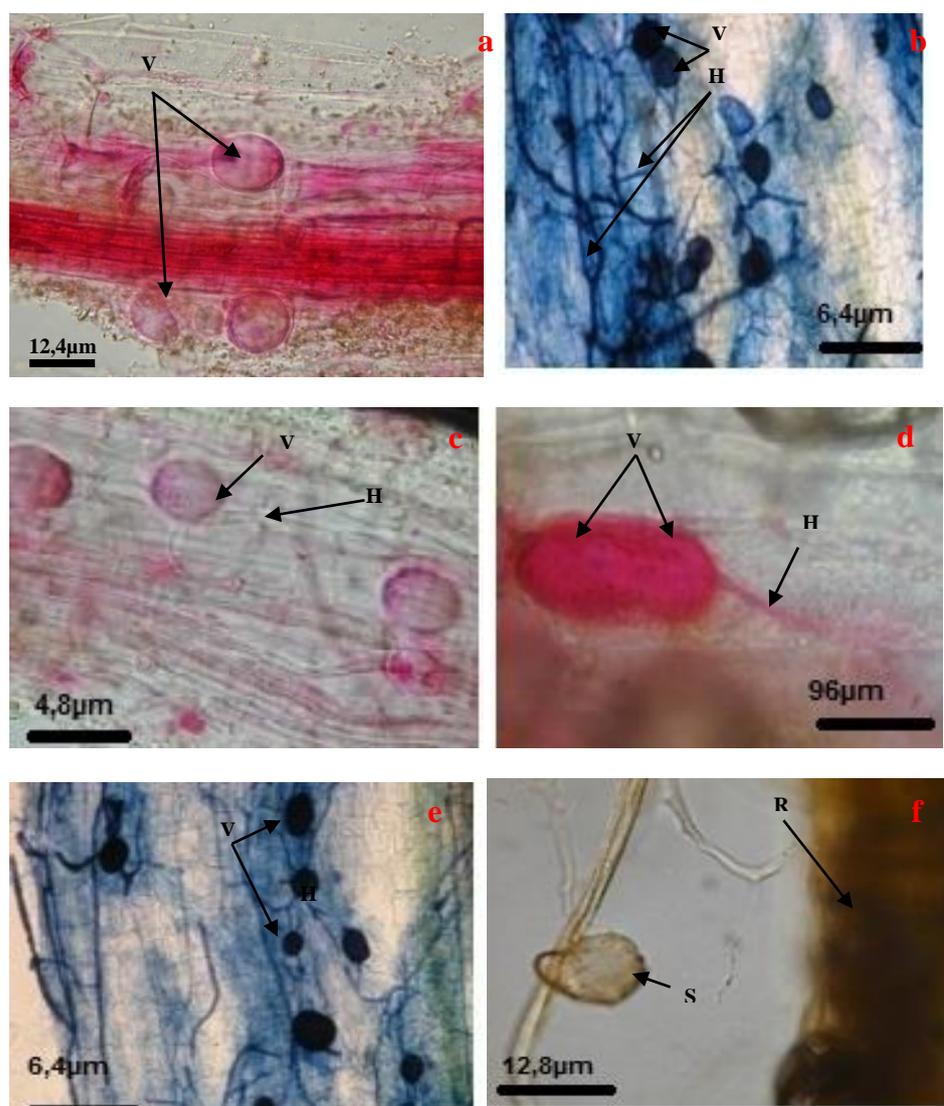


Figure. 3.1.7 : Les structures des CMA observées dans les racines colorées des *T. articulata* et *T. gallica* .**a.** vésicules de CMA avec des hyphes chez *T. articulata* (GX60) colorés avec la Fuchsine acide (siteLG), **b.** Vésicules chez *T. articulata* (GX100) colorées avec le bleu Trypan. **c.** vésicules et hyphes chez les racines des *T. gallica* (site RS). **d.** Vésicules chez *T.articulata* (siteRS); V: vésicules; H: hyphes, s: Spore, R: racines. **e.** vésicules et hyphale chez *T. articulata* dans le site 4; **f** : Hyphes chez *T. articulata* avec des hyphes et une spore: *F. geosporum* dans le site BG.

Indépendamment des sites et des saisons, les taux de colonisation racinaires sont plus élevés dans les racines de *T. articulata* que dans les racines de *T. gallica* (Figure. 4.8). Alors que le taux de colonisation racinaire chez *T. articulata* varie entre 0.88 en été et 75.26% en automne, celui des racines de *T. gallica* varie entre 1.9% en été à 12.96% en automne. En outre, pour *T. gallica* la moyenne la plus faible du taux de colonisation racinaire est enregistrée en hiver et pour *T. articulata*, elle est enregistrée en été. La variation saisonnière influence le taux de colonisation racinaire selon le test statistique ANOVA à $p < 0.001$.

La colonisation racinaire de *T. articulata* varie selon les différents sites étudiés. La moyenne de colonisation varie entre 12.87% dans le site AO à 63.69% dans le site LG (Figure. 4.8. a). Pour les racines de *T. gallica*, le taux de colonisation a été le plus faible dans le site Z avec une moyenne de 3.65% et il a été plus élevé dans les sites MES avec 7.72% (Figure. 4.8. b).

Un effet significatif des paramètres pédologiques et des espèces végétales étudiées est enregistré sur le taux de colonisation racinaire à $p < 0.001$ (Tableau 4.7).

L'évaluation de l'effet combiné des espèces végétales (Tamarix) étudiées, du sol et des saisons sur le taux de colonisation racinaire, a montré que la combinaison ‘paramètres pédologiques X saisons’ en plus de la combinaison ‘paramètres pédologiques X espèces végétales’ ont un effet significatif sur le taux de colonisation racinaire à $p < 0.001$ (Tableau 4.7).

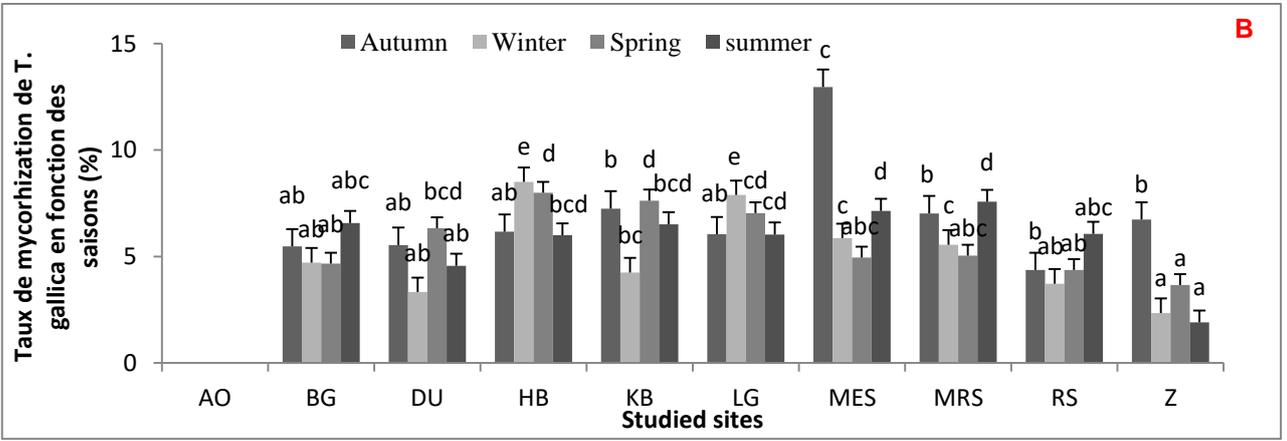
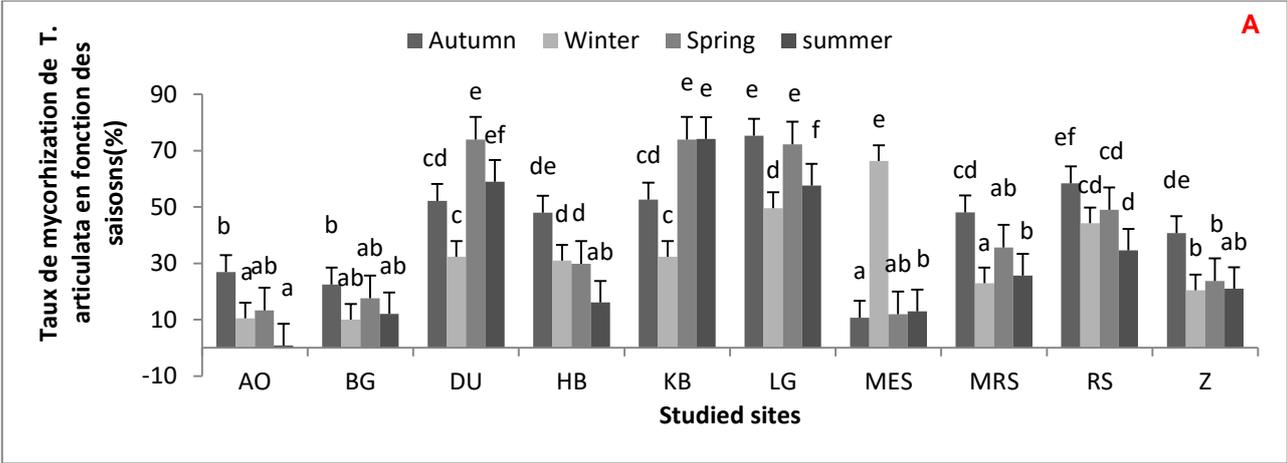


Figure 3.1.8: Variation du taux de mycorrhization entre les sites et les saisons étudiés chez *T. articulata* et *T. gallica*. Les résultats sont représentés par rapport à une moyenne d’observation. La moyenne est calculée à partir de 5 replicas par site et par saison. **a.** Taux de mycorrhization de *T. articulata* durant les quatre saisons **b.** Taux de mycorrhization de *T. gallica* durant les quatre saisons. Les lettres étiquetées indiquent la différence significative entre les sites selon le test LSD ($p < 0.05$). MES : Messaad. MRS : El-Mesrane. AO : Ain-Oussera. LG : Laghouat. HB : Hassi Bahbah. KB : Kasr-el-Boukhari. DU : Djelfa. BG : Bougezoul. RS : Rocher de sel. Z : Zaafrane.

Tableau 3.1.6. Effet des variables indépendantes : espèce végétale, sols, saisons, et leur interaction sur la colonisation racinaire des *Tamarix* par les CMA

	Degré de liberté	Somme des carrés des écarts	Moyenne des carrés	F	Pr (>F)
Espèces végétales	1	3138	3138	29.144	<0.001***
Sol	9	74629	8292	77.016	<0.001***
Saison	3	9890	3297	30.619	<0.001***
Espèces X Sol	9	2606	290	2.689	0.00615**
Espèces X Saisons	3	599	200	1.855	0.13948
Sols X Saisons	27	9767	362	3.360	<0.001***
Espèces X Sols X Saisons	27	2305	85	0.793	0.75630
Résidus	160	17227	108		

Niveau de différence significative: * : 0.05; ** : 0.01; *** : 0.001; NS : non significatif.

Une corrélation négative entre la salinité du sol et la colonisation des racines a été enregistrée pour *T. gallica* (-0.598***). En revanche, aucune corrélation significative n'a été notée pour *T. articulata* (Tableau 4.8).

Tableau 3.1.7 : Corrélation entre la salinité du sol et les taux de mycorhization des deux espèces de Tamarix

Paramètres	r Pearson	P	R ²
Mycorhization de <i>T. articulata</i> X Salinité du sol	0.058 ^{ns}	0.7222	0.003
Mycorhization <i>T. gallica</i> X Salinité du sol	-0.598****	<0.0001	0.358
Nombre de spores X Salinité du sol	0.209 ^{ns}	0.2093	0.041

Niveau de différence significative: *** : 0.001; **** : 0.0001 ; ns : non significatif.

3.1.4. Diversité des bactéries endophytes : *Pseudomonas* et *Bacillus* chez *T. articulata* et *T. gallica*

L'étude des bactéries endophytes extraites des racines de *T. articulata* et de *T. gallica* a révélé la dominance de sept espèces cultivables de *Bacillus*: *Bacillus circulans* et *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, *B. maroccanus* et *B. insolitus*. Les deux espèces *B. circulans* et *B. thuringiensis* sont les plus abondantes. De plus, quatre espèces cultivables de

Pseudomonas ont été isolées où *P. fluorescens*Vb et *P. fluorescens* IV.b sont les plus abondantes. L'espèce *P. luteola* est détectée seulement chez les *T. gallica* (Tableau 4.9). En fonction de la salinité des sols, les sites salins BG, RS et Z ne présentent aucune espèce du genre *Bacillus* à l'exception de *B. thuringiensis* enregistrée chez *T. gallica* dans le site Z. Par contre les espèces du genre *Pseudomonas* sont présentes chez les deux espèces de *Tamarix* dans les sites salins. L'espèce *P. luteola* est enregistrée chez *T. gallica* dans les sites modérément salins DU, KB et LG et dans le site salé BG (Tableau 4.9).

Tableau 3.1.8 : Les bactéries endophytes des genres *Bacillus* et *Pseudomonas* identifiées dans les différents sites étudiés chez les *T. articulata* et *T. gallica*.

	Sites/Espèces	Site non-salés				Sites modérément salés			Sites salés		
		Ain-Oussera	Mesaad	El-Mesrane	Djelfa	Hassi Bahbah	Kasr-el-Boukhari	Laghouat	Boughzoul	Rocher de Sel	Zaafrane
<i>Bacillus</i>	<i>B. circulans</i>	Ta	Tg	Tg	Tg	-	Tg	Tg/Ta	-	-	-
	<i>B. insolitus</i>	-	Ta	-	Ta	-	Ta	Ta/tg	-	-	-
	<i>B. subtilis</i>	-	-	Tg	Tg	Tg	Tg	Tg	-	-	-
	<i>B. maroccanus</i>	-	-	-	Tg	-	-	-	-	-	-
	<i>B. thurengensis</i>	Ta	-	Tg	Tg/Ta	-	Ta	-	-	-	Tg
	<i>B. sp1</i>	-	Ta	-	Tg	Tg	Tg/Ta	Tg	-	-	-
	<i>B. sp2</i>	-	-	-	Ta/Tg	-	-	Ta	-	-	-
<i>Pseudomonas</i>	<i>P. fluorescens. V b</i>	Ta	Tg	Ta	-	Tg	-	-	-	Ta	Ta/Tg
	<i>P. fluorescenc .IVb</i>	Ta	Ta/Tg	Ta	Ta/Tg	-	-	-	Tg/Ta	-	-
	<i>P.sp1</i>	-	Tg/Ta	Ta/Tg	-	Ta	-	-	-	-	Ta/Tg
	<i>P. luteola</i>	-	-	-	Tg	-	Tg	Tg	Tg	-	-

Ta: *T. articulata* et; Tg: *T. gallica*; - : non détecté

La Figure 4.9 montre la répartition des espèces bactériennes endophytes dans les racines de *T. articulata* et de *T. gallica* dans les sites étudiés. Quatre associations sont présentées : *T. articulata* avec *Bacillus*, *T. articulata* avec *Pseudomonas*, *T. gallica* avec *Bacillus* et *T. gallica* avec *Pseudomonas*. C’est uniquement dans les sites DU et MES que les quatre associations se manifestent. En fonction de la salinité des sols, le site RS se singularise par la présence du groupe *T. articulata* + *Pseudomonas*. De plus, le site Z est le seule site salin présentant l’association *T. gallica* + *Pseudomonas*. De plus le site non-salin AO enregistre les deux association pour *T. articulata* vu l’absence du *T. gallica* du site.

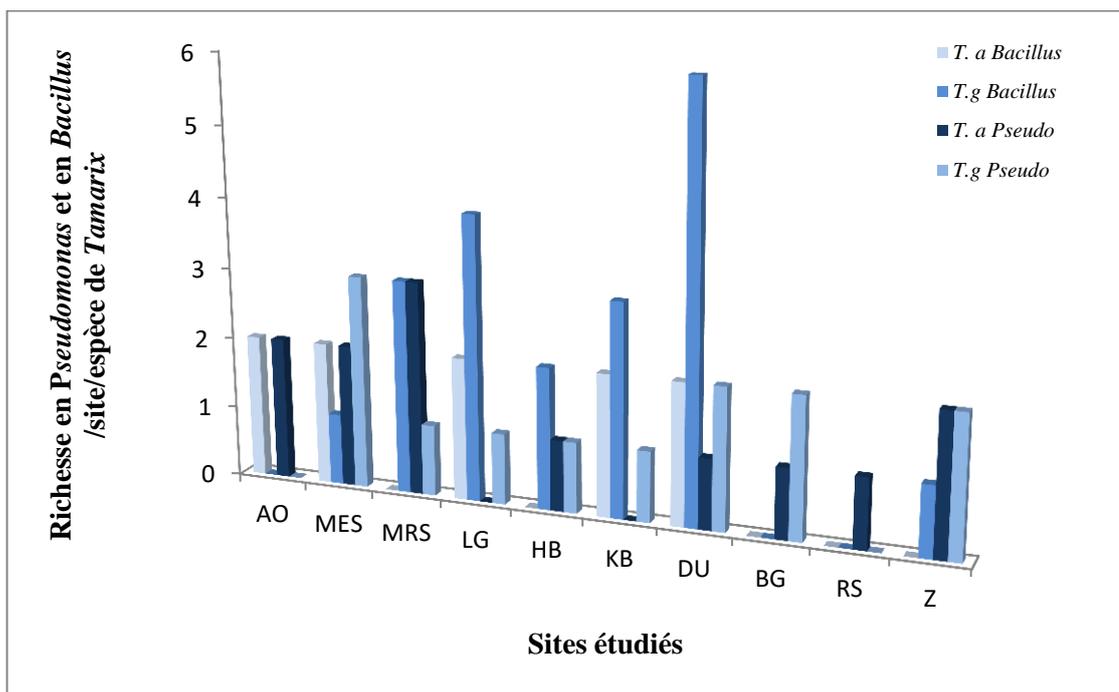


Figure 3.1.9 : Richesse bactérienne en *Pseudomonas* et *Bacillus* chez les deux espèces de *Tamarix*. *T.a Bacillus* : espèces de *Bacillus* isolées chez *T. articulata*. *T.g Bacillus* : espèces de *Bacillus* isolées chez *T. gallica*. *T.a Pseudo* : espèces de *Pseudomonas* isolées chez *T. articulata*. *T.g Pseudo* : espèces de *Pseudomonas* isolées chez *T. gallica*. Les résultats sont représentés en fonction des moyennes \pm écart type. Les moyennes sont calculées à partir de 4 répliquas par site (n=4). MES : Messaad. MRS : El-Mesrane. AO : Ain-Oussera. LG : Laghouat. HB : Hassi Bahbah. KB : Kasr-el-Boukhari. DU : Djelfa. BG : Bouguezoul. RS : Rocher de sel. Z : Zaafrane.

La corrélation entre le taux de colonisation racinaire par les CMA des deux espèces de *Tamarix* étudiées et le nombre d’espèces de bactérie par genre a été évaluée. Une corrélation négative a été enregistrée entre le taux de mycorhization de *T. articulata* et les

espèces du genre *Pseudomonas* (-0.619****). Tandis qu'une corrélation positive est enregistrée entre le taux de mycorhization de *T. gallica* et les espèces du genre *Bacillus* (0.624****) (Tableau 4.10).

Tableau. 3.1.9. Corrélation entre les taux de mycorhization des deux espèces de *Tamarix* et les espèces de *Bacillus* et de *Pseudomonas* isolées.

Paramètres	r Pearson	P	R ²
Micorhization de <i>T. articulata</i> X <i>Bacillus</i>	-0.009608 ^{ns}	0.9531	0.00009232
Micorhization de <i>T. articulata</i> X <i>Pseudomonas</i>	-0.6193****	<0.0001	0.3835
Mycorhization de <i>T. gallica</i> X <i>Bacillus</i>	0.6248****	<0.0001	0.3903
Mycorization de <i>T. gallica</i> X <i>Bacillus</i>	0.2608 ^{ns}	0.1041	0.06799

ns: non significatif. ***, **** : statistiquement significatif ; Pearson r: coefficient de corrélation. R²: Coefficient de détermination.

3.1.5. Discussion :

L'inventaire des CMA de la rhizosphère de *T. articulata* et de *T. gallica* est effectué sur dix sites différents. Chaque site a ses caractéristiques micro- climatiques et pédo-agronomiques spécifiques. Avec la variation des facteurs abiotiques (sols et climat), nous cherchons à déterminer les facteurs écologiques qui régissent la distribution des espèces de CMA .

L'étude de la diversité biologique des CMA autochtones en association avec les racines des plantes de populations spontanées et plantées de *Tamarix articulata* et *Tamarix gallica* des zones arides et semi-arides de la steppe algérienne a montré l'existence de 7 espèces fongiques : *Claroideoglopus constrictum*, *Funneliformis geosporum*, *Funneliformis mosseae*, *Funneliformis coronatum*, *Rhisophagus diaphanus*, *Rhisophagus fasciculatus*, *Gigaspora gigantea*, et 4 glomoiïdes du genres *Glomus* non identifiés. Le nombre total de spores isolées des dix sites par saison a été de 3683, 3479, 2706, 2711 spores/100g de sol respectivement en automne, en hiver, au printemps et en été.

La majorité des espèces de CMA autochtones identifiées appartiennent à la famille des Glomeraceae. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés dans une étude réalisée

par ESTRADA *al.*, [163] et CHAUDHRY *et al.*, [21] sur des sols salins, respectivement dans les rhizosphères de *Astiriscus maritimis* et de *Tamrix articulata*.

Le genre *Funneliformis* est le plus représenté parmi les CMA échantillonnés dans notre étude. Ce qui concorde avec les travaux de CHAUDHRY *et al.*, [21] sur l'isolement des CMA dans la rhizosphère de *T. articulata* en Irak. Cette richesse confirme la distribution générale du genre *Funneliformis* et son adaptation à une large gamme de conditions écologiques et agro-pédologiques [21], telles que les températures élevées [292] et les forts taux de salinité [193]. De plus, les espèces du genre *Funneliformis* sont capables d'initier un processus de colonisation racinaire à partir de spores, vésicules et hyphes intra-racinaires, contrairement aux autres genres tel que *Gigaspora* qui nécessite la présence obligatoire de spores pour coloniser les plantes hôtes [293].

En fonction des saisons, *Claroideoglossum (Septoglossum) constrictum* a représenté le nombre d'individus le plus élevé. Cette espèce possède un champ de répartition élargi englobant les sols cultivés et les sols naturels [65] ; [290]. ESTRADA *et al.*, [163] ont enregistré dans des habitats naturels l'abondance de *Claroideoglossum (Septoglossum) constrictum*.

La richesse spécifique des espèces de CMA est similaire en automne, en hiver et au printemps alors qu'elle diminue en été, de même que l'indice de biodiversité de Shannon. Ce qui indique que la richesse et la biodiversité des espèces de CMA des deux espèces de *Tamarix* étudiées ne sont pas influencées par les variations saisonnières. Par ailleurs, les faibles valeurs d'équitabilité indiquent l'existence d'espèces rares qui sont distribuées de façon disproportionnelle en fonction des saisons. Ces résultats concordent avec ceux rapportés par BOUAZZA-MAAROUF *et al.*, [293] et par NEHEILA *et al.*, [294] dans les dunes algériennes. Par ailleurs, l'abondance de cinq espèces de CMA en automne a été enregistrée. Ce qui peut être attribué au processus de formation et de germination des spores [293]. Il a précédemment été montré que le nombre de spores décline durant la saison de croissance des plantes hôtes et augmente considérablement à la fin de cette même saison [295]. Dans notre étude, l'automne correspond à la saison de floraison et de fructification qui succèdent à la saison de croissance de *T. articulata* et de *T. gallica*. Ceci suggère une influence de la variation saisonnière sur l'abondance des espèces de CMA dans la rhizosphère des deux espèces de *Tamarix* étudiées.

Par ailleurs, le nombre totale de spores par site a été de 387, 2248, 1419, 1341, 1959, 1247, 392, 165, 465, 168 spores / 100g de sol respectivement dans les sites AO, BG, DU, HB, KB, LG, MES, MRS, RS et Z. La richesse spécifique varie en fonction des sites, elle diminue en fonction de la salinité des sols. Elle est de 6 dans les sites BG et RS et elle est de 3 dans le site Z. Ces résultats corroborent avec ceux d'ESTRADA et *al.*, [163] et EVELIN et *al.*, [160] qui ont montré que le nombre de spores des CMA et la richesse spécifique diminuent avec l'augmentation de la salinité des sols.

Néanmoins, il est à signaler que le site LG représente une valeur de biodiversité de 1.75 avec une valeur de H'_{\max} de 1.79. Sachant que H'_{\max} est la valeur maximale que peut atteindre l'indice de biodiversité de Shannon dans un site donné, ces résultats suggèrent que les conditions écologiques du site LG semblent favorables à l'installation d'une grande diversité d'espèces de CMA dans la rhizosphère de *T. articulata* et de *T. gallica* et leur offrent les mêmes opportunités de subsistance. Ce qui correspond à des résultats antérieurs déjà décrits sur des sols dunaires algériens [294]. En effet, il a précédemment été prouvé que plus l'indice de biodiversité de Shannon est élevé plus les caractéristiques relatives à la plante-hôte et aux conditions pédologiques sont favorables à l'installation et à la diversité biologique des CMA [293]. En outre, MOREIRA et *al.*, [296] expliquent que les propriétés physico-chimiques des sols influencent la biodiversité des CMA, en particulier la matière organique, le pH, le calcium, et le magnésium. En revanche, la richesse spécifique et l'indice de biodiversité de Shannon étaient les plus faibles dans le site Z caractérisé par un taux de salinité élevé, ce qui suggère des conditions écologiques défavorables pour le développement des espèces de CMA dans ce site. Cependant, les espèces de CMA isolées dans le site Z peuvent être considérées comme adaptées aux conditions du stress salin. ESTRADA et *al.*, [204], ont obtenu des résultats similaires sur des sols méditerranéens arides salins.

Néanmoins, NHEILA et *al.*, [294] dans leur travaux sur des sols salins et sableux suggèrent que les sols sableux sont moins favorables à la biodiversité en CMA du fait de leur pauvreté en matière organique. C'est le cas dans notre étude où l'indice de biodiversité le plus élevé a été enregistré dans le site LG à texture argileuse, tandis que la valeur de l'indice de biodiversité la plus faible a été enregistré dans le site Z à texture sableuse.

Des valeurs élevées de l'indice d'équitabilité ont été obtenues pour les sites DU et LG (proche de 1) témoignant d'une répartition équitable des espèces. La valeur la plus basse de l'équitabilité est enregistrée dans le site BG, ce qui reflète une répartition disproportionnée des espèces de CMA dans ce site. En plus, la faible valeur de l'indice d'équitabilité dans le site BG reflète la présence d'une espèce rare qui est *F. coronatum*. Des observations similaires ont été enregistrées par, NHEILA et *al.*, [294] qui ont montré que les paramètres édaphiques influencent la distribution des CMA.

Ces résultats nous amènent à suggérer que la sporulation des CMA chez *T. articulata* et *T. gallica* est définie en fonction des périodes de maturation de leurs plantes hôtes qui sont fortement influencées par les facteurs abiotiques. Cette observation indique que la sporulation des CMA est dépendante des sites.

L'étude de la similitude entre les sites échantillonnés en nombres d'espèces de CMA, nous a permis de vérifier l'existence d'espèces communes entre les sites. Des similitudes à 100% sont enregistrées par paires entre les sites étudiés. Cependant, cette similitude est variable en fonction des saisons. Ces observations confirment la distribution disproportionnée des espèces de CMA en fonction des facteurs abiotiques (sol et climats) qui caractérisent les sites étudiées. En outre, la similitude entre les sites est indépendante de la salinité des sols. Il a été précédemment démontré qu'une similitude élevée entre les sites reflète un effet positif des facteurs écologiques sur les populations étudiées [262]. Ce qui nous amène à suggérer que la population des CMA n'est pas stable, elle est en perpétuelle mouvement en fonction des conditions écologiques des milieux étudiés. Ce qui concorde avec les observations de DAJOZ [283] concernant l'influence des facteurs écologiques sur la stabilité des populations.

L'analyse DCA indique l'existence d'une association entre quelques espèces de CMA et certains sites échantillonnés. Ceci reflète les effets des facteurs abiotiques sur la distribution des CMA. Ce qui concorde avec les travaux de Bouazza- Maarouf et *al.*, [293]. L'espèce *Rhizophagus diaphanus*, est associée au site KB, qui se caractérise par un sol limono-argileux et un climat semi-aride à hiver humide. L'espèce *Funneliformis coronatum* n'a été recensée que dans le site BG qui présente un sol limono-sableux avec un gradient de salinité élevé ($CE = 4.15 \text{ ds.m}^{-1}$) et un climat aride supérieur à hiver doux. Tandis que l'espèce *Gigaspora gigantea* est associée au site HB où le sol est à texture

sableuse avec un climat semi-aride inférieur à hiver froid. Une espèce de *Glomus* non identifiée est enregistrée dans le site RS, qui de son côté présente une texture limono-sableuse où le gradient de salinité est de (8.5 ds.m^{-1}) avec un climat semi-aride moyen à hiver froid. Ces résultats montrent que ce sont principalement les facteurs pédoclimatiques qui influencent la distribution spatiale des espèces de CMA. Ces résultats corroborent ceux de MOHAMMED et *al.*, [297] observés dans les sols arides et semi-arides de Jordanie et ceux de CARVALHO et *al.*, [181]. Ces auteurs expliquent que la répartition et la distribution spatiale des spores de CMA varie avec le type des communautés végétales environnantes et les propriétés physico-chimiques des sols.

Globalement, l'étude des populations de CMA dans la rhizosphère de *T. articulata* et celle de *T. gallica* suggère que les facteurs qui régissent la structuration des populations de CMA dans les sols des régions arides et semi-arides sont principalement les saisons et les caractéristiques physico-chimiques des sites.

Le deuxième paramètre important dans l'étude de la symbiose arbusculaire est la colonisation racinaire. Les racines de *T. articulata* et de *T. gallica* échantillonnées des écosystèmes arides et semi-arides étudiés ont montré une colonisation naturelle par les CMA. Ce statut mycotrophique a été déjà décrit chez *T. articulata* en Irak [23] et chez *T. ramosissima* aux USA [22]. Curieusement, les racines de *T. articulata* sont colonisées plus abondamment que celles de *T. gallica*, et ce, indépendamment des sites et de la variabilité saisonnière. Cette différence de comportement de ces deux espèces pourrait être attribuée à la différence de structure entre les racines des deux types de plantes. En effet, *T. articulata* manifeste une reprise végétative plus rapide que *T. gallica* engendrant une différenciation plus avancée des racines secondaires [11] ; [49]. Ces dernières sont plus faciles à coloniser que les racines épaisses lignifiées. Par ailleurs, la sécrétion des polyphénols en quantités importantes chez *T. gallica* agit négativement sur la colonisation racinaire par les CMA [28] ; [56]. MEINHARDT et GERHING [28] expliquent que les changements occasionnés par les sécrétions chimiques des feuilles des Tamarix contribuent négativement à l'installation de la symbiose mycorhizienne. Cependant, le mécanisme impliqué reste mal connu.

Indépendamment de l'architecture racinaire, la saisonnalité joue un rôle dans l'installation de la symbiose et dans sa fonctionnalité [298] ; [299]. Le taux de

mycorhization est plus élevé au printemps pour les deux espèces. Cette saison correspond à la période de croissance pour les deux espèces végétales induisant l'apparition de jeunes racines faciles à coloniser, ce qui concorde avec les travaux D'ALLEN[298].

Nos résultats soulignent que les taux de colonisation racinaire de *T. articulata* et de *T. gallica* sont également très variables en fonction des sites étudiés, même au cours de la même saison. Cela peut être attribué à l'hétérogénéité de la composition chimique du sol, ce qui influe directement sur la communauté végétale et indirectement sur l'activité des micro-organismes du sol, ce qui correspond aux explications de VAN DER HEIJDEN et *al.*, [300].

Dans leurs travaux sur *Tamarix articulata*, CHAUDHRY et *al.*, [21] ont enregistré des valeurs de mycorhization variant entre 46 et 75%, ce qui est en accord avec nos résultats. Par ailleurs, TANIGUCHI et *al.*, [57] ont observé avec *Tamarix ramosissima* des taux de mycorhization variant entre 2.4 et 12.3%, ce qui est similaire à nos résultats chez *T. gallica*. Ceci suggère une similitude entre *T. ramosissima* et *T. gallica* en matière de symbiose mycorhizienne. Les deux études indiquent que la colonisation racinaire par les CMA est tributaire des conditions environnementales, des conditions pédologiques et de la variabilité des sites échantillonnés en plus de l'architecture racinaire, du potentiel mycorhizogène du sol et de la variation saisonnière.

La variabilité de la colonisation racinaire par les CMA en fonction des sites a été précédemment démontrée dans différentes études dans des écosystèmes variés. Cette variation est observée dans les prairies Alpines [301], les dune sableuses des zones arides [302]; [303], en plus de l'écosystème agro-forestier amazonien [304].

Nos résultats ont démontré que la combinaison entre les paramètres pédologiques et la variation saisonnière influence significativement le taux de colonisation racinaire par les CMA. En parallèle, une corrélation négative a été enregistrée entre la salinité des sols et le taux de colonisation racinaire chez *T. gallica*. Néanmoins, une corrélation non-significative a été observée entre la salinité du sol et la colonisation racinaire chez *T. articulata*. Ceci peut être attribué à la différence entre la dépendance mycorrhizienne chez les deux espèces de *Tamarix* étudiées.

L'étude de la symbiose arbusculaire chez les deux espèces de Tamarix a été complétée par une étude des bactéries endophytes des genres *Bacillus* et *Pseudomonas*. En effet, il a souvent été démontré que les bactéries endophytes ont des effets synergiques sur la symbiose arbusculaire [305]. Les résultats obtenus par la présente étude montrent une richesse en bactéries du genre *Bacillus* avec sept espèces et du genre *Pseudomonas* représenté par quatre espèces. Ce qui concorde avec les études d'ARTURSSON *et al.*, [239] qui expliquent que les CMA sont préférentiellement associées à des bactéries Gram-positif qu'à des bactéries Gram-négatif. De telles différences dans les populations bactériennes peuvent être dues à la difficulté technique de mise en culture des espèces de bactéries endophytes.

Plusieurs études ont porté sur l'interaction entre les bactéries endophytes et les CMA [228] ; [306] ; [307] ; [308]. Ces études suggèrent un effet positif des bactéries endophytes sur l'installation et le développement de la symbiose arbusculaire. En effet, la germination des spores des CMA et la croissance fongique subséquente peuvent être améliorées par la présence de bactéries endophytes ou rhizosphériques [309] ; [229] ; [230].

TORO *et al.*, [306] ont constaté que l'inoculation de plantes avec *Bacillus subtilis* a stimulé positivement la colonisation par les CMA autochtones. Il a également été montré que les *Pseudomonas* favorisent la croissance des plantes et facilitent la colonisation par les CMA [230] ; [232] ; [227]. FREY-KLETT *et al.*, [309] ont expliqué que les champignons mycorhiziens sont entourés par des communautés microbiennes complexes, qui modulent la symbiose mycorhizienne mais les spécificités entre les bactéries et les CMA ou les espèces végétales ne sont pas encore bien connues. Par ailleurs, les espèces des bactéries endophytes ne sont pas indifférentes à la salinité des sols. En effet, sur les sols salins, trois espèces sont observées : deux *Pseudomonas* et une *Bacillus*. Ce qui nous amène à suggérer que les *Pseudomonas* sont plus tolérantes à la salinité des sols que les *Bacillus*, principalement les *Pseudomonas fluorescens* qui s'est manifesté dans les deux sites les plus salins RS et Z. Ces résultats concordent avec des travaux antérieurs sur la synergie entre les bactéries endophytes et les CMA [82] ; [305] ; [309].

3.2. Impact de la salinité des sols sur les champignons mycorhiziens arbusculaires et la biomasse des microorganismes dans la rhizosphère de *T. articulata*

3.2.1. Objectif

La seconde étape de la présente thèse consiste à évaluer l'impact du stress salin sur les paramètres de la symbiose arbusculaire chez *T. articulata*. Des études antérieures ont montré que l'association symbiotique peut augmenter la résistance de la plante hôte aux différents stress abiotiques dont la salinité des sols [12]. Cependant, bien que l'apport des CMA sur le potentiel physiologique des plantes en conditions de stress salin soit relativement bien connu, l'impact de la salinité sur la symbiose mycorhizienne chez les *Tamarix* est peu documenté. Ainsi, la seconde étape de la présente thèse vise à évaluer l'impact de la salinité naturelle des sols sur la richesse microbienne de la rhizosphère de l'espèce *T. articulata* et sur les paramètres de la symbiose arbusculaire chez cette même espèce qui présente un pouvoir mycotrophe plus important en comparaison avec l'espèce *T. gallica*.

Cette partie a été réalisée en ciblant quatre sites parmi les dix sites décrits dans le tableau 3.1. Ce choix est basé sur un gradient de salinité variant de 1.82 à 4.95 ds.m⁻¹. Ces sites sont LG, HB, DU et BG. L'isolement et l'identification des spores de CMA naturellement associés à la rhizosphère de *T. articulata* des sites échantillonnés ainsi qu'une évaluation des taux de colonisation des racines par les CMA ont été réalisés. L'impact de la salinité des sols sur la biomasse des microorganismes telluriques (CMA, champignons ectomycorhiziens et saprotrophes, bactéries) de la rhizosphère de *T. articulata* a été mesurée en utilisant des marqueurs lipidiques spécifiques des différents groupes de micro-organismes.

3.2.2. Diversité en CMA et colonisation racinaire

L'évaluation de la diversité des CMA dans la rhizosphère de *T. articulata* des sols salins nous a permis d'isoler six espèces de CMA appartenant à quatre genres différents : *Claroideoglossum* (*Septoglossum*), *Funneliformis*, *Rhizophagus* et *Gigaspora*. Ces espèces sont identifiées comme *Claroideoglossum* (*Septoglossum*) *constrictum*, *Funneliformis* *mosseae*, *F. geosporum*, *F. coronatum*, *Rhizophagus fasciculatus* et *Gigaspora gigantea*. Une espèce de glomoïde est caractérisée mais non identifiée.

L'espèce *C. constrictum* est la plus abondante. Elle représente 34.7, 20.20, 41.8 et 43.44% de la population des CMA, respectivement dans les sites LG, HB, DU et BG. L'espèce *F. geosporum* est la plus abondante dans le site BG avec 38.5% du nombre total des spores dans ce site. L'espèce *F. mosseae* demeure stable dans les quatre sites étudiés. Les espèces *C. constrictum* et *F. geosporum* ont manifesté une tendance à augmenter avec la salinité des sols, mais sont restés très élevés dans tous les sites étudiés (Figure 4.10).

Le nombre total de spores/100g de sol varie en fonction de la salinité des sols. Il est approximativement le double dans le sol salé BG que dans le sol faiblement salé LG. Le nombre de spores est de 1247 spores/100g de sol dans le site faiblement salé LG tandis qu'il atteint 2248 spores/100g de sol dans le site salé BG. Les sites HB et DU contiennent respectivement 1341 et 1419 spores/100g de sol.

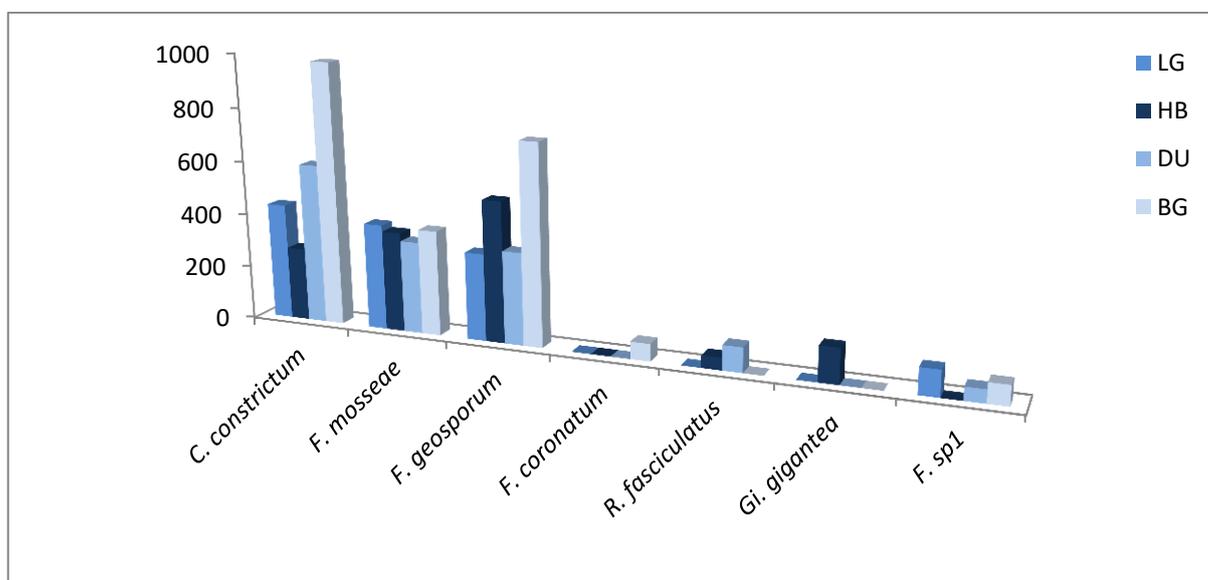


Figure : 3.2.1. Les différentes espèces de CMA isolées de la rhizosphère de *T. articulata* des quatre sites étudiés/ 100g de sol. LG : Laghouat, HB : Hassi Bahbah ; DU : Djefa ; BG : Boughzoul.

Les taux de mycorhization totaux, des vesicules intraracinaires et des arbuscules calculés dans les différents sites étudiés diminuent avec l'augmentation du gradient de salinité des sols.

Le taux de mycorhization total varie de 65.12% dans le site faiblement salé LG à 16.43% dans le site salé BG. Le taux d'arbuscules est très faible dans les trois sites LG, HB et BG avec une absence totale d'arbuscules dans le site DU. Le taux maximal d'arbuscules observé est de 1.5% dans le site LG. Les vésicules sont plus abondantes que les arbuscules. Elles sont de 29.95% dans le site BG et de 45.75% dans le site LG (Figure 4.10).

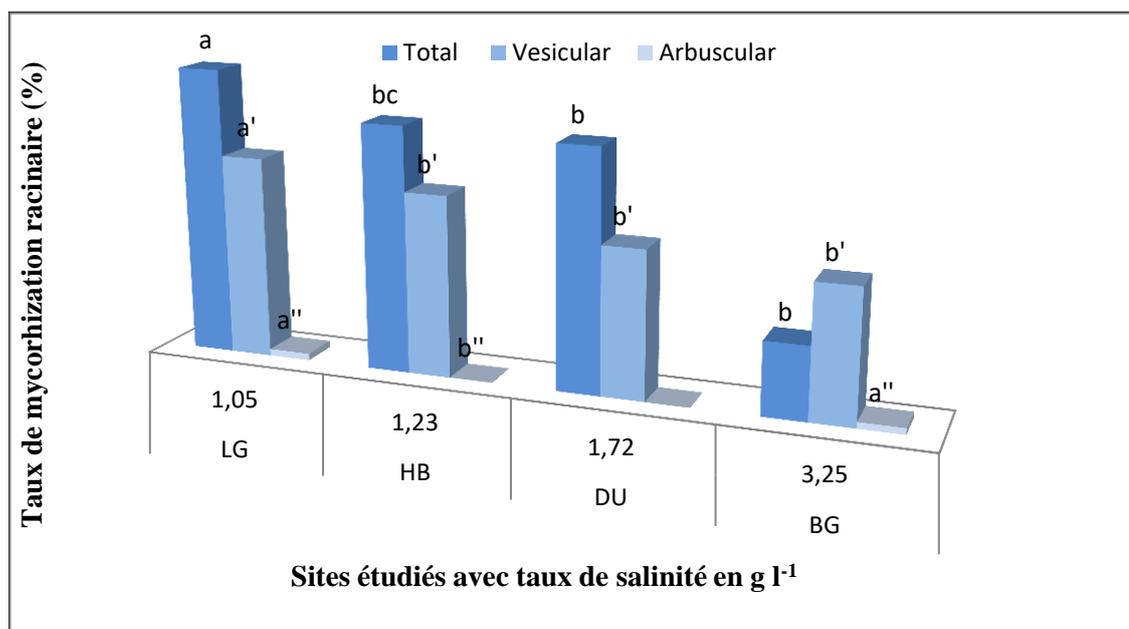


Figure 3.2.2 : Pourcentages de colonisation racinaire par les CMA dans les racines de *T. articulata* des sites étudiés. Données représentées selon les moyennes \pm l'écart type. Les moyennes sont obtenues à partir de 4 réplicas (n=4). Pour chaque paramètre, les lettres étiquetées indiquent la différence significative entre les sites selon le test LSD ($P < 0.05$). LG : Laghouat, HB : Hassi Bahbah ; DU : Djefa ; BG : Boughzoul.

3.2.3. Salinité des sols et biomasse microbienne

Afin de déterminer l'effet de la salinité des sols étudiés sur la biomasse microbienne, des biomarqueurs lipidiques spécifiques ont été utilisés. Le marqueur lipidique AGLN C16:1 ω 5, utilisé pour quantifier les CMA dans les sols, a été détecté avec une quantité deux fois plus importante dans les sites salés (BG et DU) que dans les sites faiblement salés (LG et HB) (Figure 4.12. A). Nous avons également mis en évidence un effet négatif de la salinité du sol sur la quantité du marqueur lipidique AGLN C16:1 ω 5 dans la rhizosphère de *T. articulata*. Elle est 15 fois plus élevée dans le site faiblement salé

LG que dans le site salé BG (Figure 4.12.B). En outre, les sites modérément salés DU et HB contiennent des teneurs quasi-équivalentes en AGLN C16:1 ω 5.

Le rapport, lipides neutres / phospholipides (LN/PL), évalué pour le marqueur lipidique des CMA C16:1 ω 5 montre des valeurs supérieures à un dans les sites LG, HB, DU. Le rapport diminue parallèlement à l'accroissement de la salinité des sols pour atteindre 0.3 dans le site salé BG. LN/PL C16:1 ω 5 s'est avéré inversement proportionnel au taux de salinité (Figure 4.12. C).

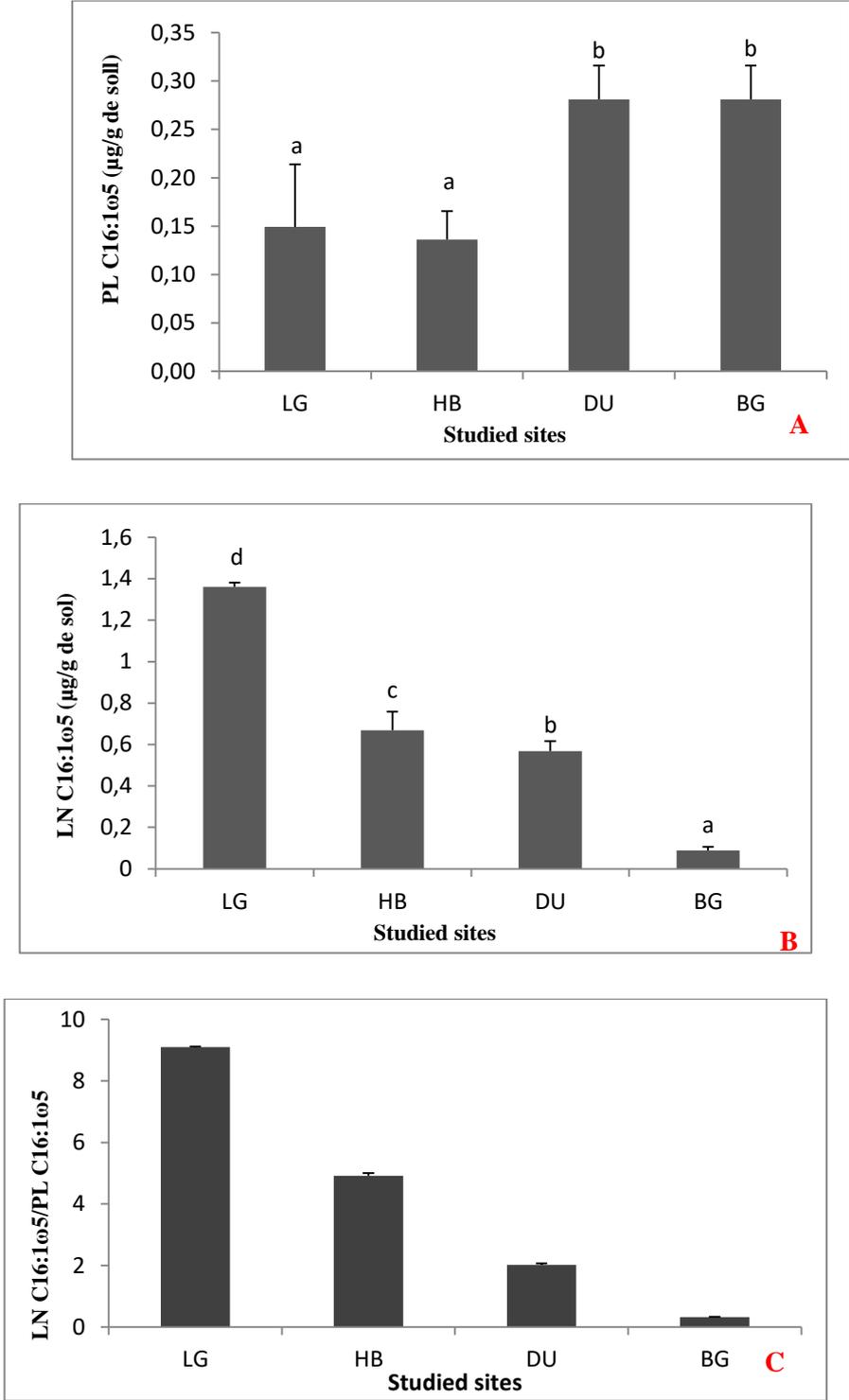


Figure 3.2.3. Effet de la salinité des sols sur la concentration des marqueurs lipidiques : PL C16:1ω5 (A), LN C16:1ω5 (B) et sur le rapport LN/PL C16:1ω5 (C) dans les sols des 4 sites étudiés. Les données sont représentées en fonction des moyennes ± écart type. Les moyennes sont obtenues à partir de 4 réplicats (n=4). Les lettres étiquetées indiquent la différence significative entre les sites selon le test LSD (p<0.05). LG : Laghouat, HB : Hassi Bahbah ; DU : Djefa ; BG : Bougzoul

La quantité d'ergostérol, marqueur lipidique stérolique spécifique des champignons saprotrophes et ectomycorhiziens, n'est pas corrélée avec la salinité des sols, mais demeure significativement plus élevée dans le sol faiblement salin (LG). Les deux sites salés DU et BG enregistrent des quantités significativement équivalentes d'ergostérol (Figure 4.13).

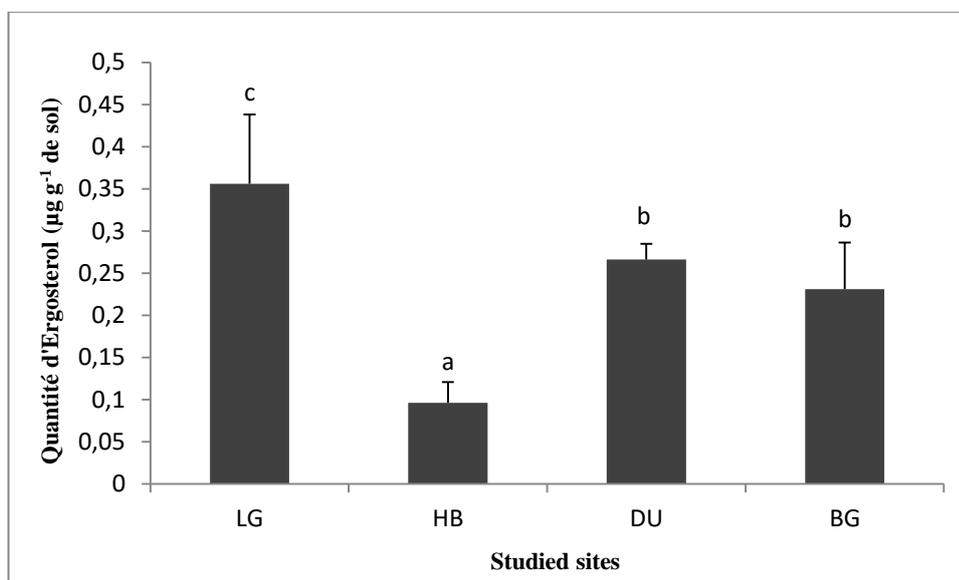


Figure 3.2.4. : Effet de la salinité des sols sur la quantité d'ergostérol des sols dans les 4 sites étudiés. Les données sont représentées en fonction des moyennes \pm écart type. Les moyennes sont obtenues suite à 4 replicats (n=4). Les lettres étiquetées indiquent la différence significative entre les sites selon le test LSD ($p < 0.05$). LG : Laghouat, HB : Hassi Bahbah ; DU : Djefa ; BG : Boughzoul.

La biomasse des bactéries à Gram négatif est estimée par la somme des marqueurs lipidiques PL cy17:0, C18:1 ω 7 et cy19:0 et celle des bactéries à Gram positif par la somme des PL i15:0, a15:0, i16:0, i17:0 et a17:0. Les résultats obtenus indiquent que la biomasse bactérienne est plus importante dans les sites HB, DU et BG que dans le site faiblement salé LG. Elle est respectivement 2.3 fois, 3.3 fois et 2 fois plus importante dans les sites HB, DU et BG que dans le site LG (Figure 4.14). Dans les sites HB, DU et BG, la quantité des bactéries à Gram négatif est supérieure à la quantité des bactéries à Gram positif. En revanche, dans le site faiblement salé LG, les bactéries à Gram positif sont plus importantes.

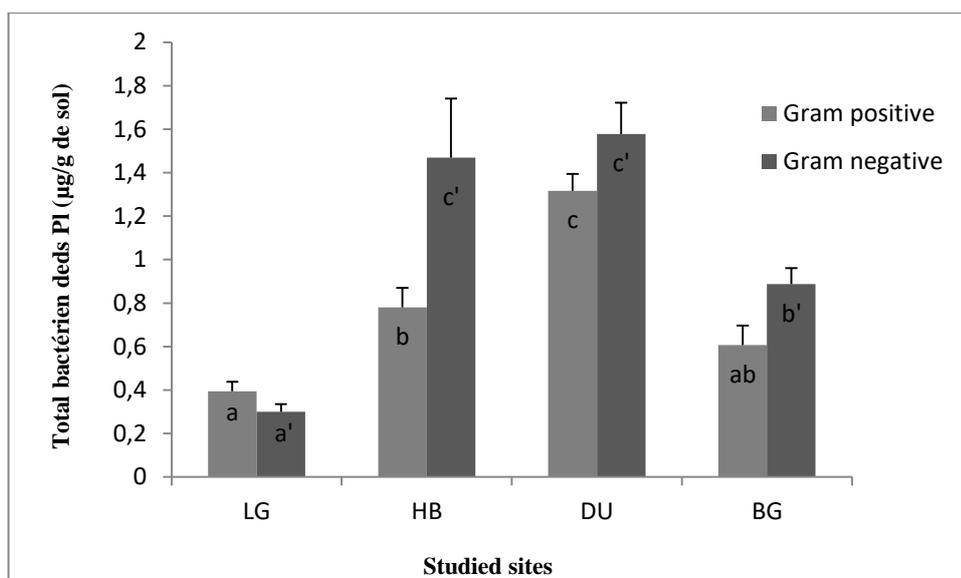


Figure 3.2.5: Effet de la salinité des sols sur la biomasse bactérienne dans les 4 sites étudiés. Les données sont représentées en fonction des moyennes \pm écart type. Les moyennes sont obtenues à partir de 4 replicats (n=4). Les lettres étiquetées indiquent la différence significative entre les sites selon le test LSD ($p < 0.05$). LG : Laghouat, HB : Hassi Bahbah ; DU : Djefa ; BG : Bougzoul.

3.2.4. Corrélation entre la salinité des sols , biomasse microbienne et paramètres de la symbiose arbusculaire :

Le coefficient de corrélation de Pearson pour les différents paramètres mesurés relatifs à la symbiose mycorhizienne chez *T. articulata* par rapport au niveau de la salinité du sol sont présentés dans le tableau 4. 11. L'analyse de corrélation a montré que le taux de colonisation des racines de *T. articulata* par les CMA, le taux de vésicules, la quantité en AGLN C16: 1 ω 5 et le rapport LN/ PL C16 étaient négativement corrélés avec le taux de salinité du sol. Cependant, AGLP C16:1 ω 5 et le nombre total de spores sont positivement corrélés avec la salinité du sol. Aucune corrélation n'a été observée entre la salinité des sols, l'ergostérol et la biomasse bactérienne totale.

Tableau 3.2.1 . Corrélation entre la salinité des sols et les différents paramètres de la symbiose arbusculaire

Paramètres	r Pearson	P
Nombre de spores	0.7692***	<0.001
Taux de colonisation racinaire	-0.7988 ***	<0.001
Taux de vésicules	-0.8297 ****	<0.0001
Total bacterien PL	0.01541 ns	0.1041
LN/PL	-0.6232 **	<0.01
LN C16:1ω5	-0.8329 ****	<0.0001
PL C16:1 ω5	0.728 **	<0.01
Ergostérol	0,0684 ns	0.1245

Pearson r: Coefficient de corrélation paramétrique de Pearson employé pour les populations Gaussienne.. ns: Corrélation non significative.**corrélation significative à $p < 0.01$, *** corrélation significative à $p < 0.001$, ****corrélation significative à $p < 0.0001$.

3.2.5. Discussion :

L'évaluation de la biodiversité des CMA associée à la rhizosphère de *T. articulata* dans les quatre sites caractérisés par différents degrés de salinité des sols a montré des morphotypes appartenant en majorité à la famille des Glomeraceae, à l'exception de deux espèces. Une espèce de la famille des Claroideoglomaceae, *Claroideoglo mus constrictum* et une seule espèce de la famille des Gigasporaceae, *Gigaspora gigantea* qui est recensée uniquement dans le site HB qui se caractérise par une salinité modérée. Les spores des Glomoïdes représentent la majorité des CMA. Plusieurs études montrent que les Glomoïdes sont typiques des écosystèmes semi-arides méditerranéens et peuvent tolérer des taux élevés de salinité des sols [165]; [310]. Des études antérieures portant sur la population des CMA des espèces de Tamarix confirment l'abondance des Glomeraceae [21]; [58] ; [55]; [57]. Parmi les espèces isolées de la rhizosphère de *T. articulata*, l'espèce *F. mosseae*, qui est une espèce à distribution mondiale [311], est considérée comme très tolérante aux conditions environnementales perturbées [312], notamment la pollution des sols [313], le stress thermique [314], le stress hydrique [297]; [315] et le stress salin [316]. L'espèce *F. geosporum* qui est la plus abondante dans la rhizosphère de *T. articulata* a été

précédemment détectée dans des environnements salins [21] ; [57]. LANDWEHR et *al.*, [178] ont observé une grande tolérance de *F. geosporum* aux sols européens salins, sodiques et gypseux. Elle a été également identifiée dans les marécages salins [180]; [181]; [182]. Cette espèce a été également décrite comme étant abondante dans la rhizosphère de *T. ramosissima* dans des sols à forte teneur en salinité [57].

Les résultats obtenues au cours de la présente étude montre que le nombre total de spores de CMA isolés de la rhizosphère de *T. articulata* augmente considérablement avec la salinité des sols. En effet une corrélation positive a été enregistrée entre la salinité des sols et le nombre total des spores ($r = 0.7692$, $p < 0.001$). Ce résultat est en accord avec les études de ALIASGHARZADEH et *al.*, [176]; HILDEBRANDT et *al.*, [180]; LANDWEHR et *al.*, [178]. Ces auteurs ont observé une augmentation du nombre de spores parallèlement à la salinité des sols sur les rhizosphères de plusieurs plantes halophytes. Ce phénomène peut être considéré comme une stratégie de survie mise en œuvre par les CMA. La sporulation étant un comportement de résistance pour aider à la survie de certains micro-organismes dans des conditions environnementales défavorables. En effet, il a été démontré que la sporulation des CMA peut être stimulée sous les conditions de stress salin [317] ; [176]. MCMILLEN et *al.*, [318], rapportent que l'inhibition de la germination des spores de CMA et de la croissance mycélienne induite par la présence du NaCl a entraîné une augmentation des populations de spores dans des sols salins.

Le taux de colonisation par les CMA des racines de *T. articulata* diminue considérablement avec la salinité des sols. En effet, une corrélation négative entre le taux de colonisation racinaire et la salinité des sols a été enregistrée ($r = -0.7988$, $p < 0.001$). Ce résultat est soutenu par plusieurs travaux qui ont montré une réduction des taux de colonisation racinaire dans des sols présentant des taux de salinité élevés [16] ; [57] ; [169]. Même si la plupart de ces études ont été effectuées dans des conditions contrôlées, leur similitude avec les résultats obtenus dans notre étude, sur des environnements naturels, confirment le comportement général des CMA dans des conditions de stress salin. De plus, le pourcentage de vésicules intra-racinaires, riches en lipides de réserve [248], diminue considérablement avec la salinité des sols.

Ce dernier résultat concorde avec la quantité du marqueur lipidique LNC16:1 ω 5 qui s'est révélé négativement influencé par la salinité des sols. En revanche, quel que soit

le site, le taux d'arbuscules enregistré était rare. ALLEXANDER et *al.*, [319] suggèrent que la salinité des sols altère la durée de vie des arbuscules. Cependant, on ne peut pas exclure que le faible taux d'arbuscules dans les racines de *T. articulata* peut être dû à l'échantillonnage sur le terrain. Les racines des *T. articulata* échantillonnées des environnements naturels requièrent une manipulation délicate afin de les extraire correctement des sols steppiques. Vu les résultats obtenus, plusieurs apex fragiles ont pu être détruits à la récolte, réduisant le taux d'arbuscules dans les racines. Il a été montré que les arbuscules ont une préférence pour les premiers centimètres des apex des fines racines [14]. Contrairement aux plantes herbacées, les plantes ligneuses telle que *T. articulata* possèdent des racines lignifiées riches en tannins avec une structure qui n'est pas propice à la colonisation racinaire par les hyphes des CMA. Par conséquent, seules les extrémités des racines non-pigmentées qui se développent le plus près de la surface des sols servent dans l'évaluation du taux de colonisation des racines.

Par ailleurs, plusieurs auteurs ont expliqué que la salinité des sols peut influencer directement le développement des champignons, réduisant la germination des spores, la formation des hyphes et par conséquent la colonisation de la plante hôte [151]; [160]; [165]. Dans les sols salins, le processus de colonisation racinaire peut être stoppé à cause des conditions pédologiques défavorables. Les propagules peuvent ne pas être correctement hydratées et par conséquent, une accumulation de spores maintenues au stade de dormance à long terme est observée. JOHROMI et *al.*, [162], expliquent que la salinité des sols induit des changements morphologiques au niveau des hyphes des CMA, plus particulièrement dans leur élongation et ramification, ce qui influence négativement leurs capacités symbiotiques. JUNIPER et ABBOTT [165], rapportent que dans les conditions de culture *in vitro*, le taux et le temps requis pour la germination des spores en présence du NaCl diffèrent considérablement entre les souches de CMA. Pour certaines souches de CMA, la réduction de la quantité d'hyphes en présence de concentrations élevées de NaCl est principalement associée à un retard dans la germination des spores, alors que pour d'autres souches la vitesse spécifique de production d'hyphes a également été sensiblement réduite par la présence de NaCl [157] ; [165].

Par ailleurs, il n'est pas totalement exclu que le taux de colonisation racinaire faible observé dans les sols salins soit le résultat de la dormance des spores subséquentes en

réponse à des signaux relativement précis qui permettent à des champignons de survivre dans le sol lorsque les conditions sont défavorables [320].

En outre, la réduction de la colonisation racinaire avec l'augmentation de la salinité des sols peut être due aux changements physiologiques occasionnés chez la plante hôte et qui affectent directement le symbiote arbusculaire [157]. Par ailleurs, la richesse en vésicules intra-racinaires par rapport aux arbuscules peut représenter une grande allocation du carbone aux CMA. D'un autre côté, le nombre réduit d'arbuscules peut refléter une faible fonctionnalité de la symbiose dans les milieux salés [255].

En parallèle, l'impact de la salinité du sol sur la biomasse microbienne a été évalué au niveau de la rhizosphère de *T. articulata* par la quantification des marqueurs lipidiques spécifiques des CMA, des champignons ectomycorhiziens et saprotrophes et des marqueurs bactéries des sols. Le ratio AGLN/AGPL C16:1 ω 5 diminue considérablement avec la salinité des sols, parallèlement à la diminution du taux de colonisation racinaire. Ces résultats sont en accord avec les travaux de VESTBERG et al., [249], de BARIN et al., [255] et d'OLSSON et al., [256]. Ces auteurs ont enregistré une diminution des deux paramètres LN/PL C16:1 ω 5 et le taux de colonisation racinaire simultanément à l'accroissement du taux de salinité des sols. L'abondance des CMA et le taux de LN C16:1 ω 5 sont affectés par la salinité du sol dans la rhizosphère de *Salicornia europaea* en Urmia (Iran) [255]. Ils dépendent également du degré de mycotrophie de la plante hôte [249]. Un accroissement de la quantité en AGPL C16:1 ω 5 est enregistré parallèlement à la diminution de la quantité en AGLN C16:1 ω 5, ce qui peut être attribué à l'augmentation de la biomasse bactérienne avec l'élévation du taux de salinité du sol. Les stress abiotiques induisent une augmentation de la biomasse des micro-organismes aérobies du sol [309] ; [239]. MENDPARA et al., [321] que la majorité des bactéries tolérantes à une salinité élevée font partie des Gram-négatifs, précisément les *Pseudomonas spp.*

Les résultats de quantification de l'ergostérol montrent que la biomasse des champignons saprotrophes et ectomycorhiziens diminue considérablement avec l'augmentation du taux de salinité du sol. Ces résultats concordent avec ceux de WICHERN et al., [260]; BEN-DAVID et al., [322]; ISHIDA et al., [323] et HRYNKIEWING et al., [324]. De son côté ZIZOU [325] a observé une diminution de la quantité de 4 espèces de champignons saprotrophes *Laetiporus sulphureus*, *Ganoderma*

lucidum, *Trametes versicolor* et *Pleurotus ostreatus* dans des conditions de stress salin. Le stress hyperosmotique chez les champignons saprotrophes est associé à l'inhibition de l'extension de la paroi cellulaire accompagné d'une expansion cellulaire. Ce qui conduit à une réduction de la croissance du champignon. En outre, un excès de Na^+ et / ou Cl^- dans les cellules fongiques peut modifier certaines activités enzymatiques et la structure des acides nucléiques diminuant ainsi le potentiel des champignons ectomycorhiziens [260] ; [324]. Une faible quantité d'ergostérol est enregistrée dans le site HB, ceci peut être dû à la faible teneur en carbone organique dans ce sol (Tableau 4.1). MONTGOMERY et al., [326] expliquent qu'un niveau de carbone organique modéré dans les sols fait diminuer la quantité d'ergostérol fongique.

3.3. Apport de l'inoculation mycorhizienne dans la croissance de *T. articulata* Vahl et de *T. gallica* L. sur des sols steppiques à salinité croissante

3.3.1. Objectif

Dans la dernière partie de cette thèse, nous avons cherché à exploiter à des fins écologiques et économiques les résultats obtenus lors des deux parties précédentes

Il est à rappeler que les CMA influencent le fonctionnement des écosystèmes en augmentant les taux de carbone organique et de minéraux dans le sol [12]. Ils améliorent la nutrition minérale, la biosynthèse des hormones et par conséquent le métabolisme des plantes [327] ; [328] ; [329]. Il a également été démontré que les CMA améliorent la croissance des arbres et des arbustes en favorisant leur implantation sous des contraintes d'extrême salinité [160] ; [163] ; [330].

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont connues pour stimuler la croissance des plantes à la fois par l'intermédiaire de la biosynthèse des hormones végétales, la réduction du stress-éthylène produit par les plantes, la fixation de l'azote et dans la solubilisation du phosphate [226]. Les *Pseudomonas* peuvent également favoriser la croissance des plantes en améliorant l'établissement et le fonctionnement de la symbiose mycorhizienne [227], en favorisant la germination des spores et l'extension mycélienne des hyphes des CMA [309] ; [331].

Les CMA et les bactéries symbiotiques interagissent étroitement avec les racines de leur plantes hôtes en améliorant leur croissance et en leur assurant une bonne protection contre les infections racinaires et foliaires [12] ; [227] ; [329] ; [331]. Dans les sols salins des zones arides et semi-arides, il a été constaté que les arbustes tels que les Tamarix étaient plus appropriés pour la revégétalisation que les arbres forestiers [1], d'où l'intérêt de tester l'inoculation mycorhizienne pour l'extension des plantations de Tamarix. En effet, l'inoculation des plantes par les CMA et les *Pseudomonas* pourrait constituer une bonne solution dans la revégétalisation des sols steppiques dans le cadre de la lutte contre la désertification. Cependant, l'efficacité de cet amendement biologique dépend des choix des souches composant les inoculums qui doivent être bien adaptées aux conditions environnementales et aux caractéristiques pédo-agronomiques des sols. Ainsi, nous avons étudié dans cette troisième partie, l'intérêt d'ajouter des inoculums mycorhiziens dans l'installation et la croissance des Tamarix dans des zones steppiques à salinité croissante en testant et en comparant l'efficacité de différents inoculums (un inoculum mycorhizien

commercial, un inoculum mycorhizien autochtone et un co-inoculum à base de CMA plus la bactérie endophyte autochtone *Pseudomonas fluorescens*).

Dans ce contexte, une première expérience d'inoculation avec l'inoculum commercial *R. irregularis* des deux espèces *T. articulata* et *T. gallica* sous serre est conduite afin d'évaluer leur dépendance mycorhizienne. L'effet de trois traitements d'inoculation sur la croissance et la nutrition minérale du *T. articulata* sous des conditions naturelles de stress salin a été évalué.

Une fois les plantules bien développées sous serres, une transplantation sur terrain a été effectuée afin de tester la meilleure combinaison "Sol X Traitement" à proposer avant la transplantation des espèces de *T. articulata* sur le terrain.

3.3.2. Évaluation de l' inoculum autochtone local et potentiel mycorhizogène

L'inoculum autochtone local produit provient du piégeage des spores autochtones sur le sol naturel des dix sites étudiés cultivé avec de la luzerne (*Medicago sativa*). Le nombre de spores isolées après 22 mois, sont d'une moyenne de 16, 46 et 32 spores / g de sol respectivement dans les sols non-salins (AO, MES, MRS), les sols modérément salins (LG, HB, KB, DU) et les sols salins (BG, RS, DU), Ces résultats sont illustrés sur la figure (4.15.A).

Les espèces de CMA isolées des sols piégés avec la luzerne sont : *Claroideogloium constrictum*, *Funneliformis geosporum*, *F. mosseae*, *F. coronatum*, *F. caledonium*, *Rhizophagus fasciculatus*, *R. diaphanus* et *Gigaspora gigantea*. L'espèce *C. constrictum* domine dans les sols non-salins et modérément salins, tandis que *F. geosporum* est abondante dans les sols salins (Tableau 4.12).

Tableau 3.3.1 : Évaluation du piégeage des spores en fonction de la salinité des sols

Espèces de CMA	Nombre de spores. g ⁻¹ de sol /Type de sol		
	Non-salins	Modérément salins	Salins
<i>S. constrictum</i>	7	13	6
<i>F. geosporum</i>	5	11	13
<i>F. mossae</i>	2	6	13
<i>F. caledonium</i>	nd	2	4
<i>F. coronatum</i>	nd	3	nd
<i>R. diaphanus</i>	nd	2	nd
<i>Gi. gigantea</i>	nd	4	nd
<i>R. fasciculatus</i>	nd	3	nd

Les données sont présentées par la moyenne du nombre des CMA isolées après 22 semaines de culture de la luzerne. Les moyennes pour chaque espèce ont été obtenues à partir de cinq répétitions par sol.

Les taux de colonisation des racines de la luzerne évalué après 22 mois de culture indique que les sols modérément salins (LG, HB, KB, DU) ont enregistré les taux les plus élevés avec une moyenne de 65% (Figure 4.15. B). Tandis que les taux les plus bas sont enregistrés dans les sols non-salins (AO, MES, MRS) avec la moyenne de 35%. La moyenne des taux de colonisation des racines dans les sols salins (BG, RS, Z) est de 53%.

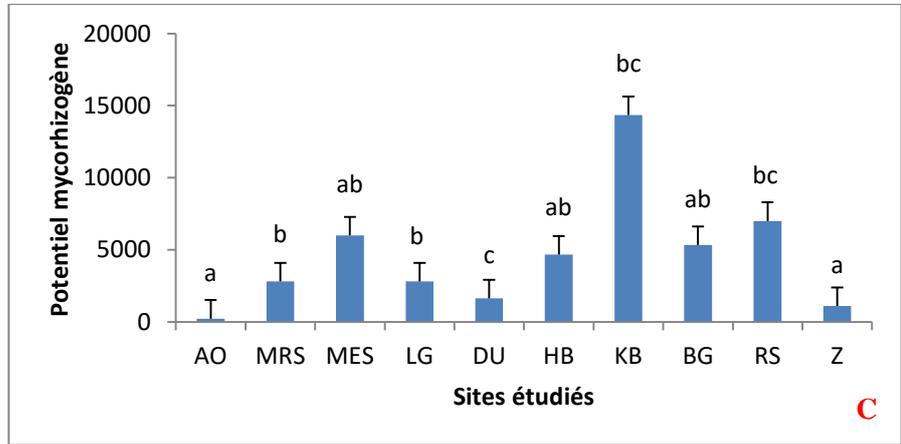
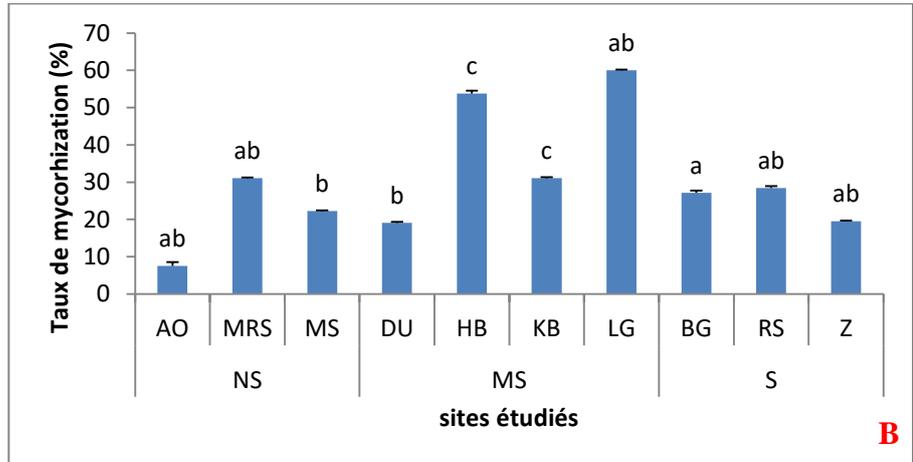
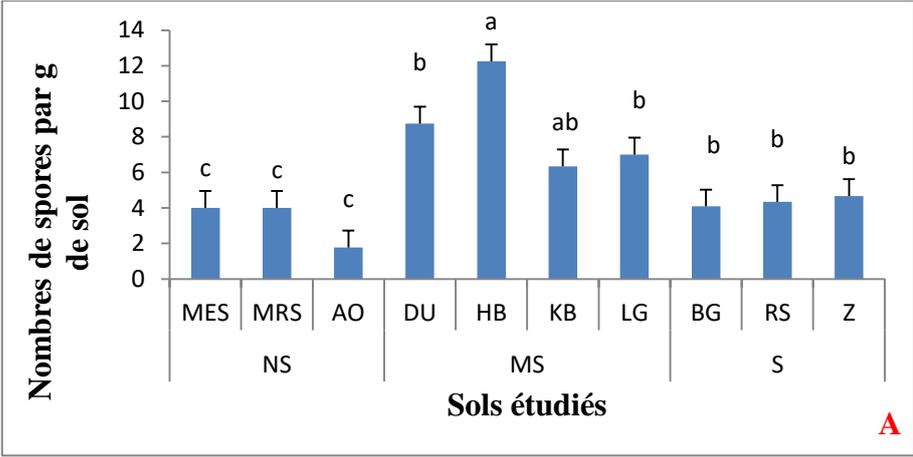


Figure 3.3.1: Evaluation de la richesse de l'inoculum local et du potentiel mycorrhizogène des sols étudiés. A. Nombre de spores après piégeage. B. Taux de mycorrhization de *Medicago sativa* après 6 mois de culture. C. Potentiel mycorrhizogène des sols. Les données sont représentées par les moyennes ± écart type. Les moyennes sont obtenues suite à 5 réplicats par site. Les lettres étiquetées indiquent la différence significative entre les sites selon le test LSD ($p < 0.05$).

Afin de quantifier la richesse naturelle des sols en propagules infectieuses de CMA, l'étude du potentiel mycorhizogène des sols des dix sites étudiés a révélé que les sols modérément salins sont les plus riches en propagules. En effet, le site KB est le plus riche en propagules colonisatrices avec une valeur de 14000 propagules /kg de sol. Les sites DU, HB et LG enregistrent des valeurs statistiquement équivalentes (Figure 4.15. C). Les sites salins viennent en deuxième position. Les sites BG et RS enregistrent des valeurs supérieures à 5000 propagules/Kg de sol. Et enfin les sites non-salins sont classés en dernière position, la valeur la plus faible est observée dans le site AO avec 500 propagules /kg de sol. Il est à noter qu'un site est considéré comme riche lorsque la quantité de propagules dépasse 5000 propagules/kg de sol [270].

3.3.3. La dépendance mycorhizienne chez *T. articulata* et *T. gallica*

La croissance des plantules de *T. articulata* et *T. gallica* est fortement améliorée par l'inoculation avec l'inoculum commercial Mycke à base de *Rhizophagus irregularis* (DAOM 197198). La biomasse aérienne et racinaire des plants inoculés est plus importante que celle des plants non-inoculés. L'indice de dépendance mycorhizienne calculé est 1.7 fois plus élevé chez *T. articulata* que chez *T. gallica* (Tableau 4.11).

Tableau 3.3.2. Dépendance mycorhizienne chez *T. articulata* et *T. gallica*.

Espèces de <i>Tamarix</i>	Indice d'Hetrick
<i>T. articulata</i>	30.09 ^a
<i>T. gallica</i>	17.53 ^b

Les données sont représentées par rapport aux moyennes \pm écart type. Les moyennes sont calculées à partir de 10 répliques par espèce (n=10). Des lettres différentes indiquent une différence significative de l'indice de dépendance mycorhizienne entre les deux espèces selon le test LSD (p<0.05).

3.3.4. Apport de l'inoculation sur la colonisation de *T. articulata*

3.3.4.1. Apport sur le taux de colonisation des racines de *T. articulata* sous différents niveaux de salinité du sol

Le taux de colonisation des racines de *T. articulata* après 10 et 24 semaines de culture sont représentés dans la figure 4.20. Après 10 semaines de culture, le taux de colonisation racinaire enregistré est plus élevé avec les inoculum autochtones (inoculum mycorhizien seul et le co-inoculum (CMA plus *P. fluorescens*) en comparaison avec les témoins non-inoculés. Des améliorations de 1.7 et 1.5 fois ont été obtenues respectivement avec l'inoculum mycorhizien seul et le co-inoculum.

Par ailleurs, avec l'inoculum commercial, les racines des sols salins (BG, RS, Z) n'ont présenté aucune structure mycorhizienne après 10 semaines de culture. En outre, les taux de colonisation racinaires sont faibles dans les sols non-salins (AO, MES, MRS) et modérément salins (LG, HB, KB, DU) avec l'inoculum commercial (Figure 4.16. A).

Après 24 semaines de culture, l'évaluation du taux de colonisation racinaire indique que l'inoculum mycorhizien seul et le co-inoculum stimulent significativement les taux de colonisation racinaires des plantules de *T. articulata* comparativement avec les témoins non-inoculés dans les sols non-salins et salins. Ils sont environ 2 et 17 fois plus élevés avec le co-inoculum respectivement pour les sols non-salins et salins et d'environ 1 et 15 fois plus élevés, respectivement dans les sols non-salins et salins avec l'inoculum mycorhizien seul. Pour les sols modérément salins, l'accroissement du taux de colonisation racinaire est entre 1.4 et 1.7 fois plus pour l'inoculum mycorhizien seul et le co-inoculum en comparaison avec les plantules non-inoculées.

Avec l'inoculum commercial, le taux de colonisation racinaire des plantules de *T. articulata* est 6.6 fois supérieur par rapport à la colonisation à 10 semaines pour les sols salins, environ 10 fois plus pour les sols non-salins et 33.4 fois plus dans les sols modérément salins.

Une corrélation positive a été enregistrée entre le taux de colonisation racinaires et la biomasse aérienne dans les sols modérément salins avec les différents traitements d'inoculation et pour le co-inoculum dans les sols salins (Tableau 4.14). Pour les témoins non inoculés, une corrélation positive a été enregistrée entre le taux de colonisation des racines et la biomasse végétale sur les sols non-salins et modérément salins. Le taux de colonisation racinaire a enregistré une corrélation positive avec le nombre de spores dans

les sols salins avec l'inoculum commercial. Cette corrélation positive est également enregistrée pour l'inoculum mycorhizien seul sur les sols salins et modérément salins et pour le co-inoculum sur les sols non-salin et les sols salins (Tableau 4.13).

Un effet significatif des traitements d'inoculation a été enregistré sur le taux de colonisation racinaire à $p < 0.01$. De même, le taux de salinité des sols a manifesté un effet significatif sur le taux de colonisation racinaire.

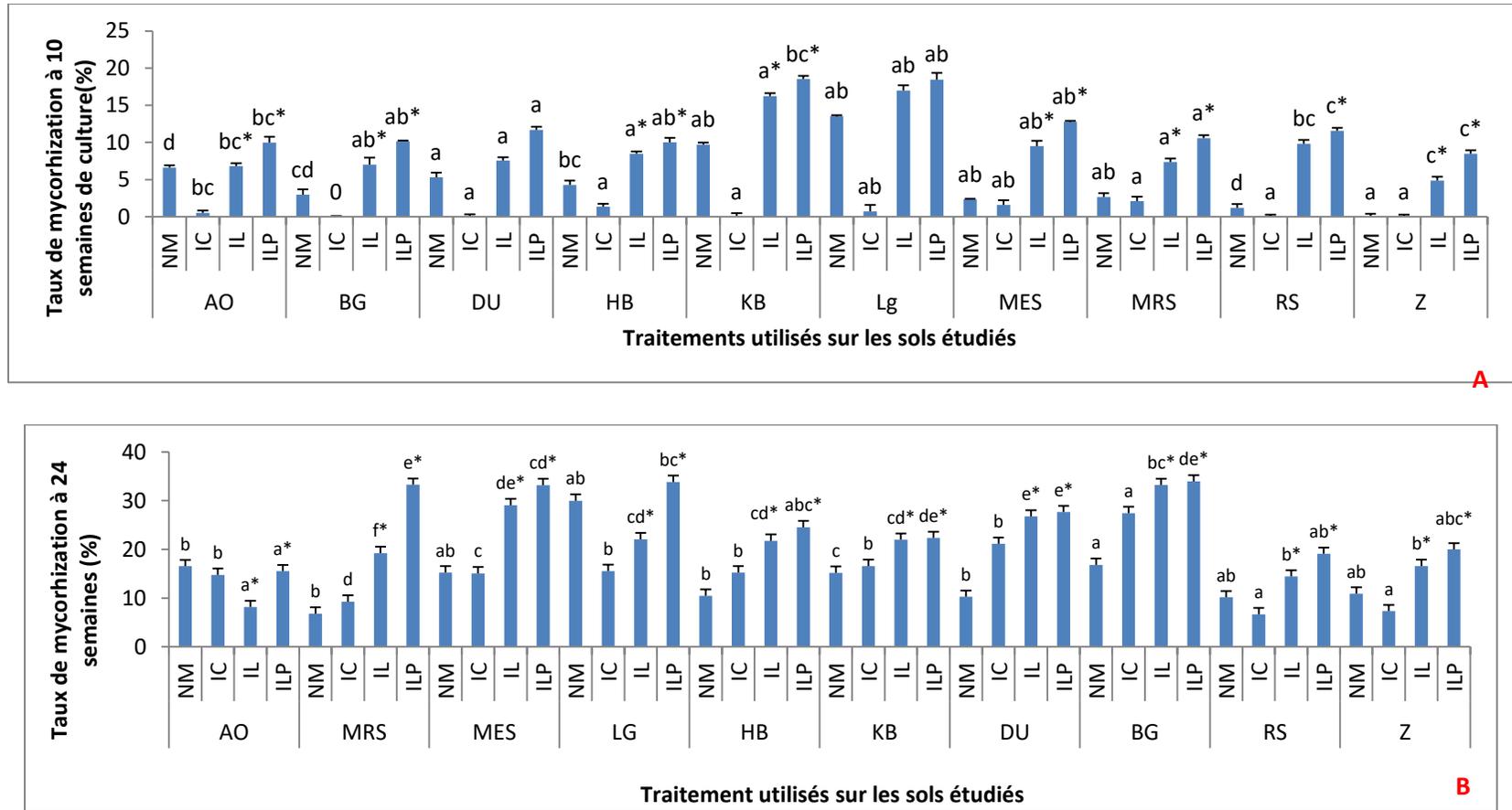


Figure 3.3.2 : Taux de colonisation racinaire de *T. articulata* à deux stades de développement des plantules. **A**. Taux de mycorhization à 10 semaines de cultures. **B**. Taux de mycorhization à 24 semaines de culture. NM : non mycorhizés, IC : inoculum commercial, IL : inoculum mycorhizien seul, ILP : inoculum autochtone avec *P. fluorescens*. MES : Messaad. MRS : El-Mesrane. AO : Ain-Oussera. LG : Laghouat. HB : Hassi Bahbah. KB : Kasr-El-Boukhari. DU : Djelfa. BG : Boughzoul. RS : Rocher de sel. Z : Zaafrane. Les données sont représentés selon les moyennes \pm l'écart type. Les moyennes sont obtenues à partir de 5 replicats par traitement (5x4). Les lettres étiquetées indiquent la différence significative entre les traitements.

3.3.4.2. Apport de l'inoculation sur l'abondance et la biodiversité des CMA dans la rhizosphère des *T. articulata*

Les espèces de CMA isolées de la rhizosphère des *T. articulata* cultivées sous serres pendant 24 semaines avec différents degrés de salinité sont identifiées et quantifiées (Tableau 4.14). Elles appartiennent aux genres : Funneliformis, Claroideoglomus, Rhizophagus et Gigaspora. Huit espèces sont identifiées comme étant : *F. geosporum*, *F. mosseae*, *F. caledonium*, *F. coronatum*, *C. constrictum*, *Gi. gigantea*, *R. diaphanus*, *R. fasciculatus*, avec une espèce de glomoïde non-identifiée. Tandis que *C. constrictum* est l'espèce la plus abondante dans les sols non-inoculés indépendamment du degré de salinité des sols, *F. geosporum* et *F. mosseae* sont les deux espèces les plus abondantes dans les sols co-inoculés quel que soit le degré de salinité des sols. Avec l'inoculum mycorhizien seul et l'inoculum commercial, *F. geosporum* est l'espèce la plus abondante dans les sols étudiés. *Gi. gigantea*, n'est pas rencontrée dans les sols salins quel que soit le type d'inoculation.

Le nombre de spores dans les sols salins et modérément salins est stimulé positivement par le co-inoculum. Il est passé de 62 spores /10g de sol dans le sol BG à 161 spores/10g de sol. Le nombre de spores est passé de 69 spores/10g de sol pour le témoin du sol HB à 137 spores /10 g de sol avec le co-inoculum.

Le nombre de spores est stimulé par l'inoculum commercial dans les sols modérément salins et non-salins. Il est passé de 40 dans le témoin non-inoculé du sol DU à 78 spores/10 g, et de 81 spores/10g de sol dans le témoins du sol non-salin AO à 133 spores/10g de sol.

Tableau 3.3.3 : Espèces de CMA isolées après 24 semaines de culture. NM : non-mycorhizé, IC : inoculum commercial, IL : inoculum mycorhizien seul, ILP : inoculum autochtone avec *P. fluorescens*.

Sites/ Traitements Espèces	Ain Oussera				Boughzoul				Djelfa				El-Mesrane				Hassi Bahbah				Kasr-El- boukhari				Laghouat				Messaad				Rocher de Sel				Zaafrane				
	NM	IC	IL	ILP	NM	IC	IL	ILP	NM	IC	IL	ILP	NM	IC	IL	ILP	NM	IC	IL	ILP	NM	IC	IL	ILP	NM	IC	IL	ILP	NM	IC	IL	ILP	NM	IC	IL	ILP	NM	IC	IL	ILP	
<i>F. geosporum</i>	18	48	17	17	19	66	56	56	14	23	16	16	22	7	42	42	13	25	51	53	12	55	28	29	18	15	19	21	0	10	22	23	10	26	16	17	18	41	17	19	
<i>F. mossseae</i>	32	34	6	6	10	13	65	65	9	31	15	15	10	14	48	48	10	38	33	38	25	41	41	44	8	8	11	10	21	6	22	19	14	32	11	18	23	31	39	42	
<i>S. constrictum</i>	26	25	6	6	25	37	7	7	9	12	25	25	31	4	33	33	27	32	44	40	17	34	24	21	14	11	16	15	19	9	10	11	16	32	29	21	33	24	18	41	
<i>Gi. gigantea</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	10	0	0	0	13	9	4	0	2	0	0	2	3	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>F. caledonium</i>	5	11	13	13	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	4	6	0	0	4	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>G. Sp2</i>	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	8	8	0	0	2	6	10	4	2	1	0	0	1	2	0	0	3	0	0	15	0	0	0	0	0	0	
<i>G. sp3</i>	0	7	0	0	8	0	30	30	0	5	1	1	0	0	0	0	0	43	0	0	5	20	17	0	27	5	4	0	0	0	2	26	5	12	14	0	0	8	10		
<i>G. SP1</i>	0	6	0	0	0	6	3	3	5	1	0	0	0	0	4	4	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	14	0	4	5	8	6	0	0	
<i>R.fasciculatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	9	9	6	11	0	0	0	0	0	0	13	0	0	0	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total /10g	81	133	42	42	62	122	161	161	40	78	58	58	73	28	144	144	69	165	134	137	74	139	119	120	56	61	56	57	49	25	62	55	80	110	72	75	82	102	82	112	

3.3.5. Apport de l'inoculation sur la croissance des plants de *T. articulata*

3.3.5.1. Apport de l'inoculation sur les biomasses aériennes et racinaires

L'impact des trois traitements d'inoculation (l'inoculum commercial et les inoculums autochtones [inoculum mycorhizien seul, le co-inoculum (CMA plus *P. fluorescens*) sur la croissance des plantules de *T. articulata* est représenté sur les figures 4.17. et 4.18.

Aucune modification des biomasses aériennes et racinaires n'est observée avec l'inoculum commercial dans les sols salins (BG, RS, Z) et modérément salins (HB, KB, DU). En revanche, une augmentation significative de la biomasse est enregistrée dans les sols non-salins (AO, MRS) avec l'inoculum commercial par rapport aux témoins et dans le sol modérément salin LG (Figure 4.18).

Cependant, les plantules inoculées avec l'inoculum mycorhizien seul et le co-inoculum manifestent une amélioration significative de la biomasse aérienne dans les sols modérément salins. La biomasse aérienne est d'une moyenne de 1.07 et de 1.08g respectivement pour les plantules avec l'inoculum mycorhizien seul et le co-inoculum dans les sols modérément salins (LG, HB, KB, DU). Tandis qu'elle est de 0.7g pour les plantules témoins et les plantules avec l'inoculum commercial. Par ailleurs, l'inoculum mycorhizien seul et le co-inoculum améliorent la biomasse racinaire de *T. articulata* dans les sols modérément salins et salins. Elle est deux fois plus supérieure que celle des témoins non- inoculés dans les sols modérément salins et d'environ 1.5 fois plus pour les sols salins (Figure 4.17).

Un effet significatif des traitements d'inoculation sur la biomasse est enregistré à $p < 0.001$. En parallèle, un effet négatif de la salinité des sols sur la biomasse racinaire est observé. Aucun effet significatif n'est observé pour la biomasse aérienne (Tableau 4.15).

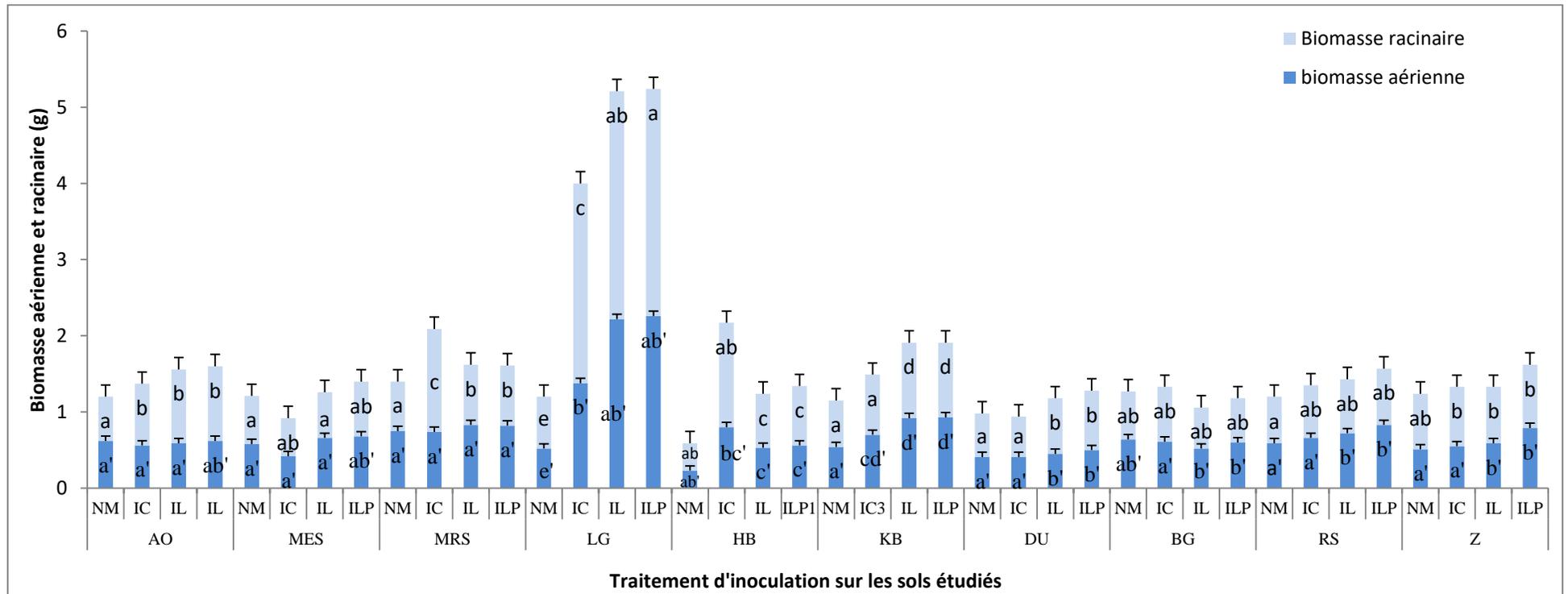


Figure. 3.3.3 : Biomasse aérienne et racinaire des plants de *T. articulata* après 24 semaines de culture. MN : non mycorhizé, IC : inoculum commercial, IL : inoculum mycorhizien seul, ILP : inoculum autochtone avec *Pseudomonas fluorescens*. MES : Messaad. MRS : El-Mesrane. AO : Ain-Oussera. LG : Laghouat. HB : Hassi Bahbah. KB : Kasr-El-Boukhari. DU : Djelfa. BG : Boughzoul. RS : Rocher de sel. Z : Zaafrane. Les données sont représentées à partir des moyennes \pm écart type. Les moyennes sont calculées à partir de 3 réplicats par traitement. Les différentes lettres étiquetées indiquent la différence significative entre les traitements par type de sol selon le test LSD ($p < 0.05$).

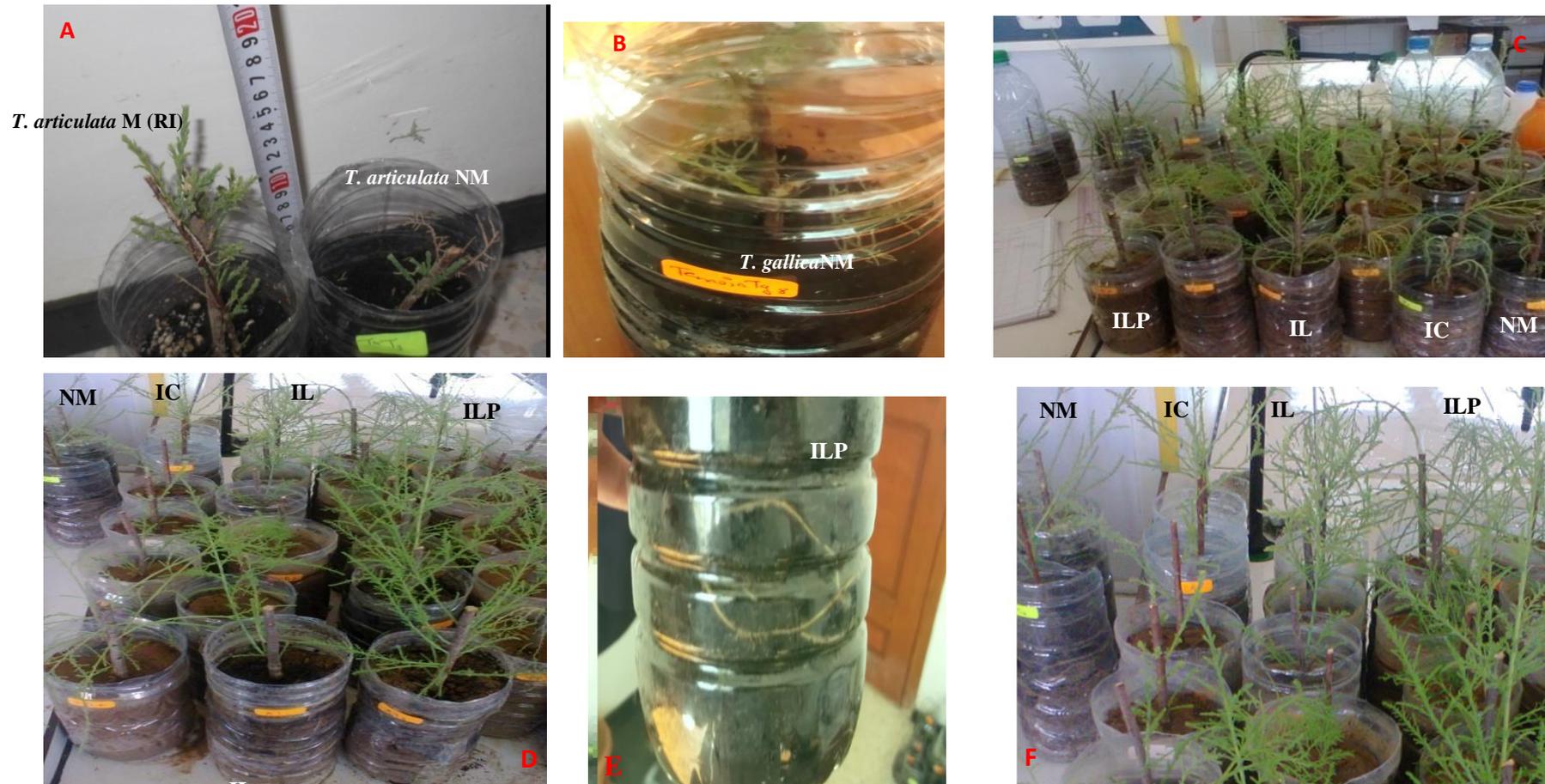


Figure 3.3.4 : Croissance des Plants de *T. articulata* après 16 semaines de culture. **A. B.** *T. articulata* et *T. gallica* inoculé avec *R. irregularis*. **C.** Plants de *T. articulata* avec 3 traitements. **D. et E.** Croissance de *T. articulata* avec les 4 traitements. **F.** Racines développées avec le traitement ILP après 4 semaines de cultures. NM : non mycorhizés, IL : inoculum mycorhizien seul, ILP inoculum local avec *Pseudomonas*, IC : inoculum commercial. Le couvercle de la micro-serre est enlevé.

3.3.5.2. Apport de l'inoculation sur la teneur des feuilles de *T. articulata* en phosphore

L'apport des différents types d'inoculation sous les trois degrés de salinité des sols sur la teneur de phosphore dans les feuilles des plantules de *T. articulata* est représenté dans la figure (4.19. A). La salinité des sols influence négativement la teneur du phosphore dans les feuilles pour les témoins non-inoculés. Par ailleurs, l'inoculum mycorhizien seul et le co-inoculum améliorent la teneur de phosphore dans les feuilles, à l'exception des plantules avec l'inoculum mycorhizien seul dans les sols modérément salins.

En présence du co-inoculum, la teneur en phosphore des feuilles est élevée dans les sols non-salins et les sols modérément salins. Elle est deux fois plus élevée dans les sols salins en comparaison avec les témoins non-inoculés.

Avec l'addition de l'inoculum mycorhizien seul, la teneur du phosphore dans les feuilles est doublée dans les sols non-salins et salins en comparaison avec les témoins non-inoculés (Figure 4.19. A).

Une corrélation positive est enregistrée entre le taux de colonisation racinaire et la teneur du phosphore dans les feuilles, excepté pour les témoins des sols salins et pour les plantules avec l'inoculum commercial (Tableau 4. 15). Un effet significatif de l'inoculum mycorhizien seul et du co-inoculum sur la teneur des feuilles en phosphore est observé à $p < 0.001$. Toutefois, la salinité des sols affecte négativement la teneur des feuilles en phosphore à $p < 0.001$.

3.3.5.3. Apport de l'inoculation sur la teneur des feuilles du *T. articulata* en azote

Une augmentation du taux d'azote dans les feuilles est enregistrée avec le co-inoculum par rapport aux témoins non-inoculés indépendamment du degré de salinité des sols. En moyenne, le taux d'azote est d'environ le double dans les sols salins (BG, RS, Z) et non-salins (AO, MES, MRS), et il est d'environ 4 fois plus élevé dans les sols modérément salins (LG, HB, KB, DU).

En outre, le co-inoculum et l'inoculum mycorhizien seul augmentent la teneur en azote dans les feuilles plus que l'inoculum commercial dans les sols non-salins et

modérément salins. En revanche, c'est uniquement le co-inoculum qui augmente la teneur de l'azote dans les feuilles des plantules des sols salins.

L'inoculum commercial a stimulé la teneur de l'azote dans les feuilles du *T. articulata* dans les sols non-salins plus que les deux autres inoculums. Dans le sol non-salin MES, la teneur en azote est 8 fois supérieure que dans le témoin.

Aucun effet significatif de la salinité des sols sur la teneur en azote dans les feuilles n'a été enregistré. En revanche, un effet significatif de la combinaison « traitement x salinités » est enregistré à $p < 0.05$ (Tableau 4.14).

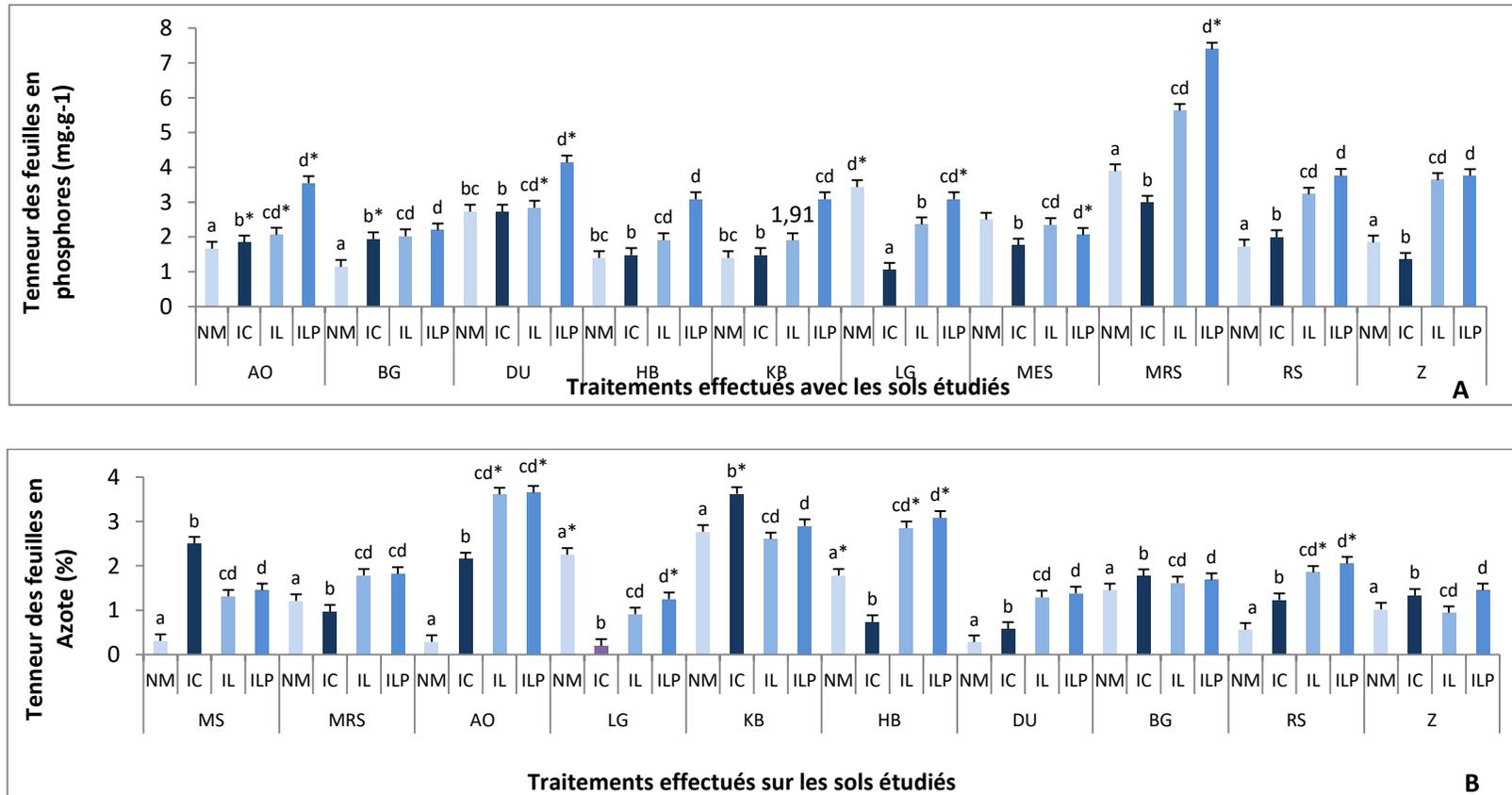


Figure 3.3.5. Teneur en phosphore et en azote des feuilles de *T. articulata*. **A.** Teneur en phosphore. **B.** Teneur en Azote. MES : Messaad.

MRS : El-Mesrane. AO : Ain-Oussera. LG : Laghouat. HB : Hassi Bahbah. KB : Kasr-El-Boukhari. DU : Djelfa. BG : Boughzoul. RS : Rocher de sel. Z : Zaafrane. NM : non-mycorhizé, IC : inoculum commercial, IL : inoculum mycorhizien seul, ILP : inoculum mycorhizien seul avec *P. fluorescens*. Les données sont représentées selon la moyennes \pm écart type. Les moyennes sont obtenues à partir de 3 réplicas par traitement. Les lettres étiquetées indiquent la différence significative entre les plantules selon le test LSD ($p < 0.05$).

Tableau 3.3.4 : Analyse statistiques sur les paramètres étudiés

Paramètres	Corrélation avec la salinité du sol	Corrélation avec le taux de mycorhization	Effet Traitement	Effet salinité du sol	Effet traitement x salinités
Biomasse aérienne	-0,8133***	0.22*	ns	ns	Ns
Biomasse racinaire	-0.15ns	0,4088***	*	**	**
Phosphore	0.29ns	0.242*	**	**	**
Nitrogène	-32ns	0.07ns	*	ns	*
Nombre total de spores	-0.35ns	0.32***	*	*	**
Taux de mycorhization	-0.36*	-0.36*	*	*	**
Biomasse aérienne des plantules après transplantation	-0.17ns	0,7622**	*	ns	Ns

ns : non significatif, * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** : $p < 0.0001$.

3.3.6. Transplantation de *T. articulata* sur sol naturel

Le calcul de la biomasse aérienne des plants de *T. articulata* après 10 semaines de culture révèle que les valeurs moyennes de la biomasse aérienne obtenue avec l'inoculum mycorhizien seul et le co-inoculum ont présenté une différence significative par rapport aux plantules avec l'inoculum commercial dans les trois types de sols (Figure 4.21). Le co-inoculum stimule la biomasse aérienne d'environ 1.4, 5.3 et 1.2 fois plus que le témoin, respectivement dans les sols non-salins, modérément salins et salins. Tandis que pour l'inoculum commercial, la biomasse est stimulée d'environ 0.8, 4.6 et 0.42 fois plus que le témoin, respectivement dans les sols non-salins, modérément salins et salins.

Les valeurs du taux de colonisation racinaire évaluées après 10 semaines de culture de *T. articulata* dans les sols naturels sont représentées dans la Figure 4.22. Les plantules avec l'inoculum commercial présentent un taux de colonisation racinaire significativement différent du témoin avec les sols modérément salins. Une corrélation positive entre la biomasse des plantules et le taux de colonisation racinaire est enregistrée ($r=0.768^{**}$). Un effet positif des traitements d'inoculation est également observé. (Tableau 4.14).

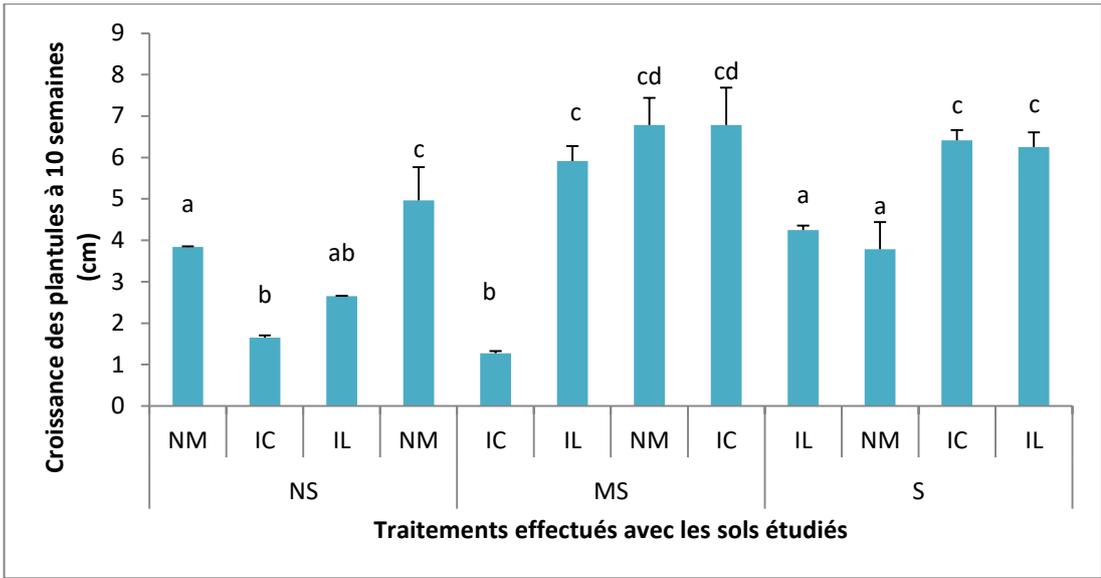


Figure 3.3.6. Biomasse aérienne des plants de *T. articulata* après 10 semaines de transplantation. Les données sont représentées selon une moyenne \pm écart type. Les moyennes sont calculées à partir de 2 réplicas par traitement. Les lettres étiquetés indiquent la différence significative entre les plantules selon le test LSD ($p < 0.05$).

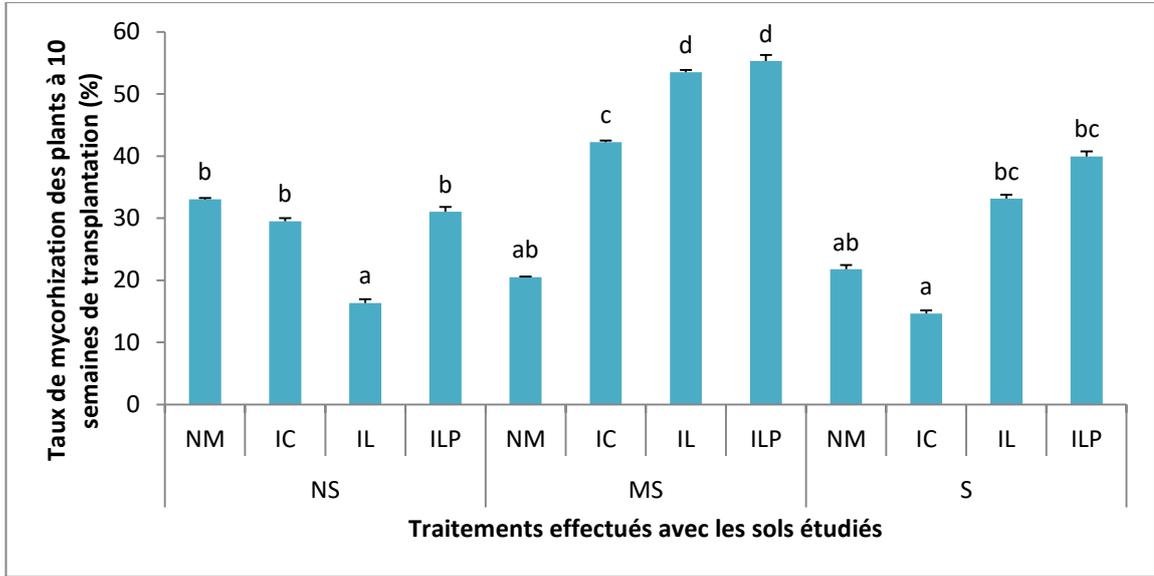


Figure 3.3.7. Taux de mycorhization total des plants de *T. articulata* après 10 semaines de transplantation. Les données sont représentées selon une moyenne. Les moyennes sont calculées à partir de 2 réplicas par traitement avec 5 lames par échantillon et 3 observations par lame. Les lettres étiquetées indiquent la différence significative entre les plantules selon le test LSD ($p < 0.05$).

3.3.7. Discussion

Les premiers résultats de cette partie révèlent que *T. articulata* et *T. gallica* présentent une dépendance mycorhizienne vis-à-vis de *R. irregularis*. La dépendance mycorhizienne de *T. articulata* est d'environ deux fois plus élevée que celle de *T. gallica* (30% par rapport à 17%). Ces résultats concordent avec les résultats précédents de MATHR et VYAS [332] qui ont rapporté une dépendance mycorhizienne de *T. articulata* vis-à-vis de *Gigaspora margarita* et *Glomus fasciculatum*, pour la biomasse et la nutrition minérale dans des sols salins.

RENUKA *et al.*, [333] quant à eux démontrent que la dépendance mycorhizienne varie en fonction des espèces de CMA utilisées pour l'inoculation. SAN-GABRIEL-CODE *et al.*, [334] expliquent que la dépendance mycorhizienne est variable selon les espèces végétales et le génotype de la plante. En outre, la dépendance mycorhizienne influence le degré de bénéfice obtenu une fois la symbiose installée [335]. Suite à cela, et sur la base de ces résultats de la dépendance mycorhizienne, notre choix s'est porté sur *T. articulata* pour poursuivre notre étude.

La performance de trois types d'inoculum (un commercial et deux autochtones, un avec les CMA seuls et le second contient les CMA autochtones combiné avec *P. fluorescens* endophyte autochtone) est testée vis-à-vis de la croissance et la nutrition minérale à différents degrés de salinité des sols.

Les observations microscopiques des racines colorées des plantules de *T. articulata* prélevées à partir des pots à 10 semaines de cultures ont montré l'absence de structures mycorhizienne chez les racines des plantules avec l'inoculum commercial dans les sols salins. Tandis qu'après 24 semaines de culture et avec le même inoculum, une colonisation des racines avec des CMA est significativement apparente dans les différents sols étudiés. Cette colonisation à 24 semaines varie entre une moyenne de 13.02% pour les sols non-salins, 17.11% pour les sols modérément salins et 13.81% pour les sols salins. Ces résultats suggèrent que l'inoculum commercial nécessite plus de temps pour établir sa symbiose comparativement aux autres inoculums dans les sols salins. Ceci serait dû à l'effet direct de la salinité sur la germination des spores des CMA, l'élongation hyphale et/ou l'installation de la symbiose [17] ; [165].

L'inoculation des plantules de Tamarix avec le co-inoculum (CMA autochtones et *P. fluorescens* endophyte autochtone) dans les sols salins a conduit à un taux de colonisation racinaire plus élevé que ce soit à 10 ou à 24 semaines comparativement aux plantules avec l'inoculum commercial et aux plantules non-inoculées. La moyenne de la colonisation est de 24.32% après 24 semaines de culture. Ces résultats sont conformes à ceux de GARG et PANDEY [17] qui ont observé un taux de colonisation racinaire élevé chez *Cajanus Cajan* avec un inoculum autochtone en le comparant à un inoculum commercial sur des sols salins.

BONA et *al.*, [329] ont également démontré que la co-inoculation avec un mélange de CMA autochtone combiné avec *Pseudomonas sp* appliquée à des plantules de fraisiers donne des taux de colonisation racinaire élevés. La différence dans les résultats des taux de colonisation racinaire entre d'une part, l'inoculum mycorhizien seul, le co-inoculum et d'autre part l'inoculum commercial peut être attribuée aux caractéristiques spécifiques des CMA [160] et à leur capacité d'adaptation aux conditions environnementales [336].

De plus, la compatibilité entre la plante hôte et l'inoculum peut être influencée par les exsudats racinaires. Un résultat similaire a été montré par ESTRADA et *al.*, [163], qui ont observé une augmentation de la capacité à la mycorhization chez *Asteriscus maritimus* inoculé avec une souche de *R. irregularis* autochtone, isolée des sols salins, par comparaison avec une souche de *R. irrégularis* commerciale. En outre, cette différence peut être expliquée par la cinétique de la colonisation arbusculaire. En effet, BOUSSELMANE et *al.*, [337] expliquent que la cinétique de la mychorization se déroule selon trois phases : une phase de latence (phase a-symbiotique), une phase de croissance rapide (phase pré-symbiotique) et une phase constante (plateau= phase symbiotique). Dans le cas de l'inoculum commercial, la phase de latence, correspondant probablement à une phase d'adaptation, a été plus longue dans les sols salins par rapport aux inoculums autochtones.

L'accroissement du taux de mycorhization avec le co-inoculum est dû à l'action positive des bactéries lors de la phase "pré-symbiotique" des CMA [230]. En effet, MIRANSARI [152] explique que l'interaction entre les CMA et les bactéries opère dans la rhizosphère avant l'installation de l'inoculation ou juste au début de l'établissement de la symbiose tripartite CMA/Bactérie/Plante.

Toutefois, l'isolement des spores à partir des pots de *T. articulata* après 24 semaines de culture indique que tous les CMA isolés appartiennent au phylum des Glomeromycota. *F. geosporum* et *F. mosseae* sont les deux espèces les plus abondantes dans les sols inoculés tandis que *C. constrictum* abonde dans les sols non-inoculés. Quelques espèces de Rhizophagus et de Gigaspora sont également détectées.

L'abondance de *F. geosporum* indique une meilleure adaptation de cette espèce aux sols salins. En effet, *F. geosporum* a été récemment décrite dans la rhizosphère de *T. ramosissima* dans les marécages salins [57] et dans les sols naturellement salins dans la rhizosphère de *T. articulata* [21]; [286]. Aucun effet significatif des traitements d'inoculation sur le nombre de spores n'a été enregistré. Néanmoins, une tendance à observer un nombre plus élevé de spores dans les sols salins avec le co-inoculum est à noter. Un tel résultat, suggère que l'addition de *P. fluorescens* à l'inoculum autochtone peut potentiellement stimuler la sporulation des CMA dans les sols salins. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par [338] PANNEERSELVAM et al., (2012), qui ont montré que la combinaison entre *G. mosseae* et *Pseudomonas putida*, améliore significativement la colonisation et la prolifération des spores des CMA en plus de l'amélioration de la croissance végétale des plantules de *Goyave*. VAN DER HEIJDEN et al., [300] ont observé que l'accroissement de la diversité des champignons mycorhiziens génère une augmentation significative de la longueur des hyphes mycorhiziennes. Ceci permet une meilleure exploration du sol d'où une meilleure utilisation des ressources disponibles en éléments minéraux.

Cette étude a démontré la capacité des micro-organismes à améliorer la croissance de *T. articulata* dans des conditions de salinité naturelle des sols. Un effet positif des inoculums autochtones (inoculum mycorhizien seul et co-inoculum) est observé sur la biomasse aérienne et racinaire des plantules de *T. articulata* en comparaison avec les plantules colonisées avec un inoculum commercial ainsi qu'avec les plantules non-inoculées.

Ces effets positifs sont plus significatifs dans les sols modérément salins (LG, HB, KB, DU). Des résultats semblables ont été montrés par BONA et al., [329] et D'ORTIZ et al., [339]. Ces auteurs ont observé un effet positif d'un co-inoculum à base de CMA autochtones et de *Pseudomonas sp* sur la croissance des plantules de Fraisiers et de Trèfle.

Ceci peut être attribué à l'action des *Pseudomonas*, qui favorisent la production d'auxine et de cytokinine en plus de leur effet stimulateur sur la colonisation racinaire par les CMA [309]. Il a été précédemment prouvé que l'interaction synergique entre les CMA et les bactéries comme *Rhizobia*, *Azospirillum* et *Pseudomonas* peut stimuler la croissance des plantes [152] ; [340].

L'effet plus modeste de l'inoculum commercial sur la croissance des plantules de *T. articulata* peut être dû au fait que les souches commerciales peuvent être néfastes ou compétitrices des souches autochtones [16]. Les souches autochtones présentes naturellement dans le sol, se sont montrées plus résistantes et arrivent à inhiber et à rendre inactifs les souches de CMA commerciales [17].

L'amélioration de la croissance des plantules de *T. articulata* inoculées résulte de l'amélioration de la nutrition minérale. Une corrélation positive est enregistrée entre les taux de colonisation racinaire par les CMA, la biomasse des plantules de *T. articulata*, les teneurs en phosphore et en azote dans les feuilles avec les deux inoculums autochtones indépendamment du degré de salinité des sols. En revanche, dans le cas de l'inoculum commercial, une corrélation positive est enregistrée uniquement dans le cas des sols modérément salins entre d'une part le taux de colonisation racinaire, et d'autre part la biomasse des plantules et la teneur en phosphore.

En effet, la co-inoculation améliore la quantité de phosphore des feuilles dans les trois types de sols étudiés. En outre, la co-inoculation améliore la teneur des feuilles en phosphore deux fois plus que l'inoculum commercial. Ces résultats corroborent ceux de VYAS et VYAS [340] qui ont démontré que la teneur en phosphore des plants de *Capsicum mathania* est nettement améliorée par la co-inoculation avec *Glomus deserticola* plus *Azospirillum* qu'avec une simple inoculation avec *G. deserticola*. De même, SINGH et al., [341] ont enregistré un effet positif de la co-inoculation sur la teneur en phosphore des feuilles de *Coleus forskohlii* inoculé avec un mélange de *Glomus fasciculatum* et *Pseudomonas monteilii*.

Par ailleurs, il est remarqué que la salinité des sols réduit considérablement la teneur du phosphore dans les feuilles des plants non-inoculés. Ce résultat peut être expliqué par le fait que les ions phosphate précipitent en présence des ions Ca^{+2} , Mg^{+2} et

Zn^{+2} dans les sols salins et deviennent inaccessibles à la plante [160]. Cet effet négatif peut être atténué par les CMA ([160] ; [163]).

En outre, les trois traitements d'inoculations ont présenté un effet positif sur la teneur en azote dans les feuilles dans la majorité des sols étudiés, à l'exception du sol modérément salin LG. Ce qui est attribué à l'effet stimulateur des CMA [17] ; [144]. Il est prouvé que les CMA ont la capacité de prélever l'azote organique et inorganique du sol et le transférer directement à la plante hôte [342]. En parallèle, Les bactéries augmentent la biodisponibilité de l'azote vers la plante hôte, ce qui est plus accentué quand la plante est colonisée par les CMA [14] ; [229]. Ces études confirment l'effet positif du co-inoculum observé dans la présente étude.

Cependant, dans les sols salins, il est démontré que la plante accumule les ions Na^{+} qui altère directement le fonctionnement physiologique de la membrane et perturbe l'activité enzymatique de la Nitrate-réductase [160]. Dans ce cas les CMA interviennent par une prés-sélection des nutriments tout en accumulant des ions K^{+} qui inhibent les ions Na^{+} [17].

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Le phénomène de désertification s'accroît de jour en jour suite aux changements climatiques et aux actions anthropiques. La région steppique est la première région en Algérie concernée par ce phénomène. La biodiversité est menacée par ces changements globaux. Son étude et son suivi sont indispensables pour sa préservation et son utilisation dans les programmes de lutte contre la désertification. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail de thèse. Cette étude contribue à une meilleure connaissance de la biodiversité des CMA et des bactéries endophytes auxiliaires, notamment *Bacillus* et *Pseudomonas*, des sols salins des régions steppiques arides et semi-arides algériennes, en particulier au niveau de la rhizosphère des deux espèces végétales halophytes : *T. articulata* et des *T. gallica*.

Dix sites ont été choisis en fonction de leurs caractéristiques écologiques (étage bioclimatique, altitude, texture de sol, taux de salinité...etc). Dans chacun des sites, nous avons sélectionné cinq individus de *T. articulata* et cinq de *T. gallica*. L'échantillonnage s'est effectué sur les quatre saisons de la même année.

Concernant les CMA, environ 12500 spores ont été isolées à partir de l'ensemble des sites et identifiées comme appartenant à 11 espèces de CMA. La famille des Glomeraceae a été représentée par 5 espèces : *Funneliformis mosseae*, *F. geosporum*, *F. coronatum*, *Rhizophagus diaphanus*, *Rhizophagus fasciculatus*, les deux familles Claroideoglomeraceae et Gigasporaceae sont représentées chacune par une espèce, qui sont respectivement *Claroideoglossum (Septoglossum) constrictum* et *Gigaspora gigantea*. Les espèces *C. constrictum*, *F. geosporum* et *F. mosseae* sont les espèces les plus abondantes dans les différents sites. Une association entre des espèces de CMA et certains sites a également été observée. Il est à signaler que parmi les spores isolées, quatre espèces de gloméroïdes n'ont pu être identifiées. Elles pourraient correspondre à de nouvelles espèces, réparties sur les dix sites étudiés.

La première partie de cette étude fournit des informations sur la biodiversité des CMA dans la rhizosphère de *T. articulata* et *T. gallica* en fonction des saisons, de la phénologie des plantes et des caractéristiques édaphiques des sites étudiés. Nos résultats montrent que la variation saisonnière n'influe pas directement sur la biodiversité des espèces de CMA, mais sur leur abondance. Le taux de colonisation racinaire de *T. articulata* et de *T. gallica* par les CMA et la biodiversité des espèces de CMA varient en fonction de la phénologie des plantes et des paramètres écologiques. Les espèces *C.*

constrictum, *F. mosseae*, *F. geosporum*, *R. fasciculatus*, *F. coronatum* et *G. sp1* sont communes aux dix sites étudiés. Tandis qu'une association entre les espèces *R. diaphanus*, *Gi. gigantea*, *G. sp2* et *Gsp4* est observée respectivement avec les sites KB, HB, RS et MRS. Ce qui suggère une influence des paramètres abiotiques sur la distribution des espèces de CMA.

La colonisation des racines varie en fonction des saisons et des caractéristiques pédologiques. En outre, les racines de *T. articulata* ont été colonisées beaucoup plus abondamment que celles de *T. gallica*, indépendamment des sites et des variations saisonnières. Cette observation indique que *T. articulata* établit plus facilement des symbioses mycorhiziennes arbusculaires dans les sols perturbés en raison probablement d'une reprise végétative plus rapide qui engendre une différenciation plus avancée des racines secondaires.

Parallèlement à l'inventaire des CMA, une étude des bactéries endophytes a été réalisée révélant une richesse en *Bacillus* deux fois plus importante chez *T. gallica* que chez *T. articulata*. Le genre *Pseudomonas* est représenté par 4 espèces. L'espèce *P. luteola* n'existe que chez les racines de *T. gallica* dans quatre sites avec une gamme de salinité moyenne. Deux espèces de *Pseudomonas* sont détectées dans les sites avec un niveau de salinité élevée. Ceci nous permet de conclure que la richesse bactérienne est fortement influencée par la salinité des sols.

Étant donné que l'espèce *T. articulata* est plus abondamment mycorhizée par rapport à l'espèce *T. gallica*, celle-ci a été sélectionnée pour évaluer l'impact de la salinité du sol sur la biodiversité des CMA et sur la variabilité de la microflore tellurique au niveau de la rhizosphère de la plante dans les régions arides et semi arides. Ces premières recherches sur le microbiome associé à la rhizosphère de *T. articulata* dans des sols salins révèlent une biodiversité en CMA avec sept espèces de Glomeromycètes, en plus d'une colonisation racinaire vésiculo-arbusculaire existante sous des conditions environnementales salines. De plus, nos résultats ont montré que la biomasse bactérienne augmente avec l'augmentation de la salinité naturelle des sols. D'un autre côté, les champignons saprotrophes ont persisté dans les sols à salinité élevée. Ces résultats déterminent la capacité du microbiome associé à la rhizosphère de *T. articulata* à s'adapter

aux stress salins naturels. Ce qui inspire le développement et l'exploitation de cette richesse microbienne en vue de réhabiliter les surfaces arides et semi-arides dégradées.

Sur la base des résultats obtenus dans les deux premières parties, la troisième partie de cette étude a consisté à tester l'ajout de différents inoculums sur des plantules de *T. articulata* dans des sols avec des degrés de salinité variables allant de 0.54 à 0.8 ds m⁻¹ pour les sols non salins ; de 1.82 à 2.95 ds m⁻¹ pour les sols modérément salés et entre 4.15 et 9.93 ds m⁻¹ pour les sols salins. Trois types d'inoculum sont testés : un inoculum mycorhizien commercial, un inoculum autochtone à base de souches de CMA autochtones et un co-inoculum à base des souches autochtones de CMA et de *Pseudomonas fluorescens*. Nos résultats ont montré que l'ajout d'un inoculum autochtone à base de CMA seuls ou d'un co-inoculum autochtone combinant des CMA et une bactérie auxiliaire *P. fluorescens* conduit à des taux de colonisation plus importants et améliore significativement la croissance des plants de *T. articulata* par rapport à l'inoculum commercial. Cette meilleure croissance est due à une amélioration de la nutrition minérale notamment en phosphore et en azote. Il semblerait que l'inoculum commercial nécessite plus de temps pour établir une symbiose avec les racines du *T. articulata*. L'inoculation des boutures de *T. articulata* en pépinière que ce soit avec les CMA seules ou combinés avec des souches bactériennes autochtones constitue un outil biotechnologique qui s'est révélé efficace sur les sols salins des zones arides et semi-arides.

Les techniques d'amélioration biologiques basées sur l'inoculation mycorhizienne des plantes en vue de restaurer les zones arides et semi-arides présentent non seulement des bénéfices écologiques, mais des gains économiques sont également perçus. En effet, ces modèles biologiques basés sur la valorisation des symbioses plante/champignons mycorhiziens/bactéries auxiliaire ont montré de manière indéniable le rôle majeur que pourrait jouer ce processus symbiotique pour assurer le succès d'une gestion durable des sols.

L'ensemble de ces résultats permet d'envisager plusieurs perspectives à la fois fondamentales et appliquée parmi lesquelles :

1. Affiner l'étude de l'identification et de caractérisation des populations microbiennes, en particulier mycorrhiziennes, des sols salins en faisant appel à des outils de biologie moléculaire. Cette étude sera basée sur le décryptage du génome du microbiote du sol (métagénomique) pour isoler des souches indigènes tolérantes à la salinité et efficaces dans la revégétalisation et la restauration des sols dégradés des zones arides et semi-arides. Les profils taxonomiques seront analysés principalement par l'utilisation du séquençage à haut débit de marqueurs génétiques sélectionnés pour leur résolution phylogénétique (analyse des séquences ITS et 16S d'ADN ribosomique pour les champignons et bactéries respectivement).
2. Compléter l'étude de la symbiose arbusculaire chez *Tamarix articulata* en identifiant précisément la ou les souches de CMA colonisant cette espèce de *Tamarix* en se basant sur l'amplification et le séquençage de l'ADN des CMA à partir de spores ou de racines colonisées. La technique consiste à amplifier la région de l'ADN ribosomique qui code les différents ARN ribosomiques (ARNr), 5S, 18S, 28S et 5.8S, en utilisation des amorces nucléotidiques universelles et spécifiques aux espèces ciblées de CMA. En plus, la PCR nichée de la LSU de l'ADN ribosomique peut être appliquée pour détecter les espèces de CMA colonisant les racines.
3. Étudier les mécanismes biochimiques et moléculaires impliqués dans la tolérance de *Tamarix articulata* mycorhizée à la salinité en mesurant les marqueurs du stress oxydant tel que le malondialdéhyde (marqueur de peroxydation lipidique), la 8-OHdG (marqueur d'altération de l'ADN), les activités enzymatiques du système anti-oxydant comme la superoxyde dismutase (SOD) et la peroxydase (POX) ainsi que l'expression de certains gènes comme par exemple des gènes de résistance au stress oxydant codant pour la SOD (*MtSOD*), la glutarédoxine (*MtGRX*), la POX (*MtPOX*) et l'ascorbate peroxydase (*MtAPX*); des gènes impliqués dans la réparation de l'ADN : le facteur d'élongation de la transcription TFIIS (*MtTFIIS*), les Tyrosyl-ADN phosphodiesterase α et β (*MtTdp1\alpha* et *MtTdp1\beta*). Plusieurs études ont révélé une

induction de ces gènes en présence de divers stress (métaux, ozone, osmotique) [343] ; [344] ; [345] ; [346].

4. Produire et valoriser l'inoculum local autochtone (à base de CMA et/ou associé aux bactéries auxiliaires), bien adapté aux conditions environnementales hostiles (salinité élevée, température, sol dégradés et carencés...) en l'appliquant sur d'autres espèces végétales et sols salins afin d'exploiter une plus grande surface de ces sols qui sont dominants dans les zones arides et semi-arides, notamment en Algérie.

APPENDICES

APPENDICE A: Article 1: (Paru dans *Applied soil ecology*).

APPENDICE B: Article 2: (Paru dans : Sciences of the total environment).

APPENDICE C: Article 3 (Soumis dans Mycorrhiza) :

“Effectiveness of co-inoculation with native arbuscular mycorrhizal fungi and *Pseudomonas fluorescens* on growth of *Tamarix* shrubs in saline soils”.

Introduction

Tamarix plants have a worldwide distribution including arid and semi-arid Algerian areas (Belarouci 1991). These trees were introduced from Europe to United States in the 1800's (Beauchamp et al. 2005) and to North Africa in the first middle of 1900's (DGF 2000), as windbreakers and for erosion control (Brock 1994; Zavaleta 2000; DGF 2000). Tamarix are also deep-rooted plants highly tolerant to drought and salinity (Zavaleta 2000). During the last decade, several extensive restoration projects expanded using Tamarix species alone or associated with other species such as cypress (*Cypresus* spp) (ERGR 2013) and poplar trees (*Populus* spp) (Taylor and McDaniels 1998; Beauchamp et al. 2005; McDaniel and Renz 2007). A neglected aspect of those restoration efforts is the role played by mycorrhizal symbiosis and root-inhabiting soil microorganisms in the revegetation of disturbed areas (Smith and Read 2008).

Tamarix are mycotrophic plants naturally associated with the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) (Beauchamp et al. 2005; Chaudhry et al. 2013; Bencherif et al. 2015). Symbiotic fungi involved in plant community interactions and in the ecosystem productivity and plant diversity (Smith and Read 2008). AMF and symbiotic bacteria closely interact with roots, improving plant growth and health (Dey et al. 2006; Smith and Read 2008; Bona et al. 2015), enhancing biocontrol efficiency, abiotic stress management and phytoremediation (Ramasamy et al. 2011). AMF improve plant mineral nutrition, hormone biosynthesis and consequently plant metabolism (Lingua et al. 2012; Baslam et al. 2013; Bona et al. 2015). The impact of AMF on host plants depend on the mycorrhizal potential of the fungal inoculant, on the plant host mycorrhizal dependency as well as on the soil and environmental conditions in which the association occurs (Hoeksma et al. 2010; Johnson 2010; Sikes et al. 2014). *Pseudomonas* bacteria are known to stimulate plant growth both through biosynthesis of plant hormones, reduction of stress-ethylene produced by plants, nitrogen fixation and phosphate solubilization (Bonfante and Anca 2009). *Pseudomonas* bacteria may also promote plant growth by improving mycorrhizal symbiosis establishment and functioning (Dey et al. 2006), by supporting the spore

germination and mycelia extension of AMF (Frey-Klett et al. 2007; Ramasamy et al. 2011).

In stressed soils, such as saline soils of arid and semi-arid areas, it has been found that shrub trees like *Tamarix* species were more appropriate for the revegetation than forest trees (Belarouci 1991). It has also been shown that AMF assist shrub nutrition and growth (Duponnois et al. 2005) and insure protection under saline stresses (Evelin et al. 2009; Estrada et al. 2013). AMF inoculation associated with symbiotic bacteria can improve plant growth (Johnson 2010; Xun et al. 2015) and positively influence the physiology of plants (Ramasamy et al. 2011). This emphasizes the importance of testing the effectiveness of different AMF strains to develop inoculum suitable for *Tamarix* seedling production with the aim to revegetate the stressed soil areas (Varma 1999; Miransari 2011).

Several investigations using *Tamarix ramossissima* have already been carried out under greenhouse conditions using inoculated plants (Beauchamp et al. 2005; Meinhardt and Gehring 2012; Tanigushi et al. 2015), but limited investigations concerned *Tamarix articulata* and *Tamarix gallica*, two species frequently encountered under steppic Algerian environments.

The first investigation on the determination of microorganisms associated to *T. articulata* rhizosphere revealed an interesting AMF biodiversity under adverse saline environmental conditions. Moreover, it was shown that even mycorrhizal colonization rate of *T. articulata* decreased when salinity level increased, it was not completely inhibited and remained possible (Bencherif et al. 2015). In the present study, *T. articulata* and *T. gallica*, pot-culture greenhouse experiments were undertaken in order to (i) evaluate the benefit of AMF inoculation on *T. articulata* growth and mineral nutrition under soil salinity conditions and (ii) to compare the efficiency of commercial and native inoculum while tested alone or in combination with the endophytic bacteria, *Pseudomonas fluorescens*.

Material and methods

Mycorrhizal dependency

T. articulata and *T. gallica* cuttings were sampled from mature shrubs (10 to 20 years) devoid of any apparent infection. Cuttings were stored at 4°C for 15 days. The cutting base was sterilized with hydrogen peroxide (10%) solution for 5 min and then rinsed in sterile distilled water to remove any trace of chemical that could interfere with

seedling development. Plantation was elaborated in greenhouse at 25°C. Ten replicates for each treatment per plant were done. Substrate was composed of a mixture of black peat compost, resinous bark and wood (1:1:1) with a pH of 6.3 and a water retention capacity of 820 ml l⁻¹.

In a first experiment, the mycorrhizal dependency (MD) of *T. articulata* and *T. gallica* inoculated with commercial inoculum *Rhizophagus irregularis* (DAOM 197198) (Myke pro, Premier Tech, Canada), as granules with a concentration of 500 propagules/g was evaluated according to the method described by Hetrick et al. (1992). Mycorrhizal dependency (MD) is evaluated as follow:

$$\text{MD} = [(\text{Dry weight of mycorrhizal plants} - \text{Dry weight of non-mycorrhizal plants}) / \text{Dry weight of non-mycorrhizal plants}] \times 100.$$

Production of native inoculum

Tamarix native rhizosphere soil was harvested from naturally grown shrubs located in the experimental arid and semi-arid Algerian areas (Table 1). One volume of soil from each prospected location was mixed with one volume of sterilized peat soil in pot culture (300 ml) to trap native AMF on alfalfa (*Medicago sativa*) roots according to Fortin et al. (2008). Seeds of alfalfa were previously sterilized in ethanol 90° for 5 min and rinsed with sterile distilled water. Five pots per location were placed under growth chamber conditions with 16 hours photoperiod at 15°C and watered twice a week. After 4 months, greenhouse conditions became 25°C with 12 hours photoperiod. After 10 months, aerial parts were cut and roots were mixed with soil, and new seeds planted for 12 months. The inoculum produced after 22 months consisted of a mixture of different native AMF spores, mycorrhizal alfalfa roots, hyphae and the inert substrate. After the trapping period, spores were extracted from the soils using the wet-sieving method described by Gerdemann and Nicolson (1963). Spores were identified on the basis of their morphological characteristics (Blaskowski 2012; <http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota>). Morphological identification of spores was done on three repetitions in time. Alfalfa roots colonization rate was evaluated according to McGonigle et al. (1991). Each 6 months, spores were extracted to control and identify the species in the native inoculum and root colonization rate was evaluated. During inoculum production, the same AMF species were observed.

***Pseudomonas fluorescens* propagation**

P. fluorescens endophytic bacteria were originally isolated from the *Tamarix* roots and identified according to the methods described by Fages and Mulard (1988). The concentration of the bacterial suspension used for inoculation was 3.3×10^8 cell ml⁻¹ and 30 ml of the suspension was added to each pot culture (Fages and Mulard 1988; Akram 2008).

Mycorrhizal inoculation treatments of *T. articulata* seedlings

The second experiment involved three different AMF inoculation treatments and three soil salinity levels. Three soils harvested from arid and semi-arid areas were used in this experiment. They are classified according to their salinity levels as non-saline (0.6 ± 0.14 ds m⁻¹) (NS), moderately saline (2.3 ± 0.4 ds m⁻¹) (MS) and saline soils (7.5 ± 3.01 ds m⁻¹) (S). Soils chemical characteristics are described in Table 1. Based on the results of the first experiment, *T. articulata* was used as unique host plant. Cuttings were stratified at 4°C for 15 days and planted into pots filled with substrate consisting of autoclaved sand and natural sampled soil (1:1). Control substrate and sand were sterilized twice (120°C and 1 bar for 30min). Three types of inoculum were used: (1) Commercial inoculum (Symbivit®; Inoculum plus, France) consisting of a mix of 6 *Glomus* sp on natural clay carriers and natural ingredients supporting mycorrhiza (hamates, ground minerals, extract from sea organisms), naturally degradable granules of a water-retaining gel, with an average of 50 spores/g, (2) Native inoculum made of trap cultured inoculum containing an average of 40 spores/g and 0.68g/g of AMF colonized root fragments. (3) Co-inoculum with native AMF plus native *P. fluorescens* containing an average of 40 spores/g supplemented with 30ml of a bacterial solution (3.3×10^8 cell ml⁻¹) diluted in MgSO₄ (0.01M). The inoculation methodology described by Akram (2008) modified was used to inoculate *Tamarix* seedlings. Whatever the inoculum type, each pot (capacity of 500 ml) was supplemented with 50 g of inoculum. Non-inoculated plants were supplemented with the equivalent amount of autoclaved inoculum, in order to provide plants with the same organic substances as inoculated plants. The inoculum were placed in the layer beneath the cutting in the pot cultures to facilitate fungal colonization of plant roots. Seedlings were incubated in controlled conditions at 15°C night/day, 10-14 hours photoperiod and 70% humidity. Five replicates were employed for each treatment.

Determination of root and shoot dry weight

After 24 weeks of culture, shoots and roots were harvested and then dried in a hot air oven at 70°C for 72 hours until constant weight. Three plants were used as biological replicates for each treatment.

Determination of phosphorus and nitrogen shoot contents

Dried shoots (1g) were digested in a mixture of boiling sulfuric acid and hydrogen peroxide. Nitrogen content was determined using Kjeldhal method (Muñoz-Huerta et al. 2013). Phosphorus was extracted by HCl acid and evaluated by spectrophotometric method using molybdenum sulfate (Drogha 2011).

Estimation of mycorrhizal rate

All events related to AMF root colonization, namely internal hyphae, arbuscules and vesicles were visualized after 10 and 24 weeks of culture by microscopic observation on Trypan blue-stained roots according to Phillips and Hayman (1970) method modified by Dalpé and Seguin (2013). Root colonization rate was calculated using the grid line intersect method (McGonigle et al. 1990). Two thousand and two hundred fifty root fragments from 50 plants were observed under an optical microscope (x100 magnification). The total mycorrhization rate (containing arbuscules, vesicles and hyphae) was estimated.

Isolation, quantification and identification of AMF spores

AMF spore extraction was performed after 24-weeks plant cultures using a wet sieving method (Gerdemann and Nicolson 1963). Spore morphotypes were described and species tentatively identified using original descriptions of species, identification keys (Blaszkowski 2012) and specialized websites <http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota/index.html> and <http://invam.caf.wvu.edu>.

Statistical analysis

Effects of inoculation treatment and soil salinity level on measured plant growth parameters was assessed according to one way analysis of variance (ANOVA) using Tukey test at significant difference ($p < 0.05$). Pearson's correlation coefficients for all measured parameters (AMF root colonization rate, AMF spores number, shoot and root biomasses, phosphorus and nitrogen contents) were evaluated using XLStat software. Data were

analyzed statistically by mean comparison by the least significant difference test (LSD) using Statgraphics Centerio15 at $p < 0.05$.

Results

Mycorrhizal dependency of *T. articulata* and *T. gallica*

Evaluation of mycorrhizal dependency of *T. articulata* and *T. gallica* revealed that *T. articulata* was much more responsive to AMF *Rhizophagus irregularis* than *T. gallica*, by a factor of 1.7 (Table 2).

AMF trap culture evaluation under different soil salinity levels

The number of spores isolated, from *Medicago sativa* trap cultures after 22 months, were about 46, 32 and 16 spores/g of soil in moderately, saline and non-saline soils respectively (Fig. 1a). *Medicago sativa* root colonization rates followed the same pattern (Fig. 1b). Moderately saline soils showed the highest root colonization rate (65%) and the lowest rate was found in the non-saline soil (35%). The root colonization rate in the most saline soils was about 53%. Native AMF species were: *Septoglomus constrictum*, *Funneliformis geosporum*, *F. mosseae*, *F. coronatum*, *F. caledonium*, *Rhizophagus fasciculatus*, *R. diaphanous* and *Gigaspora gigantea* (Table 3). *S. constrictum* dominated in non-saline and moderate saline soils, while *F. geosporum* was abundant in saline soil.

Impact of mycorrhizal inoculation on *T. articulata* root colonization rate under different soil salinity levels

T. articulata root colonization rates after 10 and 24 week-culture are presented in figure 3. After 10 weeks of plant culture, mycorrhizal rate were 1.7 and 1.5 folds higher when the soil was inoculated with native AMF and co-inoculated with AMF plus *P. fluorescens* respectively as compared to non-inoculated soil. In contrast, in the presence of commercial AMF inoculum, AMF roots were not colonized in saline soil with low root colonization rate in non-saline and moderate saline soils (Fig. 3). After 24 weeks, evaluation of AMF root colonization rate indicates that use of native inoculum and co-inoculum increased significantly total arbuscular mycorrhizal rates comparatively with non-inoculated plants in non-saline and saline soil. They were about 2 and 17 fold higher for the co-inoculation respectively for non-saline and saline soils and about 1 fold and 15 fold higher respectively in non-saline and saline soil with native AMF inoculum. With

commercial inoculum AMF mycorrhizal rate was 6.6 fold higher than at 10 weeks for saline soil and about 33.4 fold higher in moderate saline soil.

A positive correlation was recorded between root colonization rate and shoot biomass in moderately saline soil for all studied inoculums and for co-inoculum in saline soils (Table 5). For non-inoculated soil, positive correlation was recorded between root colonization rate and plant biomasses on non-saline and moderate saline soils. Root colonization rate recorded positive correlation with spore number on commercial inoculum on saline soils, with native inoculum on moderate saline soils and with co-inoculum on non-saline and saline soils (Table 4). Significant effect was recorded for inoculation treatment on mycorrhizal rate at $p < 0.01$. Similarly, soil salinity level had a significant effect on root mycorrhizal rate (Table 6).

Impact of mycorrhizal inoculation on AMF spore abundance and biodiversity in *T. articulata* rhizosphere under different soil salinity levels

AMF spores isolated from *T. articulata* rhizosphere cultured in pot during 24 weeks under different soil salinity levels were identified and quantified (Table 4). They belong to Funneliformis, Septoglomus, Rhizophagus and Gigaspora genera. Eight species were identified as *F. geosporum*, *F. mosseae*, *F. caledonium*, *F. coronatum*, *S. constrictum*, *Gi. gigantea*, *R. diaphanous*, *R. fasciculatus* and one non-identified glomoid spore species. While, *S. constrictum* was the most abundant species in non-inoculated soils regardless soil salinity level, *F. geosporum* and *F. mosseae* were the most abundant species in co-inoculated non-saline, moderate saline and saline soils. With AMF native and commercial inoculums, *F. geosporum* was the most abundant species in the three studied soil. *Gi. gigantea* was not recorded in saline soils.

Impact of mycorrhizal inoculation on *T. articulata* growth under different soil salinity levels

Impact of inoculation by the three different mycorrhizal inoculum types (commercial inoculum, AMF native inoculum and co-inoculum with AMF plus *P. fluorescens*) on *T. articulata* growth is presented in Figure 2 a, b. Whereas, no effects of inoculation on root and shoot biomasses were observed with the commercial inoculum in moderately and saline soils, a significant increase was recorded in non-saline soil in comparison with non-inoculated non-saline soil. In contrast, positive effects on shoot

biomasses were observed with the AMF native inoculum and co-inoculum on moderate saline soils. Shoot biomasses were about 1.07 and 1.08g respectively with native inoculum and co-inoculum in moderate saline soils, while it was about 0.7g in non-inoculated plants and with commercial inoculum. Moreover, AMF native inoculum and co-inoculum improved *T. articulata* root biomass in moderate saline soil. It was 2 folds higher than in non-inoculated moderate saline soil.

While AMF inoculation showed significant positive effect on root biomass at $p < 0.001$. In addition significant negative effect of soil salinity level on roots biomass was showed. No significant effect was observed on shoot biomass (Table 5).

Phosphorus and nitrogen shoot contents

The impact of inoculation treatment under three soil salinity levels on *T. articulata* shoot phosphorus content is showed in figure 4a. Soil salinity significantly reduced *T. articulata* shoot phosphorus content in non-inoculated soils. However, addition of native inoculum and co-inoculum enhanced phosphorus content except for native inoculum in moderate saline soil. In the presence of the native co-inoculum, phosphorus content was about 1 fold higher in non-saline and moderate saline soils and about 2 folds higher in saline soils comparatively to non-inoculated soils. With addition of native inoculum, phosphorus shoot content was enhanced about 1 fold in non-saline and saline soils as compared with non-inoculated soil.

Positive correlation was recorded between root colonization rates and phosphorus contents except for saline soil in non-inoculated soil and in the presence of commercial inoculum (Table 4). Significant positive effect of AMF native inoculum and co-inoculum on phosphorus shoot content was recorded ($p < 0.001$). However, soil salinity was found to affect significantly phosphorus shoot content at $p < 0.001$ (Table 5).

Increases in nitrogen shoot content were obtained with co-inoculum as compared with non-inoculated soils whatever the salinity soil levels. They were about 1 fold higher in non-saline and saline soil and about 3.8 folds higher in moderately saline soils. In addition, native co-inoculum and inoculum increased shoot nitrogen content more than commercial inoculum in non-saline and moderately saline soils and for saline soil only with co-inoculum.

Discussion

In the first part of the present study, it was revealed that *T. articulata* and *T. gallica* were dependent on AMF (*R. irregularis*) symbiosis. The mycorrhizal dependency of *T. articulata* was almost two times higher than for *T. gallica* (30% versus 17%). These results agree with an earlier study of Mathr and Vyas (2000), which reported that *T. articulata* shows tremendous dependency on AMF (*Gigaspora margarita* and *Glomus fasciculatum*) for biomass production and nutrient uptake in saline soils. Renuka et al. (2012) demonstrated that mycorrhizal dependency varied according to the AMF species used as inoculum in *Acacia melanoxylon*. Declerck et al. (1995) explained that mycorrhizal dependency varied greatly according to plant species and plant genotype (Sangabriel-conde et al. 2014). Moreover, plant dependency to mycorrhizal colonization can affect plant response and plant benefits from mycorrhizae (Dalpé and Monreal, 2004). This result conducted us to select *T. articulata* to pursue experimentations on growth and salt tolerance of *Tamarix* experiment in the current study.

In the second part of this study, the performance of three kinds of AMF inoculum (one commercial AMF inoculum and two native inoculums among which one was composed with AMF alone and the second contains native AMF and *P. fluorescens*) were tested with respect to *T. articulata* growth and mineral nutrition under different soil salinity levels. Firstly, evaluation of *T. articulata* root colonization rates at two time cultures (10 and 24 weeks) showed that commercial inoculum took more time to establish compared to native inoculums, particularly in saline soils. This could be due to a direct effect of salt on non-adapted spore germination, hyphal spread and/or mycorrhizae formation (Juniper and Abbott 2006; Garg and Pandey 2015). In saline soils, co-inoculation allowed higher root colonization rate both at 10 and 24 weeks as compared to commercial inoculum and non-inoculated soil. These findings are in accordance with those of Garg and Pandey (2015) who observed higher root colonization rate in *Cajanus cajan* L with native inoculum when compared to commercial one in salt conditions. Likewise, Bona et al. (2015) observed high AMF root colonization rate in strawberry culture inoculated with a mixture of AMF and *Pseudomonas* ssp. The difference in mycorrhizal rate between both native inoculum and co-inoculum as compared with commercial inoculum must be due to the characteristics of AMF species (Evelin et al. 2009) and to their specific adaptation to environmental conditions (Symanczik et al. 2015). Moreover, compatibility between host plant and inoculum may be influenced also by root exudates. The same result was reported by

Estrada et al. (2013) who showed an increased colonization ability of *Asteriscus maritimus* inoculated with *R. irregularis* as native isolate under saline conditions when compared to *R. irregularis* isolate used in commercial inoculum.

On the other hand, AMF spore isolation from the *T. articulata* pots culture after 24 weeks of culture indicated that all AMF species belong to Glomeromycota phylum. *F. geosporum* and *F. mosseae* were the most abundant species in inoculated soils while *S. constrictum* dominate in non-inoculated soils. Some species of *Rhizophagus* and *Gigaspora* genera were also detected. Such fungal diversity occurs frequently in natural ecosystems where many AMF can colonize the same root system (Sharma et al. 2009). *F. geosporum* predominance may indicate a better adaptation of this species to saline soils. In fact, *F. geosporum* has already been described in *T. ramosissima* salt marsh (Taniguchi et al. 2015) and in field saline soils in the rhizosphere of *T. articulata* (Chaudhry et al. 2013; Bencherif et al. 2015). No significant differences on AMF spore number were detected between the different inoculation treatments. However, a tendency to get higher spore content in the saline soils especially under the co-inoculum was noticed. Such a result suggested that the addition of *P. fluorescens* to the native AMF inoculum can potentially stimulate AMF sporulation in saline soil. This is in accordance with the study of Panneerselvam et al. (2012), which reported that combined inoculation of *G. mosseae* with *Pseudomonas putida*, improved significantly AMF colonization and spore proliferation in addition to enhancement of the growth promotion in guava seedlings.

An interesting result found in the present study is the ability of the native microorganisms to enhance *Tamarix* growth in saline stressful condition. Indeed, a positive effect of native inoculum and co-inoculum was observed on *T. articulata* shoot and root biomasses as compared to commercial inoculum, in particular, in moderately saline soil. This is in agreement with recent studies of Ortiz et al. (2015) and Bona et al. (2015) who showed that native inoculum, based on AMF and *Pseudomonas* sp, increased *Trifolium repens* and strawberry growth. *Pseudomonas* being a good auxin and cytokinin producer may solubilize phosphate and stimulate AMF root colonization and promote root growth (Frey-Klett et al. 2007). The synergistic interaction between AMF and bacteria as *Rhizobia*, *Azospirillum* and *Pseudomonas* can stimulate plant growth (Sanon et al. 2009 ; Miransari 2011; Vyas and Vyas, 2014). In contrast, non-significant difference was recorded between commercial, co-inoculum and native inoculum in the non-saline soils on *T. articulata* growth except for root biomass with commercial inoculum. This finding

underlined the beneficial effect of AMF for plant survival and growth in harsh environments (Duponnois et al. 2011; Garg and Pandey 2015). The main mechanism explaining *T. articulata* growth enhancement under inoculation conditions seems to be improvement in nutrient uptake. Positive correlation was recorded between AMF colonization rate and *T. articulata* growth, phosphorus and nitrogen content in non-saline, saline and moderately saline soils with co-inoculum and native inoculum. In contrast, commercial inoculum showed a positive correlation only in moderately saline soil between root mycorrhizal rate, growth and phosphorus content. Indeed, co-inoculation enhanced nitrogen and phosphorus shoot contents under non-saline, moderate saline and saline soils for phosphorus and on moderate saline soil for nitrogen. Co-inoculation of *T. articulata* by AMF and *Pseudomonas* increased phosphorus shoot content approximately by two fold compared to the commercial AMF inoculum. These findings are in accordance with previous data which demonstrated that AMF improved plant phosphorus uptake (Hamel, 2004) and that this effect is enhanced by the co-inoculation of AMF with *Pseudomonas* spp (Artursson et al. 2006). In the same way, Vyas and Vyas (2014) recorded that plant phosphorus content in *Capsicum mathania* was observed upon dual inoculation (*Glomus deserticola* plus *Azospirillum*) rather than single inoculation. Co-inoculation can activate the production of phosphatases by the mycorrhizal fungus and increase the production, by mycorrhizal hyphae, of organic acids that mineralize phosphorus (Varma 1999). In addition, our findings showed that inoculation treatment enhanced nitrogen shoot content. This can be attributed to increased nitrogen availability by AMF inoculum (Hamel 2004; Garg and Pandey 2015). In saline soils, plants increasingly accumulate Na^+ , which directly damages membrane systems and disturb N-reductase activity (Evelin et al. 2009). To counteract this detrimental effect, the AMF inoculation tends to enhance K^+ and decreased Na^+ by preselecting nutrients and preventing Na^+ ion accumulation (Garg and Pandey 2015). Likewise, AMF have been reported to directly take up both organic and inorganic nitrogen from the soil solution and transfer it to their host plants (Ferrol and Pérez-Tienda 2009).

On the other hand, it is noteworthy that soil salinity significantly reduces phosphorus shoot content in non-inoculated plants. This result could be explained by the fact that phosphate ions precipitate in the presence of Ca^{+2} , Mg^{+2} and Zn^{+2} ions in saline soils and became unavailable to plants (Evelin et al. 2009). The detrimental salinity effect can be attenuated by AMF inoculation (Evelin et al. 2009).

Conclusion

In conclusion, application of native AMF inoculum and AMF/ *P. fluorescens* co-inoculum significantly enhanced growth and affected mineral uptake of *T. articulata* on saline soil. Native AMF inoculum single or combined with native *P. fluorescens* conferred higher salt tolerance to *T. articulata* than AMF commercial inoculum. Although the mechanisms are not well understood, this study supports the hypothesis that *P. fluorescens* and AMF induce changes in plant physiology and create favorable microenvironments. This can be regarded as an efficient biotechnology to improve plant development under stressed conditions of arid and semi-arid areas such as soil salinity. However, the interaction of non-native isolates with the local microflora needs to be explored. Whereas, it is imperative to understand the nature of the interaction between native beneficial endophytic bacteria and native AMF in order to exploit and manage the co-inoculation for obtaining sustainable plant development. It will also be interesting in the future, to produce co-inoculum originated from arid and semi-arid areas for *Tamarix* species and other shrubs to increase plant establishment and growth, phosphorus and nitrogen uptake. On the other hand, it must be useful to enlarge this experimentation to several sites and diversified studies on abiotic stresses to confirm the universality of the co-inoculation efficiency.

APPENDICE D : Liste des participations aux congrès :

- Communications orales :
 - Bencherif, K., Boutekrabt, A., Aich, F. ; contribution à l'étude des mycorhizes des *T. articulata* Vahl et *T. gallica* dans la région de Djelfa. séminaire international sur les forêts et les steppes des milieux semi-arides. Université de Djelfa/ INRF. Algérie. 28-30 nov. 2011.
 - Bencherif, K., Boutekrabt, A., Détection des structures endomycorhiziennes dans les racines de plantes steppiques, Cas des *Tamarix articulata* Vahl et *T.gallica*.Séminaire international sur la biotechnologie animal et végétale. Université de Djelfa, Algérie. 2013.
- Communications par affiches :
 - Boutekrabt A ; Bencherif K., Symbiose mycorhizienne d'une plante steppique : *Tamarix articulata* Vahl. Congrès international sur la symbiose mycorhizienne. Marrkech 2010.

APPENDICE E : LISTE DES ABRÉVIATIONS :

AGLN : Acides gras lipides neutres.

AGPL : Acides gras phospholipides.

AO : Ain-Oussera

BG : Boughzoul

CMA : Champignons mycorhiziens arbusculaires.

DU : Djelfa

HB : Hassi-Bahbah

IC : Inoculum commercial

IL : inoculum local

ILP : Inoculum local avec *Pseudomonas*.

KB : Kasr elboukhari

LG : Laghouat

MERS : El-Mesrane

MES : Mesaad

NM : Non mycorhizé

RS : Rocher et sel

Ta : *Tamarix articulata*

Tg : *Tamarix gallica*

Z : Zaafrane

REFERENCES

1. Makhlof, L., Nedjahi, A., Abdellaoui, M., Benarar, R., " Protection des périmètres agricoles dans les régions arides et semi-arides". INRF, Ministère de l'agriculture et du développement rural (2012).
2. Lazzeri, Y., Nahon, D., "la conservation des sols : un enjeu pour les territoires méditerranéens". Notes du pole de développement durable et territoires méditerranéens CERI/Cnrs. (2013), 7pp.
3. Dagar, J.C., Tomar, O.S., "Utilization of salt affected soils and poor quality waters for sustainable biosaline agriculture in arid a- semi arid regions of India". 12th ISCO conference. Beijing (2002).
4. Abdelly, C., Lachaal, M., Grignon, C., Soltani, A., Hajji, M., "Association épisodique d'halophytes stricts et de glycophytes dans un écosystème hydromorphe salé en zone semi-aride". *Agronomie* : 15(1995), 557- 568.
5. Haddadj, D., "La lutte contre l'érosion en Algérie". communication scientifique : séminaire recherche INRA (2011).
6. FAO., "Statistiques de dégradation de l'environnement", ONU (2016).
7. INSID : Institut national des sols, de l'irrigation et du drainage. "Les sols salins en Algérie". Rapport d'activité, Ministère de l'agriculture et du développement rurale (2008), 7p.
8. Dexheimer, J., "Etude structurale et fonctionnelle des interfaces entre le champignon et la plante hôte". *Revue Forestière Française* (1997), 43-56.
9. Requena, N., Serrano, E., Ocon, A., Breuninger, M., "Plant signals and fungal perception during arbuscular mycorrhizal establishment" *Phytochemistry*, 68 (2007), 33-40.
10. Tian, C.Y., Feng, G., Li, X.L., Zhang, F.S., "Different effects of arbuscular mycorrhizal fungal isolates from saline or non-saline soil on salinity tolerance of plants. *Applied soil ecology*, 26 (2004), 143-148.
11. DGF, Direction générale des forêts., "Rapport des plantations forestières en Algérie. Ministère de l'Agriculture et de la pêche, (2000).
12. Smith, S.E., Read, D.J., "Mycorrhizal symbiosis" New York: Academic Press (2008). 3rd edn.
13. Bonfante, P., Perotto, S., "Strategies of arbuscular mycorrhizal fungi when infecting host plants" *New phytologiste*, 130 (1995), 3-21.

14. Garbaye, J., "La symbiose mycorhizienne. Une association entre les plantes et les champignons", Quae (Eds), (2013), 280 p.
15. Johnson, J.M., Houngnandan, P., Kane, A., Sanon, K.B., Neyra, M., "Diversity patterns of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi associated with rhizosphere of *Copea* (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) in Benin, West Africa", *Pedobiologia*, 56 (2013), 121-128.
16. Badda, N., Aggarwal, A., Kadian, N., Sharma, N., "Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and different salinity levels on growth enhancement and nutrient uptake of *Gossypium arboreum* L." *KAVAKA* 43, (2014), 14-21.
17. Garg, N., Pandey, R., "Effectiveness of native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi on nutrient uptake and ion homeostasis in salt-stressed *Cajanus cajan* L. (Millsp.) genotypes." *Mycorrhiza*, 25, (2015), 165- 180.
18. Plenchette, C. "Utilisation des mycorhizes en agriculture et horticulture". In "Les mycorhizes des arbres et des plantes cultivées", Strullu et al., (Eds), Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, (1991), 131-196.
19. McDaniel, K., Renz, M., "Saltcedar Information" Weed information-New Mexico State University, (2007).
20. Al-Oudat, M. and Qadir, M. 2011. The halophytic flora of Syria. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas, Aleppo, Syria. Viii. 186pp.
21. Chaudhry, M.S., Saeed, M., Nasim, F.U.H., "Soil chemical heterogeneity may affect the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of *Tamarix aphylla* under arid climate". *Analele Stiintifice ale Universitatii. AI. I. Cuza. Iasi. S. Iia Biologie vegetala* 59 (2), (2013), 53-63.
22. Younos, C., Soulimanil, R., Seddiqi, N., Baburi, O., Dicko, A., "Etude ethnobotanique et historique des Tamaris (*Tamarix* sp, Tamaricaceae) et leurs usages actuels en Afghanistan", *Phytothérapie*, 6, (2006), 248-251.
23. Ozanda, P., "Flore Du Sahara: Septentrional et Central" (Ed.) Paris. C.N.R.S , (1983), 662 p.
24. Brotherson, J.D., Field, D., "*Tamarix*: impacts of a successful weed". *Rangelands* 3 (1987), 110-112.
25. Tomanek, G.W., Zeigler, R. L., " Ecological studies of salt cedar. Division of Biological Sciences," , Fort Hays Kansas State College, (1962.), 128 p.
26. Khabtane, A., Contribution à l'étude du comportement éco physiologique du genre *Tamarix* dans différents biotopes des zones arides de la région de Khenchela,

- Mémoire de Magister Dép. Ecologie Végétale, Université Mentouri Constantine, (2010), 153p.
27. Waisel, Y., Ecological studies on *Tamarix aphylla* (L.) Karst I-II. *Phyton*. 15 (1961), 7-28.
 28. Meinhardt, A.K., Gehring, C.A., "Tamarix and soil ecology. In: Sher A and Quigley MF (Ed.) *Tamarix a case study of ecological change. In The American West*"; Oxford, New York, (2013), 225-239.
 29. Zhaoyong, S., Zhang, L., Feng, G., Peter, C., Changyan, T., Xiaolin, L., "Diversity of arbuscularmycorrhizal fungi associated with desert ephemerals growing under and beyond the canopies of Tamarisk shrubs". *Chinese Science Bulletin*, 51, (2006), 132–139.
 30. Yin, C. H., Feng, G., Zhang, F., Tian, C.Y., Tang, C., "Enrichment of soil fertility and salinity by tamarisk in saline soils on the northern edge of the Taklamakan Desert", *Agricultural Water Management*, 97 (2009), 1978-1986.
 31. Ladenburger, C. G., Hild, A. L., Kazmer, D. J., Munn, L. C., "Soil salinity patterns in *Tamarix* invasions in the Bighorn Basin, Wyoming, USA". *Journal of Arid Environments* 65, (2006), 111-128.
 32. Lesica, P., Deluca, T.H., "Is tamarisk allelopathic?" *Plant and Soil*, 267, (2004), 357-365.
 33. Ly, B.C., "potentiel, de *Tamarix senegalensis* a reboisé les sols salés du bas delta du fleuve Sénégal", Mémoire de grade de (M-Sc.), de l'Université Laval, Canada, (1997), 106p.
 34. Stevens, L.E. "The status of ecological research on Tamarisk (*Tamaricaceae: Tamarix ramosissima*) in Arizona",. (1990.), 99-105.
 35. Davenport, D., Martin, P., Hagan, R., "Evapotranspiration from riparian vegetation: Water relation and irrecoverable losses for saltceder". (1982), 37: 233-236.
 36. Wilkinson, R.E., "Seasonal development of anatomical structures of salt cedar foliage", *Bot. Gaz.* (1966), 231-234.
 37. Zohary, M., "Plants of the Bible". Ed. Cambridge University Press. Cambridge, London, New York, New Rochelle (1982).
 38. Duke, J.A., "Medicinal plants of the Bible". Ed Trado-Medic Books, Owerri, New York, London, (1983).
 39. Hepper, F.N., *Illustrated encyclopedia of Bible plants*. Ed Angus Hudson, London, (1992).

40. Younos, C., ‘‘Étude ethnobotanique des plantes utilisées en Afghanistan dans la thérapeutique cutanée’’, *Al Biruniya, Rev Mar Pharm*, 8, (1993), 117-24.
41. Takashi, Y., Atalla, H., Ahmed, Mohamad, U., *al.*, ‘‘Dimeric hydrolysable tannins from *Tamarix pakistanika*’’. *Phytochemistry*, 33 (1), (1993), 197-202
42. Quezel, P., Santa, S., ‘‘Nouvelle flore de l’Algérie et des régions désertiques méridionales, tome II’’, CNRS, Paris, (1962), 634p.
43. Ozenda, P., ‘‘Flore et végétation du Sahara’’, 3eme édition, CNRS éditions, Paris, (1991), 660p
44. Orabi, M.A.A., Taniguchi, S., Hatano, T., ‘‘Monomeric and dimeric hydrolysable tannins of *Tamarix nilotica*’’. *Phytochemistry*, 70, (2009), 1286-1293.
45. KhanMarwat, S., Khan, M.A., Khan, M. A., Ruhman, F.U., Ahmed, M., Zafar, M., Sultana, S., ‘‘*Salvadora persica*, *Tamarix aphylla* and *Zizyphus mauritiana*-Three Woody Plant Species Mentioned in Holy Quran and Ahadith and Their Ethnobotanical Uses in North Western Part (D.I. Khan) of Pakistan’’ *Pakistan Journal of Nutrition*, 8 (5), (2009), 542-547.
46. Kaabache, M., ‘‘Guide des habitats arides et sahariens, Typologie phytosociologique de la végétation d’Algérie’’, *Nature vivante*, (2000), 59p.
47. Blamey, M., Grey-Wilson, C., ‘‘La flore d’Europe occidentale’’. Flammarian (Eds) (2003), 544p.
48. USDA, United states department for agriculture, ‘‘Invasive plants’’, 2010.
49. Sahki. R., Sahki. A., Boucheneb. N., ‘‘Guide des principaux arbres et arbustes du Sahara central’’ (Ahaggar et Tassili). INRF (2004).
50. IUCN, International Union for conservation of nature and natural resources: Center of Mediterranean Conservation. North Africa biodiversity Program (2014).
51. Maire, R., ‘‘Flore de l’Afrique du Nord’’. Vol, 9, (1963).
52. Khabtane, A., Rahmoun, C., Ben nacer, M., ‘‘ Determination of the Effect of the Environment on the Genetic Polymorphism In the Genus of *Tamarix* Using the Molecular Marker (Simple Sequence Repeats "PCR-SSR" (In Arid Areas of the Khenchela Region (Eastern of Algeria)’’, *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*, 16, (2014), 1-10.
53. Bethlenfalvay, S., Dakessian, S., Pacovsky, R.S., ‘‘Mycorrhizae in southern California desert, ecological implications’’, *Canadian journal of botany*, 62 (1984), 519-524.

54. Mejstrik, V.K., Cudlin, P., "Mycorrhiza in some plant desert species in Algeria", *Plant and Soil*, 71, (1983), 363-366.
55. Beauchamp, V., Stromberg, J.C., Stutz, J., "Interaction between *Tamarix ramosissima* (Saltcedar) *Populus fermentii* (Cottonwood) and mycorrhizal fungi: Effects on seedling growth and plant species coexistence" *Plant and Soil* 275 (2005), 221-231.
56. Meinhardt, M.K., Gehring, C.A., "Disruption mycorrhizal mutualisms: a potential mechanism by which exotic tamarisk outcompetes natives cottonwoods". *Ecological applications*, 22 (5), (2012.), 32–549.
57. Taniguchi, T., Acharya, K., Imada, S., Iwanaga, F.Y.N., "Arbuscular mycorrhizal colonization of *Tamarix ramosissima* along a salinity gradient in the southwestern United States". *Landscape Ecological Engineering*, 11 (2015), 221-225.
58. Boulard, B., "Les Mycorhizes. Monographie. 2", MASSON et Cie, Paris, (1968), 128 p.
59. Peyronel, B., Fassi, B., Fontana, A., Trappe, J. M., "Terminology of mycorrhizae", *Mycologia*, 61, (1969), 410–411.
60. Fortin, J.A., Plenchette, C., Piché, Y., "Les mycorhizes : La nouvelle révolution verte". *Multi mondes-Quae* (Eds) (2008), 163p.
61. Pirozynski, K.A.; Dalpé, Y., "Geological history of the Glomaceae with particular reference to mycorrhizal symbiosis", *Symbiosis*, 7(1989), 1-36.
62. Bonfonte, P., Genre, A., "Plants and arbuscular mycorrhizal fungi: an evolutionary development perspective", *Trends in plant science*, 13, (2008), 492-498.
63. Strullu, D.G., "Les mycorhizes des arbres et plantes cultivées", *Collection TEC & DOC*, Lavoisier, Paris, (1990), 50 p.
64. Redecker, D., Kodner, R., Graham, L.E., "Glomalean Fungi from the Ordovician" *Science*, 289, (2000), 1920-1921.
65. Blaskowski, J., "Glomeromycota" *IB Publisher Polish Academy of sciences. Poland*, (2012), 303p.
66. Schwarzott D.A., Walker, C., "A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution". *Mycological Research*, 105, (2001), 1413–1421.
67. Gaveriaux, J.P., "Les glomeromycota - Mycorhizes VAM et Geosiphon pyriformis (Kützing) Wettstein, *Bulletin de la Société de Mycologie du Nord de la France*, 92, (2012), 01-17.

68. Schußler , A., Gehring, H., Schwarzott, D., Walker, C., ‘‘Analysis of partial Glomales SSU rRNA genes: implications for primer design and phylogeny’’, *Mycological research*, 105, (2001), 5-15.
69. Blaskowski, J., ‘‘Arbuscular mycorrhizal fungi (Gloeromycota), Endogone and complexipes species deposited in the Department of plant pathology’’, University of agriculture in Szczeecin, Poland, (2003) ;
70. Oehl, F., Souza, F.A, Sieverding, E, ‘‘ Revision of Scutellospora and description of five new genera and three new families in the arbuscular mycorrhizal-forming Glomermycetes’’ *Mycotaxon*, 116, (2008), 311-360.
71. Shubler, A., Walker, C., ‘‘The Glomeromycota. A species list with new families and new genera’’, Libraries at the royal Botanic Garden Edinburg, Munich and Oregon State University (2010).
72. Oehl, F., Seiverding, E., Palenzuele, J., Ineichen, K., Da Silva, G.A., ‘‘Advences in Glomeromycota taxonomy and classification’’, 2 (2011), 191-199.
73. Opik, M., Zobel, M., Cantero, J.J., Davison, J., Facelli, J.M., Hiiessalu, I., Jairus, T., Kalwiji, J.M., Koorem, K., Leal, M.E., ‘‘Global sampling of plant roots expands the described molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi’’, *Mycorrhiza*, 23, (2013), 411-430.
74. Wang, X., Li, X., ‘‘ An overview of the updated classification system and species diversity of arbuscular mycorrhizas: a role for fungal diversity?’’ *Pedobiologia*, 53, (2013), 1385-1393.
75. Buée M., Rossignol M., Jauneau A., Ranjeva R., Bécard G. 2000. The pre-symbiotic growth of arbuscular mycorrhizal fungi is induced by a branching factor partially purified from plant root exudates. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 13: 693-698
76. Varma, A., ‘‘Fungi in arid and semi-arid soils’’In, *Mycorrhiza structure, function, Molecular biology and Biotechnology*, Varma and Hoch (Eds), *Mycorrhiza*, (1999), 521-556.
77. Roy-Bolduc, A., Hijri, M., ‘‘ Les cycles de vie’’ In: ‘‘L’univers des champignons’’, Duprès J (Eds), *Presse université de Montréal*, (2012), 81-92.
78. Bécard, G., Piché, Y., ‘‘New aspect on the acquisition of biotrophic status by VAM *Gigaspora margarita*, *New phytologiste*, 112, (1989), 77-83.

79. Giovannetti, M., Sbrana, C., Avio, L., Citernes, A.S., Logi, C., "Differential hyphal morphogenesis in arbuscular mycorrhizal fungi during pre-infection stages" *New Phytologist*, 125, (1993), 587–593.
80. Akiyama, K., "Chemical identification and functional analysis of apocarotenoids involved in the development of arbuscular mycorrhizal symbiosis", *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 71, (2007), 1405-1414.
81. Singh, B.K., Nunan, N., Ridgway, K.P., Nico, M., Young, J.P., "Relationship between assemblages of mycorrhizal fungi and bacteria on grass roots", *Environmental Microbiology*, 10, (2008), 534 - 41.
82. Bonfante, P., Genre, A., "Mechanisms underlying beneficial plant-fungus interaction in mycorrhizal symbiosis", *Nature communication*, 1, (2010), 48.
83. Requena, N., Serrano, E., Ocon, A., Breuninger, M., "Plant signals and fungal perception during arbuscular mycorrhiza establishment", *Phytochemistry*, 68,(2007), 33-40.
84. Logi, C., Sbrana, C., Suolo, C.N.R., "Cellular events involved in survival of individual arbuscular mycorrhizal symbionts growing in the absence of the host", *Applied and environmental microbiology*, 4, (1998), 3743-3479.
85. Akiyama, K., Matsuzaki, K., Hayashi, H., "Plant sesquiterpene induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi", *Nature*, 435, (2005), 251-263.
86. Bessner, A., Puech-Pagès, V., Kiefer, P., Gomez-Roldan, V., Jauneau, A., Roy, S., Portais, J.C., Roux, C., Bécard, G., Séjalon-Delmas, N., "Strigolactones stimulate arbuscular mycorrhizal fungus by activating mitochondria", *PLoS biology*, 4, (2006), 226.
87. Maillet, F., Poinot, V., André, O., Puech-Pagès, V., Haouy, A., Gueunier, M., Cromer, L., Giraudet, D., Formey, D., Niebel, A., Martinez, E.A., Driguez, H., Bécard, G., Dénarié, J., "Fungal lipochitoooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza", *Nature*, 469, (2011), 58–63.
88. Genre, A., "Signaling and the re-structuring of plant cell architecture in AM symbiosis", In: Perotto, S, Baluska, F., (Eds), "Signaling and communication in plant symbiosis", Volum 10, (2012), Springer.
89. Balzergue, C., Puech-Pagès, V., Bécard, G., Rochange, S.F., "The regulation of arbuscular mycorrhizal symbiosis by phosphate in Pea involves early and systemic signaling events", *Journal of experimental botany*, 62, (2011), 1049-1060.

90. Genre, A., Chabaud, M., Faccio, A., Barker, D.G., Bonfante, P., "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, (2008), 1407-1420.
91. Smith, S.E., Smith, F.A., "Structure and function of the interfaces in biotrophic symbioses as they relate to nutrient transport", *New Phytologist* 114, (1990) 1-38.
92. Reinhardt, D., "Programming good relations--development of the arbuscular mycorrhizal symbiosis", *Current Opinion in Plant Biology*, 10, (2007), 98-105.
93. Alexander, T., Meier, R., Toth, R., Webber, H.C., "Dynamics of arbuscule development and degeneration in mycorrhizas of *Triticum aestivum* L. and *Avena sativa* L. with reference to *Zea mays* L.", *New phytologiste*, 110, (1988), 363-370.
94. Javot, H., Pumplin, N., Harrison, M.J., "Phosphate in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: transport properties and regulatory roles". *Plant cell and environment*, 30(3), (2007), 310-322.
95. Biermann, B., Linderman, R.G., "Use of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots, intraradical vesicles and extraradical vesicles as inoculum", *New Phytologist*, 95, (1983), 97-105.
96. Ginco, Agriculture et agroalimentaire CANADA, (2013), Mycorrhiza.
97. Bago, B., Azcoun-Aguiller, C., Goulet, A., Piche, Y., "Branched absorbing structures (BAS): a feature of the extraradical mycelium of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi", *New phytologist*, 139, (1998), 375-388.
98. Bago, B., Pfeffer, P.E., Shachar-Hill, Y., "Carbone metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas", *Plant physiology*, 124, (2000), 949-958.
99. Schußler, A., Marytin, H., Cohen, D., Fitz, M., Wipf, D., "Studies on the Geosiphon symbiosis lead from symbiotic glomeromycotan sugar transporter", *Plant signaling and Bahavior*, 2, (2007), 314-317.
100. Schaarschmidt, S., Roitsch, T., Hause, B., "Arbuscular mycorrhiza induces gene expression of the apoplastic invertase LIN6 in tomato *Lycopersicon esculentum* roots. *Journal of experimental botany*, 57, (2006), 4015-4023.
101. Schußler, A., Martin, H., Cohen, D., Fitz, M., Wipf, D., "Characterization of a carbohydrate transporter from symbiosis glomeromycotan fungi", *Nature*, 444, (2006), 933-966.
102. Helbert, N., Wippel, K., Sauer, N., Schaarschmidt, S., Hause, B., Requena, N., "A versatile monosaccharide transporter that operates in the arbuscular mycorrhizal

- fungus *Glomus sp* is crucial for the symbiotic relationship with plants”, *Plant cell*, 23 (2011), 3812-3823.
103. Doidy, J., Grace, E., Kühn, C., Simon-Plas, F., Casieri, L., Wipf, D., “Sugar transporters in plants and in their interactions with fungi”, *Trends in plant science*, 17 (2012), 413-422.
 104. Sheng, M., Tang, M., Chen, H., Yang, B., Zhang, F., Huang, Y., “ Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress”, *Mycorrhiza*, 18, (2008), 287-296.
 105. Feddermann, N., Duvvuru Muni, .R.R., Zeier, T., Stuurman, J., Ercolin, F., Schorderet, M., Reinhardt, D., “The PAM1 gene of petunia, required for intracellular accommodation and morphogenesis of arbuscular mycorrhizal fungi, encodes a homologue of VAPYRIN”. *Plant Journal*, (2010), 64, 470-481
 106. Liu, A., Hamel, C., Hamilton, R.I., Ma, B.L., Smith, D.L., “acquisition of Cu, Zn, Mn and Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) grown in soil at different P and micronutrient levels. *Mycorrhiza*, 9, (2000), 331-336.
 107. Sharifi, M., Ghorbani, M., Ebrahimzadeh, H., “ Improved growth of salinity-stressed soybean after inoculation with salt pre-treated mycorrhizal fungi”, *Journal of plant physiology*, 164, (2007), 1144-1151.
 108. Miller, R.M., Reinhardt, D.R, Jastrow, J.D., “External hyphal production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in pasture and tallgrass prairie communities”, *Oecologia*, 103, (1995), 17-23.
 109. Ruiz-Sanchez, M., Aroca, R., Mufioz, Y., Polon, R., Ruiz-Lozano, J.M., “The arbuscular mycorrhizal symbiosis enhances the photosynthetic efficiency and the antioxidative response of rice plants subjected to drought stress”, *Journal of plant physiology*, 167, (2010), 862-869.
 110. Meddich, A., Jaiti, F., El Hadrami, I., Oihabi, A., Bourzik, W., Saaidi, M., “ Rôle des champignons mycorrhiziens dans la tolérance du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) au déficit hydrique et à la fusariose vasculaire” *Actes du Symposium International sur le Développement Durable des Systèmes Oasiens du (08 au 10 mars 2005) Erfoud, Maroc - B. Boulanouar & C. Kradi (Eds.)*
 111. Meddich A., Oihabi A., Abbass Y., Bizid E., “Rôle des champignons mycorrhiziens à arbuscules de zones arides dans la résistance du trèfle (*Trifolium alexandrinum* L.) au déficit hydrique”, *Agronomie*, 20, (2000), 283-295.

- 112.** Meddich, A., Oihabi, A., Bizid, E., El hadrami, I., ‘‘Rôle des champignons mycorhiziens dans la tolérance du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) au déficit hydrique’’, *Revue des Régions Arides*, 2, (2004), 640-646.
- 113.** Aroca, R., Bago, A., Sutka, M., Paz, J.A., Cano, C., Amodeo, G., Ruiz-lozano, J.M., ‘‘Expression analysis of the first arbuscular mycorrhizal fungi aquaporin described reveals concerted gene expression between salt-stressed and nonstressed mycelium’’, *Molecular plant-microbe interaction*, 22, (2009), 1169-1178.
- 114.** Li, Y., Liu, Z., Hou, H., Zhu, X., Li, X., He, X., Tian, C., ‘‘Arbuscular mycorrhizal fungi-enhance resistance against phytophthora sojae infection on soybean leaves is mediated by a network involving Hydrogen peroxydes, jasmonic acid, and the metabolism of carbon and nitrogen’’, *Acta physiological plant*, 35, (2013), 3465-3475.
- 115.** Smith S.E., Jakobsen, I., Grønlund, M., Smith, F.A., ‘‘Roles of Arbuscular Mycorrhizas in Plant Phosphorus Nutrition: Interactions between Pathways of Phosphorus Uptake in Arbuscular Mycorrhizal Roots Have Important Implications for Understanding and Manipulating Plant Phosphorus Acquisition’’, *Plant Physiology*, 156, (2011), 1050–1057.
- 116.** Gaude, N., Nakamura, Y., Scheible, W.R., Ohta, H., Dormann, P., ‘‘Phospholipase C5 (NPC5) is involved in galactolipid accumulation during phosphate limitation in leaves of Arabidopsis’’, *The plant Journal*, 56, (2008), 28-39.
- 117.** Gianinazzi-Pearson, V., Gianinazzi, S., ‘‘Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhiza. Soluble alkaline phosphatase specific to mycorrhizal infection in onion roots’’, *Physiological plant pathology*, 12, (1978), 45-53.
- 118.** Harrison, M.J., Van Buuren, M.L., ‘‘Phosphate transporter from the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme*’’, *Nature*, 378, (1995), 626-629.
- 119.** Maldonado-Mendoza, I.E., Dewber, G.R., Harrison, M.J., Samuel, T., Noble, R., Parkway, S.N., ‘‘A phosphates transporter gene from the extra-radical mycelium of an arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus irregularis* regulated in response to phosphate in the environment’’, *Molecular plant-Microbe interactions*, 14, (2001), 1140-1148.
- 120.** Benedetto, A., Magurno, F., Bonfante, P., Lanfranco, L., ‘‘Expression profiles of a phosphate transporter gene (*GmosPT*) from the endomycorrhizal fungus *Glomus mosseae*’’, *Mycorrhiza*, 15, (2005), 620-627.

121. Pumplin, N., Zhang, X., Noar, R., Harrison, M., ‘‘Polar localization of a symbiosis-specific phosphate transporter is mediated by a transient reorientation of secretion’’, *Proceeding of the National Academy of sciences of the United States of America*, 109, (2012), 665-672.
122. Godfroy, O., ‘‘ Etude génétique et moléculaires de deux gènes de *Medicago truncatula* DM13 et RPG contr lant l’installation de la symbiose racinaire’’, Thèse de l’universit  de Toulouse, (2008), 142p.
123. Maeda, D., Ashida, K., Iguchi, K., Chechetka, S.A., Hijikata, A., Okusako, Y et al., ‘‘Knockdown of an arbuscular mycorrhizal-inducible phosphate transporter gene of *Lotus japonicus* suppresses mutualistic symbiosis’’, *Plant cell physiology*, 47, (2006), 807-817.
124. Hammer, E.C., Nasr, H., Pallon, J., Olsson, P.A., Wallander, H., ‘‘Elemental composition of arbuscular mycorrhizal fungi at high salinity’’, *Mycorrhiza*, 21, (2011), 117-129.
125. Johanssen, A., Finlay, R.D., Olsson, P.A., ‘‘ Nitrogen metabolism of external hyphae of arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*’’, *New phytologist*, 133, (1996), 705-712.
126. Bago, B., Chamberland, H., Goulet, A., Vierheilig, H., Lafontaine, J.G., Pich , Y., ‘‘ Effect of Nikkomycin Z, a chitin-synthase inhibitor, on hyphal growth and cell wall structure of two arbuscular mycorrhizal fungi’’, *Protoplasma*, 192, (1996), 80-92.
127. Hawkins, H.J., Johansen, A., Goerge, E., ‘‘ Uptake and transport of organic and inorganic nitrogen by arbuscular mycorrhizal fungi’’, *Plant and soil*, 226, (2000), 275-285.
128. Lopez-Pedrosa, A., Gonzalez-guerrero, M., Verhage, A., Azcon-Aguilar, C., Ferrol, N., ‘‘Gin AMT1 encodes a functional high-affinity ammonium transporter that is expressed in the extraradical mycelium of *Glomus intraradices*’’, *Fungal genetics and biology*, 43, (2006), 102-110.
129. Pérez-Tienda, J., Testillano, P.S., Balestrini, R., Fiorilli, V., Azcon-Agilar, C., Ferrol, N., ‘‘GinAMT2, a new member of the ammonium transporter family in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*,’’ *Fungal genetics and biology*, 48, (2011), 1044-1055.
130. Tian, C., Kasiborski, B., Koul, R., Lammers, P.J., Bucking, H., Shachar-Hill, Y., ‘‘ Regulation of the nitrogen transfer pathway in the arbuscular mycorrhizal

- symbiosis: gene characterization and the coordination of expression with nitrogen flux”, *Plant physiology*, 153, (2010), 1175-1187.
131. Tisserant, E., Kohler, A., Dozolme-Seddas, P., Balestrini, R., Benabdellah, K., et al., ‘‘The transcriptome of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* (DAOM 197198) reveals functional tradeoffs in an obligate symbiont’’, *New phytologist*, 193, (2012), 755-769.
 132. Jin, H., Pfeffer, P., Douds, D., Piotrowski, E., Lammers, P., Shachar-Hill, Y., ‘‘The uptake, metabolism, transport and transfer of nitrogen in an arbuscular mycorrhizal symbiosis’’, *New phytologist*, 168, (2005), 687-696.
 133. Fraustro Da Silva, J.J.R., Williams, R.J.P., ‘‘The biological chemistry of the elements: the inorganic chemistry of life’’, Oxford: Clarendon Press, (2001).
 134. Kothari, S., Marschner, H., Goerge, E., ‘‘Effect of VA mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms on root and shoot morphology, growth and water relations in maize’’, *New phytologist*, (1990), 303-311.
 135. Vinayak, K., Bagyaraj, D. J., ‘‘Vesicular-arbuscular mycorrhizae screened for troyer citrange’’. *Biology and Fertility of Soils*, 9, (1990), 311-314.
 136. Whipps, J.M., ‘‘Prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens’’, *Canadian Journal of Botany*, 82, (2004), 1198-1227.
 137. Pozo, M.J., Jung, S.C., Martinez-Medina, A., Lopez-Raez, I.A., Azcon-Aguilar, C., Barea, J.M., ‘‘ Root Allies: Arbuscular mycorrhizal fungi help plants to cope with biotic stress’’, In: Acora, R (Eds): ‘‘Symbiotic endophytes’’, *Soil biology*, (2013), 37p.
 138. Ruiz-Lozano, J.M., Azcón, R., Gómez, M., ‘‘Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal *Glomus* species in *Lactuca sativa* plants’’, *Physiological plants*, 98, (1996), 767–772.
 139. Augé, R.M., ‘‘Watre relation, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis’’, *Mycorrhiza*, 11, (2001), 3-42.
 140. Allen, M.F, Moore, T.S, Christensen, M., ‘‘Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae II; Altered levels of gibberellin-like substances and abscisic acid in the host plant’’. *Canadian Journal of Botany*, 60, (1982), 468–471.
 141. Hart, M., Klironomos, J.N., ‘‘ Influence of phylogeny on fungal community assembly and ecosystem functioning’’, *Science*, 316, (2007), 1764-1748.

142. Davies, F.T., Potter, J.R., Linderman, R.G., (1992), ‘‘Mycorrhiza and repeated drought exposure affect drought resistance and extraradical hyphae development of pepper plants independent of plant size and nutrient content’’, *Journal of plant physiology*, 139, (1992), 289-294.
143. Meddich, A., Oihabi, A., Jaiti, B.C., Bourzik, W., Hafidie, M., ‘‘Rôle des champignons mycorhiziens arbusculaires dans la tolérance du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*) à la fusariose vasculaire et au déficit hydrique’’, *Botanique*, 93, (2015), 369-377.
144. Hamel, C., Plenchette, C., ‘‘Mycorrhizae in Crop Production’’, Edit. Haworth Food & Agricultural Products Press, (2007), 366 p.
145. Garbaye J., ‘‘Biological interactions in the rhizosphere’’. *Experientia*, 47, (1991), 370-375.
146. Nouaim, R., Chaussod, R., ‘‘ Rôle des mycorhizes dans l’alimentation hydrique et minérale des plantes, notamment des ligneux de zones arides’’ *Cahier des options méditerranéennes - CIHEAM*, Montpellier, (1996), 9-26.
147. Bearden, B. N., Petersen, L., Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on soil structure and aggregate stability of vertisols. *Plant Soil* 218, (2000) 173–183.
148. Lutgen-Sandvik, P., ‘‘The communicative cycle of employee emotional abuse: Generation and regeneration of workplace mistreatment’’. *Management Communication Quarterly*, 16, (2003), 471- 501
149. Greipsson, S., El-Mayas, H., ‘‘ Arbuscular Mycorrhizae of *Leymus arenarius* on Coastal Sands and Reclamation Sites in Iceland and Response to Inoculation’’, *Restoration Ecology*, 8, (2000), 144–150
150. Funatsu, H., Yamashita, H., Noma, H., Mimura, T., Nakamura, S., Sakata, K., Hori, S., ‘‘Aqueous humor levels of cytokines are related to vitreous levels and progression of diabetic retinopathy in diabetic patients’’.
151. Porcel, A., Aroca, R., Ruiz-Lozano, J.M., ‘‘Salinity stress alleviation using arbuscular mycorrhizal fungi’’, *Agronomy for Sustainable Development* 32, (2012), 181-200.
152. Miransari, M., ‘‘Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria’’. *Applied Microbial Biotechnology* 89, (2011), 917- 930.
153. Wu, Z., Sawada, T., Shiba, K., Liu, S., Kanao, T., Takahashi, R., Hattori, N., Imai, Y., Lu, B., ‘‘Tricornered/NDR kinase signaling mediates PINK1-directed mitochondrial quality control and tissue maintenance’’. *Genes Development*, 27(2), (2013), 157--162.

154. Abdelatef, A.A.H., Miransari, M., The Role of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Alleviation of Salt Stress”, In M. Miransari (Eds.), “Use of Microbes for the Alleviation of Soil Stresses”, New York, (2014), 23-38.
155. Hildebrandt, U; Regvar, M; Bothe, H., “Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance”, *Phytochemistry*, 68 (2007), 139-146.
156. Ferrol N., González-Guerrero M., Valderas A., Benabdellah K., Azcón-Aguilar C., “Survival strategies of arbuscular mycorrhizal fungi in Cu-polluted environments”. *Phytochemistry Revue*, 8, (2009), 551–559.
157. Juniper, S., Abbott, L.K., “Vesicular–arbuscular mycorrhizas and soil salinity”, *Mycorrhiza*, 4, (1993), 45–57
158. Feng, G., Zhang, F.S., Li, X.L., Tian, C.Y., Tang, C., Rengel, Z., “Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots”, *Mycorrhiza*, 12, (2002), 185–190
159. Ramoliya, P.J., Patel, H.M., Pandey, A.N., “Effect of salinization of soil on growth and macro- and micro-nutrient accumulation in seedlings of *Salvadora persica* (Salvadoraceae)”, *For Ecological Management*, 202, (2004), 181–193.
160. Evelin, H., Kapoor, R., Giri, B., “Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review”, *Annal of Botany*, 104, (2009), 1263–1280.
161. Benkhaled, L., Ouarraqi, E., Zid, E., “impact du NaCl sur la croissance et la nutrition de la variété de blé dur *Massa* cultivée en milieu hydroponique”. *Acta Botanica Gallica*, 154, (2007), 101-116.
162. Jahromi, F., Aroca, R., Porcel, R., Ruiz-Lozano, J.M., “Influence of salinity on the in vitro development of *Glomus intraradices* and on the in vivo physiological and molecular responses of mycorrhizal lettuce plants”. *Microbial Ecology*, 55, (2008), 45–53.
163. Estrada, B., Aroca, R., Maathuis, F.J.M., Barea, J.M., Ruiz-lozano, J.M., “Arbuscular mycorrhizal fungi native from a Mediterranean saline area enhance maize tolerance to salinity through improved ion homeostasis”, *Plant, Cell and Environment*, 36, (2013), 1771–1782.
164. Taleisnik, E.L., Grunberg, K., “Ion balance in tomato cultivars differing in salt tolerance. Sodium and potassium accumulation and fluxes under moderate salinity”. *Physiology of Plant*, 92, (1994), 528-534.

165. Juniper, S., Abbott, L.K., “Soil salinity delays germination and limits growth of hyphae from propagules of arbuscular mycorrhizal fungi” *Mycorrhiza*, 16, (2006), 371–379.
166. Ashraf, A., Khanum, A., “Relationship between ion accumulation and growth in two-spring wheat lines differing in salt tolerance at different growth stages”. *Journal of Agronomy and Crops Sciences*, 178, (1997), 39-51.
167. Tuteja, N., Mechanisms of high salinity tolerance in plants. *Osmosensing Osmosignaling*, (2007), 428:41.
168. Hirrel, M.C., Mehravaran, H., Gerdemann, J.W., “Vesicular arbuscular mycorrhizae in the Chenopodiaceae and Cruciferae: do they occur?”, *Canadian Journal of Botany*, 56, (1978), 2813–2817
169. Giri, B., Kapoor, R., Mukerji, K.G., “Improved tolerance of *Acacia nilotica* to salt stress by arbuscular mycorrhiza, *Glomus fasciculatum* may be partly related to elevated K/Na ratios in root and shoot tissues”, *Microbial Ecology*, 54 (2007), 753-760.
170. Zaicou, C. M., Effect of soil salinity on the formation and functioning of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi”, Hons thesis, faculty of agriculture, the university of Western Australia, (1987).
171. Tressner, H.D., Hayes, J.A., “Sodium chloride tolerance of terrestrial fungi”, *Applied Microbiology*, 22, (1971), 210-213.
172. Sylvia, D.M., Williams, S.E., “Vesicular arbuscular mycorrhizae and environmental stress”, In Bethlenfalvay G.J, Linderman, R.G (Eds.), *Mycorrhizae in sustainable agriculture*, *Annal Soc Agron Spec Publ*, 54, (1992), 101-124.
173. Ferrol, N., Calvente, R., Cano, C., Barea, J.M., Azcón-Aguilar, C., “Analysing arbuscular mycorrhizal fungal diversity in shrub-associated resource islands from a desertification-threatened semiarid Mediterranean ecosystem”, *Applied Soil Ecology*, 25, (2004), 123–133.
174. Sánchez-Castro, I., Ferrol, N., Cornejo, P., Barea, J.M., “Temporal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing roots of representative shrub species in a semi-arid Mediterranean ecosystem”, *Mycorrhiza*, 22, ((2012), 449–460.
175. Zhang, H., Wu, X., Li, G., Qin, P., “ Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing fungus (*Mortierella* sp.) and their effects on *Kosteletzkya virginica* growth and enzyme activities of rhizosphere and bulk soils at different salinities”, *Biol Fertil Soils* 47, (2011), 543–554.

176. Aliasgharzadeh, N., Rastin, N.S., Towfighi, H., Alizadeh, A., "Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in saline soils of the Tabriz Plain of Iran in relation to some physical and chemical properties of soil", *Mycorrhiza*, 11, (2001), 119-122.
177. Karaarslan and Uyanoz 2011 Karaarslan E, Uyanoz R., "Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in some native plants grown on saline soils around the lake Tuz in Turkey and its relations with some physical and chemical properties of soil" *Scientific Research and Essays*, 6, (2011), 4238-4245.
178. Landwehr, M., Hildebrandt, U., Wilde, P., Nawrath, K., Toth, T., Biro, B., Bothe, H., "The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus geosporum* in European saline sodic and gypsum soils", *Mycorrhiza*, 12, (2002) 199-211.
179. Bowen, G., "The biology and physiology of infection and its development", In, Safir, G.R (Eds), "Ecophysiology of VA mycorrhizal plants", Boca Raton, Fla, (1987), 27-57.
180. Hildebrandt, U., Janetta, K., Ouziad, F., Renne, B., Nawrath, K., Bothe, H., "Arbuscular mycorrhizal colonization of halophytes in Central European salt marshes", *Mycorrhiza*, 10, (2001), 175-183.
181. Carvalho, L.M., Correia, P.M., Ryel, R.G., Martins-Louão, M.A., "Spatial variability of arbuscular mycorrhizal fungal spores in two natural plant communities". *Plant and Soil* 251 (2003), 227–236
182. Wilde, P., Manal, A., Stodden, M., Sieverding, E., Hildebrandt, U., Bothe, H., "Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in roots and soils of two salt marshes". *Environmental Microbiology* 11, (2009), 1548-1561.
183. Sonjak, S., Beguiristain, T., Leyval, C., Regvar, M.; "Temporal temperature gradient gel electrophoresis (TTGE) analysis of arbuscular mycorrhizal fungi associated with selected plants from saline and metal polluted environments", *Plant and Soil*, 314 (2009), 25-34.
184. Guo, X., Gong, J., "Differential effects of abiotic factors and host plant traits on diversity and community composition of root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungi in a salt-stressed ecosystem", *Mycorrhiza*, 24, (2014), 79-94.
185. Al-Karaki, G.N., Al-Raddad, A., "Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress on growth and nutrient uptake of two wheat genotypes differing in drought resistance", *Mycorrhiza*, 7, (1997), 83-88.
186. Ruiz-Lozano, J.M., Porcel, R., Azcon, C., Aroca, R., "Regulation by arbuscular mycorrhizae of the integrated physiological response to salinity in plants: new

- challenges in physiological and molecular studies”, *Journal Exp Bot*, 63, (2012), 4033-4044.
187. Lindermann, R.G., “Role of VAM in biocontrol”, In: *Mycorrhizae and plant health*, (eds) Pflieger, F.L. et Linderman, R.G, St Paul. American phytopathological society, (1994), 1-26.
 188. Aroca, R., Ferrante, A., Vernieri, P., Chrispeels, M.J., “Drought, abscisic acid and transpiration rate effects on the regulation of PIP aquaporin gene expression and abundance in *Phaseolus vulgaris* plants”, *Annals of Botany* 98, (2006), 1301-1310.
 189. Hajiboland, R., “Role of arbuscular mycorrhiza in amelioration of salinity”, In: Ahmed, P., Azooz, M.M., Prasad, M.N.V., (Eds)”*Salt stress in plants: Signalling, omics and adaptations*”, Springer, New York, (2013), 301-354.
 190. Khaliel, A.S., Shine, K., Vijayakumar, K., “ Salt tolerance and mycorrhization of *Bacopamonneiri* grown under sodium chloride saline conditions”, *African journal of microbial researches*, 5, (2011), 2034-2040.
 191. Aroca, R., Ruiz-Lozano, J.M., Zamarreno, A.M., AntonioPaz, J., Garcia-Mina, J.M., Pozo, M.J., Lopez-Raez, J.A., “Arbuscular mycorrhizal symbiosis influences strigolactone production under salinity and alleviates salt stress in lettuce plants”, *Journal of plant physiology*, 170, (2013), 47-55.
 192. BenRajeb, K., Abdelly, C., Savouré, A., “La proline une acide amine multifonctionnelle impliquée dans l’adaptation des plantes aux contraintes environnementales”. *Biologie aujourd’hui*, 206, (2012), 291-299.
 193. Wang, F.Y., Liu, R.J, Lin, X.J., Zhou, J.M., “Arbuscular mycorrhizal status of wild plants in saline-alkaline soils of the Yellow River Delta”, *Mycorrhiza*, 14, (2004), 133–137.
 194. Rabie, G.H., Al-Madani, A.M., “ Role of bioinoculants in development of salt-tolerance of *Vicia faba* plants under salinity stress”, *African Journal of Biotechnology* 4, (2005), 210-222.
 195. Kohler, J., Hernandez, J.A., Caravaca, F., Roldan, A., “induction of antioxidant enzymes is involved in the great effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to sever salt stress”, *Environmental and experimental botany* 65, (2009), 245-252.
 196. Sheng, M., Tang, M., Chen, H., Yang, B., Zhang, F., Huang, Y., “Influence of arbuscular mycorrhizae on the root system of maize plants under salt stress”, *Revue Cannadienne de Microbiology* 55, (2009), 879-886.

- 197.** Fan, L., Dalpé, Y., Fang, C., Dubé, C., Khanizadeh, S., ‘‘Influence of arbuscular mycorrhizae on biomass and root morphology of selected strawberry cultivars under salt stress’’, *Botany*, 89 (2011), 397-403.
- 198.** Al-Garni, .S.M., ‘‘ Increasing NaCl salt tolerance of halophytic plant *Phagmites australis*, by mycorrhizal symbiosis, *American Eurasian journal of agriculture and environment*, 1, (2006), 119-126.
- 199.** Duan, X., Dawn, S.N., Janet, M.R., Craig, D.G., Saxton, A.M., Augè, R.M., ‘‘Mycorrhizal influence on hydraulic and hormonal factors implicated in the control of stomatal conductance during drought’’, *Journal of experimental botany*, 47, (1996), 1541-1550.
- 200.** Ludwing-Muller, J., ‘‘Hormonal balance in plants during colonization by mycorrhizal fungi’’, In, Douds et al., (Eds), *Arbuscular mycorrhizal physiology and function*, Neteherlands, Klwer Academic publisher, (2000), 263-285.
- 201.** Rivero, R.M., Mestre, T.C., Mittler, R., Rubio., F., Garcia-Sanchez, F., Martinez, V., ‘‘The combined effect of salinity and heat reveals a specific physiological, biochemical and molecular response in tomato plants’’. *Plant, Cell and environment*, 37, (2014), 1059-1073.
- 202.** Baccouche, S., ‘‘Etude de la contribution des enzymes antioxydantes dans les processus de detoxification de métaux lourds (Ni, Cd) chez le maïs et le tournesol’’
Thèse de doctorat en physiologie végétale. Université de Tunis, El-Manar, (2001), 237p.
- 203.** Laluk, K., AbuQamar, S., Mengiste, T., ‘‘The Arabidopsis mitochondrial localized pentatricopeptide repeat protein PGN functions in defense against necrotrophic fungi and abiotic stress tolerance’’. *Plant Physiology*, 156, (2011) 2053– 2068.
- 204.** Estrada-Luna, A.A., Davies, F.T., ‘‘Arbuscular mycorrhizal fungi influence water relations, gas exchange, abscisic acid and growth of micropropagated chile ancho pepper (*Capsicum annum*) plantlets during acclimatization and post-acclimatization’’, *Journal of Plant Physiology*, 160, (2003), 1073-1083.
- 205.** Ben-Davides, E., Zaady, E., Sher, Y., Nejidat, A., ‘‘Assessment of the spatial distribution of soil microbial communities in patchy arid and semi-arid landscapes of the Negev Desert using combined PLFA and DGGE analyses’’, *FEMS Microbiol Ecology*, 76, (2011) 492–503.

206. Núñez, M., Mazzafera, P., Mazorra, L.M., Siquera, W.J., Zullo, M.A.T., ‘‘Influence of a brassinosteroid analogue on antioxidant enzymes in rice grown in culture medium with NaCl’’ *Biologia Plantarum*, 47, (2003), 67–70.
207. Alguacil, M.M., Hernandez, J.A., Caravaca, F., Portillo, B., Roldan, A., ‘‘Antioxidant enzyme activities in shoots from three mycorrhizal shrub species afforested in a degraded semi-arid soil’’, *Physiologia Plantarum*, 118, (2003), 562–570.
208. Zhang, Y., Guo, L., ‘‘Arbuscular mycorrhizal structures and fungi associated with mosses’’, *Mycorrhiza*, 17, (2007), 319–325
209. He, Z.Q., He, C.X., Zhang, Z.B., Zou, Z.R., Wang, H.S. ‘‘Changes of antioxidative enzymes and cell membrane osmosis in tomato colonized by arbuscular mycorrhizae under NaCl stress. Colloids and Surfaces B’’, *Biointerfaces*, 59, (2007), 128–133.
210. Pitman, M., Läuchli, A., ‘‘Global impact of salinity and agricultural ecosystems’’ In: Läuchli A, Lüttge U (eds) *Salinity: environment– plants–molecules*. Springer, Netherlands, (2002), 3–20.
211. Porcel, R., Aroca, R., Azcón, R., Ruiz-Lozano, J.M., ‘‘PIP aquaporin gene expression in arbuscular mycorrhizal *Glycine max* and *Lactuca sativa* plants in relation to drought stress tolerance’’. *Plant Molecular Biology*, 60, (2006), 389–404.
212. Sanchez-Blanco, M. J., Ferrández, T., Navarro, A., Bañón, S., Alarcón, J. J., ‘‘Effects of irrigation and air humidity preconditioning on water relations, growth and survival of *Rosmarinus officinalis* plants during and after transplanting’’ *Journal of Plant Physiology*, 161, (2004), 1133–1142.
213. Aroca, R., Porcel, R., Ruiz-Lozano, J.M., ‘‘How does arbuscular mycorrhizal symbiosis regulate root hydraulic properties and plasma membrane aquaporins in *Phaseolus vulgaris* under drought, cold or salinity stresses? ’’, *New Phytologist*, 173, (2007), 808–816.
214. Querjeta, J.I., Allen, M.F., Caravaca, F., Roldan, A., ‘‘Differential modulation of host plant $\delta^{13}C$ and $\delta^{18}O$ by native and non native arbuscular mycorrhizal fungi in a semi-arid environment’’, *New Phytologist*, 169, (2007), 379–387.
215. Yoshida, Y., Kiyosue, T., Katagiri, T., Ueda, H., Mizoguchi, T., Yamaguchi-Shinozaki, K., Wada, K., Harada, Y., Shinozaki, K., ‘‘Correlation between the induction of a gene for Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase and the accumulation

- of proline in *Arabidopsis thaliana* under osmotic stress”, *Plant Journal*, 7, (1995), 751–760
- 216.** Davies, E.A., Young, J.L., Endomycorrhizal colonization of glasshouse-grown wheat as influenced by fertilizer salts when banded on soil mixes”, *Canadian journal of botany*, 63, (1987), 119-1203.
- 217.** Strizhov, N., Abraham, E., Okresz, L., Blickling, S., Zilberstein, A., Schell, J., Koncz, C., Szabados, L., “Differential expression of two P5CS genes controlling proline accumulation during salt-stress requires ABA and is regulated by ABA1, ABI1 and AXR2 in *Arabidopsis*”, *Plant Journal*, 12, (1999), 557–569.
- 218.** Abraham, E., Rigo, G., Szekely, G., Nagy, R., Koncz, C., Szabados, L., “Light-dependent induction of proline biosynthesis by abscisic acid and salt stress is inhibited by brassinosteroid in *Arabidopsis*” *Plant Molecular Biology*, 51, (2003), 363–372.
- 219.** Sakurai, J., Ishikawa, F., Yamaguchi, T., Uemura, M., Maeshima, M., “Identification of 33 rice aquaporin genes and analysis of their expression and function”. *Plant Cell Physiology*, 46, (2005), 1568–1577.
- 220.** Maurel, C., Santoni, V., Luu, D.T., Wudick, M.M., Verdoucq, L., “The cellular dynamics of plant aquaporin expression and functions”. *Current Opinion in Plant Biology*. 12, (2009), 690–698.
- 221.** Ouziad, F., Wilde, P., Schmelzer, E., Hildebrandt, U., Bothe, H., “Analysis of expression of aquaporins and Na⁺/H⁺ transporters in tomato colonized by arbuscular mycorrhizal fungi and affected by salt stress”. *Environment Experimental Botany*, 57, (2006), 177–186
- 222.** Estrada, B., Aroca, R., Maathius, F.J.M., Barea, J.M., Ruiz-Lozano, J.M., “Arbuscular mycorrhizal fungi native from a Mediterranean saline area enhance maize tolerance to salinity through improved ion homeostasis”. *Plant, Cell and environment*, 36, (2013), 1771-1782.
- 223.** Shi, H.Z., Quintero, F.J., Pardo, J.M., Zhu, J.K., “The putative plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter SOS1 controls long-distance Na⁺ transport in plants”, *The plant cell*, 14, (2002), 465-477.
- 224.** Chin, K., DeFalco, T.A., Moeder, W., Yoshioka, K., “The *Arabidopsis* Cyclic Nucleotide-Gated Ion Channels AtCNGC2 and AtCNGC4 Work in the Same Signaling Pathway to Regulate Pathogen Defense and Floral Transition”. *Plant Physiology*, 163, (2013), 611–624.

225. Bowen, G.D., Rovira, A.D., "The rhizosphere and its management to improve plant growth", *Advance in Agronomy*, 66, (1999), 1–102.
226. Bonfante, P., Anca, I.A., "Plants Mycorrhizal fungi Bacteria: A Network of Interactions", *Annual Review of Microbiology*, 63, (2009), 363-83.
227. Dey, R., Pal, K.K., Tilak, K.V.B.R., 'Interaction of plant growth promoting rhizobacteria and AM fungi: Present status and future prospects', In: Podila, G.K., Varma A (Eds), 'Basic research applications of Mycorrhizae', Anshan ed, (2006), 83-110.
228. Barea, J.M., Toro, M., Orozco, M.O., Campos, E., Azcón, R., "The application of isotopic ^{32}P and ^{15}N -dilution techniques to evaluate the interactive effect of phosphate-solubilizing rhizobacteria, mycorrhizal fungi and *Rhizobium* to improve the agronomic efficiency of rock phosphate for legume crops", *Nutr Cycl Agroecosyst*, 63, (2002), 35–42.
229. Seddas, P., Van Tuinen, D., Gianinazzi, S., Gianinazzi, V., "Champignons mycorrhizogènes à arbuscules et bactéries associées. De précieux alliés pour la croissance et la santé de la plantes". *Biofutur*, 283, (2007), 31-34.
230. Bianciotto, V., Minerdi, D., Perotto, S., Bonfante, P., "Cellular interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and rhizosphere bacteria". *Protoplasma*, 193, (1996), 123-131.
231. Johansson J, Paul, L., Finlay, R.D., "Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture", *FEMS Microbiology Ecology*, 48, (2004), 1-12.
232. Bonfante, P., "Plants, Mycorrhizal Fungi and Endobacteria: a Dialog among Cells and Genomes", *The biological bulletin*, 204, (2003), 215-220.
233. Ruiz-Lozano, J.M., Bonfante, P., "A Burkholderia Strain Living Inside the Arbuscular Mycorrhizal Fungus *Gigaspora margarita* Possesses the *vacB* Gene, Which Is Involved in Host Cell Colonization by Bacteria", *Microbial ecology*, 39, (2000), 137-144.
234. Jeffries, P., S. Gianinazzi, S. Perotto, K. Turnau et J.M. Barea., "The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility", *Biol. Fertil. Soils*, 37, (2003), 1–16.
235. Lemanceau, P., Offre, P., Mougel, C., Gamalero, E., Dessaux, Y., Moenne-Loccoz, Y. and Berta, G., 2006. Microbial ecology of the rhizosphere. In: *Microbiological*

- methods for assessing soil quality. Bloem, J., Hopkins, D.W. et Benedetti, A. (eds). CABI publishing, Massachusetts, Cambridge, MA, Etats-Unis, pp. 228-230.
236. Mayo, K., Davis, R.E., Motta, J., "Stimulation of germination of spores of *glomus versiforme* by spore associated bacteria", *Mycorlogia*, 78, (1986), 426-431.
 237. Raj, J., Bagyaraj, D. J., Manjunath, A., "Influence of soil inoculation with vesiculararbuscular mycorrhizae and a phosphate-dissolving bacterium on plant growth and P32 uptake", *Soil Biology and Biochemistry*, 13, (1981) ,105-108.
 238. De Boer, W, Folman, L.B., Summerbell, R.C., Boddy, L., "Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development", *FEMS Microbiology Reviews*, 29, (2005) ,795-811.
 239. Artursson V, Finlay R, Jansson J (2006) Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environmental Microbiology* 8: 1–10.
 240. Meyer, J.R., Linderman, R.G., Response of subterranean clover to dual inoculation with vesicular-arbuscular fungi and a plant growth-promoting bacterium *Pseudomonas putida*. *Soil Biology and Biochemistry* 18, (1986), 185-190.
 241. Olsson, P.A., Thingstrup, I., Jakobsen, I., Baath, E., "Estimation of the biomass of arbuscular mycorrhizalfungi in a linseed field". *Soil biology and Biochemistry*. 31. (1999), 1879-1887.
 242. McGonigle, T.P., Miller, M.H., Evans, D.G., Fairchild, G.L., Swan, J.A., "A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular arbuscular mycorrhizal fungi". *New Phytologist*, 115 (1990), 495-501.
 243. Olsson, P.A., Francis, R., Read, D.J., Söderström, B., "Growth of arbuscular mycorrhizal mycelium in calcareous dune sand and its interactions with other soil microorganisms as estimated by measurement of specific fatty acids". *Plant Soil*, 201, (1998), 9–16.
 244. Bethlenfalvay, G.J., Ames, R.N., "Comparison of two methods for quantifying extraradical mycelium of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi". *Soil Science Society. Ammerican Journal*. 51, (1987), 834-837.
 245. Nylund, J. E., Wallander, H., "Ergosterol analysis as a mean of quantifying mycorrhizal biomass". *Methods in Microbiology*. 24, (1992), 77–88.
 246. Frostegård, Å., Tunlid, A., Bååth, E., "Changes in microbial community structureduring long-term incubation in two soils experimentally contaminated with metals" . *Soil Biology and Biochemistry*, 28, (1996), 55–63.

247. Larsen, J., Olsson, P.A., Jakobsen, I., ‘‘The use of fatty acid signatures to study mycelial interactions between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and the saprotrophic fungus *Fusarium culmorum* in root-free soil’’. *Mycological Researches*. 102, (1998), 1491–1496.
248. Olsson, P.A., Bàath, E., Jakobsen, I., Söderström, B., ‘‘The use of phospholipid and neutral lipid fatty acids to estimate biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in soil’’, *Mycological Research*, 99, (1995), 623–629.
249. Vestberg, M., Palojarvi, A., Pitkanen, T., Kaipainen, S., Puolakka, E., Keskitalo, M., ‘‘Neutral lipid fatty acid analysis is a sensitive marker for quantitative estimation of arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soil with crops of different mycotrophy’’, *Agricultural and Food Science*, 21, (2012), 12-27
250. Zelles, L., ‘‘Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review’’. *Biology and Fertility of Soils*. 29, (1999), 111–129.
251. Bàath, E., ‘‘ The Use of Neutral Lipid Fatty Acids to Indicate the Physiological Conditions of Soil Fungi’’ *Microbial ecology*. 45, (2003), 373–383.
252. Liu, S., Maimaitiailib, B., Joergensenc, R.G., Fenga, G., ‘‘ Response of soil microorganisms after converting a saline desert to arable land in central Asia’’. *Appleid soil ecology*. 2015.
253. Fontaine, J., ‘‘Etude du métabolism lipidique d'un champignon endomycorhizien à vésicules et arbuscules : *Glomus intraradices*’’. Thèse de doctorat en physiologie végétale de l'Université du Littoral Côte d'Opale (ULCO), Calais, (2001).
254. Olsson, P.A., Johansen, A., ‘‘Lipid and fatty acid composition of hyphae and spores of arbuscular mycorrhizal fungi at different growth stages.’’ *Mycological Research*. 104, (2000), 429–434.
255. Barin, M., Alisgharзад, N., Olsson, P.A., Rasouli-Sadaghiani, M., ‘‘Abundance of arbuscular mycorrhizal fungi in relation to soil salinity around Urmia northern Iran analyzed by use of lipid biomarkers and microscopy’’. *Pedobiologia*, 56, (2013), 225-232.
256. Olsson, P.A., Baath, E., Jakobsen, I., ‘‘Phosphorus effects on the mycelium and storage structures of an arbuscular mycorrhizal fungus as studied in the soil and roots by analysis of fatty acids signatures’’. *Applied Environment Microbiology*. 63, (1997), 3531–3538.

257. Aliasgharzad, N., Mårtensson, L.-M., Olsson, P.A., ‘‘Acidification of a sandy grass-land favours bacteria and disfavors fungal saprotrophs as estimated by fatty acid profiling’’. *Soil Biology and Biochemistry*. 42, (2010), 1058–1064.
258. Labidi, S., Fontaine, J., Laruelle, F., Tisserant, B., Dalpé, Y., Grandmougin-Ferjani, A., Douay, F., Lounès-Hadj Sahraoui, A., ‘‘Fly ash-aided phytostabilisation of highly trace element polluted topsoils improves the telluric fungal biomass: A long-term field experiment’’. *Applied soil ecology*, 85, (2014), 69-75.
259. Grandmougin-Ferjani, A., Fontaine, J., Durand, R., ‘‘Carbon metabolism, lipid composition and metabolism in arbuscular mycorrhizal fungi. In: Declerck, S., et al. (eds) *In vitro culture of mycorrhizas*. Springer, Berlin, (2005), pp 159-180.
260. Wichern, J., Wichern, F., Joergensen, R.G., ‘‘Impact of salinity on soil microbial communities and the decomposition of maize in acidic soils’’. *Geoderma*, 137, (2006), 100-108.
261. Khelil, A., ‘‘Le peuplement entomologique des steppes à alfa *Stipa tenacissima*’’. Ed. O.P.U, (1995), 76 p.
262. Bague-Bouragba, N., ‘‘Systématique et écologie de quelques groupes d'arthropodes associés à diverses formations végétales en zones semi-arides’’, thèse de doctorat d'état, Écologie animal, USTHB, Alger, (2007), 193p.
263. Bagnouls, F et Gausson, H., ‘‘Saison sèche et indice xéothermique’’, *Bulletin de société d'Histoire de la nature*, Toulouse, n°88, (1953), 193p.
264. Emberger, L., ‘‘Une classification biogéographique des climats’’, *Rapport des travaux du laboratoire Botanique, Géologie et Zoologie de la faculté des sciences Montpellier*, 7, (1955), 1-43.
265. Djebaili, S., ‘‘Steppe Algérienne, phytosociologie et écologie’’, OPU, Alger, (1984), 159 p.
266. Sanon, A., Andrianjaka, Z., Prin, Y., Bally, R., Thioulousn, J., Comte, G., Duponnois, R., ‘‘Rhizosphere microbiota interferes with plant-plant interactions’’, *Plant Soil*, 321, (2009), 259-278.
267. Gerdemann, J.W., Nicolson, T.H., ‘‘Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting’’, *Transactions of the British Mycological Society*, 46, (1963), 235–244.

268. Phillips, J.M., Hayman, D.S., "Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection", *Transactions of the British Mycological Society*, 55, (1970), 158-161.
269. Dalpé, Y., Seguin, S.M., "Microwave-assisted technology for the clearing and staining of arbuscular mycorrhizal fungi in roots", *Mycorrhiza*, 23 (2013), 333-40.
270. Porter, W.M., "The 'Most Probable Number' Method for Enumerating Infective propagules of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Soil". *Australian Journal of Soil Research*, 17, (1979), 515-19.
271. Planchette, C., Perrin, R., Duvert, P., "The concept of soil infectivity and a method for its determination as applied to Endomycorrhizas". *Canadian journal of botany*. 67, (1989), 112-115.
272. McInroy, J.A., Kloepper, J.W., "Survey of indigenous bacterial endophytes from cotton and sweet corn", *Plant and Soil*, 173, (1995), 337-342.
273. Hildebrand, D.C., "Pectate and pectin gel for differentiation of *Pseudomonas sp.* And other bacterial plant pathogens", *Phytopathology journal*, 61, (1988), 1430-1439.
274. Fages, J., Mulard, D., "Isolement de bactéries rhizosphériques et effet de leur inoculation en pots chez *Zea mays*", *Agronomie*, 8, (1988), 309-314.
275. Mezâache, S., Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de *Pseudomonas* isolées de la rhizosphère de la pomme de terre. Dissertation, Université de Sétif Algérie (2012).
276. Garrity, G., Winters, M., Seales, D.S., "Taxonomic outline of the Prokaryotic Genera. *Bergey's manual of systematic Bacteriology*", 2nd (edn) Springer, New York, (2001), 41p.
277. Frostegård, A., Tunlid, A., Baath, E., "Microbial biomass measured as total lipid phosphate in soils of different organic content". *Journal of Microbiology Methods*. 14, (1991), 151-163.
278. Hetrick, B.A.D., Wilson GWT, Cox TS., "Mycorrhizal dependence of modern wheat varieties, landraces, and ancestors", *Canadian journal of Botany*, 70, (1992), 2032-2040.
279. Akram, A., "Elicitation de la résistance systémique induite chez la tomate et le concombre et activation de la voie de la lipoxigénase par des rhizobactéries non-pathogènes", Dissertation ; Université de Liège, (2008),

- 280.** Tausky, H.H., Shorr, E., "A microcolorimetric method for the determination of inorganic phosphorus", *The journal of biological chemistry*, 202, (1953), 675-685.
- 281.** Rinaudo, G., Balandreaj, U., Dommerguye, S., "Alga and Bacteria non-symbiotic nitrogen fixation in Paddy soil". In: Mulder, T.A..L (eds), "Bacterial nitrogen fixation in natural and agricultural habitats. Plant and soil, special volum (1971), 471-479.
- 282.** McDonald, C., Smith, R., Scott, M., Dick, J., "Using indices to measure biodiversity changes through time" international workshop on spatio-temporal modeling . (2010), 5P.
- 283.** Dajoz, R., "Précis d'écologie". Science sup. Dunod (Eds). (2006),
- 284.** Minchin, P. R., "An evaluation of the relative robustness of techniques for ecological ordination". *Vegetatio* 69, (1987), 89-107.
- 285.** Wilson, G.W.T., Rice, C. W., Rillig, M. C., Springer, A., Hartnett, D. C., "Arbuscular mycorrhizal fungi control soil aggregation and carbon sequestration". ***Ecology Letters***, 12, (2009), 452-461.
- 286.** Bencherif, K., Boutekrabt, A., Fontaine, J., Laruelle, F., Dalpé, Y., Lounès-Hadj Sahraoui, A., "Impact of soil salinity on arbuscular mycorrhizal fungi biodiversity and microflora biomass associated with *Tamarix articulata* Vahl rhizosphere in arid and semi-arid Algerian areas". *Science of the Total Environment*, 533, (2015), 488-494.
- 287.** Blaszkowski, J., "Polish Endogonaceae IV. *Gigaspora gigantea*, *Glomus deserticola*, and *Glomus globiferum*. *Acta Mycol* 26, (1990), 3-16.
- 288.** Blaszkowski, J., "Arbuscular fungi and mycorrhizae (Glomales) of the Hel Peninsula Poland". *Mycorrhiza* 5, (1994), 71-88.
- 289.** Dalpé, Y., "Inventaire et repartition de la flore endomycorhizienne de dunes et de rivages maritimes du Québec, du Nouveau-Brunswick et de la Nouvelle-Ecosse. *Naturaliste Can. (Rev. Ecol. Syst.)*" 116, (1989), 219-236.
- 290.** Tadych, M., Blaszkowski, J., Arbuscular fungi and mycorrhizae (Glomales) of the Slowinski National Park, Poland. *Mycotaxon* 74, (2000), 463-483.
- 291.** Roughgarden, J., Diamond, J., "Overview: The role of species interactions in community ecology", In J. Diamond and T. Case (Eds.), *Community Ecology*, Harper & Row, New York, (1986), 333-344.
- 292.** Al-Raddad, A., "Distribution of different *Glomus* species in rain feed areas in Jordan". *Dirasat* 20, (1993), 165-182

- 293.** Bouazza-Marouf, K., Ighilhariz, Z., De Lajudie, P., Duponois, R., Bekki, A., ‘‘Assessing the native arbuscular mycorrhizal symbioses to rehabilitates a degraded Coastal sand dune in Algeria’’. *International journal of agriculture and crop Sciences*. 8, (2015), 194-202.
- 294.** Nehila, A., Ighilhariz, Z., Boukhatem, Z. Faiza., Bekki, Abdelkader., ‘‘Diversity of Arbuscular Mycorrhizal fungi in two perturbed ecosystems (dune and saline soil) in west Algeria’’. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*. 8, (2015), 380-387.
- 295.** Santos-Gonzalez, J.C., Finlay, R.D., Tehler, A., X., ‘‘Seasonal Dynamics of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities in Roots in a Semi natural Grassland’’. *Applied and environmental microbiology*. 73, (2007), 5613–5623.
- 296.** Moreira, M., Baretta, D., Tsai, S., Gomes-da-Costa, S.M., Nogueira Cardoso, E.J.B., ‘‘Biodiversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in *Araucaria angustifolia* Forest’’. *Scientia Agricola (Piracicaba, Braz.)*. 64, (2007), 393-399.
- 297.** Mohammad, M.J., Hamad, S.R., Malkani, H.I., ‘‘Population of arbuscular mycorrhizal fungi in semi arid environment of Jordan as influenced biotic and abiotic factors’’. *Journal of arid environment*. 53, (2003), 409-417.
- 298.** Allen, M.F., ‘‘Re-establishment of VA mycorrhizas following severe disturbance: comparative patch dynamics of a shrub desert and a subalpine volcano’’, *Proc Roy Soc Edinburgh* 94B, (1988), 63–71.
- 299.** Brundrett, M.C, Kendrick, W.B., ‘‘The mycorrhizal status, root anatomy, and phenology of plants in a sugar maple forest’’, *Canadian Journal of Botany*, 66, (1988), 1153–1173.
- 300.** Van der Heijden, M.G.A., Boller, T., Wiemken, A., Sanders, I.R., ‘‘Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinant of plant community structure’’. *Ecology*. 79, (1998), 2082-2091.
- 301.** Ruotsalainen, A.L., Vare, H., Vestberg, V.H.. ‘‘Seasonality of root fungal colonization in low-alpine herbs’’. *Mycorrhiza*. 12, (2002), 29-36.
- 302.** Jaiti, F., Meddich, A., El Hadrami, I., ‘‘Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi in the protection of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) against bayoud disease’’. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 71, (2007) 166–173.
- 303.** Bouamri et al., 2014 Bouamri, R., Dalpé, Y., Serrhini, M.N., ‘‘Effect of seasonal variation on arbuscular mycorrhizal fungi associated with date palm’’. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 26, (2014), 977-986.

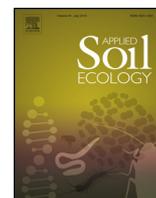
- 304.** De Oliveira, A.N., De Oliveira, L.A., “Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi in plants of *Theobroma grandiflorum* Schum and *Paullinia cupana* Mart, of an agroforestry system in central Amazonia Amazonas state Brazil”, *Brazilian Journal of Microbiology*, 36, (2005), 262-270.
- 305.** Leveau, J.H.J., Preston, G.M., “Bacterial mycophagy : definition and diagnosis of a unique bacterial-fungal interaction”. *New Phytologist*, 177, (2008), 859-876.
- 306.** Toro, M., Azcon, R., Barea, J.M., “Improvement of arbuscular mycorrhizal development by inoculation with phosphate solubilising rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability (32P) and nutrient cycling”, *Applied Environment Microbiology*, 63, (1997), 4408-4412.
- 307.** Gupta, S.S., “Chemotactic response of plant-growth-promoting bacteria towards roots of vesicular-arbuscular mycorrhizal tomato plants”, *FEMS Microbiology Ecology*, 45, (2003), 219-227.
- 308.** Abdel Fattah, G.M., Mohamadin, A.H., “Interaction between a vesicular arbuscular mycorrhizal fungus (*Glomus intraradices*) and *Streptomyces coelicolor* and their effects on sorghum plants grown in soil amended with chitin of brown scales” *Biology and fertility of soils*, 32, (2000), 401-409.
- 309.** Frey-Klett, P., Garbaye, J., Tarkka, M., “The mycorrhizal helper bacteria revisited”. *New Phytologist*. 73, (2007), 1031–1309.
- 310.** Sánchez-Castro, I., Ferrol, N., Cornejo, P., Barea, J.M., “Temporal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing roots of representative shrub species in a semi-arid Mediterranean ecosystem. *Mycorrhiza* 22, (2012), 449–460.
- 311.** Öpik, M., Metsis, M., Daniell, T.J., Zobel, M., Moora, M., “Large-scale parallel 454 sequencing reveals host ecological group specificity of arbuscular mycorrhizal fungi in a boreonemoral forest”. *New Phytologist*. 18, (2009), 424–437.
- 312.** Sýkorová, Z., Ineichen, K., Wiemken, K., Redecker, D., “The cultivation bias: different communities of arbuscular mycorrhizal fungi detected in roots from the field, from bait plants transplanted to the field, and from a greenhouse trap experiment”. *Mycorrhiza*, 18, (2007), 1–14.
- 313.** Hassan, S.E.D., Boon, A., St-Arnaud, M., Hijri, M., “Molecular biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in trace metal-polluted soils”. *Molecular Ecology*, 20, (2011), 3289–3490.
- 314.** Gai, J.P., Christie, P., Cai, X.B., Fan, J.Q., Zhang, J.L., Feng, G., Li, L.X., “Occurrence and distribution of arbuscular mycorrhizal fungal species in three

- types of grassland community of the Tibetan Plateau”. *Ecological Research*. 24, (2009), 1345–1350.
- 315.** Tian, H., Gai, J.P., Zhang, J.L., Christie, P., Li, X.L., “Arbuscular mycorrhizal fungi associated with wild forage plants in typical steppe of eastern Inner Mongolia”. *European Journal of Soil Biology*. 45, (2009), 321–327.
- 316.** Krishnamoorthy, R., Kim, K., Kim, C., Sa, T., “Changes of arbuscular mycorrhizal traits and community structure with respect to soil salinity in a coastal reclamation land”. *Soil Biology and Biochemistry*, 72, (2014), 1–10.
- 317.** Hirrel, M.C., “The effect of sodium and chloride salts on the germination of *Gigaspora margarita*”. *Mycologia*. 73, (1981), 610–617.
- 318.** McMillen, B.J., Junipper, S., Abbott, L.K., “Inhibition of hyphal growth of a vesicular– arbuscular mycorrhizal fungus in soil containing sodiumchloride limits the spread of infection from spores”. *Soil Biology and Biochemistry*. 13, (1998), 1639–1646.
- 319.** Allexander, T., Meier, R., Toth, R., Webber, H.C., “Dynamics of arbuscule development and degeneration in mycorrhizas of *Triticum aestivum* L. and *Avena sativa* L. with reference to *Zea mays* L”. *New Phytologiste*. 110, (1988), 363–370.
- 320.** Sussman, A.S., “Activators of Fungal Spore Germination”. In: Weber, D.J., Hess, W.M. (Eds.), “The Fungal Spore Form and Function”. John Wiley Publishing, New York, (1976.), pp. 101–137.
- 321.** Mendpara, J., Parekh, V., Vaghela, S., Makasana, A., Kunjadia, P.D., Sanghvi, G., Vaishnav, D., Dave, G.S., “Isolation and characterization of high salt tolerant bacteria from agricultural soil”. *European Journal of Experimental Biology*. 3, (2013), 351–358.
- 322.** Ben-David, E., Zaady, E., Sher, Y., Nejidat, A., “Assessment of the spatial distribution of soil microbial communities in patchy arid and semi- arid landscapes of the Negev Desert using combined PLFA and DGGE analyses”. *FEMS Microbiological Ecology*. 76, (2011), 492–503.
- 323.** Ishida, T.A., Nara, K., Ma, S., Takano, T., Liu, S., “Ectomycorrhizal fungal community in alkaline-saline soil in northeastern China” *Mycorrhiza*, 19, (2009), 329–335.
- 324.** Hryniewicz, K., Szymańska, S., Piernik, A., Thiem, D., “Ectomycorrhizal community structure of *Salix* and *Betula* spp. at a saline site in Central Poland in relation to the seasons and soil parameters”. *Water Air Soil Pollut.* 226, (2015), 99.

- 325.** Zizzo, A., ‘‘The effects of road salt on mushroom-forming saprotrophic fungi. Dessertation, Carthage College.
- 326.** Montgomery, H.J., Montreal, C.M., Young, J.C., Seifer, S., ‘‘Determination of soil fungal biomass from soil ergosterol analysis’’. *Soil Biology and Biochemistry*, 32 (2000), 1207-1217.
- 327.** Lingua, G., Bona, E., Todeschini, V., Cattanea, C., Marsano, F., Berta, G., Cavaletto, M., ‘‘Effects of heavy metals and arbuscular mycorrhiza on the leaf proteome of a selected poplar clone: a time course analysis’’. *PLoS ONE*, (2012). 7:e38662.
- 328.** Baslam, M., Esteban, R., Garcia-Plazaola, J.I., Giocoechea, N., ‘‘Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) for inducing the accumulation of major carotenoids, chlorophylls and tocopherol in green and red leaf lettuces’’. *Applied Microbiol Biotechnology*. 97, (2013), 3119-3128.
- 329.** Bona, E., Lingua, G., Manassero, P., Cantamessa, S., et al., ‘‘AMfungi and PGPR pseudomonas increase flowering, fruit producing, and vitamin content in strawberry grown at low nitrogen and phosphorus levels’’, *Mycorrhiza*, 25, (2015), 181-193.
- 330.** Duponnois, R., Founoune, H., Masse, D., Pontanier, R., ‘‘Inoculation of *Acacia holosericea* with ectomycorrhizal fungi in a semi-arid site in Senegal: growth response and influences on the mycorrhizal soil infectivity’’. *Forestry Ecological Management*. 207, (2005), 351-362.
- 331.** Ramasamy, K., Joe, M.M., Kim, K., Lee, S., Shagol, C., Rangasamy, A., Chung, J., Islam, M.R., Sa, T., ‘‘Synergistic effects of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agricultural production’’. *Korean journal of soil science fertility*, 44, (2011), 637-649.
- 332.** Mathr, N., Vyas, A., ‘‘Mycorrhizal dependency of *Tamarix aphylla* in saline areas of Thar Desert’’. *Journal Naturalia*, 25, (2000), 105-110.
- 333.** Renuka, G., Rao, M. S., Praveen Kumar, V., Ramesh, M., Sanditi Ram, R., ‘‘Arbuscular Mycorrhizal dependency of *Acacia melanoxylon* R.Br’’. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*. 82, (2012), 441-446.
- 334.** Sangabriel-Conde, W., Negrete-Yankelevich, S., Maldonado-Mendoza, I. E., Trejo-Aguilar, D., ‘‘Native maize landraces from Los Tuxtlas, Mexico show varying mycorrhizal dependency for P uptake’’. *Biology and Fertility of soils* 50, (2014), 405– 414.

335. Dalpé, Y., Monreal, M., ‘‘Arbuscular mycorrhizal inoculum to support sustainable cropping systems’’. Symposium great plains inoculant from proceeding crop management, 3, (2004), 301-309.
336. Symanczik, S., Courty, P.E., Bolleri, T., Wiemken, A., Al-Yahya, M.N., ‘‘Impact of water regimes on an experimental community of four desert arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) species, as affected by the introduction of a non-native AMF species’’. Mycorrhiza, 25, (2015), 639-47.
337. Bousselmame, F., Kenny, L., Achouri, M., ‘‘ Effet des mycorhizes à vésicules et arbuscules sur la croissance et la nutrition de l’arganier (*Argania spinosa* L.)’’, Actes Institut d’agronomie Maroc. 22, (2002), 193-198.
338. Panneerselvam, P., Mohandas, S.S., Saritha, B., Upreti, K.K., Poovarasan, Monnappa, A., Sulladmath, V.V., ‘‘Glomus mosseae associated bacteria and their influence on stimulation of mycorrhizal colonization, sporulation, and growth promotion in guava (*Psidium guajava* L.) seedlings’’. Biological agriculture and horticulture. 28, (2012), 267-279.
339. Ortiz, N., Armada, E., Duque, E., Roldan, A., Azcon., R., ‘‘contribution of arbuscular mycorrhizal fungi or / and Bacteria ta enhancing plant drought tolerance under natural soil conditions: Effectivness of allochtonous or autochtonous strains’’ journal of plant physiology, 174, (2015), 87-96.
340. Vyas, M., Vyas, A., ‘‘Field Response of Capsicum Annuum Dually Inoculated with AM Fungi and PGPR in Western Rajasthan’’. International Journal of Research Studies in Biosciences. 2, (2014), 21-26.
341. Singh, R., Soni, S.K., Kalra, A., ‘‘ Synergy between Glomus fasciculatum and a beneficial Pseudomonas in reducing root diseases and improving yield and forskolin content in Coleus forskohlii Briq. under organic field conditions’’. Mycorrhiza. 23, (2013),35–44
342. Ferrol, N., Pérez-Tienda, J., ‘‘Coordinated nutrient exchange in arbuscular mycorrhiza interface’’. In: Azcon-Aguilar et al. (eds) Mycorrhizas: ‘‘Functional processes and ecological impact’’. Springer, Germany, (2009), 73–87.
343. Puckette, M.C., Tang, Y., Mahalingam, R., ‘‘Transcriptomic changes induced by acute ozone in resistant and sensitive *Medicago truncatula* accessions’’. BMC plant biology, 8, (2008)., 1–15.

344. Chandran, D., Sharopova, N., VandenBosch, K.A., Garvin, D.F., Samac, D.A., ‘‘Physiological and molecular characterization of aluminum resistance in *Medicago truncatula*’’. *BMC plant biology*, 8, (2008), 89.
345. Aloui, A., Recorbet, G., Gollotte, A., Robert, F., Valot, B., Gianinazzi-Pearson, V., Aschi-Smiti, S., Dumas-Gaudot, E., ‘‘On the mechanisms of cadmium stress alleviation in *Medicago truncatula* by arbuscular mycorrhizal symbiosis: A root proteomic study’’. *Proteomics*, 9, (2009), 420–433.
346. Balestrazzi, A., Confalonieri, M., Macovei, A., Carbonera, D., ‘‘Seed imbibition in *Medicago truncatula* Gaertn.: Expression profiles of DNA repair genes in relation to PEG-mediated stress’’. *Journal of plant physiology*, 168, (2011), 706–713.



Soil and seasons affect arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Tamarix* rhizosphere in arid and semi-arid steppes



Karima Bencherif^{a,b}, Ammar Boutekrabt^a, Yolande Dalpé^c,
Anissa Lounès-Hadj Sahraoui^{b,*}

^a Université de Blida, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Route de Soumaa, BP 270, Blida 09000, Algeria

^b Université du Littoral Côte d'Opale, Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant (UCEIV), EA4492, SFR Condorcet FR CNRS 3417, 50 rue Ferdinand Buisson, 62228 Calais, France

^c Agriculture et agroalimentaire Canada, Centre de recherche et développement d'Ottawa 960 Carling Ave, Ottawa, ON K1A 0C6, Canada

ARTICLE INFO

Article history:

Received 21 December 2015

Received in revised form 24 May 2016

Accepted 9 June 2016

Available online xxx

Keywords:

Tamarix articulata

Tamarix gallica

AMF biodiversity

Mycorrhizal colonization

Pedological parameters

ABSTRACT

The arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) diversity associated to *Tamarix articulata* and *Tamarix gallica* rhizosphere was investigated in the Algerian steppic area. Evaluation of species diversity revealed the presence of 10 glomoid and one gigasporoid spore types of AMF species from the ten studied sites. Shannon biodiversity index showed that AMF species diversity varied according to soil physico-chemical characteristics of the different sites. However, seasonal variation affected abundance but not AMF species biodiversity. Significant effect of soil and seasons on AMF root colonization rate was also observed. Overall, AMF *Tamarix* root colonization rates varied according to the species ranging from 0.88 to 75.26% in *T. articulata* and from 1.90 to 12.96% in *T. gallica*. This study highlighted the complexity of *Tamarix* species/AMF symbiosis through seasons associated with plant phenology and soil physico-chemical composition in arid and semi-arid steppes.

© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Desertification is a major cause of land loss in pre-Saharan area. The steppe ecosystem consists of dry lands subjected to high evapotranspiration (Ollero, 2013; Dagar and Tomar, 2002). Steppic zones of Algeria were defined by Le Houerou et al. (1977) based on their bio-climates. They were characterized by their high soil salinity and calcareous level, conditions that hamper the ecosystem restoration (Ollero, 2013). Revegetation with selected plant species adapted to the harsh condition of steppic areas is an effective technique to fight against advancing desert and desertification (Dagar and Tomar, 2002).

Tamarix species that belong to the Tamaricaceae family are recognized to be well adapted to saline soil and arid environments (Meinhardt and Gehring, 2013). They can tolerate an extreme range of environmental conditions (Oudat and Quadir, 2011), and are resistant to high soil salinity levels such as those found in Algerian steppic ecosystems. This family includes 112 species from endemic regions of Eurasia and Africa and some species have been introduced into North America (Khabtane, 2010). *Tamarix gallica*

L. and *Tamarix articulata* Vahl, two halophytic species, were introduced in some Algerian steppic areas during French colonial period. Since that time, they have spread naturally in several other arid and semi-arid areas (Belarouci, 1991; DGF, 2004).

T. gallica is a widespread species in coastal Mediterranean areas deciphering a high adaptability to different environments and a high tolerance to hard environmental conditions (Abou Jouadé et al., 2012). Its adaptability to saline soil made it efficient as a phytoremediator (Kadukova and Kalogerakis, 2007). *T. articulata* establishes in desert environments in North Africa and the Middle East, zones characterized by low rainfall, not exceeding 100 mm a year. The species is adapted to rich clay soil, with a moderate sand accumulation. This drought-resistant tree is tolerant to alkaline and saline soils and is commonly used as a windbreak and shade tree in oasis (Khabtane, 2010; UICN, 2014). *T. articulata* is one of most promising species for revegetation of bio-saline degraded soils and as such well suited to grow in steppic environments (Dagar and Tomar, 2002).

An interesting biological tool to improve plant growth and plant resistance in stressful environments is the establishment of mycorrhizal symbiosis (Fortin et al., 2008). Symbiotic fungi are important components of ecosystem diversity, due to the mutualistic interaction with roots of the terrestrial plants (Smith and Read, 2008). It has been clearly demonstrated that a diversity

* Corresponding author.

E-mail address: lounes@univ-littoral.fr (A. Lounès-Hadj Sahraoui).

of mycorrhizal fungi co-exists in natural communities and can have different effects on the plant growth, soil stability and stress resistance (Smith and Read, 2008; Wilson et al., 2009). The arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) root colonization varies according to plant species, fungal and bacterial communities as well as soil environmental and plant physiological conditions (Smith and Read, 2008). Recent study showed that *T. articulata* is naturally associated with AMF (Bencherif et al., 2015). Beauchamp et al. (2005) found that AMF root colonization of the introduced *T. ramosissima* was very low. It seems that the mycorrhizal colonization status of *Tamarix* varies according to environmental conditions and species (Chaudhry et al., 2013).

In Algeria, tree plantation using *Tamarix* species is currently used for revegetation and soil stabilization (DGF, 2004). Before extending *Tamarix* species plantation through different areas of arid and semi-arid steppic zones, it is imperative to investigate on best cultivation practices including AMF. The present study aims to evaluate the AMF soil diversity associated with the rhizosphere of *T. articulata* and *T. gallica* grown under naturally colonized fields and in plantations of ten studied sites, located in arid and semi-arid ecosystems of Algerian steppes. Effects of seasons and soil parameters on AMF biodiversity and abundance as well as on *Tamarix* species colonization have been studied and discussed.

2. Material and methods

2.1. Site description and soil analysis

Ten sites of *Tamarix* populations in Algerian steppic area were selected, based on their respective soil texture and bioclimatic stage (Emberger, 1955) in order to investigate large spectra of *Tamarix* populations (Table 1). The studied sites were respectively: (1) Ain Oussera, (2) Boughzoul, (3) Djelfa, (4) Hassi Bahbah, (5) Kasr El Boukhari, (6) Laghouat, (7) Messaad, (8) El-Mesrane, (9) Salt Rocket (*Rocher de Sel*) and (10) Zaafrane. Weather conditions for the sampling year (2012/2013) corresponded to the characteristics of each region, except for a wet winter at site 1 and a wet spring at site 7 (Table 1). As indicated in Table 1, some sites were naturally colonized by *Tamarix* species and other were planted. Locations and distances between the different sites are indicated in Fig. 1.

Soil texture was estimated using textural triangle (USDA, 2013). Organic matter and organic carbon were determined by Walkley-Black method according to CEEAEQ (2003) using soil moisture and total calcareous content as described by Petard (1993). Soil samples were analyzed for pH on (1:5) soil: water suspension and soluble salt were determined by measuring the electrical conductivity (1:5) soil: water suspension at 25 °C (AFNOR, 1995). Soil salinity was established according to USDA (2013) description. Available phosphorus (P) was measured according to Olsen method (1954). Total soil Nitrogen (N) was determined using the Kjeldahl method followed by titration of the distillates after Kjeldahl sample preparation and analysis (USDA, 2013). Available potassium (K), magnesium (Mg) and sodium (Na) were determined according to Nathan et al. (2012).

2.2. Soil and root sampling

Five mature *T. articulata* (Heights: 5–8 m) and five mature *T. gallica* (Heights: 2–4 m) at 20 m intervals were selected from each site. Samples were collected over area of 100 m² per site. A portion of the root systems and 1 kg of soil were collected from each plant at 25–50 cm depth at the middle of the four studied seasons and kept in labeled plastic bags at 4 °C until processing. Sampling dates for wet seasons were chosen right after heavy rain periods to favor and optimize AMF abundance. Summer sampling was done at the middle of the season in the most hot day. Soil sampling was done once every season. Soil and root samples were performed on ten *T. articulata* and nine *T. gallica* field sites. Five trees per site were selected for each *Tamarix* species and each site. Data were means of five replicates from each studied area.

2.3. Isolation and identification of AMF

AMF spores were extracted from 100 g of air-dried soil according to a wet sieving procedure described by Gerdemann and Nicolson (1963). *Tamarix* species rhizosphere soil samples were suspended in tap water, stirred and sieved sequentially through 250, 125 and 45 µm sieves under flowing tap water to separate the spores according to their sizes. Spores were deposited on a cavity microscopic slide and separated according to their

Table 1
Description of studied sites.

Studied sites	Official Name of sites	<i>Tamarix</i> species	<i>Tamarix</i> Status	M (°C)	m (°C)	R (mm/y)	Altitude (m)	Coordinates	Q ₃	Bioclimatic stage (Emberger classification)
1	Ain Oussera (Djelfa)	<i>T. articulata</i>	Planted in 1980	34.00	0.81	217.65	694	35°25'07"N 2°54'20" E	21.99	High arid with mild Winter
2	Boughzoule (Medea)	<i>T. articulata</i> & <i>T. gallica</i>	Native	34.5	0.86	172.5	635	35°42'03"N 2°50'17" E	21.43	High arid with mild Winter
3	Djelfa	<i>T. articulata</i> & <i>T. gallica</i>	Planted in 1984	34.11	0.69	319.23	1131	34°40'00"N 3°15'00" E	43.46	Average semi-arid with cold winter
4	Hassi Bahbah (Djelfa)	<i>T. articulata</i> & <i>T. gallica</i>	Planted in 1952	34.1	0.78	209.9	841	35°04'33"N 3°01'37" E	25.79	Lower semi-arid with cold winter
5	Kasr el Boukhari (Medea)	<i>T. articulata</i> & <i>T. gallica</i>	Native	35.00	0.86	438	608	35°57'08"N 2°52'18" E	20.62	Upper semi-arid with humid winters
6	Laghouat (Laghouat)	<i>T. articulata</i> & <i>T. gallica</i>	Native	39.6	2.10	320.12	750	32°55'08"N 2°30'32" E	16.28	Lower Saharan with mild winter
7	Messaad (Djelfa)	<i>T. articulata</i> & <i>T. gallica</i>	Native	34.32	0.79	245.23	768	34°10'00"N 3°34'60" E	25.05	Pre- Saharan with mild winter
8	El-Mesrane (Djelfa)	<i>T. articulata</i> & <i>T. gallica</i>	Planted in 1984	36.21	1.59	165.4	830	34°20'09"N 3°47'02" E	25.63	Upper semi-arid with mild winter
9	Salt Rocket (Djelfa)	<i>T. articulata</i> & <i>T. gallica</i>	Native	35.5	1.2	279	1083	34°23'04"N 3°52'17" E	27.9	Medium semi-arid with cold winter
10	Zaafrane (Djelfa)	<i>T. articulata</i> & <i>T. gallica</i>	Native	36.3	1.8	245.23	950	34°52'40"N 2°50'41" E	24.37	Semi-arid lower with mild winter

M: maximum temperature; m: minimum temperature (M and m were observed in period of study); R: rain; (R: means of annual Rain way); Q₃: Emberger pluvio-thermic quotient.

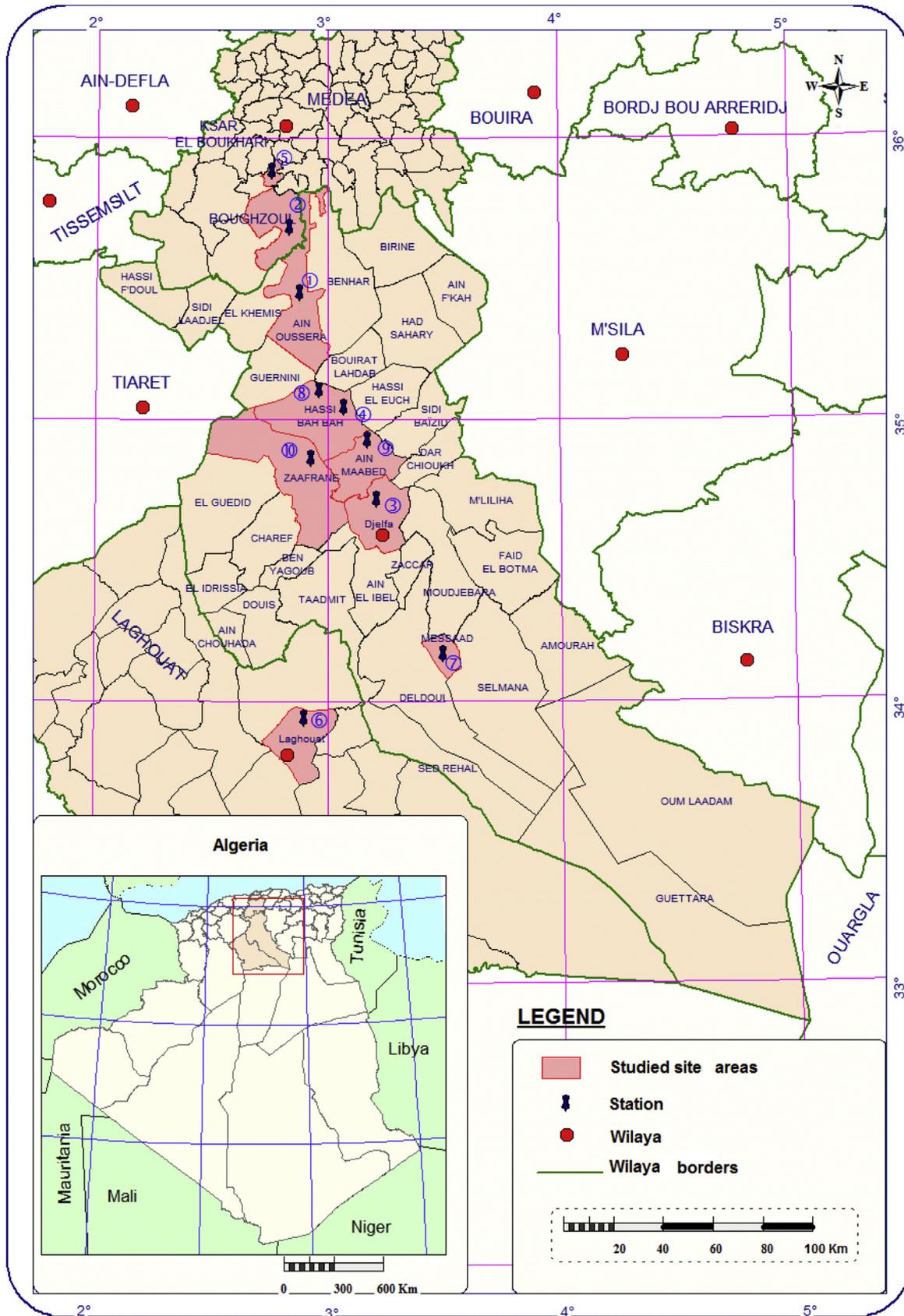


Fig. 1. Location of the ten studied sites.

respective morphotypes. For each morphotype, spores were cleaned under the dissecting microscope from adherent soil and plant debris and mounted on microscopic slides using PVLG (Polyvinyl Lactic Acid Glycerol mounting media) and a mixture of PVLG and Melzer's reagent (1:1; V:V) to detect dextrinoid sugar spore reaction (Brundrett et al., 1996). Spore morphology was studied under a compound microscope (Nikon Eclipse 800). Specimens were described and identified using original descriptions of species and identification keys according to Blazzkowski (2012) and specialized websites <http://www.zor.zut.edu.pl/Glom-eromycota/index.html> and <http://invam.caf.wvu.edu>.

2.4. Quantification of arbuscular mycorrhizal root colonization

Roots were washed under water to remove soil debris and cut into 10–15 mm fragments to allow better staining performance. *Tamarix* roots required 5 min H₂O₂ bath to remove pigments. A microwave modified staining procedure was used to bleach and stain roots (Phillips and Hayman, 1970; Dalpé and Seguin, 2013). Roots were bleached in KOH 5%, 25 s in microwave oven (800 W), rinsed three times in water and acidified 5 min in HCl 1 N. Half of the roots were stained in Trypan blue (5%) in lactic acid glycerol water and half in Fuschsin acid (4%) in lactic acid glycerol water (1:1:1, v:v:v) for 45 s in microwave (800 W). The excess staining was removed in a bath of glycerol-water solution (1:1 V:V). Root mycorrhizal rates were calculated using magnified grid line intersect method (McGonigle et al., 1990). Forty-five thousand intersections from 50 *T. articulata* plants and thirty-six thousand intersections from 45 *T. gallica* sampled plants from the studied sites were observed under an optical microscope ($\times 100$). The total mycorrhizal rate (including arbuscules, vesicles and hyphae) was estimated.

2.5. Statistical analysis

The ecological attributes were calculated in the following manner: species richness (S), Shannon's diversity index (H') and equitability indices of Piéluou (Moreira et al., 2007).

Species richness (S) indicates the number of different species represented in the sampled ecological community.

Shannon index (H') was calculated as an additional measure of AMF diversity. It assumes that all species are represented in a

sample and that the sample was obtained randomly. It is calculated from the equation: $H' = - \sum Ni/N \log_2 (Ni/N) = - \sum (pi * \ln pi)$, where $pi = Ni/N$. pi is the relative spore abundance of the i species compared to all species identified in a sample (Shannon, 1948).

Shannon index varied between 0 and H'_{max} . H'_{max} indicates maximum value for Shannon index. It's calculated as: $H'_{max} = \ln S$.

Equitability index (E) (Piéluou, 1966) informs us on AMF species distribution (Ramade, 2009). It is calculated from the equation: $E = H'/\log_2 S = H'/\ln S$. It assumes that all species are represented within the sample. A high value of this index (tends to 1) would reflect an equitable distribution of AMF species. In contrast, a low value (tends to 0) indicates existence in the studied sites of rare species and there is disproportionate distribution of AMF species (Dajoz, 2006).

Detended Correspondance Analysis (DCA) using DECORANA program of PC-Ord 5.0 (McCune and Mefford, 2011) with means of AMF data samples was applied to determine the relationship between field sites and AMF species communities as well as the relationship between AMF species and seasons based on two factorial axes.

The effects of seasonal variation and sites on AMF species diversity, species richness and AMF root colonization rate were tested with LSD test at $p < 0.05$. Effects of soil salinity level on AMF species diversity and on AMF root colonization was evaluated according to Pearson coefficient correlation test.

Three ways ANOVA was used to analyze relationship between colonization data, seasonal variation and soil parameters as abiotic factors and plant species as biotic factor using the R (3.00). F value indicated equality of variances. It is calculated as: $F = [\text{Somme of squares between group/degree of freedom}] / [\text{Somme of squares within group/degree of freedom}]$. Pearson's correlation coefficients were employed to determine the relationships between mycorrhizal colonization and soil salinity.

3. Results

3.1. Pedological characteristics

Globally, soil pH was mostly alkaline (7.5–9.5) in all the studied sites, except in site 9 where it was slightly acid (5.95) (Table 2). Soil salinity varied from very low (0.03 g l⁻¹) in site 1 to high in site 10 (5.75 g l⁻¹), despite the low rate of Na, because soil salinity was

Table 2
Chemical and physical characteristics of the studied soils.

Sites/Parameters	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
pH _{Water}	8.14	7.48	7.54	7.78	7.77	7.99	7.89	7.85	5.95	9.5
EC (ds m ⁻¹)	0.62	4.15	2.95	2.13	2.43	1.82	0.54	0.8	8.5	9.93
Salinity (g l ⁻¹)	0.03	3.24	1.72	1.23	1.42	1.05	0.04	0.29	4.94	5.75
Available P (mg g ⁻¹)	0.13	0.21	0.11	0.44	0.95	0.14	0.13	0.37	0.027	0.10
Moisture (%)	1.6	4.94	8.01	10.17	11.06	4.22	2.75	10.18	13.85	23.8
N (mg g ⁻¹)	0.18	0.42	0.231	0.23	0.25	0.203	0.19	0.26	0.2	0.1
C (mg g ⁻¹)	3.5	8.3	7.8	5.1	8.1	7.7	5.01	1.9	8.9	3.18
C/N	19.44	19.76	33.76	22.17	32.4	37.93	2.63	34.23	44.5	31.8
Mg (meq 100 g ⁻¹)	–	38.4	4.1	0.66	5.2	3.2	–	1.32	3.1	15.2
K (mg g ⁻¹)	100.0	30.01	400.0	100.0	446.0	100.0	100.0	250.0	0.12	0.14
Na (meq 100 g ⁻¹)	–	11	1.35	0.12	1.43	0.98	–	1.39	22	2.1
MO (%)	0.60	1.43	1.34	0.87	3.14	1.32	0.862	0.32	1.53	0.54
Total calcareous (%)	3.04	12.62	12.37	4.24	7.06	5.29	4.97	13.83	7.46	9.8
Active calcareous (%)	–	6.25	6.15	–	–	–	–	6.6	–	5.5
Clay (%)	14.5	9.5	12	6.5	8.02	34.07	6.5	25.01	2.90	13.5
Silt (%)	22.41	19.99	33.35	4.58	20.31	49.47	15.01	13.55	75.67	25.1
Sand (%)	63.08	70.5	50.24	88.91	71.69	16.03	78.5	61.45	21.90	61.1
Texture	Loam-sandy	Sandy loamy	Loam-sandy-clayey	Sandy	Sandy-loamy	Loamy-clayey	Loamy-sandy	Sandy-loamy-clayey	Loamy-sandy	Sandy-loamy

Data are presented as means obtained from the four studied seasons for each site. –: not detected.

sulfate nature. All studied sites showed low levels of available P ranging between 0.1 mg g^{-1} in site 10 and 0.95 mg g^{-1} in site 5. Total nitrogen varied between 0.1 mg g^{-1} in site 10 and 0.42 mg g^{-1} in site 2. Organic carbon (OC) levels were variable. Sites 2, 3, 8 and 10 showed high calcareous levels (9.8% in site 10 and 13.83% in site 8 with 12.62, 12.37 respectively in sites 2 and 3). Soil texture varied from loam-sand-clayey to sandy (Table 2).

3.2. AMF native spore population in *T. articulata* and *T. gallica* rhizospheres

Spore morphotypes isolated from the rhizosphere of *T. articulata* and *T. gallica* belong to *Septoglomus*, *Funnelformis*, *Rhizophagus* and *Gigaspora* genera (Table 3 and Table S1). In addition, four other glomoid spore species were characterized but not identified (Tables 3, S1). *Septoglomus constrictum*, *Funnelformis geosporum* and *Funnelformis mosseae* were the most abundant species.

AMF species richness (S) showed little fluctuation through seasons; eleven species were found in autumn, winter, spring, and ten in summer (Table 4). *F. geosporum*, *F. coronatum*, *S. constrictum*, *F. mosseae*, and *G. sp1* were more frequent in autumn than in other seasons. However, the presence of the remaining AMF species was independent from seasons (Fig. 2). The species *R. diaphanus* was observed only in site 5. *Gi. gigantea* was recorded in site 4, *G. sp2* only in site 9 and *G. sp4* was present in site 8 (Fig. 3).

Shannon biodiversity index (H') varied between 1.47 in winter to 1.55 in spring, while H'_{max} , which indicated the maximum value of Shannon index, ranged between 2.3 in summer and 2.4 for the remaining seasons. Equitability index (E) varied between 0.615 to 0.655 through seasons (Table 4).

Species richness (S) ranged between 3 in site 10 to 6 in sites 2, 5, 6 and 7 (Table 5). Shannon index varied between 0.99 in site 10 to 1.75 in site 6. Comparatively to H'_{max} , sites 6 and 3 presented the higher AMF biodiversity. In site 6, H' was about 1.75 with H'_{max} equal to 1.79 whereas in site 3, H' was about 1.36 with H'_{max} equal

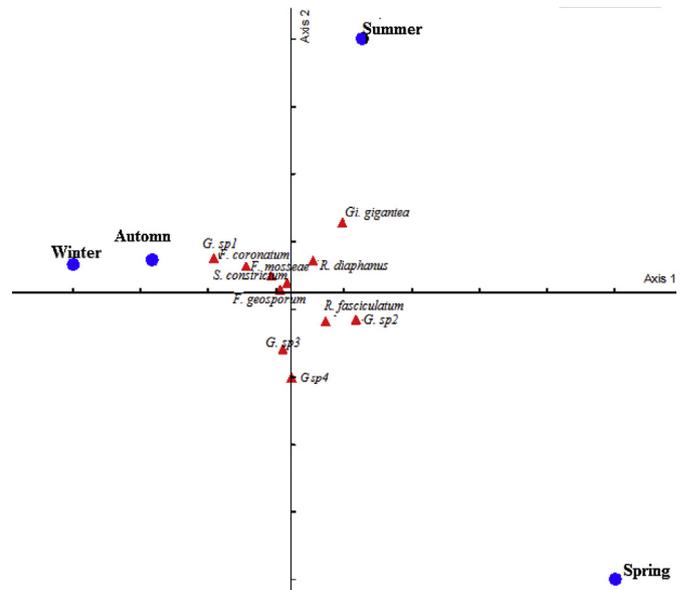


Fig. 2. DCA ordination of AMF species distribution according to the four studied seasons. Data of AMF was based on means of 5 replicate samples for each season in the ten studied sites. Red triangles indicate the identified AMF species. Blue dots represent the studied seasons. When red triangles are close to the center, it means that there is no specific association between AMF species and seasons. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

to 1.38. For the remaining sites, H'_{max} and H' were different indicating lower AMF biodiversity (Table 6). Equitability index varied according to sites. It ranged between 0.72 in site 2 to 0.98 in sites 3 and 6. It was lowest in sites 4 and 8 comparatively to the remaining sites (Table 5). Significant negative effect of soil salinity level was recorded on species richness and biodiversity index (Table 5).

3.3. *T. articulata* and *T. gallica* AMF root colonization

AMF root colonization rates varied according to seasons in all sites (Fig. 4). Intraradical vesicles were observed both in *T. articulata* and *T. gallica* roots. Their sizes and morphologies were different in the two species. While the vesicles were large, ovoid and grouped together in *T. articulata* roots, they were small and dispersed in *T. gallica*. Arbuscules were rare in the two studied species (Data not shown). Hyphae were more numerous in *T. articulata* than in *T. gallica*. Indeed, in all sites, AMF colonization rates were found higher in *T. articulata* than in *T. gallica* roots (Fig. 4a, b). Whereas *T. articulata* root colonization rates ranged between 0.88 in summer and 75.26% in autumn, the mycorrhizal rates ranged from 1.9% in summer to 12.96% in autumn in *T. gallica*. In addition, for *T. gallica* the lowest root colonization rate was recorded in winter and for *T. articulata* it was recorded in summer. Seasonal variation influences AMF root colonization rate according to ANOVA test ($p < 0.001$) (Table 6).

Table 3

AMF species isolated from the ten studied sites according to different seasons.

AMF species	Number of AMF spore species			
	Autumn	Winter	Spring	Summer
<i>Septoglomus constrictum</i>	1551 ^d	1512 ^c	1086 ^a	1205 ^b
<i>Funnelformis mosseae</i>	522 ^d	405 ^c	387 ^a	391 ^b
<i>Funnelformis geosporum</i>	908 ^d	890 ^c	735 ^b	652 ^a
<i>Funnelformis coronatum</i>	20 ^d	1 ^a	4 ^b	5 ^c
<i>Rhizophagus fasciculatus</i>	202 ^c	180 ^b	258 ^d	155 ^a
<i>Rhizophagus diaphanus</i>	17 ^a	23 ^b	22 ^b	32 ^c
<i>Gigaspora gigantea</i>	9 ^b	3 ^a	8 ^b	18 ^c
<i>Glomus sp1</i>	405 ^c	422 ^d	133 ^a	210 ^b
<i>Glomus sp2</i>	14 ^d	6 ^b	9 ^c	1 ^a
<i>Glomus sp3</i>	32 ^a	33 ^a	60 ^c	42 ^b
<i>Glomus sp4</i>	3 ^a	4 ^b	4 ^b	nd
Total AMF species	11	11	11	10
Total spore number/10 g soil	3683	3479	2706	2711

Data are presented as means obtained from five replicates from the ten studied sites. nd: not detected. For each AMF species, different letters indicate significant difference between seasons according to the LSD test ($p < 0.05$).

Table 4

Biodiversity index of AMF species through seasons.

Seasons	Means of spore number	S = species richness	H' = Shannon index	H'_{max}	E = Equitability index
Autumn	334.81 ^c	11 ^b	1.524 ^b	2.4 ^b	0.636 ^b
Winter	316.27 ^b	11 ^b	1.475 ^a	2.4 ^b	0.615 ^a
Spring	246.00 ^a	11 ^b	1.550 ^b	2.4 ^b	0.646 ^c
Summer	246.45 ^a	10 ^a	1.509 ^b	2.30 ^a	0.655 ^d

Data are represented as means obtained from 5 replicates of 10 studied sites for each season. H'_{max} : maximum value of Shannon index. For each parameter, different letters indicate significant difference between seasons according to the LSD test ($p < 0.05$).

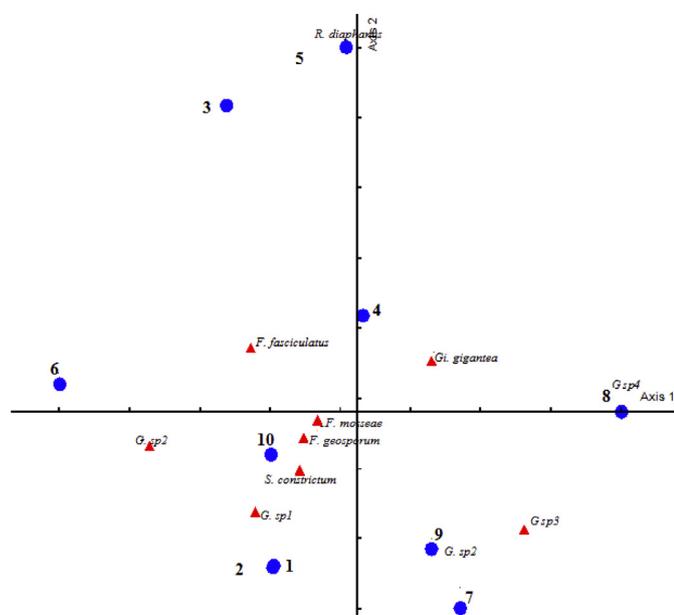


Fig. 3. DCA ordination of AMF species distribution according to the ten studied sites through four seasons. Data of AMF was based on means of 5 replicate samples for each season in the ten studied sites. Red triangles indicate the identified AMF species. Blue dots represent the ten studied sites. The proximity of red triangle to a site means that the corresponding AMF species is associated to the site. Red triangles close to the center indicate that the AMF species are common to all the studied sites. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

AMF root colonization for *T. articulata* varied according to the different studied sites. They varied between 12.87% in site 1 and 63.69% in site 6 (Fig. 4a). In *T. gallica*, AMF root colonization rate was lowest in site 10 with mean of 3.65% and it was higher in sites 7 with 7.72% (Fig. 4b).

Significant effect of soil and plant species was recorded on AMF root colonization rates at $p < 0.001$ (Table 6). Negative significant correlation of soil salinity on AMF root colonization was recorded for *T. gallica*. In contrast, no significant correlation was noted for *T. articulata* (Table 7).

Table 5

AMF species biodiversity index for each studied site.

Studied sites	Means of spore number	S = Species richness	H' = Shannon index	H' _{max}	E = Equitability index
1	217 ^h	5 ^{bcd}	1.378 ^c	1.60 ^c	0.856 ^c
2	407.81 ⁱ	6 ^d	1.291 ^d	1.79 ^d	0.721 ^a
3	49.9 ^d	4 ^{ab}	1.360 ^b	1.38 ^b	0.981 ^f
4	205.45 ^g	5 ^{bcd}	1.253 ^c	1.60 ^c	0.778 ^b
5	87.18 ^f	6 ^{cd}	1.615 ^d	1.79 ^d	0.902 ^e
6	72 ^e	6 ^d	1.758 ^d	1.79 ^d	0.981 ^f
7	35.63 ^b	6 ^{cd}	1.521 ^d	1.79 ^d	0.849 ^c
8	15 ^a	5 ^{bc}	1.258 ^c	1.60 ^c	0.782 ^b
9	42.27 ^c	5 ^{bc}	1.417 ^c	1.60 ^c	0.880 ^d
10	15.27 ^a	3 ^a	0.997 ^a	1.09 ^a	0.908 ^e

Data are represented as means obtained from 5 replicates of 10 studied sites for each season. H'_{max}: maximum value of Shannon index. For each parameter, different letters indicate significant difference between the sites according to the LSD test ($p < 0.05$).

Table 6

Influence of plant species, soil and season on root colonization level according to three-way ANOVA for independent variables.

	Species	Soil	Season	Species × Soil	Species × Season	Soil × Season	Species × Soil × Season
F (value)	29.144	77.016	30.61	2.68	1.85	3.36	0.79
Mycorrhizal colonization	***	***	***	**	ns	***	NS

Note: Significant differences: **: 0.01; ***: 0.001; ns: not significant.

Evaluation of combined effect of plant species, soil and season on root colonization rate, showed that soil × seasons and soil × species have significant effect on AMF root colonization rate (Table 7). Effect of plant species combined to soil parameters was significant at $p < 0.01$, while combination of soil parameters with season have positive effect at $p < 0.001$. No combined effect of plant species with soil parameters and season was recorded on root colonization rate.

4. Discussion

AMF biodiversity in the rhizosphere of *T. articulata* and *T. gallica* was evaluated according to seasons and soil characteristics in ten different sites located in Algerian steppic area. The high diversity of *Funneliformis* genus beneath *T. articulata* and *T. gallica* under several arid and semi-arid steppes confirmed its general distribution and strong adaptation to a wide range of agro-pedological and environmental soil conditions (Chaudhry et al., 2013) such as elevated temperature (Gavitto and Azcon-Aguillar, 2012) and salinity level (Bacerra et al., 2014). Furthermore, this genus is able to initiate a colonization process from spores, root vesicles and hyphae propagules, in contrary to *Gigaspora* species, able to initiate new root infection only from germinated spores (Bouazza-Marouf et al., 2015). *S. constrictum* presented the highest spore number according to seasons in the different studied sites. It is one of the most frequently isolated species from cultivated and uncultivated soils of the world (Oehl et al., 2009; Blazkowski, 2012). Likewise, Estrada et al. (2013) reported that *S. constrictum* was the most abundant species isolated from field samples (salt March and sand dune).

On the other hand, species richness was similar between autumn, winter and spring and it decreased in summer. However, Shannon biodiversity index did not vary according to seasons, indicating that AMF spore distribution is not significantly affected by climate. In addition, low values of equitability index recorded according to seasons suggested the presence of rare species which were disproportionately distributed. However, our results showed the abundance of five AMF species in autumn. It may be attributed to process of spore formation and germination (Bouazza-Marouf et al., 2015). It was shown that AMF spore number declined during

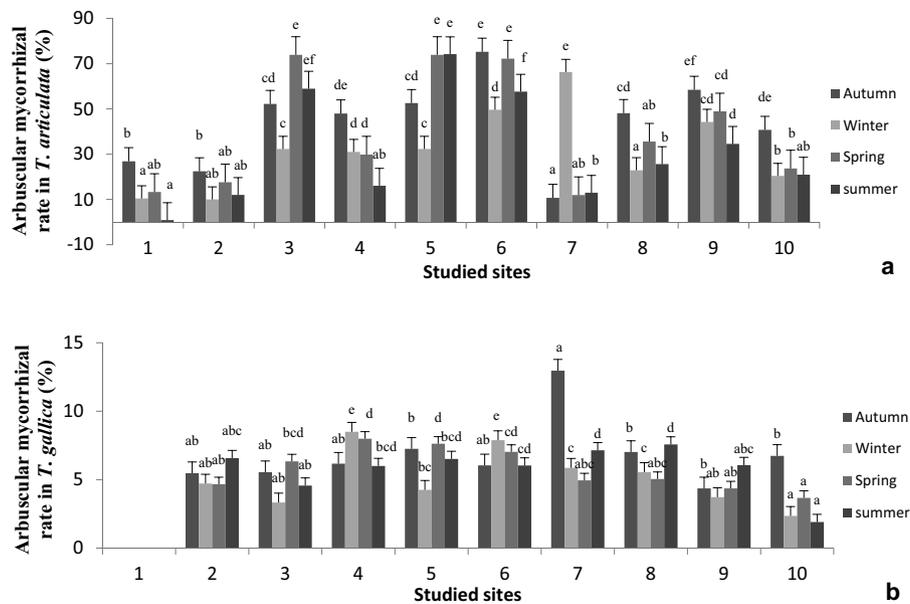


Fig. 4. Variation of AMF root colonization levels in the studied sites for *T. articulata* (a) and *T. gallica* (b) through seasons. Data are presented as mean \pm standard deviation. Means were obtained from five replicates ($n=5$) for each site. Different letters indicate significant difference between the sites and the seasons according to the LSD test ($p < 0.05$).

the growing season and increased at the end of this same season (Santos-Gonzalez et al., 2007). Autumn season coincided, in *T. articulata* and *T. gallica*, with flowering and fruiting stages and with the end of the growing season.

Moreover, AMF species richness was found variable through sites, clearly decreasing with soil salinity levels. It was about six in low saline sites (2 and 9) to three in the most saline site (10). These findings are in agreement with previous data which demonstrated that AMF spore number and species richness declined with increasing soil salinity levels (Evelin et al., 2009; Estrada et al., 2013). Moreover, according to our results, the Shannon biodiversity index was highest in site 6 (1.75) with H'_{max} of 1.79 indicating high AMF diversity in this site. The ecological conditions of this site seemed to be favorable for all AMF species in the rhizosphere of *T. articulata* and *T. gallica* and offered equal survival opportunity (Nehila et al., 2015). Bouazza-Marouf et al. (2015) explained that more the Shannon indices increase, more the characteristics of the ecosystem such as plant species and soil are favorable to AMF diversity. This is probably due to favorable soil chemical properties of this area to AMF development. Moreira et al. (2007) explained that soil chemical composition influences AMF biodiversity with regard to organic matter, pH, Ca and Mg contents. In contrast, species richness and Shannon biodiversity indices were lowest in high salinity site 10, suggesting adverse ecological conditions for AMF species development. In addition, AMF species isolated in site 10 may be adapted to saline stress conditions. Estrada et al. (2013) reported same results in arid and saline Mediterranean soils. Indeed, diversity of AMF species in disturbed areas is low

(Bouazza-Marouf et al., 2015), which may be related to soil texture (Brundrett et al., 1996). Nehila et al. (2015) in their study on Algerian saline sandy soils suggested that sandy soils were not favorable to AMF establishment, may be due to a low amount of organic matter and degraded state of these soils. That was the case in our study where high biodiversity index was recorded in site 6 (clayey) while low index was recorded in site 10 (sandy). High equitability values obtained in sites 3 and 6 (close to 1) testified to an equitable distribution of AMF species. Lowest equitability value recorded in site 2 referred to the presence of rare species as *F. coronatum*, which were unequal distributed, as reported by Nehila et al. (2015). They explained that edaphic factors influenced AMF distribution. The DCA analysis for AMF species distribution through sites indicated a limited presence of some AMF species in certain sites suggesting the significance of abiotic factors on AMF distribution.

T. articulata and *T. gallica* roots sampled from the Algerian steppe ecosystems are found to be naturally colonized with AMF. This mycotrophic status has been earlier mentioned for *T. articulata* in Irak (Chaudhry et al., 2013) and for *T. ramosissima* in USA (Beauchamp et al., 2005; Meinhardt and Gehring, 2013; Taniguchi et al., 2015). Interestingly, *T. articulata* roots were colonized much more abundantly than *T. gallica* ones, independently from site and season variations. Such a result could be explained by the difference in root structure between the two studied *Tamarix* species. *T. articulata* differentiates a more hairy root system than *T. gallica*. Finer roots are more easily penetrated and colonized by AMF hyphae than thicker and more lignified roots (Belarouci, 1991; DGF, 2004). Independently of root architecture, highest colonization rates occurred at spring for both species. This season corresponds to the plant flowering stage and to young root formation for the majority of studied sites. Moreover, at this stage, the plant needs more nutrients to grow and then is tributary to AMF symbiosis (Ruotsalainen et al., 2002). Indeed, seasonal effect in AMF colonization may be influenced by plant phenological events such as new root production, flowering, fruiting, seedling establishment and vegetative growth (Shi et al., 2007; Smith and Read, 2008). In addition, Singh et al. (2011) explained that mycorrhizal development might be linked to the physiological development of host plant more than

Table 7
Pearson multiple variable analysis correlation.

Parameter	Pearson r	P Value
<i>T. articulata</i> mycorrhizal rate \times soil salinity	0.05801 ^{ns}	0.7222
<i>T. gallica</i> mycorrhizal rate \times soil salinity	-0.5984 ^{****}	<0.0001
Spore number \times soil salinity	0.2093 ^{ns}	0.2093
Biodiversity index \times soil salinity	-0.51 ^{***}	<0.001
Species richness \times soil salinity	-0.42 ^{**}	<0.01
Equitability \times soil salinity	0.14 ^{ns}	0.8211

ns: no significant. ***: $p < 0.001$; ****: $p < 0.0001$; Pearson r: coefficient of parametric correlation.

to environmental conditions. Our findings pointed out that AMF root colonization rate was also highly variable through the different studied sites even in the same season. This may be attributed to the heterogeneity of soil chemical composition which directly influences the plant community and indirectly the soil microorganism activity (Van der Heijden et al., 1998). Studying *T. articulata*, Chaudhry et al. (2013) found that AMF root colonization rate varied through sampling sites between 46 and 72%, which is in accordance with our results. Taniguchi et al. (2015) reported that AMF root colonization of *T. ramosissima* ranged from 2.4 to 12.3%. It seems that this *Tamarix* species behaves similarly to *T. gallica* showing low root colonization rates. Both authors suggested that AMF colonization might be influenced by environmental data, soil chemical composition and variability of the site, in addition to root architecture, inoculum potential and seasonal variation. This variation in AMF root colonization according to sites was previously reported by some authors in different ecosystems such as Alpine prairies (Ruotsalainen et al., 2002), sand dunes in arid areas (Jaiti et al., 2007; Bouamri et al., 2014) and Amazonian agroforestry system (Oliveira and Oliveira, 2005). Interestingly, our results demonstrated that combination of soil parameters and seasonal variation has significant effects on mycorrhizal root colonization. Negative correlation was recorded between soil salinity level and mycorrhizal root colonization of *T. gallica*, while no significant correlation was recorded between soil salinity and AMF root colonization rate of *T. articulata*. This may be the result of different degrees of mycorrhizal dependency of the two studied species.

5. Conclusion

This study provides the first information on AMF fluctuation in the rhizosphere of *T. articulata* and *T. gallica* through seasons associated with plant phenology and edaphic soil physico-chemical composition in arid and semi-arid Algerian steppe area. Seasonal variation did not affect AMF species biodiversity but induced modification in the abundance of AMF species. AMF root colonization rate and AMF spore species varied according to plant phenology and ecological parameters. Common AMF species were isolated from both *Tamarix* species rhizosphere (*T. articulata* and *T. gallica*), suggesting that soil characteristics affect AMF species distribution. Root colonization varied according to seasons and soil characteristics. In addition, *T. articulata* roots were colonized much more abundantly than *T. gallica* ones, independently from site and season variations. This finding indicates that *T. articulata* establishes more easily mycorrhizal symbioses in disturbed soils. It will be interesting to broaden in the future investigation about the ecology and the complexity of AMF symbiosis of *Tamarix* species in order to exploit more efficiently the AMF function in arid and semi-arid Algerian steppes.

Acknowledgments

This study was supported by Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research. We thank the technical staff of NFRI (National Forest Research Institute) for their assistance in soil sampling and Mr. Sinclair Grant and Mr. Djouklafi Adel for the statistical analysis. We also thank Mr. Ben Hamza Harfouch for map conception. Thanks go also to Mrs. Doreen Walters for their spelling corrections and to Mrs. Sonia Labidi and Mr. Benoit Tisserant for their technical help.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.06.003>.

References

- AFNOR, 1995. Contrôle de la qualité des analyses du sol. Méthodes d'analyses officielles Tome 1. AFNOR- DGCCRF. Association Française de Normalisation, Paris.
- Abou Jouadé, R., Pricop, A., Laffont-Shwob, I., Rudent, P., Rabier, J., Masotti, V., De Dato, G., De Angelis, P., 2012. Evaluating the potential use of *Tamarix gallica* L. for phytoremediation practices in heavy-metal polluted soils. Geographical research letters 14: vol. 14, EGU2012-12887. EGU General Assembly.
- Bacerra, A., Bartoloni, N., Cofré, N., Soterias, F., Cabello, M., 2014. Arbuscular mycorrhizal fungi in saline soils: vertical distribution at different soil depth. Braz. J. Microbiol. 45, 585–594.
- Beauchamp, V.B., Stromberg, J.C., Stutz, J.C., 2005. Interaction between *Tamarix ramosissima* (Seltcedar), *Populus fermentii* (Cottonwood), and mycorrhizal fungi: effects on seedling growth and plant species coexistence. Plant Soil 275, 221–231.
- Belarouci, L.N., 1991. Les reboisements en Algérie et leurs perspectives d'avenir Volume 1 et volume 2. OPU, Algérie.
- Bencherif, K., Boutekrabt, A., Fontaine, J., Laruelle, F., Dalpé, Y., Lounès-Hadj Saharaoui, A., 2015. Impact of soil salinity on arbuscular mycorrhizal fungi biodiversity and microflora biomass associated with *Tamarix articulata* Vahl rhizosphere in arid and semi-arid Algerian areas. Sci. Total Environ. 533, 488–494.
- Blaszkowski, J., 2012. Glomeromycota. IB Publisher Polish Academy of sciences, Poland.
- Bouamri, R., Dalpé, Y., Serrhini, M.N., 2014. Effect of seasonal variation on arbuscular mycorrhizal fungi associated with date palm. Emirates J. Food Agric. 26, 977–986.
- Bouazza-Marouf, K., Ighilhariz, Z., De Lajudie, P., Duponnois, R., Bekki, A., 2015. Assessing the native arbuscular mycorrhizal symbioses to rehabilitates a degraded Coastal sand dune in Algeria. Int. J. Agric. Crop Sci. 8, 194–202.
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T., Malajczuk, N., 1996. Working with Mycorrhiza in Forestry and Agriculture. Australian Center for International Agricultural research, Canberra, Australia, pp. 32 (Monograph).
- CEEAEQ, 2003. Détermination de la matière organique par dosage du carbone organique dans les sols agricoles: method Walkley-Black modifiée, MA. 101–WB 1.0. Ministère de l'environnement du Québec, pp. 10.
- Chaudhry, M.S., Saeed, M., Nasim, F.U.H., 2013. Soil chemical heterogeneity may affect the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of *Tamarix aphylla* under arid climate. Analele Stiintifice Universitatii. Al. I. Cuza. Iasi. S. Iia Biologie Vegetala 59, 53–63.
- DGF, 2004. Direction Générale des forêts. Atlas des zones humides algériennes à importance internationale. Ministère de l'Agriculture et du développement rural (Eds).
- Dagar, J.C., Tomar, O.S., 2002. Utilization of salt affected soils and poor quality waters for sustainable biosaline agriculture in arid a- semi arid regions of India. 12th ISCO, Beijing.
- Dajoz, R., 2006. Précis d'écologie Science sup. Dunod (Eds).
- Dalpé, Y., Seguin, S.M., 2013. Microwave-assisted technology for the clearing and staining of arbuscular mycorrhizal fungi in roots. Mycorrhiza 23, 333–340.
- Emberger, L., 1955. Une classification biogéographique des climats. Rapport des travaux du laboratoire de Botanique, vol. 7. Faculté des sciences, Montpellier, pp. 1–43.
- Estrada, B., Beltran-Hermoso, M., Palenzuela, J., Iwase, K., Ruiz-Lozano, J.M., Barea, J. M., Oehl, F., 2013. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of *Asteriscus maritimus* (L) Less., a representative plant in arid and saline Mediterranean ecosystems. J. Arid Environ. 97, 170–175.
- Evelin, H., Kapoor, R., Giri, B., 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. Ann. Bot. 104, 1263–1280.
- Fortin, J.A., Plenchette, C., Piché, Y., 2008. Les mycorrhizes: La nouvelle révolution verte. Multi mondes-Quae (Eds).
- Gavitt, M.E., Azcon-Aguillar, C., 2012. Temperature stress in arbuscular mycorrhizal fungi: a test for adaptation to soil temperature in three isolates of *Funneliformis mosseae* from different climates. Agric. Food Sci. 21, 2–11.
- Gerdemann, J.W., Nicolson, T.H., 1963. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans. Br. Mycol. Soc. 46, 235–244.
- Jaiti, F., Meddich, A., El Hadrami, I., 2007. Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi in the protection of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) against bayoud disease. Physiol. Mol. Plant Pathol. 71, 166–173.
- Kadukova, J., Kalogerakis, N., 2007. Lead accumulation from non-saline and saline environment by *Tamarix smyrensis* Bunge. Eur. J. Soil Biol. 43, 216–223.
- Khabtane, A., 2010. Contribution à l'étude du comportement éco physiologique du genre *Tamarix* dans différents biotopes des zones arides de la région de Khenechla. Dissertation. Université de Constantine.
- Le Houerou, H.N., Claudin, J., Pouget, M., 1977. Étude bioclimatique des steppes algériennes (avec carte bioclimatique à 1/1000 000^{ème}). Bulletin de la société d'Histoire Naturelle d'Afrique du Nord, Alger. Tome 68, fascicule 3 et 4.
- McCune, B., Mefford, M.J., 2011. P.C.-Ord. Multivariate analysis of Ecological data. MjM Software, Gleneden Beach. Oregon USA, pp. 22.
- McGonigle, T.P., Miller, M.H., Evans, D.G., Fairchild, G.L., Swan, J.A., 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytol. 115, 495–501.

- Meinhardt, K.A., Gehring, A., 2013. *Tamarix* and soil ecology. In: Sher, A., Quigley, M. F. (Eds.), *Tamarix A Case Study of Ecological Change in the American West*. Oxford University, pp. 225–239.
- Moreira, M., Baretta, D., Tsai, S., Gomes-da-Costa, S.M., Nogueira Cardoso, E.J.B., 2007. Biodiversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in *Araucaria angustifolia* Forest. *Sci. Agricola* (Piracicaba, Braz.) 64, 393–399.
- Nathan, M.V., Stecker, J.A., Sun, Y., 2012. *Soil Testing in Missouri A Guide for Conducting Soil Tests in Missouri*. University of Missouri, USA.
- Nehila, A., Ighilhariz, Z., Faiza, Boukhatem Z., Abdelkader, Bekki, 2015. Diversity of Arbuscular Mycorrhizal fungi in two perturbed ecosystems (dune and saline soil) in west Algeria. *Int. J. Agric. Crop Sci.* 8, 380–387.
- Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Mäder, P., Wiemken, A., Boller, T., 2009. Distinct sporulation dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities from different agroecosystems in long-term microcosms. *Agric. Ecosyst. Environ.* 134, 257–268.
- Oliveira, A.N., Oliveira, L.A., 2005. Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi in plants of *Theobroma grandiflorum* schum and *Paullinia cupana* mart, of an agroforestry system in central Amazonia amazonas state brazil. *Braz. J. Microbiol.* 36, 262–270.
- Ollero, P., 2013. Steppes across the world: an overview with emphasis on the Iberian Peninsula. In: Prieto, M.B.M., Diaz, J.T. (Eds.), *Steppe Ecosystems: Biological Diversity Management and Restoration*. EBook edition, Spain.
- Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S., La, D., 1954. Estimation of Available Phosphorus by Extraction with Sodium Bicarbonate (Ciecular39). USDA, Washington.
- Oudat, A., Quadir, M., 2011. Halophytic flora of Syria. ICARDA (Eds).
- Petard, J., 1993. *Les méthodes d'analyse du sol; Tome I*. IRD. ORSTOM (ed). Nouméa.
- Phillips, J.M., Hayman, D.S., 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55, 158–161.
- Pielou, E.C., 1966. The measurement of diversity in different types of biological collections. *J. Theor. Biol.* 13, 131–144.
- Ramade, F., 2009. *Éléments d'écologie fondamentale*, fourth ed. DUNOD, Paris.
- Ruotsalainen, A.L., Vare, H., Vestberg, V.H., 2002. Seasonality of root fungal colonization in low-alpine herbs. *Mycorrhiza* 12, 29–36.
- Santos-Gonzalez, J.C., Finlay, R.D., Tehler, A., 2007. Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities in roots in a semi natural grassland. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 5613–5623.
- Shannon, C.E., 1948. A mathematical theory for communication. *Bell Syst. Tech. J.* 27 (379–423 and 623–656).
- Shi, Z.Y., Zhang, L.Y., Li, X.L., Feng, G., Tian, C.Y., Christie, P., 2007. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with desert ephemerals in plant communities of Junggar Basin, northwest China. *Appl. Soil Ecol.* 35, 10–20.
- Singh, L.P., Gill, S.S., Tuteja, N., 2011. Unraveling the role of fungal symbionts in plant abiotic stress tolerance. *Plant Signal. Behav.* 6, 175–191.
- Smith, S.E., Read, D.J., 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*, 3rd edn. Academic, New York.
- Taniguchi, T., Acharya, K., Imada, S., Iwanaga, F.Y.N., 2015. Arbuscular mycorrhizal colonization of *Tamarix ramosissima* along a salinity gradient in the south western United States. *Landsc. Ecol. Engi.* 11, 221–225.
- UICN, 2014. International Union for corporation of nature and natural resources: center of Mediterranean Corporation. North Africa Biodiversity Program..
- USDA, 2013. *Soil classification: a comprehensive system* (prepared by) soil survey staff. Washington, D.C.USA. U.S.D.A.
- Van der Heijden, M.G.A., Boller, T., Wiemken, A., Sanders, I.R., 1998. Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinant of plant community structure. *Ecology* 79, 2082–2091.
- Wilson, G.W.T., Rice, C.W., Rillig, M.C., Springer, A., Hartnett, D.C., 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi control soil aggregation and carbon sequestration. *Ecol. Lett.* 12, 452–461.



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Science of the Total Environment

journal homepage: www.elsevier.com/locate/scitotenv

Impact of soil salinity on arbuscular mycorrhizal fungi biodiversity and microflora biomass associated with *Tamarix articulata* Vahl rhizosphere in arid and semi-arid Algerian areas



Karima Bencherif^a, Ammar Boutekrabet^a, Joël Fontaine^b, Frédéric Laruelle^b, Yolande Dalpè^c, Anissa Lounès-Hadj Sahraoui^{b,*}

^a Université de Blida, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Route de Soumaa, BP 270 Blida, (09000), Algeria

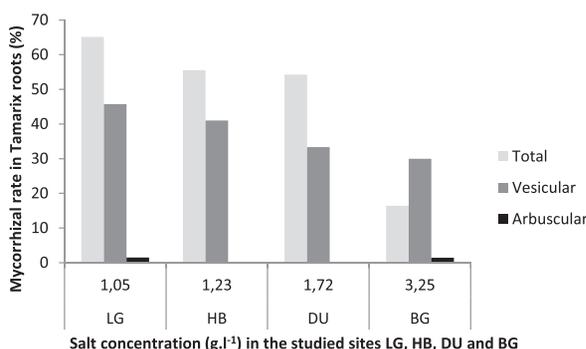
^b Université du Littoral Côte d'Opale, Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant (UCEIV), EA4492, 50 rue Ferdinand Buisson, 62228 Calais, France

^c Agriculture et agroalimentaire Canada, Centre de recherches de l'est sur les céréales et oléagineux 960 Carling Ave., Ottawa, ON K1A 0C6, Canada

HIGHLIGHTS

- 7 arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) species were isolated from *Tamarix* saline soils.
- Salinity level decreased *T. articulata* mycorrhizal rate but didn't inhibit it.
- Soil salinity increased AMF and bacteria but reduced saprotrophic fungal biomass.

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Article history:

Received 4 May 2015

Received in revised form 1 July 2015

Accepted 2 July 2015

Available online 14 July 2015

Editor: D. Barcelo

Keywords:

Saline soil

Mycorrhizae

Bacteria

Lipid biomarkers

Ergosterol

ABSTRACT

Soil salinization is an increasingly important problem in many parts of the world, particularly under arid and semi-arid areas. Unfortunately, the knowledge about restoration of salt affected ecosystems using mycorrhizae is limited. The current study aims to investigate the impact of salinity on the microbial richness of the halophytic plant *Tamarix articulata* rhizosphere. Soil samples were collected from natural sites with increasing salinity (1.82–4.95 ds.m⁻¹). Six arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) species were isolated from the different saline soils and identified as *Septoglomus constrictum*, *Funneliformis mosseae*, *Funneliformis geosporum*, *Funneliformis coronatum*, *Rhizophagus fasciculatus*, and *Gigaspora gigantea*. The number of AMF spores increased with soil salinity. Total root colonization rate decreased from 65 to 16% but remained possible with soil salinity. Microbial biomass in *T. articulata* rhizosphere was affected by salinity. The phospholipid fatty acids (PLFA) C16:1 ω 5 as well as i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, a17:0, cy17:0, C18:1 ω 7 and cy19:0 increased in high saline soils suggesting that AMF and bacterial biomasses increased with salinity. In contrast, ergosterol amount was negatively correlated with soil salinity indicating that ectomycorrhizal and saprotrophic fungal biomasses were reduced with salinity. Our

* Corresponding author.

E-mail address: lounes@univ-littoral.fr (A. Lounès-Hadj Sahraoui).

findings highlight the adaptation of arbuscular and bacterial communities to natural soil salinity and thus the potential use of mycorrhizal *T. articulata* trees as an approach to restore moderately saline disturbed arid lands.
© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Saline soils occupy over 7% of the total earth's land surface and 70% of all agricultural soils worldwide. They have devastating and deleterious global effects and expected to be responsible of 30% land loss within the next 25 years, and up to 50% by the year 2050. Soil salinity represents an increasingly problem in many parts of the world, particularly in arid and semi-arid areas (Rengasamy, 2006). Dagar and Tomar (2002) indicate that saline soil affect plant growth adversely, by disrupting their physiological mechanisms due to toxicity of excessive Na^+ and Cl^- ions towards the cell. The toxic effects include disruption of enzyme structure and other macromolecules, disruption of photosynthetic efficiency, gas exchange, membrane organization and water status. Salinity may directly or indirectly inhibit cell division and enlargement and finally the growth, productivity and yield of the whole plant (Badda et al., 2014; Sinclair et al., 2014). In Algeria, about 2 991 013 ha lands exhibit low to high saline levels (DGF, 2008) mainly located under arid and semi-arid areas (Halitim, 1988).

Saline soils are composed of several types of salts, mainly sodium ions and calci-magnesian ions (Ramdan, 2001). To counteract this problem, many strategies have been proposed including new salt-tolerant plant (Badda et al., 2014). In fact, reforestation programs for saline soils require the proper selection of tree species and planting techniques (Dagar and Tomar, 2002). *Tamarix articulata* Vahl commonly known as *Tamarix*, could be ranked among the tolerant species for both saline soils and underground salt water (Chaudhry et al., 2013). The species was introduced in Algerian steppic areas around 1948 (DGF, 2000). Well adapted to the steppic areas, it became gradually naturalized over the years. *T. articulata* is an important halophytic evergreen tree species of *Tamaricaceae* family. It has some interesting medical value such: flower galls used as astringent and gargle, bark used for treating eczema and other skin diseases. It is used in apiculture producing a dark brown honey with minty aroma (Orwa et al., 2009). Wood is used as fiber, timber and fuel source, leaves as forage of livestock (Ozenda, 1983), galls and bark as mordant for dyeing and tree is highly valuable for stabilizing sand dunes and soil erosion (Orwa et al., 2009; Chaudhry et al., 2013). In arid and semi-arid areas like the steppic region in Algeria, harsh climatic conditions, high salt concentrations, low rainfall and poor physico-chemical soil composition are all deleterious growth environment to *Tamarix*. To overcome the detrimental effects and to improve plant tolerance to stresses, particularly salt stress, the plants adopt a wide variety of strategies including deep and branched root systems, scaly leaves with thick cuticle and waxy layer on the epidermis and most importantly the development of symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). The AMF are obligate symbionts that colonize the roots of more than 80% of the terrestrial plants and benefit to plant growth, plant survival and soil quality (Smith and Read, 2008). The symbiotic association may also increase host plant resistance against biotic and abiotic stresses, including salinity, drought and pollution (Smith and Read, 2008). In this respect, biological processes such as AMF application to alleviate salt stress would be a potential beneficial option resulting in better increment, vigorous growth and consequently higher yield and reforestation. The use of arbuscular mycorrhizal biofertilizer technology could be an interesting way for the management of native flora and restoration of natural habitats with minimal chemical inputs. However the knowledge about restoration of salt affected ecosystems using mycorrhizae is limited. In order to evaluate the beneficial impact of AMF on *Tamarix* plant potential for saline site restoration, it is necessary to investigate the impact of salinity on the microbial richness of the soil

and the ability of AMF to colonize the plant under such adverse conditions. The soil microorganisms behavior under saline growth conditions has been the subject of several studies, but the results remained controversial (Juniper and Abbott, 1993, 2006; Johromi et al., 2008; Barin et al., 2013).

Previous works on *T. articulata* mycotrophy focused on the AMF spatial distribution and root colonization (Chaudhry et al., 2013). Investigations were done on field and greenhouse grown plants, with added inoculants but never in relation with saline soils (Beauchamp et al., 2005; Kelly and Gehring, 2013). The use of native AMF inoculants isolated from indigenous soils could bring substantial benefits in restoration activities as the indigenous AMF species may demonstrate high adaptation to local condition together with low environmental risks.

The present study aimed to isolate and identify AMF spores species naturally associated with *T. articulata* rhizosphere from sites showing a gradient in their soil salinity and to evaluate AMF root colonization levels in the field. The impact of soil salinity on the viability of telluric microorganisms from *T. articulata* rhizosphere in different saline sites has been evaluated for different groups of microorganisms using specific lipid biomarkers. AMF were characterized by the presence of the phospholipids fatty acids (PLFA) and the neutral lipids (NLFA) C16:1 ω 5. Ergosterol was used for saprotrophic and ectomycorrhizal fungal biomass indicator and total specific PLFA were used as indicator of soil bacterial biomass.

2. Materials and methods

2.1. Experimental sites

Four different sites (LG, HB, DU and BG) located in arid and semi-arid Algerian areas were chosen in the present study according to their soil salinity concentrations (Table 1). Whereas LG and BG are sites where *T. articulata* was grown spontaneously, HB and DU are planted sites. HB was planted with *T. articulata* in 1952 in order to set ground sandy soil around train rails and DU is an urban site planted in 1985.

2.2. Soil and root sampling

Five mature *T. articulata* trees, at a minimum of 20 m apart, were selected from each site. Three roots and soil samples were collected from each tree at a depth of 40 cm and samples were stored at 4 °C until use. For each site, soil samples were collected in each season and pooled to obtain one sample/year.

Table 1
Description of studied sites.

Sites	LG	HB	DU	BG
Salinity (g.l^{-1})	1.05	1.23	1.72	3.24
Site name/distance from Algiers	Laghouat	HassiBahbah	Djelfa	Boughzoul
Site localization	400 km southern 33°48'24"N 2°52'56" East.	250 km southern 35°04'33"N 3°01'37" East.	300 km southern 34°40'00"N 3°15'00" East.	185 km southern 35°41'59"N 2°50'52" East.
Altitude (m)	750	841	1131	635
Bioclimatic stage	Saharan	Semi arid	Semi arid	Arid
Vegetation	Natural vegetation	Planted in 1952	Planted in urban site	Natural vegetation

2.3. Pedological parameters

The soil total nitrogen content was determined according to the Kjeldahl method (Petard, 1993). Available phosphorus was determined with Olsen et al. (1954) method. Walkley–Black method modified according to CEEAEQ (2003) was used to measure organic matter and organic carbon content. pH_{water} and Electrical Conductivity (EC) were determined according to 1:5 (W/V) soil water suspension at 25 °C (AFNOR, 1995). Soil salinity was established according to (Szaboles, 1979) Calcareous was determined with Bernard Calcimeter classical method described by Petard (1993). Soil texture was determined with American method based on textural triangle (USDA, 2013).

2.4. Indigenous AMF spore isolation and identification

AMF spores were extracted from 100 g of soil for each soil sample using the wet-sieving method (Gerdemann and Nicolson, 1963). The spores were manually isolated from supernatant, classified under the dissecting microscope by spore morphotype (size, color, hyphae), and mounted in polyvinyl alcohol-lacto-glycerol (PVLG) with or without Melzer's reagent on microscopic slides. Observations were carried out under an optical microscope (x40, x60). Spore abundance was evaluated by counting the number of spores per identified or characterized species. Identification, based on morphological characters, was performed using original species descriptions using Blazkowski identification keys (Blazkowski, 2012) and specialized websites (Blazkowski <http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota>, and INVAM: <http://invam.wvu.edu>).

2.5. AMF root colonization

The measurement of AMF root colonization levels was performed on fresh roots. Roots were soaked during 5 min in H₂O₂ (30%) bath to remove pigments, cleared in KOH (10%) and stained with Trypan blue (0.05%) (Phillips and Hayman, 1970). Root mycorrhizal rates were calculated using magnified grid line intersect method (McGonigle et al., 1990). Two thousand root fragments from 20 plants sampled from the studied sites were observed under an optical microscope (×100), intersections were counted in the following categories: negative (no fungal material in root), arbuscules, vesicles and hyphae.

2.6. Fatty acid analyses

After removing plant debris from soil samples, four replicates of 3 g of freeze-dried soil (from each soil sample) were analyzed to measure the fatty acid content. Lipid extraction was performed according to Frostegård et al. (1991). The extracted lipids were fractionated into neutral lipids, glycolipids and polar lipids on a silica acid column by successively eluting with chloroform, acetone and methanol (1: 2: 1, V: V: V). The chloroform fraction (containing the neutral lipids) and the methanol fraction (containing the phospholipids) were subjected to a transesterification using a base solution (KOH 0.2 M) prepared in methanol to transform the PLFA and the NLFA into free fatty acid methyl esters. Final extracts were analyzed with the use of a PerkinElmer Autosystem gas chromatograph (GC) equipped with a flame-ionization detector (Norwalk, CT) and an EC-1000 (Alltech) capillary column (30 m × 0.53 mm i.d) with hydrogen as carrier gas (3.6 ml min⁻¹). The temperature program included a fast rise from 50 °C to 150 °C at 15 °C min⁻¹ and then a rise from 150 to 220 °C at 5 °C min⁻¹. Fatty acid quantification was made by using nonadecanoic acid methyl ester (C19:0) as an internal standard. Their identification relied on the retention times of a wide range of standards (fatty acid methyl ester mixtures C4–C24:1, Sigma Aldrich) and mass analysis. The system was operated in the constant linear velocity (70 cm s⁻¹) using helium as a carrier gas. Fatty acids were identified by comparing their mass spectra with the standard mass spectra in the NIST MS library.

The amounts of the phospholipid fatty acids (PLFA) 16:1ω5 and the neutral lipid fatty acids (NLFA) 16:1ω5 in the soil of the different experimental plots were determined and used as indicators of the AMF biomass (Frostegård et al., 1991). The ratio between NLFA and PLFA 16:1ω5 is high in AMF (1–200), while it is low in bacteria (<1) (Olsson et al., 1997). Gram-positive bacteria biomasses were estimated by the quantification of the PLFA: i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, a17:0 amounts and Gram-negative bacteria biomass by the quantification of the PLFA: cy17:0, C18:1ω7 and cy19:0 amounts in the soil.

2.7. Ergosterol analysis

Four replicates of 4 g freeze-dried soil from each studied site were analyzed for free ergosterol content, in order to estimate the level of living saprophytic fungi (Yuan et al., 2008). Ergosterol was extracted in 5 ml of methanol in the dark. The samples were mixed in a vortex apparatus for 1 min, extracted overnight and then refluxed at 70 °C for 90 min. After cooling, 1 ml H₂O and 2 ml cyclohexane were added. The samples were mixed in a vortex apparatus for 20 s, centrifuged for 5 min at 3000 rpm. After removal of the upper phase, ergosterol was extracted from the methanol fraction with further 1.5 ml cyclohexane. The cyclohexane was evaporated under N₂. Final extracts were analyzed with the use of a PerkinElmer Autosystem (GC) equipped with a flame-ionization detector (Norwalk, CT) and a HP5 capillary column. Ergosterol contents in the soil samples were measured using a standard curve of different ergosterol dilutions.

2.8. Statistical analysis

Multivariate analysis was elaborated with Statgraphics centerion 15.0, for analyzing soil parameters, mycorrhizal colonization, fungal and bacterial specific fatty acid content and ergosterol content, according to the least significant difference test (LSD < 5%). A correlation between soil salinity and different parameters: total spores number, mycorrhizal rate, vesicles, and total bacterial content, PLFA C16:1ω5, NLFA C16:1ω5, as well as ergosterol content was established according to Pearson test using Graphpad Prism 5.

3. Results

3.1. Soil characteristics

Physicochemical characteristics of soil samples are presented in Table 2. Soil salinity level varies from low (1.05 g l⁻¹) to high

Table 2
Physical and chemical characteristics of the soils associated with *T. articulata* rhizosphere in the four different studied sites.

	LG	HB	DU	BG
Salt (g.l ⁻¹)	1.05 ^c	1.23 ^{bc}	1.72 ^b	3.25 ^a
EC (ds.m ⁻¹)	1.82 ^{bc}	2.13 ^b	2.95 ^b	4.95 ^a
pH _(water)	7.99 ^c	7.78 ^b	7.73 ^b	7.48 ^a
OM (%)	1.32 ^b	0.87 ^b	1.34 ^a	1.43 ^c
CaCO ₃ (mg.g ⁻¹)	7.06 ^b	4.24 ^a	10.24 ^c	12.65 ^d
C org (mg.g ⁻¹)	7.7 ^b	5.1 ^a	7.8 ^b	8.3 ^c
Available P (mg.kg ⁻¹)	0.13 ^{ab}	0.14 ^b	0.1 ^a	0.21 ^c
Total N (mg.g ⁻¹)	0.203 ^a	0.23 ^b	0.231 ^b	0.420 ^c
C : N	37.9 ^d	22.1 ^b	33.7 ^c	19.7 ^a
Moisture (%)	4.21 ^a	10.17 ^d	8.01 ^c	4.94 ^b
Sand (%)	16.03 ^a	88.91 ^d	50.24 ^b	70.50 ^c
Silt (%)	49.47 ^d	4.58 ^a	33.75 ^c	19.99 ^b
Clay (%)	34 ^c	6.5 ^a	12.00 ^b	9.5 ^{ab}
Texture	Loam–Clay	Sandy	Loam–Sandy–Clay	Sandy–Loamy

Data are presented as mean ± standard deviation. The means were obtained from four replicates (n = 4). For each parameter, different letters indicate significant difference between the sites according to the LSD test (p < 0.05). OM: Organic matter, EC: Electrical conductivity, CaCO₃: Total calcareous, C: Carbone, N: Nitrogen, C/N ratio carbon on Nitrogen.

(3.25 g l⁻¹) respectively in LG and BG sites. The high salinity soil of BG is also characterized by a high electrical conductivity (EC), 3 fold higher than the low one, and higher levels of Ca (12.6%), organic matter (1.44%), 0.42 mg.g⁻¹ and slightly higher available phosphorous (0.21 mg kg⁻¹). Soil textural analysis indicates that studied sites were mostly loam and sandy soil.

3.2. AMF diversity and root colonization

Seven AMF species were isolated from the studied sites (Table 3). According to their morphology, six species were identified: *Septoglossum constrictum*, *Funneliformis mosseae*, *F. geosporum*, *F. coronatum*, *Rhizophagus fasciculatus* and *Gigaspora gigantea*. *F. coronatum*, *S. constrictum*, *F. mosseae* and *F. geosporum* species were isolated from the four locations but their abundance varied from site to site. The most abundant species was *S. constrictum* representing 34.7, 20.20, 41.8 and 43.44% of the AMF spore population respectively in LG, HB, DU and BG sites. *F. geosporum* was the most abundant in BG site making 38.5% of spore population. *F. mosseae* species population remained stable in the four sites sampled. Some isolated species were specific to one site such as *F. coronatum*, found only in the highest saline site BG and *Gi. gigantea* observed only in HB site. *S. constrictum* and *F. geosporum* spore populations tended to increase with salinity but remained quite high in all studied sites.

The AMF structures observed in stained roots were vesicles, intraradical hyphae and rarely arbuscules. Vesicles were the most frequent observed structures. Their percentages decreased with salinity level from 45.75% in the less saline site LG to 29.95% in the most saline site BG. Arbuscules were occasionally observed in BG, HB and LG sites. Total root colonization rates clearly decreased with soil salinity, being four times higher in roots from low saline than high saline soil (Table 4).

3.3. Salinity and soil microbial biomass

In order to determine the effect of salinity on microbial biomass, specific lipid biomarkers were assessed and compared between the different saline sites.

The amounts of PLFA C16:1 ω 5, a fatty acid used to quantify AMF in soils, were found to be 2-fold higher in the most saline sites (BG and DU) compared to the less saline sites (LG and HB) (Fig. 1). By contrast, the NLFA C16:1 ω 5 soil content, mainly representing mainly the vesicle storage structures, was found inversely correlated to soil saline concentrations. It was 15 times higher in the less saline site (LG) than in the most saline one (BG) (Fig. 2). The NLFA /PLFA C16:1 ω 5 ratio was found much higher in the lowest saline soil LG (ratio = 10) than in the most saline site BG (ratio = 0.3) (Fig. 3).

Ergosterol content, used to quantify ectomycorrhizal and saprotrophic fungi, was less important in HB, DU, BG saline soils by comparison to LG site (Fig. 4).

Gram negative biomass (estimated by the sum of the PLFA cy17:0, C18:1 ω 7 and cy19:0) as well as Gram positive bacteria (quantified by the sum of the PLFA : i15:0, a15:0, i16:0, i17:0 and a17:0) increased

Table 3

Native AMF spore species isolated from the different soils associated with *T. articulata* rhizosphere in the different studied sites.

	LG	HB	DU	BG
<i>Septoglossum constrictum</i>	433	271	594	977
<i>Funneliformis mosseae</i>	393	370	341	390
<i>Funneliformis geosporum</i>	324	523	343	745
<i>Rhizophagus fasciculatus</i>	nd	46	92	nd
<i>Funneliformis coronatum</i>	nd	nd	nd	64
<i>Gigaspora gigantea</i>	nd	131	nd	nd
<i>Funneliformis sp1</i>	97	nd	49	74
Total spore number /100 g of soil	1247	1341	1419	2248

nd : not detected.

Table 4

Arbuscular mycorrhizal fungal colonization rates of *T. articulata* roots in the studied sites.

Sites	Soil salinity (g l ⁻¹)	Total colonization rate (%)	Arbuscules (%)	Vesicles (%)
LG	1.05 ^c	65.12 ^a	1.50 ^a	45.75 ^d
HB	1.23 ^{bc}	54.02 ^b	0.10 ^b	41 ^c
DU	1.72 ^b	55.66 ^a	nd	33.33 ^b
BG	3.24 ^a	16.43 ^b	1.44 ^a	29.95 ^a

Data are presented as mean \pm standard deviation. Means were obtained from four replicates (n = 4). For each parameter, different letters indicate significant difference between different sites according to the least significant difference LSD test (P < 0.05). nd: not detected.

by 2.3, 3.3 and 2 fold higher in HB, DU and BG saline sites respectively by comparison with LG site. However, ergosterol content was less higher in the most saline site BG compared to HB and DU (Fig. 5).

3.4. Correlation analysis

Pearson's correlation coefficients for the different measured parameters in *T. articulata* rhizosphere versus soil salinity level are presented in Table 5. Correlation analysis showed that AMF root colonization, vesicles, NLFA C16:1 ω 5 and NLFA/PLFA C16:1 ω 5 ratio were negatively correlated with soil salinity levels. However, PLFA C16:1 ω 5 and total spore number were positively correlated with soil salinity concentration. No correlation was found between soil salinity level ergosterol and total bacterial amounts.

4. Discussion

The first objective of the present study was to investigate the biodiversity of indigenous AMF species associated with *T. articulata* rhizosphere in four sites characterized by a gradient of soil salinity. The morphospecies of the Glomeraceae family clearly dominated in these ecosystems with the exception of *Gi. gigantea* (Gigasporaceae) that occurred to be an auxiliary species found in a unique site of medium low salinity level. Glomoid spore species, that make the majority of AMF species, are worldwide distributed and recognized to be well adapted to environments subjected to disturbance and stresses (Daniel et al., 2001). Several studies have shown that *Glomus* species are typical of semi-arid Mediterranean ecosystems and can support high salinity soil conditions (Juniper and Abbott, 2006; Sánchez-Castro et al., 2012). The few studies dedicated to the AMF populations of Tamarix rhizosphere confirmed the abundance of Glomeraceae (Beauchamp et al., 2005; Kelly and Gehring, 2012; Chaudhry et al., 2013; Taniguchi et al., 2015). Among the species found in Tamarix rhizosphere, *F. mosseae* is the one having a worldwide distribution (Öpik et al., 2009). It is

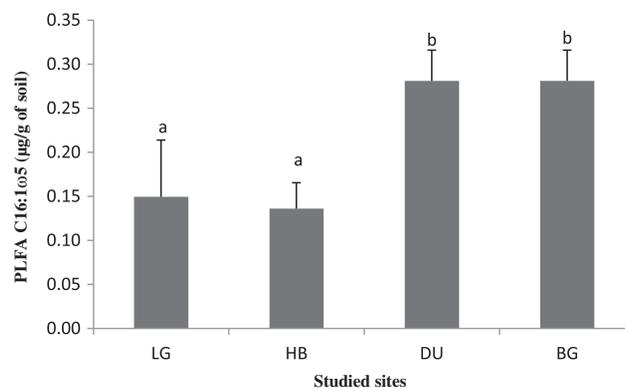


Fig. 1. Influence of soil salinity on PLFA C16 :1 ω 5 amount of the soils associated with *T. articulata* in the four studied sites. Data are presented as mean \pm standard deviation. Means were obtained from four replicates (n = 4). Different letters indicate significant difference between the sites according to the LSD test (p < 0.05).

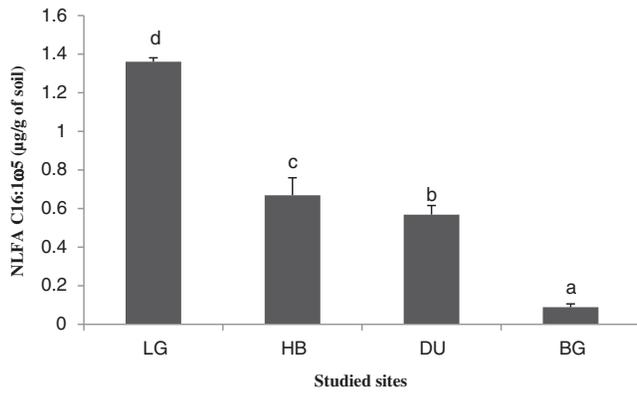


Fig. 2. Influence of soil salinity on NLFA C16:1ω5 amount of the soils associated with *T. articulata* in the four studied sites. Data are presented as mean ± standard deviation. Means were obtained from four replicates (n = 4). Different letters indicate significant difference between the sites according to the LSD test (p < 0.05).

considered highly tolerant to deleterious environmental conditions and capable of adaptation strategy to soil disturbances (Sýkorová et al., 2007), pollution (Hassan et al., 2011), cold (Gai et al., 2009), drought (Mohammad et al., 2003; Tian et al., 2009) and salinity (Krishnamoorthy et al., 2014). The predominant species in *Tamarix* rhizosphere, *F. geosporum* was often detected under saline environments. Landwehr et al. (2002) found that *F. geosporum* tolerated the European saline, sodic and gypsum soils and has been regularly identified from salt marshes ecosystems (Hildebrandt et al., 2001; Carvalho et al., 2003; Wilde et al., 2009). The species was recently found abundant in the rhizosphere of *T. ramosissima* growing under high salinity soil condition (Taniguchi et al., 2015).

Based on the present data, the number of AMF spores found in the rhizosphere of *T. articulata* increased with soil salinity level. Indeed, a positive Pearson coefficient correlation ($r = 0.7692$, $p < 0.001$) was found between the soil salinity concentration and the spore number. This is in agreement with numerous studies that reported high AMF spore populations in saline soils associated with different halophytic plants (Aliasgharzadeh et al., 2001; Hildebrandt et al., 2001; Landwehr et al., 2002). This could be considered a survival strategy implemented by AMF species, sporulation being a resistance behavior to help surviving adverse environmental conditions. In fact, AMF sporulation is recognized to be stimulated under salt-stress conditions (Hirrel, 1981; Aliasgharzadeh et al., 2001). McMillen et al. (1998) reported that the inhibition of AMF spore germination and of hyphal growth by NaCl resulted in an increase of spore populations in saline soils.

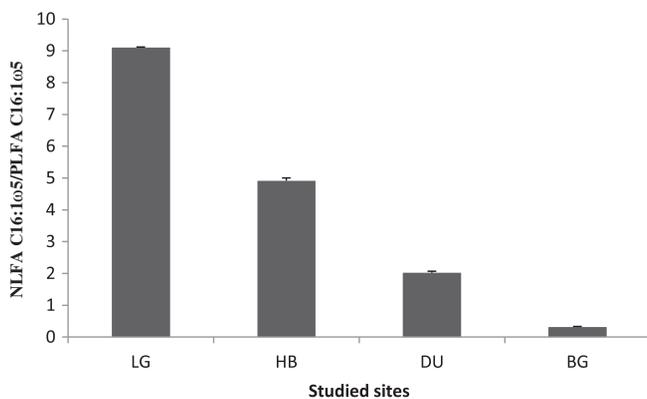


Fig. 3. Influence of salinity on NLFA/PLFA ratio C16: 1ω5 amount of the soils associated with *T. articulata* in the four studied sites. Data are presented as mean ± standard deviation. Means were obtained from four replicates (n = 4). Different letters indicate significant difference between the sites according to the LSD test (p < 0.05).

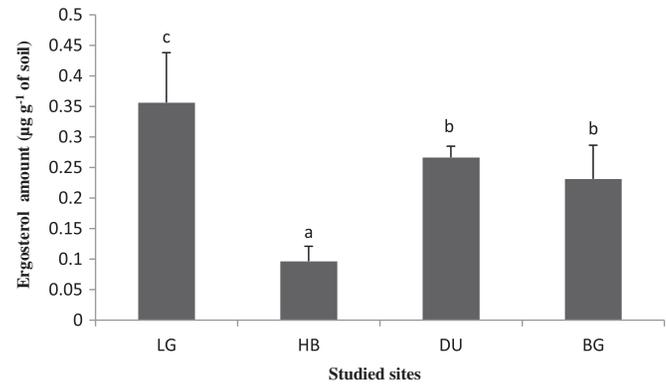


Fig. 4. Influence of salinity on ergosterol amounts of the soils associated with *T. articulata* in the four studied sites. Data are presented as mean ± standard deviation. Means were obtained from four replicates (n = 4). Different letters indicate significant difference between the sites according to the LSD test (p < 0.05).

Tamarix AMF root colonization clearly decreased with soil salinity, showed by a significant negative correlation between mycorrhizal rate and soil salinity ($r = -0.7988$, $p < 0.001$). These results corroborate several studies that reported a reduction in root mycorrhizal rates at high salinity level (Giri et al., 2007; Asghari et al., 2008; Badda et al., 2014; Taniguchi et al., 2015). Even though most of those investigations were done under controlled conditions, their similarity with the present data obtained from natural environments confirmed the general behavior of AMF under saline growing conditions. Moreover, the vesicle percentages decreased with salinity level. This result was consistent with the amounts of NLFA C16:1ω5 which were found to be negatively impacted by salinity. Indeed, the neutral lipids mainly represent vesicle storage products (Olsson et al., 1995). By contrast, whatever the site, arbuscules were scarce. Allexander et al. (1988) suggested that soil salinity level may alter life duration of arbuscules. However, one cannot exclude that the low percent of arbuscules in *Tamarix* roots may be due to the field sampling. *Tamarix* root systems from natural environments required delicate manipulation to be extracted properly from compacted steppe soils. As a result, several of the fragile root apex may be destroyed at harvesting, lowering proportionally the level of arbuscules detected after root staining. Indeed, it is well known that arbuscules inhabit preferentially the first cm of fine root apex (Smith and Read, 2008). Contrary to herbaceous plants, woody plants such as the *T. articulata*, have woody roots rich in tannins and a root morphology which is not conducive to colonization by hyphae. As a consequence, the only non-pigmented root tips developing close to the soil surface served to evaluate root colonization levels.

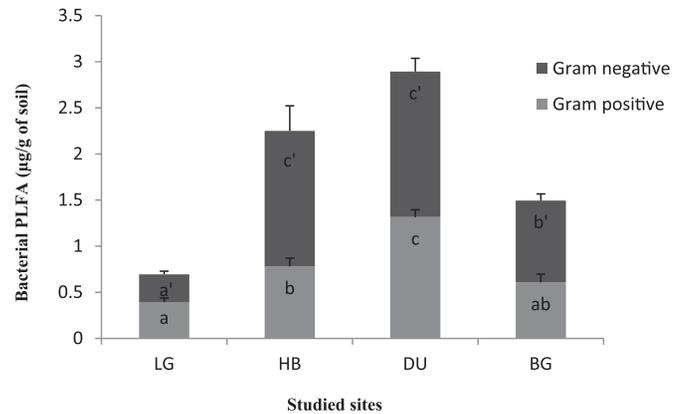


Fig. 5. Influence of soil salinity on bacterial PLFA amounts of the soils associated with *T. articulata* in the four studied sites. Data are presented as mean ± standard deviation. Means were obtained from four replicates (n = 4). Different letters indicate significant difference between the sites according to the LSD test (p < 0.05).

Table 5

Pearson's correlation coefficients between the different AMF parameters and soil salinity level.

Parameter	Pearson r	P value summary
Spore number	0.7692	***
Mycorrhizal rate	−0.7988	***
vesicles	−0.8297	****
Total bacterial PLFA	0.01541	ns
NLFA/PLFA	−0.6232	**
NLFA C16:1w5	−0.8329	****
PLFA C16:1 W5	0.728	**
Ergosterol	0.0684	ns

Pearson r: Pearson coefficient of parametric correlation sampled from Gaussian population. R square: coefficient of determination. ns: No significant correlation. **correlation is significant at $p < 0.01$, *** correlation is significant at $p < 0.001$, ****correlation is significant at $p < 0.0001$.

Several authors explained that salinity can affect directly the fungal development, reducing spore germination, hyphal formation and consequently host root colonization. Indeed, salinity could reduce AMF colonization directly by affecting spore germination (Porcel et al., 2012; Evelin et al., 2009; Juniper and Abbott, 2006). In saline site, the colonization process may be stopped because of dry and environmentally unwelcoming soil conditions. The propagule cannot be properly hydrated and unable to germinate with as a result, spore accumulation maintained under long term dormancy stage. Johromi et al. (2008) explained that salinity induced hyphae morphological changes especially in their elongation and ramification behavior, thus affecting their symbiotic capacity. Juniper and Abbott (2006) reported that under *in vitro* growth conditions, the germination rates and timing in presence of NaCl differed greatly between the AMF strains and for all strains, the hyphal length produced per germinated spore at a given time was reduced in the presence of NaCl. For some fungi, the reduction in the amount of hyphae in the presence of increasing concentrations of NaCl was primarily associated with a delay in spore germination, while for other fungi the specific rate of hyphal production was also substantially reduced in the presence of NaCl. Otherwise, it cannot be totally excluded that low mycorrhizal rate in saline soil can be explained by spore dormancy and subsequent activation in response to relatively specific signals that allow fungi to survive in soil when conditions are unfavorable (Sussman, 1976). The decrease in AMF colonization with increasing soil salinity may be due to plant physiological changes directly affecting their symbionts (Juniper and Abbott, 1993).

The impact of salinity on the microbial biomass was investigated through the quantification of specific lipid biomarkers for AMF, saprotrophic and ectomycorrhizal fungi as well as bacteria. All the specific lipid biomarkers tested allowed to detect strong response of microbial soil organisms to salinity. The ratio NLFA/PLFA has been shown to decrease with salinity. These results are consistent with those of Barin et al. (2013), which reported a negative correlation between the ratio NLFA/PLFA C16:1w5 and soil salinity in the rhizosphere of *Medicago* and *Allium*.

The increase of PLFA 16:1w5 and the decrease of the NLFA/PLFA 16:1w5, until reaching a value < 1 in the most saline soil, could be due to an increase of the bacterial community. In fact, the bacterial specific biomarkers indicate that the total bacterial biomass increase with soil salinity. Likewise, Frey-Klett et al. (2007) explained that under soil stress, microbial communities were dominated mostly by aerobic bacteria. Mendpara et al. (2013) reported that the majority of bacterial species that can tolerate saline soil belong to Gram negative bacteria especially to *Pseudomonas spp.* The association AMF/*Pseudomonas spp.* could serve as the ideal bioinoculant to promote growth for crops in saline soils (Nakbanpote et al., 2014). To support Gram negative bacteria potential in mycorrhizal plant interaction, most bacteria found encysted in the mucilaginous outside AMF spore layer and soil hyphae belonged to Gram negative bacteria (Roesti et al., 2005). Some bacterial species

are responsible for multiple helper effects because they influence both plants and associated mycorrhizal fungi (Bonfante and Anca, 2009).

Furthermore, our findings pointed out that ectomycorrhizal and saprotrophic fungal biomasses decreased when soil salinity increased, as measured by ergosterol content, the specific lipid biomarker of those fungi categories (Wichern et al., 2006; Ben-David et al., 2011). Ishida et al. (2009) and Hryniewicz et al. (2015) recorded relatively low frequency of ectomycorrhizal fungi in saline soils. Likewise, for saprotrophic fungi, Zizzo (2009) observed a decrease in growth and in hyphal density of four studied saprotrophic fungi in saline soil (*Laetiporus sulphureus*, *Ganoderma lucidum*, *Trametes versicolor* and *Pleurotus ostreatus*). Hyperosmotic stress in fungi is associated with inhibition of cell wall extension and cellular expansion, leading to a growth reduction. Moreover, an excess of Na^+ and/or Cl^- ions in fungal cells may alter enzymatic activity and nucleic acid structure decreasing the potential of ectomycorrhizal fungi for successful colonization of the plant roots (Bois et al., 2006; Hryniewicz et al., 2015).

The lowest ergosterol amount found in HB site may be due to the less organic carbon content in this soil (Table 2). Indeed, Montgomery et al. (2000) explained that when the organic carbon level in soils is moderate, the fungal ergosterol content is lower.

5. Conclusion

This first investigation on the microbiome associated with *T. articulata* saline rhizosphere in Algerian steppic arid and semi-arid areas revealed interesting AMF diversity and *T. articulata* root colonization under adverse saline environmental conditions. Moreover, our findings showed that whereas salinity has slight detrimental effects on soil saprotrophic biomass in *T. articulata* rhizosphere, bacterial biomass increased with salinity level. This study highlighted the ability of microbial community to adapt to the increased natural soil salinity and thus the potential use of mycorrhizal *T. articulata* trees as an approach to restore the microbiome in saline disturbed arid lands.

In the future, it will be interesting to use the indigenous AMF isolated from the naturally saline soils to produce a mycorrhizal inoculants tolerant to salinity in order to use it in saline soil restoration programs.

Acknowledgments

This study was supported by Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research (MESRS). We thank the technical staff of NERI (National Forest Research Institute) for their assistance in soil sampling and Mrs Natacha Bourdon and Mr Hacène Meglouli for their technical assistance.

References

- AFNOR, 1995. Contrôle de la qualité des analyses du sol. Méthodes d'analyses officielles Tome 1. AFNOR-DGCCR, Association Française de Normalisation, Paris (596 pp.).
- Aliasgharzadeh, N., Saleh Rastin, N., Towfighi, H., Alizadeh, A., 2001. Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in saline soils of the Tabriz Plain of Iran in relation to some physical and chemical properties of soil. *Mycorrhiza* 11, 119–122.
- Allexander, T., Meier, R., Toth, R., Webber, H.C., 1988. Dynamics of arbuscule development and degeneration in mycorrhizas of *Triticum aestivum* L. and *Avena sativa* L. with reference to *Zea mays* L. *New Phytol.* 110, 363–370.
- Asghari, H.R., Amerian, M.R., Gorbani, H., 2008. Soil salinity affects arbuscular mycorrhizal colonization of halophytes. *Pak. J. Biol. Sci.* 11, 1909–1915.
- Badda, N., Aggarwal, A., Kadian, N., Sharma, N., 2014. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and different salinity levels on growth enhancement and nutrient uptake of *Gossypium arboreum* L. *KAVAKA* 43, 14–21.
- Barin, M., Aliasgharzad, N., Olsson, P.A., Rasouli-Sadaghiani, M., 2013. Abundance of arbuscular mycorrhizal fungi in relation to soil salinity around Urmia northern Iran analyzed by use of lipid biomarkers and microscopy. *Pedobiologia* 56, 225–232.
- Beauchamp, V., Stromberg, J.C., Stutz, J., 2005. Interaction between *Tamarix ramosissima* (Saltcedar), *Populus fermentii* (Cottonwood), and mycorrhizal fungi: Effects on seedling growth and plant species coexistence. *Plant Soil* 275, 221–231.
- Ben-David, E., Zaady, E., Sher, Y., Nejidat, A., 2011. Assessment of the spatial distribution of soil microbial communities in patchy arid and semi-arid landscapes of the Negev Desert using combined PLFA and DGGE analyses. *FEMS Microbiol. Ecol.* 76, 492–503.

- Blaszkowski, J., 2012. Glomeromycota. IB Publisher. Polish Academy of sciences, Poland (303 pp.).
- Bois, G., Bertrand, A., Piché, Y., Fung, M., Khata, D.P., 2006. Growth, compatible solute and salt accumulation of five mycorrhizal fungal species grown over a range of NaCl concentrations. *Mycorrhiza* 16, 99–109.
- Bonfante, P., Anca, I.A., 2009. Plants, Mycorrhizal fungi, Bacteria: a network of interactions. *Annu. Rev. Microbiol.* 63, 363–383.
- Carvalho, L.M., Correia, P.M., Caçador, I., Martins-Loucao, M.A., 2003. Effects of salinity and flooding on the infectivity of salt marsh arbuscular mycorrhizal fungi in *Aster tripolium* L. *Biol. Fertil. Soils* 38, 137–143.
- CEEAEQ, 2003. Détermination de la matière organique par dosage du carbone organique dans les sols agricoles : méthode Walkley–Black modifiée, MA. 1010–WB 1.0. Ministère de l'Environnement du Québec (10 pp.).
- Chaudhry, M.S., Saeed, M., Nasim, F.U.H., 2013. Soil chemical heterogeneity may affect the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of *Tamarix aphylla* under arid climate. *Analele Stiintifice ale Universitatii, All. Cuza. Iasi, S, Iia Biologie vegetala* 59 pp. 53–63.
- Dagar, J.C., Tomar, O.S., 2002. Utilisation of Salt Affected Soils and Poor Quality Waters for Sustainable Biosaline Agriculture in Arid and Semiarid Regions Of India. 12 th ISCO conference, Beijing (8 pp.).
- Daniel, T.J., Husband, R., Fitter, A.H., Young, J.P.W., 2001. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising arable crops. *FEMS Microbiol. Ecol.* 36, 203–209.
- DGF, 2000. Direction générale des forêts; Rapport annuel de la direction générale des forêts. Circonscription de la Daira de Hassi Bahbah (W. Djelfa). Ministère de l'agriculture et du développement rural, Alger (107 pp.).
- DGF, 2008. Direction générale des forêts; Fiche descriptive des zones humides RAMSAR. Ministère de l'agriculture et du développement rural, Alger (210 pp.).
- Evelin, H., Kapoor, R., Giri, B., 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress; a review. *Ann. Bot.* 104, 1263–1280.
- Frey-Klett, P., Garbaye, J., Tarkka, M., 2007. The mycorrhizal helper bacteria revisited. *New Phytol.* 73, 1031–1309.
- Frostegård, A., Tunlid, A., Baath, E., 1991. Microbial biomass measured as total lipid phosphate in soils of different organic content. *J. Microbiol. Methods* 14, 151–163.
- Gai, J.P., Christie, P., Cai, X.B., Fan, J.Q., Zhang, J.L., Feng, G., Li, L.X., 2009. Occurrence and distribution of arbuscular mycorrhizal fungal species in three types of grassland community of the Tibetan Plateau. *Ecol. Res.* 24, 1345–1350.
- Gerdemann, J.W., Nicolson, T.H., 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 46, 235–244.
- Giri, C., Zhu, Z., Tieszen, L.L., Singh, A., 2007. Mangrove forest distributions and dynamics (1975–2005) of the tsunami-affected region of Asia. *J. Biogeogr.* 35, 519–528.
- Halitim, A., 1988. Sol des régions arides d'Algérie. O.P.U, Alger (384 pp.).
- Hassan, S.E.D., Boon, A., St-Arnaud, M., Hijri, M., 2011. Molecular biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in trace metal-polluted soils. *Mol. Ecol.* 20, 3289–3490.
- Hildebrandt, U., Janetta, K., Ouziad, F., Renne, B., Nawrath, K., Bothe, H., 2001. Arbuscular mycorrhizal colonization of halophytes in Central European salt marshes. *Mycorrhiza* 10, 175–183.
- Hirrel, M.C., 1981. The effect of sodium and chloride salts on the germination of *Gigaspora margarita*. *Mycologia* 73, 610–617.
- Hrynkiwicz, K., Szymańska, S., Piernik, A., Thiem, D., 2015. Ectomycorrhizal community structure of *Salix* and *Betula* spp. at a saline site in Central Poland in relation to the seasons and soil parameters. *Water Air Soil Pollut.* 226, 99.
- Ishida, T.A., Nara, K., Ma, S., Takano, T., Liu, S., 2009. Ectomycorrhizal fungal community in alkaline-saline soil in northeastern China. *Mycorrhiza* 19, 329–335.
- Johromi, F., Aroca, R., Porcel, R., Ruiz-Lozano, J.M., 2008. Influence of salinity on the in vitro development of *Glomus intraradices* and on the in vitro physiological and molecular response of mycorrhizal lettuce plants. *Microb. Ecol.* 55, 45–53.
- Juniper, S., Abbott, L., 1993. Vesicular–arbuscular mycorrhizas and soil salinity. *Mycorrhiza* 4, 45–57.
- Juniper, S., Abbott, L., 2006. Soil salinity delays germination and limits growth of hyphae from propagules of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 16, 371–379.
- Kelly, M.A., Gehring, C.A., 2012. Disruption mycorrhizal mutualisms: a potential mechanism by which exotic tamarisk outcompetes native cottonwoods. *Ecol. Appl.* 22, 532–549.
- Kelly, A.M., Gehring, C.A., 2013. *Tamarix* and soil ecology. In: Sher, A., Quigley, M.F. (Eds.), *Tamarix* Acase Study of Ecological Change. The American West, Oxford, New York, pp. 225–239.
- Krishnamoorthy, R., Kim, K., Kim, C., Sa, T., 2014. Changes of arbuscular mycorrhizal traits and community structure with respect to soil salinity in a coastal reclamation land. *Soil Biol. Biochem.* 72, 1–10.
- Landwehr, M., Hildebrandt, U., Wilde, P., Nawrath, K., Tóth, T., Biró, B., Bothe, H., 2002. The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus geosporum* in European saline, sodic and gypsum soils. *Mycorrhiza* 12, 199–211.
- McGonigle, T.P., Miller, M.H., Evans, D.G., Fairchild, G., Swan, J.A., 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 115, 495–501.
- McMillen, B.J., Juniper, S., Abbott, L.K., 1998. Inhibition of hyphal growth of a vesicular–arbuscular mycorrhizal fungus in soil containing sodium chloride limits the spread of infection from spores. *Soil Biol. Biochem.* 13, 1639–1646.
- Mendpara, J., Parekh, V., Vaghela, S., Makasana, A., Kunjadia, P.D., Sanghvi, G., Vaishnav, D., Dave, G.S., 2013. Isolation and characterization of high salt tolerant bacteria from agricultural soil. *Eur. J. Exp. Biol.* 3, 351–358.
- Mohammad, M.J., Hamad, S.R., Malkani, H.I., 2003. Population of arbuscular mycorrhizal fungi in semi-arid environment of Jordan as influenced biotic and abiotic factors. *J. Arid Environ.* 53, 409–417.
- Montgomery, H.J., Montreal, C.M., Young, J.C., Seifer, S., 2000. Determination of soil fungal biomass from soil ergosterol analysis. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1207–1217.
- Nakbanpote, W., Panitlurtumpai, N., Sangdee, A., Sakulpone, A., Sirisom, P., Pimthong, A., 2014. Salt tolerant and plant growth-promoting bacteria isolated from Zn/Cd contaminated soil: identification and effect on rice under saline conditions. *J. Plant Interact.* 9, 379–387.
- Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S., La, D., 1954. Estimation of Available Phosphorus by Extraction With Sodium Bicarbonate (Circular39) USDA, Washington.
- Olsson, P.A., Baath, E., Jakobsen, I., Soderstrom, B., 1995. The phospholipid and neutral lipid fatty acids to estimate biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Mycol. Res.* 99, 623–629.
- Olsson, P.A., Baath, E., Jakobsen, I., 1997. Phosphorus effects on the mycelium and storage structures of an arbuscular mycorrhizal fungus as studied in the soil and roots by analysis of fatty acids signatures. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 3531–3538.
- Öpik, M., Metsis, M., Daniell, T.J., Zobel, M., Moora, M., 2009. Large-scale parallel 454 sequencing reveals host ecological group specificity of arbuscular mycorrhizal fungi in a boreonemoral forest. *New Phytol.* 18, 424–437.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jaminadass, R., Anthony, S., 2009. Agro-forest Database. <http://www.worldagroforestry.org/sites/treedbs/treedatabases.asp>.
- Ozenda, P., 1983. Flore Du Sahara. In: Septentrional et Central (Ed.), C.N.R.S, Paris (662 pp.).
- Petard, J., 1993. Les méthodes d'analyse du sol; Tome I. IRD. ORSTOM, Nouméa (200 pp.).
- Phillips, J.M., Hayman, D.S., 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55, 158–161.
- Porcel, A., Aroca, R., Ruiz-Lozano, J.M., 2012. Salinity stress alleviation using arbuscular mycorrhizal fungi. *Agron. Sustain. Dev.* 32, 181–200.
- Ramdan, N., 2001. Agro-Pedological studies in Algeria. Soil resources of Southern and Eastern Mediterranean countries. CIHEAMOptions Méditerranéennes : Série B. Etudes et Recherches 34 pp. 91–100.
- Rengasamy, P., 2006. World salinization with emphasis on Australia. *J. Exp. Bot.* 57, 1017–1023.
- Roesti, D., Inelchen, K., Braissant, O., Redecker, D., Wiemken, A., Aragno, M., 2005. Bacteria associated with spores of the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus geosporum* and *Glomus constrictum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 6673–6679.
- Sánchez-Castro, I., Ferrol, N., Cornejo, P., Barea, J.M., 2012. Temporal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing roots of representative shrub species in a semi-arid Mediterranean ecosystem. *Mycorrhiza* 22, 449–460.
- Sinclair, G., Charest, C., Dalpé, Y., Khanizadeh, S., 2014. Influence of colonization by arbuscular mycorrhizal fungi on three strawberry cultivars under salty conditions. *Agric. Food Sci.* 23, 146–158.
- Smith, S.E., Read, D.J., 2008. Mycorrhizal symbiosis. Academic 3rd edn. (New York, 800 pp.).
- Sussman, A.S., 1976. Activators of Fungal Spore Germination. In: Weber, D.J., Hess, W.M. (Eds.), *The Fungal Spore Form and Function*. John Wiley Publishing, New York, pp. 101–137.
- Sýkorová, Z., Ineichen, K., Wiemken, K., Redecker, D., 2007. The cultivation bias: different communities of arbuscular mycorrhizal fungi detected in roots from the field, from bait plants transplanted to the field, and from a greenhouse trap experiment. *Mycorrhiza* 18, 1–14.
- Szaboles, I., 1979. Review of research on salt-affected soils. *Nat. Resour. Res.* 15, 31–40 (53–98).
- Taniguchi, T., Acharya, K., Imada, S., Iwanaga, F.Y.N., 2015. Arbuscular mycorrhizal colonization of *Tamarix ramosissima* along a salinity gradient in the southwestern United States. *Landsc. Ecol. Eng.* 11, 221–225.
- Tian, H., Gai, J.P., Zhang, J.L., Christie, P., Li, X.L., 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi associated with wild forage plants in typical steppe of eastern Inner Mongolia. *Eur. J. Soil Biol.* 45, 321–327.
- USDA, 2013. Soil Classification: A Comprehensive System (prepared by) Soil Survey Staff. U.S.D.A, Washington, D.C. USA (53 pp.).
- Wichern, J., Wichern, F., Joergensen, R.G., 2006. Impact of salinity on soil microbial communities and the decomposition of maize in acidic soils. *Geoderma* 137, 100–108.
- Wilde, P., Manal, A., Stodden, M., Sieverding, E., Hildebrandt, U., Bothe, H., 2009. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in roots and soils of two salt marshes. *Environ. Microbiol.* 11, 1548–1561.
- Yuan, J.P., Kuang, H.C., Wang, J.H., Liu, X., 2008. Evaluation of ergosterol and its esters in the pileus gill, and stipe tissues of agaricus fungi and their relative changes in the comminuted fungal tissues. *APP. Microbiol. Biotechnol.* 80, 459–465.
- Zizzo, A., 2009. The Effects of Road Salt on mushroom-forming Saprotrophic Fungi (Dissertation) Carthage College.