

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Blida 1  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biotechnologie



## MÉMOIRE

En Vue de l'obtention du Diplôme de Master 2 en Science de la Nature et de la Vie  
Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes

## THÈME

**Diversité des champignons mycorhiziens  
arbusculaires associés à *Thymus algeriensis***

Soutenu le 30/ 09 / 2020

Présenté Par :

**BENSALEM ZIAD  
SENOUCI HOUSSAM**

Devant le jury composé de :

<b>Mme MOUMEN. S</b>	MCA	USDB	Présidente
<b>Mme AYACHI.N</b>	MCB		Examinatrice
<b>Mme FAIDI.H</b>	MAA	USDB	Promotrice

**Promotion 2019/2020**

## REMERCIEMENTS

Nous remercions Mme H. FAIDI de nous avoir dirigés et encouragés tout au long de ce travail, nous la remercions pour sa disponibilité, son aide précieuse, son écoute et ses conseils.

Nos vifs remerciements vont aussi particulièrement au membre du jury pour nous avoir fait l'honneur d'examiner et juger notre travail.

Nos meilleurs remerciements vont aux enseignements des deux universités MOUSTAFA BEN BOULAIID BATNA et SAAD DAHLEB BLIDA qui ont contribué notre formation.

Et nous souhaitons également remercier chaleureusement nos familles et nos proches, nous les remercions du fond de nos cœurs.

Nous dédions ce travail à nos frères *OUSSAMA, RABAH, WAHAB et ZIANE*.

## **RESUME:**

Notre travail de mémoire est articulé autour d'une synthèse bibliographique des mycorhizes et leurs intérêt pour le développement d'une plante médicinale le *Thymus algériensis* pour cela, nous avons fait une synthèse bibliographique subdivisée en deux chapitres, le premier chapitre parle sur les généralités de plante de genre thymus, sa description botanique, distribution géographique et aussi de l'espèce *Thymus algériensis*, et dans une deuxième partie, nous avons parlé des mycorhizes en générale, les CMA en particulier, leur types, leur cycle de développement, et leur bénéfices. Dans un deuxième chapitre on a expliqué les méthodes d'étude des CMA (la mise en évidence de la colonisation mycorhizienne et l'isolement des spores de CMA).

**Mots clés :** Mycorhizes, champignon mycorhizienne à arbuscule (CMA), *thymus algiriensis*

## ملخص:

أجريت العديد من التجارب لتقييم الحالة الميكروبية للعديد من النباتات في هذه الدراسة قمنا ببحث بيبيولوجيا مقسم إلى فصلين الفصل الأول يتحدث حول نبات الزعتر بصفة عامة ثم تطرقنا إلى وصفها المرفولوجي و توزيعها الجغرافي ثم تحدثنا عن صنف *thymus algeriensis* لتحدث بعدها عن الفطريات الميكوريزية عموما و المدعوة بشكل خاص حيث قمنا بذكر كل من أنواعها ودورة تطورها وفوائدها .  
اما في الفصل الثاني فقد قمنا بشرح طريقة تحديد كثافة هذه الفطريات الجذرية داخل النبتة و تحديد نوع الابواغ الموجودة في التربة المحيطة بجذور النبتة المدروسة .

**الكلمات المفتاحية :** ميكوريزا، الفطريات الميكوريزية، *thymus* 'champignon mycorhizien à arbuscule'  
*algeriensis*

## **ABSTRACT :**

Experiments were carried out to evaluate the mecorrhizal status of CMA in relation to several plants, in this study a bibliographical synthesis was made subdivided in two chapters, the first chapter speaks about the generalities of *thym* genus plant, their botanical description, distribution geographic area and the species of *thymus algiriensis* and in a second point we spoke about mycorrhizae in general, CMAs in particular their types, development cycle, and their benefits, in a second chapter we explained the methods of study of CMA (the demonstration of mycorrhizal colonization and the isolation of CMA spores)

**Key words:** Mycorrhizae, arbuscular mycorrhizal fungus (MAC), *thymus algiriensis*

# SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	01
Chapitre 1 synthèse bibliographique.....	02
1. LE THYM.....	02
1.1. Généralités sur le genre <i>Thymus</i> .....	02
1.2. Classification botanique.....	02
1.3. Description botanique.....	03
1.4. Distribution géographique.....	03
1.4.1. Dans le monde.....	03
1.4.2. En Algérie.....	04
1.5. Exigences culturales.....	05
1.6. <i>Thymus algeriensis</i> .....	06
2. MYCORHIZES	
2.1. Généralités sur les mycorhizes.....	07
2.2. Différents types de mycorhizes.....	07
2.2.1. Ectomycorhizes.....	08
2.2.2. Endomycorhizes.....	09
2.2.2.1. Endomycorhizes à pelotons.....	09
2.2.2.2. Mycorhizes arbusculaires.....	09
2.2.3. Les ectendomycorhizes.....	10
2.3. Mycorhizes arbusculaires.....	10
2.3.1. Généralités.....	10
2.3.2. Structures des MA.....	10
2.3.2.1. Hyphes.....	11
2.3.2.2. Arbuscules.....	11
2.3.2.3. Vésicules.....	12
2.3.2.4. Spores.....	12
2.3.3. Morphologie des MA.....	12
2.3.4. Taxonomie des CMA.....	13
2.3.5. Cycle de développement des CMA.....	15

2.4. Bénéfices de la symbiose mycorhizienne.....	17
2.4.1. Pour le champignon.....	17
2.4.2. Pour la plante hôte.....	17
2.4.2.1 Amélioration de la nutrition minérale.....	17
2.4.2.2. Biostabilisation du sol.....	18
2.4.2..3. Protection contre les agents pathogènes.....	19
2.4.2.4. Bioremediation.....	19
Chapitre 2 méthodes d'étude .....	21
3. METHODES D'ETUDE DES MA.....	21
3.1. Prélèvements.....	21
3.2. Mise en évidence de la colonisation endomycorhizienne.....	21
3.3. Estimation de la colonisation mycorhizienne à arbuscules.....	22
3.4. Isolement de spores de CMA .....	24
CONCLUSION.....	27
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	28

## LISTE DES FIGURES :

<b>Figure 1 :</b> Distribution du genre <i>Thymus</i> dans le monde. La ligne pointillée représente toutes les sections sauf section <i>Serpyllumet</i> sous-section <i>Serpyllastrum</i> de la section <i>Hyphodromi</i> . (Morales, 2002).....	04
<b>Figure 2 :</b> <i>Thymus algeriensis</i> Boiss. & Reut (Touhami, 2017).....	06
<b>Figure 3 :</b> Principaux types mycorhiziens représentés sur une coupe transversale d'une racine modifiée (LeTacon, 1985).....	08
<b>Figure 4 :</b> Structures intracellulaires typiques (arbuscules A et vésicule V) des mycorhizes arbusculaires produites par <i>Glomus mosseae</i> . (Brundrett et al., 1984).....	11
<b>Figure 5 :</b> Représentation schématique des types de la colonisation du cortex racinaire par les CMA (Priyadharsini et Muthukumar, 2015) .....	13
<b>Figure 6 :</b> Classification des champignons mycorhiziens à arbuscules (Redecker et al., 2013).	14
<b>Figure 7 :</b> Schéma des différentes étapes de colonisation des champignons mycorhiziens à arbuscules (adapté d'après Bonfante et Genre 2010).....	15
<b>Figure 8 :</b> champignon MA colorée au bleu trypan CMA (a) , des arbuscules (b) et des vésicules (c).....	22
<b>Figure 9 :</b> Barème de classe de la colonisation endomycorhizienne (d'après Trouvelot et al. 1986).....	23
<b>Figure 10 :</b> Protocole d'extraction des spores des CMA à partir du sol.....	25
<b>Figure 11 :</b> Séparation morphologique des spores de CMA sous loupe binoculaire (INVAM)..	26



## LISTE DES TABLEAUX

**Tableau 1:**Classification botanique du Thym .....02

**Tableau2:**Localisation des principales espèces du genre *Thymus* en Algérie (Saidji, 2006).....05

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**CMA** : champignon mycorhizien à arbuscule

**MA** : mycorhize à arbuscule

**KOH** : la potasse

**Zn** : zinc

**Cu** : cuivre

**µm** : micromètre

**P** : phosphore

**Rmp** : rotation par minute

**F %** : Fréquence de la colonisation mycorhizienne

**M %** : Intensité de la colonisation du cortex racinaire

**m %** : Intensité de la colonisation développée dans la partie mycorhizée du système racinaire

**A %** : Teneur arbusculaire de la colonisation ramené au système racinaire entier

**a %** : Teneur arbusculaire de la colonisation dans la partie mycorhizée du système racinaire

## **Introduction :**

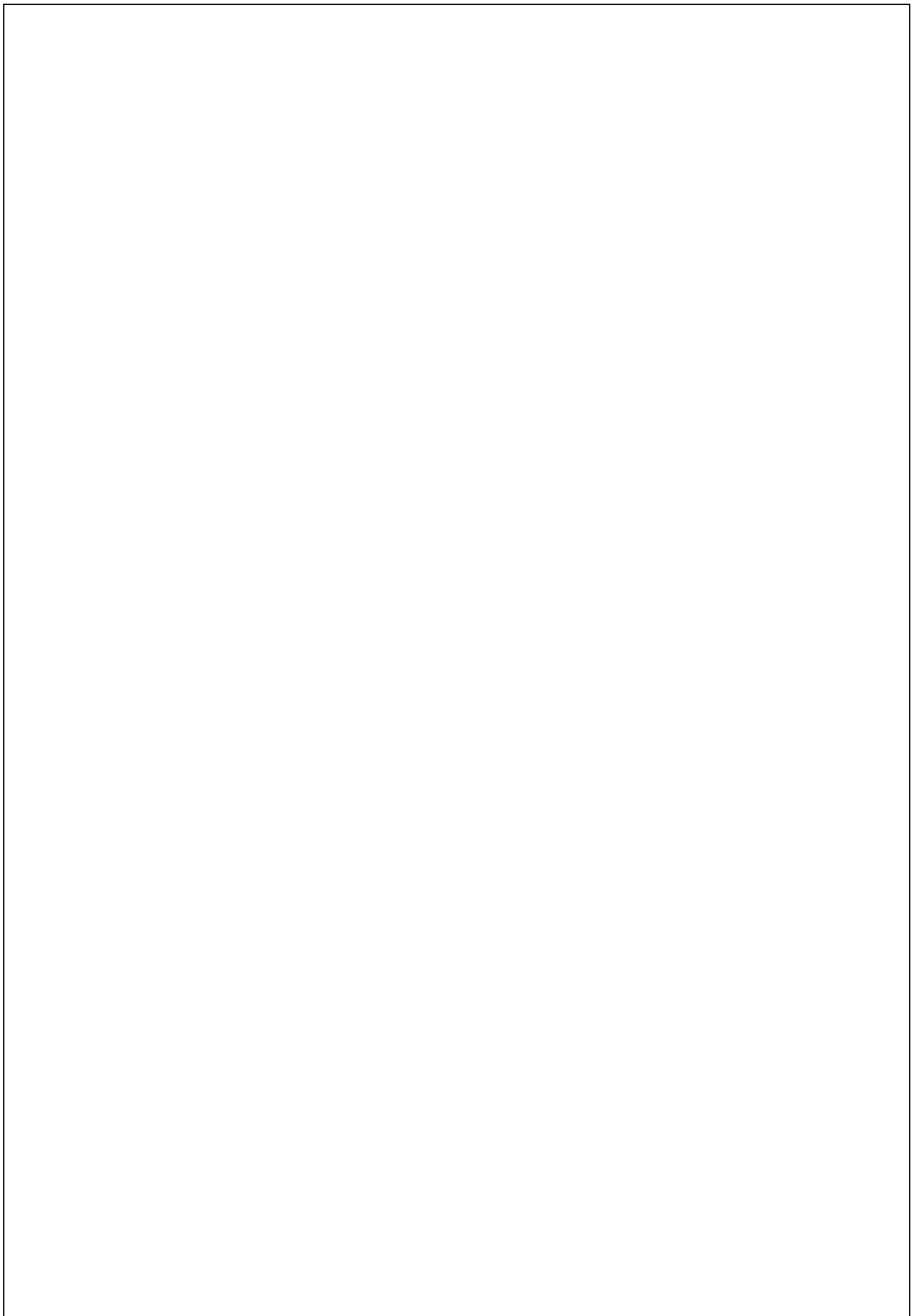
Les microorganismes vivant en symbioses avec les racines des plantes jouent un rôle majeur dans la nutrition de ces dernières. Parmi les microorganismes symbiotiques, les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) s'associent avec plus de 80 % des plantes terrestres (Smith & Read, 2008), en particulier,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

La région méditerranéenne d'une manière générale et l'Algérie en particulier, avec son climat doux et ensoleillé est particulièrement favorable à la culture des plantes aromatiques et médicinales, en particulier, les espèces de la famille des Lamiacées, l'une des plus répandues dans le règne végétal avec plus de 7200 espèces (Naghibi et *al.*, 2005). Elles possèdent une place économique importante en raison de leurs utilisations médicinales, culinaires et cosmétiques. Les principaux métabolites secondaires décrits dans cette famille sont les terpènes, les composés phénoliques, les flavonoïdes ou encore les iridoïdes glycosidiques (Kulišic et *al.*, 2006).

Les CMA sont considérés comme des acteurs clés des services écosystémiques. Grâce à leur réseau mycélien, ils améliorent l'absorption de l'eau et des éléments minéraux chez la plante (Labidi et *al.*, 2012). L'impact des champignons mycorrhizogènes arbusculaires sur la performance et l'accumulation de composés thérapeutiques de plusieurs espèces de plantes médicinales a été bien étudié (Toussaint 2007; Toussaint et *al.*, 2007; Zubek et *al.*, 2010). Ces travaux ont montré que l'inoculation mycorhizienne favorise, non seulement, la croissance des plantes médicinales mais améliore également la productivité et la quantité des composés phytochimiques.

Dans ce travail on a fait une synthèse bibliographique générale sur les champignons mycorrhiziens à arbuscule et la plante de thym grâce à sa grande importance dans l'usage thérapeutique en Algérie, et le contexte d'une contribution à la caractérisation de la diversité des champignons mycorrhiziens chez les Lamiacées et plus particulièrement pour l'espèce de *Thymus algeriensis*, qui a fait l'objet de notre étude.

L'objectif de notre travail est de déterminer le statut mycorrhizien de *Thymus algeriensis* et d'isoler des spores de CMA à partir de la rhizosphère de cette espèce en essayant de les identifier, mais à cause des conditions de cette épidémie nous n'avons pas réalisé ce travail expérimental.





# *Chapitre 1*

## *Synthèses bibliographiques*

## CHAPITRE 1 SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

## 1. LE THYM

1.1. Généralités sur le genre *Thymus*

Le thym est une plante condimentaire qui appartient à la famille des labiées, environ 215 espèces sont cultivées dans le monde (Ebrahimi et *al.*, 2008). Plusieurs explications existent concernant l'origine du nom «Thymus». Certains auteurs supposent que le nom latin *Thymus* vient du mot grec *thyo* (parfum). Une autre interprétation de son étymologie considère le mot grec *thymos* (courage, force) (Morales, 2002).

En Algérie, le genre *Thymus* est représenté par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination. Citant ainsi quelques espèces connues en Algérie : *T.vulgaris*, *T.serpyllum*, *T.algériensis*, *T.hirtus*, *T.fontanesii* (Quezel et Santa, 1962-1963).

Il est couramment utilisé dans le domaine thérapeutique, ceci est dû à ses propriétés pharmacologiques et aromatiques : antispasmodique, antiseptique, antitussif et expectorant (Rasooli et *al.*, 2002). C'est l'une des espèces les plus utilisées dans la médecine populaire, pour stimuler l'action dans toutes les fonctions de l'organisme (Bruneton, 1993) et aussi pour l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle (Dob et *al.*, 2006).

## 1.2. Classification botanique

Le genre *Thymus* est classé comme suit (tabl. 1):

**Tableau 1:** Classification botanique du thym.

Règne	Plantae
Embranchement	Tracheophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
S /Famille	Nepetoideae
Genre	<i>Thymus</i>

### **1.3. Description botanique**

Le thym est un sous arbrisseau touffu à tige dressée, ligneuse, érigées ou prostrées, odorantes, rameuse et tortueuse à la base, pouvant atteindre 40 cm de hauteur. Les rameaux blanchâtre, courtement velus, portent des feuilles plus ou moins contractées, persistantes, de petite taille (3 à 12 mm de long sur 0.5 à 3 mm de large), opposées, lancéolées ou linéaire, à limbe entier, elles sont de couleur vert grisâtre. Beaucoup sont le point de départ de ramifications très courtes, formant des faisceaux de petites feuilles issues de celles des tiges, leurs face inférieure est feutrée et ponctuées de poils sécréteurs alors que leur face supérieure est glabre et marquée par une nervure centrale déprimée, les marges du limbe sont généralement enroulées sur la face ventrale, ce qui donne à la feuille une forme générale d'aiguille. (Quezel et Santa, 1962-1963, Goetz et Ghedira, 2012).

Les fleurs du thym sont regroupées par 2 ou à l'aisselle de feuilles, rassemblées en glomérule ovoïdes, elles sont de petite taille et zygomorphe, le calice est velu, hérissé de poils durs, en forme de tube ventru à la base et de 3 à 4 mm de long, il est formé de 5 sépales soudées en deux lèvres inégales, celle du haut étant tridentée et celle du bas bilobée, ciliées et arquée, la corolle est de taille variable, bilabée et de couleur mauve. Le fruit est un tétrakène qui renferme à maturité 4 minuscules graines (1 mm). Brun clair à foncé. La floraison a lieu de juin à octobre. (Goetz et Ghedira, 2012).

La détermination des espèces est toujours délicate, en raison de leur extrême variabilité et de leurs hybridations interspécifiques. (Quezel et Santa, 1962-1963).

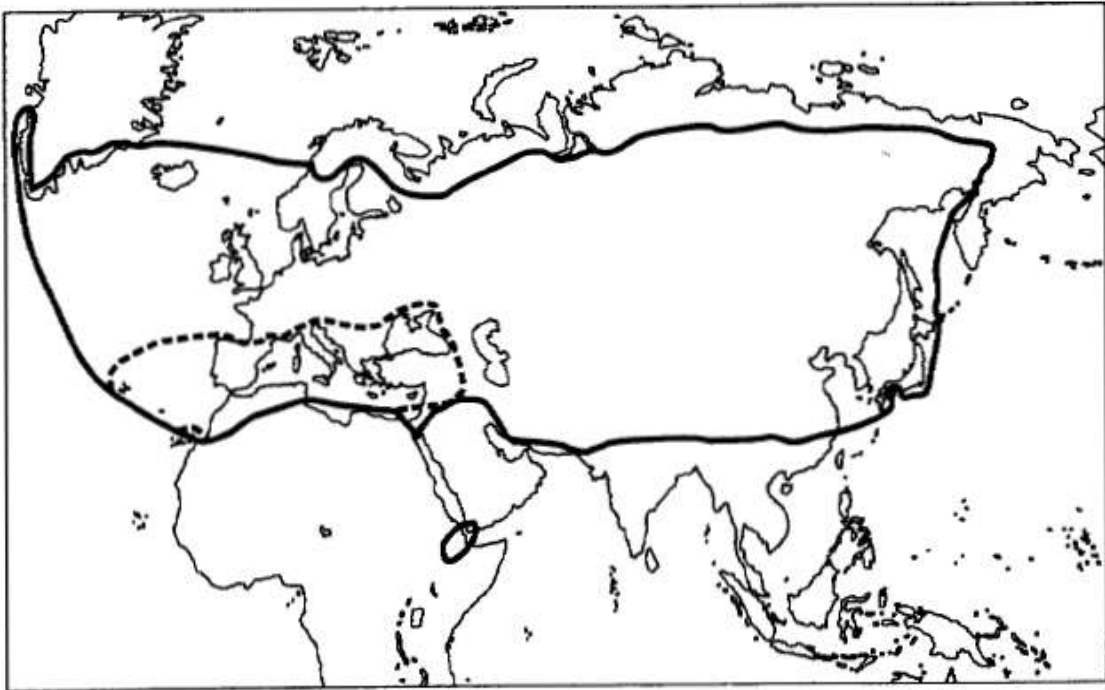
### **1.4. Distribution géographique**

#### **1.4.1. Dans le monde**

Il existe près de 350 espèces de thym réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée. C'est un genre très répandu dans le nord-ouest africain (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye), il pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. On peut le trouver également en Sibérie et même en Himalaya (fig. 5) (Dob et al., 2006).



Il est largement distribué dans le vieux continent. La région ouest de la méditerranée peut être considérée comme le centre du genre *Thymus*. Selon une étude menée par Nickavar et *al.*, (2005), environ 110 espèces différentes de thym se concentrent dans le bassin méditerranéen. En effet, le genre *Thymus* est divisé en huit sections et l'origine de plusieurs espèces a souvent été attribuée à la région méditerranéenne. Seules des espèces de deux sections poussent hors de cette région. Sept sections sont répandues à travers la péninsule ibérique et le nord-ouest africain dont cinq sont endémiques (Morales, 2002).



**Figure 1 :** Distribution du genre *Thymus* dans le monde. La ligne pointillée représente toutes les sections sauf section *Serpyllum* et sous section *Serpyllastrum* de la section *Hyphodromi*. (Morales, 2002).

#### 1.4.2. En Algérie

Le genre *Thymus* comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides (Nickavar et *al.*, 2005). Ce genre est représenté principalement par onze espèces, réparties dans le nord du pays résumées dans le tableau(2) (Saidji, 2006).

Tableau 2 : Localisation des principales espèces du genre *Thymus* en Algérie (Saidji, 2006).

Espèces	Découverte par	Localisation
<i>T. capitatus</i>	Hoffman et Link	Rare dans la région de Tlemcen
<i>T. fontanasii</i>	Boiss et Reutre	Commun dans le tell endémique Est Algérie – Tunisie
<i>T. commutatus</i>	Battandie	Endémique Oran
<i>T. numidicus</i>	Poiret	Assez rare dans : - Le sous-secteur de l'atlas tellien, la grande et la petite Kabylie - De Skikda à la frontière Tunisienne - Tell constantinois
<i>T. guyonii</i>	Noé	Rare dans le sous-secteur des Hauts plateaux algérois-oranais et constantinois
<i>T. lancéolatus</i>	Desfontaine	Dans le sous-secteur des Haut plateaux algérois, oranais(Tiaret) et constantinois
<i>T.pallidus</i>	Coss	Très rare dans le sous-secteur de l'Atlas saharien et constantinois
<i>T.hirtus</i>	Willd	Commun sauf sur le littoral
<i>T. algeriensis</i>	Bois et Reuter	Très commun dans le sous secteur des hauts plateaux Algérois et oranais
<i>T. munbyanus</i>	Boiss et Reuter	Endémique dans le secteur Nord algérois
<i>T. glandulosus</i>	Lag	Très rare dans le sous secteur des hauts plateaux algérois

### 1.5. Exigences culturelles

Le thym pousse bien sur des endroits naturels, sur sol légers et calcaires, mais il prospère tout aussi bien sur sols fertiles argileux mais non détrempes. Il nécessite des endroits bien ensoleillés et supporte relativement bien la sécheresse. (Goetz et Ghedira,2012)

C'est d'ailleurs sur sol pauvres (maquis, rocaille de garrigue) que se développe le mieux son arôme. Dans les endroits de fortes gelées une protection est recommandée durant l'hiver. Sa

multiplication se fait par semis superficiel (germination à la lumière), réalise mi-avril ou plus rarement en aout, en rangées écartées d'environ 20 à 30 cm, de préférence sur sol léger et sablonneux. Une préculture sous châssis dès la mi-mars, suivie d'une plantation définitive, est également possible (Goetz et Ghedira,2012).

### **1.6. *Thymus algeriensis***

Plante à tiges courbées et à feuilles florales linéaires glabres peu dilatées et peu différentes des feuilles caulinaires et comportant des glandes sphéroïdales. Les épis florifères sont courts et étroits ne dépassant guère 15 x 12mm. Inflorescences en capitule. Les fleurs roses à blanchâtres comportent des corolles moins de deux fois plus longues que les calices. Calice (3.5 à 4.5mm) dont le tube comporte des cils dispersés et peu abondants (Quezel et Santa, 1962-1963).



**Figure 2 :** *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut (AICHI Nesrine, 2017)

**2. MYCORHIZES****2.1. Généralités**

Le terme mycorhize (du grec *mykes*, qui signifie champignon, et *rhiza* qui signifie racine) a été utilisé pour la première fois par le botaniste allemand FRANK en 1885 pour décrire les organes mixtes racines-champignons cités par ses prédécesseurs depuis plusieurs décennies. (Strullu, 1991). L'organe appelé mycorhize résulte d'une union durable entre les racines de la majorité des végétaux et certains champignons symbiotiques du sol, basée sur des échanges réciproques. (Mosse, 1957).

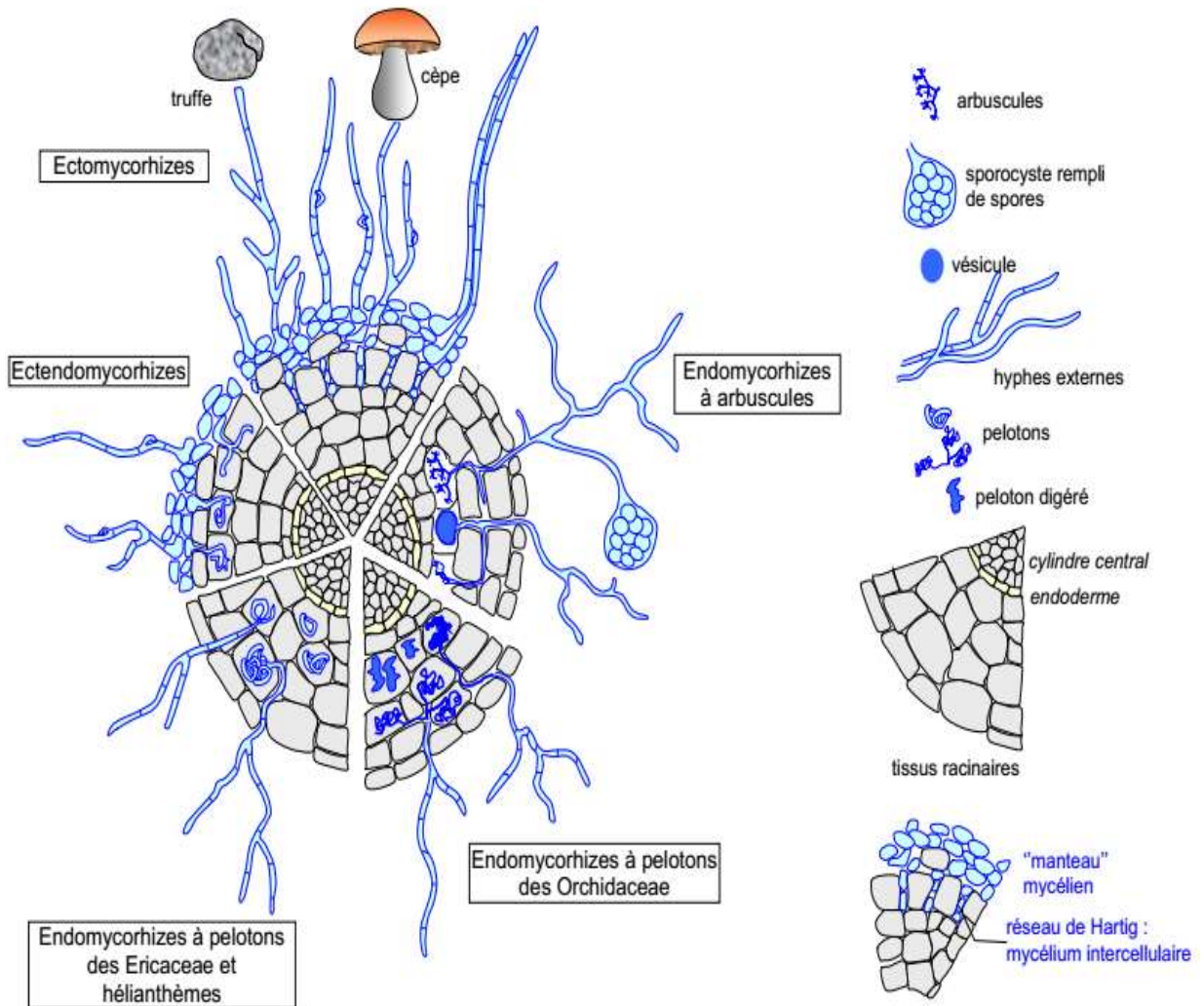
Les mycorhizes constituent des partenaires essentiels dans la relation sol-plantes-microorganismes. En effet, certaines espèces végétales ne peuvent croître normalement sans leur symbiote fongique dont elles sont fortement dépendantes et avec qui elles ont co-évolué (Janos, 1980).

Les mycorhizes sont très répandus dans la nature, elles intéressent 95% des végétaux. L'union favorise la croissance des deux partenaires, elle permet aussi la fructification du champignon. Le végétal fournit au champignon des sucres. En retour, le champignon alimente la plante en éléments minéraux notamment en phosphore grâce à un réseau dense de filaments appelé mycélium extramatriciel qui augmente considérablement la surface de contact entre les racines des plantes hôtes et le sol (Sieverding, 1991).

Mycorhizes est donc un phénomène général chez les plantes à l'exception de quelques familles comme les Brassicaceae, les Caryophyllaceae, les Cyperaceae, les Juncaceae, les Chenopodiaceae et les Amaranthaceae qui présentent très peu d'associations mycorhiziennes (Strullu, 1991 ; Norman et *al.*, 1995).

**2.2. Différents types de mycorhizes**

Il existe trois grands types de mycorhizes: les ectomycorhizes, les endomycorhizes et les ectendomycorhizes (fig. 1).



**Figure 3:** Principaux types mycorhiziens représentés sur une coupe transversale d'une racine modifiée (Le Tacon, 1985).

### 2.2.1. Ectomycorhizes

Elles sont caractérisées par la formation d'un **manteau fongique** et un réseau d'hyphes intercellulaires appelé **réseau de Hartig** dans les racines de la plus part des espèces ligneuses. Ce réseau constitue le siège des échanges nutritifs bidirectionnels entre le champignon et la plante. Du manteau fongique partent des éléments qui rayonnent dans le sol formant la phase extra matricielle du mycorhize (fig.1) (Burgess et al, 1994). Plus de 5000 espèces de champignons appartenant principalement aux Basidiomycètes, mais aussi aux Ascomycètes forment des ectomycorhizes avec les plantes des familles Pinaceae, Fagaceae, Betulaceae,

Salicaceae, et Tiliaceae ainsi que des espèces des Rosaceae, Leguminosae, Ericaceae, Juglandaceae, et autres familles (Brundrett, 2002).

### **2.2.2. Endomycorhizes**

Les hyphes des endomycorhizes (du grec *endon* : à l'intérieur) pénètrent à l'intérieur des cellules du cortex racinaire où leur prolifération conduit à la formation d'**arbuscules** ou de **pelotons** (fig.1). Le réseau de Hartig et le manteau fongique sont absents. On distingue les endomycorhize à pelotons et les endomycorhize à arbuscules (Garbaye, 2013).

#### **2.2.2.1. Endomycorhizes à pelotons**

L'hyphes pénètre dans une cellule corticale et va s'enrouler sur elle-même, sans former de réseau intercellulaire (fig.1). On distingue les mycorhizes éricoïdes et les mycorhizes des orchidoïdes.

➤ **Mycorhizes éricoïdes** : l'hôte végétal appartient généralement à la famille des Ericacées, le partenaire fongique est un Ascomycète (Peterson et Massicotte, 2004). L'association mycorhizienne reste active pendant une courte période de temps, après, les cellules corticales dégèrent et le champignon colonise en saprophyte les cellules mortes de la plante (Fortin et *al.*, 2008).

➤ **Mycorhizes des orchidées** : Elles sont limitées à la grande famille des Orchidacées, et sont uniques car les associations fongiques se font avec des cellules d'embryons de graines en germination, ainsi qu'avec les racines des jeunes plants et des plantes adultes. Les espèces fongiques impliquées sont des Basidiomycètes (Peterson *et al.*, 2008).

#### **2.2.2.2. Mycorhizes arbusculaires**

Elles sont formées par des champignons inférieurs et concernent environ 80 % des espèces végétales. Ces associations doivent leur nom aux structures fongiques résultant des hyphes intracellulaires qui se ramifient intensément à l'intérieur des cellules du cortex racinaire pour former des structures appelées arbuscules. Ces hyphes peuvent former des vésicules (fig.1) (Bonfante-Fasolo, 1984).

**2.2.3. Les ectendomycorhizes**

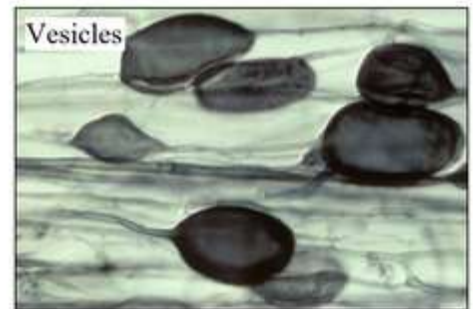
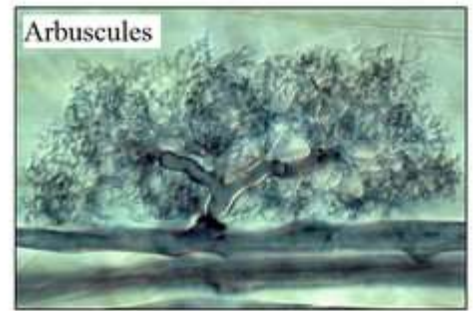
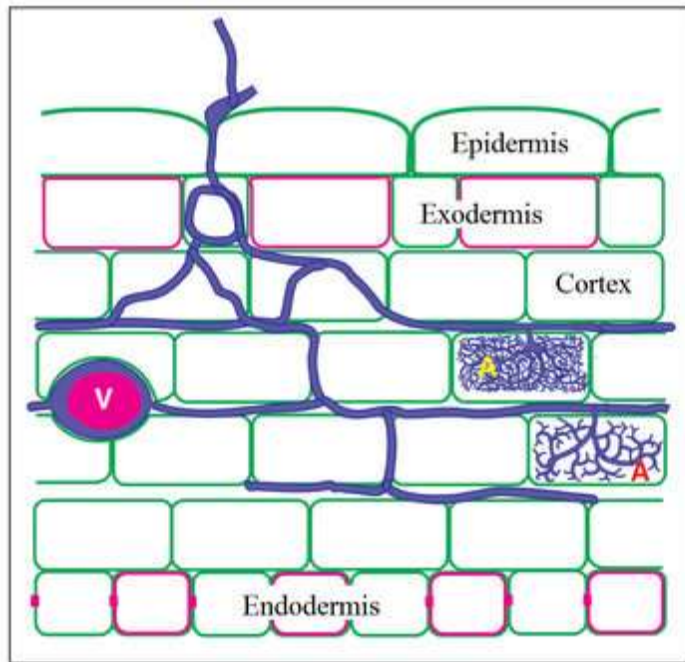
Les ectendomycorhizes sont des formes intermédiaires qui possèdent à la fois les caractéristiques des ectomycorhizes, c'est-à-dire, un réseau de Hartig bien développé et un manteau fongique plus ou moins épais, ou absent dans quelques cas, et les caractéristiques des endomycorhizes soit, la pénétration à l'intérieur des cellules corticales par les hyphes (fig.1) (Yu et *al.*, 2001).

**2.3. Mycorhizes arbusculaires****2.3.1. Généralités**

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

**2.3.2. Structures des MA**

Le champignon mycorhizien à arbuscule forme plusieurs structures à l'intérieur des racines (fig1) principalement des arbuscules, des vésicules, des spores et des hyphes. Le terme propagule est utilisé pour les désigner puisque toutes ces structures servent à propager l'espèce (fig.2) (Fortin et *al.*, 2008).



**Figure 4 :** Structures intracellulaires typiques (arbuscules A et vésicule V) des mycorhizes arbusculaires produites par (*Glomus mosseae*) (Brundrett *et al.*, 1984).

### 2.3.2.1. Hyphes

Les hyphes sont des filaments mycéliens intra ou extra-racinaires permettant aux champignons d'explorer le sol et de coloniser la plante hôte. Le mycélium intracellulaire est en relation avec des hyphes externes à la racine qui diffusent dans le sol. Elles augmentent ainsi considérablement le volume de sol exploré par la racine (Luttge *et al.*, 2002).

### 2.3.2.2. Arbuscules

L'arbuscule est l'unité au niveau de laquelle se produisent les échanges entre la plante hôte et le champignon. C'est une ramification latérale des hyphes fongiques dans les cellules du cortex racinaire où le champignon pénètre et croît à l'intérieur. La membrane de la cellule hôte s'invagine et enveloppe le champignon. L'arbuscule a pour rôle d'augmenter de 2 à 3 fois la surface de contact entre la cellule et l'hyphe. Ils ont une durée de vie limitée estimée en moyenne à 8 jours, ils entrent ensuite en sénescence et sont complètement éliminés de la cellule végétale qui retrouve son état initial (Javot *et al.*, 2007).



### **2.3.2. 3. Vésicules**

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

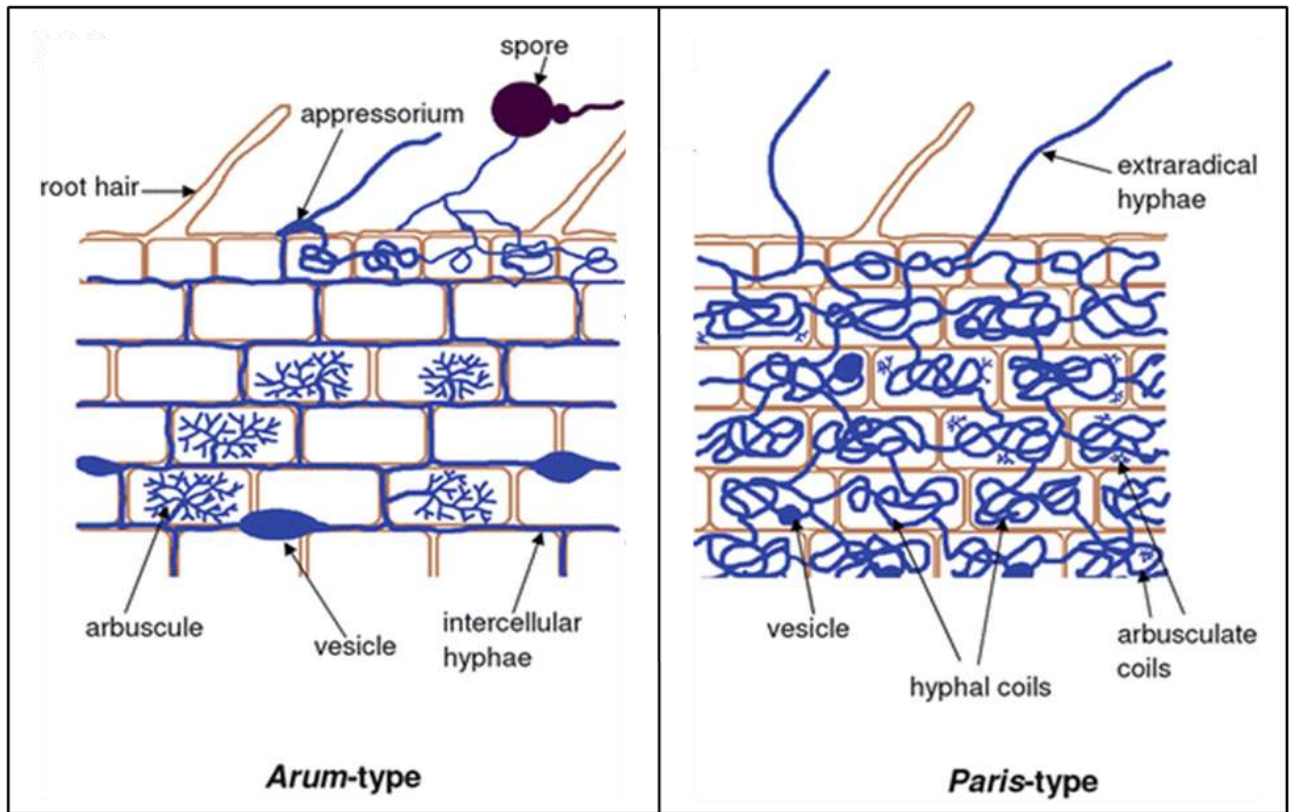
### **2.3.2.4. Spores**

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

### **2.3.3. Morphologie des MA**

La morphologie des structures symbiotiques intraracinaires est classée en deux types, *Paris* et *Arum*, selon les deux plantes où ils ont été décrits pour la première fois.

- Dans la colonisation de type *Arum*, le champignon prolifère le long de la racine dans les espaces intercellulaires et l'arbuscule entre dans les cellules par les axes résultants.
- Dans le type *Paris*, le champignon diffuse de cellule à cellule, et dans de nombreux cas des peletons d'hyphes sont formés sans ou avec des arbuscules (fig.3) (Bonfante et Genre, 2008).
- La plupart des plantes forment une structure intermédiaire entre ces deux modèles, ce qui conduit à la formulation du terme « type *Arum-Paris* continuum » (Dickson, 2004).



**Figure 5:** Représentation schématique des types de la colonisation du cortex racinaire par les CMA (Priyadharsini et Muthukumar, 2015)

#### 2.3.4. Taxonomie des CMA

Les CMA étaient autrefois classés dans l'ordre des Glomales parmi les Zygomycètes. Les études phylogénétiques récentes ont conduit à la création, en 2001, d'un phylum bien individualisé, celui des Glomeromycota (Schüßler et *al.*, 2001). Le phylum compte, à ce jour, 250 espèces décrites regroupées en 4 ordres : les Glomerales, les Diversisporales, les Paraglomerales et les Archeosporales (fig. 3). (Redecker & Schüßler, 2014).

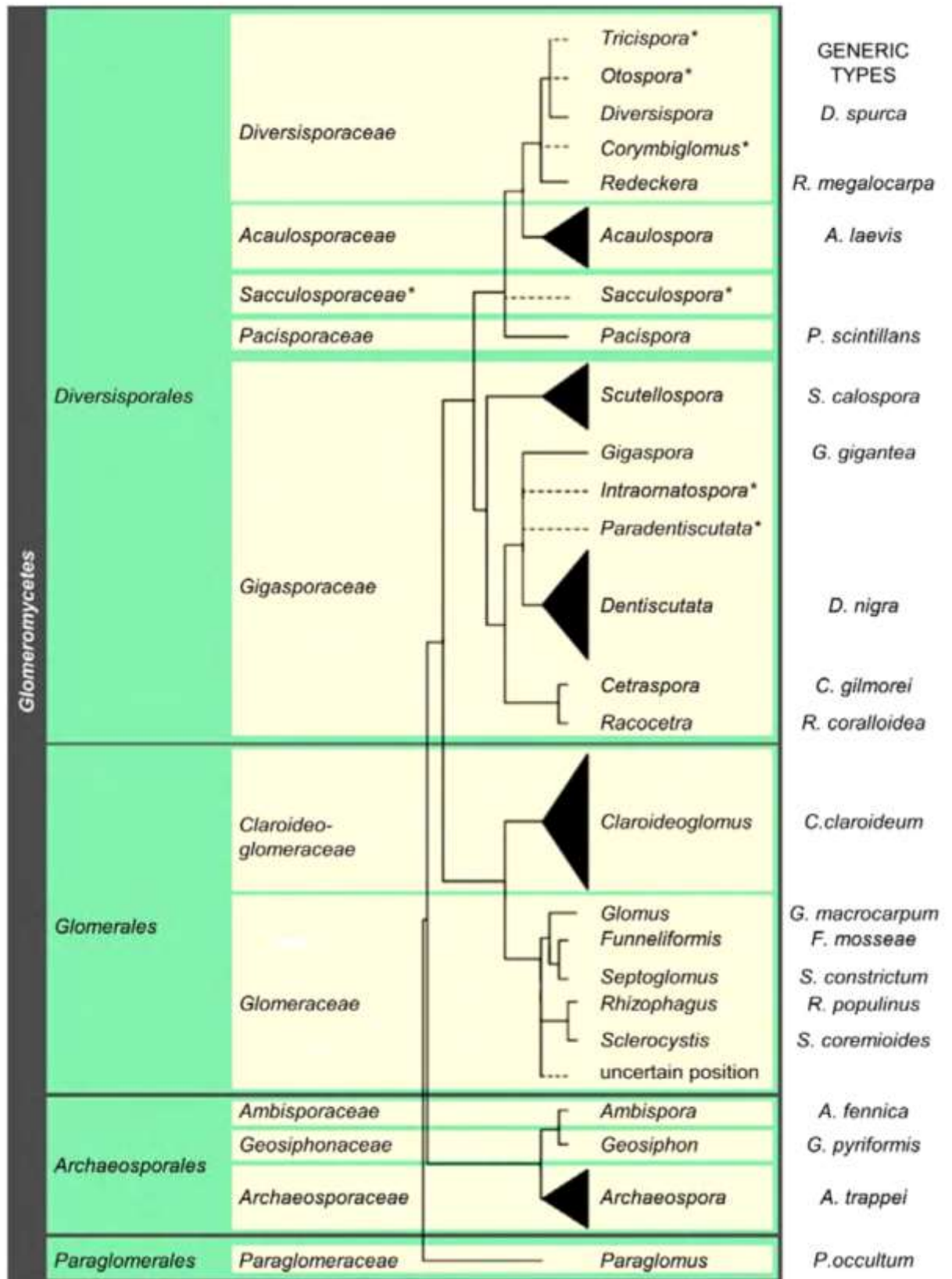
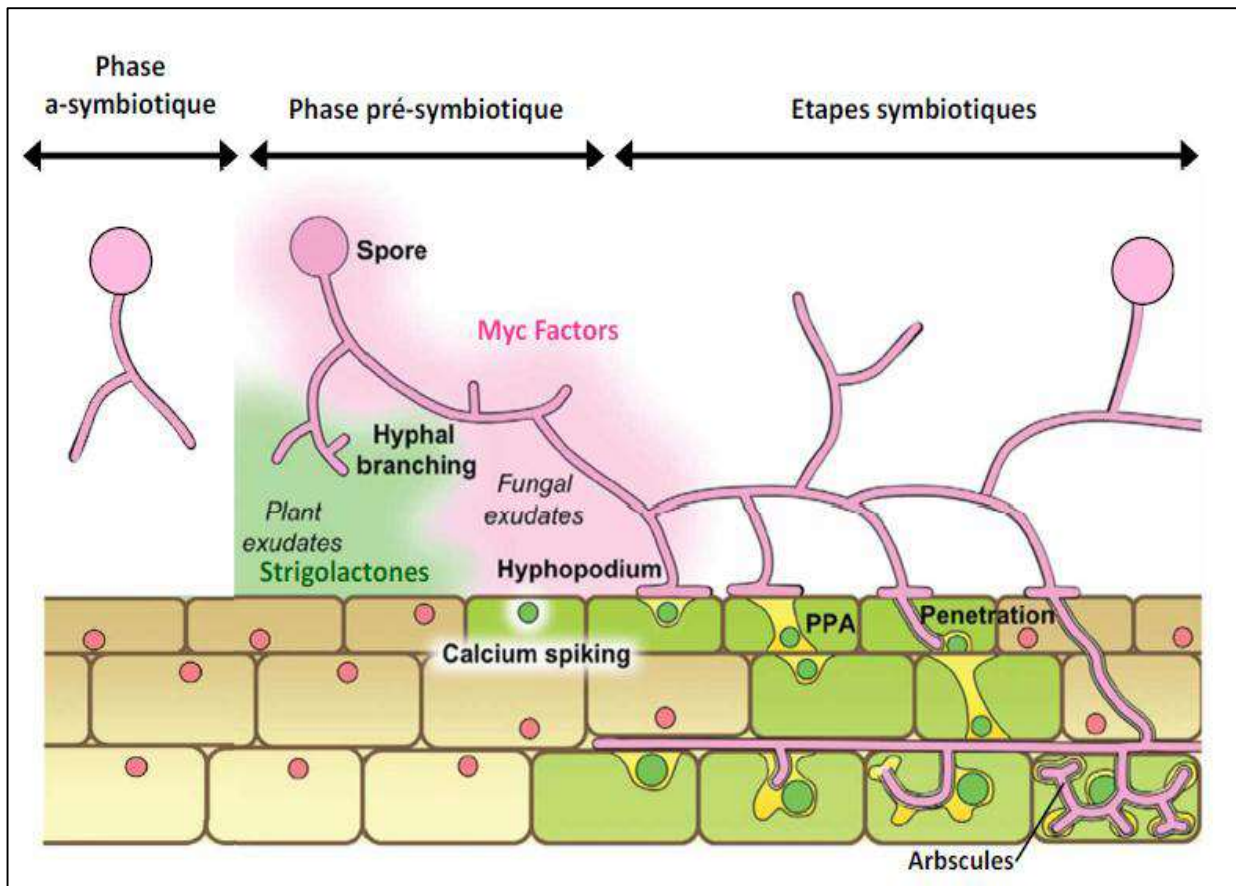


Figure 6 : Classification des champignons mycorhiziens à arbuscules (Redecker et al., 2013).

### 2.3.4. Cycle de développement des CMA

Le cycle de développement des champignons mycorhiziens peut être divisé en 3 grandes phases (fig. 4).



**Figure 7** : Schéma des différentes étapes de colonisation des champignons mycorhiziens à arbuscules (adapté d'après Bonfante et Genre, 2010).

#### ❖ Phase asymbiotique

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

### ❖ Phase présymbiotique

Avant le premier contact physique, les deux partenaires de la symbiose émettent des signaux dans le sol qui leur permettent d'être informés de leur présence respective. (Bonfante et Genre, 2010).

- **Signaux émis par la plante** : les plantes produisent des exsudats racinaires capables de stimuler la germination, d'induire une ramification des hyphes et de modifier l'activité métabolique du CMA. Dénommées «*branching factors*», ces molécules ont été identifiées comme étant des strigolactones (Buée et *al.*, 2000).

- **Signaux émis par le CMA** : les CMA produisent des molécules diffuses qui leur permettent d'être reconnus par les plantes. Ces molécules appelées «*Mycfactors* » induisent l'activation de gènes chez la plante hôte relatifs à l'établissement de la symbiose (Bonfante & Requena, 2011).

### ❖ Phase symbiotique

Le champignon forme une structure renflée au contact de l'épiderme appelée hyphopode ou *appressorium*. Les cellules végétales réorganisent leur cytosquelette et forment un système membranaire de pré-pénétration (PPA), qui va permettre au champignon d'entrer dans la racine et d'atteindre la zone corticale de la racine pour y développer des structures hyper-ramifiées appelées arbuscules. Ces derniers sont entourés d'une membrane plasmique péri-arbusculaire séparant le champignon du cytoplasme végétal et assurant les échanges entre le champignon et la plante grâce à des transporteurs spécifiques. Un grand nombre d'espèces de CMA produisent également des vésicules qui sont des structures de réserves localisées à l'intérieur ou entre les cellules corticales (Smith et Read, 2008).

De manière concomitante au développement dans la racine, le champignon va se développer dans le sol. Le mycélium extra-racinaire s'organise en un réseau très dense d'hyphes, qui peut former jusqu'à plusieurs mètres d'hyphes par cm<sup>3</sup> de sol. Ces structures vont puiser eau et sels minéraux puis les transporter vers la racine. C'est aussi à ce moment-là que le champignon va former de nouvelles spores, structures de reproduction et de dissémination des CMA, complétant ainsi son cycle de vie (Javot et *al.*, 2007).

## **2.4. Bénéfices de la symbiose mycorhizienne**

### **2.4.1. Pour le champignon**

Les CMA sont caractérisés par un transfert bi-directionnel de nutriments. Le champignon mycorhizien (hétérotrophe) reçoit de la plante (autotrophe) des molécules carbonées issues de la photosynthèse. En échange, celui-ci lui procure les éléments minéraux (dont le phosphore et l'azote) et l'eau ainsi que d'autres nutriments puisés dans le sol (ammonium, certains oligoéléments tels le cuivre, le zinc). Les CMA dépendent entièrement de leurs partenaires pour le carbone et sont incapables de compléter leur cycle de vie en dehors de la symbiose. Le carbone alloué au partenaire fongique sous forme d'hexoses est utilisé dans la croissance intra et extra racinaire du mycélium et dans la respiration. Ce transfert bidirectionnel implique donc des processus complexes au niveau de l'interface symbiotique.

L'établissement de la symbiose mycorhizienne à arbuscules présente un coût énergétique pour l'hôte : il a été estimé que près de 20 % du carbone fixé par la plante durant la photosynthèse est alloué au partenaire fongique sous forme de divers hexoses (glucose, mannose, galactose, fructose, xylose, saccharose) (Doidy *et al.*, 2012).

### **2.4.2. Pour la plante hôte**

Le rôle de la symbiose mycorhizienne dans la croissance et la nutrition des plantes a été bien démontré (Dommergues Et Mangenot, 1970 ; Gianinazzi-Pearson, 1982 ; Strullu, 1991). Dans la plupart des cas, l'effet bénéfique des mycorhizes est dû à une amélioration de la nutrition minérale de la plante-hôte. L'efficacité de systèmes racinaires mycorhizés est due principalement à une extension de la surface d'absorption et du volume de sol prospecté grâce aux hyphes fongiques. Sylvia (1986) a mesuré une moyenne de 12 mètres d'hyphes de champignons MA par gramme de sol dans une dune sub-tropicale et a estimé que la longueur d'hyphes qui se développent autour de la racine peut atteindre 200 à 1000 mètres pour un centimètre de racine.

#### **2.4.2.1 Amélioration de la nutrition minérale**

Le rôle majeur des mycorhizes se situe au niveau de la mobilisation pour la plante d'éléments nutritifs très peu mobiles dans le sol tels que P, Zn et Cu mais principalement le phosphore

(Lambert et *al.*, 2008). L'amélioration de l'absorption des éléments nutritifs chez les plantes mycorhizées conduit, dans la plupart des cas, à une amélioration de la croissance végétative.

La stratégie naturelle de l'acquisition des éléments nutritifs par les plantes terrestres est la symbiose avec les CMA. Le réseau hyphale externe des CMA joue un rôle important dans l'absorption des éléments nutritifs. Le réseau hyphale agit comme une extension des racines de la plante hôte, améliorant son efficacité d'explorer le sol (Gilroy et Jones, 2000). La longueur des hyphes peut atteindre 111 m/cm<sup>3</sup> de sol (Miller et *al.*, 1995) augmentant ainsi la surface d'échange entre la plante et son environnement. Les hyphes des CMA peuvent absorber jusqu'à 80, 25 et 10 % des besoins de la plantes en phosphore, azote et potassium, respectivement (Marschner Et Dell, 1994).

- **Phosphore** : Compte tenu de la concentration très faible du phosphore dans la solution du sol, les plantes ont souvent recours aux CMA pour améliorer son absorption (Smith et *al.*, 2000). Les hyphes mycorhiziennes extra-racinaires absorbent le phosphore et le transportent rapidement aux structures mycorhiziennes dans les racines où il sera libéré dans l'espace périarbusculaire adjacent aux cellules corticales racinaires (Smith Et Smith, 1990)
- **Azote** : C'est un élément indispensable à la vie de la plante. Il entre dans la synthèse de nombreuses molécules telles que les phospholipides, les coenzymes, les nucléotides et les acides aminés. Les CMA prélèvent l'azote sous sa forme ammonium (Lopez-Pedrosa et *al.*, 2006) et acides aminés (Cappellazzo et *al.*, 2008) en utilisant des transporteurs spécifiques localisés au niveau des hyphes extraracinaires. Il peut également accélérer la dégradation de la matière organique afin d'en augmenter la biodisponibilité pour les plantes (Hodge et *al.*, 2001). Une fois prélevé, l'azote est transporté jusque dans les hyphes intra-racinaires sous forme d'arginine (Jin et *al.*, 2005).

#### **2.4.2.2. Biostabilisation du sol**

Les hyphes des CMA étant présents en quantité importante dans les sols, ils peuvent atteindre 111 m/cm<sup>3</sup> de sol (Miller et *al.*, 1995). Ils possèdent la propriété d'agir sur la macroagrégation des constituants du sol et donc sur sa stabilité (Tisdall, 1991). En effet, ces hyphes excrètent une glycoprotéine, la glomaline, permettant l'agglomération des microagrégats d'un diamètre

inférieur à 250 µm pour former des macro-agrégats stables supérieur à 250 µm (Wright et Upadhyaya et *al.*, 1998). La stabilité du sol ainsi produite permet de lutter contre l'érosion, la perte de nutriments et de matière organique par lixiviation, qui sont à l'origine d'une baisse de productivité en agriculture (Schreiner et Bethlenfalvay, 1995).

#### **2.4.2.3. Protection contre les agents pathogènes**

Les CMA sont une composante majeure de la rhizosphère des plantes et peuvent influencer sur l'incidence et la gravité des maladies des racines. Ils influencent la qualité et l'abondance de la microflore au voisinage des racines et modifient l'activité microbienne de la rhizosphère globale. Ils provoquent des changements dans la structure de l'exsudation racinaire de l'hôte suite à la colonisation de l'hôte qui modifie l'équilibre microbien dans la rhizosphère. La colonisation par les CMA induit une résistance ou une tolérance des plantes face à divers agents pathogènes (Akhtar et Siddiqui, 2008).

#### **2.4.2.4. Bioremediation**

Les associations de plantes avec des CMA sont proposées comme une solution biologique potentielle pour améliorer la résistance des plantes à la toxicité des métaux et restaurer la fertilité des sols pollués par les métaux lourds (Vivaset *al.*, 2005). Les CMA interviennent dans les interactions entre la plante et les métaux toxiques du sol, en réduisant la toxicité de ces métaux (Meharg, 2003; Pawlowska et Charvat, 2002). Par conséquent, les CMA jouent un rôle écologique important dans la phyto-stabilisation des sols pollués par les éléments traces et potentiellement toxiques (Garg & Chandel, 2010).



# *Chapitre 2*

## *Méthode d'étude*

**CHAPITRE 2 MÉTHODES D'ÉTUDE****2. METHODES D'ETUDE DES MA**

Dans cette partie nous allons représenter les méthodes d'études des MA retrouvés dans la bibliographie

**3.1. Prélèvements :** Les échantillons sont constitués de racines et de sol rhizosphérique

**3.2. Mise en évidence de la colonisation endomycorhizienne**

Dans les racines, la mise en évidence de la colonisation endomycorhizienne est réalisée grâce à une adaptation de la technique de PHILLIPS et HAYMAN (1970). Cette technique est réalisée en trois étapes : l'éclaircissement des racines, la coloration des champignons et en fin l'observation au microscope photonique.

**• Eclaircissement**

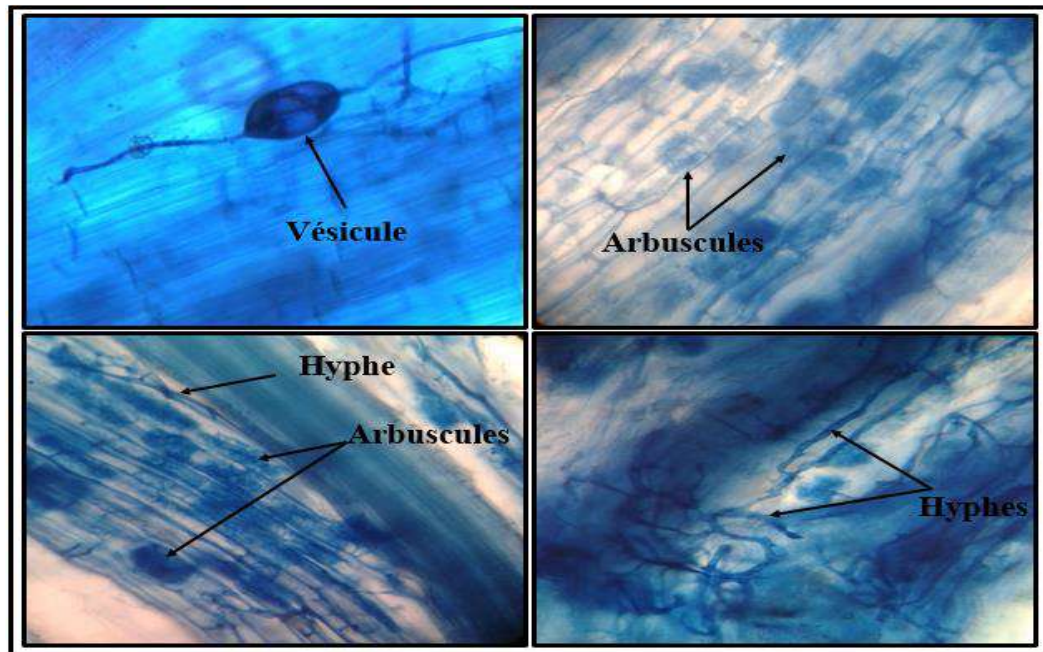
Les racines échantillonnées sont d'abord soigneusement lavées pour éliminer toute trace de particules de terre, coupées en fragments d'environ 1 cm de longueur. Les fragments racinaires sont éclaircis dans une solution d'hydroxyde de potassium (KOH) à 10% à chaud (à 90°C) pendant une heure. Après rinçage à l'eau, les racines sont plongées quelques minutes dans l'acide lactique à 10 % pour neutraliser le KOH restant. Cette étape permet l'élimination des constituants intracellulaires facilitant ainsi l'observation des structures des champignons endomycorhiziens à l'intérieur des racines.

**• Coloration**

Les racines éclaircies sont colorées pendant 20min à 90°C par le bleu Trypan à 0,05%. Un rinçage suit cette étape dans le but d'éliminer le surplus de colorant

**• Montage et observation**

Les fragments racinaires colorés sont disposés parallèlement entre lames et lamelles dans du glycérol. La mycorhization s'observe à l'examen au microscope photonique par une coloration bleue foncée des structures fongiques dans les racines (fig.8).



**Figure 8** : champignon MA colorée au bleu trypan chez *Ononis natrix* L (DEBBI Anwar GUERROUCHE Ibtessem 2019).

### 3.3. Estimation de la colonisation mycorhizienne à arbuscules

Le taux de la colonisation mycorhizienne est estimé selon la méthode de Trouvelot et *al.* (1986). 30 fragments racinaires colorés par la technique de PHILLIPS et HAYMAN (1970) sont montés entre lame et lamelle, à raison de 10 fragments par lame. L'examen au microscope photonique permet de les annoter selon un barème de classe et d'estimer ainsi le degré de la colonisation mycorhizienne de chaque fragment au moyen de six classes notées de 0 à 5 (fig. ) et la richesse arbusculaire par quatre classes notées A0, A1, A2 et A3 (fig. 8).

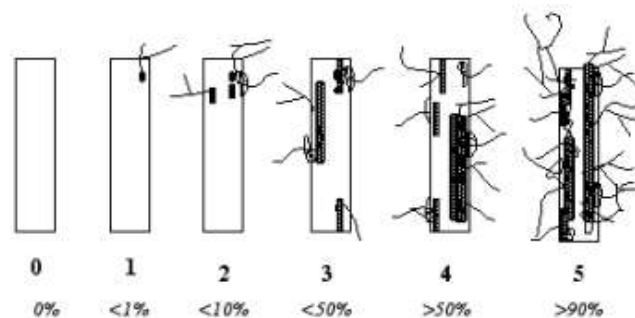
Au total 5 paramètres sont à calculer: F%, M%, m%, a% et A%

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

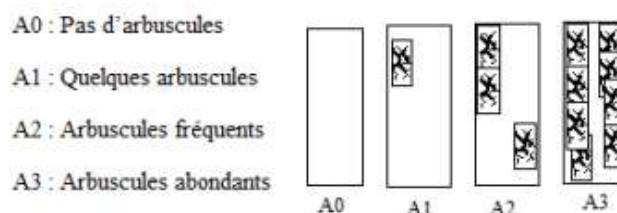
$$F\% = (\text{nombre de fragments mycorhizés} / \text{nombre total de fragments observés}) \times 100$$

- **M %** : Intensité de la colonisation du cortex racinaire (proportion du cortex colonisé estimée par rapport au système racinaire entier et exprimée en %), elle reflète l'importance de la colonisation du système racinaire.
- **m%** : Intensité de la colonisation développée dans la partie mycorhizée du système racinaire (proportion du cortex colonisé dans la partie mycorhizée du système racinaire exprimé en %).
- **A%**: Teneur arbusculaire de la colonisation ramené au système racinaire entier (proportion du système racinaire renfermant des arbuscules, exprimée en %).
- **a%**: Teneur arbusculaire de la colonisation dans la partie mycorhizée du système racinaire (proportion colonisée renfermant des arbuscules, exprimé en %).

Echelle d'évaluation de la colonisation mycorhizienne



Echelle de l'abondance des arbuscules



**Figure 9** :Barème de classe de la colonisation endomycorhizienne(d'après Trouvelot et *al.*, 1986)

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

### **3.4. Isolement de spores de CMA**

L'extraction des spores de champignons mycorhiziens à partir de sols rhizosphériques est effectuée selon la méthode de tamisage humide décrite par Gerdemann et Nicholson (1963) suivie d'une centrifugation sur gradient de saccharose (fig.9):

- A partir d'un échantillon de solrhizosphérique, 100g sont prélevés et mis dans 1000 ml d'eau.
- La suspension de terre est ensuite vigoureusement agitée puis filtrée dans une série de tamis à mailles décroissantes (500, 250, 100, 50  $\mu\text{m}$ ) sous un jet d'eau.
- Les sols retenus par les trois derniers tamis (250, 100 et 50 $\mu\text{m}$ ) sont récupérés et mélangés pour l'extraction des spores mis en suspension dans d'eau distillée.
- La suspension sporale est centrifugée une première fois à 2000 tpm (tours par minute) pendant 5 min, le surnageant est éliminé car il contient les débris légers incluant les spores mortes. Le culot est re-suspendu dans d'une solution de saccharose à 65% et centrifugé à 2000 rmp pendant 10 minutes.
- Le surnageant est filtré sur un tamis de 50  $\mu\text{m}$  et le tamisât est rincées à l'eau distillée pour éliminer l'excès de saccharose, puis filtré à travers une membrane filtrante (papier Wattman n°2) préalablement quadrillé pour récupérer les spores.
- Les spores sont ensuite observées sous loupe binoculaire pour séparer les différents types morphologiques.

Les spores des CMA sont identifiées par microscopie photonique, selon le manuel de Schenck & Perez (1990) et comparées aux descriptions des espèces du référentiel de la collection internationale de cultures de champignons mycorhiziens à vésicules et arbuscules (INVAM) disponible sur le site Internet <https://invam.wvu.edu/>.

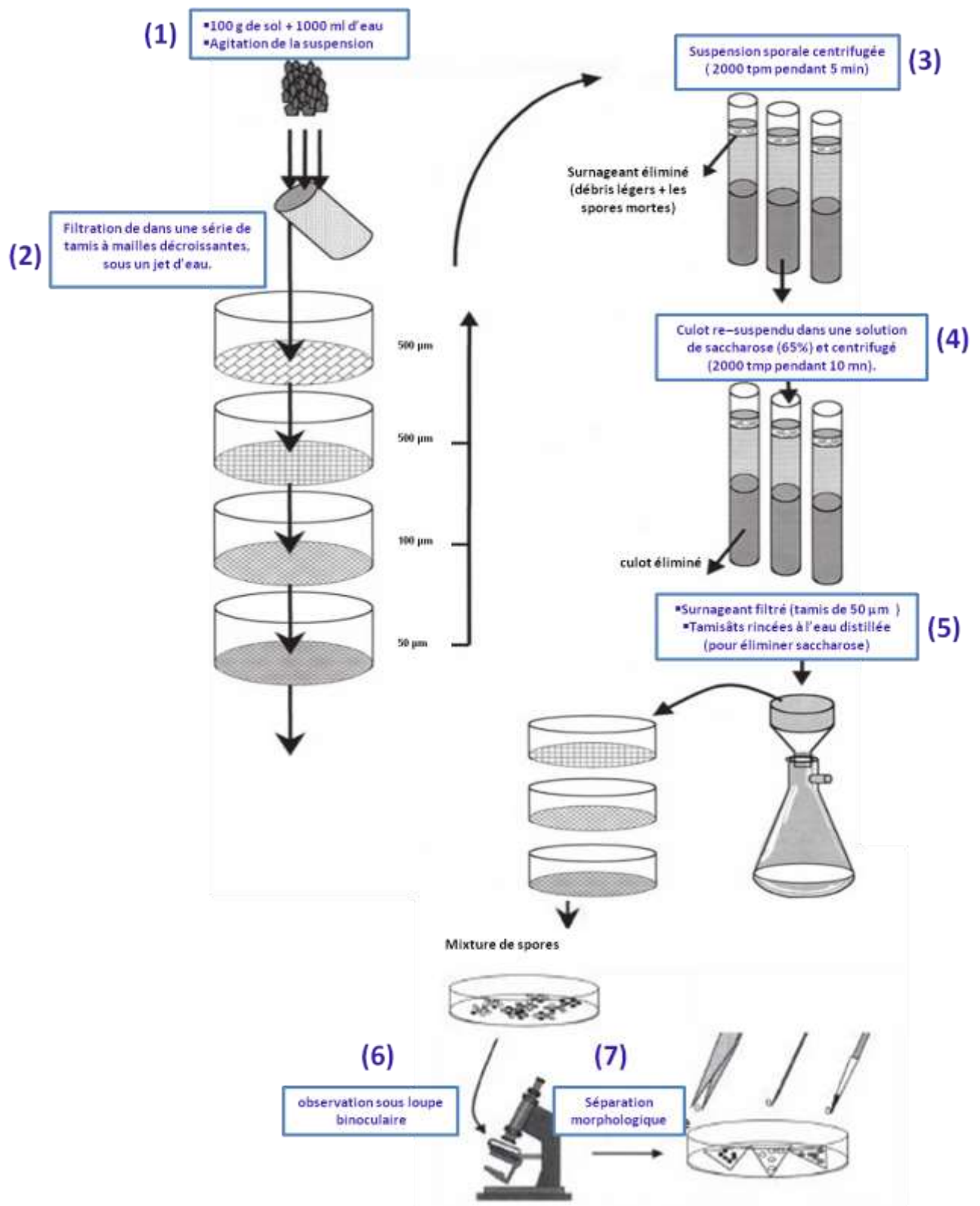
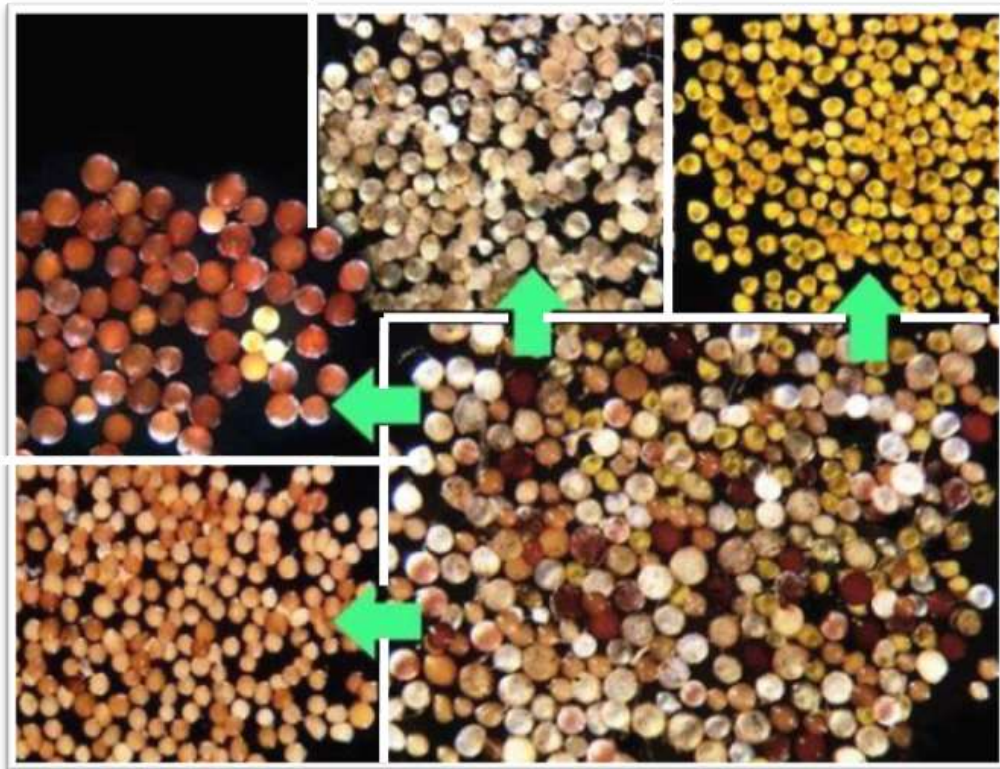


Figure 10 : Protocole d'extraction des spores des CMA à partir du sol.



**Figure 11** : Séparation morphologique des spores de CMA sous loupe binoculaire (INVAM).

# *Conclusion*



Les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) établissent des relations symbiotiques avec près de 80 % des plantes terrestres dont *Thymus algeriensis*( Boiss&Reut) que représente une plante médicinale d'un usage très fréquent donc il faut investir cette symbiose pour améliorer la culture de cette plante à l'échelle industrielle. La symbiose mycorhizienne maintient et peut même stimuler la croissance végétale, tout en réduisant considérablement ses besoins en engrais. Le mycélium des CMA constitue pour les plantes une extension de leurs systèmes racinaires qui permet à ces dernières de mieux exploiter l'eau et les minéraux d'un volume de sol étendu. Il en résulte des plantes mieux nourries et en santé qui résistent davantage aux stress environnementaux tels que la sécheresse, le refroidissement et la pollution, et survivent mieux aux attaques de champignons et bactéries pathogènes. Les CMA améliorent également la qualité du sol en favorisant la diversité de leur microflore et en réduisant l'érosion par un meilleur enracinement. De plus, les CMA peuvent influencer la composition phytochimique des plantes. De nombreuses études se sont penchées sur l'effet des CMA sur la production de composés d'intérêt thérapeutique par les plantes médicinales.

*Références  
bibliographiques*

**A**

**Akhtar M.S., Siddiqui Z.A. (2008).** *Glomus intraradices*, *Pseudomonas alcaligenes*, and *Bacillus pumilus*: Effective agents for the control of root-rot disease complex of chickpea (*Cicerarietinum* L.). *J Gen Plant Pathol* 74:53–60

**Achi Nesrine (2017)** Etude de l'activité antibactérienne des extraits essentiels de deux plantes à caractère thérapeutique : *Nigella* sp et *Thymus algeriensis* vis-à-vis quelques bactéries pathogènes à l'hôpital de Boufarik

**B**

**Bonfante P., Genre A. (2010).** Mechanisms underlying beneficial plant–fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nat. Commun.* 1, 48.

**Bonfante P., Requena N. (2011).** Dating in the dark: how roots respond to fungal signals to establish arbuscularmycorrhizal symbiosis. *Curr. Opin. Plant Biol.* 14, 451–457.

**Bonfante-Fasolo P. (1984).** Anatomy and morphology of VA mycorrhizae. In: Bagyaraj DJ (ed) VA mycorrhizas. CRC Press, Boca Raton, Fla, pp 5–33.

**Brundrett M.C. (2002)** – Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist*, 154 : 275-304.

**Brundrett M.C. (2009).** Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant and Soil* 320:37–77.

**Brundrett M.C., Piche´ Y., Peterson R.L. (1984).** A new method for observing the morphology of vesicular-arbuscularmycorrhizae. *Can J Bot* 62: 2128–2134

**Bruneton J.(1993).** Pharmiognosie et phytochimie, plantes médicinales, Tec et Doc Lavoisier, Paris : 278-279.

**Buee M., Rossignol M., Jauneau A., Ranjeva R., Bécard G. (2000).** The pre-symbiotic growth of arbuscularmycorrhizal fungi is induced by a branching factor partially purified from plant root exudates. *Mol. Plant Microbe Interact. MPMI* 13 693–698.

**Burgess T., Dell B., Malajczuk N. (1994).** Variation in mycorrhizal development and growth stimulation by 20 *Pisolithus* isolates inoculated onto *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. *New Phytol.*, 127:731-739.



**C**

**Cappellazzo G., Lanfranco L., Fitz M., Wipf D., Bonfante P. (2008).** Characterization of an amino acid permease from the endomycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Plant Physiol.* 147, 429–437.

**D**

**DEBBI A, GUERROUCHE I(2019).** Contribution à l'étude des statuts mycorhiziens de quelques plantes de Fabaceae de la région de M'sila (Algérie).

**Dob T, Dahmane D, Benabdelkader T, Chelghoum C (2006)** Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boisset Reut. *Int. J. Aromather* 16: 95–100.

**Doidy, J., van Tuinen, D., Lamotte, O., Corneillat, M., Alcaraz, G., Wipf, D. (2012).** The *Medicago truncatula* sucrose transporter family: characterization and implication of key members in carbon partitioning towards arbuscular mycorrhizal fungi. *Mol. Plant* 5, 1346–1358.

**Dommergues Y., Mangenot F. (1970).** Ecologie microbienne du sol. Masson, Paris, 796 p.

**E**

**Ebrahimi S. N., Hadian J., Mirjalili M., Sonboli A., Yousefzadi M. (2008).** Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. *Food Chem.* 110, 927–931.

**F**

**Fortin, J.A., Plenchette, C., et Piché, Y. (2008).** Les mycorhizes. La nouvelle révolution verte. MultiMonde Quae. (Eds.), Québec, 131 pp.

fungus characteristics and soil enzymatic activities in Cd polluted soil. *Environmental Pollution* 134, 257–266.

**G**

**Garbaye J. (2013).** La symbiose mycorhizienne, une association entre les plantes et les champignons. Versailles, France, Éditions Quae, 251 p.

**Garg N., Chandel S. (2010).** Arbuscular mycorrhizal networks: process and functions. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 30, 581–599.

**Gerdemann, J.W. & Nicolson, T.H. (1963).** Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 46: 235-244.

**Ghasemi Pirbalouti A., Emami Bistghani Z., Malekpoor F. (2015).** An overview on genus *Thymus*. *Journal of Herbal Drugs*, Vol. 6, No. 2: 93-100.

**Gilroy S, Jones DL. (2000).** Through form to function: root hair development and nutrient uptake. *Trends in Plant Science* 5: 56 – 60.

**Goetz P., Ghedira K. (2012).** Introduction à la phytothérapie anti-infectieuse. In: Phytothérapie anti-infectieuse. Collection Phytothérapie Pratique. Springer, Paris. 394 p.

## H

**Hodge A., Campbell C.D., Fitter A.H. (2001).** An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. *Nature* 413: 297– 299.

## I

**Janos D.P. (1980).** Vesicular-arbuscular mycorrhizae affect lowland tropical rain forest plant growth. *Ecology* 61: 151-162.

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

**Jin Z., Homola E.M., Goldbach P., Choi Y.H., Brill J.A., Campbell S.D. (2005).** *rosophila* Myt1 is a Cdk1 inhibitory kinase that regulates multiple aspects of cell cycle behavior during gametogenesis. *Development* 132(18): 4075--4085.

## K

**Koske R.E. (1981).** A preliminary study of interactions between species of vesicular-arbuscular fungi in a sand dune. *Trans. Br. mycol. Soc.* 76:411-416.

**Kulisic T., Dragovic-Uzelac, V., Milos M. (2006).** Antioxidant activity of aqueous tea infusions prepared from oregano, thyme and wild thyme. *Food Technology and Biotechnology* 44, 485–492.

## L

**Labidi J., Cartigny P., Birck J., Assayag N., Bourrand J. (2012).** Determination of multiple sulfur isotopes in glasses: a reappraisal of the MORB 34S. *Chemical Geology* 334, 189–198.

**Lambers H., Raven J.A., Shaver G.R., Smith S.E. (2008).** Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. *Trends in Ecology & Evolution* 23: 95–103.

**Le Tacon F. (1985).** Les mycorhizes: une coopération entre plantes et champignons. *La Recherche* 16: 624-632.

**López-Pedrosa A., González-Guerrero M., Valderas A., Azcón-Aguilar C., Ferrol N. (2006).** GintAMT1 encodes a functional high-affinity ammonium transporter that is expressed in the extraradical mycelium of *Glomus intraradices*. *Fungal Genet. Biol.* 43 102–110.

**Luttge U., Kluge M. et Bauer G. (2002).** Botanique. 3<sup>ème</sup> édition, *Tec et Doc Lavoisier*, Paris: 439- 450.

## M

**Marschner H., Dell B. (1994).** Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*, v.159, p.89-102.

**Meharg A.A.(2003)** Variation in arsenic accumulation: hyperaccumulation in ferns and their allies. *New Phytol* 157: 25–31.

**Miller R.M, Reinhardt D.R. and Jastrow J.D. (1995).** External hyphal production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in pasture and tallgrass prairie communities. *Oecologia* 103, 17–23

**Morales R. (2002).** The history botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In E. Stahl-Biskup, F. Sáez (Eds.), *Thyme. The Genus Thymus*, Taylor and Francis, London, UK (2002), pp. 1-43

**Mosse B. (1957).** Growth and chemical composition of mycorrhizal and non-mycorrhizal apples. *Nature* 179 923–924 mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 55: 158-161.

## N

**Naghibi F, Mosaddegh M, Mohammadi Motamed S, Ghorbani A (2005).** Labiate family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology *Iran J Pharm Res.* 2005; 2:63–79 .

**Nickavar, B., Mojab, F., Dolatbadi, R. 2005.** Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. *Food Chemistry*, 90, 609–611.

**Norman J.R., Atkinson D., Hooker J.E. (1995).** Arbuscularmycorrhizal fungal-induced alteration to root architecture in strawberry and induced resistance to the root pathogen *Phytophthora fragariae*. *Plant and Soil* 185: 191–198.



**P**

**Pawłowska T.E., Charvat I. (2002).** Influence of Edaphic and Environmental Factors on ArbuscularMycorrhizae. In A.K. Sharma and B.N. Johri, eds., *ArbuscularMycorrhizae Interactions in Plants, Rhizosphere and Soils*. Science Publishers, Inc. Enfield (NH), U.S.A.

**Peterson R.L., Massicotte HB. 2004.** Exploring structural definitions of mycorrhizas, with emphasis on nutrient-exchange interfaces. *Can. J. Bot.* 82: 1074-1088.

**Phillips I.M., Hayman D.S. (1970).** Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscularmycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Brit. Mycol.Soc.* 55, 158-161.

**Priyadharsini P., Muthukumar T. (2015).** Insight into the Role of ArbuscularMycorrhizal Fungi in Sustainable Agriculture. In: Thangavel P., Sridevi G. (eds) *Environmental Sustainability*. Springer, New Delhi.

**Q**

**Quezel P. et Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, C.N.R.S.Paris.

**R**

**Rasooli I., Moosavi M.L., Rezaee M.B., Jaimand K. (2002)** Susceptibility of Microorganisms to *Myrtuscommunis*L. Essential Oil and its Chemical Composition. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 4, 127-133.

**Redecker D, Schüßler A, (2014).** Glomeromycota. In: McLaughlin D, Spatafora J (Eds), *TheMycota*, Vol. VII, Systematics and Evolution 2nd ed. Springer, Heidelberg.

**Requena N., Serrano E., Ocón A., Breuninger M. (2007).** Plant signals and fungal perception during arbuscularmycorrhizal establishment, *Phytochemistry* 68, 33–40.

**S**

**Schenck, N. C., Perez, Y. (1990).** Manual for identification of VA mycorrhizal fungi. INVAM, University of Florida, Gainesville. USA 1-283 pp.

**Schreiner R.P., Bethlenfalvay G.J. (1995).** Mycorrhizal interactions in sustainable agriculture. *Crit Rev Biotechnol*15 :271–285).

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

**Sieverding E. (1991).** Vesicular-arbuscular Mycorrhiza Management in Tropical Agrosystems. GTZ, Eschborn, Germany. 371 p.

**Smith F.A., Jakobsen I., Smith S.E.(2000)** Spatial differences in acquisition of soil phosphate between two arbuscularmycorrhizal fungi in symbiosis with *Medicago trunculata*. *New Phytol*147: 357–366

**Smith S.E., Smith F.A.(1990)** Structure and function of the interfaces in biotrophic symbioses as they relate to nutrient transport. *New Phytol*114:1–38

**Smith SE, Read DJ (1997).** Mycorrhizal symbiosis. London: Academic Press.

**Smith SE, Read DJ . (2008).** *Mycorrhizal Symbiosis*. 3rd edn, Academic Press: London, UK.

**Strullu D. G. 1991.** Mycorrhizes et développement des plantes. In : Strullu DG., Garbaye J., Perrin P., Plenchette C. eds. *Les mycorrhizes des arbres et plantes cultivées*. Paris: Lavoisier, 51-91.

**Sylvia D.M. (1986)** Spatial and temporal distribution of vesicular-arbuscularmycorrhizal fungi associated with *Uniolapaniculata* in Florida foredune. *Mycologia* 78:728–734.

## T

**Tisdall J. M. 1991.** Fungal hyphae and structural stability of soil. *Australian Journal of Soil Research*, 29, 729–743.

**Toussaint J.P. (2007).** Investigating physiological changes in the aerial parts of AM plants: what do we know and where should we be heading? *Mycorrhiza*17, 349–353.

**Toussaint J.P., Smith F.A., Smith S.E.(2007).** Arbuscularmycorrhizal fungi can induce the production of phytochemicals in sweet basil irrespective of phosphorus nutrition. *Mycorrhiza* 17:291–297.

**Trouvelot, A., Kough, J.L. & Gianinazzi-Pearson, V. (1986).** Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherche des méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. Pp 217-221 In : V. Gianinazzi-Pearson & S. Gianinazzi (eds). *The Mycorrhizae. Physiology and Genetics*. INRA Presse, Paris.

## V

**Vivas A., Barea J.M., Azcon R. (2005).** Interactive effect of *Brevibacillus brevis* and *Glomus mosseae*, both isolated from Cd-contaminated soil, on plant growth, physiological mycorrhizal

**W**

**Wright S.F., Upadhyaya A. (1998).** A survey of soils for aggregates stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 198: 97-107.

**Y**

**Yu T.E.J.C., Egger K.N., Peterson R.L. (2001).** Ectendomycorrhizal associations—characteristics and functions. *Mycorrhiza* 11:167–177

**Z**

**Zubek S., Stojakowska A., Anielska T., Turnau K. (2010).** Arbuscular mycorrhizal fungi alter thymol derivative contents of *Inula ensifolia* L. *Mycorrhiza* 20, 497–504.